

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POLİETİLEN GLİKOL YAN ZİNCİRLİ POLİ(METİL
METAKRİLAT) YAPILARININ SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMA ALANLARININ
BELİRLENMESİ

EVREN SEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

OCAK 2019

Tezin Başlığı: Polietilen glikol yan zincirli poli(metil metakrilat) yapılarının sentezi, karakterizasyonu ve uygulama alanlarının belirlenmesi

Tezi Hazırlayan: Evren SEL

Sınav Tarihi: 11.01.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri (ilk isim jüri başkanı, üçüncü isim tez danışmanı)

Prof. Dr. Turgay SEÇKİN

.....

Prof.Dr. Adnan KURT

.....

Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

.....

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim ADIGÜZEL

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Polietilen glikol yan zincirli poli(metil metakrilat) yapılarının sentezi, karakterizasyonu ve uygulama alanlarının belirlenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Evren SEL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİETİLEN GLİKOL YAN ZİNCİRLİ POLİ(METİL METAKRİLAT) YAPILARININ SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMA ALANLARININ BELİRLENMESİ

EVREN SEL

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

91 + xiii sayfa

2019

Danışman: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

Bu çalışmanın amacı özellikle biyomedikal uygulamalarda kullanım potansiyeline sahip polietilen glikol yan grupları içeren poli(metil metakrilat) yapılarının sentezi ve karakterizasyonudur. Bu polimer yapıların enzim immobilizasyonu, biyouyumlu polimerik yüzeylerin eldesi ve biyosensör uygulamaları hedeflenmiştir. Bu amaç dahilinde homo ve kopolimer yapısında, üzerinde farklı uzunluklarda polietilen glikol grupları içeren fırça tipi polimerler sentezlenmiştir. Elde edilen homo ve kopolimerler elementel analiz ve FTIR teknikleri ile karakterize edilmişlerdir. Polimerlerin termal özellikleri TGA ve DSC termogramları ile belirlenmiştir. Sentezlenen polimerlerin morfolojik özellikleri SEM analizleri ile tespit edilmiştir. Ayrıca sentezlenen polimerlerin ilaç taşıyıcı sistem, antibakteriyel polimerik film, enzim immobilizasyon matriksi gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak sentezlenen homo ve kopolimerler yaklaşık 250°C gibi bir sıcaklığa kadar dayanabilmekte ve Tg değerleri yaklaşık 114°C ile 75°C arasında değişmektedir. Bu polimerler katalaz enzimi için uygun bir enzim taşıyıcı matrikstir. Ayrıca onların etkili polar fırça yapısı, polar yapıli antibakteriyel moleküllerin taşınması için uygundur.

ANAHTAR KELİMELELER: Fırça tipi polimer, poli(metil metakrilat), biyomedikal uygulamalar, enzim taşıyıcı matriks, antibakteriyel yüzey.

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF APPLICATION AREAS OF POLI(METHYL METACRILATE) WITH POLYETHYLENE GLYCOL SIDE CHAIN STRUCTURES

EVREN SEL

İNÖNÜ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

91 + xiii pages

2019

Supervisor: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

The aim of this study is the synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate) structures containing polyethylene glycol side groups which have the potential to be used in especially biomedical applications. These polymer structures were aimed as enzyme immobilization matrix, biocompatible polymeric surfaces and drug delivery systems. For this purpose, homo and copolymer brush structures having different lengths of polyethylene glycol groups were synthesized. Obtained homo and copolymers were analyzed by elemental analysis and FTIR techniques. Thermal properties of polymers were determined by TGA and DSC thermograms. The morphologic properties of synthesized polymers were determined by SEM analysis. In addition, the availability of synthesized polymers in biomedical applications such as drug delivery systems, antibacterial polymeric films and enzyme immobilization matrix were determined.

As a result, the synthesized homo and copolymers can withstand a temperature of about 250°C and Tg values are range from about 114°C to 75°C. These polymers are suitable enzyme carrier matrix for the catalase enzyme. Their effective polar brush structure is also suitable for the transport of polar antibacterial molecules.

KEYWORDS: Polymer brush, poly(methyl methacrylate), biomedical applications, enzyme carrier matrix, antibacterial surface.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim dahilinde bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan, deneysel çalışmalarım sırasında ilgi ve anlayış göstererek desteğini esirgemeyen, bilimsel anlamda gelişmemde büyük rol sahibi olan, akademik anlamda en büyük destekçim, danışman hocam Prof.Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Her zaman benim için önemli bir rol-model olmuş olan, her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Başkanı Sayın hocam Prof.Dr. Turgay SEÇKİN'e

Tezimin deneysel aşamasında yardımlarını gördüğüm İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof Dr. Burhan ATEŞ'e,

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen İmren ÖZCAN, Büşra AKSOY, Canbolat GÜRSES, Sevgi BALCIOĞLU ve Ahmet ULU'ya,

Minnettarlığımı kelimelerle anlatamayacağım, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen ve hayatımın her anında yanımda olan sevgili EŞİM'e ve Canım kızıma,

Bana her zaman destek olmuş ve bu günlere gelmemde büyük emekleri olan ANNEM, ve BABAM'a

Teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	vii
ÇİZELGE DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Polimer Fırçaların Genel Özellikleri	3
2.2. Polimer Fırçaların Hazırlanması	7
2.3. Fırça Tipi Polimerlerin Uygulama Alanları	12
2.4. Fırça Tipi Polimerlerin Biyomedikal Uygulamaları	14
2.4.1. Fırça tipi polimerlerin antibakteriyel yüzey uygulamaları	16
2.4.2. Fırça tipi polimerlerin biyosensör uygulamaları	19
2.4.3. Fırça tipi polimerlerin doku mühendisliği uygulamaları	20
2.5. Fırça Tipi Polimerlerin Analiz Yöntemleri	21
2.6. Amaç	32
3. MATERYAL VE METOD	34
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
3.2. Kullanılan Cihazlar	34
3.3. Poli(etilen glikol) Yan Zincirli Polimer Yapıların Sentezi	37

3.4.	PEGMA Temelli Polimer Yapıların Kimyasal ve Morfolojik Özelliklerinin	37
3.5.	PEGMA Temelli Polimer Yapıların Termal Özelliklerinin İncelenmesi	38
3.6.	PEGMA Temelli Polimer Yapıların Biyomedikal Uygulamaları	38
3.6.1.	PEGMA temelli polimer yapıların biyouyumluluğunun belirlenmesi	38
3.6.2.	PEGMA temelli polimer yapıların enzim immobilizasyon uygulamaları	39
3.6.2.1.	Katalazın immobilizasyonu	40
3.6.2.2.	Total protein ve immobilizasyon veriminin (IE) belirlenmesi	40
3.6.2.3.	Serbest ve immobilize katalazın enzim aktivitesi	40
3.6.2.4.	pH ve sıcaklığın enzim aktivitesi üzerine etkisi	41
3.6.2.5.	Tekrar kullanılabilirlik	42
3.6.2.6.	Kinetik parametrelerinin belirlenmesi	42
3.6.2.7.	Depolama kararlılıklarının belirlenmesi	42
3.6.2.8.	PEGMA temelli polimer yapıların antibakteriyel yüzey uygulamaları	42
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	44
4.1.	P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) Yapılarının Karakterizasyonu	44
4.2.	P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA) Yapılarının Karakterizasyonu	52
4.3.	P(MMA- <i>ko</i> -PEG500MA) Yapılarının Karakterizasyonu	59
4.4.	P(HEMA- <i>ko</i> -PEG500MA) Kopolimer Yapılarının Karakterizasyonu	66

4.5.	PEG Yan zincirli Kopolimer Yapılarının Biyomedikal Uygulama Sonuçları	71
4.5.1.	Sentezlenen kopolimer yapılarının <i>in vitro</i> hücre kültür sisteminde biyouyumluluk özelliklerinin ölçülmesi	71
4.5.2.	PEG yan zincirli kopolimer yapılarının katalaz immobilizasyon uygulama sonuçları	74
4.5.3.	PEG yan zincirli kopolimer yapılarının antibakteriyel test sonuçları	78
5.	SONUÇ VE TARTIŞMA	81
	KAYNAKLAR	83
	ÖZGEÇMİŞ	91

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa no
Şekil 1.1.	Polietilen glikol yan gruplar içeren akrilat yapılı bazı polimerler. 2
Şekil 2.1.	Farklı yapıda fırça tipi polimer yapıları. (a: ardışık kopolimer fırçalar, b: blok kopolimer fırçalar, c: farklı boy ve uzunlukta fırçalar, d: iki dallı fırça, e: dendrimer yapılı fırça, f: aşırı dallanmış fırçalar, g: farklı boyda fırça yapısı ve h: gradiyent yapılı fırçalar.) 4
Şekil 2.2.	Farklı morfolojide fırça tipi polimer kümelenmeleri. 5
Şekil 2.3.	Farklı kimyasal yapıda fırça tipi polimerler (Higaki vd., 2016). 6
Şekil 2.4.	Fırça polimer yapılarının dış uyarıcılar ile fırça morfolojisinin değişimi. 6
Şekil 2.5.	Yaygın Görülen Fırça tipi polimer yapıları 7
Şekil 2.6.	Fırça tipi polimerlerin sentez yöntemleri. (A; yüzeyden aşılama, B; yüzeye aşılama, C; tümüyle aşılama ve D; polimerlerin bir yüzeye fiziksel absorpsiyonu) 8
Şekil 2.7.	Kovalent bağlı fırça tipi polimer sentez yöntemleri (Feng ve Huang, 2018). 9
Şekil 2.8.	Farklı fırça yapılarının (a-g) polimer yüzeyine bağlanması. 11
Şekil 2.9.	Fırça üzerine yerleştirilmiş antibakteriyel ajan ile geliştirilmiş antibakteriyel yüzey. 13
Şekil 2.10.	Fırça tipi polimerik yapıların su molekülü ile etkileşimleri. 14
Şekil 2.11.	Fırça tipi polimerlerin biyomedikal uygulamaları. 16
Şekil 2.12.	Antibakteriyel yüzey çalışmalarının genel şeması (Siedenbiedel ve Tiller, 2012). 17
Şekil 2.13.	Fırça tipi polimerlerin antibakteriyel uygulamalarında antibakteriyel ajan ve salınma mekanizmaları. (a; fırça tipi polimer yapısından ilaç salımı, b; çapraz bağlı fırça yapısından ilaç salımı, c; Biyobzunur fırça yapıları ile ilaç salımı, d; fırça yapısına uç grup olarak bağlanan antibakteriyel ajanların salımı ile antibakteriyel özellik sağlanan sistemler.) 19

Şekil 2.14.	Elektrot yüzey modifikasyonları (Aydemir vd. 2016).	20
Şekil 2.15.	Fırça tipi polimerlerin elektrot yüzeyindeki ölçüm mekanizması.	21
Şekil 2.16.	Fırça tipi polimer yüzeyinde hücre büyütülmesi.	22
Şekil 2.17.	Fırça yapısı içerisinde hücre yapısının oluşumunun görülmesi.	22
Şekil 2.18.	PMMA yapılı polimerler için örnek bir FTIR spektrumu.	26
Şekil 2.19.	Silikon yüzeyine fırçatipi polimer sentezi için başlatıcı bağlanması (Kang vd., 2014).	26
Şekil 2.20.	Kitosan, polikaprolakton ve kitosan-g-polikaprolakton yapılarına ait NMR spektrumları (Georgopoulou vd., 2018).	27
Şekil 2.21.	Farklı termal analiz teknikleri ile elde edilmiş termal analiz termogramları.	29
Şekil 4.1.	P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapıları.	45
Şekil 4.2.	PPEG360MA, PMMA ve P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının FTIR spektrumları.	46
Şekil 4.3.	PPEG360MA, PMMA ve P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının TGA termogramları.	48
Şekil 4.4.	PPEG360MA, PMMA ve P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının DSC termogramları.	49
Şekil 4.5.	Saf PPEGMA (a), P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) (b) ve Saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.	50
Şekil 4.6.	P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.	51
Şekil 4.7.	P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapıları.	52
Şekil 4.8.	PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının FTIR spektrumları.	53
Şekil 4.9.	PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA) yapılarının TGA termogramları.	55

Şekil 4.10.	PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının DSC termogramları.	56
Şekil 4.11.	Saf PPEG360MA (a), P(HEMA-ko-PEG360MA) (b) ve Saf PHEMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.	57
Şekil 4.12.	P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.	58
Şekil 4.13.	P(MMA-ko-PEG500MA) yapıları.	59
Şekil 4.14.	PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının FTIR spektrumları.	61
Şekil 4.15.	PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının TGA termogramları	62
Şekil 4.16.	PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının DSC termogramları.	63
Şekil 4.17.	Saf PPEG500MA (a), P(MMA-ko-PEG500MA) (b) ve Saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.	64
Şekil 4.18.	P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.	65
Şekil 4.19.	P(HEMA-ko-PEG500MA) yapıları.	66
Şekil 4.20.	PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının FTIR spektrumları.	68
Şekil 4.21.	PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının TGA termogramları.	69
Şekil 4.22.	PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının DSC termogramları.	69
Şekil 4.23.	P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının SEM görüntüleri.	70
Şekil 4.24.	P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının SEM görüntüleri.	71
Şekil 4.25.	PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-	73

	PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyoyumluluk testinde % hücre canlılığı sonuçları	
Şekil 4.26.	PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyoyumluluk testinde elde edilen mikroskop görüntüleri	74
Şekil 4.27.	P(MMA-ko-PEG360MA) (a), P(MMA-ko-PEG500MA) (b), P(HEMA-ko-PEG360MA) (c) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) (d) yapılarına ait immobilize enzimin aktivite sonuçları.	75
Şekil 4.28.	Katalaz immobilize P(MMA-ko-PEG500MA) yapısı için pH optimizasyonu.	75
Şekil 4.29.	Katalaz immobilize P(MMA-ko-PEG500MA) yapısı için sıcaklık optimizasyonu.	76
Şekil 4.30.	İmmobilize enzim için kullanım sayısı bağlı aktivite sonuç grafiği.	76
Şekil 4.31.	Serbest ve immobilize enzim için dopolama kararlılığı sonuçları. (A: 4°C ve B: 25°C)	77
Şekil 4.32.	<i>Escherichia coli</i> üzerinde PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları. A.) P(MMA-ko-PEG500MA)/0,01mg siprofloksasin B.) P(MMA-ko-PEG360MA)/0,1 mg siprofloksasin C.) P(HEMA-ko-PEG360MA)/0,01 mg siprofloksasin D.) P(HEMA-ko-PEG500MA)/0,01 mg siprofloksasin	78
Şekil 4.33.	<i>Bacillus subtilis</i> üzerinde PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları. A.) P(MMA-ko-PEG500MA)/0,01mg siprofloksasin B.) P(MMA-ko-PEG360MA)/0,1 mg siprofloksasin C.) P(HEMA-ko-PEG360MA)/0,01 mg siprofloksasin D.) P(HEMA-ko-PEG500MA)/0,01 mg siprofloksasin.	79
Şekil 4.34.	Sentezlenen fırça tipi polimer yapılarına ait optik mikroskop görüntüleri.	80

ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa no
Çizelge 2.1. Fırça tipi polimerlerin kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi için kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları.	23
Çizelge 2.2. PMMA yapılı polimerlere ait temel pikler ve bu piklerin dalga sayısı değerleri.	25
Çizelge 3.1. Sentez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler, özellikleri ve yapısal formülleri	35
Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında sentezlenen poliüretanlar ve monomer oranları.	36
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG360MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG360MA) yapılarının elementel analiz sonuçları	47
Çizelge 4.2. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.	54
Çizelge 4.3. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.	60
Çizelge 4.4. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.	67
Çizelge 4.5. PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyouyumluluk testinde % hücre canlılığı sonuçları	72
Çizelge 4.6. Serbest ve immobilize enzim için kinetik parametreler.	77
Çizelge 4.7. Siprofloksasin katkılanan PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları.	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

MMA	Metil metakrilat
HEMA	Hidroksietil metakrilat
PMMA	Poli(metil metakrilat)
PHEMA	Poli(hidroksietil metakrilat)
PEG	Polietilen glikol
PEG360MA	Molekül kütlesi ~ 360 olan polietilen glikol metakrilat
PEG500MA	Molekül kütlesi ~ 500 olan polietilen glikol metakrilat
PPEG360MA	Molekül kütlesi ~ 360 olan poli(polietilen glikol metakrilat)
PPEG500MA	Molekül kütlesi ~ 500 olan poli(polietilen glikol metakrilat)
P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA)	Molekül kütlesi ~ 360 olan polietilen glikol metakrilat yapısından sentezlenmiş olan poli(metilmetakrilat- <i>ko</i> -polietilen glikol metakrilat)
P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA)	Molekül kütlesi ~ 360 olan polietilen glikol metakrilat yapısından sentezlenmiş olan poli(hidroksi etilmetakrilat- <i>ko</i> -polietilen glikol metakrilat)
P(MMA- <i>ko</i> -PEG500MA)	Molekül kütlesi ~ 500 olan polietilen glikol metakrilat yapısından sentezlenmiş olan poli(metilmetakrilat- <i>ko</i> -polietilen glikol metakrilat)
P(HEMA- <i>ko</i> -PEG500MA)	Molekül kütlesi ~ 500 olan polietilen glikol metakrilat yapısından sentezlenmiş olan poli(hidroksietil metakrilat- <i>ko</i> -polietilen glikol metakrilat)
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
THF	Tetrahidrofur

DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
TGA	Termogravimetrik analiz
TMA	Termomekanik analiz
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
DTA	Diferansiyel termal analiz
FTIR	Fourier transform infrared spektroskopisi
NMR	Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
GPC	Jel geçirgenlik kromatografisi
STM	Taramalı tünelleme mikroskobu
DMA	Dinamik mekanik analiz
MS	Kütle spektroskopisi
XPS	X-ray fotoelektron spektroskopisi
Tg	Camsı geçiş sıcaklığı
PLA	Polilaktik asit
PVA	Poli(vinil alkol)
ATRP	Atom transfer radikal polimerizasyonu
NMP	Nitrik oksit medyalı polimerizasyon
RAFT	Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer polimerizasyonu

1. GİRİŞ

Günlük hayatımızın önemli bir parçası olan polimerik malzemeler çok önemli fonksiyonel görevleri olmasına rağmen kullanım sonrasında önemli çevre problemlerine neden olmaktadır. Özellikle petrol türevli polimerik malzemelerin çevresel etkileri doğal ve yarı sentetik polimerlere göre daha fazladır.

Bu nedenle günümüz teknolojisinde petrol türevli polimerlerin yerini alabilecek biyoyumlu, biyobozunur ve pek çok biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek polimerik yapıların sentezlenmesi önemli bir hedef olarak görülmektedir. Ancak polimerik yapıların teknolojiye adaptasyonu sırasında pekçok uygulamda ise daha sağlam, dayanıklı ve biyokararlı yapıların sentezlenmesini gerektirmektedir. Özellikle optik, elektronik, enerji depolama, sensör ve biyolojik implantların üretiminde kullanılacak olan polimerlerin yapısal dayanımlarında yüksek olması gerekmektedir.

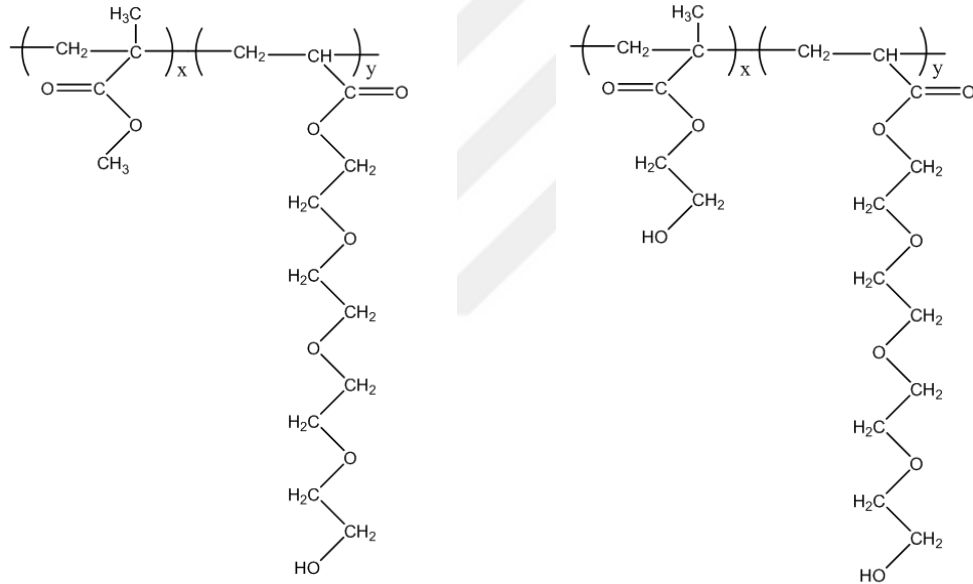
Tüm bu arayışlar sentetik polimerler ile biyoyumlu yüzeylerin bir arada bulunduğu yeni nesil malzemelerin oluşmasına yol açmıştır. Özellikle bu malzemeler arasında sentetik polimerler üzerine aşılınmış biyoyumlu polimerler ya da oligomerlerin bulunduğu fırça tipi polimerler oldukça önemlidir (Advincula vd., 2004). Bu tip yapılar özellikle sensör ve biyosensör uygulamaları başta olmak üzere optik ve elektronik malzemeler, enerji depolama uygulamaları, örnek saflaştırma ve örnek zenginleştirme uygulamaları, antibakteriyel yüzeyler, polimer destekli katalizörler, hücre kültürü ve doku mühendisliği gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Boyce vd., 2006).

Diğer bir önemli uygulaması ise ileri teknoloji kompozitlerinin üretilmesi alanıdır. Özellikle matris ve katkı maddesi arasındaki ikincil etkileşim miktarını artırarak mekanik özelliklerini yükseltmek için fırça tipi polimerler tercih edilmektedir (Bumbu vd., 2004).

Fırça tipi polimerlerin geliştirilmesinde ve dizayn edilmesinde özellikle fırça yapıların boyut ve sayısı açısından pekçok strateji geliştirilmiştir (Over vd., 2003). Bu stratejiler arasında monomerlerden fırça tipi sentezi, aktif polimerik yüzeylere polimerlerin ya da oligamerlerin bağlanması ya da polimerik zincirlerin yüzeylerinin

farklı elektromanyetik radyasyon veya fiziksel etkenlerle aktive edilerek yüzeyden polimerleştirilmesi gibi teknikler kullanılmaktadır.

Bu çalışma kapsamında yaygın ve önemli bir kullanım potansiyeline sahip olan poli(metil metakrilat) yapılarının polietilen glikol fırçalar taşıyacak şekilde sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.1). Temel moleküler yapı homo ve kopolimerik şekilde çeşitlendirilmiştir. Elde edilen yapılar kimyasal yapı açısından FTIR, NMR, elementel analiz ve SEM teknikleri ile incelenmiştir. Termal özellikleri DTA, TGA ve DSC analizleri ile belirlenmiştir. Yapısal karakterizasyonları gerçekleştirilen polimerik yapılar farklı biyomedikal uygulamalarda denenmiş ve biyomalzeme potansiyeli incelenmiştir. Bu biyomedikal uygulamalar arasında ilaç ve enzim taşıyıcı sistemler, sensörler ve biyouyumlu optik yüzeyler denenmiştir.



Şekil 1.1. Polietilen glikol yan gruplar içeren akrilat yapıları bazı polimerler.

Sonuç olarak sentezlenen etilen glikol yan zincirli poli(metil metakrilat) yapılarının pek çok biyomedikal uygulamada büyük bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Genel olarak bir polimer zinciri üzerine yan grup olarak başka bir polimer zincirinin belirli bir düzen dâhilinde bağlanarak elde edilen yapıya fırça tipi polimerler ya da polimer fırçalar denir (Advincula vd., 2004). Genel olarak aşırı polimer türünün özel bir sınıfıdır. Polimer fırçasının aşılama yoğunluğunun ve bunun molekül ağırlığının artmasıyla 3 tip polimer fırça yapısı elde edilebilir. Bunlar; düşük yoğunluklu fırçalarda görülen pankek ve mantar denilen yapılar, yüksek yoğunluklu fırçalar ve kopolimerik fırçalar olarak adlandırılır (Witte mann vd., 2003, Wu vd., 2002, Xu vd., 2006, Zhao vd., 2004).

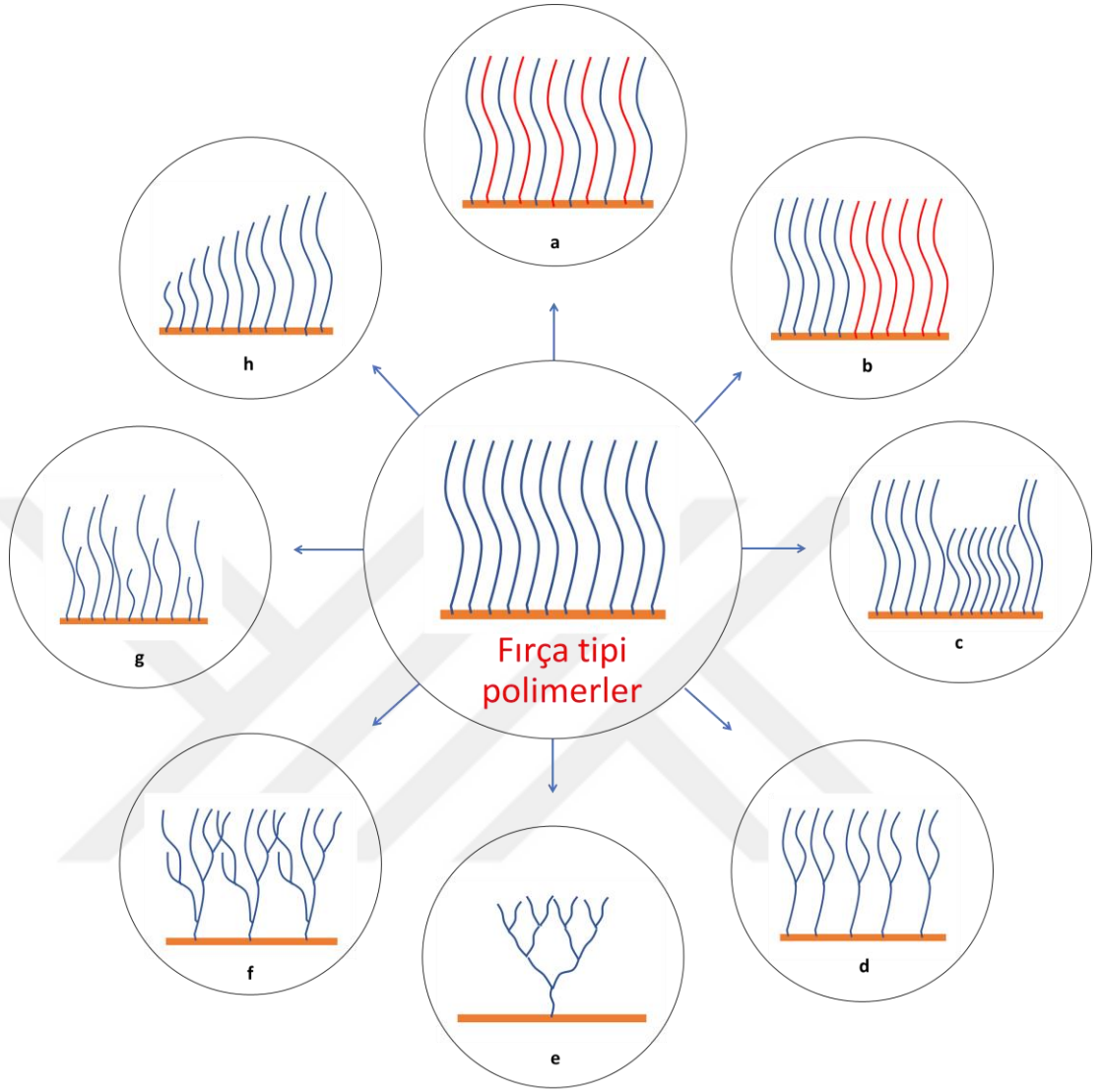
2.1. Polimer Fırçaların Genel Özellikleri

Pankek konformasyonu polimerik fırçanın diğer polimer yüzeyinin çökmesi ve dolanması ile oluşabilir. Bu oluşumda fırça yapısının sterik yapısı oldukça etkilidir. Ayrıca polimer fırça uygun çözücüde ya da zayıf bir çözücü içerisinde sterik ve ozmotik itme etkilerinin ortak etkisinden dolayı yüzeyden uzağa gerilmek ister ancak polimer zincirleri yeterli içi boş alan olmasından dolayı çökmektedir (Zhao vd., 2000, Zhuling vd., 1996). Buda pankek konformasyonu oluşmasının kolaylaştırır.

Polimer fırçaların fizikokimyasal özelliklerini bileşen yüzey morfolojisi ve yüzey yükü gibi temel özelliklerinin kolay kontrol edilebilmesi ile yüzey modifikasyonu için umut vaat edici bir strateji oluşturmuştur. Ancak günümüzde kullanılan polimer fırça sentez yöntemleri endüstriyel ölçekli üretimler için uygun değildir. Bu nedenle uygun formasyonda fırça tipi polimerlerin sentezi için yeni yöntemler sürekli olarak araştırılmaktadır.

Polimer fırçaların temel özellikleri pek çok unsurdan etkilenir (Eiser vd., 1999). Özellikle, ana zincir yapısı, fırça polimerli kimyasal yapısı, fırça polimerinin uç grubu, polimerik fırça boyu, polimerik fırça sıklığı ve polimerik fırçanın bağlı olduğu gruba bağlı olarak pek çok farklı özellikte fırça tipi polimerler elde edilebilir. Bu yapılar şekil 2.1’de gösterilmiştir.

Fırça tipi yapıların zincir istiflenme yoğunluğu ve sonuç ürün morfolojisinde fırça özelliklerini etkiler karakterdedir. Şekil 2.2’de belirtilmiş olan tabakalı, tübüler ya da küresel fırça yapıları litarüdüde bulunmaktadır.

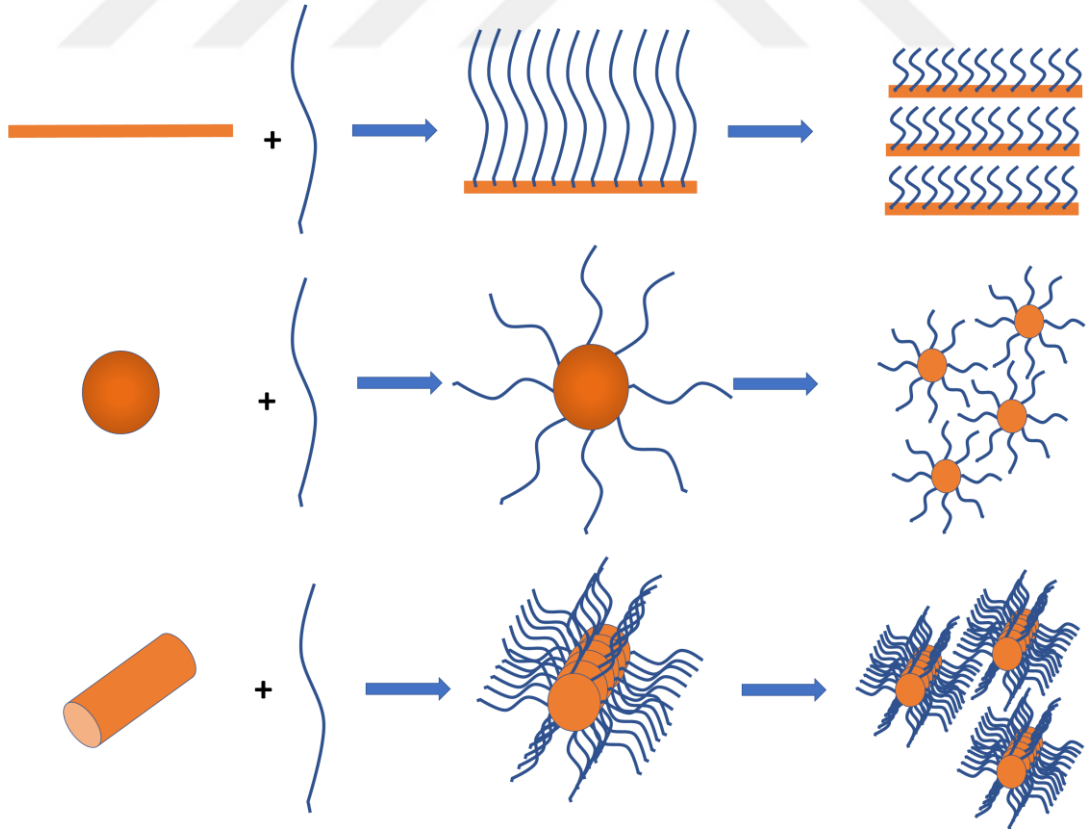


Şekil 2.1. Farklı yapıda fırça tipi polimer yapıları. (a: ardışık kopolimer fırçalar, b: blok kopolimer fırçalar, c: farklı boy ve uzunlukta fırçalar, d: iki dallı fırça, e: dendrimer yapılı fırça, f: aşırı dallanmış fırçalar, g: farklı boyda fırça yapısı ve h: gradiyent yapılı fırçalar.)

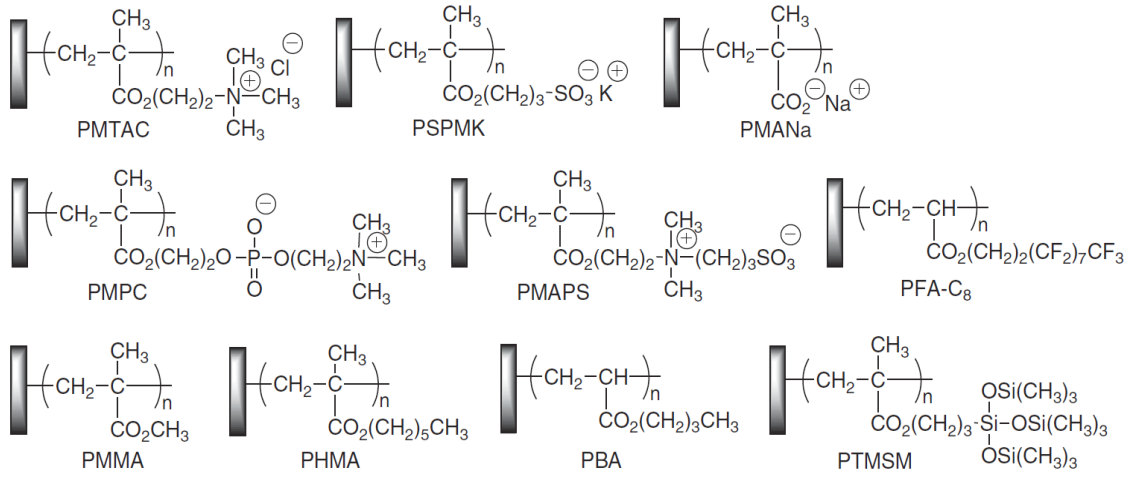
Şekil 2.3’de farklı kimyasal yapıda fırça bulunduran polimer yapıları gösterilmektedir. Bu yapılarda fırça yapısı değiştikçe polimerin fiziksel özellikleri değişmektedir. Fırça tipi polimerlerin fiziksel özelliklerini etkileyen diğer bir önemli unsur ise çözücü sisteminin çözme gücüdür (Auroj vd., 1991, Boyes vd., 2003). Özellikle iyi çözücülerde fırça yapısı lineer olarak uzamaktadır (Szleifer vd., 1996).

Zayıf çözücülerde ise fırça yüzeye doğru kümelenmektedir. Fırça yapısının çözücü ile bu etkileşimi kullanılarak akıllı polimerik yüzeyler rahatlıkla elde edilebilir. (Şekil 2.4) Fırça yapısının hidrofilik yada hidrofobik olması sonucunda çözücü etkisi, farklı iyonların varlığı ya da elektriksel potansiyelin değiştirilmesi ile fırça morfolojisi değişmektedir (Krishnamoorthy vd., 2014). Bu yapılarda özellikle değişen bu morfolojinin ayarlanması ile kontrollü ilaç salım sistemleri, kontrollü yüzey hidrofilikliği ve kendini temizleyen yüzey uygulamaları gibi alanlarda kullanılabilecek yapılar hazırlanabilir.

