ÖZET

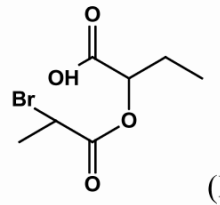
YENİ BOR BAZLI BİYOMALZEMELERİN SENTEZLERİ, FORMÜLASYONLARI VE TERANOSTİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Buluş, borun etkisiyle erken tanı için ve ilaç salım sistemleri alanında tedavi için paklitaksel gibi antikanser ve diğer ilaçların yüklenmesine olanak sağlayan (teranostik) sübstitüye 1,4-diokzan-2,5-dion monomerlerinin sentezi ve bu monomerler ile bor içerikli polimerlerin üretilmesi, optik özelliklerinin incelenmesi ve bunlardan in vitro/in vivo uygulamalarda kullanılmak üzere nanoküre eldesi ve in vitro/in vivo biyolojik uygulamalar ile ilgilidir.

İSTEMLER

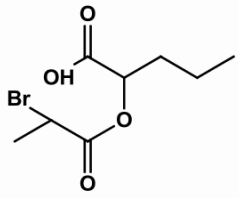
1. Buluş, bor bazlı polimerlerin üretilmesi için aşağıda belirtilen ara ürünlerin ve sübstitüye glikolid monomerlerinin sentezlenmesi olup;

- α-bromoalkil bromürün α-hidroksi asitle kondensasyonu ile dietil eter içerisinde ve trietilamin varlığında: Formül (I)'deki gibi **2-((2-bromopropanoil)oksi)bütanoik asit;**



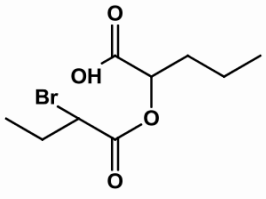
(I),

Formül (II)'deki gibi **2-((2-bromopropanoil)oksi)pentanoik asit**



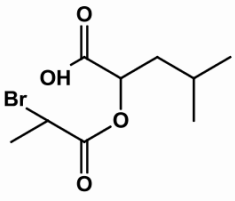
(II),

Formül (IV)'teki gibi **2-((2-bromobütanoil)oksi)pentanoik asit**



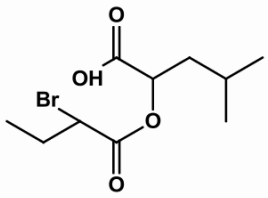
(IV),

Formül (VI)'daki gibi **2-((2-bromopropanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit,**



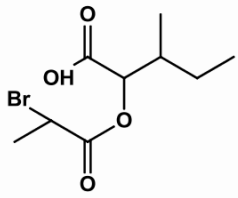
(VI),

Formül (VIII)'deki gibi **2-((2-bromobütanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit**



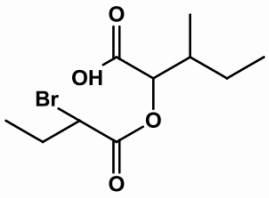
(VIII),

Formül (X)'daki gibi **2-((2-bromopropanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit**



(X),

Formül (XII)'deki gibi **2-((2-bromobütanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit**

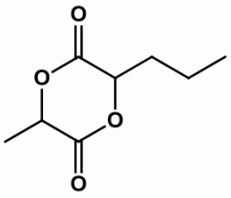


(XII)

ara ürünlerinin elde edilmesi,

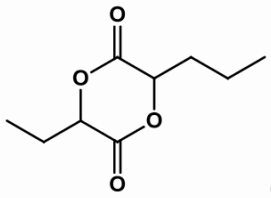
- sentezlenen ara ürünlerin, N,N-dimetilformamit (DMF) içerisinde ve sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) varlığında ara ürünün halka kapanması reaksiyonu ile:

2-((2-bromopropanoil)oksi)pentanoik asit (Formül (II)) ara ürünü varlığında, Formül (III)'teki gibi **propil metil glikolid**



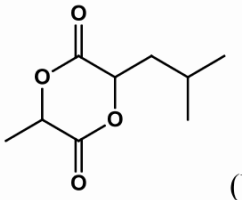
(III),

2-((2-bromobütanoil)oksi)pentanoik asit (Formül (IV)) ara ürünü varlığında Formül (V)'teki gibi **propil etil glikolid**



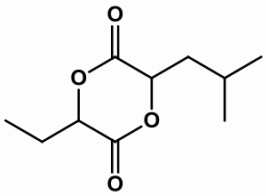
(V),

2-((2-bromopropanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit (Formül (VI)) ara ürünü varlığında Formül (VII)'deki gibi **izobütil metil glikolid**



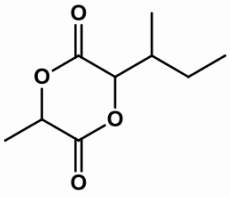
(VII),

2-((2-bromobütanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit (Formül (VIII)) ara ürünü varlığında Formül (IX)'daki gibi **izobütil etil glikolid**



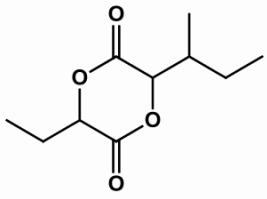
(IX),

2-((2-bromopropanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit (Formül (X)) ara ürünü varlığında Formül (XI)'deki gibi **izolösin metil glikolid**



(XI),

2-((2-bromobütanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit (Formül (XII)) ara ürünü varlığında Formül (XIII)'teki gibi **izolösin etil glikolid**

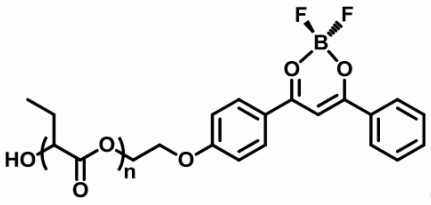


(XIII)

monomerlerinin elde edilmesiyle **karakterize edilmektedir.**

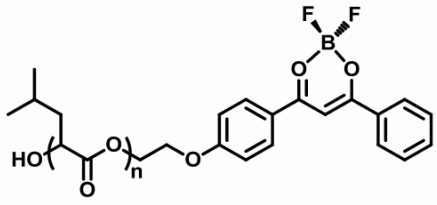
2. Buluş, istem 1'deki asimetrik monomerleri ve ek olarak dietil glikolid ve diizobütil glikolid gibi simetrik monomerleri, serbest OH grubuna sahip bir başlatıcı (BF_2dbmOEtOH) ile $Sn(Oct)_2$ varlığında, çözücüsüz ortamda ve argon gazı altında reaksiyona sokarak bor bazlı polimerlerin sentezlenmesi olup;

DL-3,6-dietil-1,4-diokzan-2,5-dion monomeri varlığında Formül (XIV)'teki gibi **BF_2dbmOEt-PDEG**



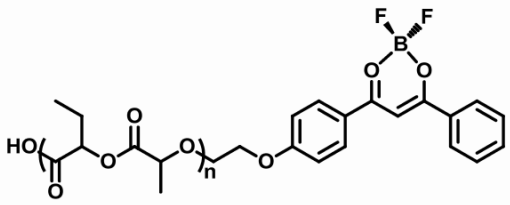
(XIV),

L-3,6-diizobütil-1,4-diokzan-2,5-dion monomeri varlığında Formül (XV)'teki gibi **BF_2dbmOEt-PDIBG**