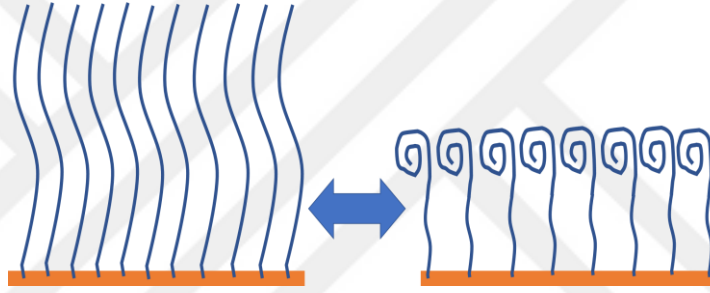
Özellikle uyarı-cevap özellikli bu tür akıllı yüzeylerin ilaç salım sistemlerinde, kendi kendini temizleyen yüzeylerde, kontrollü optik yüzeylerde, kemoresponsif yüzeylerin eldesinde ve antibakteriyel bazı yüzeylerin eldesinde kullanım olanağı bulunmaktadır. Özellikle zayıf bir solvent içerisinde yüzeye kümelenmiş fırça yapıları içerisine hapsedilmiş olan ilaç etkenli, uygulandığı yüzeyde fırça yapısının açılmasıyla salınması kontrollü salınım sistemleri için kuvvetli bir potansiyel teşkil etmektedir (Skvortsov vd., 1998, Solis vd., 1996, Subramanian vd., 1996).



Şekil 2.2. Farklı morfolojide fırça tipi polimer kümelenmeleri.

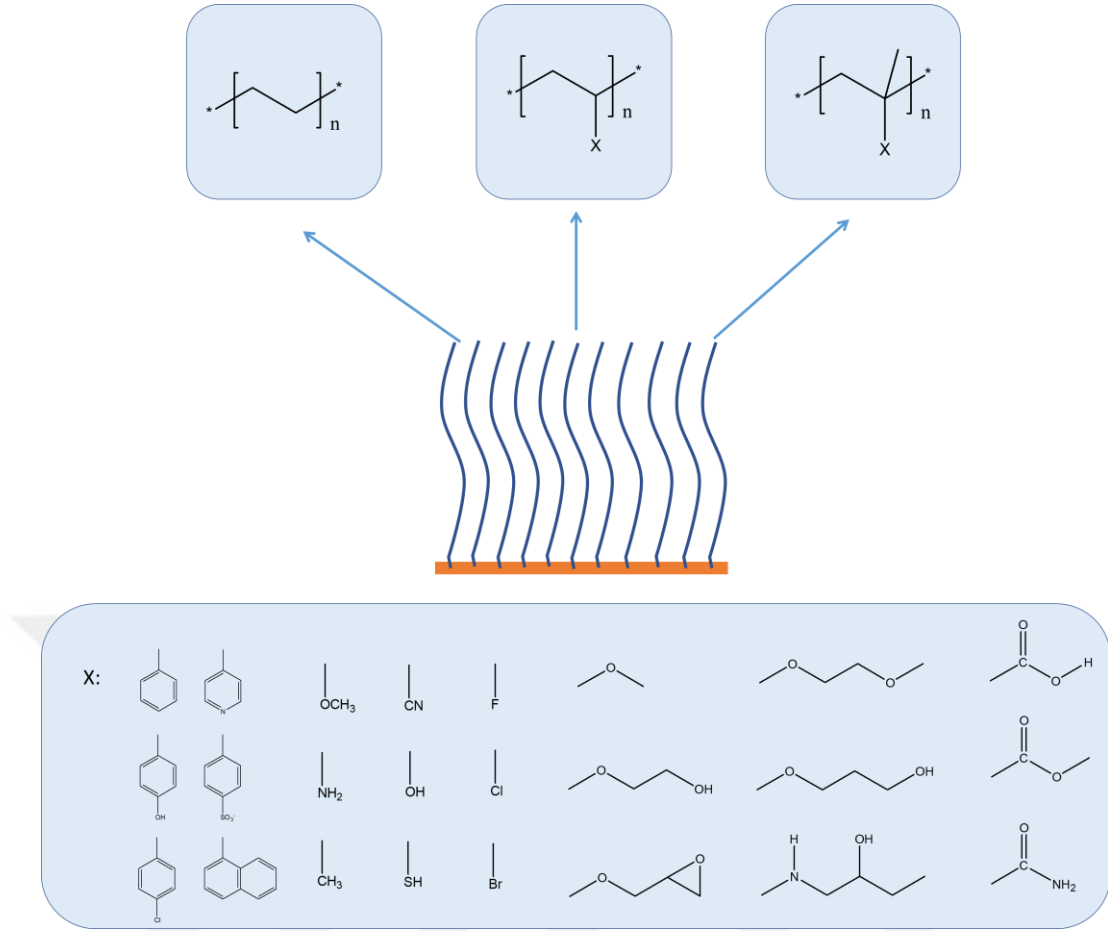


Şekil 2.3. Farklı kimyasal yapıda fırça tipi polimerler (Higaki vd., 2016).



Şekil 2.4. Fırça polimer yapılarının dış uyarıcılar ile fırça morfolojisinin değişimi.

Şekil 2.5’de görüldüğü gibi fırça tipi polimer yapıları ana polimer yüzeyine bağlanan fırçanın yapısına bağlı olarak homopolimerik, kopolimerik karışık fırça veya gradiyent polimer fırçalar olarak pek çok farklı yapıda olabilir (Guo vd., 2001; Krishnamoorthy vd. 2014). Bu nedenle fırça yapısı değiştirilirse sonuç polimer yapısının tüm yapı ve özellikleri değişmektedir (Azzaroni vd., 2005, Gony vd., 2006, Israels vd., 1994).

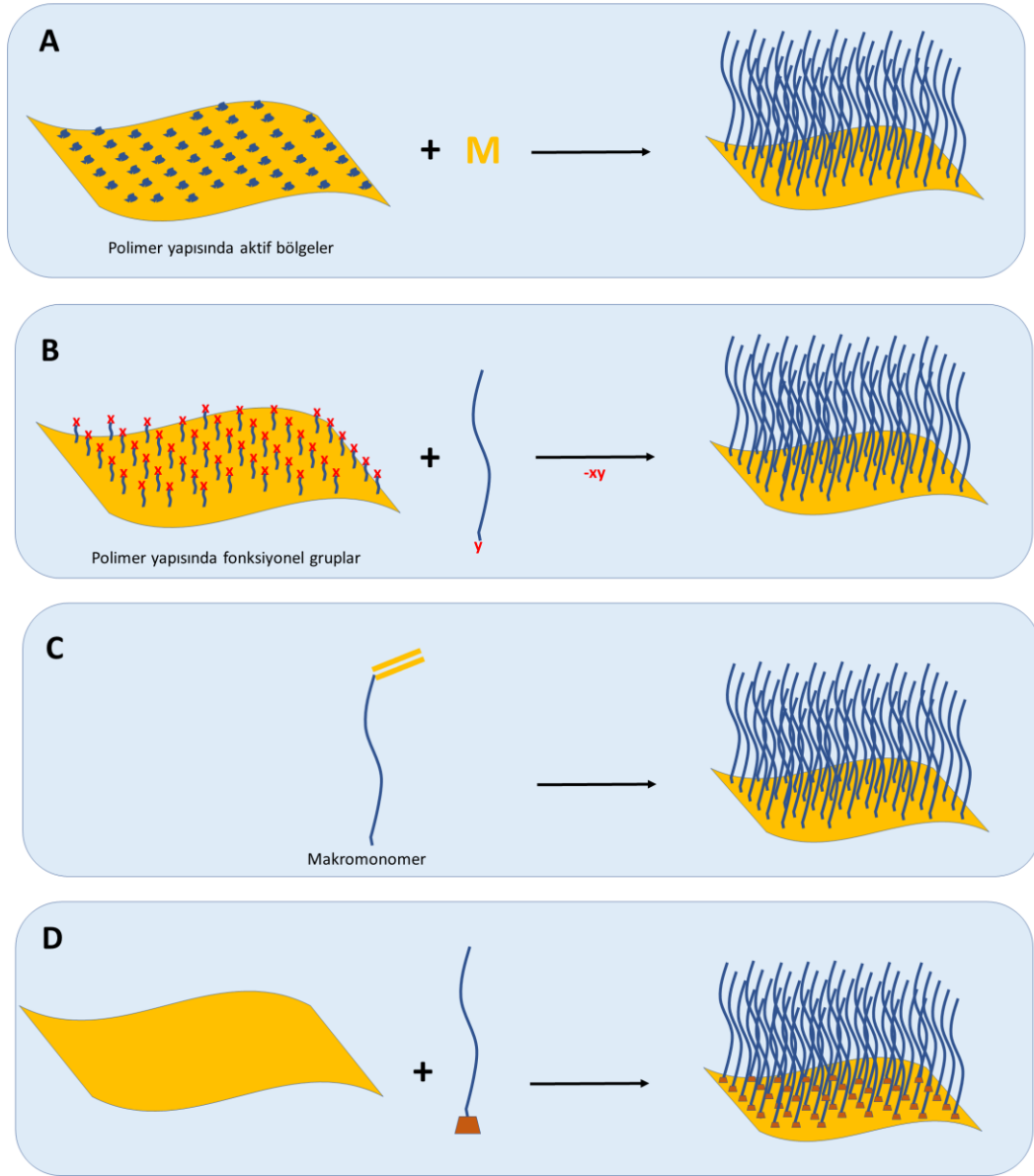


Şekil 2.5. Yaygın görülen fırça tipi polimer yapıları.

2.2. Polimer Fırçaların Hazırlanması

Polimer fırçaların üretiminde fırça yapısını oluşturacak polimer zincirleri kovalent bağlanma veya fiziksel absorpsiyon ile yüzeye sabitlenebilir. (Lanov vd., 2004, Houbenov vd., 2003, Kent vd., 1996, Li vd., 2005, Nicolas vd. 2008).

Genel olarak fiziksel absorpsiyon; H bağı, hidrofobik etkileşim ve elektrostatik etkileşim gibi kovalent olmayan etkileşimleri içerir (Şekil 2.6). Bu tür fiziksel absorpsiyon yoluyla sentezlenen fırça tipi polimerlerde aşılama süreci daima tersinirdir ve bu nedenle solüsyon veya farklı iyonların varlığı bu süreci etkiler (Luzinov vd., 2004). Fiziksel absorpsiyon yoluyla gerçekleşen yapılar daha az kararlıdır. Bu yapılar kararsız olduğu için kovalent bağlı polimer fırçalar uygulamalar açısından daha elverişlidir. Kovalent bağlı yapıların sentezinde ise 3 farklı yöntem genel olarak tercih edilmektedir. Bu yöntemler yüzeye aşılama (Grafting to), yüzeyden aşılama (grafting from), tümüyle aşılama (grafting through) ve fiziksel absorpsiyon'dur.

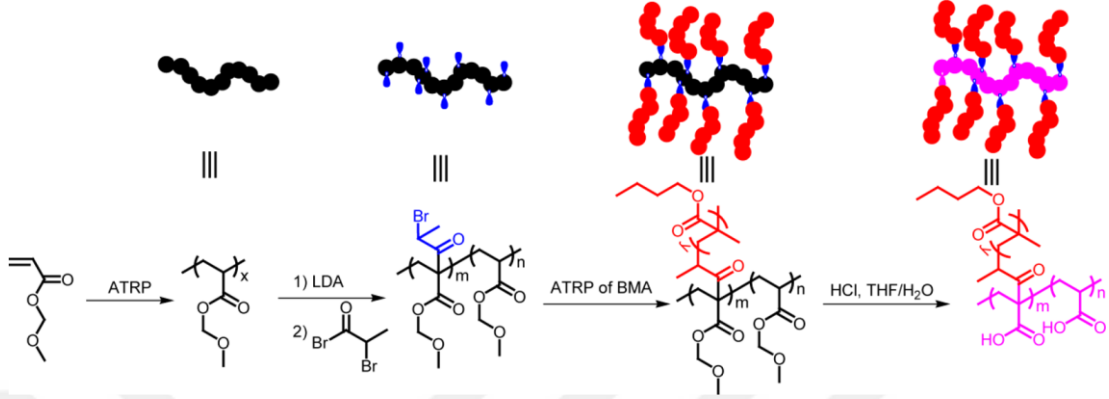


Şekil 2.6. Fırça tipi polimerlerin sentez yöntemleri. (A; yüzeyden aşılama, B; yüzeye aşılama, C; tümüyle aşılama ve D; polimerlerin bir yüzeye fiziksel absorpsiyonu)

Grafting to yönteminde temel polimerik yapı üzerinde bulunan fonksiyonel gruplar kullanılarak hazır bir telehelik polimerin bu fonksiyonel gruplara bağlanması gerçekleştirilir (İonov vd., 2004).

Grafting from yönteminde, benzer olarak yüzey fonksiyonel temel polimerin fonksiyonel grupları bir başlatıcı şeklinde kullanılır. Bir başlatıcı olarak kullanılan farklı monomerlerin yüzeyde polimerleşme tekniği ile polimerizasyonu tekniğine dayanır (Mori vd., 2003, Netz vd., 1997).

Grafting through yönteminde, makromonomer formasyonunda telehelik bir polimerin başlatıcı varlığında polimerizasyonu ile fırça tipi yapılar rahatlıkla elde edilebilir.



Şekil 2.7. Kovalent bağlı fırça tipi polimer sentez yöntemleri (Feng ve Huang, 2018).

Bu yöntemlerden grafting to yönteminde polimerik zincilerin sterik etkilerinden kaynaklı olarak düşük aşılama yoğunluğu ve düşük film kalınlığı gibi sınırlamalar söz konusudur. İstenilen oranda ve sıklıkta aşılama her zaman söz konusu olmayabilir.

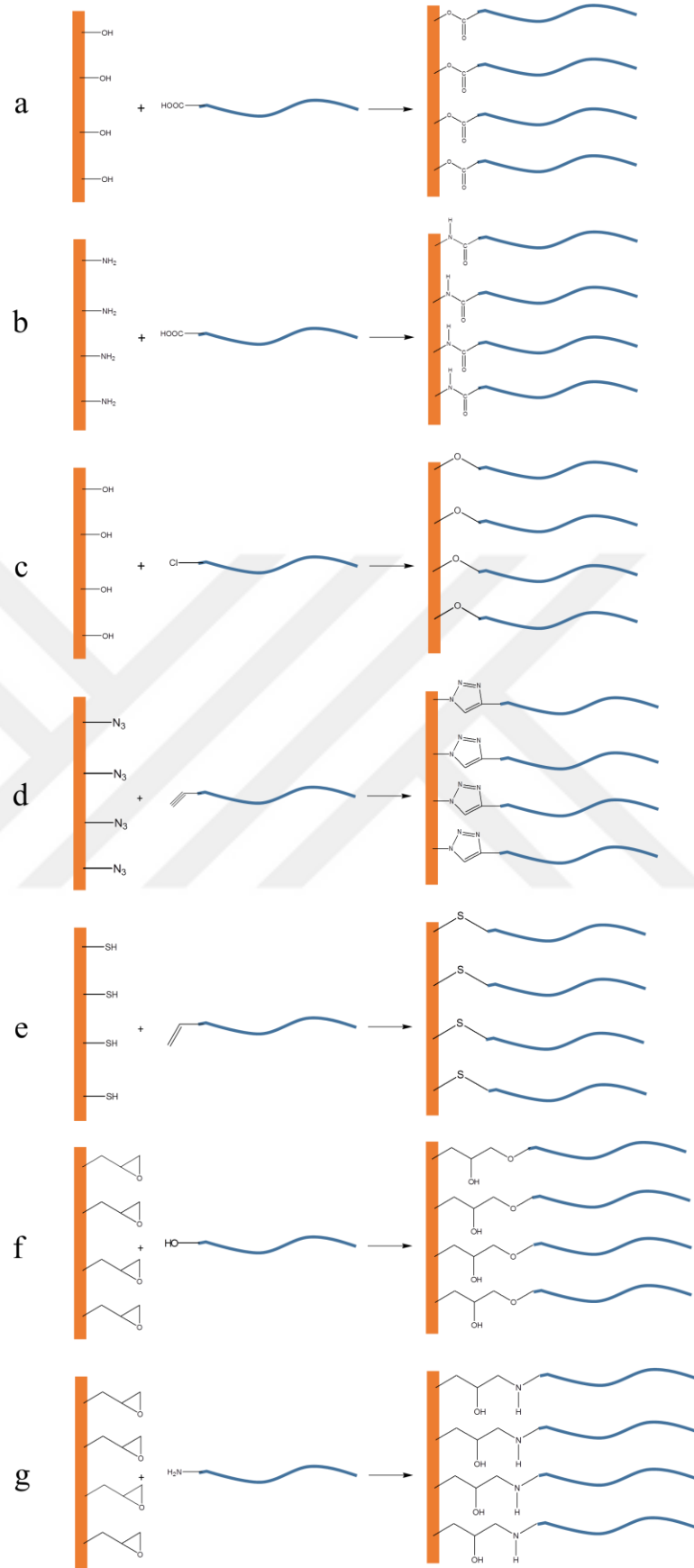
Grafting from yönteminde ise yüzeyde gerçekleşen polimerleşmede düzenli büyümeler söz konusu olmayacağı için fırça uzunluğu standartı korunamaz. Bu nedenle grafting through yöntemi sentezi ve monomer dizaynı açısından zor olsada en ideal yöntem olarak görülmektedir.

Ancak literatürde genel olarak tüm bu olumsuzluklara rağmen yüzeyden başlayan polimerizasyon teknikleri ile fırça tipi yapılar sıklıkla sentezlenmektedir. Bu tekniklerde genellikle atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP), Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) ve nitrik oksit medyalı polimerizasyon (NMP) teknikleri kullanılmaktadır (Şekil 2.7)

Yüzeyde başlayan polimerizasyon tekniğinin son günlerde gelişmesi polimer fırça kalınlığı, bileşimi ve mimari gelişmesi üzerinde hassas bir kontrol sağlar (Boyesvd., 2002, Boyesvd., 2003, Kim vd., 2002, Shah ve ark 2000, Yim vd., 2003, Yim vd., 2004, Zhao vd., 2000, Biesalski vd., 2002). Böylece yüzeyde başlayan polimerizasyon yüzey ve ara yüzey fizikokimyasal özelliklerini ayarlamak için

önemli bir alternatif olmuştur (Zhao vd., 2000). Bu olay kontrollü polimer fırçaların sentezinde de tercih edilir bir sentez haline gelmiştir. Ancak yüzey polimerizasyon tekniklerinin tamamında henüz yüzey zincir uzunlukları açısından net bir homojenizasyon sağlanmış değildir. Bu nedenle standart uzunluktaki bir yan grubun monomer ünitesine bağlanarak elde edilen polimerlerde fırça uzunluğu daha kolay kontrol edilir.

Bu çalışma kapsamında da yan grup zincir uzunluğu 360-500 olan PEG üniteleri taşıyan polimerler sentezlenmiştir. Bu sayede yüzeyde düzgün bir fırça yapısı elde edilerek son ürünün fizikokimyasal özellikleri kontrol edilmeye çalışılmıştır. Fırça olarak PEG gruplarının tercih edilmiş olması nedeniyle elde edilen fırça yapılar biyomedikal uygulamalar için önerilmiştir. Bu şekilde monomerden fırça yapıları elde edilmesiyle daha yüksek aşılama yoğunluklarına erişim için olanak sağlar. Bu sayede, yüzey modifikasyonu için büyük bir avantaj sağlanmış olur. Bu sistemde aşılama yoğunluklarının ayarlanması için aşı grubu içermeyen monomerik ünitelerle kopolimerizasyon öngörülmektedir. Şekil 2.8’de farklı aşılama yöntemleri ile fırça tipi polimerlerin elde edilme yöntemleri gösterilmiştir. Bu yöntemler dahilinde yüzey fonksiyonel gruplara sahip bir polimere, telehelik olarak aktif bir uç grup bulunduran polimer yapısı direkt olarak aşılabilir. Şekil 2.8a, Şekil 2.8b ve şekil 2.8c yapılarında ester, amit ve eterik bağlanmalar ile fırça yapıları oluşmaktadır. Şekil 2.8d ve şekil 2.8e’de alkil-azid ve tiyo-en Click reaksiyonları ile fırça grupları polimer ana zincirine aşılansaktadır. Şekil 2.8f ve şekil 2.8g reaksiyonlarında ise polimer yapısındaki epoksi halkalarının hidroksil ve amin grupları ile açılarak fırça tipi polimerik yapılar oluşturması görülmektedir.



Şekil 2.8. Farklı fırça yapılarının (a-g) polimer yüzeyine bağlanması.

2.3. Fırça Tipi Polimerlerin Uygulama Alanları

Fırça tipi polimerlerin yüzey fonksiyoneliyesi ve yüzey alanları fırça yapısına bağılı olarak belirgin şekilde değışkenlik arz etmektedir (Netz vd. 1997, Ryan vd. 2005, Santer vd., 2005, Singh ve ark 1997).

Özellikle fırça yapısının polimer ana zincirine sağladığı çözünürlük, işlenebilirlik, Tg değıerinin kontrol edilebilirliğı gibi temel avantajlardan kaynaklı pekçok uygulama için önemli bir alternatif ortaya koymaktadır. Bu nedenle fırça tipi polimer yapısı çok yeni bir konu başlığı olmasına rağmen, bu alanda pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir.

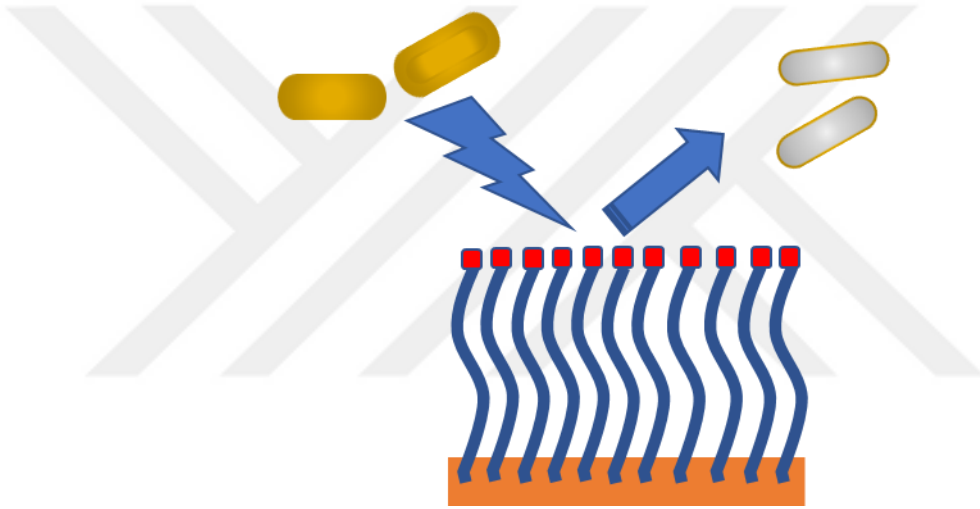
Malzeme bilimi, nanoteknoloji, biyokimyasal mühendisliğı, kataliz, fotonik uygulamalar ve reoloji alanlarında pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalara son yıllarda transistörler ve fotovoltaiik cihazlar alanındaki uygulamalarda eklenmiştir (Lonov vd. 2004, Jolthongpiput vd. 2003, Goodman vd., 2004, Minko ve ark 2002, Motornov vd., 2003).

Özellikle polimerik zincirler arasında belirgin ve düzenli boşluklar oluşturduğu için fırça tipi polimer yapıları kontrollü ilaç salım sistemleri ve hücre kültürü çalışmalarında da doku iskelesi olarak oldukça önem arz etmektedir. En önemli bir diğerk çalışma ise biyolojik kirlenmelerin azaltılması amacıyla kolon dolgu maddesi veya seçici membranların hazırlanmasıdır. Bu alanda uygun yapı ve fonksiyoneliite, fırça polimerler hazırlanarak atık suların içerisindeki boyar maddeler, ağır metaller ya da toksik kimyasalların uzaklaştırılmasında kullanılabilirler (Milner vd., 1988, Minko vd., 2004, Kaholev vd., 2004). Ayrıca yüzey fırça yapısının uyarı- cevap özellikli olması sayesinde yüzey özellikleri dış uyarıcılarla değışebilen akıllı fırça tipi polimerler literatürde sentezlenmiştir (Zhao vd., 2000, Zhao vd., 2005).

Buradan da anlaşılacğı gibi toksik kirlenmelerin önüne geçilebilmesi için fırça tipi polimerik yapılar iki tip mekanizma ile saflaştırma yaparlar. Bu mekanizmalar; Antibiyokirlenme ve Biyoyağılama olmak üzere 2 çeşittir.

Antibiyokirlenme uygulamalarında yüzeyde oluşabilecek biyokirlenmenin (Protein absorpsiyonu, bakteriyel adezyon, toksik kimyasal birikimi v.b) engellenmesinde yüzey yapısının değışmesi özelliğı kullanılmaktadır. Yüzeye bağlanmış olan yan gruplar farklı dış uyarıcılarla değışerek protein, bakteri ya da toksik kimyasalların yüzeye tutulmasına engel olurlar. Bu tür yüzeylerde fiziksel bir itme söz konusudur. Özellikle antibakteriyel yüzeylerin etkisinde literatür açısından

oldukça önemli yapılar fırça tipi polimerlerde hazırlanabilir. Bir diğer uygulamada ise öldür-uzaklaştır temelli antibakteriyel sistemler iyonik uç gruplu fırçalar ile rahatlıkla sağlanabilir. Bu tip yapılar açısından bakterinin hücre yapısındaki yük dengesini bozacak fırçaların üretilmesi oldukça önemlidir. Şekil 2.9’da antibakteriyel yüzey çalışmalarının genel bir çalışması verilmiştir. Bu çalışmalarda sterik itme, aktif öldüren yüzeyler ve aktif yüklü yüzeyler fırça tipi polimerik yüzeylerdir. Bu alanda ki çalışma sayısı her geçen gün daha da artmaktadır. Diğer bir önemli uygulama alanı ise yüzey hidrofiliğini ayarlamak için fırça tipi yapıların kullanılmasıdır. Fırça tipi polimer yapısı değiştirilerek yüzeyin sıvı temas açısı değeri de değiştirilebilir (Matsen vd., 2005, Milner vd., 1989, Minko vd., 2003).



Şekil 2.9. Fırça üzerine yerleştirilmiş antibakteriyel ajan ile geliştirilmiş antibakteriyel yüzey.

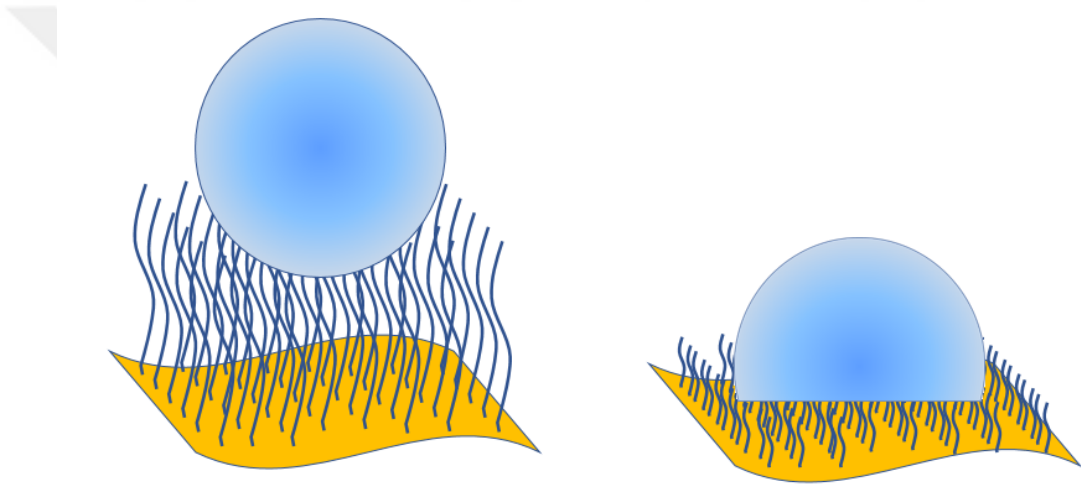
Higaki ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda yüzeyden başlayan polimerizasyonlar ile farklı hidrofiliğe sahip polipropilen filmler elde edilmiştir (Higaki vd., 2016).

Şekil 2.10’da fırça tipi polimerik yapıların su molekülü ile etkileşimleri şematik olarak görülmektedir. Yüzeye HEMA bağlı sistem de sıvı temas açısı yaklaşık 57° iken floroalkil metakrilat yapıları ve bağlı sistemde temas açısı 129° ye kadar çıkarılmıştır. Bu da fırça yapısının değiştirilerek polimer yüzey formasyonun ve sıvı temas açısının nasıl etkilendiğini bize göstermektedir. Farklı biyomedikal uygulamalarda sıvı temas açısı oldukça önemlidir. Özellikle vücut içi

uygulamalarda ve vücut sıvılarının absorpsiyonunda iyi bir ıslanabilirlik derecesi istenir. (60° den daha düşük)

Biyofilm ve toksisite oluşması istenmeyen sistemlerde ise 120° den yukarı sıvı teması açısı değeri istenmektedir. Yüzey kontrollü polimerizasyon yöntemi ile elde edilen fırça tipi yapılarda diğer bir önemli uygulama ise istenilen kaymazlıkta malzemenin hazırlanmasıdır. Özellikle yüksek kaymazlık sağlayan yapılar dallanmış ve polar fırçaların bağlanmasıyla sağlanırken iyi bir yapışmazlık için ise florlanmış fırçaların sentezi söz konusudur.

Genel olarak şekil 2.10’ da her iki sisteme ait fırça tipi polimerik yapılar gösterilmiştir. Bu uygulamaların haricinde farklı optik ve elektro-optik sistemlere uygun fırça tipi polimerik yapılardan literatürde görülmektedir.



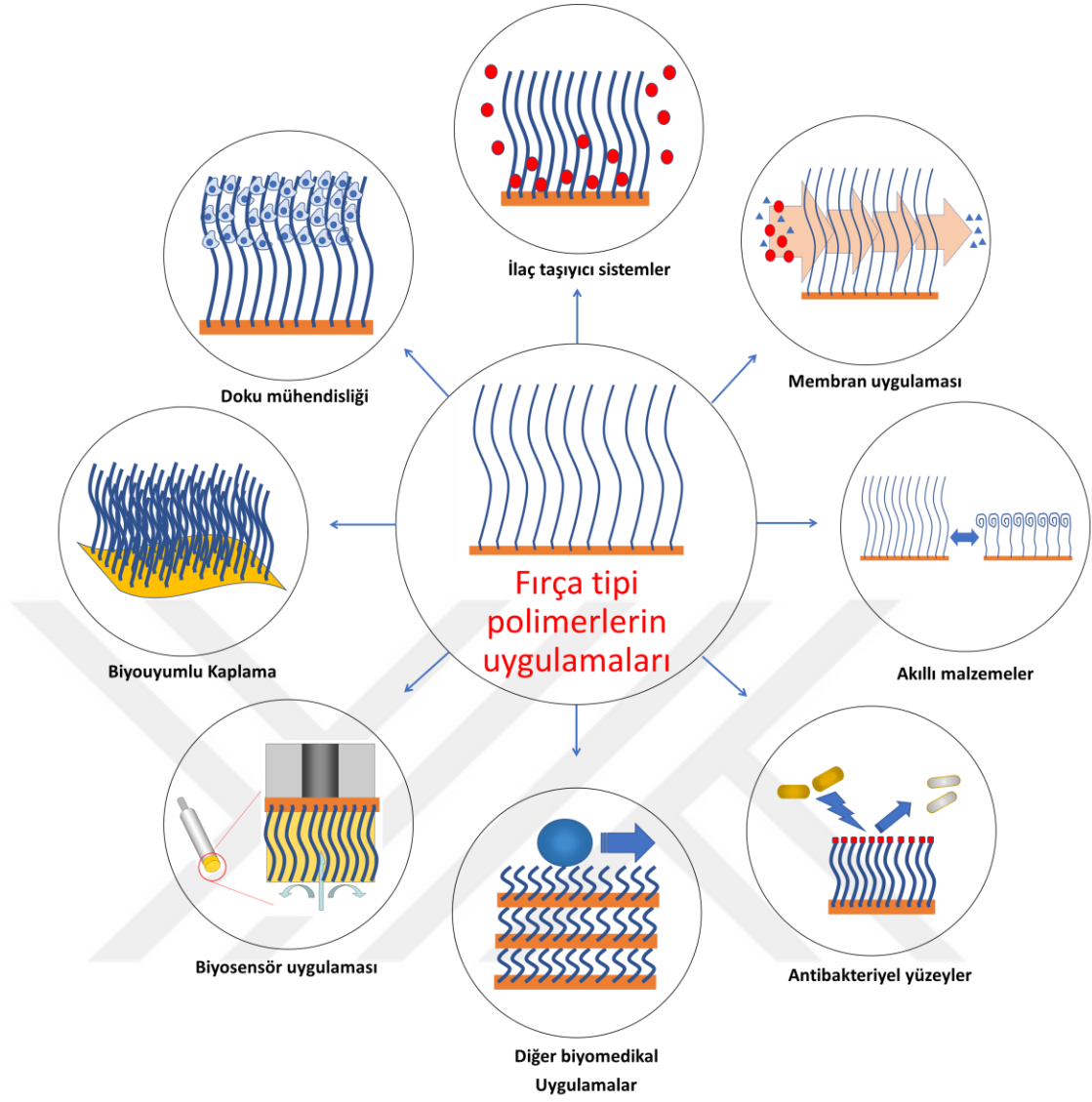
Şekil 2.10. Fırça tipi polimerik yapıların su molekülü ile etkileşimleri.

2.4. Fırça Tipi Polimerlerin Biyomedikal Uygulamaları

Günümüz teknolojisinde pek çok yeni nesil malzeme sayısı hızla artacak şekilde araştırılmaktadır. Bu araştırmalar arasında, optik ve elektronik malzemeler, enerji depolama ve üretimi için malzemeler, sensör ve biyosensörler, örnek saflaştırma için membranlar, hücre kültür ve doku mühendisliği, antibakteriyel kaplamalar, kompozitler, kataliz ve elektronik malzemeler bulunmaktadır (Şekil 2.11). Bu tür yüzeylerin dizayn ve kontrolünü gerçekleştirmek için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Özellikle fırça polimerler bu uygulamalar arasında oldukça önemli bir yer arz etmektedir.

Fırça polimerlerin sahip olduğu fırça yapısı, fırça boyu, uç gruplar ve bağlanma yoğunluğu gibi pek çok özellik yüzeyin kimyasını ve temel özelliklerini değiştirmektedir. Bu özellikler arasında hidrofiliklik, yüzey enerjisi, yapısal esneklik, termal kararlılık, yüzeyin kimyasal reaktivitesi gibi pek çok önemli durum söz konusudur. Ayrıca reolojik ve trigolojik özellikler, elektron ve enerji transferi, bağlanma ve absorpsiyon diğeri önemli özelliklerdir. Bu özelliklerin yanı sıra biyomedikal alanda önemli pek çok özellikte sağlamaktadır. Örneğin hücre adezyonu, antibakteriyel yüzeyler, doku destek malzemesi gibi alanlar için önemli yapılar fırça tipi polimerlerin fırça yoğunluğu ayarlanarak sağlanabilir. Bu alanda biyolojik olarak önemli olan pek çok kimyasalın tanımlanmasında kullanılarak sensörlerin geliştirilmesi önemli bir diğeri uygulama alanıdır. Yine biyoyumlu polimerik yüzeylerin hazırlanması ve kontrollü ilaç salınım sistemleri için düzenli salınım yapabilecek polimerik yapıların sentezlenmesi fırça tipi polimerlerin önemli biyomedikal uygulamaları arasındadır (Fang vd., 2002, Gou vd., 2000, Houbenov vd., 2005).

Medikal uygulamalarda kullanılabilecek biyomateryaller genellikle hücrelerin büyümesi için uygun biyoyumlulukta olmalı ve düşük toksisiteye sahip olmalıdır (Fang vd., 2006). Bu anlamda fırça tipi yapılar yapısal olarak biyoyumlu ve düşük toksisiteli polimerlerden sentezlendiği takdirde pek çok biyomedikal uygulamada oldukça aktif polimerik yüzeyler olarak kullanılabilir.



Şekil 2.11. Fırça tipi polimerlerin biyomedikal uygulamaları.

2.4.1. Fırça tipi polimerlerin antibakteriyel yüzey uygulamaları

Tıbbi alanda kullanılan cerrahi materyallerin ve cihazların yüzeylerinde bakterilerin kolonizasyon oluşturmaları sonucu insan sağlığı açısından ameliyatlardan sonrasında sorunlar açığa çıkmaktadır. Bu nedenle, bakteriyel bağlanma ve biyofilm oluşumunu önleyebilen antibakteriyel yüzeyler, uzun süre ilgi görmüş ve araştırmalarda odak noktası olmuştur. Özellikle biyomedikal alanında yapılan çalışmalarla bu yüzeyler aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir.

Antibakteriyel birçok strateji geliştirilmiş (Şekil 2.12) ve bu stratejilerden en çok ilgi göreni ‘Öldürme ve Serbest Bırakma’ tekniği olmuştur. Bu strateji akıllı antibakteriyel yüzeylerin oluşturulmasında etkili olup, umut verici tekniklerden biri olarak kabul edilmektedir. Oluşturulan bu yüzeyler üzerlerine yapışan bakterileri öldürebilir. Ardından bakteri kalıntılarını ve diğer döküntüleri açığa çıkarmak için talep üzerine serbest bırakabilir. Böylece yüzey uygun bir uyarı altında uzun süre antibakteriyel özelliğini korur.

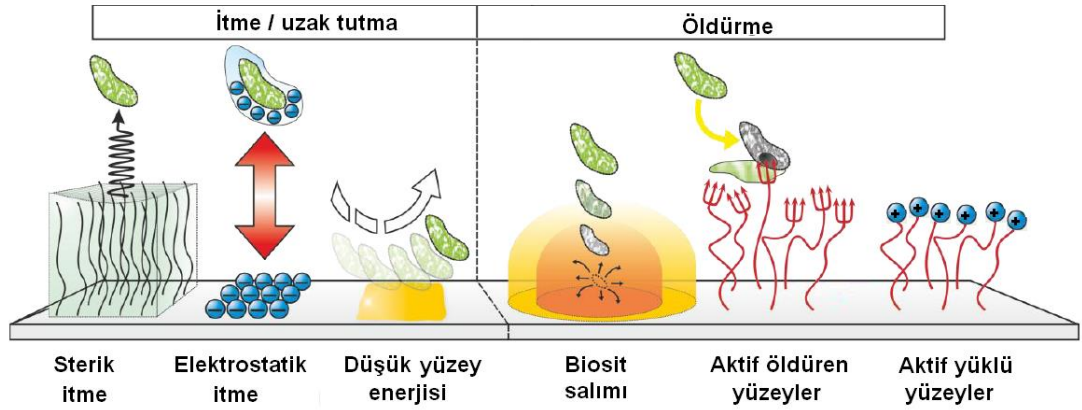
Geleneksel antibakteriyel yüzeyler tipik olarak mekanik işlemeye bağlı olan standart tiptedir .

i. Pasif defans antibakteriyel yüzeyler

- Bakterilerin ilk bağlanmasını önlemek için polietilen glikol (PEG) ve zwitteriyonik (çift kutuplu) polimerler gibi kirlenmeyen malzemeler kullanılır.

ii. Aktif atak antibakteriyel yüzeyler

- Bağlanmış bakterileri öldürmek için sentetik veya doğal biyositler kullanılır. Bu sentetik ve doğal biyositler yüzeyi oluşturacak polimere kovalent ya da ikincil etkileşimler ile bağlanırlar. Bu yüzeyler aktif olarak bakterilerin yüzeyde iken ölmesini sağlarlar.

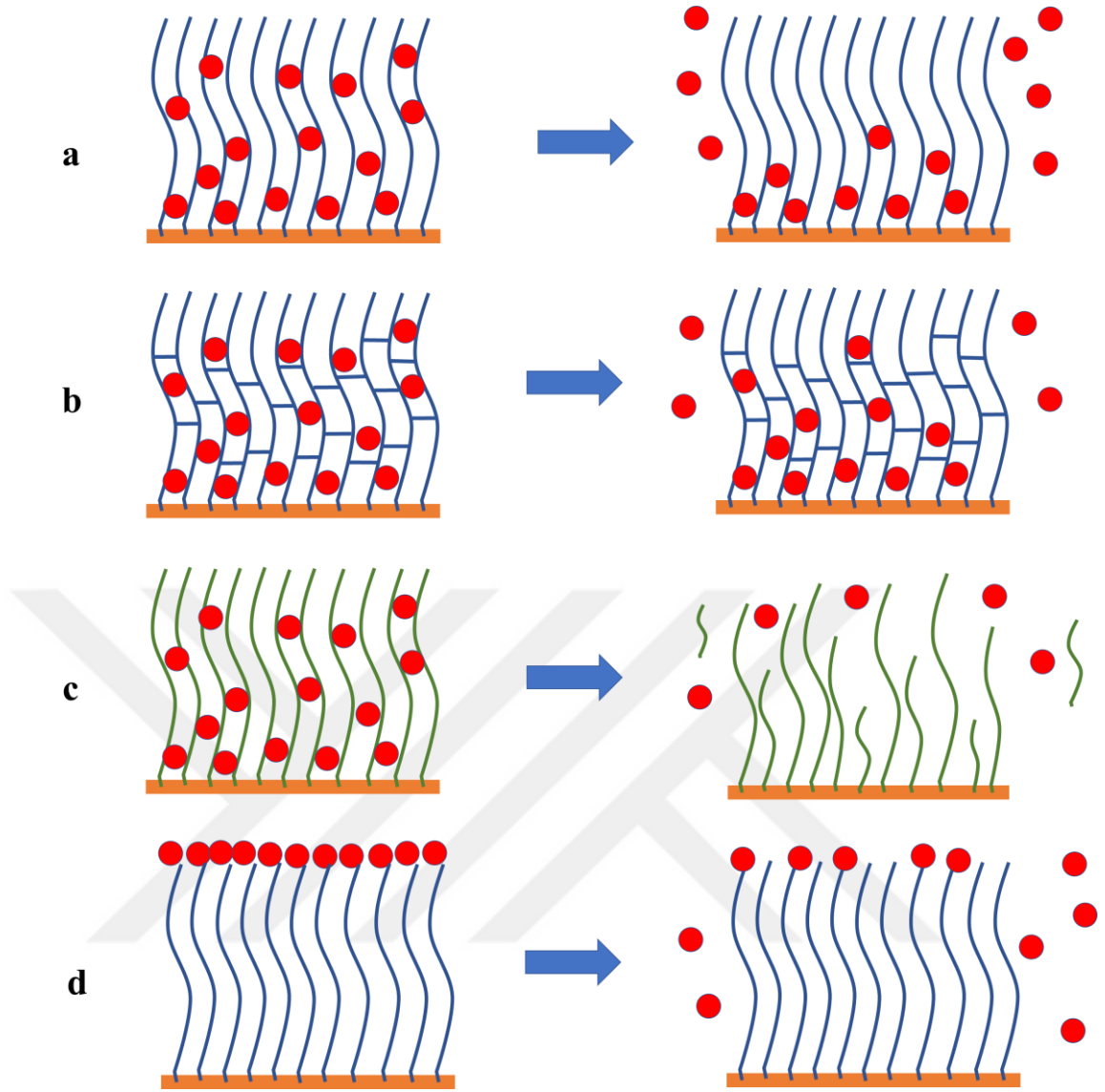


Şekil 2.12. Antibakteriyel yüzey çalışmalarının genel şeması (Siedenbiedel ve Tiller, 2012).

Her iki strateji açısından fırça tipi yüzeyler büyük önem arz etmektedir (Milner vd., 1991). Fırça tipi polimer yapılarında fırça yapısı üzerine bağlanan ya da fırça yapıları arasına tutuklanan antibakteriyel ajanların etkisi kullanılarak aktif yüzeyler hazırlanabilir. Örneğin Lim ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir

çalışmada silikon wafer yüzeyine fırça tipi olarak poli (L-izosiyano alanil L-alanil metil ester) bağlanmıştır (Lim vd., 2008). Bu yapılar özellikle mikrobiyal kontaminasyonun azaltılması için kullanılan fırça tipi yapılardır. Bu yapılar yüzeylerde ki bakteri oluşumunu engeller. Bakterilerin yüzeylere tutulmasını engelleyen bu tip sistemlere ek olarak anyonik fırça yapısına sahip polimerlerde bakterilerin hücre duvar yapısını bozarak bakterilerin bozunmasını sağlar. Örneğin silikon yüzeyine poliakrilamit fırçalar seauras s-solivarius ve calbicans türü bakterilerin adezyonunu %98 azaltır ve pek çok bakteri türü için buraya kadar yapılan ölçümlerde çok önemli antibakteriyel ölçümler göstermiştir. Hooks ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir çalışmada gümüş iyonları içeren bir fırça tipi polimerin bakteriyel kolonizasyonunu önemli oranda azalttığı hücre kültürü hattı üzerinde tespit edilmiştir. Aynı grubun bir diğer çalışmasında da antibakteriyel peptit bağlı metakrilol polimer fırçalar gram negatif bakteriler üzerinde çok yüksek etkiye sahip olmuşlardır.

Şekil 2.13'de fırça tipi polimerlerin antibakteriyel uygulamalarında antibakteriyel ajan ve salınma mekanizmaları şematik olarak gösterilmiştir. Bu uygulamalarda antibakteriyel ajan fırça yapısına tutuklanarak farklı mekanizmalar ile antibakteriyel özellik elde edilir. Bu sistemlerde fırça tipi polimer yapısından direkt antibakteriyel ilaç salımı (Şekil 2.13a), çapraz bağlı fırça yapısından ilaç salımı (Şekil 2.13b), biyobzunur fırça yapıları ile ilaç salımı (Şekil 2.13c) ve fırça yapısına uç grup olarak bağlanan antibakteriyel ajanların salımı (Şekil 2.13d) ile antibakteriyel özellik elde edilebilir.

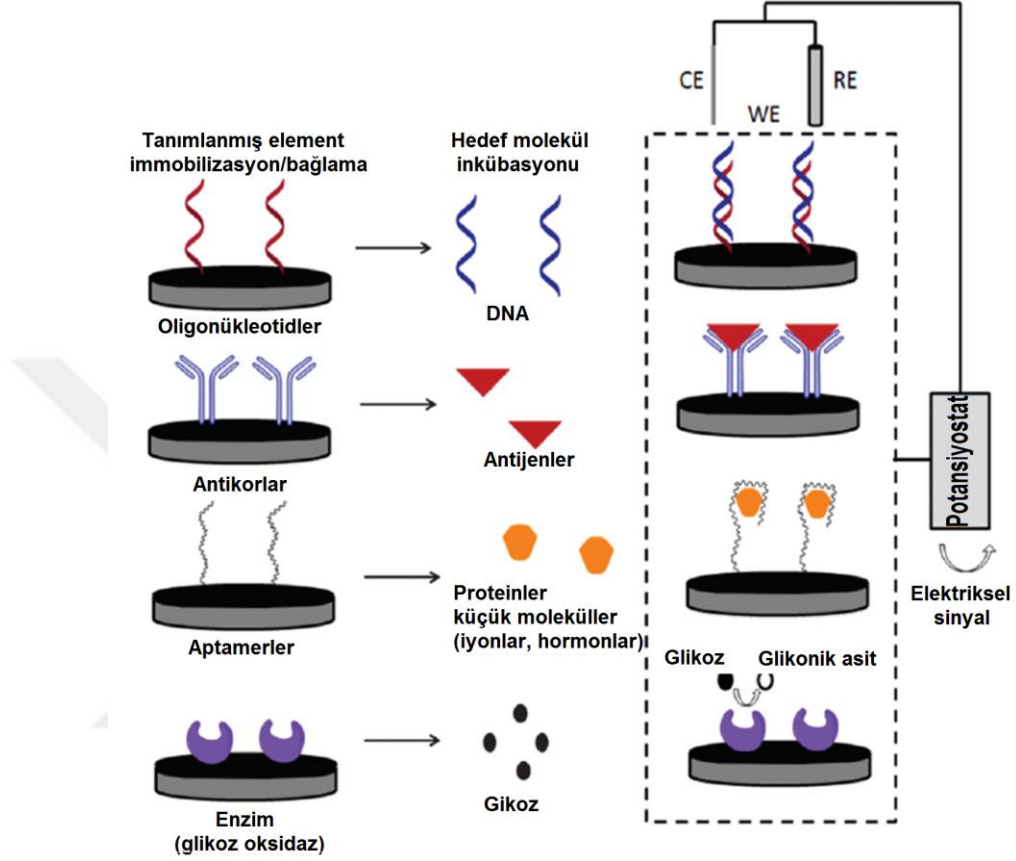


Şekil 2.13. Fırça tipi polimerlerin antibakteriyel uygulamalarında antibakteriyel ajan ve salınma mekanizmaları. (a; fırça tipi polimer yapısından ilaç salımı, b; çapraz bağlı fırça yapısından ilaç salımı, c; Biyobzunur fırça yapıları ile ilaç salımı, d; fırça yapısına uç grup olarak bağlanan antibakteriyel ajanların salımı ile antibakteriyel özellik sağlanan sistemler.)

2.4.2. Fırça tipi polimerlerin biyosensör uygulamaları

Biyosensörler herhangi bir biyolojik molekülün bir aracı vasıtasıyla nitel ve nicel olacak dijital sinyal ile dönüştürülmesini sağlayan cihazlardır. Genel olarak biyokimyasal önem arz eden hormonlar (dopamin, epinefrin, norepinefrin, adrenalin

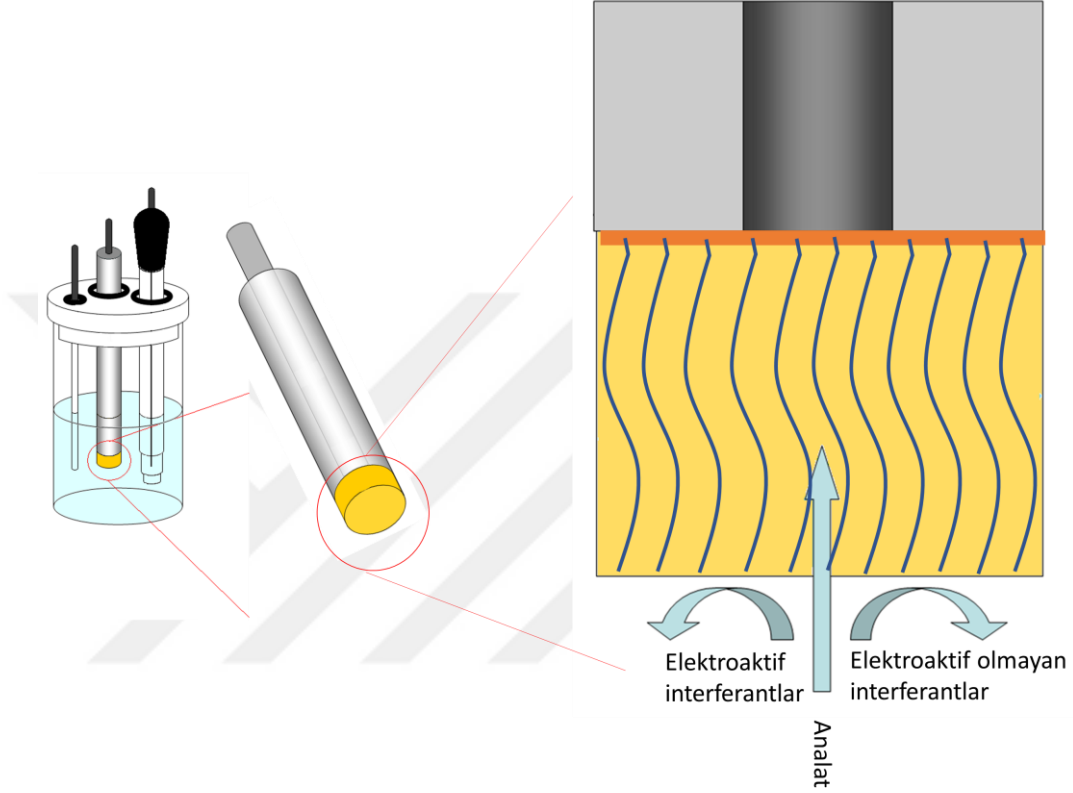
insülin v.b) ilaç etken maddeleri (parasetamol, naprosyan sodyum, asetil salisilik asit v.b) vitaminler (askorbik asit, E vitamini ve K vitamini v.b.) önemli biyomarkerler, hastalık belirteçleri ve gıdalarda bulunan önemli katkı maddelerinin belirlenmesinde genel olarak kullanılırlar.



Şekil 2.14. Elektrot yüzey modifikasyonları (Aydemir vd. 2016).

Bu tip yapıların belirlenmesinde öncelikle bu yapıyı algılayan bir sistem oluşturulur. Bu sistem iletken bir elektrot yüzeyine bağlanarak elektrotun biyolojik molekülü tanıması sağlanır (Şekil 2.14). Ancak bu tanıma işlemi sırasında analatın bulunduğu ortamda bazı aktif türler elektrot tarafından okunabilir ve girişim yapabilir. Bu girişim yapabilen türlerin elimine edilebilmesi için elektrotların modifiye edilmesi gerekmektedir. Fırça tipi polimerik yapılar sahip oldukları fırça uç grupları ve fırça yapıları sayesinde analat dışındaki türlerin elektrotlardan uzaklaştırılmasını sağlarlar (Şekil 2.15). Bu sayede girişimi engellerler. Diğer bir fırça tipi sensör uygulamasında ise fırça uç gruplarını aptamer, enzim, oligonükleotid, antibadi gibi türler bağlanarak elektrotun aktif bir yüzeye sahip

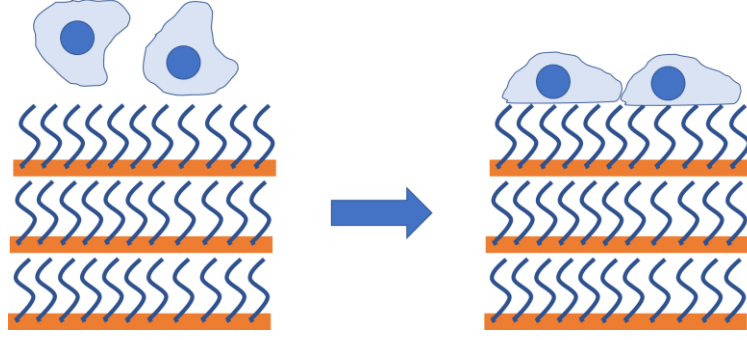
olması sağlanır. Şekil.2.14’da bu yapılar gösterilmiştir. Başka bir sensör çeşidi ise fırça yapıları içerisine ferrosen, rutenyum katalizörler Suzuki Hack katalizörleri gibi aktif katalizörler bağlanarak analatların elektrot yüzeylerinde katalizlenmesi ile gerçekleştirilir. Analat elektrot yüzeyinde katalizlenerek elektroaktif türler açığa çıkarır ve dijital bir sinyal alınması gerçekleştirilir.



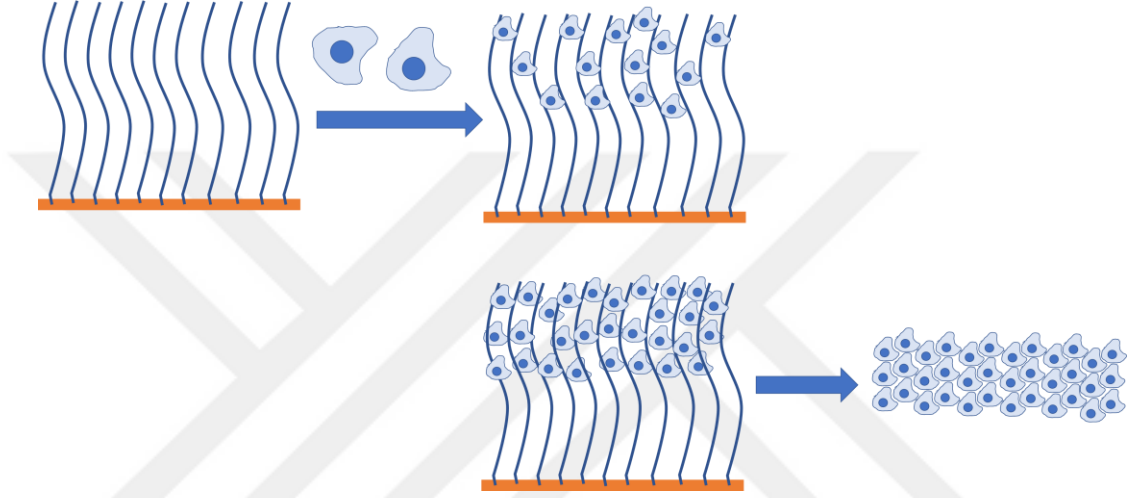
Şekil 2.15. Fırça tipi polimerlerin elektrot yüzeyindeki ölçüm mekanizması.

2.4.3 Fırça tipi polimerlerin doku mühendisliği uygulamaları

Fırça tipi polimerik yapılar biyouyumlu fırça grupları ile özellikle doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda polimerin fırça yapıları üzerine hücre ekimi yapılarak hücrelerin üretilebilmesi için uygun bir ortam oluşturulur (Şekil 4.16). Fırça yapısı ayarlanarak polimer fırçaların ara boşluklarında hücrelerin tutunarak büyüyeceği ve çoğalacağı bir ortam oluşturulabilir. Bu alanda özellikle polilaktik asit (PLA), polietilen glikol (PEG), polihidroksi bütirat (PHB) ve polivinil alkol (PVA) fırçalar yaygın olarak tercih edilmiştir.



Şekil 2.16. Fırça tipi polimer yüzeyinde hücre büyütülmesi.



Şekil 2.17. Fırça yapısı içerisinde hücre yapısının oluşumunun görülmesi.

2.5. Fırça Tipi Polimerlerin Analiz Yöntemleri

Polimer kimyası günümüzde önemini giderek arttırmaktadır. Artan bu öneme bağlı olarak yapısal ve fonksiyonel polimer türleride çeşitlenmektedir. Her geçen gün yeni ve teknolojik polimer türleri ve ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu süreçte çeşitliliği artan polimer yapılarının analiz ve karakterizasyonunda yeni yöntemler ve cihazlar geliştirilmektedir. Genel olarak bu süreçte önemli bir yenilik olarak fırça tipi polimerler ortaya çıkmıştır. Bu tür polimerlerin analiz ve karakterizasyonunda iki temel odak noktası söz konusudur. Birinci odak noktası fırça yapısını oluşturan yan grupların analizi, diğer odak noktası ise klasik polimer analiz parametreleridir. Birinci odak noktasında fırça kimyasal yapısı, fırça dallanması, fırça yoğunluğu, fırça polimer molekül ağırlığı ve fırça uyarı-cevap özelliklerinin belirlenmesi gibi parametreler ölçülmektedir (Gref vd., 2000, Lonov vd., 2004). İkinci odak noktasında ise polimer yapısı, polimer morfolojisi, polimer ortalama molekül kütlesi,

polimer yapısının temel fizikokimyasal özellikleri, kararlılık ve mekanik özellikleri ölçülmektedir. Bu özelliklerin ölçümünde pek çok analiz tekniği bir arada kullanılarak yorumlama gerekmektedir. Özellikle yapısal karakterizasyon işlemlerinde kimyasal yapının belirlenmesinde elementel analiz, FTIR, NMR ve EDX gibi teknikler kullanılırken yüzey morfolojilerinin ölçümünde SEM, AFM, konfokal mikroskop, steromikroskop, Raman gibi teknikler gerekebilir. Yapısal ve fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesinde viskozimetre, reometre, GPC ve dinamik ışık saçınım cihazı gibi ölçüm cihazları gerekebilir. Termal özelliklerin ölçümü için DTA, DSC, TMA ve TGA cihazları kullanılmaktadır.

Çizelge 2.1. Fırça tipi polimerlerin kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi için kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları.

Analitik Amaç	Cihaz ve Teknik
Ana zincir ve yan dal yapısının analizi	NMR, FTIR, elementel analiz, ATR-FTIR, Raman
Termal özelliklerin belirlenmesi	DTA, TGA, TMA, DSC, TGA-MS, CONE kalorimetre
Yüzey ve tekstür analizi	SEM, AFM, STM, BET, XPS
Partikül morfolojisi ve dağılımı, fırça yan grup dağılımının belirlenmesi	Dinamik ışııl saçılımı
Fiziksel özelliklerin belirlenmesi	GPC, UV, DSC, viskozimetre, sıvı temas açısı ölçümü, Reometre
Mekanik özelliklerin belirlenmesi	TMA, DMA, sertlik testi

Günümüzde yaygın olarak kullanılan ve genellikle optik özellikleri ve biyoyumlulukları nedeni ile çok tercih edilen poliakrilatların analizinde en çok tercih edilen analiz yöntemleri NMR, FT-IR, elementel analiz, ATR-FTIR, Raman cihazlarıdır (Khalatur vd., 1997). Polimer zincir esnekliği, termal kararlılık, yoğunluk, Tg, mekanik dayanım, darbe dayanımı, sertlik gibi fiziksel özelliklerinin tespitinde ise pek çok enstrümental analiz tekniği bir arada kullanılmaktadır. Fırça yapılı polimerlerin yan gruplarının ve bu grup yoğunluklarının belirlenmesinde fırça yapısı olan ve dallanma bulundurmeyen yapıların bir arada analizlenmesi ve birlikte yorumlanması gereklidir (Li ve ark 2004, Liu vd., 1994, Lupitsky vd., 2005). Bu

amaçla günümüz literatüründe fırça türü polimer yapılarının analizinde kullanılan yaygın yöntemler Çizelge 2.1’de liste olarak verilmiştir. Bu listede kullanılan analiz yöntemi ve kullanılan analitik hedefler ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Polimerik yapıların yapısal analizinde en önemli tekniklerden bir tanesi FTIR analizidir. Bu analiz yönteminde elektromanyetik ışımanın infraret bölgesindeki ışımlar analizi yapılacak numune üzerine düşürülerek numunenin yapısında bulunan bağların titreşmesi sağlanır. Bu ışıma türü sayesinde molekülün üzerinde titreşim ve dönme düzeyde önemli geçişler gerçekleşir. Bu geçişlerin gerçekleşmesi için molekülün kullandığı ışığın dalga sayısı belirlenir ve yüzde geçirgenliğe karşı grafiğe geçirilir. Genellikle bu spektrum aralığı 2.5-25 μm aralığındadır (Erdik, 2008). Bu aralık dalga sayısı olarak düşünüldüğünde 400-4000 cm^{-1} aralığında bir spektrum elde edilir. Bu spektrumda iki temel bölge bulunmaktadır. Bunlar molekülün yapısal olarak (moleküler) soğurum yaptığı 400-1200 nm aralığıdır (Erdik, 2008). Bu spektrum bölgesinde molekül içindeki grup ve bağlardan kaynaklanan soğurumlar bulunduğu için bu aralığa parmak izi bölgesi denilir. Diğer soğurum bölgesi ise 1200-4000 cm^{-1} dalga sayısı bölgesidir. Bu aralıkta ise bir molekülde bulunan bağların ve yan grupların yaptığı pikler elde edilir. Genel yapı analizinde bu bölge oldukça önemlidir ve molekülün yapısı hakkında çok önemli bilgiler vermektedir.

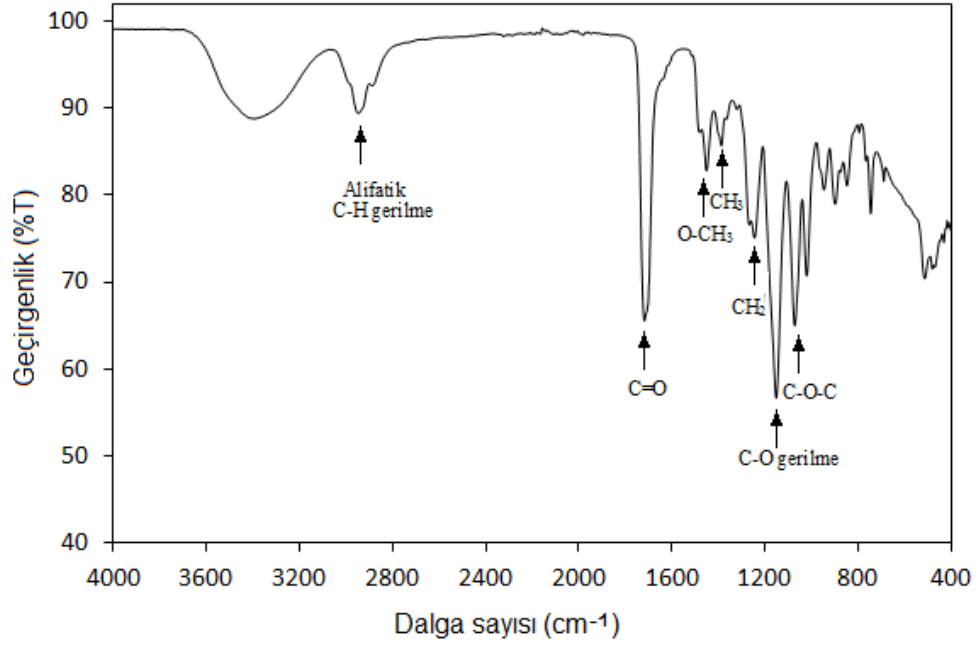
FTIR analizi ile gerçekleştirilen yapı analizinde molekül üzerinde iki tür moleküler titreşim hareketi gözlenir. Bu titreşim hareketleri gerilme ve eğilme titreşimleridir. Gerilme titreşimi ile molekülde, eksenleri boyunca uzama ve kısaltmalar gözlenir. Molekülün bağı boyunca görülen bu uzalma, simetrik ve asimetrik gerilme şeklinde olabilir. Asimetrik gerilmeler genellikle daha yüksek enerji gerektirir. Eğilme titreşimlerinde ise molekülde bulunan bağlar arasındaki açının değişmesi ve molekülün geometrik düzleminin bozulması gözlenir. Eğilme titreşimleri düzlem içi ve düzlem dışı olmak üzere iki türdür. Bunlardan düzlem içi eğilme titreşimleri makaslama ve sallanmadır. Düzlem dışı eğilme titreşimleri ise dalgalanma ve burulmadır (Erdik, 2008). Düzlem dışı eğilme titreşimleri daha çok enerji gerektirir. FTIR analizi sırasında bir bağa ait gerilme ve eğilme titreşimlerinin sayısı genellikle birden fazla olacak şekilde, aynı spektrum üzerinde görülebilir. Bir FTIR spektrumu üzerinde bir bağ için birden çok bilgi bulunmaktadır ve bu nedenle FTIR ile yapı analizi oldukça güvenilir bir tekniktir.

FTIR analizi katı, sıvı ve gaz olarak tüm numuneler için etkili, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Genellikle pratik, hızlı ve ekonomiktir. Çok düşük örnek miktarlarında bile yapı analizi için idealdir. Numune analizleri sırasında numune katı ise 400 mg'ı 4000 mg KBr içerisinde öğütülerek katı örnek haznesine bırakılarak ölçüm yapılır (Gündüz, 1990). Diğer bir metod ise, nujol gibi bir sıvı ile pasta formuna getirilerek okuma yapmaktır. Bu teknikte molekülde bulunan bağ ve fonksiyonel grupların karakteristik soğunum pikleri ve bu piklerin şiddetleri işlenir. Genel olarak, yapı tayini, kalitatif analiz, hidrojen bağının bulunması, atomlar arasındaki bağ açısı ve uzunluklarının belirlenmesi, saflık kontrolü, reaksiyon kinetiği takibi ve bazı fonksiyonel grupların reaksiyonlar esnasındaki konumun belirlenmesi için kullanılır (Gündüz, 1990).

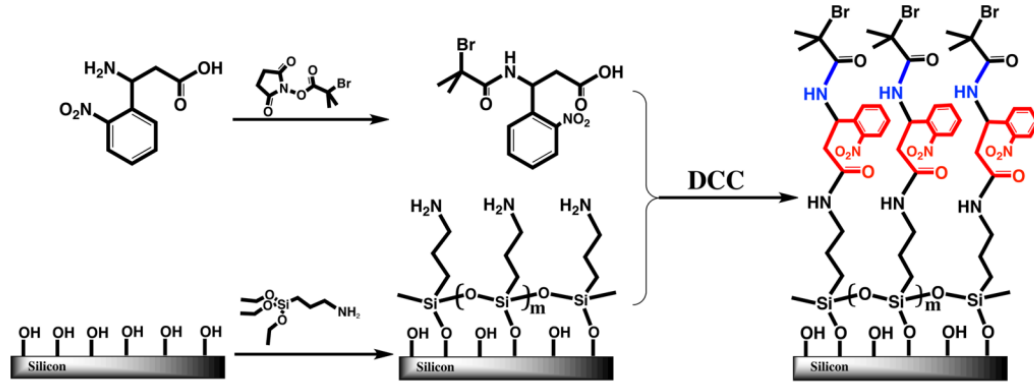
Çizelge 2.2. PMMA yapılı polimerlere ait temel pikler ve bu piklerin dalga sayısı değerleri.

Titretim pikleri	Dalga sayısı (cm^{-1})
Alifatik C-H gerilme	2850 – 2950
C=O gerilme	1724 – 1715
O-CH ₃	1446
CH ₃ gerilme	1340
CH ₂ (burulma)	1240
C-O-C	987
C-O gerilme pikleri	1140

PMMA yapılı polimerlerin FTIR analizinde (Şekil 2.18) genel olarak belirli pikler görülmektedir (Çizelge 2.2) bu pikler arasında özellikle C=O piki yaklaşık 1750 cm^{-1} 'de görülmektedir. Ayrıca C-O-C piki ve O-CH₃ piki sırası ile 987 ve 1446 cm^{-1} 'de bulunmaktadır. Genel olarak PMMA yapılı polimerlerin analizinde bu piklerin varlığı önemlidir. Ayrıca diğer bir önemli durum ise monomerik yapıda bulunan 1660 cm^{-1} 'de bulunan C=C pikinin polimerizasyon sonrasında kaybolması ve C-C pikine dönüşmesidir. Bu değişim olefin monomerlerinin polimerizasyonu açısından önemlidir.



Şekil 2.18. PMMA yapılı polimerler için örnek bir FTIR spektrumu.

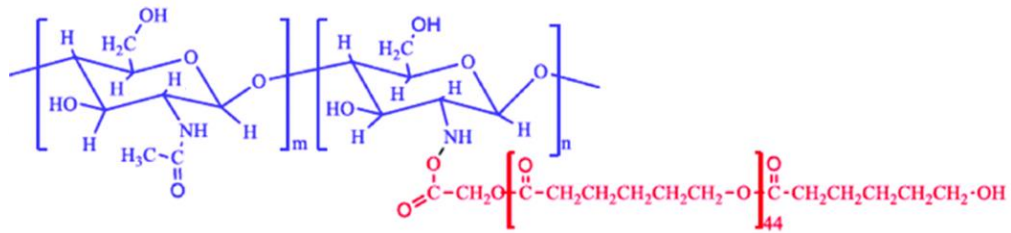


Şekil 2.19. Silikon yüzeyine fırçatipi polimer sentezi için başlatıcı bağlanması (Kang vd., 2014).