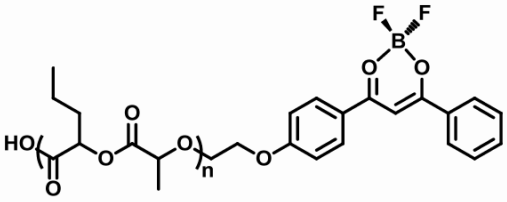
(XV),

Etil metil glikolid monomeri varlığında, Formül (XVII)'deki gibi **BF_2dbmOEt-PEMG**



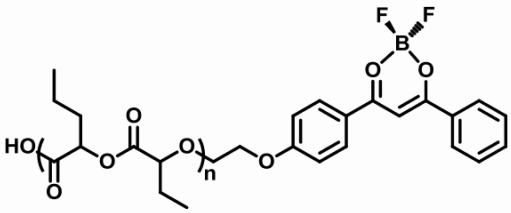
(XVII),

Propil metil glikolid (Formül (III)) monomeri varlığında, Formül (XVIII)'deki gibi **BF_2dbmOEt-PPMG**



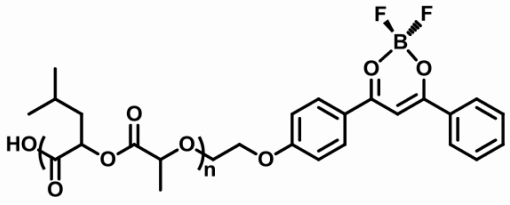
(XVIII),

Propil etil glikolid (Formül (V)) monomeri varlığında, Formül (XIX)'daki gibi **BF_2dbmOEt-PPEG**



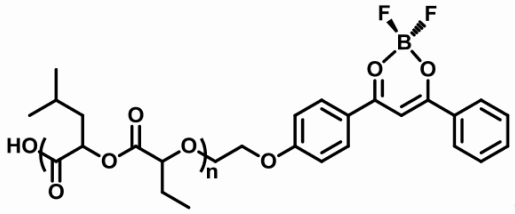
(XIX),

İzobütil metil glikolid (Formül (VII)) monomeri varlığında, Formül (XX)'deki gibi **BF_2dbmOEt-PIBMG**



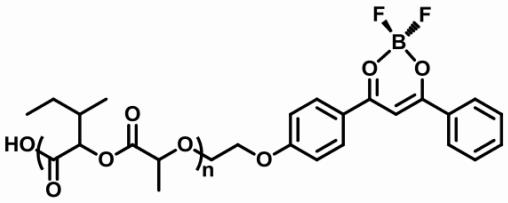
(XX),

İzobütil etil glikolid (Formül (IX)) monomeri varlığında, Formül (XXI)'deki gibi **BF_2dbmOEt-PIBEG**



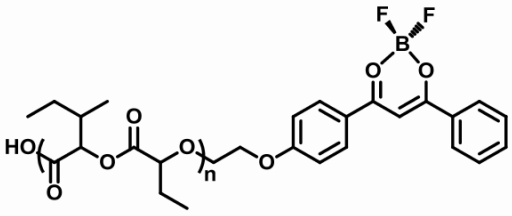
(XXI),

İzolösin metil glikolid (Formül (XI)) monomeri varlığında, Formül (XXII)'deki gibi **BF_2dbmOEt-PILMG**



(XXII),

İzolösin etil glikolid Formül ((XIII)) monomeri varlığında, Formül (XXIII)'teki gibi **BF_2dbmOEt-PILEG**

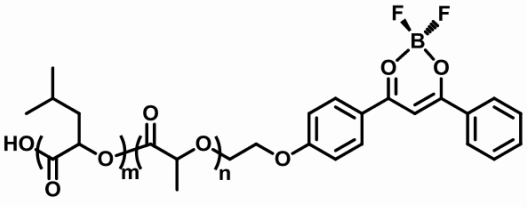


(XXIII)

homopolimerlerinin sentezlenmesi ile **karakterize edilmektedir**.

3. İstem 2'deki gibi bor bazlı homopolimerlerin yanında bunların kopolimerlerinin de sentezlenmesi olup;

L-3,6-diizobütil-1,4-diokzan-2,5-dion ve L-laktid monomerleri varlığında Formül (XVI)'daki gibi **BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA)**



(XVI)

kopolimerlerinin üç farklı kombinasyonda (37,5-12,5; 25-25; 12,5-37,5) sentezlenmesi ile **karakterize edilmektedir.**

4. İstem 1, 2 ve 3'deki gibi ara ürün, monomer ve bor bazlı polimerlerin sentezlenmesi olup, bu ürünlerin eldesinde spektroskopik (NMR, ATR-FTIR), kromatografik (GPC), termal (DSC, TGA) ve optik (Floresans, Lifetime) metotlardan yararlanılarak karakterizasyonlarının yapılması ile **karakterize edilmektedir.**

5. Yukarıdaki istemlerden biri gibi bor bazlı polimerlerin sentezlenmesi olup; elde edilen homopolimerler ve kopolimerlerin, tekli emülsiyon ve nanoçöktürme yöntemleri ile etken madde yüklü/yüksüz nanopartiküllerin elde edilmesi ve bu partiküllerin SEM ve partikül boyut ölçer analizi ile **karakterize edilmektedir.**

6. İstem 5'deki gibi bor bazlı polimerlerin sentezlenmesi olup; elde edilen nanopartiküllerin erken tanı ve tedavide kullanılmasıyla **karakterize edilmektedir.**

TARİFNAME

YENİ BOR BAZLI BİYOMALZEMELERİN SENTEZLERİ, FORMÜLASYONLARI VE TERANOSTİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Teknik Alan

Buluş, kanser tedavisini ve tedaviye verilen yanıtın takip edilmesini bir arada sağlamaya yardımcı olan (teranostik) yeni çok fonksiyonlu bor etken sübstitüye glikolid polimerlerinin sentezi, ilaç yüklü/yüksüz nanopartiküllerinin üretilmesi ve biyolojik uygulamaları ile ilgilidir.

Buluş daha özel olarak, bor'un etkisiyle erken tanı için ve ilaç salım sistemleri ile tedavi için paklitaksel gibi antikanser ve diğer ilaçların yüklenmesine olanak sağlayan sübstitüye glikolid (1,4-diokzan-2,5-dion) monomerlerinin sentezi ve bu monomerler ile bor içerikli polimerlerin üretilmesi, optik özelliklerinin incelenmesi ve bunlardan elde edilen nanokürelerin in vitro/in vivo biyolojik uygulamalarda test edilmesi ile ilgilidir.

Önceki Teknik

Difloro bor esaslı malzeme olan BF_2dbmOEtOH (difloro bor dibenzoil metan 2-hidroksietoksi) katı hal ve çözelti ortamında büyük bir sönümleme katsayısı (Zhang vd., 2011; Cogne-Laage, 2004; Chow vd., 1996; Ono vd., 2007), büyük iki-fotonlu absorpsiyon kesitlerine sahip olma (Halik vd., 2003), yüksek emisyon kuantum verimleri (Zhang vd., 2011; Cogne-Laage, 2004; Chow vd., 1996; Ono vd., 2007; Brouwer, 1991) ve çevreleyen ortama duyarlılık göstermektedirler (Pfister vd., 2008). Bu olağanüstü optik özellikler bu malzemelerin görüntüleme ajanları, fotoduyarlaştırıcılar ve sensörler olarak kullanılmasını mümkün kılmaktadır (Pfister vd., 2008).