Fırça tipi polimer sentezinde aşılama öncesi ve aşılama sonrası yapıların aydınlatılması, yüzey modifikasyonu ve aşılama işleminin doğrulanması gibi işlemlerde FTIR tekniği oldukça önemlidir. Ayrıca fırça tipi yapıların eldesi için polimer yüzeyinin aktive edilmesi ya da yüzeye bir başlatıcının bağlanması sırasında FTIR tekniği kritik önem arz eder.

Şekil 2.19’de ise FTIR tekniği ile silikon yüzeyine ATRP işlemi ile fırça yapılarının oluşturulması için Br- içeren bir başlatıcının bağlanması şematize edilmiştir (Kang vd., 2014). Bu bağlanma işlemi ve yüzeye yapılan aşılama Kang ark tarafından FTIR tekniği kullanılarak aydınlatılmıştır (Kang vd., 2014).

Fırça tipi polimer yapılarını ve aşı polimerlerin yapılarını analizlemenin diğer bir yöntemi de NMR spektrumlarıdır. Bu teknikte polimer yapısında bulunan H ve C’ların kendi atomik çevrelerine bağlı olarak pikleri ve pik yarılmaları belirlenir. Pik yapıları aşılama öncesi ve sonrası durumda değişeceği için fırça yapısının oluşumu kolayca aydınlatılabilir. Örneğin Şekil 2.20’de Kitosan polimerik yapısı üzerine polikaprolakton aşılama elde edilen kitosan-g-polikaprolakton yapısı görülmektedir (Georgopoulou vd., 2018). Bu fırça tipi polimerik yapının oluşumu NMR spektrumları ile takip edilmiştir. Sonuç ürün olan kitosan-g-polikaprolakton yapısında her iki gruba ait piklerin bulunması kitosan yapısına polikaprolaktonun başarılı bir şekilde aşılandığının göstergesidir (Georgopoulou vd., 2018).



Şekil 2.20. Kitosan, polikaprolakton ve kitosan-g-polikaprolakton yapılarına ait NMR spektrumları (Georgopoulou vd., 2018).

Bir polimer zinciri üzerine düzenli olarak başka bir polimer yapısının bağlanması ile elde edilen fırça tipi polimer sistemlerde pek çok fiziksel özellik değişmektedir. Bu özellikler arasında polimer serbest hacim değerinin değişmesi, çözünürlüğün artması, Tg değerinin düşmesi, polimer esnekliğinin değişmesi gelmektedir. Ancak değişen özellikler arasında en önemlisi polimer termal özellikleri gelmektedir. Bu nedenle fırça tipi polimerlerde termal özelliklerin ölçülmesi önemlidir. Maddeler ısıtıldıklarında veya soğutulduklarında çeşitli değişimlere maruz kalırlar. Bu değişimler;

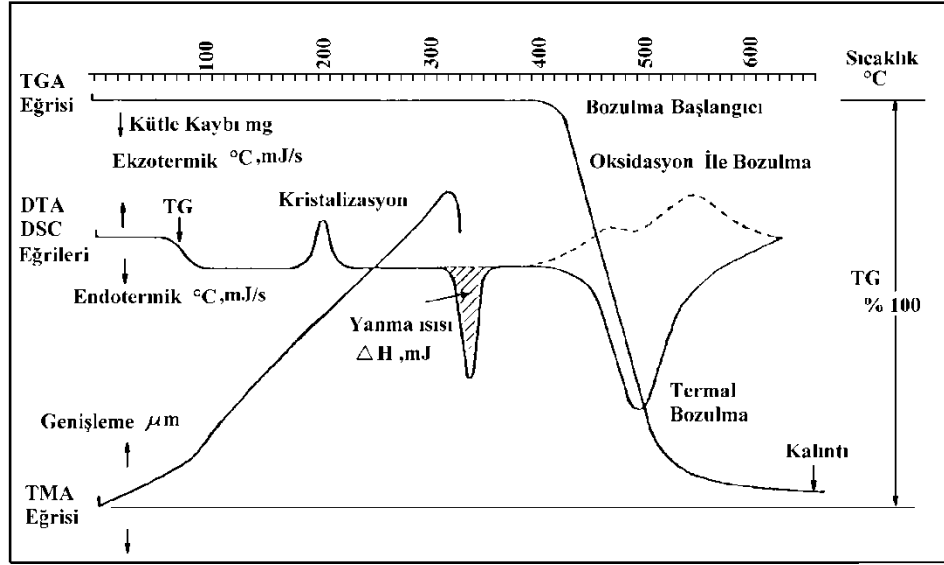
Maddenin hal değişimleri,

- Maddelerin termal bozulması,
- Maddelerin kristal formunun değişmesi,
- Termooksidatif reaksiyonların entalpi değerleri,,
- Yapıdaki uçucu bileşenlerin belli sıcaklıklarda yapıdan uzaklaşmasından dolayı ağırlık kayıpları,
- Belli sıcaklıklarda ortamdaki gazlar ile etkileşip reaksiyon vermeleri ve bu nedenle olan ağırlık artışları,
- Bazı sıcaklıklarda maddenin boyutlarındaki değişim (genleşme, büzölme, vb.),
- Sıcaklığa bağlı olarak maddenin elektriksel direncindeki değişmeler.
- Metallerin oksidasyonudur.

Bu değişimler sırasında geręekleřen ağırlık kayıp ya da kazançları, ısı alışverişleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçülebilir. Bu değişimlerin belirlenmesinde farklı teknikler termal analiz olarak geręekleřtirilebilir. Örneğin sıcaklığa bağlı olarak örneğin ağırlığındaki değişim termogravimetrik analiz (TGA), örnekte oluşan ısı alış verişleri Diferansiyel termal analiz (DTA), örnekte geręekleřen reaksiyonların kalorimetrik değişimleri Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), örnekten uzaklaşan gazların analizi (EGA), ısıl iletkenlik analizi (TCA) ve termomekanik analiz (TMA)'dır.

Termal analiz yöntemleri pek çok alanda kullanılmaktadır. Genel olarak termal analiz yöntemi, boyar madde endüstrisi, petrokimya endüstrisi, ilaç endüstrisi, sabun ve kozmetik sanayi, gıda sanayi, seramik, hibrit materyal, biyomalzemeler ve polimerik malzeme endüstrilerinde kullanılmaktadır. Araştırma alanında ise özellikle sentezlenen yeni bileşiklerin termal özelliklerinin belirlenmesinde, yapısal ve fizikokimyasal özelliklerinin saptanmasında kullanılırlar. Bu özellikler arasında termal bozulma sıcaklıkları, T_g sıcaklığı, raf ömrü, erime, kristalizasyon ve faz dönüşüm sıcaklıkları gelmektedir. Özellikle fırça tipi polimerik yapılarda fırça yapısının polimer ana zincir üzerine bağlanması ile polimerin fiziksel ve termal özellikleri büyük oranda değişmektedir. Fırça tipi polimerlerde fırça grubunun kimyasal yapısı, aşılma sıklığı, fırça uzunluğu gibi parametreler termal özellikleri

değiştirdiği için termal analiz yöntemleri bu alanda yapısal tanımlama açısından büyük önem arz etmektedir.



Şekil 2.21. Farklı termal analiz teknikleri ile elde edilmiş termal analiz termogramları.

Diferansiyel termal analizde (DTA), örnek ile termal olarak inert olan bir referans maddesi arasındaki sıcaklık farkı, her iki maddeye de aynı sıcaklık programı uygulanarak ölçülür (Küçük, 2013). Termal eğri, sıcaklık farkının iki maddeden birinin sıcaklığının fonksiyonu olarak çizilmesi ile elde edilir. Örnek ile referans maddesi arasında sıcaklık farkı aşağıdaki durumlarda söz konusudur (Köytepe, 2000).

- Örnekte belirli sıcaklıkta bir kimyasal tepkime varsa
- Bir faz değişimi söz konusu ise
- Madde bozuluyorsa
- Maddeden çözgen veya küçük bir molekül ısı ile uzaklaşıyorsa

Bu gibi olaylarda ΔH pozitif ise endotermik tepkime, eğer ΔH negatif ise ekzotermik tepkime söz konusudur. Polimer analizlerinde özellikle termal bozulma sıcaklığı geniş bir ekzoterm olarak kaydedilir. Ayrıca DTA ile polimerlerin bozulma piki ve bozulması için polimere verilmesi gereken enerji miktarı da belirlenebilir.

Termogravimetri (TG) yönteminde, sıcaklık artışına karşılık örneğin kütlesindeki değişim ölçülür. Sonuçta bir sıcaklık-kütle eğrisi veya sıcaklık-% kütle kaybı eğrisi elde edilir (Şekil 2.21). Polimerlerin termal bozulma sıcaklıklarının belirlenmesinde termogravimetrik analiz, DTA kadar çok tercih edilir. Bu teknik ile polimerlerin belirli sıcaklıklardaki bozulma miktarları, bozulma başlangıç miktarı, % 10'luk kütle kayıp sıcaklığı ve % kalıntı miktarı gibi önemli bilgiler elde edilir (Köytepe, 2000).

Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) yönteminde, örnek ile referans maddesinde aynı sıcaklık programı uygulanırken örnekte veya referansta bir değişiklik olması durumunda örneğe veya referansa dışarıdan sıcaklık eklenerek her iki maddenin de aynı sıcaklıkta kalması sağlanır. DSC eğrileri bu eklenen ısıнын sıcaklığa karşı çizilmesi ile elde edilir. Bu eğride oluşan piklerin altında kalan alan, tepkimede absorplanan veya açığa çıkan ısı ile doğru orantılıdır. Pik yüksekliği tepkime hızı ile doğru orantılıdır. DSC yalnız entalpi değişiminin olduğu olaylara karşı değil aynı zamanda örnek ile referansın ısı kapasiteleri arasındaki farka karşıda çok duyarlıdır. Bu nedenle polimerler için çok önemli olan polimerlerin camsı geçiş sıcaklığının (T_g) belirlenmesinde kullanılır (Köytepe, 2007).

Bir poliüretan yapısının analizinde yüzey analiz teknikleride oldukça önemlidir. Bu teknikler arasında taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve diğer mikroskobik teknikler gelmektedir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), malzemelerin yüzeydeki oluşumlarını yüksek büyütmede fotoğraflamayı sağlayan cihazdır. Üzerine monteli olan EDX sistemiyle malzemelerin üzerindeki element dağılımını görmeyi sağlar. Tek seferde pek çok numune çalışabilmek mümkündür (Küçük, 2013). Yaklaşık olarak 30-40 nm'ye kadar çözme kapasitesi vardır. Cihazın büyütme kapasitesine bağlı olarak yüzey görüntüsünü 150000 – 200000 civarında büyütebilir (Küçük, 2013).

Cihazın temel çalışma prensibi, yoğunlaştırılmış ve odaklanmış bir elektron demetinin numune yüzeyine düşürülerek, yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli etkileşimler neticesinde meydana gelen etkilerin dedektör tarafından algılanmasıdır. Cihazda elektron kaynağı olarak tungsten filament kullanılır. Bu flamente yaklaşık olarak 2,5 amperlik akım verilerek elektron üretimi sağlanır. Cihazın kolon bölgesindeki elektromanyetik lensler

sayesinde oluşan elektron demeti yönlendirilir. Aynı zamanda bu elektronik lensler numunenin bir uçtan diğer uca elektronlar tarafından taranmasını sağlar. Elektronun malzemeye etkileştiği bölümden geriye bir takım sinyaller yayılır. Bunlarda üç tanesi bilgi amacıyla kullanılır. Bunlar ikincil elektronlar, geri saçılım elektronları ve karakteristik X ışınlarıdır. İkincil elektronlar topografik görüntüler verirken, geri saçılım elektronları faz farkına dayalı görüntüler verir. Karakteristik X ışınları yüzeydeki element dağılımına dair bilgileri içerir. Cihaz yüksek vakum altında çalışır. Bunun nedeni; kolon bölgesindeki elektronların hava atomlarıyla etkileşimini engellemektir (Küçük, 2013).

Fırça tipi polimer yapılarının analizinde önemli bir teknik mikroskopik yüzey incelemeleridir. Özellikle taramalı elektron mikroskobu (SEM) bu alanda oldukça yaygın kullanılmakta olup fırça yapılarının polimer yüzeyine bağlanması öncesi ve sonrasında genel değişimleri oldukça iyi yansıtmaktadır. Yüzey boyunca yerleşen fırça yapılarının düzenini ve dağılımını göstermektedir. Bu nedenle aşılama öncesi ve aşılama SEM analizleri yapılarak polimer yüzeyindeki fırça yapılarının kontrolü hatta farklı dış uyarıcılar karşısında fırça morfolojisinin nasıl değiştiği belirlenebilir.

2.5. Amaç

Tez çalışmasının temel amacı, pek çok biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek biyouyumlu, biyobozunur, kontrol edilebilir yüzey özelliklerine sahip fırça tipi polimerlerin sentezlenmesi ve karakterize edilmesidir. Özellikle fırça yapısının oluşturulurken farklı uzunlukta PEG molekülleri kullanılarak polimer yapısının yüzey biyouyumluluğunun ve hidrofilikliğinin ayarlanması çalışmanın diğer bir önemli amacını oluşturmaktadır. Bu amaç dahilinde farklı molekül kütlelerinde PEGMA yapıları kullanılarak MMA ve HEMA monomerleri ile kopolimerler sentezlenmiştir. Kopolimerizasyon işleminde HEMA:PEGMA ve MMA:PEGMA oranları 0:100, 20:80, 40:60, 50:50, 60:40, 80:20 ve 100:0 olacak şekilde sentezler gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyonda serbest radikal polimerizasyonu tercih edilmiştir. Polimerizasyonlar AIBN başlatıcısı ile 80 °C’de gerçekleştirilmiştir. Bu sayede farklı fırça boy ve yoğunluklarında polimerik yapılar sentezlenmiştir. Sentezlenen bu polimerik yapıların yapısal karakterizasyonları için FTIR, elementel analiz ve SEM teknikleri kullanılmıştır. Çalışma kapsamında biyouyumlu olarak planlanan polimerler için biyouyumlu yüzey, ilaç salım sistemi, antibakteriyel yüzey ve enzim immobilizasyon matriksi olarak planlanmıştır.

Çalışmanın temel amaçları doğrultusunda erişilmek istenen hedefler sıralanmıştır;

1. İlaç salımı, biyouyumlu polimer ve enzim taşıyıcı sistem özelliklerinde fırça morfolojili polimerler sentezlemek. Bu sentezlerde PEG360MA ve PEG500MA biyouyumlu karakterde bileşen olarak seçilmiştir. Monomer olarak farklı mol kütlelerinde çalışılarak degradasyon ürünleri toksik etki oluşturmayacak, biyouyumlu polimerler hazırlanacaktır.

2. Hazırlanan polimerlerin L-929 fibroblast hücreleri üzerinde biyouyumluluk ve biyoetkinliğinin in vitro test edilmesi çalışmanın temel hedeflerindendir.

3. Tez kapsamında biyouyumluluğu arttırılmış polimerlerin yapısal karakterizasyonu öncelikle elementel analiz, FTIR, SEM teknikleri ile planlanmıştır. Termal kararlılıklarının belirlenmesi için TGA ve Tg sıcaklıklarının belirlenmesi için DSC analizleri hedeflenmiştir.

4. Biyomedikal alanda özellikle ilaç salım sistemleri, enzim immobilizasyonu, biyouyumlu yüzeyler ve antibakteriyel özellikte polimerler sentezlemek, önerilen çalışmanın sonuç hedefidir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

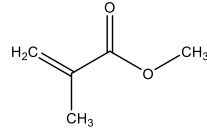
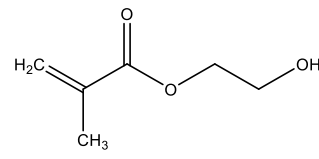
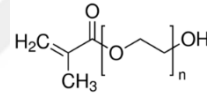
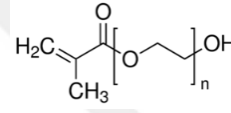
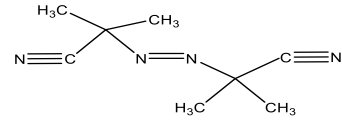
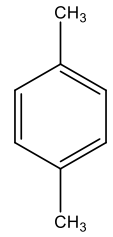
Çalışma kapsamında iki farklı molekül kütlesinde poli(etilen glikol) metakrilat yapısı kullanılarak homo ve kopolimerler hazırlanmıştır. poli(etilen glikol) metakrilat yapısı olarak PEG360 ve PEG500 yapıları tercih edilmiştir. Kopolimerlerin sentezinde komonomer olarak metil metakrilat ve hidroksietil metakrilat yapıları kullanılmıştır. Bu sayede yapısal olarak farklı dört grup fırça tipi polimerik yapı elde edilmiştir. Polimerik yapıların sentezinde kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.1. 'de verilmiştir.

Sentez aşamalarında kullanılan temel monomerler ve başlatıcılar Sigma-Aldrich' ten temin edilmiştir. Çözücüler; toluen, ksilen, THF Merck' den, DMSO, Carlo-Erba firmasından temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma kapsamında sentezlenen fırça yapılı polimerlerin yapısal karakterizasyonunda elementel analiz (CHNS Analizi), infrared spektroskopisi (FTIR), nükleer manyetik rezonans (NMR), elementel analiz, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Poli(etilen glikol) bağlı fırça tipi yapıların termal özelliklerindeki değişimler öncelikle, termogravimetrik Analiz cihazı (TGA) ile belirlenmiştir ve bu polimerlerin termal kararlılıkları diferansiyel termal analiz (DTA) cihazı ile belirlenirken camsı geçiş sıcaklıkları diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) cihazı ile ölçülmüştür. Ayrıca elde edilen homopolimer ve kopolimer yapılarının optik özellikleri Perkin elmer UV spektrofotometresi ile incelenmiştir. Bu ölçümde katı numune ölçüm aparatı kullanılmıştır. Ayrıca çalışmalarda elde edilen polimer yapılarının optik görüntüsü Soif optik mikroskop kullanılarak elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler, özellikleri ve yapısal formülleri

	Özelliği	Yapı
Metil metakrilat (MMA)	%99, M_A : 100.12 g/mol, d: 0.936 g/ml, K.N: 101 °C	
Hidroksietil metakrilat (HEMA)	%98, M_A : 130.14 g/mol, d: 1.07 g/ml, K.N: 101 °C	
Polietilen glikol (360) metakrilat (PEG360MA)	Ortalama M_n : 360, d: 1.105 g/ml	
Polietilen glikol (500) metakrilat (PEG500MA)	Ortalama M_n : 500, d: 1.101 g/ml	
Azoizobütironitril (AIBN)	%99, M_A : 164.21 g/mol, d: 1.1 g/ml, E.N: 102-104 °C	
Ksilen	%99, M_A : 106.16 g/mol, d: 0.861 g/ml, K.N: 138.4 °C	
Dimetil sülfoksit (DMSO)	%99, M_A : 78.13 g/mol, d: 1.1 g/ml, K.N: 189 °C	(CH ₃) ₂ SO

Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında sentezlenen poliüretanlar ve monomer oranları.

Polimer yapı	PEG360MA	MMA	PEG500MA	HEMA
PPEG360MA	5	0	-	-
P11	4	1	-	-
P12	3	2	-	-
P13	2,5	2,5	-	-
P14	2	3	-	-
P15	1	4	-	-
PMMA	0	5	-	-
PPEG360MA	5	-	-	0
P21	4	-	-	1
P22	3	-	-	2
P23	2,5	-	-	2,5
P24	2	-	-	3
P25	1	-	-	4
PHEMA	0	-	-	5
PPEG500MA	-	0	5	-
P31	-	1	4	-
P32	-	2	3	-
P33	-	2,5	2,5	-
P34	-	3	2	-
P35	-	4	1	-
PMMA	-	5	0	-
PPEG500MA	-	-	5	0
P41	-	-	4	1
P42	-	-	3	2
P43	-	-	2,5	2,5
P44	-	-	2	3
P45	-	-	1	4
PHEMA	-	-	0	5

3.3. Poli(etilen glikol) Yan Zincirli Polimer Yapıların Sentezi

Polietilen glikol yan zincirli polimerler polimetil metakrilat ve polihidroksietil metakrilat kopolimerleri olarak serbest radikal polimerizasyon tekniği ile sentezlenmiştir. Bu sentezde AIBN başlatıcı olarak kullanılmış olup monomerler, ksilen ile çözülerek hazırlanmıştır. Sentez yöntemi olarak aşağıdaki prosedür kullanılmıştır.

Öncelikle 50 mL'lik cam bir balon içerisinde PEG360MA Çizelge 3.2'de belirtilen oranda alınmıştır. 5mL ksilen içerisinde homojen olarak çözülmüştür. Bu çözelti üzerine 5 mL MMA monomeri ve 0,01 gr AIBN eklenmiştir. Karışım 90 °C'de üç saat reflaks edilmiştir. Daha sonra elde edilen polimerik yapı 20 mL metanol ilave edilerek çöktürülmüştür. Ürün su ve metanol ile yıkanmıştır. Prosedüre göre kopolimer sentezlerinde tek tip monomer kullanılarak homopolimer yapılar sentezlenmiştir. Reaksiyonun tamamlandığı infared spektroskopisi tekniği ile kontrol edilmiştir.

3.4. PEGMA Temelli Polimer Yapıların Kimyasal ve Morfolojik Özelliklerinin Tanımlanması

Çizelge 3.2'ye göre sentezlenen polimerik yapılar detaylı bir şekilde elementel analiz FTIR ve NMR teknikleri ile karakterize edilmiştir. Elementel analizlerde LECO-96CNOS cihazı kullanılmış ve yüksek sıcaklıkta 5mL/gr numunenin yakılmasıyla yapıdaki elementel yüzdeler hesaplanmıştır. FTIR analizlerinde Perkin Elmer spektrum two model FTIR spektrofotometresi kullanılmıştır. Yapı analizleri 400-4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında ATR ekipman ile gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyonun tamamlandığı monomer yapıdaki C=C π bağının açılarak C-C tek yapısına dönüşme pikleri izlenerek yorumlanmıştır.

3.5. PEGMA Temelli Polimer Yapıların Termal Özelliklerinin İncelenmesi

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen polimerik yapılar yumuşama sıcaklıkları, termal bozunma sıcaklıkları ve termal kararlılıkları yönünden termal analiz teknikleri ile incelenmiştir. Termal analiz olarak ilgili polimerlerin termal kararlılıkları Shimadzu TGA-50 cihazı ile incelenmiştir. 10 derece/dak ısıtma hızı dahilinde örnekler 800 °C 'ye kadar termal işleme tabi tutulmuştur. Termal bozunma kademeleri TGA analizleri ile ölçülerek homo ve kopolimerlerin termal bozunma yapıları belirlenmiştir. Tg sıcaklıkları Shimadzu DSC-60 cihazında ölçüldü. Bu analizlerde α -Al₂O₃ referans maddesi olarak kullanılmıştır.

3.6. PEGMA Temelli Polimer Yapıların Biyomedikal Uygulamaları

Tez kapsamında dört farklı yapı ve özellikte fırça yapılı polimer sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu sentezlerde yapısal olarak yüzey alanı ve yüzey biyoyumluluğunun artırılması amacı ile PEG yan grupları bulunduran bir yapıya dönüştürülerek biyomedikal uygulamalarda kullanılabilme potansiyeli artırılmıştır. Bu nedenle tez kapsamında hazırlanan polimerler bazı biyomedikal uygulamalarda test edilmiştir. Bu uygulamalar olarak biyoyumlu polimerler, antibakteriyel yüzeyler ve enzim taşıyıcı sistemlerdir.

3.6.1. PEGMA temelli polimer yapıların biyoyumluluğunun belirlenmesi

Tez kapsamında sentezlenen polimerlerin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmesi için belirli düzeyde biyoyumluluğa sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle sentezlenen polimer yapılarının biyoyumlulukları indirekt sitotoksikite testi ile belirlenmiştir. Sentezlenen polimer numunelerinin L-929 (mus musculus cinsi fare fibroblast) hücreleri üzerine, indirekt sitotoksikite testi, 3-[4,5-Dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid; Thiazolyl blue (MTT) testi ile belirlenmiştir. Deney protokolü ISO-10993-5 “Biological Evaluation of Medical Devices” standartlarına

göre hazırlanmıştır. Hidrojel yapıları üzerinde kültüre edilen hücrelerin fotoğrafları Olympus CKX41 marka invert mikroskobu vasıtasıyla çekilmiştir.

MTT Testi: Numuneler 0.2 g ağırlıkta olacak şekilde steril 15 mL falkon tüplere yerleştirilmiştir. Her bir numunenin üzerine 1 mL saf etanol eklenmiş ve UV ışık altında bir saat bekletilerek steril olmaları sağlanmıştır. Daha sonra numuneler üzerindeki fazla alkolün uçması sağlanmış ve numuneler birkaç kez steril PBS (pH 7.4) ile yıkanmıştır. Numune ekstraktlarının hazırlanması için üzerlerine taze hazırlanmış hücre kültür besiyeri (%10 FBS, %1 Penicillin-Streptomycin içeren DMEM besiyeri) eklenmiştir. Numuneler 72 saat süre ile 37°C'de bekletilmiştir. İnkübasyon sırasında fibroblast hücreleri (5x10⁴ hücre/mL) 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş ve bir gece 37°C'de, %5 karbondioksitte inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde hücreler üzerindeki besiyerleri atılmış ve örnek ekstraktları 100 µL/kuyucuk olacak şekilde kuyucuklara pipetlenmiştir. Kontrol olarak hücreler sadece hücre kültür besiyeri ile etkileştirilmiştir. Plaklar bir gece inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra örnek ekstraktları kuyucuklardan atılmış, kuyucuklara %10 MTT (5 mg/mL, PBS, pH 7.4 içerisinde) çözeltisi içeren taze besiyeri pipetlenmiştir. Plaklar 4 saat etüvde inkübe edilmiştir. Daha sonra plaklardaki vasat atılmış, yerine 100 µL DMSO pipetlenmiştir. Daha sonra 540 nm'de Eon BioTek marka mikropate okuyucuda absorbanları okunmuştur. Sonuçlar % canlılık olarak verilmiştir. Kontrol kuyucuklarından alınan absorbanlar %100 canlı olarak kabul edilmiştir.

İstatistiksel Analiz: Çalışmamızda, sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların saptanmasında One Way ANOVA kullanılmıştır.

3.6.2. PEGMA temelli polimer yapıların enzim immobilizasyon uygulamaları

Tez kapsamında sentezlenen P(MMA-ko-PEGMA) P(HEMA-ko-PEGMA) yapılarına enzim immobilize edilerek serbest ve immobilize enzim aktivite değerleri ölçülmüştür. Enzim olarak katalaz kullanılmıştır. Farklı sıcaklık, pH ve raf ömrü

optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Deneysel işlem basamakları bölüm 3.6.2.1. - 3.6.2.7'de açıklanmıştır.

3.6.2.1. Katalazın immobilizasyonu

100 mg polimerik örnek bir ependorf tüpüne konuldu. Üzerine 1 mL katalaz enzimi (4 mg/mL) eklendi. Karışım 12 saat boyunca 200 rpm'de bir çalkalayıcıda inkübe edildi. Daha sonra, polimerik örnek 4 °C'de 5 dakika 5000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant enzim immobilizasyon verimini hesaplamak için saklandı. Bağlanmamış katalaz enzimini uzaklaştırmak için örnek iyice fosfat tamponu ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurutuldu. İmmobilize enzim pH, sıcaklık, depolama kararlılığı gibi immobilizasyon parametrelerinin incelenmesi için 4 °C'de saklandı.

3.6.2.2. Total protein ve immobilizasyon veriminin (IE) belirlenmesi

Total protein konsantrasyonu standart olarak sığır serum albümini (BSA) kullanılarak Bradford yöntemine göre belirlendi (Bradford, 1976). Bağlanmış protein miktarı, immobilizasyon için kullanılan proteinin toplam miktarından immobilizasyondan sonra süpernatandaki ve yıkama çözeltisindeki protein miktarının çıkarılmasıyla belirlendi. İmmobilizasyon verimi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$IE = \left[\frac{(A_0 - B_1 - B_2)}{A_0} \right] \times 100$$

A_0 , serbest enzimin toplam protein miktarı, B_1 ve B_2 , immobilizasyondan sonra süpernatant ve yıkama çözeltisinin protein miktarıdır.

3.6.2.3. Serbest ve immobilize katalazın enzim aktivitesi

Serbest katalaz aktivitesi, 1.0 mL substrat (pH:7.5, 20 mM H_2O_2) ve katalazın 20 μ L'si (2mg/mL) içeren bir reaksiyon karışımında 240 nm'de H_2O_2

absorbansındaki azalmanın ölçülmesiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı, 2 dakika boyunca 25 °C sıcaklıkta tutulmuş ve enzimatik reaksiyon 0,5 mL 1 M HCl ilave edilerek durdurulmuştur. İmmobilize enzim aktivitesi için polimerik örmekler (5 mg), 2 dakika boyunca 25 °C sıcaklıkta yukarıdaki gibi hazırlanan substrat çözeltisi ile karıştırıldı. 2 dakika sonra, örnekler çıkarıldı ve sonra 0.5 mL 1 M HCl ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Serbest ve immobilize katalaz aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve sonuçlar sırasıyla $\mu\text{mol}.\text{min}^{-1}$ ve $\mu\text{mol} (\text{min}.\text{mg})^{-1}$ olarak ifade edildi. Bir ünite (U) enzim aktivitesi, 1 μmol H_2O_2 'yi dakikada ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlandı. Bütün enzim sonuçlarında maksimum aktivite %100 kabul edilmiş ve sonuçlar bağıl aktivite olarak verilmiştir. Ayrıca, bütün ölçümler iki paralel örnek kullanılarak yürütülmüştür ve standart sapmalar ilgili grafiklere eklenmiştir.

$$\text{Aktivite (U)} = \left[\frac{(A_1 - A_2) \cdot V_t}{\epsilon \cdot l \cdot t} \right]$$

A_1 : Substrat çözeltisinin başlangıç absorbansı

A_2 : Enzim aktivitesinden sonraki absorbansı

V_t : Toplam reaksiyon hacmi (mL)

ϵ : H_2O_2 'nin molar ekstinksiyon katsayısı ($0,0396 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$)

t : Reaksiyon zamanı (dakika)

l : Küvetin ışık yolu (cm)

3.6.2.4. pH ve sıcaklığın enzim aktivitesi üzerine etkisi

pH'nın serbest ve immobilize katalaz aktivitesi üzerindeki etkisi 0.5 M sodyum asetat (pH 4.0, 5.0, 6.0), 0.5 M sodyum fosfat (pH 7.0, 7.5, 8.0) ve 0.5M Tris-HCl (pH 8.5-9.0), kullanılarak değişen farklı pH değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın serbest ve immobilize katalaz üzerindeki etkisi ise her iki enzimin

aktivitesi 25 °C ila 60 °C arasında 5 °C değişen sıcaklıklarda gerçekleştirerek test edilmiştir.

3.6.2.5. Tekrar kullanılabilirlik

İmmobilize katalaz enziminin tekrar kullanılabilirliği de incelenmiştir. İmmobilize enzimin aktivitesi yukarıda anlatılan prosedüre göre ölçülmüş ve rnek PBS ile yıkandıktan sonra tekrar taze subtrat eklenmiş ve aktivitesi yeniden ölçülmüştür. Bu şekilde immobilize enzimin aktivitesi 20 kez art arda ölçülerek immobilize enzimin tekrar kullanılabilirliği belirlenmiştir.

3.6.2.6. Kinetik parametrelerinin belirlenmesi

İmmobilize katalazın ve serbest katalazın kinetik parametreleri, optimum sıcaklık ve pH'ta 2-20 mM arasında değişen çeşitli subtrat konsantrasyonlarında aktiviteyi ölçülerek belirlenmiştir. Kinetik parametreler K_m ve V_{max} , Lineweaver–Burk grafiğinden hesaplanmıştır.

3.6.2.7. Depolama kararlılıklarının belirlenmesi

Serbest ve immobilize katalaz rnekleri 4°C ve oda sıcaklığında kuru koşullarda bekletilmiş ve belirli aralıklarla kalan aktiviteyi bir ay boyunca ölçülmüştür. Her iki örneğin başlangıç aktiviteyi %100 kabul edilmiştir.

3.6.2.8. PEGMA temelli polimer yapıların antibakteriyel yüzey uyulamaları

Sentezlenen PEGMA yapılı polimerik yapılar temel morfolojik özellikleri, şişebilen yapıları ve fırça gruplarının yüksek polaritesi nedeni ile önemli oranda ilaç absorpsiyon kapasitesine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı yapısına absorpladığı siprofloksasin etken maddesini düzenli olarak salabilir. Bu özelliğinden kaynaklı olarak çalışma kapsamında farklı miktarlarda siprofloksasin içeren P(HEMA-ko-

PEGMA) yapıları sentezlenmiştir. Bu yapıların gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine etkisi zon çapları ölçülerek belirlenmiştir. Bu bağlamda tez kapsamında sentezlenen P(HEMA-ko-PEG360MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) gruplarına farklı oranlarda katılanan siprofloksasin ilacının antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Sentezlenen polimerlerden 0.2 g tartılarak üzerine 1 mg, 2,5 mg ve 5 mg olacak şekilde siprofloksasin içeren çözeltiden eklenmiştir. Daha sonra polimer diskler oluşturmak üzere karışımın çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Oluşturulan diskler saf su ile yıkama işleminin ardından UV ışık altında bir saat süresince steril edilerek antibakteriyel etkinliği incelenmek üzere muhafaza edilmiştir. Antibakteriyel test için, Luria Bertani (LB) Broth (10 mL) ortamında 37°C’de çalkalamalı inkübatörde 24 saat boyunca *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 19659) bakteri türleri üretilerek sıvı bakteri kültürleri hazırlanmıştır. İnkübasyon işleminin ardından her bir steril nutrient (LB) agar besiyeri ortamına aseptik koşullarda ayrı ayrı üçer tekrarlı olacak şekilde 100’er mikrolitre her iki bakteri türünden biri sıvı kültürlerden transfer edilerek L bagetle yayılmıştır. Siprofloksasin içeren ve içermeyen poliüretan diskler bakteri ekimi gerçekleştirilen nutrient (LB) agar petrilerinin ortasına yerleştirilmiştir. Disk Difüzyon Metodu’na göre antibakteriyel etki gözlemlenmesi için petriler 37°C’de statik inkübatörde 24 saat boyunca üretime alınmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda yerleştirilen disklerin bakteriler üzerindeki etkisi incelenerek milimetrik bir cetvel aracılığıyla inhibisyon zon çapları kaydedilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışma kapsamında 4 farklı grup PEGMA yapıları hazırlanmıştır. Bu tip yapılarda özellikle yapısal esneklik, biyouyumluluk, protein immobilizasyonu, enzim immobilizasyonu, ilaç taşıyıcı sistemler, optik transparan yüzey kaplamaları ve biyoimplantlar gibi biyomedikal malzemelerin üretiminde kullanılırlar.

Tez kapsamında ise elde edilen malzemeler katalaz enzim immobilizasyonu ve antibakteriyel polimer uygulamaları alanlarında kullanılmıştır. Sentezi gerçekleştirilen polimerik yapılar yapısal olarak elementel analiz, FTIR ve NMR teknikleri ile analiz edilmiştir. Polimerlerin yüzey özellikleri SEM ve sıvı temas açısıyla belirlenirken, termal özellikleri TGA ve DSC termogramları alınarak çözümlenmiştir. Özellikle polimerlerin termal kararlılığı ve termal degradasyon sırasındaki kütle kayıpları TGA termogramları ile çözümlenirken yumuşama sıcaklıkları DSC termogramları ile belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında Çizelge 3.1’de belirtildiği şekilde analizlenmiştir. Bu analizlerde PEG grubunu molekül kütlesi, fırça boyu ve polimerik fırça aralığının polimer özellikleri üzerinde etkileri yorumlanmıştır. Ayrıca kopolimer yapısını oluşturan PMMA ve HEMA gruplarının polimerlerin yapısal özelliklerinin üzerine etkisi detaylı olarak incelenmiştir.