Çeşitli polimerlerin, difloro bor esaslı malzemeler ile etkileşimleri sayesinde kararlılıkları ve biyolojik ortamlarda kullanılabilirlikleri artmaktadır. Son

zamanlarda bu alanlarda çok yeni çalışılmaya başlanan bor bazlı biyouyumlu polimerik malzemeler yoğun mavi floresans göstermiş ve ısıya duyarlı gecikmiş floresans ve oda sıcaklığında fosforesans (RTP) gibi yeni özellikleri ortaya çıkmıştır (Pfister vd., 2008; Zhang vd., 2007). Özellikle borun etkisi üzerine yapılan çalışmada hidroksil fonksiyonel grubu içeren aromatik diketon olan dibenzoil metan (dbmOEtOH), katı halde zayıf floresans gösterirken çözelti ortamında hiç floresans göstermemiştir. Diğer taraftan onun diflorobor kompleksi (BF_2dbmOEtOH) her iki halde de yüksek emisyon göstermiştir. Ayrıca dbmOEtOH'ın borlanması, polimerizasyon kinetiğini ve de elde edilen polimerin fotofiziksel özelliklerini önemli derecede değiştirdiği saptanmıştır (Zhang vd., 2009a).

Ancak BF_2dbmOEtOH ile yapılan çalışmalar yoğun bir şekilde sadece iki polimer üzerinde (çoğunlukla polilaktid (Pfister vd., 2008; Zhang vd., 2007; Zhang vd., 2009a; Kersey vd., 2010) ve de polikaprolakton (PCL) (Zhang vd., 2009b; 2009c)) yoğunlaşmıştır. Polilaktid ve polikaprolakton birbirine benzer yapılar olmasına rağmen elde edilen sonuçlara bakıldığında polikaprolakton'un BF_2dbmOEtOH'ın fotofiziksel özelliklerini çarpıcı bir biçimde değiştirdiği gözlenmiştir (Zhang vd., 2009b). Örneğin polilaktid oda sıcaklığında fosforesans (RTP) özelliğe sahipken (Zhang vd., 2007), şaşırtıcı bir şekilde polikaprolakton'un RTP göstermediği bulunmuştur (Zhang vd., 2009b). Ayrıca bu iki polimerin yapılarındaki yüksek kristaliteden dolayı yarılanma süresi polilaktid için 1-2 yılı, polikaprolakton için 4 yılı bulmaktadır (Ikada ve Tsuji, 2000). Bu uzun süreler de ilaç salım sistemlerindeki uygulamalarını kısıtlamaktadır. Bu bakımdan BF_2dbmOEtOH'ın çeşitli biyobozunur polimerler (sübstitüye 1,4-diozan-2,5-dion polimerleri) üzerine etkisinin araştırılmasına (örneğin erken tedavi için en uygun fotofiziksel özelliği hangi tip polimerlerle elde edildiği ve tedavi için bu polimerler ile en uygun ilaç yükleme oranları ve agregasyon içermeyen nanoküre üretimi) son derece önemlidir.

Teknikte bor içeren çeşitli formülasyonlar ve bu formülasyonların kanser tedavisinde kullanılmasına ilişkin çeşitli geliştirmelerin yapıldığı gözlenmiştir.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan WO2014072985 sayılı Uluslararası patent dokümanında, yeni borik asit türevleri ve bunların anti kanser maddeleri olarak biyolojik değerlendirilmesinden bahsedilmektedir. Buluş ile geliştirilen bileşikte, X, aromatik veya heteroaromatik halkadır, Y, alkil, hidroksi alkil, alkoksi alkil ve tiyoalkoksi alkil veya aril veya heteroaril bileşeni ve bunların ikameleridir.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan US2015238622 sayılı Birleşik Devletler patent dokümanında, bor nötron yakalama terapisi için kullanılabilen ve ilaç salım sistemlerinin etkinliğinde gelişim ve tümördeki bor konsantrasyonunda artış sağlayabilen yeni bir bor taşıyıcı bileşeninden bahsedilmektedir. Buluş ile geliştirilen bileşikte, m ve n'nin her biri bağımsız olarak 1-4 bir tamsayıdır, q, 1-280 arasında bir tamsayıdır ve R^1 ve R^2'nin her biri bağımsız olarak karbon sayısı 8-22 olan bir hidrokarbon grubudur.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan US2009137057 sayılı Birleşik Devletler patent dokümanında, bor ile sübstitüye edilmiş bileşikler (örneğin, bor diflorür) fonksiyonlandırılmış diketonlara (örn., dibenzoilmetan) bağlanmış ve laktid'in polimerizasyonu için başlatıcılar olarak kullanılmıştır. Bu buluş bir yönüyle floresans özelliklere, fosforesans özelliklere veya hem floresans hem de fosforesans özelliklere sahip olan polimerik lüminesans boya bileşikleri sağlar. Ayrıca benzer bir WO2011011646 sayılı uluslararası patent dokümanında ise lüminesans boya bileşikleri ve bileşimleri (BF_2dbm(I)PLLA ve mPEG-b-PDLA) invazif teknikler gerekmeden oksijen algılaması için kullanıldığı rapor edilmiştir. WO2017100764 sayılı Uluslararası patent dokümanında ise bir yüzey üzerindeki oksijen seviyelerini ölçmek için yöntemler ve ilgili görüntüleme sistemleri açıklanmaktadır. Bu buluşta çift emisyon diflorobor naftil-fenil β-diketonat polilaktid malzemeleriyle yaranın iyileştirilmesinin izlenmesine yönelik yöntemler açıklanmaktadır. US2013210053 nolu patent dökümanında ise mekanokromik lüminesans sergileyen bazı difluoroboron β-diketonatlar rapor edilmiştir. US2016041177 nolu diğer bir patent dökümanında ise elektrospin yöntemiyle PLGA- ve PLA-bor boya kompleksinden nanofiberler hazırlanıp oksijen konsantrasyonunun izlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan WO03080627 sayılı Uluslararası patent dokümanında, fotodinamik iyileştirici bileşiklerden ve sözü edilen bileşikleri içeren farmasötik kompozisyonlardan bahsedilmektedir.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan KR101510319 sayılı Kore patent dokümanında, ilacın bir spesifik hedef hücreye etkin bir şekilde taşınmasını ve enjekte edilen ilacın hücresel alımını ve salımını optik olarak ve doğrudan izleyebilen bir ilaç salım kompozit malzemeden ve bunun üretilmesi için bir yöntemden bahsedilmektedir.

Sonuç olarak, bilinen teknikte difloro bor esaslı bileşiklerin (BF_2dbmOEtOH) literatürde oldukça bilinen PLA, PCL gibi polimerik malzemelere bağlandığı görülmüştür. (Pfister vd., 2008; Zhang vd., 2007; Zhang vd., 2009a; Kersey vd., 2010; Zhang vd., 2009b; 2009c) Bu çalışmalarda erken tanı ve ilaç tedavisinin birlikte yapılabildiği (teranostik) nanosistemlere rastlanılmamıştır. Bundan dolayı teranostik hedef için buluş konusu yeni tip alternatif nanomalzemelerin geliştirilmesi ihtiyacı duyulmuştur.

Buluşun Amaçları

Bu buluşun amacı, çeşitli uygulama alanları için sübstitüye 1,4-diokzan-2,5-dion monomerlerinin sentezi ve bor içerikli sübstitüye 1,4-diokzan-2,5-dion polimerlerinin üretilmesinin gerçekleştirilmesidir.

Bu buluşun bir başka amacı, bor başlatıcısı sayesinde erken tanıda, anti kanser ilaç yüklü nanopartiküller sayesinde kanser tedavisinde ve diğer pek çok uygulamada kullanılabilecek nanokürelerinin elde edilmesinin gerçekleştirilmesidir.

Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Buluş, sübstitüye glikolid monomerleri ve bor bazlı poli(sübstitüye glikolid) polimerlerin sentezi, polimerlerin optik özelliklerinin incelenmesi, ilaç yüklü/yüksüz nanopartikül eldesi, ilaç salım çalışmaları ve biyolojik uygulamaları kapsamakta olup;

- sodyum hidroksit (NaOH) sulu çözeltisi içerisinde p-hidroksi asetofenon ve etilen klorohidrinin reaksiyonu sonucu 1-[4-(2-hidroksi-etoksi)-fenil]-etanon bileşiğinin elde edilmesi (Smith vd., 1957),

- 1-[4-(2-hidroksi-etoksi)-fenil]-etanon ve dihidropiran bileşiklerinin oda sıcaklığında diklorometan (CH_2Cl_2) içerisinde ve p-toluensülfonik asit monohidrat ($PTSA.H_2O$) varlığında karıştırılmasıyla 1-{4-[2-(tetrahidropiran-2-iloksi)-etoksi]-fenil}-etanon bileşiğinin elde edilmesi (Bender vd., 2002),

- metil benzoat ve 1-{4-[2-(tetrahidropiran-2-iloksi)-etoksi]-fenil}-etanon bileşiğinin tetrahidrofuran (THF) içerisinde sodyum hidrür (NaH) ile kaynatılmasıyla 1-[4-(2-hidroksietoksi)-fenil]-3-fenil-propan-1,3-dion (DbmOEtOH) bileşiğinin elde edilmesi (Bender vd., 2002),

- DbmOEtOH ve bor triflorür dietil eteratın (BF_3OEt_2) 60°C'de diklorometan içerisinde ısıtılmasıyla BF_2dbmOEtOH bileşiğinin literatürde bilinen yönteme göre elde edilmesi (Zhang vd., 2007),

- sülfürik asit (H_2SO_4) ve sodyum nitrit ($NaNO_2$) varlığında α-amino asitlerin diazotizasyon reaksiyonu ile 4 farklı α-hidroksi asidin literatürde bilinen yönteme göre sentezlenmesi (Müller vd., 2009),

- simetrik ya da asimetrik sübstitüye glikolid (1,4-diokzan-2,5-dion) monomerlerinin sentezlenmesi,

- çözücüsüz ortamda argon gazı altında BF_2dbmOEtOH ve simetrik ve/veya asimetrik sübstitüye glikolidin $Sn(Oct)_2$ varlığında reaksiyona sokularak halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile poli(sübstitüye glikolid) homopolimerlerinin (BF_2dbmOEt-PSG) elde edilmesi,

- çözücüsüz ortamda argon gazı altında BF_2dbmOEtOH ile L-DIBG ve L-laktid monomerinin $Sn(Oct)_2$ varlığında reaksiyona sokularak halka

açılması polimerleşmesi yöntemi ile BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) kopolimerlerinin sentezlenmesi,

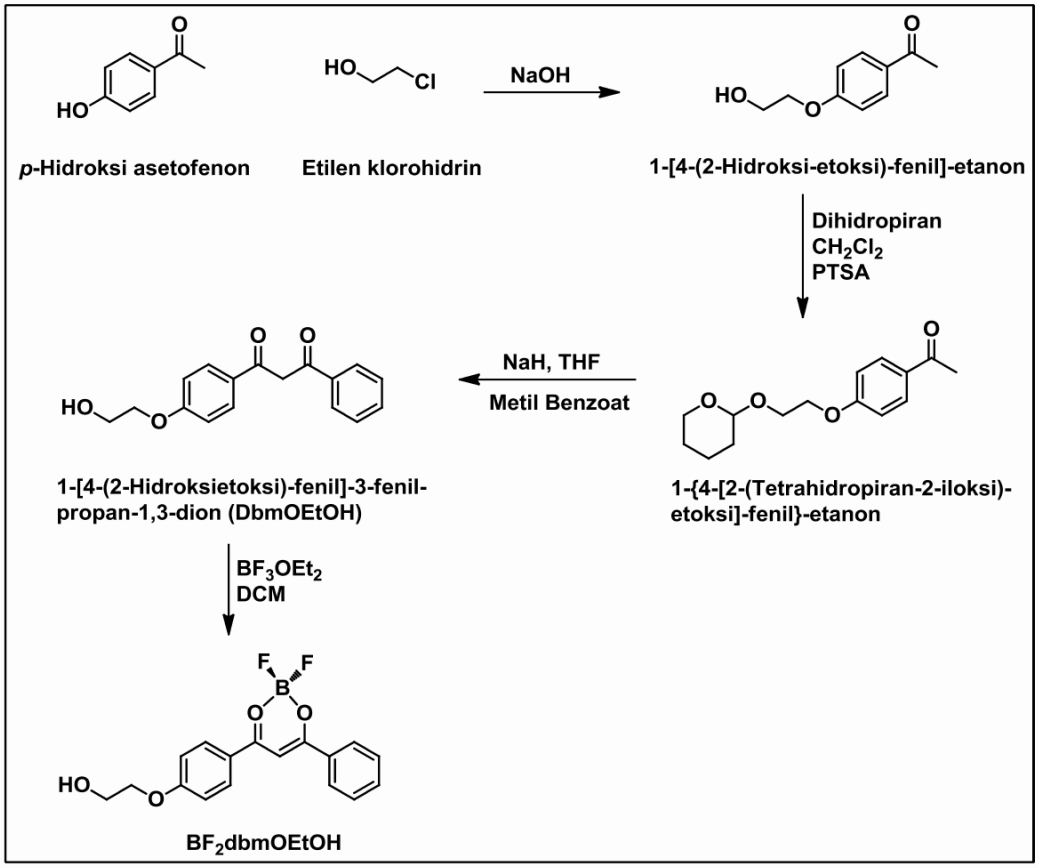
- elde edilen polimerlerin spektroskopik (NMR, ATR-FTIR), kromatografik (GPC) ve termal (DSC, TGA) metotlardan yararlanılarak karakterizasyonlarının yapılması,
- homo/kopolimerlerinin optik özelliklerinin incelenmesi,
- bor bazlı homo- ve kopolimerler kullanarak nanoçöktürme ve tekli emülsiyon nanoformülasyonları ile ilaç yüklü/yüksüz nanokürelerin eldesi ve bu nanoformülasyonlardan elde edilen partiküllerin mikroskobik (SEM) ve partikül büyüklük (partikül boyut analizatör) yöntemleri ile tüm karakterizasyonlarının yapılması,
- nanokürelerden ilaç salım çalışmalarının yapılması,
- nano-parçacık ve kanser arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için in vitro ortamda iki farklı kanser hattı MCF-7 (meme kanseri) ve DU145 (prostat kanseri) kullanılarak mikroskobik incelemelerle nano-parçacık kanser hücresi etkileşimi, apoptoz ve toksisite analizlerinin gerçekleştirilmesi,
- in vivo ortamda toplamda iki farklı sette 46 adet (36+10) albino sıçan ile nano-parçacıkların kanserli bölgeye göçü ve kanser kitlesi üzerindeki etkilerinin araştırılması

adımlarını içermektedir.