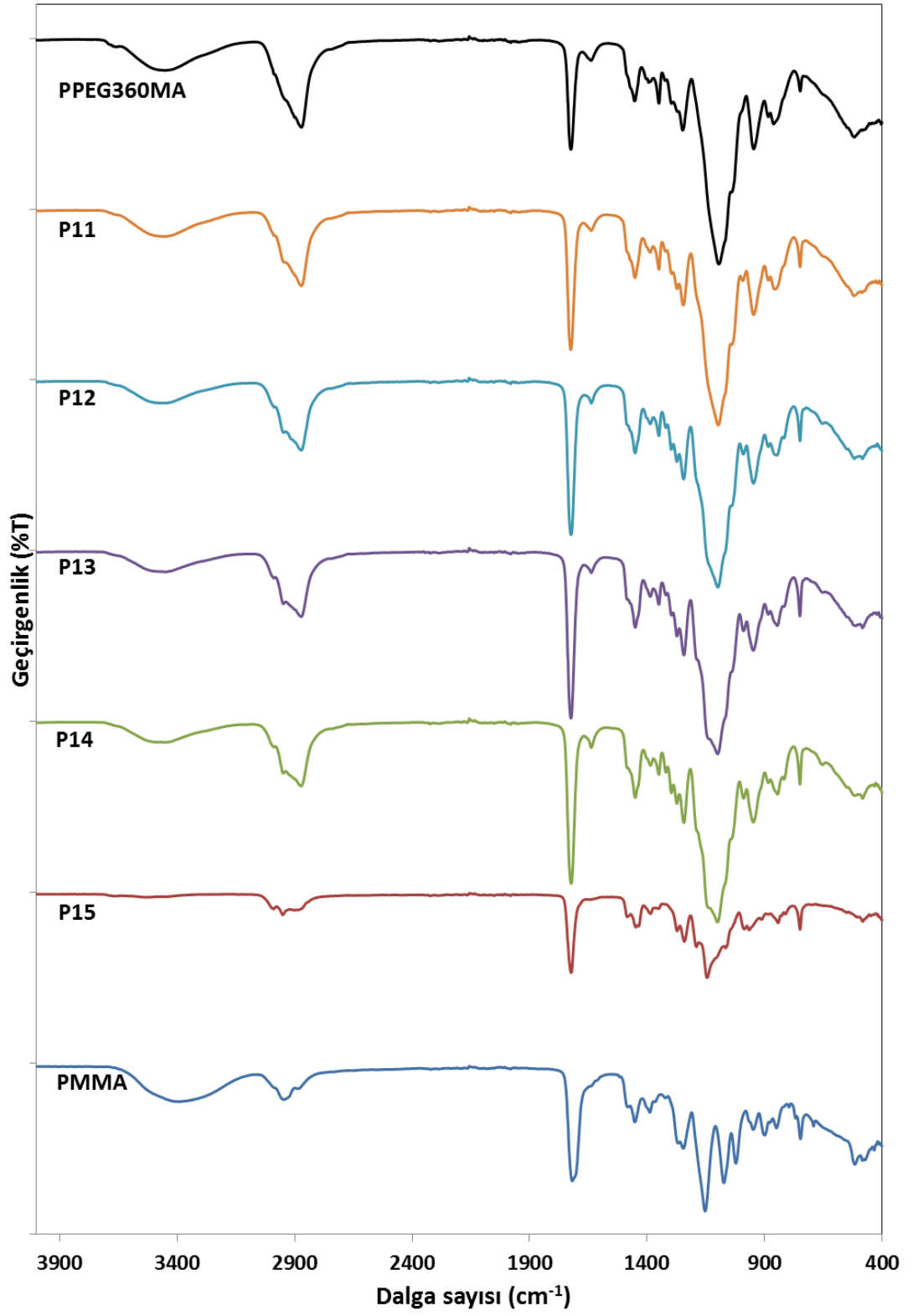
4.1. P(MMA-ko-PEG360MA) Yapılarının Karakterizasyonu

Tez kapsamında farklı boy ve açıklıkta fırçalar içeren metakrilat türü polimerler sentezlenmiştir. Fırça kimyasal yapısı olarak biyouyumlu PEG üniteleri tercih edilmiştir. Sentezlerde fırça boyu olarak 360 ve 500 molekül ağırlığında PEG üniteleri kullanılmıştır. Bu bağlamda P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) kopolimer yapıları serbest radikal polimerizasyonu ile başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Elde edilen polimerlere ait karakterizasyon işlemleri elementel analiz, FTIR ve SEM teknikleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu polimerlerin termal analizleri DSC ve TGA teknikleri ile belirlenmiş olup sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Öncelikle elementel analiz dataları incelendiğinde teorik değerlere oldukça yakın tespit edilmiş olup sonuçlar Çizelge 4.1 de verilmiştir. Bu çizelge ye göre homopolimerlerin teorik değerleri kopolimerlere göre deneysel sonuçlar ile daha uyumlu gözlenmiştir. Şekil 4.1 de PEG360-MMA yapısına ait polimerlere ait FTIR spektrumları kıyaslamalı olarak verilmiştir. Bu spektrumlarda öncelikle MMA yapısından kaynaklı karbonil gerilme titreşimleri 1880 cm^{-1} de görülmektedir. Ayrıca yine MMA yapısındaki alifatik CH gerilme titreşimleri $2890\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ de net olarak görülmektedir. MMA yapısındaki ester bağı titreşimleri 1270 cm^{-1} de polimerik yapıyı doğrulamaktadır. Bu yapıya PEG-MMA yapılarının dahil olmasıyla 3 temel değişim belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Birincisi yüzey -OH piklerinde artışa bağlı olarak $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ de geniş bir bant olarak görülmektedir. Bu pikler PEG360 oranı arttıkça artmaktadır. İkinci temel değişim ise PEG yapısından kaynaklı olarak eterik (C-O-C) bağının şiddetlenmesidir. Üçüncü değişim unsuru ise PEG360 yapısı arttıkça alifatik C-H gerilme miktarında şiddetlenmesidir. Tüm bu unsurlar istenilen PEG yan gruplarını içeren fırça yapısını ispatlamaktadır.



Şekil 4.1. P(MMA-ko-PEG360MA) yapıları.



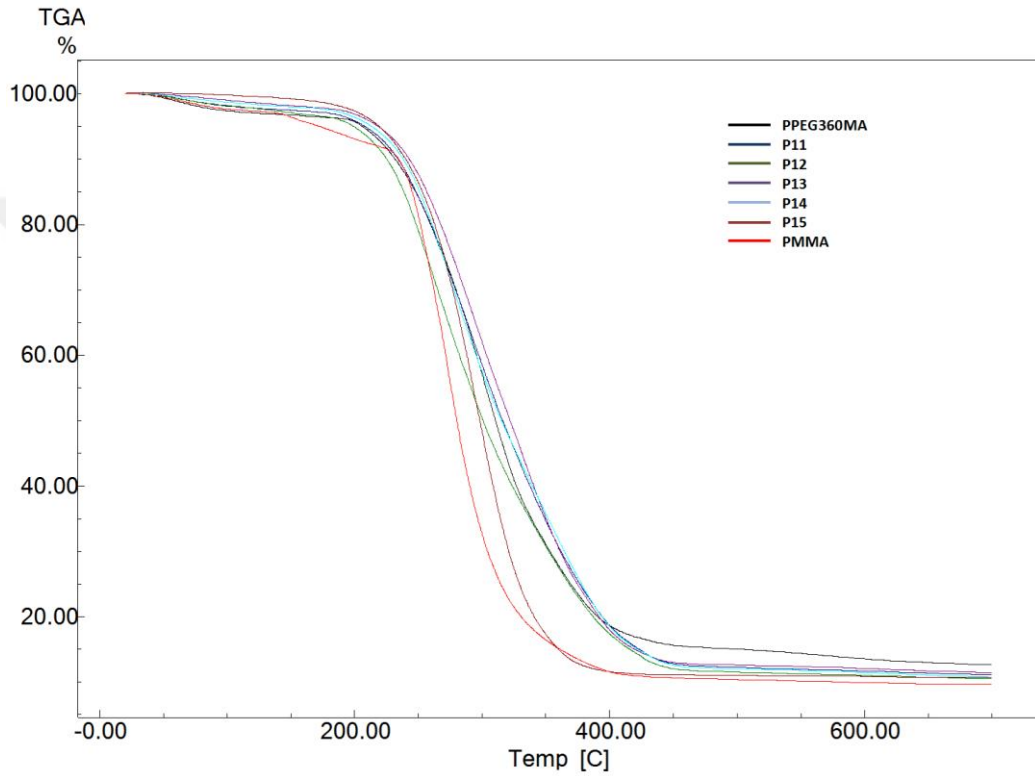
Şekil 4.2. PPEG360MA, PMMA ve P(MMA-*ko*-PEG360MA) yapılarının FTIR spektrumları.

Çizelge 4.1. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG360MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG360MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.

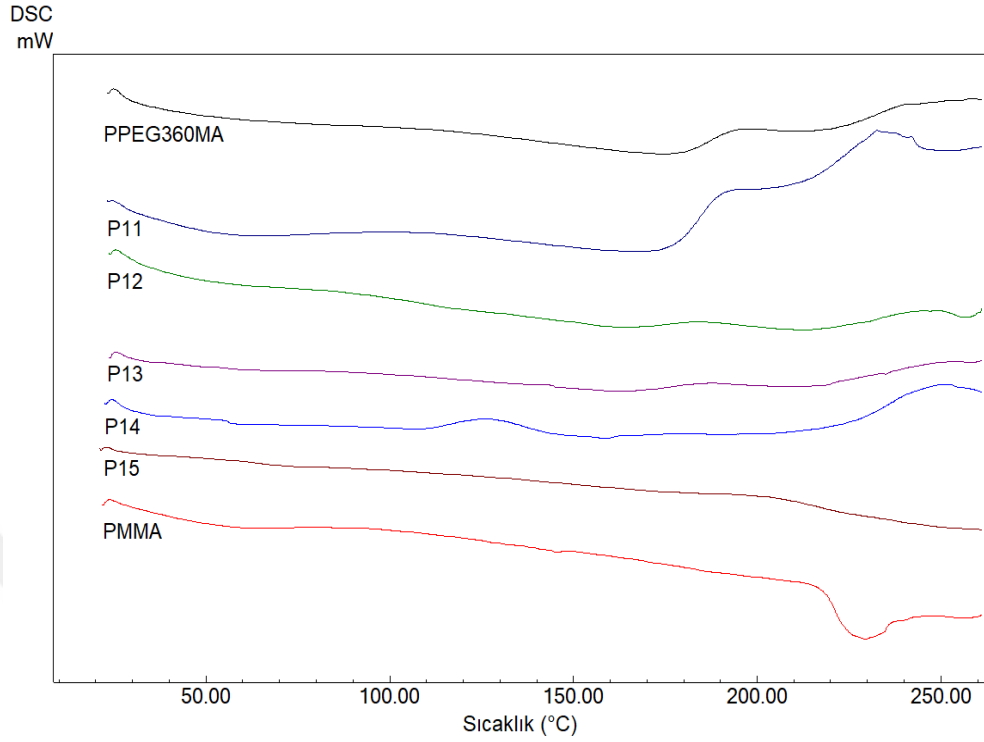
Polimer yapı		C	H	N
PPEG360MA	Hesaplanan	54,88	8,58	-
	Bulunan	53,30	7,963	-
P11	Hesaplanan	56,39	8,73	-
	Bulunan	54,04	7,59	-
P12	Hesaplanan	55,69	8,49	-
	Bulunan	57,11	7,62	-
P13	Hesaplanan	56,01	8,45	-
	Bulunan	55,28	7,68	-
P14	Hesaplanan	56,40	8,41	-
	Bulunan	56,11	7,34	-
P15	Hesaplanan	57,60	8,27	-
	Bulunan	58,16	7,79	-
PMMA	Hesaplanan	60,03	8,00	-
	Bulunan	54,14	7,96	-

Şekil 4.2’de PEG360-MMA yapılarına TGA termogramları verilmiştir. Bu termogramlarda iki temel kütle kaybı görülmekte olup birinci kütle kaybı 50-180°C arasında yaklaşık %5’lik kütle kaybı değeridir. Bu değer polimerik yapı arasına hapsolmuş olan nemin kütle kaybıdır. İkinci kütle kaybı ise 200 °C den 400 °C ye kadar değişmektedir. Bu kütle kaybı yaklaşık %90 olup yapıya bağlanmış olan PEG360 miktarına bağlı olarak değişmektedir. Bu kütle kaybı polimerik yapının termal degradasyonundan kaynaklanmakta olup bu sıcaklığın üzerinde polimerik yapı tamamen bozulmaktadır. Bu nedenle polimerik yapı için maksimum ısıl kararlılık değeri şekil 4.2’den anlaşılabacağı üzere 212-220 °C de değişmektedir. Şekil 4.3 de farklı oranlarda PEG360 içeren yapılara ait DSC termogramları

görülmektedir. Bu DSC termogramlarında PEG-360 MMA yapısı arttıkça polimerin Tg değerinde bir artış olduğu gözlenmektedir. Bu artışın temel nedeni fırça yapılarından kaynaklı olarak polimer zincirleri arasındaki serbest hacimin artmasıdır. Temel olarak polimerlerin Tg değerleri saf MMA için 110,46°C değerinden başlayarak yaklaşık 40°C kadar düşmüştür. Şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6 da sırasıyla saf PMMA, saf PEG360-MMA temelli homopolimer ve %50:%50 bileşiminde PEG360-MMA yapısına ait SEM görüntüleri gözükmemektedir.



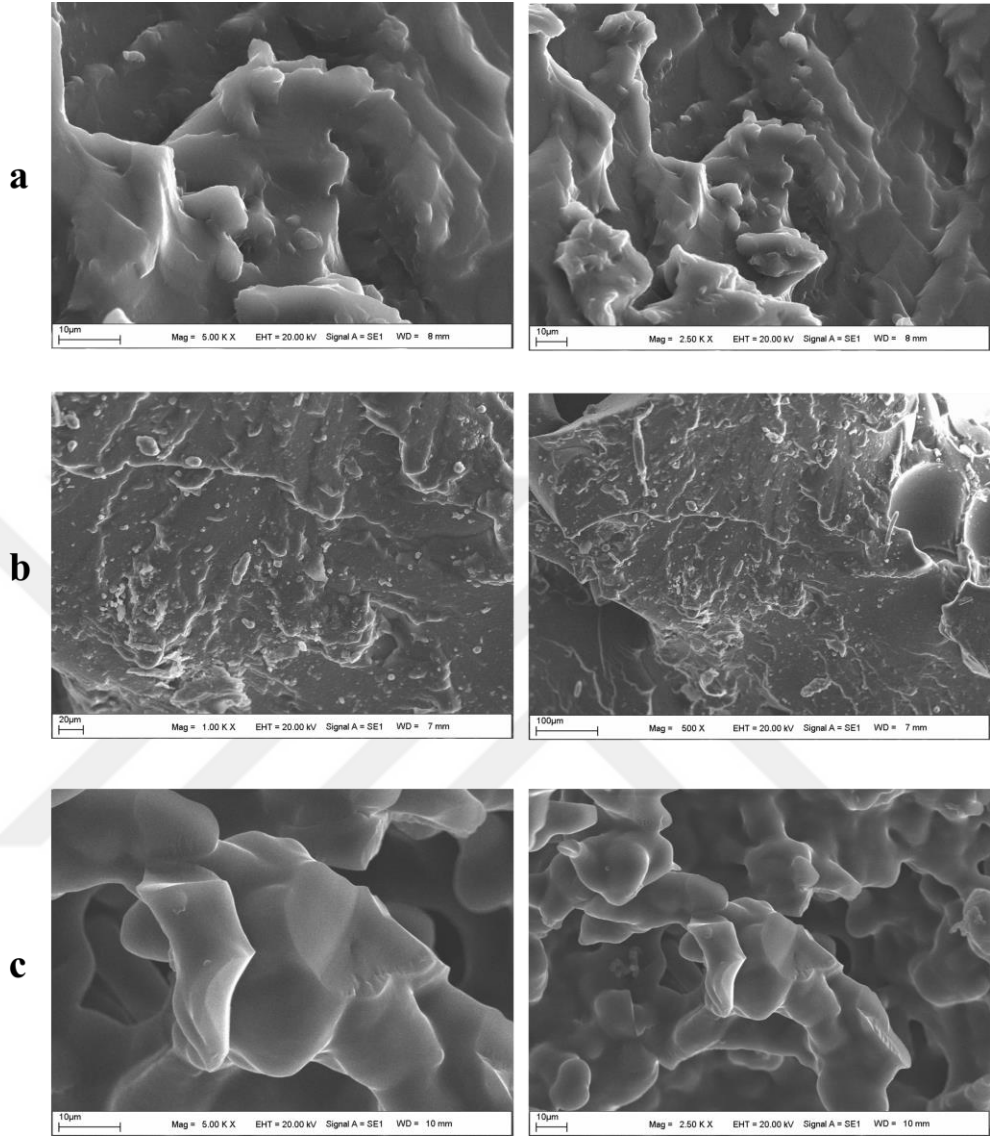
Şekil 4.3. PPEG360MA, PMMA ve P(MMA-*ko*-PEG360MA) yapılarının TGA termogramları.



Şekil 4.4. PPEG360MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG360MA) yapılarının DSC termogramları.

Şekil 4.4'teki saf MMA yapısına ait görüntülerde yapının oldukça homojen olduğu görülmektedir. Ayrıca polimer film yapısındaki pürüzsüz yüzeyin mikro yapısından da kaynaklandığı görülmektedir. Genel hızlı polimerizasyon nedeni ile kaviteli gözenekli bir yapı elde edilmiştir. Bu yapı ilaç salım sistemlerinde protein absorpsiyonu ve hücre mühendisliği uygulamalarında tercih edilen bir yapı şeklindedir. Şekil 4.5'deki saf PPEG360MA yapısı daha düzgün ve pürüzsüz bir yapı vermektedir. Elde edilen polimerik yapı esnek bir yapı olarak görülmektedir. Aynı zamanda yapı oldukça saf ve homojen görülmektedir. Yüksek büyütmelerde yapıdaki homojenlik daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Şekil 4.5'de saf PPEGMA (a), P(MMA-ko-PEG360MA) (b) ve Saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri verilmiştir. Bu SEM görüntüleri incelendiğinde kopolimer yapısının saf polimerik yapıdan morfolojik olarak daha farklı olduğu görülmektedir. Kopolimer yapısında

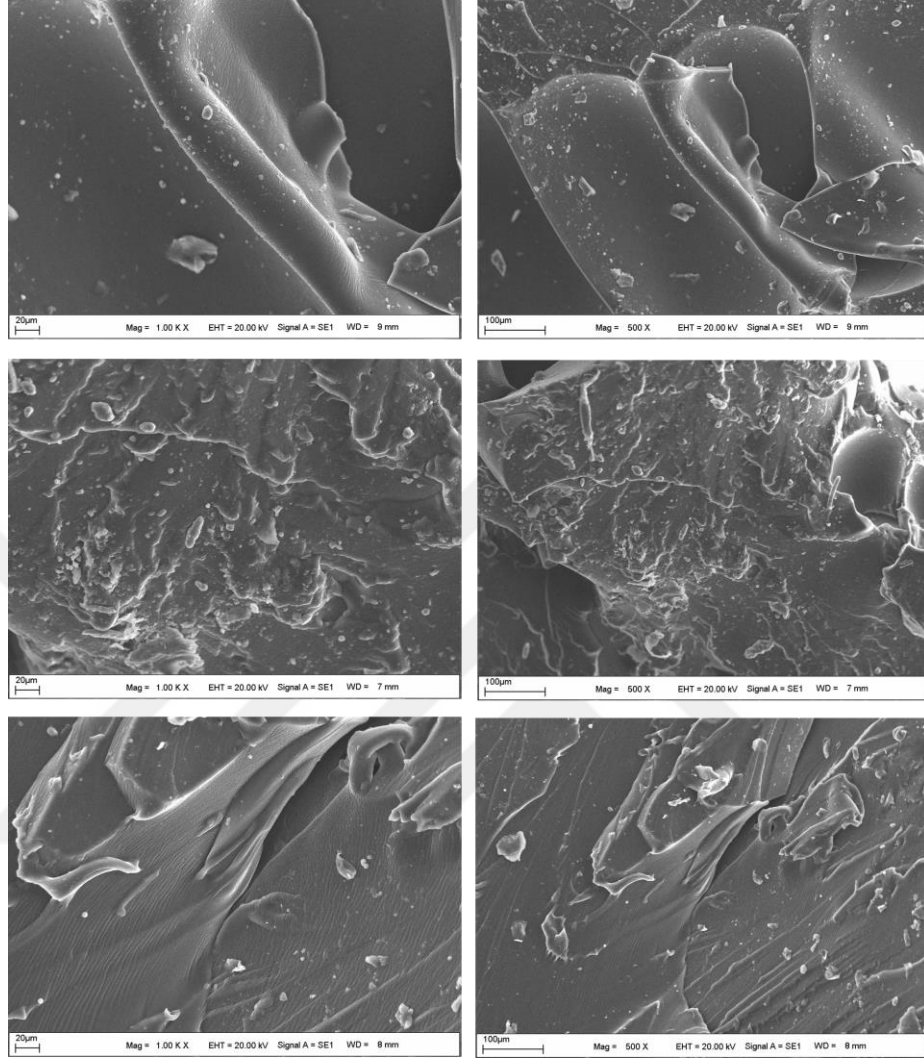
hem PEG hem de fırça yan gruplar bulunduğundan dolayı daha gözenekli ve pürüzlü bir sistem görülmektedir.



Şekil 4.5. Saf PPEGMA (a), P(MMA-ko-PEG360MA) (b) ve Saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.

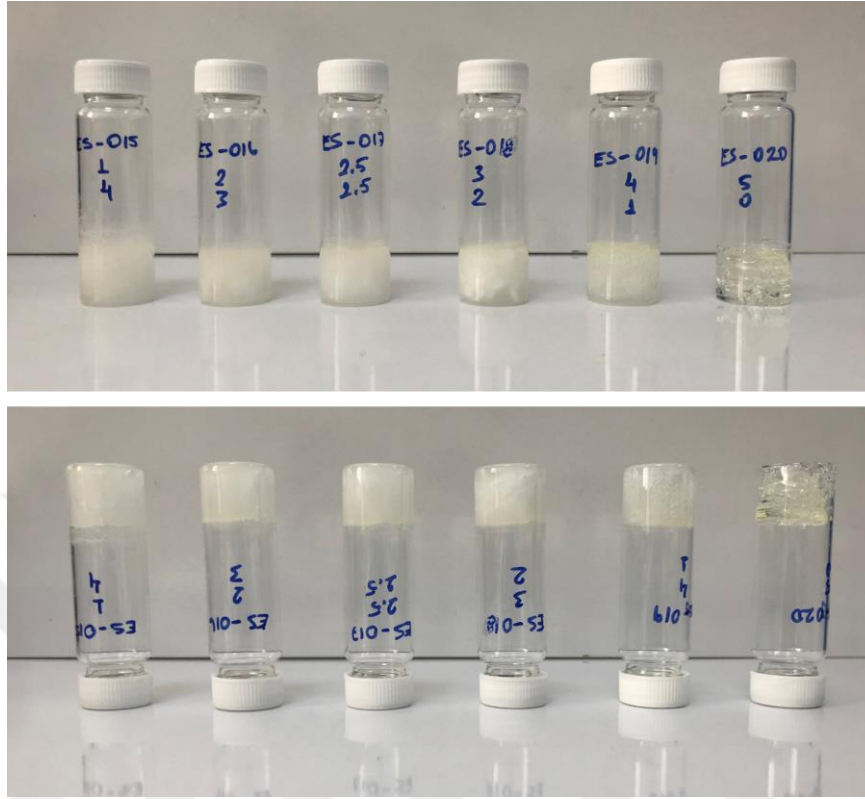
Şekil 4.6'daki SEM görüntüleri biyomedikal uygulamalar için uygun bir yüzey görünümü göstermektedir. Şekil 4.6'de bu yapılara ait detaylı SEM görüntüleri verilmiştir. P(MMA-ko-PEG360MA) yapılarının PEG360MA oranı arttıkça sıvı temas açısı ölçüm değeri düşmektedir. Bu sonuç yüzeydeki -OH

gruplarının artmasından kaynaklanır. Litaratür ile kıyaslandığında beklenen bir sonuç olarak görülmektedir.



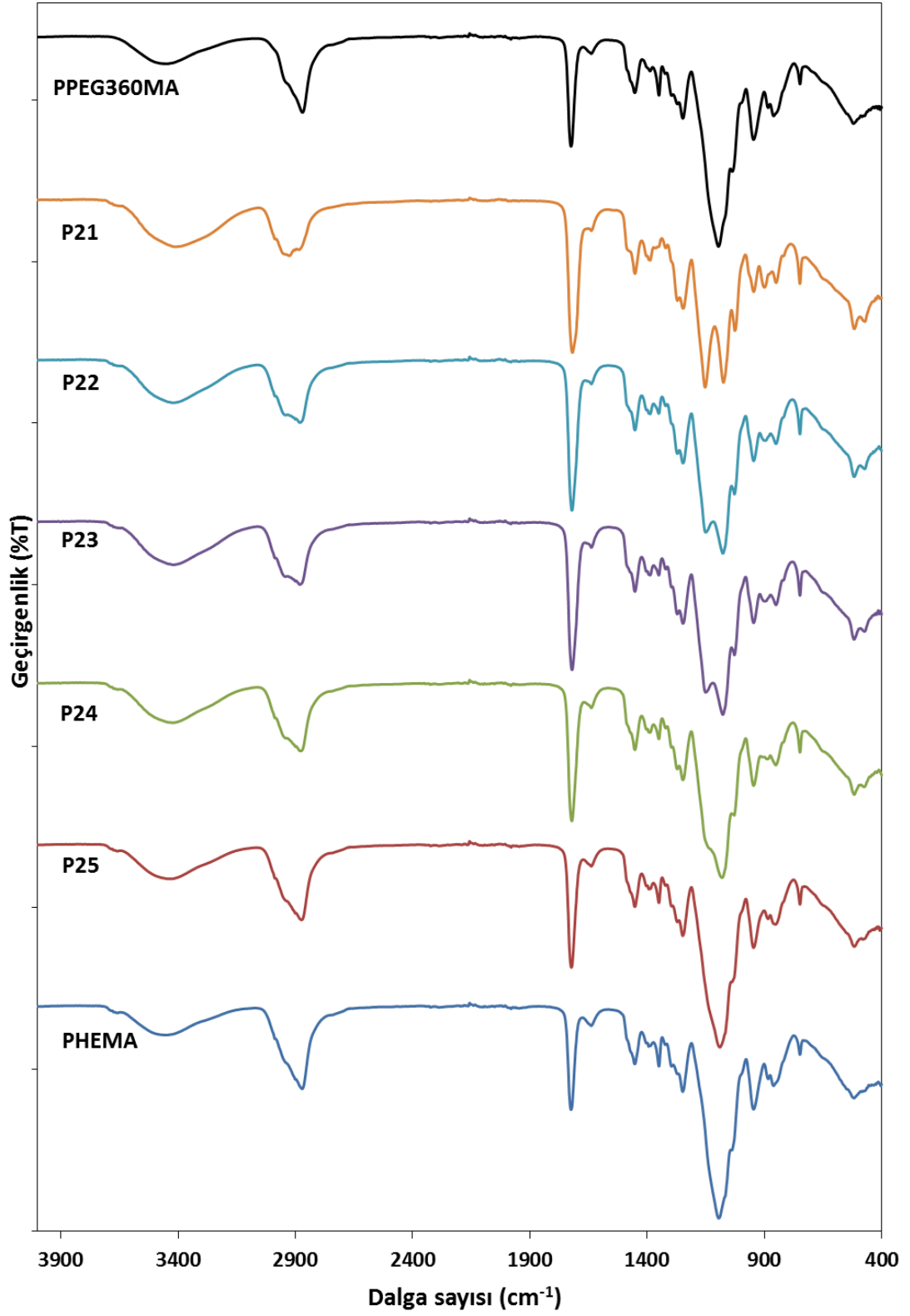
Şekil 4.6. P(MMA-ko-PEG360MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.

4.2. P(HEMA-ko-PEG360MA) Yapılarının Karakterizasyonu



Şekil 4.7. P(HEMA-ko-PEG360MA) yapıları.

Şekil 4.7’de P(HEMA-ko-PEG360MA) yapı polimerlere ait fotoğraf görüntüleri verilmiştir. Bu fotoğraflarda yapının oldukça şeffaf ve esnek bir yapıda olduğu açıkça görülmektedir. HEMA oranı arttıkça yapının transparan özelliği daha da artmaktadır. Genel olarak kimyasal yapılarını kontrol edebilmek adına elementel analiz ve FTIR spektrumları incelenmiştir. Çizelge 4.2 de verilen elementel analiz sonuçlarında tüm PEG360MA içeren yapıların teorik değerlere birebir uyduğu görülmektedir. Bu istenilen kopolimer yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır. Ayrıca şekil 4.8’de P(HEMA-ko-PEG360MA) polimerlerine ait FTIR spektrumları görülmektedir. Bu spektrumda hemen hemen tüm yapılarda $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ aralığında yüzey hidroksil pikleri görülmektedir. Bu hem hidroksietil metakrilat hem de PEG360MA yapısındaki hidroksil piklerine ait hidrojen bağlarını bir bant olarak görmekteyiz.

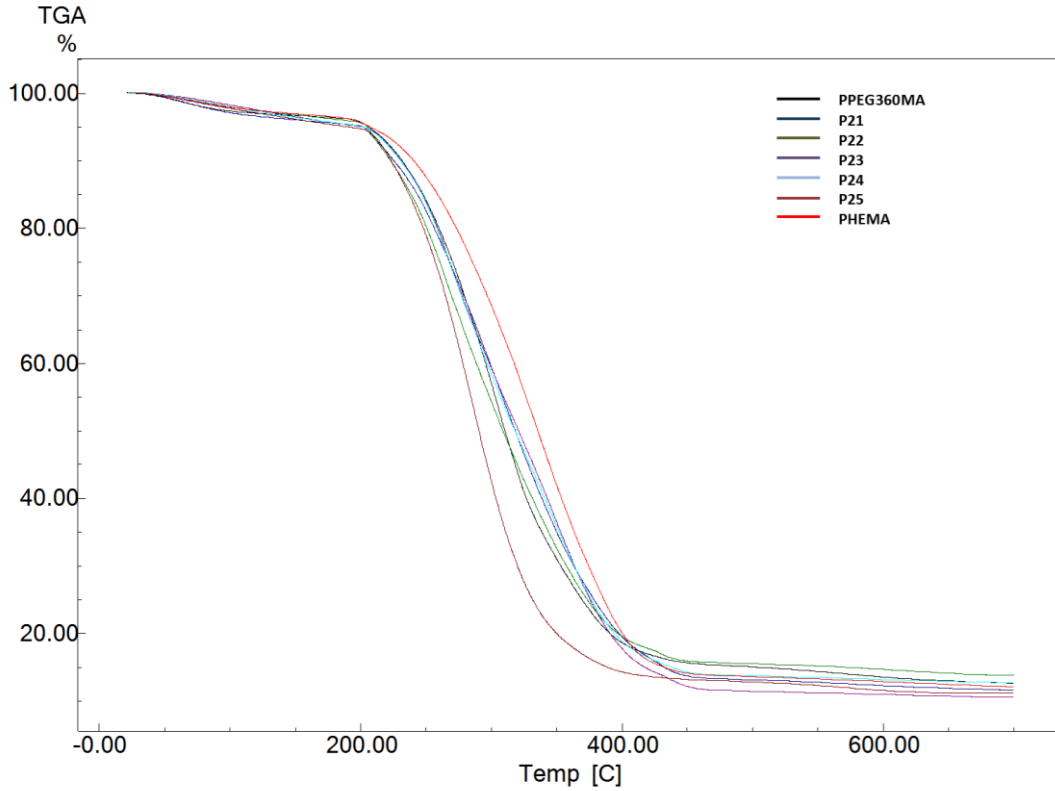


Şekil 4.8. PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının FTIR spektrumları.

Kopolimer yapısındaki kopolimer oranları değiştirilse bile yüzeydeki hidroksil grubu sayısı yaklaşık olarak aynı kalacağından dolayı 3000-3600 cm^{-1} civarındaki pik şiddetleri değişmemiştir. FTIR spektrumu üzerinden 2800-2980 cm^{-1} aralığında alifatik CH gerilme titreşimlerini görmekteyiz. Bu titreşimler hem PEG yapısından hem de alifatik polimer ara zinciri yapısından kaynaklı olarak spektrumda yer almaktadır. Genel yapı itibari ile alifatik ara zincir ve PEG yan gruplarından kaynaklı CH_2 ünitelerinde bulunan CH bağlarına ait gerilme titreşimleri bu bölgede pik vermektedir. Ana zincir ünitelerinden kaynaklı pikler genel itibariyle 1820 cm^{-1} de metakrilat yapısı karbonil piki 1634 cm^{-1} 'de C-C gerilme titreşimi 145 cm^{-1} 'de C-C gerilme titreşimi ve 1100 cm^{-1} 'de C-O-C sterik gerilme titreşimi belirgin olarak yapıyı doğrulamaktadır.

Çizelge 4.2. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.

Polimer yapı		C	H	N
PPEG360MA	Hesaplanan	54,88	8,58	-
	Bulunan	53,30	7,96	-
P21	Hesaplanan	55,03	8,35	-
	Bulunan	53,27	7,87	-
P22	Hesaplanan	55,03	8,35	-
	Bulunan	53,79	7,33	-
P23	Hesaplanan	55,03	8,35	-
	Bulunan	52,81	7,15	-
P24	Hesaplanan	55,03	8,35	-
	Bulunan	53,51	7,46	-
P25	Hesaplanan	55,03	8,35	-
	Bulunan	53,46	7,84	-
PHEMA	Hesaplanan	55,42	7,69	-
	Bulunan	53,30	7,82	-

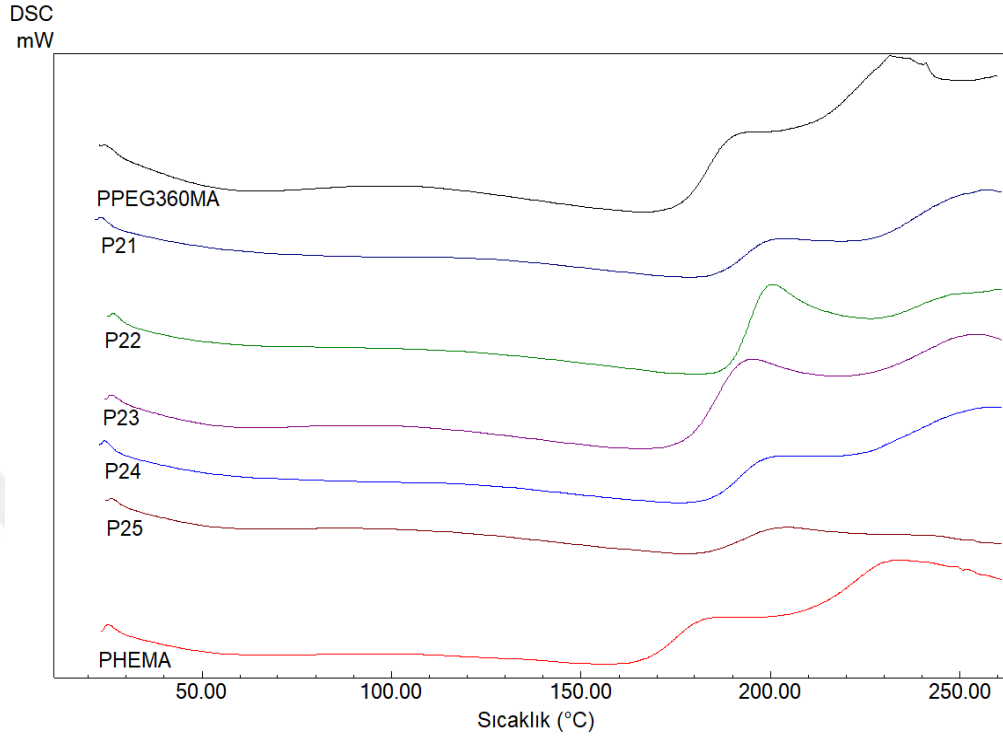


Şekil 4.9. PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının TGA termogramları.