1. Bor bazlı BF_2dbmOEtOH başlatıcısının sentezi

BF_2dbmOEtOH sentezi dört basamakta gerçekleştirildi. İlk basamakta 1-[4-(2-hidroksi-etoksi)-fenil]-etanon bileşiği, sodyum hidroksit (NaOH) sulu çözeltisi içerisinde p-hidroksi asetofenon ve etilen klorohidrinin reaksiyonu sonucunda elde edildi (Smith vd., 1957). Bir sonraki adımda literatürdeki metodoloji modifiye edilerek (Bender vd., 2002) 1-{4-[2-(tetrahidropiran-2-iloksi)-etoksi]-fenil}-etanon

bileşiği, 1-[4-(2-hidroksi-etoksi)-fenil]-etanon ve dihidropiran bileşiklerinin oda sıcaklığında diklorometan (CH_2Cl_2) içerisinde ve p-toluensülfonik asit monohidrat ($PTSA.H_2O$) varlığında karıştırılmasıyla sentezlendi. Sonrasında 1-[4-(2-hidroksietoksi)-fenil]-3-fenil-propan-1,3-dion bileşiği (DbmOEtOH), metil benzoat ve 1-{4-[2-(tetrahidropiran-2-iloksi)-etoksi]-fenil}-etanon bileşiğinin tetrahidrofuran (THF) içerisinde sodyum hidrür (NaH) ile kaynatılmasından elde edildi (Bender vd., 2002). Son aşamada ise BF_2dbmOEtOH bileşiği, DbmOEtOH ve bor triflorür dietil eteratın (BF_3OEt_2) 60°C'de diklorometan içerisinde ısıtılmasıyla sentezlendi (Şema 1) (Zhang vd., 2007).



Şema 1: BF_2dbmOEtOH sentezi

BF_2dbmOEtOH başlatıcısının karakterizasyonu elementel analiz, ATR-FTIR ve NMR teknikleri kullanılarak yapıldı.

Elementel Analiz (%): Hesaplanan C 61,48; H 4,55; bulunan C 60,6; H 4,87

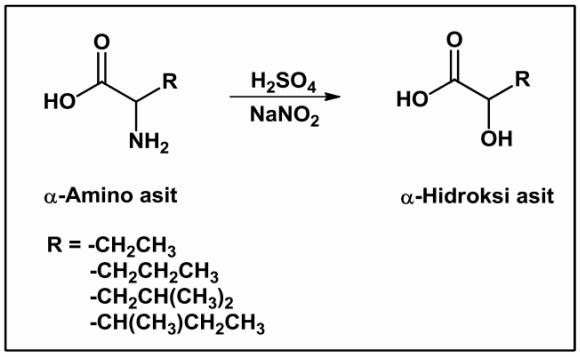
^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ: 3,72-3,87 (t, 2H, $HOCH_2CH_2OAr$); 4,16-4,27 (t, 2H, $HOCH_2CH_2OAr$); 4,9-5,2 (b, 1H, $HOCH_2CH_2OAr$); 7,18-7,28 (d, 2H, 3′,5′-ArH); 7,62-7,72 (t, 2H, 3″,5″-ArH); 7,76-7,84 (t, 1H, 4″-ArH); 7,84-7,89 (s, 1H, -COCHCO); 8,32-8,39 (d, 2H, 2′,6′-ArH); 8,39-8,46 (d, 2H, 2″,6″-ArH). ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) δ: 59,29; 70,4; 93,42; 115,42; 123,19; 128,89; 129,25; 131,58; 132,34; 135,2; 165,43; 180,41; 181,79. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 3744, 3566 (OH), 3128 (Ar, CH), 2984, 2880 (CH), 1547, 1491 (Ar, C-C).

2. Monomer Sentezi

2 tane simetrik ve 7 tane asimetrik olmak üzere 9 farklı monomer sentezlendi. Monomer sentezleri için öncelikle başlangıç maddesi olan α-hidroksi asit sentezleri gerçekleştirildi.

2.1. α-Hidroksi asit sentezi

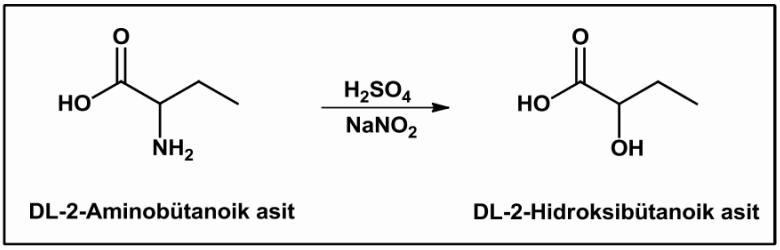
Genel protokol olarak, sülfürik asit (H_2SO_4) ve sodyum nitrit ($NaNO_2$) varlığında α-amino asitlerin diazotizasyon reaksiyonu ile 4 farklı α-hidroksi asit sentezi gerçekleştirildi (Şema 2) (Müller vd., 2009).



Şema 2: α-hidroksi asit sentezi

Sentezlenen α-hidroksi asitlerin karakterizasyonu spektroskopik teknikler kullanılarak yapılmıştır.

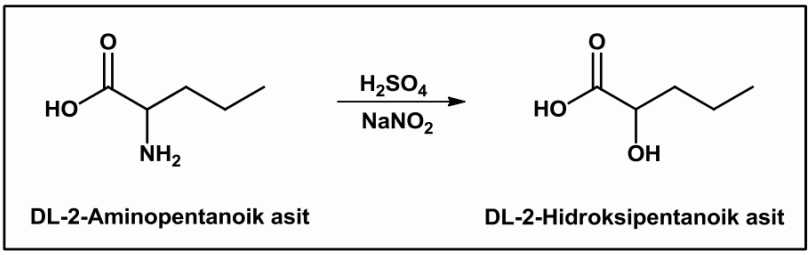
2.1.1. DL-2-hidroksibütanoik asit sentezi



Şema 3: DL-2-hidroksibütanoik asit sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,92-1,04 (t, 3H, CH_3); 1,66-1,8 (m, 1H, CH), 1,82-1,96 (m, 1H, CH); 4,21-4,29 (dd, 1H, CH); 6,2-9,2 (b, 2H, OH, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 8,91; 27,08; 71,38; 178,72. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 3449 (OH); 2970, 2940, 2882 (CH); 1713 (C=O).