Kopolimer yapılarında HEMA ve PEG metakrilat yapıları genel olarak birbirine benzer olduklarından dolayı spektrum üzerinde çok belirgin bir değişim olmasa bile 1100 ve 1150 cm^{-1} civarında eterik pikler üzerinde değişimler söz konusudur. Bu değişimler yapının istenilen şekilde olduğunu bize ispatlamaktadır.

Kimyasal yapısı doğrulanmış olan P(HEMA-ko-PEG360MA) yapıları termal özellikleri açısından detaylı olarak incelenmiştir. Yapının termal stabilitesi ve termal bozunma analizleri TGA termogramları ile gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde belirgin iki kütle kaybı görünmektedir. Birinci kütle kaybı yaklaşık olarak %18 civarında olup yapıdaki nemin uzaklaşması ve yüzey hidroksil gruplarının kısmi dehidrasyonunu kapsamaktadır. Bu kütle kaybı değeri 50°C'den başlayarak 220°C'ye kadar devam etmektedir. İkinci kütle kaybı değeri ise 220°C'den başlayarak 450°C'ye kadar değişen belirgin bir kütle kaybıdır. Yaklaşık %80-85

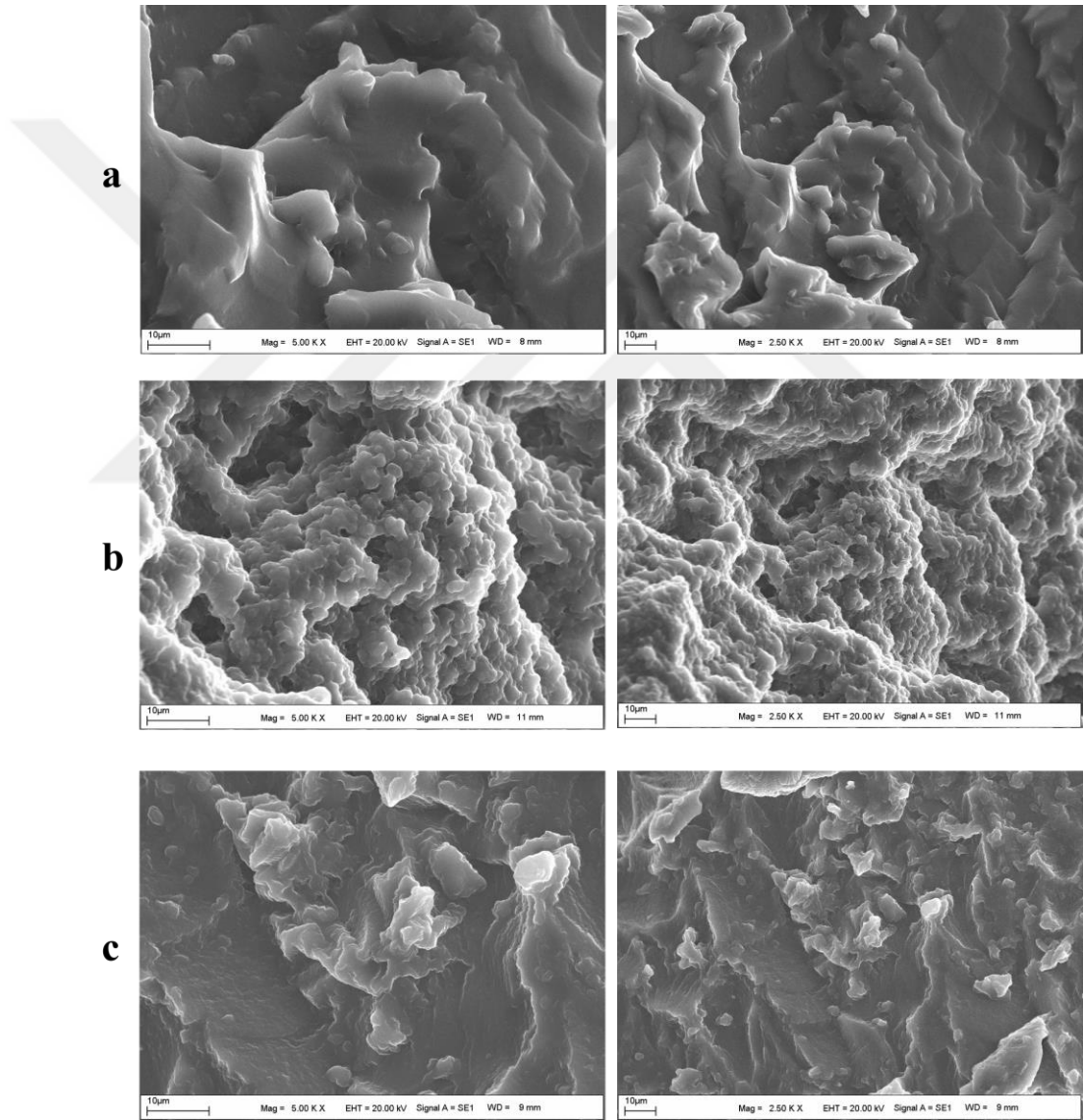
civarında bir kütle kaybı söz konusudur. Bu kütle kaybı tüm polimerik yapının temel degradasyonunu göstermektedir. Polimerik yapı bu sıcaklıktan sonra bozulmaktadır.



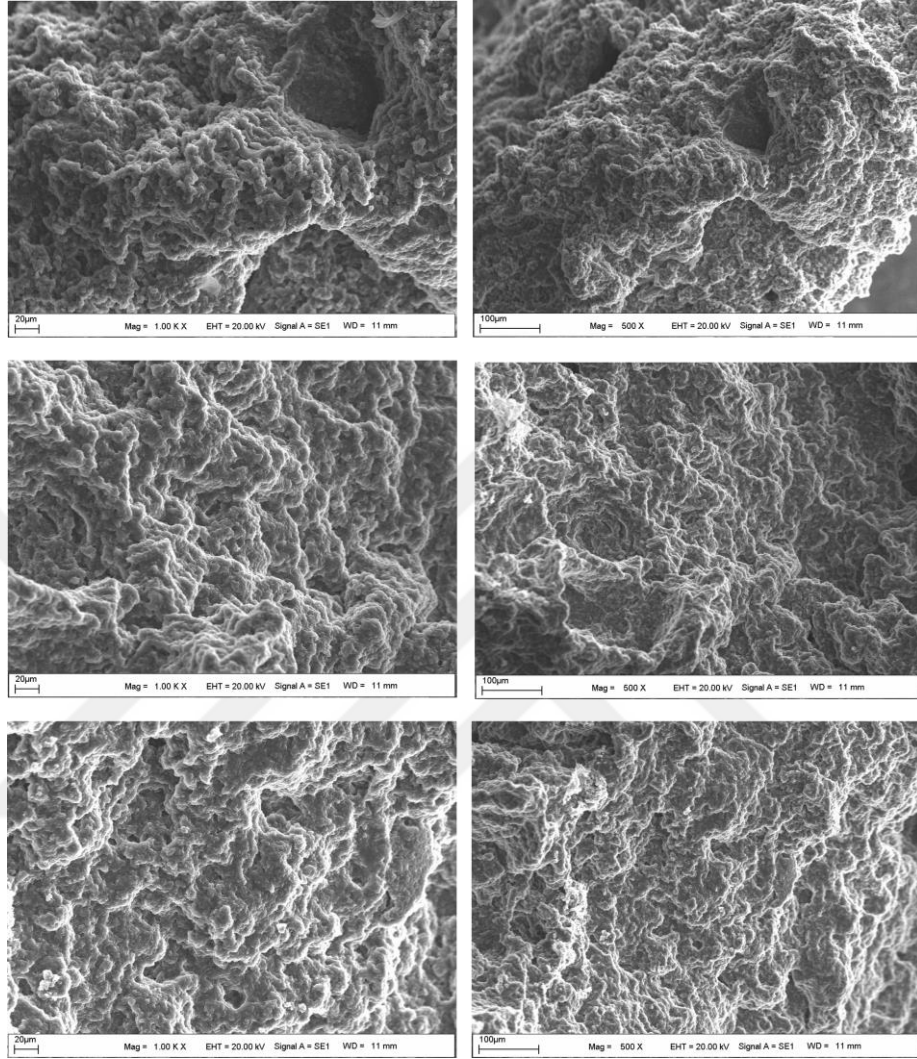
Şekil 4.10. PPEG360MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının DSC termogramları.

HEMA grupları ile elde edilen kopolimerler genel olarak yumuşak ve elastiki yapıdadır. Bu nedenle bütün polimerlerin yumuşama sıcaklıkları düşük olarak gözlenmiştir. İlgili yapıya ait DSC termogramlarında polimerlerin yumuşama sıcaklıkları ölçülmüş ve sonuç olarak yaklaşık 100°C civarında Tg geçişleri görülmüştür. PEG360 oranı arttıkça yaklaşık 116°C civarında olan Tg değeri 75°C civarına kadar düşmektedir. Bu yapılara ait yüzey morfolojileri SEM analizleri ile ölçülmüştür. Saf PPEG360MA (a), P(HEMA-ko-PEG360MA) (b) ve saf PHEMA (c) yapılarının SEM görüntüleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Bu analizde saf PHEMA ve saf PPEG360MA yapısı kopolimerlere göre oldukça düzgün ve pürüzsüz bir yapı göstermektedir. Ancak kopolimer yapılarında PEG360MA yapısının polimer üzerinde artmasıyla yüzey morfolojisinin daha pürüzlü bir yapı arz ettiği görülmektedir. Bu fraktal ve pürüzlü yapı ilaç salınım sistemleri ve antibakteriyel

biyomedikal malzemelerin üretilmesine oldukça uygundur. Yapı üzerindeki fırça yapısının artışı ile yapının biyomedikal olarak da uygunluğu ve değerlendirilme olasılığında artmıştır. Şekil 4.12’de kopolimer yapılarının pürüzlü yapısı farklı büyütme ile detaylandırılmıştır. Bu görüntülerde büyütme miktarı arttırıldıkça yüzey gözenekliliğinin kaybolmadığı genel olarak görülmektedir. Bu sonuç polimerlerin yapısal kavitelerinin polimer yüzeyindeki fırça yapılarından kaynaklandığını göstermektedir.

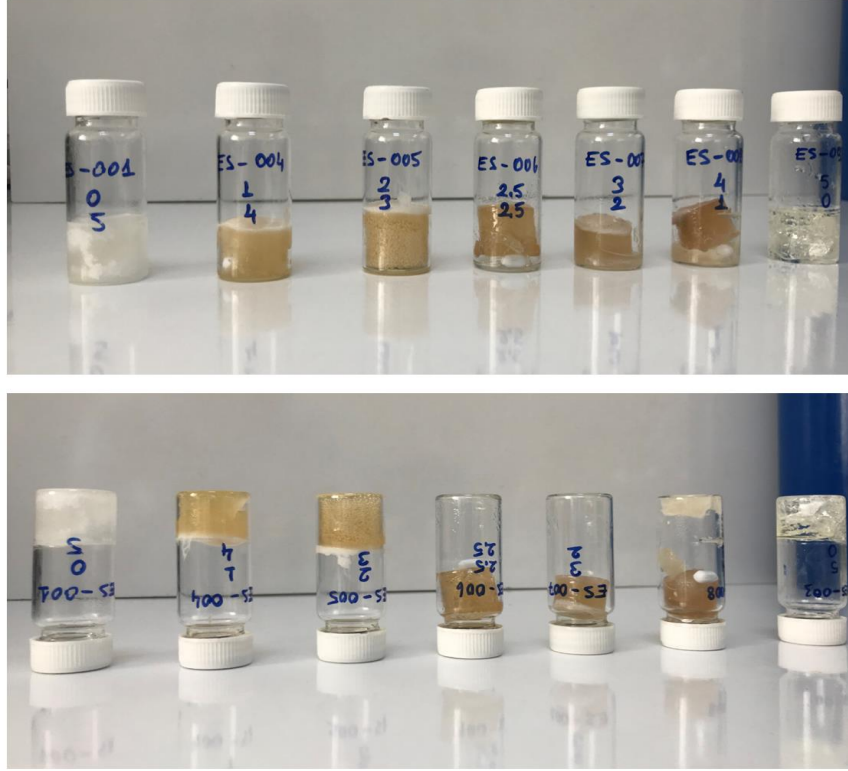


Şekil 4.11. Saf PPEG360MA (a), P(HEMA-ko-PEG360MA) (b) ve Saf PHEMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.



Şekil 4.12. P(HEMA-ko-PEG360MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.

4.3. P(MMA-ko-PEG500MA) Yapılarının Karakterizasyonu



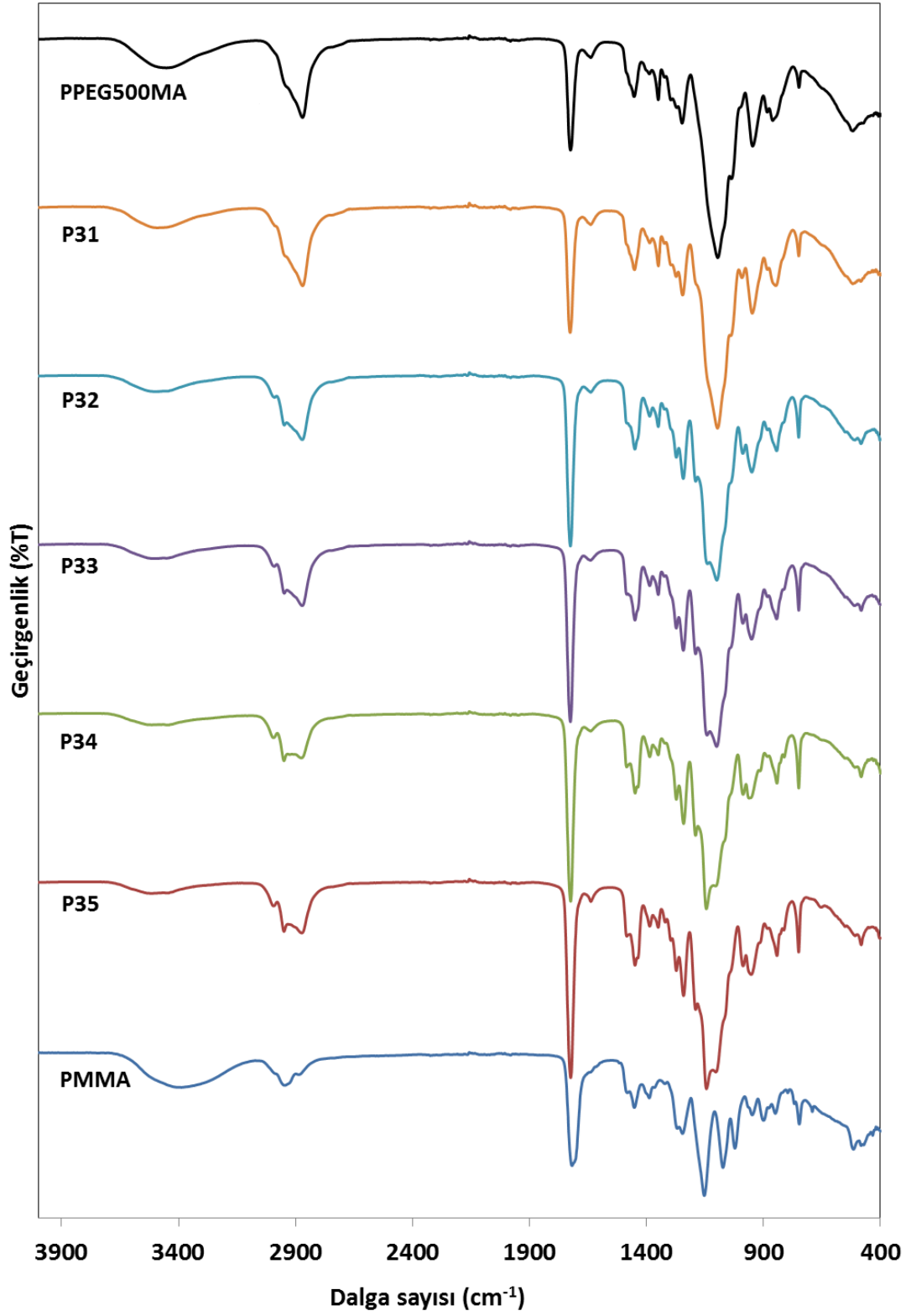
Şekil 4.13. P(MMA-ko-PEG500MA) yapıları.

P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının karakterizasyonunda öncelikle elementel analiz verileri değerlendirildi. İlgili elementel analiz sonuçları teorik değerlerle kıyaslamalı olarak Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre farklı kopolimer yapılarında dahi elementel analiz sonuçları teorik değerlere oldukça yakın görülmüştür. Bu nedenle istenilen polimerik yapıların elde edildiği anlaşılmaktadır. Şekil 4.13’de bu yapılara ait genel fotoğraflar görülmektedir. Bu fotoğrafta saf MMA yapısına yaklaştıkça yapının sertliği, tokluğu ve rijiditesi artmaktadır. PEG500MA oranı arttıkça daha yumuşak bir yapıya geçmektedir. Bu yapının FTIR sonuçları şekil 4.14’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 3300-3600 cm^{-1} aralığında geniş hidroksil pikleri görülmektedir. Bu pikler PEG500MA yapısı arttıkça artmaktadır. Bu şekil üzerinde 2830-2970 cm^{-1} aralığında alifatik CH gerilme titreşimleri görülmektedir. Diğer önemli bir pik ise metakrilat ester yapısından kaynaklı olarak karbonil gerilme titreşimleridir. Bu karbonil gerilme titreşimi 1820 cm^{-1} ’de görülmektedir. Ayrıca 1430 cm^{-1} de alifatik CH_2 ürünlerine ait CH bending piki görülmektedir. 1380 cm^{-1}

de C-C gerilme titreşimi 1190cm^{-1} de C-O-C eterik gerilme titreşimini net bir şekilde görmekteyiz. Ayrıca 725 cm^{-1} de C-H simetrik gerilme titreşimi de istenilen yapıyı doğrulamaktadır. Tüm bu infraret verileri hedeflenen homopolimer ve kopolimer yapıların elde edildiğini göstermektedir.

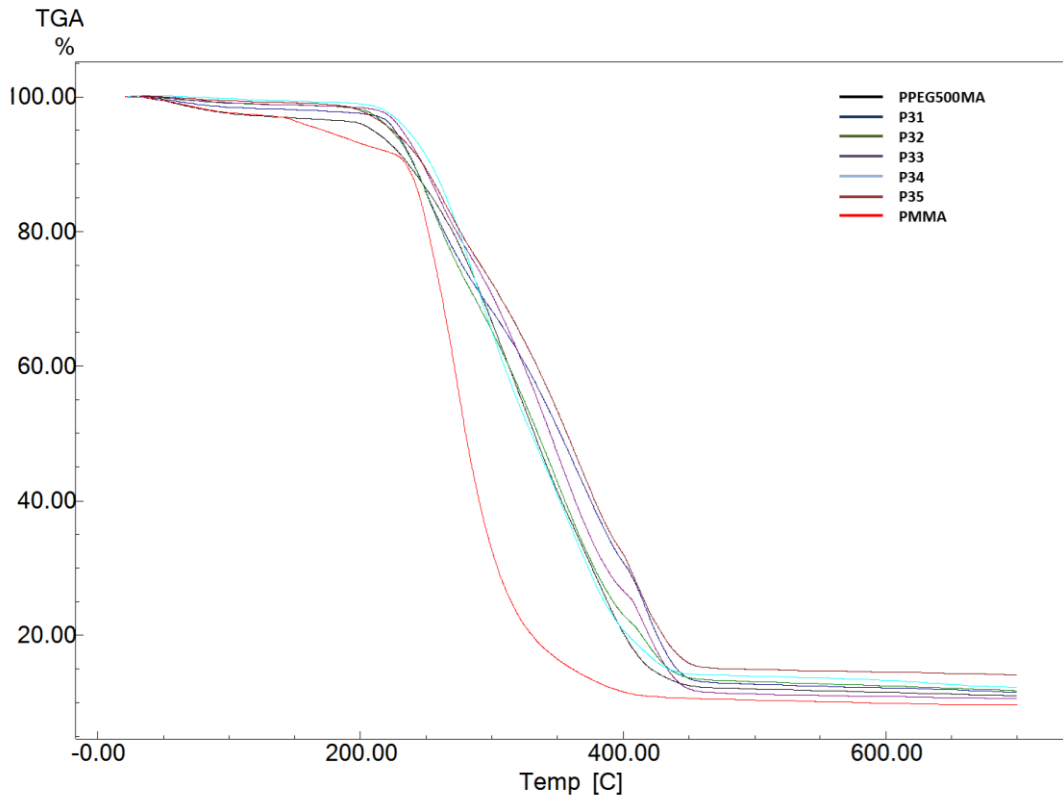
Çizelge 4.3. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.

Polimer yapı		C	H	N
PPEG500MA	Hesaplanan	54,80	8,72	-
	Bulunan	53,30	7,96	-
P31	Hesaplanan	55,67	8,60	-
	Bulunan	54,74	9,24	-
P32	Hesaplanan	55,67	8,60	-
	Bulunan	54,60	8,01	-
P33	Hesaplanan	55,67	8,60	-
	Bulunan	56,34	8,09	-
P34	Hesaplanan	55,67	8,60	-
	Bulunan	57,05	7,52	-
P35	Hesaplanan	55,67	8,60	-
	Bulunan	57,01	7,33	-
PMMA	Hesaplanan	60,03	8,00	-
	Bulunan	54,88	7,96	-

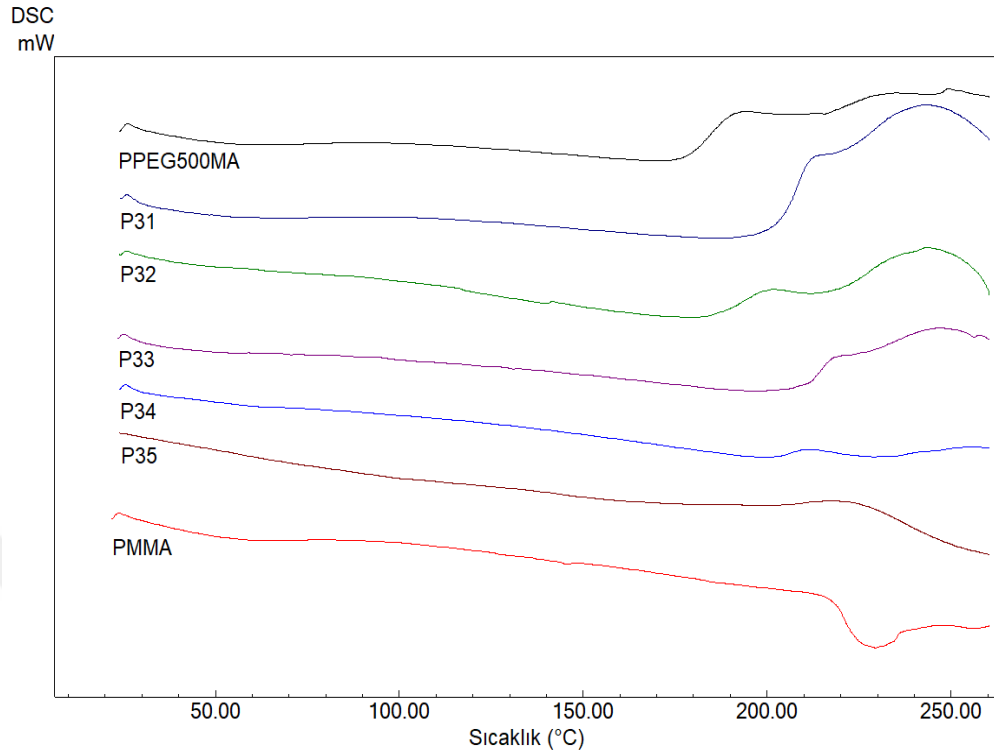


Şekil 4.14. PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının FTIR spektrumları.

Bu yapılara ait termal özellikler ise TGA ve DSC termogramları ile ölçülmüştür. Şekil 4.15’de TGA termogramı görülmektedir. Bu termogramda 80-250°C aralığında yaklaşık %8 civarında bir kütle kaybı görülmektedir. İkinci kütle kaybı ise 250°C den başlayarak 450°C ye kadar devam etmektedir ve oldukça yoğun bir kütle kaybıdır. Bu kütle kaybı polimerik yapının termal degradasyonunu göstermekte olup polimerik yapının termal kararlılığı yaklaşık olarak 250°C de görülmektedir. Çünkü ilk kütle kaybı değeri yapıya bağlı olan nemden kaynaklanmaktadır. Şekil 4.16’da homopolimer ve kopolimerlerine ait DSC ve Tg değerleri verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde 110°C olan saf MMA yapısına ait Tg değerinin düştüğü görülmektedir. Bu düşüş polimer zincirleri arasında fırça yapısının girmesiyle zincirler arası mesafenin açılmasından kaynaklanır. PEG500MA yan grubunda bu düşüş PEG360MA’a göre daha belirgindir. Bu biyomedikal uygulamalarda polimerin esnekliğini artırarak uygulanabilirliğini kolaylaştırmaktadır.

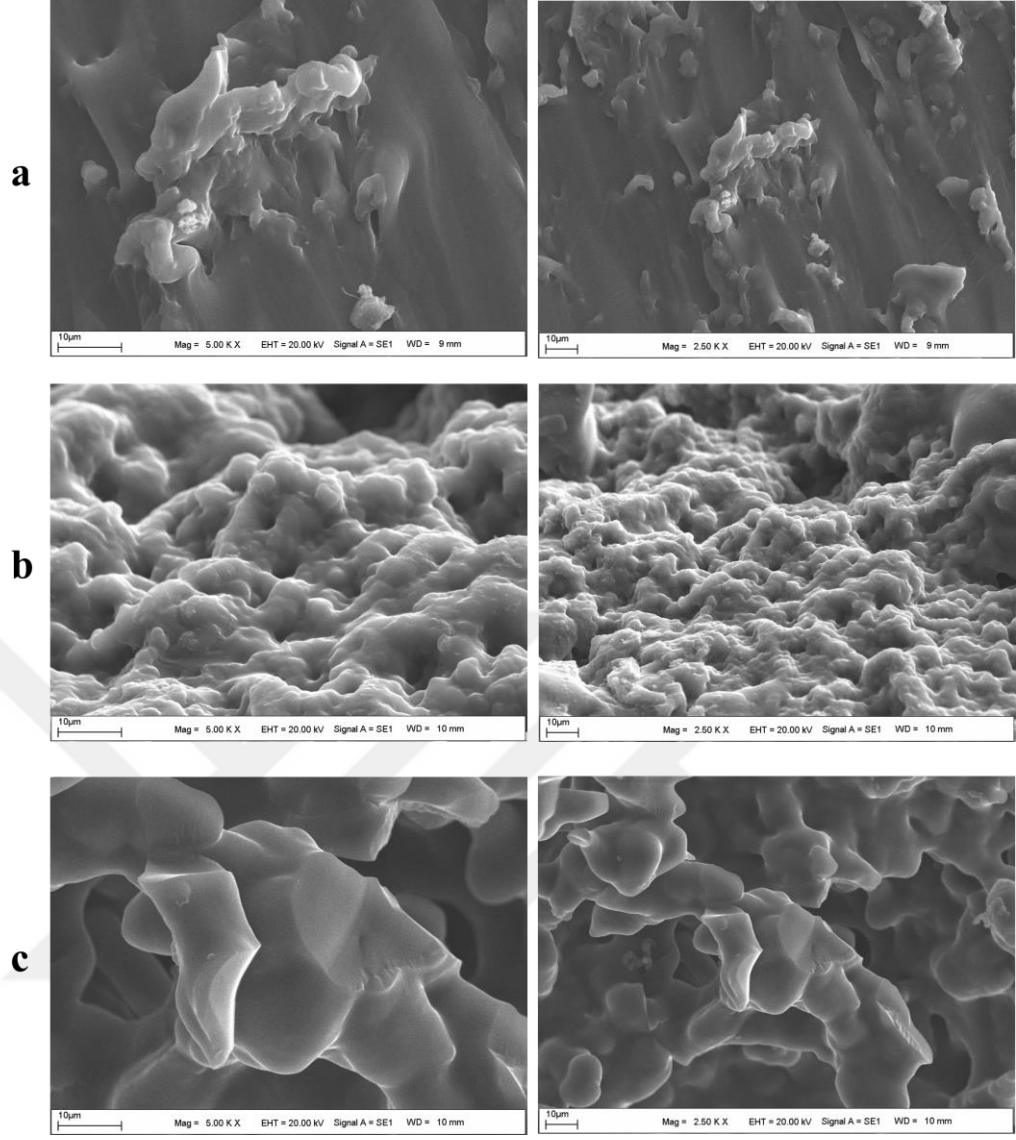


Şekil 4.15. PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının TGA termogramları.

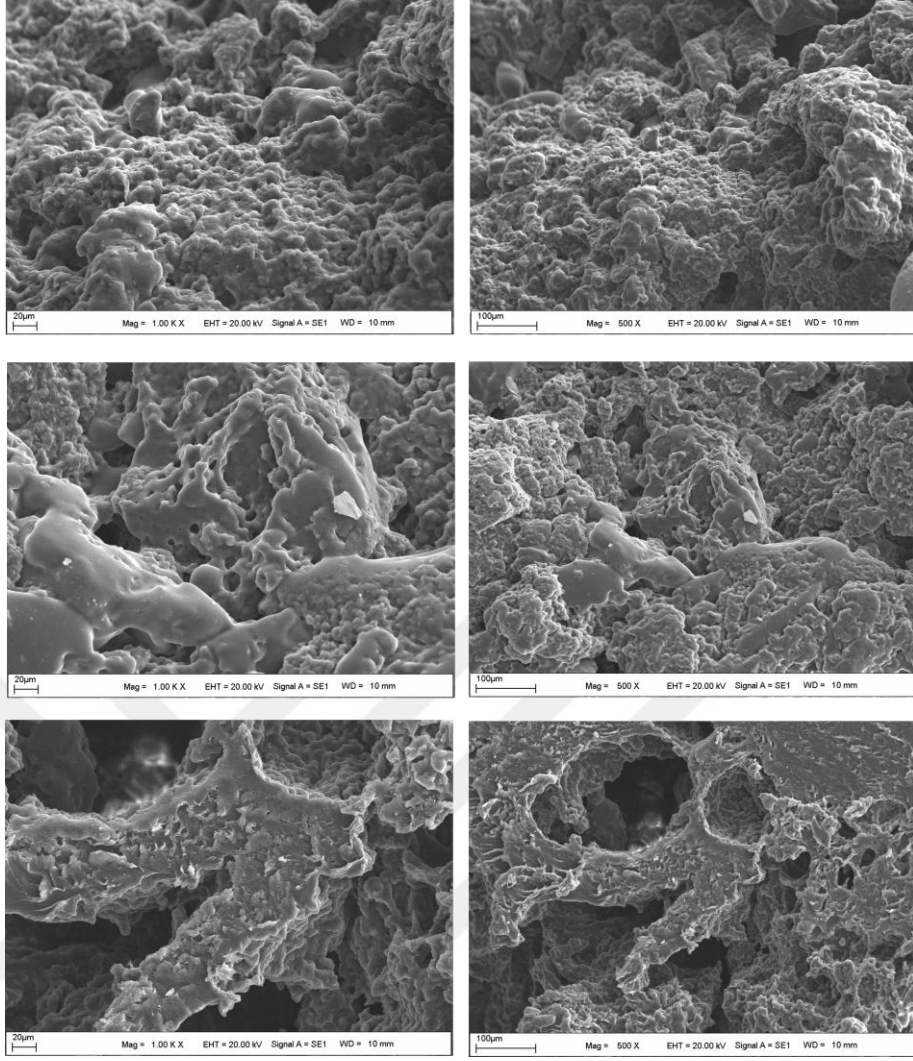


Şekil 4.16. PPEG500MA, PMMA ve P(MMA-*ko*-PEG500MA) yapılarının DSC termogramları.

Şekil 4.17’de saf PPEG500MA (a), P(MMA-*ko*-PEG500MA) (b) ve saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri verilmiştir. Özellikle saf PMMA ve saf PPEG500MA yapılarında yüzey daha homojen ve düzgün görünmektedir. Ancak polimer yapısının kopolimer yapısına dönüşmesi ile yapının porozitesi ve biyomedikal uygulamalar açısından da uygulanabilirliği artmaktadır. Şekil 4.18’de kopolimer yapılarına ait SEM görüntüleri farklı büyütme oranlarında verilerek detaylandırılmıştır. Bu görüntülerde iki farklı büyütme oranında olacak şekilde farklı oranlarda kopolimer yapılarındaki yüzey morfolojileri verilmiştir. Yapıdaki PEG500MA oranı arttıkça yüzeyin pürüzlülüğünün arttığını 1000x ve 500x SEM görüntülerinde görülmektedir.



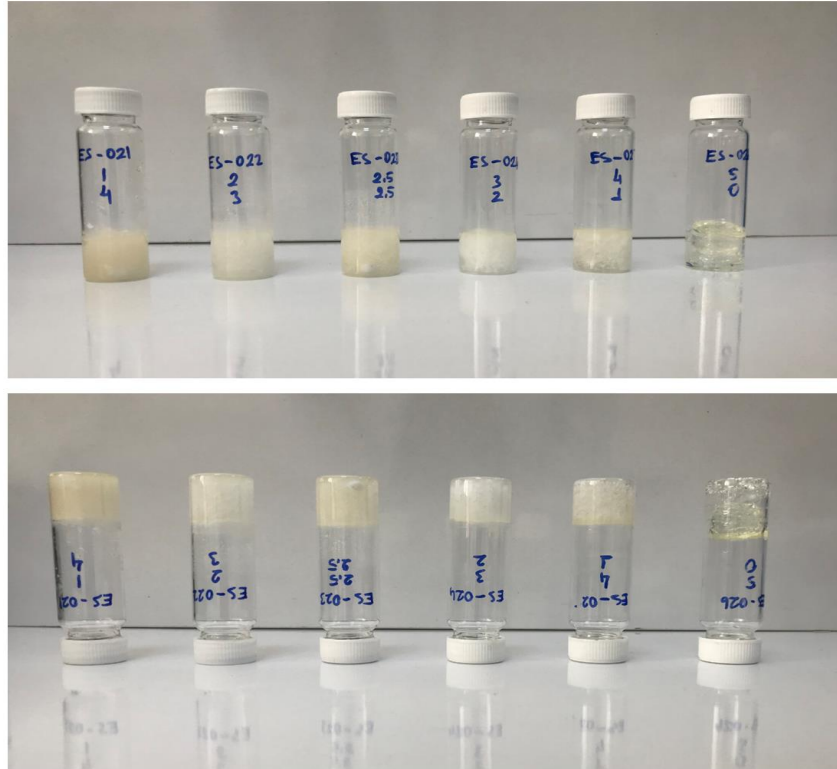
Şekil 4.17. Saf PPEG500MA (a), P(MMA-ko-PEG500MA) (b) ve Saf PMMA (c) yapılarının SEM görüntüleri.



Şekil 4.18. P(MMA-ko-PEG500MA) yapılarının detaylı SEM görüntüleri.

4.4. P(HEMA-ko-PEG500MA) Yapılarının Karakterizasyonu

Farklı oranlarda sentezi gerçekleştirilen P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarına ait elementel analiz verileri çizelge 4.4’de verilmiştir. Bu verilere göre gerek saf homopolimer yapılarında gerekse de kopolimer yapılarının deneysel sonuçları teorik değerler ile büyük oranda benzerlik göstermektedir. Bu sonuç istenen teorik değerlere sahip PEG500MA yapılı fırça tipi polimerlerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ispatlamaktadır. Sentezlenen bu polimerlerin genel kimyasal yapıları FTIR spektrumu ile karakterize edilmiştir. İlgili FTIR spektrumları Şekil 4.19’da kıyaslamalı olarak verilmektedir. Genel olarak incelendiğinde tüm FTIR spektrumlarında MMA yapısından kaynaklı olarak 1820 cm^{-1} de şiddetli bir pik şeklinde karbonil gerilme titreşimleri görülmektedir. Ayrıca 1270 cm^{-1} de C-O-C eterik gerilme piki ve $1850\text{-}1970\text{ cm}^{-1}$ de alifatik CH_2 gruplarına ait pikler ana zincir yapısından kaynaklı olarak görülmektedir.