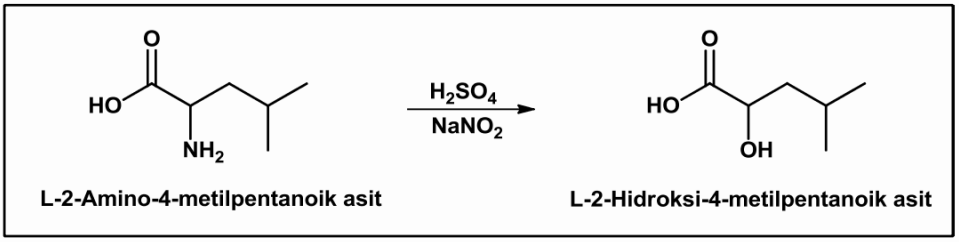
2.1.2. DL-2-hidroksipentanoik asit sentezi



Şema 4: DL-2-hidroksipentanoik asit sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,85-0,95 (t, 3H, CH_3); 1,32-1,52 (m, 2H, CH_2); 1,56-1,68 (m, 1H, CH); 1,69-1,91 (m, 1H, CH); 4,18-4,26 (dd, 1H, CH); 5,2-6,7 (b, 2H, OH, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (13,46, 13,64); (18,07, 18,43); (31,1, 36,06); (70,16, 78,92); (173,32, 179,56). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2963, 2936, 2876 (CH), 1717 (C=O).

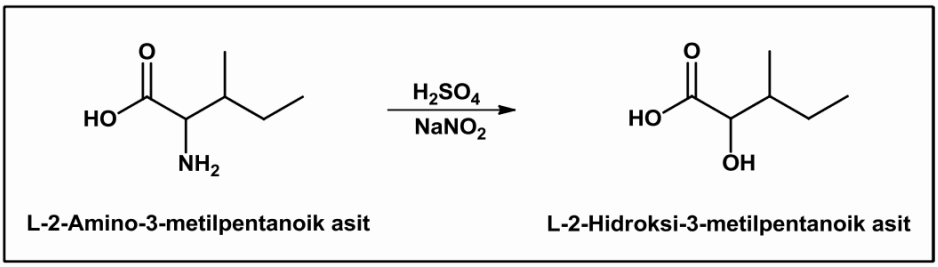
2.1.3. L-2-hidroksi-4-metilpentanoik asit sentezi



Şema 5: L-2-hidroksi-4-metilpentanoik asit sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,92-1,08 (d, 6H, CH_3, CH_3); 1,58-1,72 (t, 2H, CH_2); 1,82-2,02 (m, 1H, CH); 4,26-4,38 (t, 1H, CH); 6,4-8,2 (b, 2H, OH, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 21,4; 23,15; 24,44; 43,11; 68,97; 179,98. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 3420 (OH), 2957, 2934, 2905, 2874 (CH), 1701 (C=O).

2.1.4. L-2-hidroksi-3-metilpentanoik asit sentezi



Şema 6: L-2-hidroksi-3-metilpentanoik asit sentezi

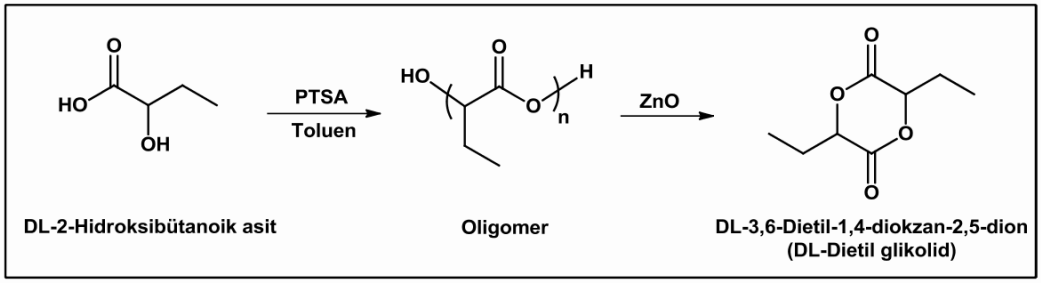
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,91-0,98 (t, 3H, CH_3,); 1,02-1,07 (d, 3H, CH_3); 1,22-1,39 (m, 1H, CH), 1,39-1,51 (m,1H, CH); 1,85-1,97 (m, 1H, CH); 4,18-4,23 (d, 1H, CH); 5,2-8 (b, 2H, OH, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 11,71; 15,32; 23,66; 38,87; 74,65; 179,31. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 3462 (OH), 2966, 2920, 2878 (CH), 1715 (C=O).

2.2. Sübstitüye glikolid (1,4-diokzan-2,5-dion) sentezi

2.2.1. Simetrik sübstitüye 1,4-diokzan-2,5-dion sentezi

Genel protokol olarak uygun α-hidroksi asitlerin kondensasyonu ile sübstitüye glikolid (1,4-diokzan-2,5-dion) sentezleri toluen içerisinde ve p-toluensülfonik asit monohidrat (PTSA.H_2O) varlığında gerçekleştirildi (Yin ve Baker, 1999).

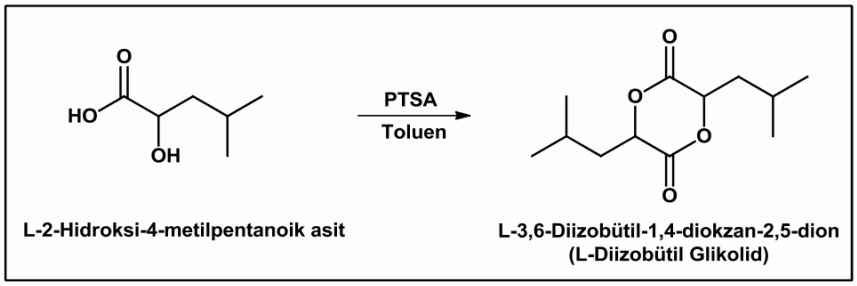
2.2.1.1. DL-3,6-dietil-1,4-diokzan-2,5-dion (DL-dietil glikolid) (DL-DEG) sentezi



Şema 7: DL-3,6-dietil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 1,08-1,15 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,84-2,22 (m, 4H, CH_2, CH_2); 4,84-4,92 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (8,84-9,08-9,53); (22,83-23,5-25,46); (76,59-77,47-79,99); (165,8-167-172,74). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2980, 2941, 2884 (CH), 1753 (C=O).