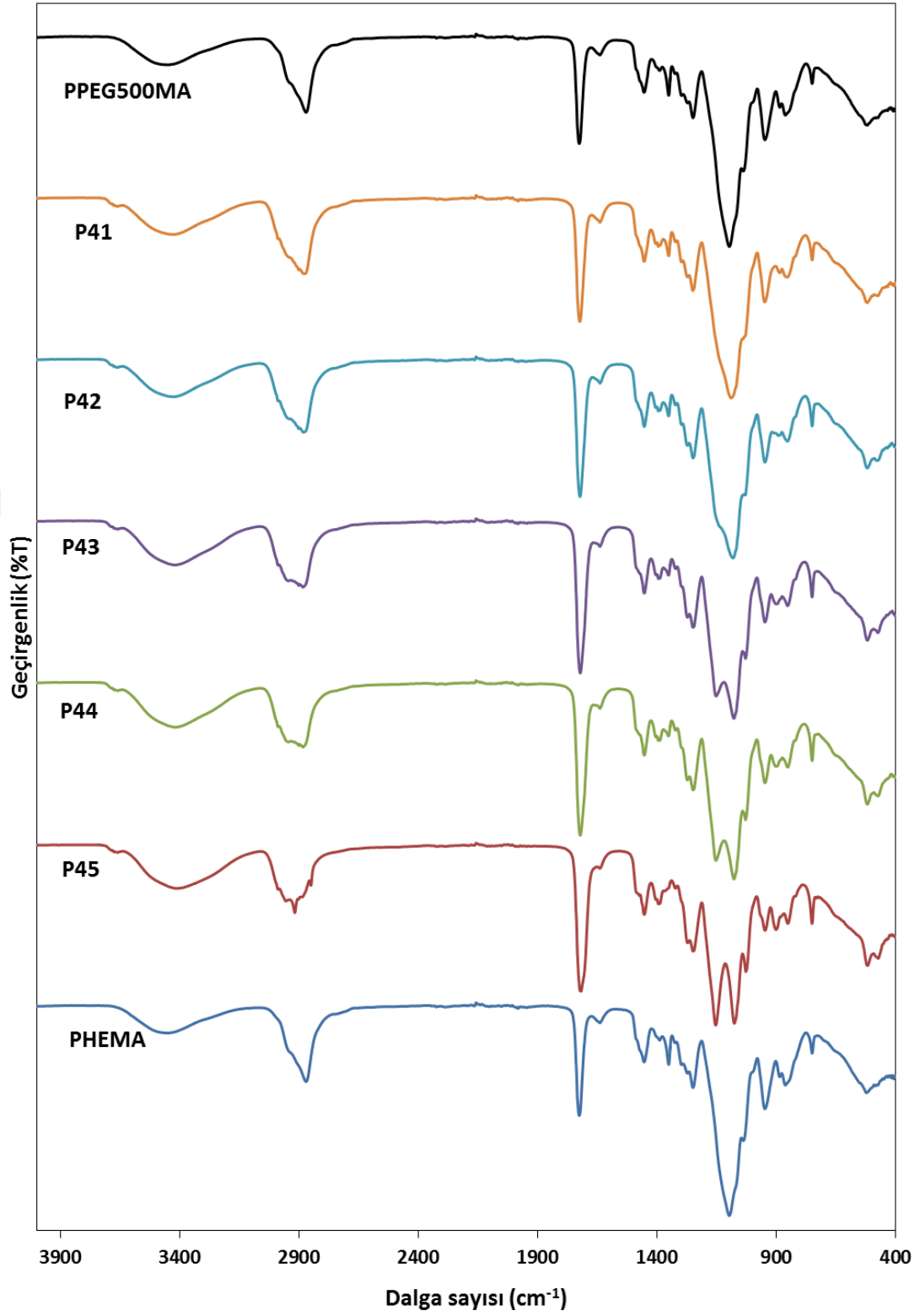


Şekil 4.19. P(HEMA-ko-PEG500MA) yapıları.

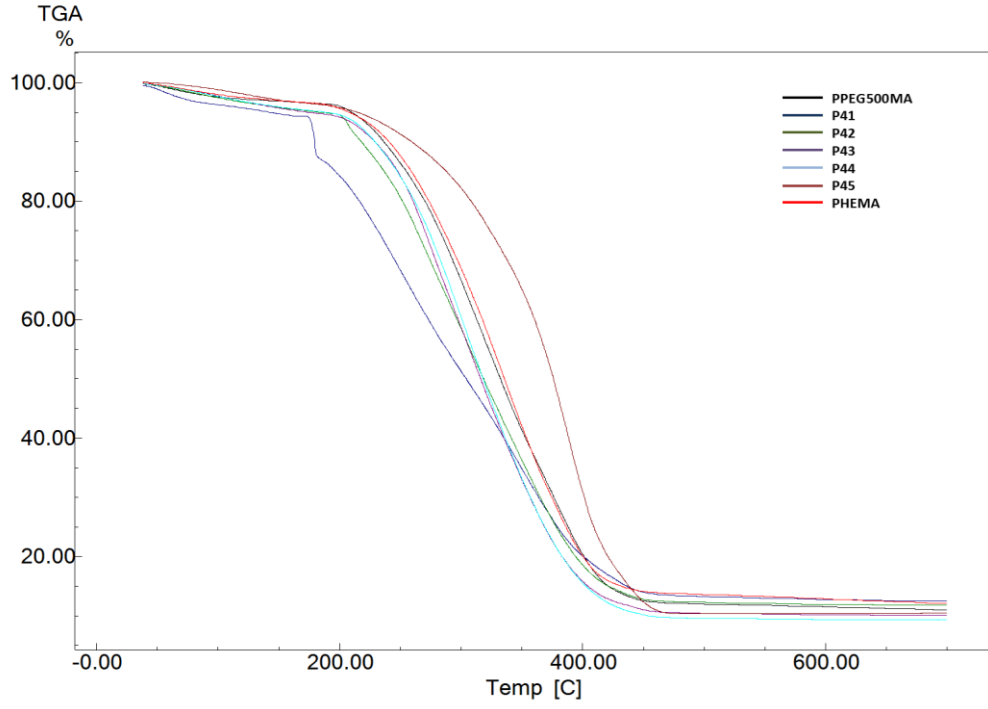
Yapıya PEG500 fırça gruplarında dahil olmasıyla yapıdaki OH gruplarından kaynaklı olarak 3300-3680 cm^{-1} aralığında -OH grupları H bağı pikleri görülmektedir. Ayrıca yapıda bulunan PEG500 miktarına bağlı olarak artan şiddette 1638 cm^{-1} de bir omuz piki ve yaklaşık olarak 1100 cm^{-1} 'de eterik gerilme pikleride yapıya dahil olmaktadır. Diğer bir önemli gösterge ise 2850-2950 cm^{-1} aralığında bulunan CH_2 gruplarına ait C-H gerilme titreşimlerinin şiddetlenmesidir. Bu pikler istenilen yapının elde edildiğini ıspatlamaktadır.

Çizelge 4.4. Çalışma kapsamında sentezlenen PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının elementel analiz sonuçları.

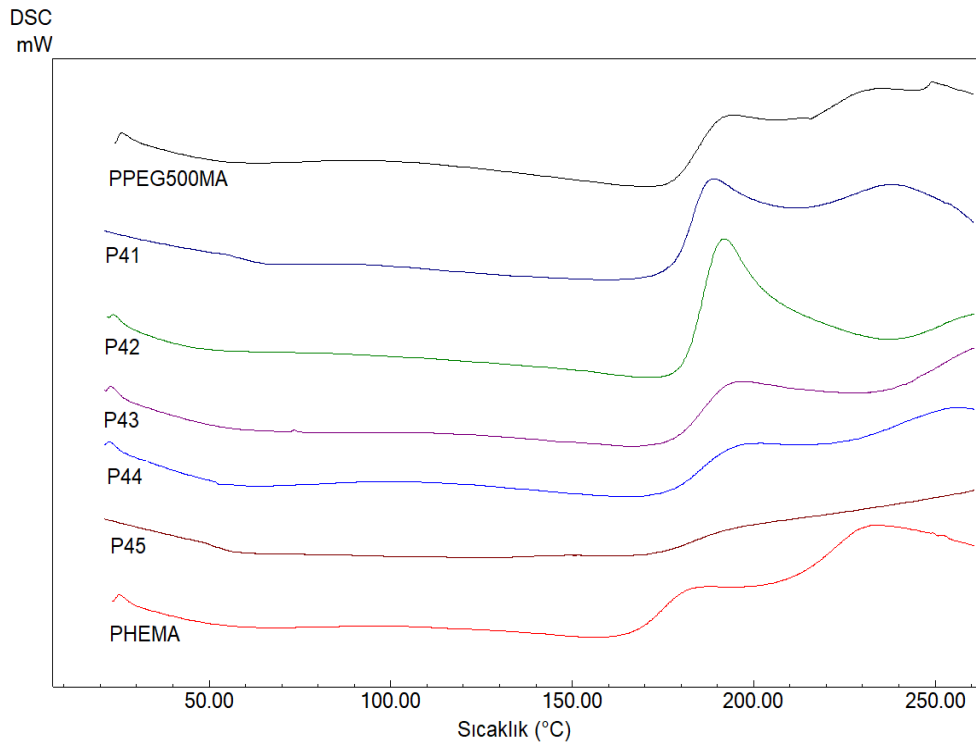
Polimer yapı		C	H	N
PPEG500MA	Hesaplanan	54,80	8,72	-
	Bulunan	53,52	8,31	-
P41	Hesaplanan	54,93	8,51	-
	Bulunan	53,09	8,38	-
P42	Hesaplanan	54,93	8,51	-
	Bulunan	53,13	7,27	-
P43	Hesaplanan	54,93	8,51	-
	Bulunan	53,08	7,72	-
P44	Hesaplanan	54,93	8,51	-
	Bulunan	53,21	7,36	-
P45	Hesaplanan	54,93	8,51	-
	Bulunan	53,08	7,15	-
PHEMA	Hesaplanan	55,42	7,69	-
	Bulunan	53,30	7,83	-



Şekil 4.20. PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-*ko*-PEG500MA) yapılarının FTIR spektrumları.

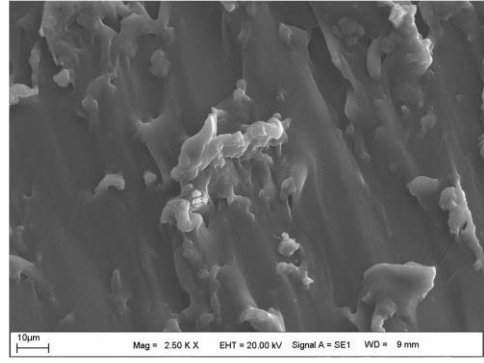
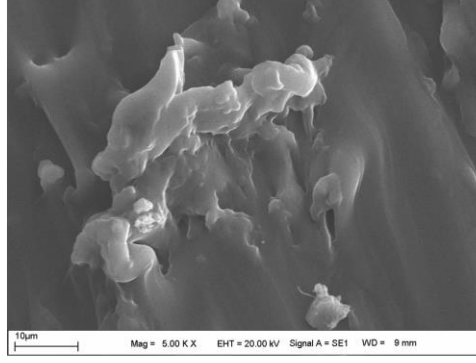


Şekil 4.21. PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının TGA termogramları.

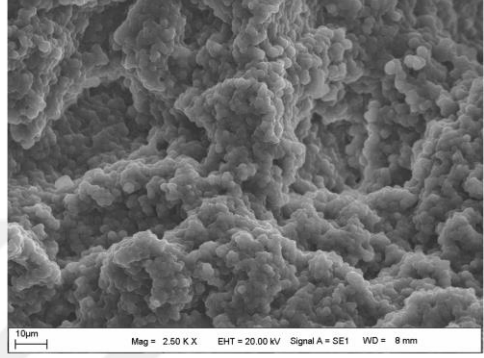
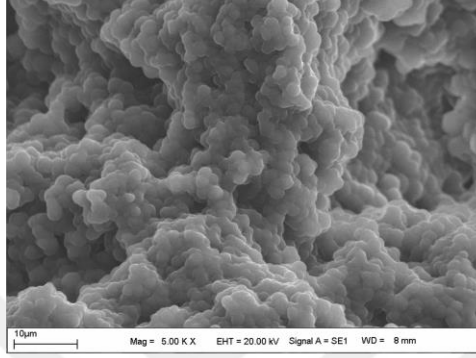


Şekil 4.22. PPEG500MA, PHEMA ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının DSC termogramları.

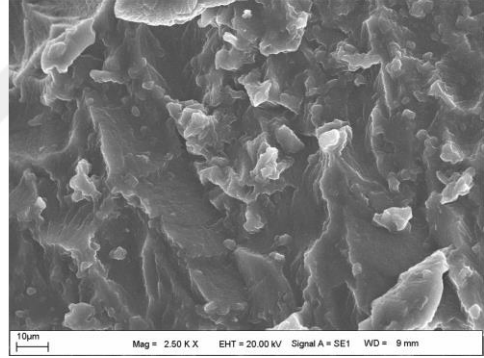
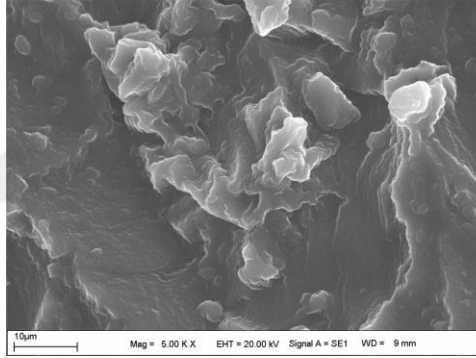
a



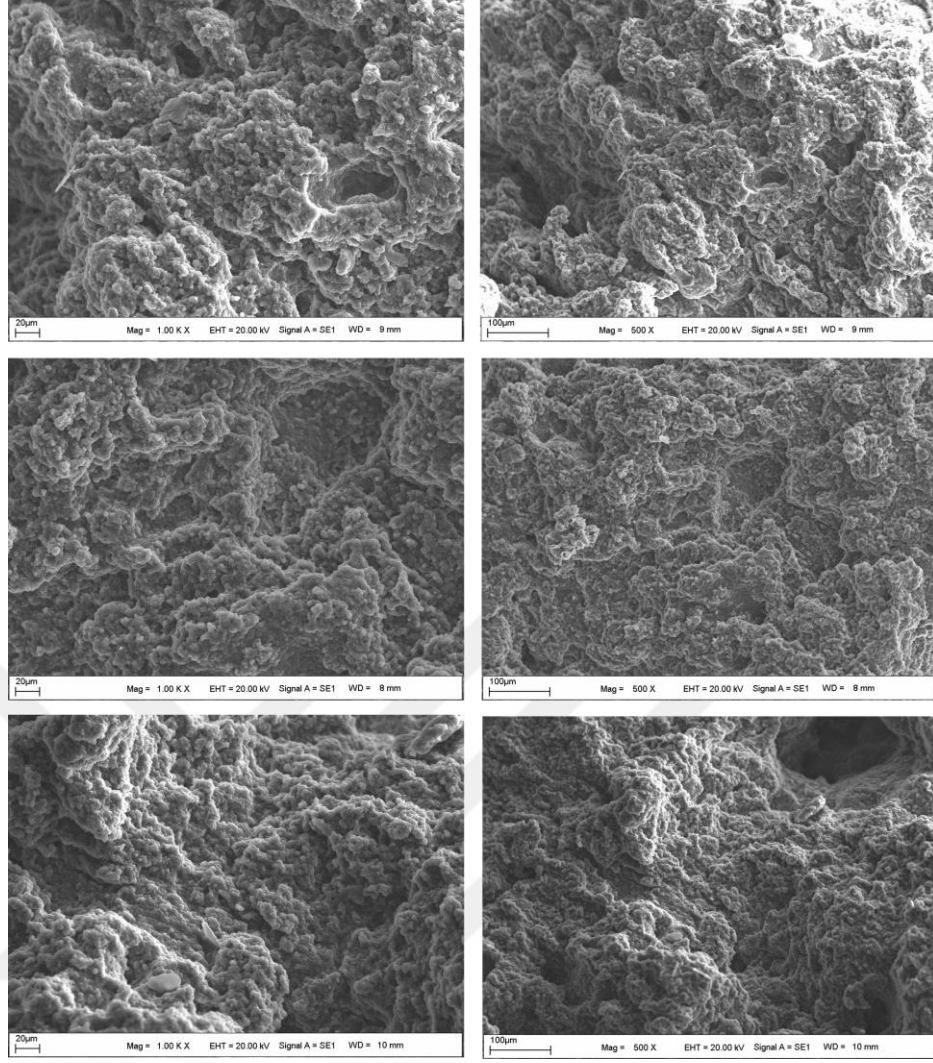
b



c



Şekil 4.23. P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının SEM görüntüleri.



Şekil 4.24. P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılarının SEM görüntüleri.

4.5. PEG Yan zincirli Kopolimer Yapılarının Biyomedikal Uygulama Sonuçları

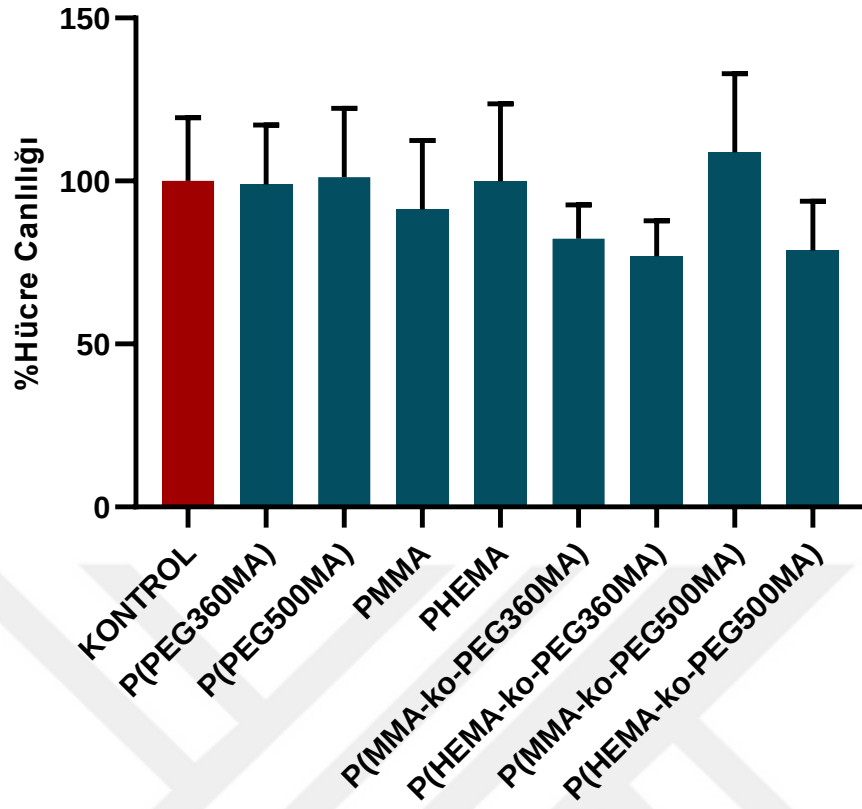
4.5.1. Sentezlenen kopolimer yapılarının *in vitro* hücre kültür sisteminde biyoyumluluk özelliklerinin ölçülmesi

Tez kapsamında farklı biyomedikal uygulamalarda kullanmak amacı ile 24 farklı yapıda PEG yan grupları içeren fırça tipli polimerler sentezlenmiştir. Sentezlenen polimerlerden hedef bir polimer seçimi yapılabilmesi için karakterizasyon verilerine göre en uygun sonuç veren 4 adet kopolimer ve başlangıç polimerleri için L-929 fare fibroblast hücre hattı ile *in vitro* hücre kültür sisteminde biyoyumluluk çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyon

çalışması sırasında saf homopolimer yapıları ve kopolimer yapılarının kimyasal yapısını en iyi temsil edecek olan %50:%50 kopolimer yapıları biyoyumluluk açısından değerlendirmeye alınmıştır. Bu parametrelere göre PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) yapılı polimerler seçilerek *in vitro* hücre kültür sisteminde biyoyumluluk çalışmaları bu polimerik yapılara uygulanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.25 ve Şekil 4.26’da bu analizlerden elde edilen hücre canlılığı test sonuçları ve bu deneylere ait hücrelerin mikroskop altındaki görüntüleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA ve P(MMA-ko-PEG500MA) örnekleri %90’ın üzerinde hücre canlılığı göstererek Grade 0 düzeyinde biyoyumlu çıkmıştır. Öte yandan P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) örnekleri %75’in üzerinde hücre canlılığı göstererek Grade 1-Grade 2 düzeyinde biyoyumlu çıkmıştır. Bu sonuçlardan elde edilen polimerlerin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek hidrojel niteliği taşıdığı görülmektedir.

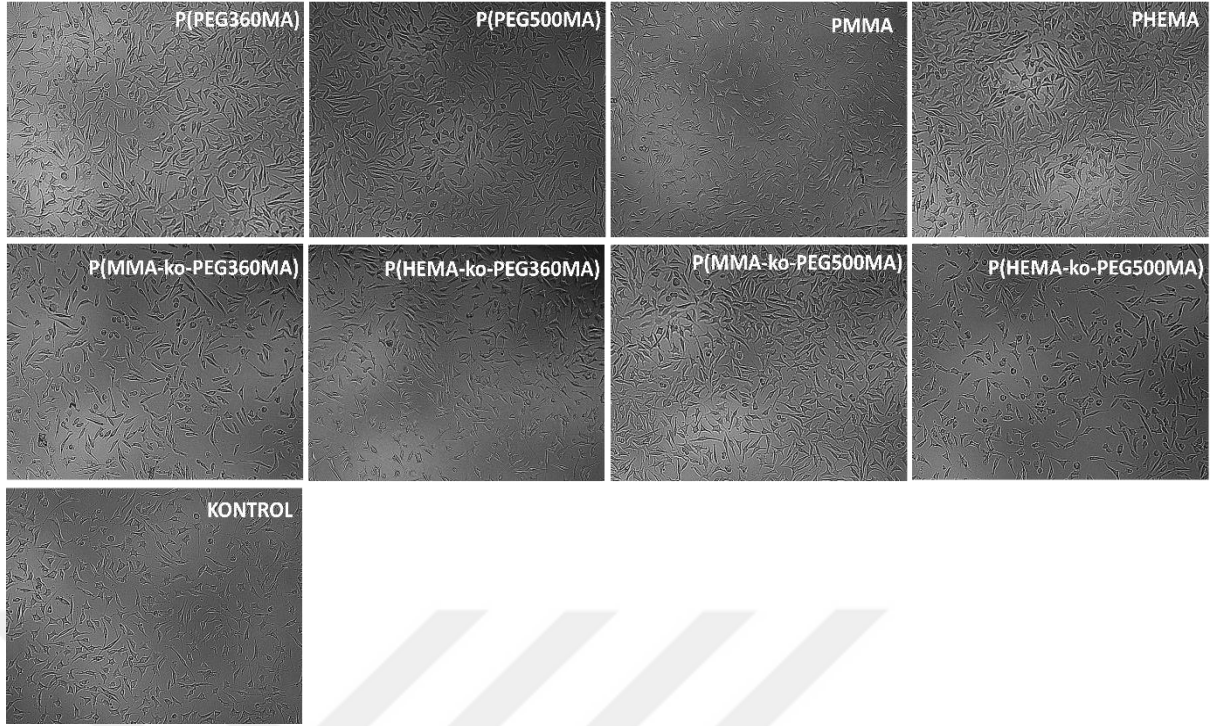
Çizelge 4.5. PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyoyumluluk testinde % hücre canlılığı sonuçları

ÖRNEK KODU	% Hücre Canlılığı
KONTROL	100,0±19,4
PPEG360MA	99,0±18,2
PPEG500MA	101,1±21,0
PMMA	91,3±21,2
PHEMA	100,0±23,8
P(MMA-ko-PEG360MA)	82,3±10,4
P(HEMA-ko-PEG360MA)	77,0±10,8
P(MMA-ko-PEG500MA)	108,8±24,1
P(HEMA-ko-PEG500MA)	78,6±15,1



Şekil 4.25. PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyouyumluluk testinde % hücre canlılığı sonuçları

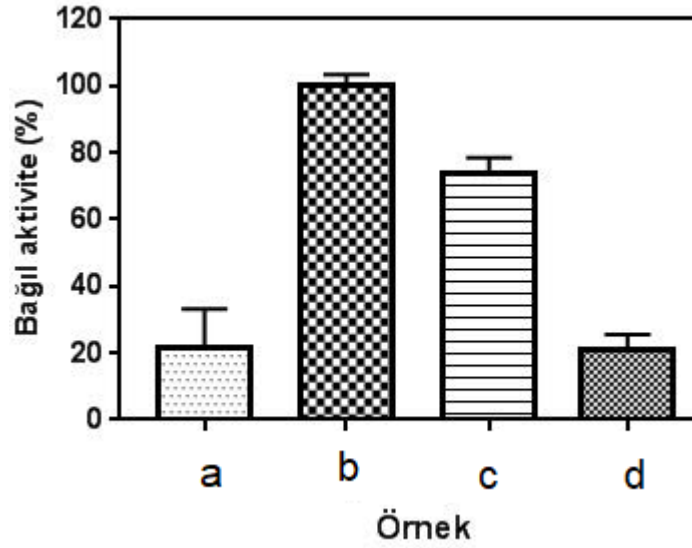
Bu sonuçlara göre elde edilen polimerlerin biyouyumlulukları oldukça yüksek olarak görülmüş ve polimerlerin biyouyumlulukları grade 1 düzeyinde tespit edilmiştir.



Şekil 4.26. PPEG360MA, PPEG500MA, PMMA, PHEMA, P(MMA-ko-PEG360MA), P(HEMA-ko-PEG360MA), P(MMA-ko-PEG500MA) ve P(HEMA-ko-PEG500MA) polimerlerinin L-929 hücre hattı ile gerçekleştirilen indirekt biyoyumluluk testinde elde edilen mikroskop görüntüleri

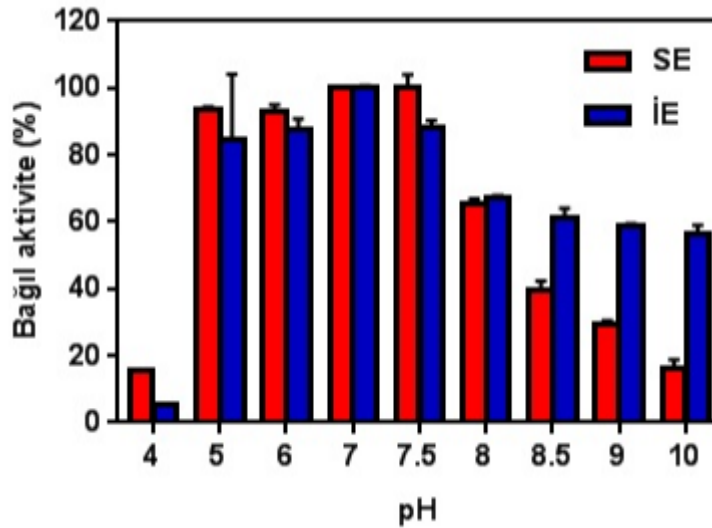
4.5.2. PEG yan zincirli kopolimer yapılarının katalaz immobilizasyon uygulama sonuçları

Tez kapsamında elde edilen polimerlerin enzim taşıyıcı matrik olarak kullanılabilme özelliklerinin belirlenmesi için katalaz enzimi kullanılmıştır. Özellikle %50:%50 PEGMA ve akrilat monomeri içeren polimerlerin enzim taşıma özellikleri tespit edilmiştir. P(MMA-PEG360MA), P(MMA-PEG500MA), P(HEMA-PEG360MA) ve P(HEMA-PEG500MA) yapılarına ait immobilize enzimin aktivite sonuçları kıyaslamalı olarak Şekil 4.27’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek aktivite değeri P(MMA-PEG500MA) polimerinde görülmüştür. Bunun nedeni fırça yapısının bağlı olduğu akrilat polimeri üzerinde uygun enzim boşluklarının olduğunun SEM yapısı ile bağdaşmasıdır.

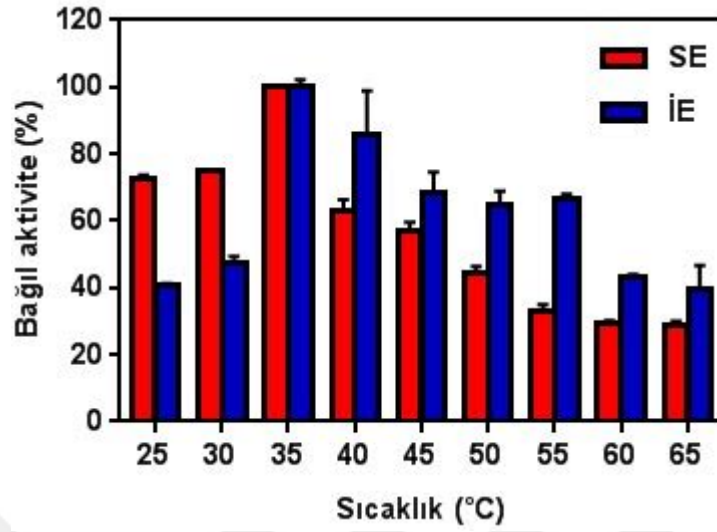


Şekil 4.27. P(MMA-*ko*-PEG360MA) (a), P(MMA-*ko*-PEG500MA) (b), P(HEMA-*ko*-PEG360MA) (c) ve P(HEMA-*ko*-PEG500MA) (d) yapılarına ait immobilize enzimin aktivite sonuçları.

En yüksek enzim aktivitesi gösteren P(MMA-*ko*-PEG500MA) yapısı ileri optimizasyonlar da temel olarak alınmış ve detaylı incelenmiştir. Optimizasyon olarak pH ve sıcaklık optimizasyonları yapılmıştır. Ayrıca kullanım sayısına bağlı olarak aktivite değişimlerinde incelenmiştir. Bu sonuçlar şekil 4.28, şekil 4.29 ve şekil 4.30’da verilmiştir.

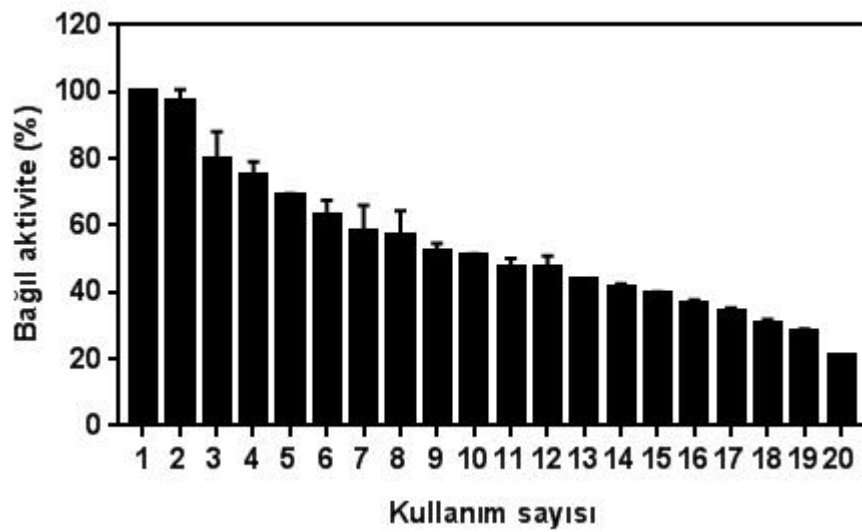


Şekil 4.28. Katalaz immobilize P(MMA-*ko*-PEG500MA) yapısı için pH optimizasyonu.



Şekil 4.29. Katalaz immobilize P(MMA-*ko*-PEG500MA) yapısı için sıcaklık optimizasyonu.

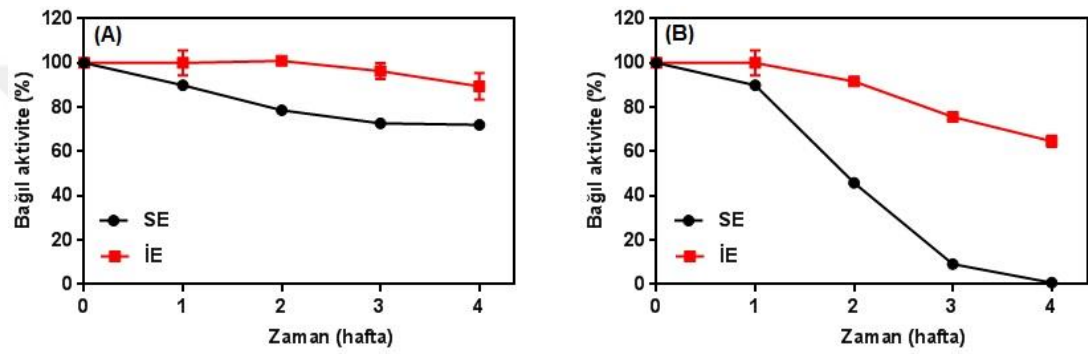
Temel optimizasyon verilerine göre optimum pH serbest ve immobilize enzim için 7.00 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık optimizasyonunda ise serbest ve immobilize enzim için optimum sıcaklık 35°C olarak bulunmuştur. Yüksek pH ve sıcaklıkta immobilize enzimin aktivite sonuçları serbest enzimden daha yüksek görülmüştür.



Şekil 4.30. İmmobilize enzim için kullanım sayısı bağıl aktivite sonuç grafiği.

Şekil 4.30'da immobilize enzim için kullanım sayısı bağıl aktivite sonuç grafiği verilmiştir. Bu sonuçlara göre ardıl yirmi kullanım sonrasında dahi immobilize enzimin yaklaşık %30 aktivite verdiği görülmektedir.

Serbest ve immobilize katalaz enzimi için 4°C ve 25°C'deki dopolama kararlılığı sonuçları şekil 4.31'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre immobilize enzim hem 4°C'de hemde 25°C'de serbest enzyme kıyasla başlangıç aktivitesini daha fazla korumuştur. Özellikle oda sıcaklığında serbers enzim 4 hafta sonnunda başlangıç aktivitesini tamamen kaybederken immobilize enzim başlangıç aktivitesinin yaklaşık %65'ini korumaktadır.