2.2.1.2. L-3,6-diizobütil-1,4-diokzan-2,5-dion (L-diizobütil glikolid) (L-DIBG) sentezi



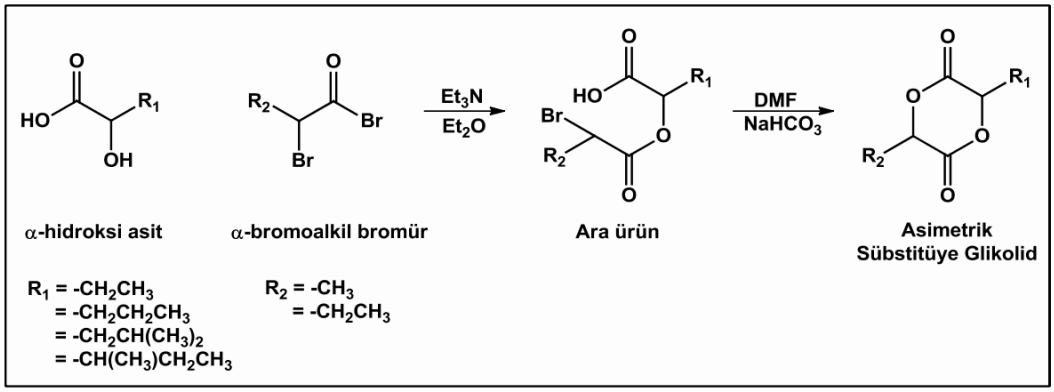
Şema 8: L-3,6-diizobütil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,72-0,78 (d, 6H, CH_3, CH_3); 0,78-0,92 (d, 6H, CH_3, CH_3); 1,58-1,92 (m, 6H, CH, CH, CH_2, CH_2); 4,66-4,84 (dd, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR

($CDCl_3$) δ: 21,3; 23; 23,87; 38,84; 74,12; 167,41. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2957, 2928, 2868 (CH), 1755 (C=O).

2.2.2. Asimetrik sübstitüye glikolid (1,4-diokzan-2,5-dion) sentezi

Asimetrik sübstitüye glikolid monomerleri iki aşamada sentezlendi. Genel protokol olarak α-bromoalkil bromürün α-hidroksi asitle kondensasyonu ile dietil eter içerisinde ve trietilamin varlığında ara ürün sentezi gerçekleştirildi (Bueno vd., 2009). Akabinde N,N-dimetilformamit (DMF) içerisinde ve sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) varlığında ara ürünün halka kapanması reaksiyonu ile asimetrik sübstitüye glikolid monomerleri elde edildi (Şema 9) (Bueno vd., 2009).

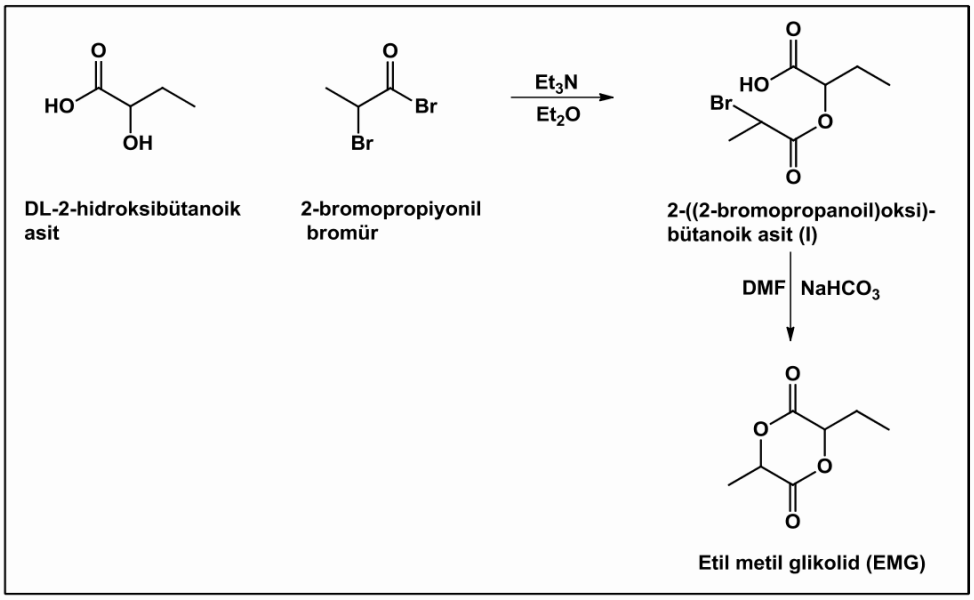


Şema 9: Asimetrik sübstitüye glikolid sentezi

2.2.2.1. Etil metil glikolid (EMG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromopropanoil)oksi)bütanoik asit Formül (I),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: Etil metil glikolid



Şema 10: Etil metil glikolid (EMG) sentezi

2-((2-bromopropanoil)oksi)bütanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 1,02-1,13 (t, 3H, CH_3); 1,83-1,92 (m, 3H, CH_3); 1,93-2,11 (m, 2H, CH_2); 4,37-4,54 (m, 1H, CH); 5,01-5,1 (m, 1H, CH); 7,6-9,6 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (8,92-9,44); (21,44-21,48-21,67); (24,31-24,35); (39,15-39,42-39,53); (73,92-73,95); (169,76-170,05); (175,48-175,6-176,01). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2979, 2934, 2879 (CH), 1724 (C=O).

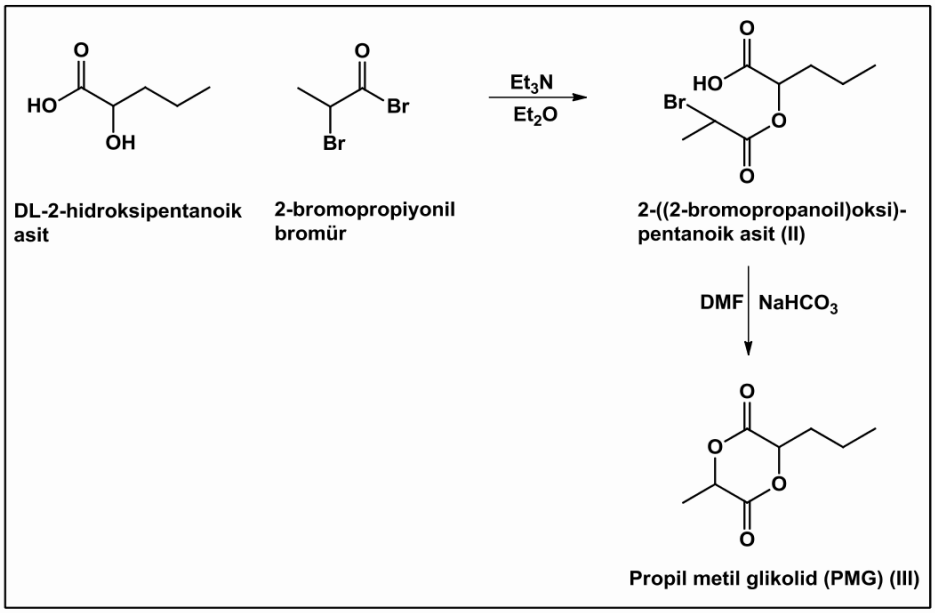
Etil metil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 1,09-1,16 (t, 3H, CH_3); 1,65-1,71 (d, 3H, CH_3); 1,96-2,09 (m, 1H, CH); 2,1-2,24 (m, 1H, CH); 4,84-4,91 (dd, 1H, CH); 4,99-5,07 (q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 8,8; 15,87; 23,49; 72,29; 76,74; 166,66; 167,5. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2978, 2943, 2887 (CH), 1755 (C=O).