Şekil 4.31. Serbest ve immobilize enzim için dopolama kararlılığı sonuçları. (A: 4°C ve B: 25°C)

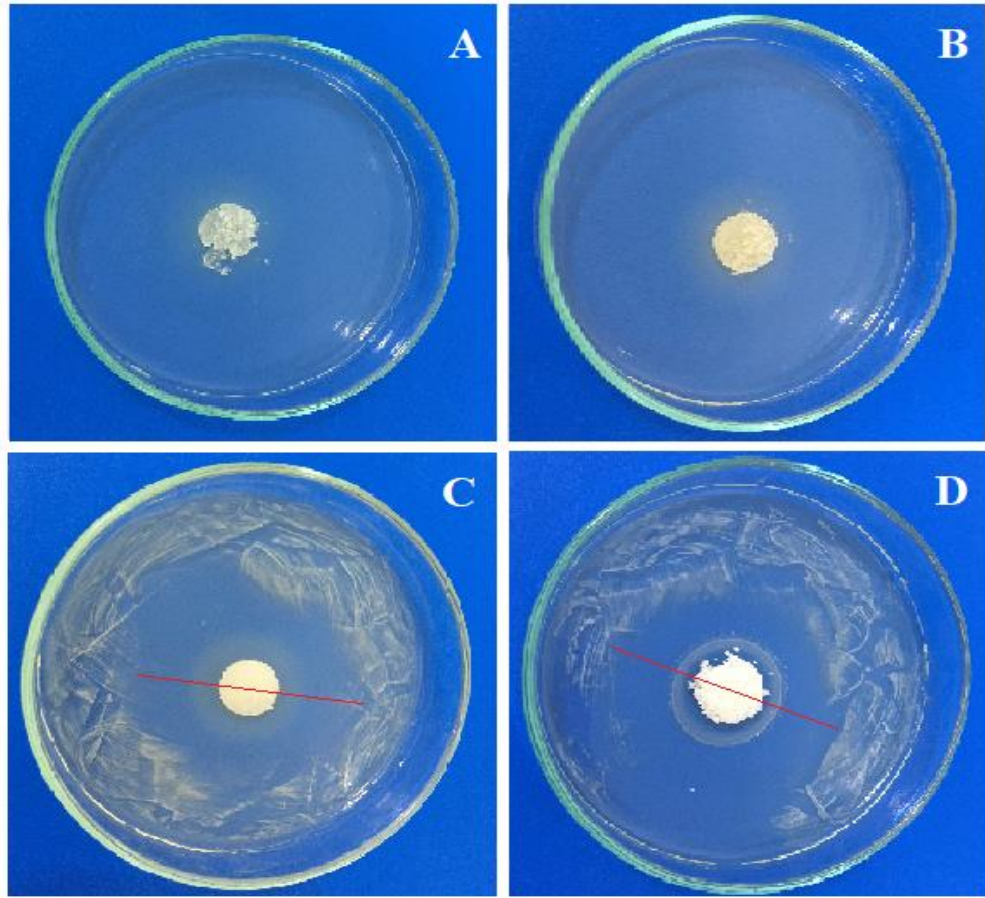
Çizelge 4.6. Serbest ve immobilize enzim için kinetic parametreler.

	Km (mM)	Vmax (µmolH ₂ O ₂ /mg.dk)
Serbest Enzim	102	909
İmmobilize Enzim	49	1666

Serbest ve immobilize enzim için kinetic parametreler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre, immobilize enzimin Km değeri yaklaşık olarak % 50 azalmıştır. Bu azalış immobilize enzimin substratına olan ilgisinin arttığını göstermektedir. Genellikle immobilizasyondan sonra Km değeri azalır ve Vmax yükselir. Elde edilen sonuçlar bununla uyumludur. Buradan hazırlanan P(MMA-ko-PEG500MA) yapısının katalaz immobilizasyonu için ideal bir matriks olduğu sonucuna varılabilir.

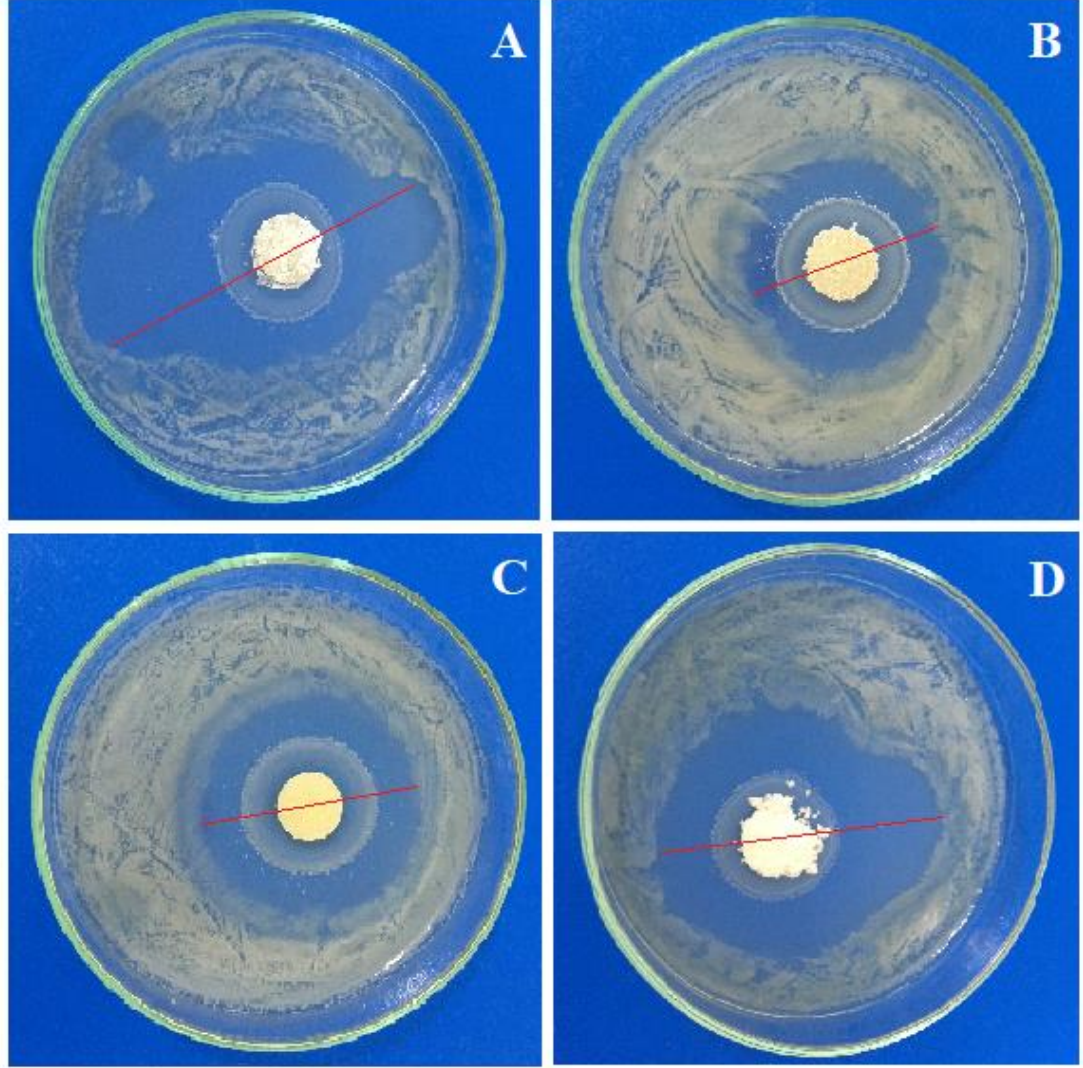
4.5.3. PEG yan zincirli kopolimer yapılarının antibakteriyel test sonuçları

Siprofloksasin ilacı katkılanan PU-200- β CDs polimer filmlerinin antibakteriyel özellikleri *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 19659) bakteri türlerinde incelenmiştir. 0.2 g numunelere elde edilen siprofloksasinden %5 oranında eklenerek her bir numune sıvı azot içerisinde bekletildikten sonra öğütülüp 10 tonluk basınçla peletlenerek yaklaşık 1 cm çapında peletler elde edildi. Elde edilen peletler besiyerlerine eklenerek sonuçlar şekil 4.30 ve şekil 4.31’de verilmiştir.



Şekil 4.32. *Escherichia coli* üzerinde PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları. A.) P(MMA-ko-PEG500MA)/0,01mg siprofloksasin B.) P(MMA-ko-PEG360MA)/0,1 mg siprofloksasin C.) P(HEMA-ko-PEG360MA)/0,01 mg siprofloksasin D.) P(HEMA-ko-PEG500MA)/0,01 mg siprofloksasin

Her iki bakteri türü için elde edilen sonuçlar incelendiğinde, içerisine 0,01 mg siprofloksasin katılan tüm polimerlerin antibakteriyel özellik gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubu olarak kullanılan ve siprofloksasin içermeyen polimer filmlerin antibakteriyel etki göstermediği görülmüştür. Antibakteriyel örneklerin zon çapları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

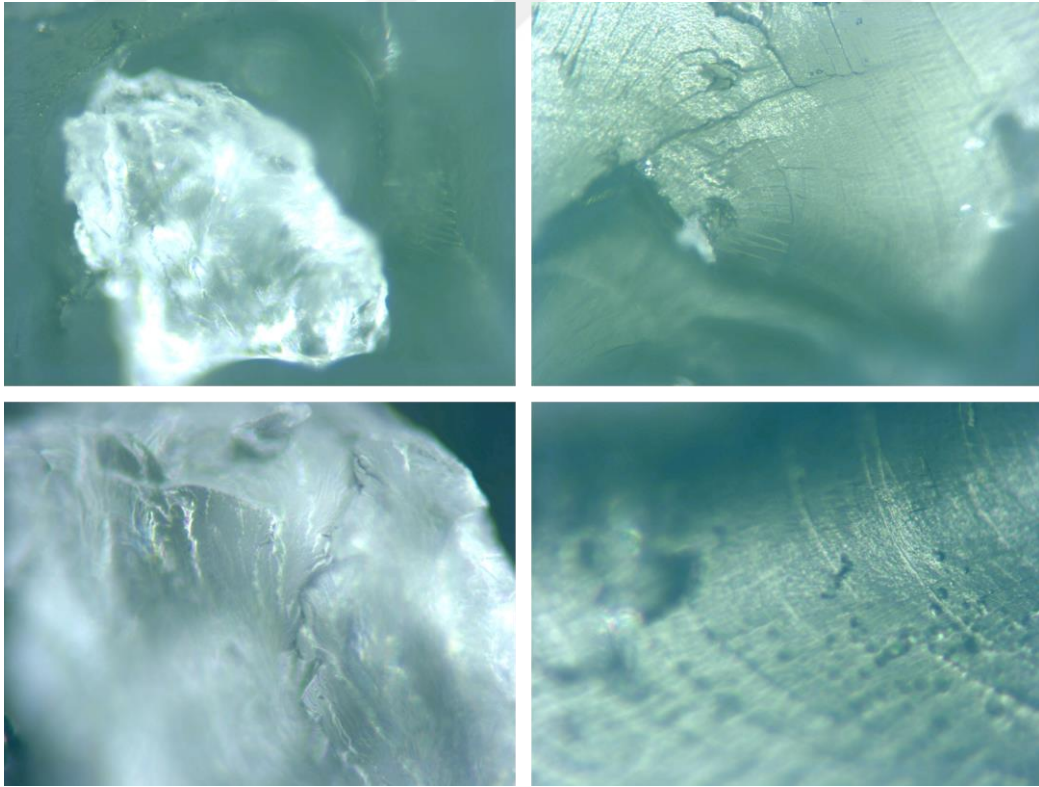


Şekil 4.33. *Bacillus subtilis* üzerinde PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları. A.) P(MMA-ko-PEG500MA)/0,01mg siprofloksasin B.) P(MMA-ko-PEG360MA)/0,1 mg siprofloksasin C.) P(HEMA-ko-PEG360MA)/0,01 mg siprofloksasin D.) P(HEMA-ko-PEG500MA)/0,01 mg siprofloksasin.

Çizelge 4.7. Siprofloksasin katkılanan PEG yan zincirli kopolimerlere ait zon çapları.

NUMUNE	<i>E. coli</i> Zon Çapları/mm	<i>B. subtilis</i> Zon Çapları/mm
P(MMA- <i>ko</i> -PEG500MA)	Tüm Alan	64.6
P(MMA- <i>ko</i> -PEG360MA)/	Tüm Alan	42.5
P(HEMA- <i>ko</i> -PEG360MA)	50	45
P(HEMA- <i>ko</i> -PEG500MA)	54.6	56.6

Sonuç olarak bu durum sentezlenen fırça tipi polimerik yapıların (Şekil 4.34) mimari yapısında yer alan PEG grupları ve PEG molekül kütlesi yani PEG zincir uzunluğuna bağlı olarak oluşan hidrofilik boşlukların siprofloksasin ilacının absorplanmasını desteklediğini ve polimer filmlerin absorplama kapasitesinde artış gösterdiği şeklinde yorumlanabilmektedir.



Şekil 4.34. Sentezlenen fırça tipi polimer yapılarına ait optik mikroskop görüntüleri.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Tez kapsamında fırça tipi yapılara sahip akrilat türevli polimerler sentezlenmiştir. Sentezlenen bu polimerik yapılarda farklı boy ve uzunlukta fırça tipi yan gruplar bulunmaktadır. Yan grup olarak biyouyumluluğu yüksek PEG üniteleri tercih edilmiştir. Günümüz medikal endüstrisinde biyouyumlu yüzeyler ilaç salınım sistemleri, doku destek malzemeleri, hücre iskeleleri, yara örtü malzemeleri, biyolojik sıvı absorbanları ve biyosensörler oldukça önem arz etmektedir. Tüm bu yapılarda biyouyumluluk ve aktif fonksiyonel gruplar çok önemlidir. Özellikle vücut içi ilaç salınım sistemlerinde ilacın kontrollü olarak salınımının düzenlenmesi için aktif yapılara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca antibakteriyel sistemlerde antibakteriyel ajanın polimerik yapı tarafından absorplanması ya da bağlanması için aktif gruplara gereksinim duyulmaktadır. Başka bir uygulama olan doku destek malzemelerinde ise büyütülecek hücre ve doku materyalinin toksik olmayan bir yüzeyde büyütülmesi gerekmektedir. Diğer bir biyomedikal uygulama alanı olan biyosensör uygulamalarında ise analatın elektrot yüzeyine ulaşması interferantların girişim etkisinin engellenmesinde ve aktif bir elektrot yüzeyi sağlanmasında biyouyumlu yüzeylerin etkisi oldukça önemlidir. Tüm bu uygulamalarda fırça tipi polimer yapılar büyük potansiyele sahiptir. Özellikle PEG gibi biyouyumlu gruplara sahip olan fırça yapılar oldukça önemlidir. Bu tez kapsamında da bu tip biyouyumlu yüzeylerin eldesi için homo ve kopolimer yapısında fırça tipi polimerler sentezlenmiştir. Sentezlenen yapılar elementel analiz, FTIR spektroskopisi ve SEM analizleriyle incelenmiştir.

Sentezlenen P(HEMA-ko-PEGMA) polimerleri oldukça şeffaf ve esnek bir yapıdadır. HEMA oranı arttıkça yapının transparan özelliği ve esnekliği artmaktadır. P(MMA-ko-PEGMA) polimerleri ise şeffaf ve optik geçirgenliği yüksek yapıdadır. Sentezlenen fırça tipi homo ve kopolimerlerin FTIR spektrumlarında hemen hemen tüm yapılarda $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ aralığında yüzey hidroksil pikleri görülmektedir. Bu hem hidroksietil metakrilat hem de PEGMA yapısındaki hidroksil piklerine ait hidrojen bağlarından kaynaklı bir bant olarak görmekteyiz. FTIR spektrumu üzerinden $2800-2980\text{ cm}^{-1}$ aralığında alifatik C-H gerilme titreşimlerini görmekteyiz. Bu titreşimler hem PEG yapısından hem de alifatik polimer ara zinciri yapısından kaynaklı olarak spektrumda yer almaktadır. Genel yapı itibarı ile alifatik ara zincir ve

peg yan gruplarından kaynaklı CH₂ ünitelerinde bulunan C-H bağlarına ait gerilme titreşimleri bu bölgede pik vermektedir. Ana zincir ünitelerinden kaynaklı pikler genel itibariyle 1820 cm⁻¹'de metakrilat yapısı karbonil piki 1634 cm⁻¹'de, C-C gerilme titreşimi, 1450 cm⁻¹'de C-H gerilme titreşimi ve 1100 cm⁻¹'de C-O gerilme titreşimi olarak yapıyı doğrulamaktadır. Sentezlenen fırça tipi polimer yapıların termal kararlılığı ve termal bozunma analizleri TGA termogramları ile incelenmiştir. Bu analizlerde belirgin ve net iki kütle kaybı görülmektedir. Birinci kütle kaybı yaklaşık olarak %18 civarında olup yapıdaki nemin uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır ve yaklaşık 80°C'den başlayarak 220°C'ye kadar devam etmektedir. İkinci kütle kaybı değeri ise 220°C'den başlayarak 450°C'ye kadar değişen belirgin bir kütle kaybıdır. Yaklaşık %80-85 civarında bir kütle kaybı değeri söz konusudur. Sentezlenen polimerlerin biyouyumlulukları HEMA miktarına bağlı olarak grade 1 düzeyinde tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen polimerlerin siproflaksazin salım özellikleri incelendiğinde yaklaşık 5 saat süre dahilinde düzenli salım özelliği göstermiştir. Yine sentezlenen yapıların siproflaksazin antibiyotiği içeren formlarının düzenli salım yapan bir polimer yapısına sahip olduğu görülmüştür. Tüm PEG yan zincirli akrilat polimerlerinin katalaz enzimi için iyi bir enzim immobilizasyon matriks özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre PEG yan gruplarının poliakrilat ana gövde üzerinde bulunması ile biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek biyouyumluluk ve özelliklere sahip polimerik yapılar elde edilebildiği görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Advincula, R.C., Brittain, W.J., Caster, K.C., Ruehe, J., Eds. (2004) *Polymer Brushes*; Wiley-VCH: Weinheim,.
- Auroy, P., Auvray, L., Leger, L. (1991). Characterization of the brush regime for grafted polymer layers at the solid-liquid interface. *Phys. Rev. Lett.*, **66**, 719–722.
- Aydemir N., Malmström J., Travas-Sejdic J., (2016) Conducting polymer based electrochemical biosensors, *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **18**, 8264 -8277.
- Azzaroni, O., Moya, S., Farhan, T., Brown, A.A., Huck, W.T.S. (2005). Switching the properties of polyelectrolyte brushes via “Hydrophobic collapse. *Macromolecules* **38**, 10192–10199.
- Balazs, A.C., Singh, C., Zhulina, E., Chern, S.S., Lyatskaya, Y., Pickett, G. (1997). Theory of polymer chains tethered at interfaces. *Prog. Surf. Sci.*, **55**, 181–269.
- Biesalski, M., Johannsmann, D., Ruhe, J. (2002). Synthesis and swelling behavior of a weak polyacid brush. *J. Chem. Phys.* **117**, 4988–4994.
- Boyce, J.R., Sun, F.C., Sheiko, S. (2006). *Stimuli-responsive brushlike macromolecules. In Responsive Polymer Materials: Design and Applications*, Minko, S., Ed., Blackwell Publishing Professional: Ames, pp 1–21.
- Boyes, S.G., Akgun, B., Brittain, W.J., Foster, M.D. (2003). Synthesis, characterization, and properties of polyelectrolyte block copolymer brushes prepared by atom transfer radical polymerization and their use in the synthesis of metal nanoparticles. *Macromolecules* **36**, 9539–9548.
- Boyes, S.G., Brittain, W.J., Weng, X., Cheng, S.Z.D. (2002). Synthesis, characterization, and properties of ABA type triblock copolymer brushes of styrene and methyl acrylate prepared by atom transfer radical polymerization. *Macromolecules* **35**, 4960–4967.
- Bradford M.M., (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* **72**, 248–254.

- Bumbu, G.G., Kircher, G., Wolkenhauer, M., Berger, R., Gutmann, J.S. (2004). Synthesis and characterization of polymer brushes on micromechanical cantilevers. *Macromol. Chem. Phys.* **205**, 1713–1720.
- Carignano, M.A., Szleifer, I. (2002). Adsorption of model charged proteins on charged surfaces with grafted polymers. *Mol. Phys.* **100**, 2993–3003.
- Dyer, D.J. (2003). Patterning of gold substrates by surface-initiated polymerization. *Adv. Funct. Mater.*, **13**, 667–670.
- Eiser, E., Klein, J., Witten, T.A., Fetters, L.J. (1999). Shear of telechelic brushes. *Phys. Rev. Lett.*, **82**, 5076–5079.
- Erdik, E. (2008). *Organik Kimyada Spektrofotometrik Yöntemler*, Gazi Kitabevi, Ankara.
- Feng C., Huang X., (2018) Polymer Brushes: Efficient Synthesis and Applications, *Acc. Chem. Res.* **51**, 2314–2323.
- Fang, F., Szleifer, I. (2006). Controlled release of proteins from polymer-modified surfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 5769–5774.
- Fang, F., Szleifer, I. (2002). Effect of molecular structure on the adsorption of protein on surfaces with grafted polymers. *Langmuir*, **18**, 5497–5510.
- Georgopoulou A., Kaliva M., Vamvakaki M., Chatzinikolaïdou M., (2018) Osteogenic Potential of Pre-Osteoblastic Cells on a Chitosan-graft-Polycaprolactone Copolymer, *Materials*, **11**, 490, 1-14.
- Goodman, D., Kizhakkedathu, J.N., Brooks, D.E. (2004). Attractive bridging interactions in dense polymer brushes in good solvent measured by atomic force microscopy. *Langmuir*, **20**, 2333–2340.
- Gref, R., Luck, M., Quellec, P., Marchand, M., Dellacherie, E., Harnisch, S., Blunk, T., Muller, R.H. (2000). ‘Stealth’ corona-core nanoparticles surface modified by polyethylene glycol (PEG): influences of the corona (PEG chain length and surface density) and of the core composition on phagocytic uptake and plasma protein adsorption. *Colloid. Surface. B*, **18**, 301–313.
- Guo, X., Ballauff, M. (2000). Spatial dimensions of colloidal polyelectrolyte brushes as determined by dynamic light scattering. *Langmuir*, **16**, 8719–8726.
- Guo, X., Ballauff, M. (2001). Spherical polyelectrolyte brushes: Comparison between annealed and quenched brushes. *Phys. Rev. E*, **64**, 051406.
- Gündüz, T. (1990). *İnstrümental Analiz*, Bilge Yayıncılık, Ankara.

- Higaki Y., Kobayashi M., Murakami D., Takahara A. (2016) *Polymer Journal*, **48**, 325–331
- Houbenov, N., Ionov, L., Minko, S., Stamm, M. (2005). Control of protein adsorption on responsive polymer surfaces. *Polymer Preprints (American Chemical Society, Division of Polymer Chemistry)*, **46**, 1229–1230.
- Houbenov, N., Minko, S., Stamm, M. (2003). Mixed polyelectrolyte brush from oppositely charged polymers for switching of surface charge and composition in aqueous environment. *Macromolecules*, **36**, 5897–5901.
- Ionov, L., Houbenov, N., Sidorenko, A., Stamm, M., Luzinov, I., Minko, S. (2004). Inverse and reversible switching gradient surfaces from mixed polyelectrolyte brushes. *Langmuir*, **20**, 9916–9919.
- Ionov, L., Sidorenko, A., Stamm, M., Minko, S., Zdyrko, B., Klep, V., Luzinov, I. (2004). Gradient mixed brushes: “Grafting to” approach. *Macromolecules*, **37**, 7421–7423.
- Ionov, L., Zdyrko, B., Sidorenko, A., Minko, S., Klep, V., Luzinov, I. (2004). Gradient polymer layers by grafting to approach. *Macromol. Rapid Comm.*, **25**, 360–365.
- Israels, R., Leermakers, F.A.M., Fleer, G.J. (1994). On the theory of grafted weak polyacids. *Macromolecules*, **27**, 3087–3093.
- Kang C., Crockett R.M., Spencer N.D., (2014) Molecular-Weight Determination of Polymer Brushes Generated by SI-ATRP on Flat Surfaces, *Macromolecules*, **47**, 269–275.
- Kent, M.S., Factor, B.J., Satija, S., Gallagher, P., Smith, G.S. (1996). Structure of bimodal polymer brushes in a good solvent by neutron reflectivity. *Macromolecules*, **29**, 2843–2849.
- Khalatur, P.G., Khokhlov, A.R., Prokhorova, S.A., Sheiko, S.S., Moller, M., Reineker, P., Shirvanyanz, D.G., Starovoitova, N. (2000). Unusual conformation of molecular cylindrical brushes strongly adsorbed on a flat solid surface. *Eur. Phys. J., E* **1**, 99–103.
- Kim, J.U., O’Shaughnessy, B. (2002). Morphology selection of nanoparticle dispersions by polymer media. *Phys. Rev. Lett.*, **89**, Art. No 238301.
- Kim, J.-B., Huang, W., Wang, C., Bruening, M.L., Baker, G.L. (2003). *Bottle brush brushes: Ringopening polymerization of lactide from poly(hydroxyethyl*

- methacrylate*) surfaces. In *Polymer Brushes*, Advincula, R.C., Brittain, W.J., Caster, K.C., Ruehe, J., Eds., Wiley- VCH: Weinheim,
- Krishnamoorthy M., Hakobyan S., Ramstedt M., Gautrot J.E. (2014) Surface-Initiated Polymer Brushes in the Biomedical Field: Applications in Membrane Science, Biosensing, Cell Culture, Regenerative Medicine and Antibacterial Coatings, *Chem. Rev.* **114**, 10976–11026.
- Köytepe, S. (2000). Poliimid-Kil Hibrit Materyallerinin Sentezi ve Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi.
- Köytepe, S. (2007). Hibrit Poliimidlerin Piridin Temelli Monomerlerden Sentezlenmesi ve Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi.
- Küçük, İ. (2013). Fonksiyonel Polioksometalatların Sentezi ve Poliüretan Kompozitlerinde Uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi.
- Li, C., Gunari, N., Fischer, K., Janshoff, A., Schmidt, M. (2004). New perspectives for the design of molecular actuators: thermally induced collapse of single macromolecules from cylindrical brushes to spheres. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 1101–1104.
- Li, D.J., Sheng, X., Zhao, B. (2005). Environmentally responsive “Hairy” nanoparticles: Mixed homopolymer brushes on silica nanoparticles synthesized by living radical polymerization techniques. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 6428–6256.
- Lim E., Tu G., Schwartz E., Cornelissen J.J.L.M., Rowan A.E., Nolte R. J. M., Huck W.T.S., (2008). Synthesis and characterization of surface-initiated helical polyisocyanopeptide brushes, *Macromolecules*, **41**, 1945–1951.
- Liu, Y., Rafailovich, M.H., Sokolov, J., Schwarz, S.A., Zhong, X., Eisenberg, A., Kramer, E.J., Sauer, B.B. (1994). Wetting behavior of homopolymer films on chemically similar block copolymer surfaces. *Phys. Rev. Lett.*, **73**, 440–443.
- Lupitsky, R., Roiter, Y., Tsitsilianis, C., Minko, S. (2005). From smart polymer molecules to responsive nanostructured surfaces. *Langmuir*, **21**, 8591–8593.
- Luzinov, I., Minko, S., Tsukruk, V.V. (2004). Adaptive and responsive surfaces through controlled reorganization of interfacial polymer layers. *Prog. Polym. Sci.*, **29**, 635–698.

- Matsen, M.W. (2005). Scaling behavior of a brush-homopolymer interface in the limit of high grafting density. *J. Chem. Phys.*, **122**, Art. No 144904.
- Milner, S.T. (1991). Polymer brushes. *Science*, **251**, 905–914.
- Milner, S.T., Witten, T.A., Cates, M.E. (1989). Effects of polydispersity in the end-grafted polymer brush. *Macromolecules*, **22**, 853–861.
- Milner, S.T., Witten, T.A., Cates, M.E. (1988). Theory of the grafted polymer brush. *Macromolecules*, **21**, 2610–2619.
- Minko, S., Luzinov, I., Luchnikov, V., Muller, M., Patil, S., Stamm, M. (2003). Bidisperse mixed brushes: Synthesis and study of segregation in selective solvent. *Macromolecules*, **36**, 7268–7279.
- Minko, S., Müller, M., Luchnikov, V., Motornov, M., Usov, D., Ionov, L., Stamm, M. (2004). *Mixed polymer brushes: switching of surface behavior and chemical patterning at the nanoscale*. In *Polymer Brushes*, Advincula, R.C., Brittain, W.J., Caster, K.C., Ruehe, J., Eds., Wiley-VCH: Weinheim, pp 403–425.
- Minko, S., Muller, M., Usov, D., Scholl, A., Froeck, C., Stamm, M. (2002). Lateral versus perpendicular segregation in mixed polymer brushes. *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 035502.
- Mori, H., Muller, A.H.E. (2003). *Surface-grafted hyperbranched polymers*”, In *Polymer Brushes*, Advincula, R.C., Brittain, W.J., Caster, K.C., Ruehe, J., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim.
- Motornov, M., Minko, S., Eichhorn, K.J., Nitschke, M., Simon, F., Stamm, M. (2003). Reversible tuning of wetting behavior of polymer surface with responsive polymer brushes. *Langmuir*, **19**, 8077–8085.
- Netz, R.R., Schick, M. (1997). Classical theory of polymer brushes. *Europhys. Lett.*, **38**, 37–42.
- Netz, R.R., Schick, M. (1998). Polymer Brushes: From self-consistent field theory to classical theory. *Macromolecules*, **31**, 5105–5122.
- Nicolas J., Couvreur P., Charleux B., (2008) Comblike Polymethacrylates with Poly(ethylene glycol) Side Chains via Nitroxide-Mediated Controlled Free-Radical Polymerization, *Macromolecules*, **41**, 3758-3761
- Ryan, A.J., Crook, C.J., Howse, J.R., Topham, P., Geoghegan, M., Martin, S.J., Parnell, A.J., Ruiz-Perez, L., Jones, R.A.L. (2005). Mechanical actuation by

- responsive polyelectrolyte brushes and triblock gels. *J. Macromol. Sci. Phys.*, **B44**, 1103–1121.
- Santer, S., Ruhe, J. (2004). Motion of nano-objects on polymer brushes. *Polymer*, **45**, 8279–8297.
- Satulovsky, J., Carignano, M.A., Szleifer, I. (2000). Kinetic and thermodynamic control of protein adsorption. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9037–9041.
- Shah, R.R., Merreceyes, D., Husemann, M., Rees, I., Abbott, N.L., Hawker, C.J., Hedrick, J. L. (2000). Using atom transfer radical polymerization to amplify monolayers of initiators patterned by microcontact printing into polymer brushes for pattern transfer. *Macromolecules*, **33**, 597–605.
- Siedenbiedel F., Tiller J.C., (2012) Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles, *Polymers*, **4**, 46-71.
- Singh, C., Pickett, G.T., Zhulina, E., Balazs, A.C. (1997). Modeling the interactions between polymer-coated surfaces. *J. Phys. Chem. B*, **101**, 10614–10624.
- Skvortsov, A.M., Gorbunov, A.A., Pavlushkov, V.A., Zhulina, E.B., Borisov, O.V., Priamitsyn, V. A. (1988). Structure of dense-grafted polymer monolayers. *Polym. Sci. USSR*, **30**, 1706.
- Solis, F.J., Tang, H. (1996). A bulk perturbation in a grafted Brush. *Macromolecules*, **29**, 7953–7959.
- Subramanian, G., Williams, D. R. M., Pincus, P. A. (1996). Interaction between finite-sized particles and end grafted polymers. *Macromolecules*, **29**, 4045–4050.
- Szleifer, I. (1997). Polymers and proteins: Interactions at interfaces. *Curr. Opin. Solid. St. M.*, **2**, 337–344.
- Szleifer, I., Carignano, M. A. (1996). Tethered polymer layers. *Adv. Chem. Phys.*, **94**, 165–260.
- Szleifer, I., Yerushalmi-Rozen, R. (2005). Polymers and carboxy nanotubes-dimensionality, interactions and nanotechnology. *Polymer*, **46**, 7803–7818.
- Tokareva, I., Minko, S., Fendler, J. H., Hutter, E. (2004). Nanosensors based on responsive polymer brushes and gold nanoparticle enhanced transmission surface plasmon resonance spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15950–15951.

- Witte mann, A., Haupt, B., Ballauff, M. (2003). Adsorption of proteins on spherical polyelectrolyte brushes in aqueous solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **5**, 1671–1677.
- Wu, T., Efimenko, K., Genzer, J. (2002). Combinatorial study of the mushroom-to-brush crossover in surface anchored polyacrylamide. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9394–9395.
- Wu, T., Efimenko, K., Vlcek, P., Subr, V., Genzer, J. (2003). Formation and properties of anchored polymers with a gradual variation of grafting densities on flat substrates. *Macromolecules*, **36**, 2448–2453.
- Xu, C., Wu, T., Batteas, J. D., Drain, C. M., Beers, K. L., Fasolka, M. J. (2006). Surface-grafted block copolymer gradients: Effect of block length on solvent response. *Appl. Surf. Sci.*, **252**, 2529–2534.
- Yim, H., Kent, M. S., Huber, D. L., Satija, S., Majewski, J., Smith, G. S. (2003). Conformation of end-tethered PNIPAM chains in water and in acetone by neutron reflectivity. *Macromolecules*, **36**, 5244–5251.
- Yim, H., Kent, M. S., Mendez, S., Balamurugan, S. S., Balamurugan, S., Lopez, G. P., Satija, S. (2004). Temperature-dependent conformational change of PNIPAM grafted chains at high surface density in water. *Macromolecules*, **37**, 1994–1997.
- Zauscher, S., Chilkoti, A., Ahn, S. J., Hyun, J., Lee, W. K. (2003). Fabrication of surface confined, stimulus-responsive polymer nanostructures using dip-pen nanolithography. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, **225**, U655–U655.
- Zhao, B. (2004). A combinatorial approach to study solvent-induced self-assembly of mixed poly(methyl methacrylate)/polystyrene brushes on planar silica substrates: Effect of relative grafting density. *Langmuir*, **20**, 11748–11755.
- Zhao, B., Brittain, W. J. (2000). Polymer brushes: surface-immobilized macromolecules. *Prog. Polym. Sci.*, **25**, 677–710.
- Zhao, B., Brittain, W. J. (2000). Synthesis, characterization, and properties of tethered polystyrene-bpolyacrylate brushes on flat silicate substrates. *Macromolecules*, **33**, 8813–8820.
- Zhao, B., Brittain, W. J., Zhou, W. S., Cheng, S. Z. D. (2000). AFM study of tethered polystyrene-bpoly(methyl methacrylate) and polystyrene-b-

- poly(methyl acrylate) brushes on flat silicate substrates. *Macromolecules*, **33**, 8821–8827.
- Zhao, B., Brittain, W. J., Zhou, W., Cheng, S. Z. D. (2000). Nanopattern formation from tethered PSb- PMMA brushes upon treatment with selective solvents. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2407–2408.
- Zhou, F., Huck, W. T. S. (2005). Three-stage switching of surface wetting using phosphate-bearing polymer brush. *Chem. Commun.*, 5999–6001.
- Zhou, F., Shu, W., Welland, M., Huck, W. T. S. (2006). Highly reversible and multi-stage cantilever actuation driven by polyelectrolyte brushes. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 5326–5327.
- Zhulina, E., Balazs, A. C. (1996). Designing patterned surfaces by grafting Y-shaped copolymers. *Macromolecules*, **29**, 2667–2673.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Evren SEL

Doğum Yeri ve Tarihi: MALATYA / 20/07/1981

Adres: İnönü Üniversitesi

E-Posta: evrenselkimya@gmail.com

Lisans: İnönü Üniversitesi , Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizikokimya A.B.D

1. TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- a) Süleyman Köytepe, Evren Sel, Sevgi Balcıoğlu, Burhan Ateş, Turgay Seçkin, Biyoyumlu P(HEMA-ko-PEGMA) Yapılarının Termal, Optik ve Melatonin Salım Özelliklerinin İncelenmesi, BİOMED2018-TR, 15-16 Aralık 2018, İstanbul.
- b) Ebru Kuyumcu Savan, İmren Özcan, Evren Sel, Burhan Ateş, Turgay Seçkin, Östrojen Tespiti İçin PU-MWCNT Kompozit Membran Temelli Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi, BİOMED2018-TR, 15-16 Aralık 2018, İstanbul.
- c) Evren Sel, Süleyman Köytepe, İmren Özcan, Sevgi Balcıoğlu, Burhan Ateş Polietilen Glikol Yan Gruplu Polimerlerin Sentezi ve Biyoyumlu Yüzeyler Olarak Kullanımı, BİOMED2018-TR, 15-16 Aralık 2018, İstanbul.

2. TEZLER VE SEMİNERLER

- 2.1. **Lisans Bitirme Tezi:** “Süstitüe Perimidinler ve Özellikleri”, İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 2007.
- 2.2. **Yüksek Lisans Seminer Konusu:** “Deney Tasarımı ve Optimizasyon Yöntemleri”, İnönü Üniversitesi, 2010.