2.2.2.2. Propil metil glikolid (PMG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromopropanoil)oksi)pentanoik asit Formül (II),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: Propil metil glikolid Formül (III)



Şema 11: Propil metil glikolid (PMG) sentezi

2-((2-bromopropanoil)oksi)pentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,93-1,03 (t, 3H, CH_3); 1,38-1,60 (m, 2H, CH_2); 1,82-1,99 (m, 5H, CH_3, CH_2); 4,37-4,53 (m, 1H, CH); 5,04-5,22 (m, 1H, CH); 8-10 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (13,48-13,5-13,7); (18,05-18,37-18,44); (21,45-21,66); (31,12-32,76-32,81); (39,13-39,44-39,54); (70,32-72,43-72,49-72,74); (169,73-170,02); (175,55-175,68-175,81). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2965, 2936, 2878 (CH), 1724 (C=O).

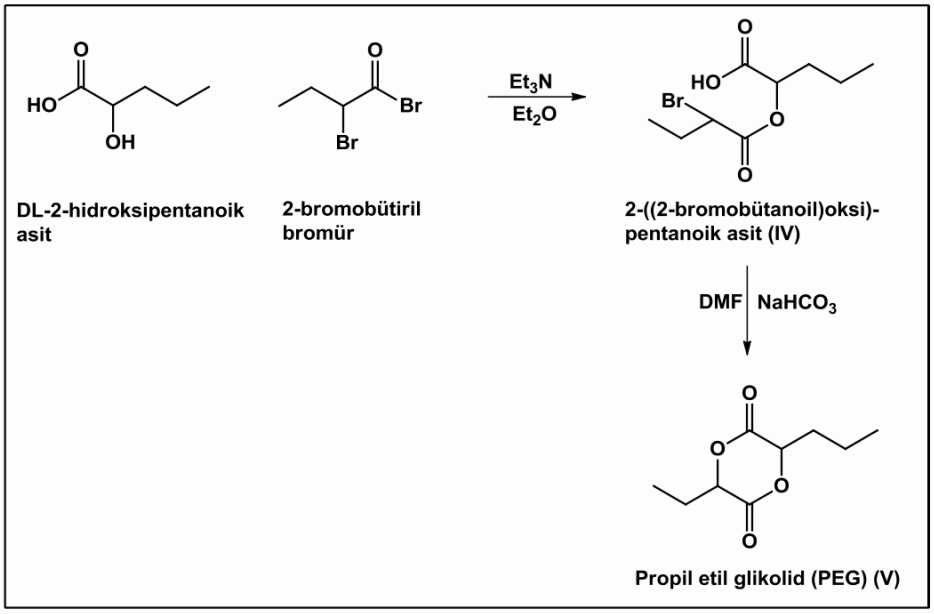
Propil metil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,97-1,04 (t, 3H, CH_3); 1,42-1,64 (m, 2H, CH_2); 1,67-1,7 (d, 3H, CH_3); 1,88-2,01 (m, 1H, CH); 2,03-2,15 (m, 1H, CH); 4,89-4,95 (dd, 1H, CH); 5-5,07 (q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 13,53; 15,85; 17,73; 31,98; 72,28; 75,59; 166,93; 167,52. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2965, 2940, 2880 (CH), 1757 (C=O).

2.2.2.3. Propil etil glikolid (PEG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromobütanoil)oksi)pentanoik asit Formül (IV),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: Propil etil glikolid Formül (V)



Şema 12: Propil etil glikolid (PEG) sentezi

2-((2-bromobütanoil)oksi)pentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,96-1,03 (t, 3H, CH_3); 1,05-1,12 (t, 3H, CH_3); 1,42-1,63 (m, 2H, CH_2); 1,86-2,24 (m, 4H, CH_2, CH_2); 4,18-4,32 (m, 1H, CH); 5,07-5,14 (m, 1H, CH); 8,2-10,5 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (11,72-11,77-11,8); (13,37-13,48-13,54); (17,77-18,39-18,41); (28,15-28,24-28,47); (32,11-32,79-32,81); (46,71-47,06-47,17); (72,6-72,67-75,46); (167,09-169,23-169,54); (175,43-175,66-175,74). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2966, 2938, 2878 (CH), 1720 (C=O).

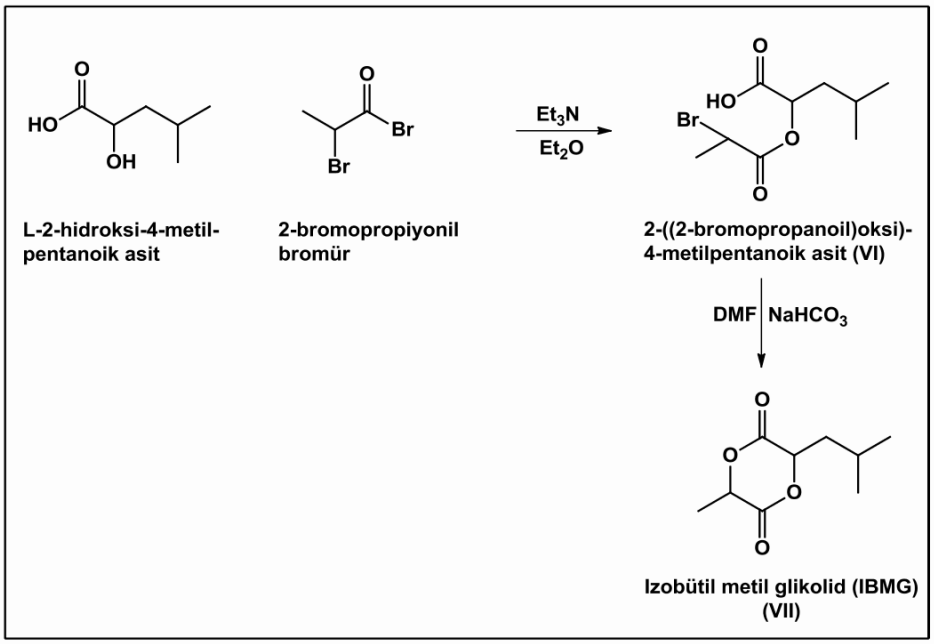
Propil etil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,98-1,03 (t, 3H, CH_3); 1,09-1,15 (t, 3H, CH_3); 1,47-1,68 (m, 2H, CH_2); 1,9-2,2 (m, 4H, CH_2, CH_2); 4,84-4,88 (dd, 1H, CH); 4,89-4,93 (dd, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (8,82-9.01); (13,33-13,35-13,52); (17,75-17,95-17,98); (23,55-25,37); (32,06-33,83-33,93); (75,41-76,18); (76,31-76,56); (165,63-165,89-165,93); (166,82-167,05-167,08). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2966, 2936, 2876 (CH), 1755 (C=O).

2.2.2.4. İzobütil metil glikolid (IBMG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromopropanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit Formül (VI),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: İzobütil metil glikolid Formül (VII)



Şema 13: İzobütil metil glikolid (IBMG) sentezi

2-((2-bromopropanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,91-0,98 (d, 3H, CH_3); 0,98-1,04 (d, 3H, CH_3); 1,67-1,79 (m, 1H, CH); 1,8-1,96 (m, 5H, CH_3, CH_2); 4,37-4,52 (m, 1H, CH); 5,06-5,18 (m, 1H, CH); 8,7-9,7 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (21,31-21,42); (21,45-21,67); (22,98-23); (24,59-24,66); (39,04-39,39); (39,48-39,53); (71,62-71,65); (169,67-169,98); (175,84-175,97-176,12). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2959, 2874 (CH), 1726 (C=O).

İzobütil metil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

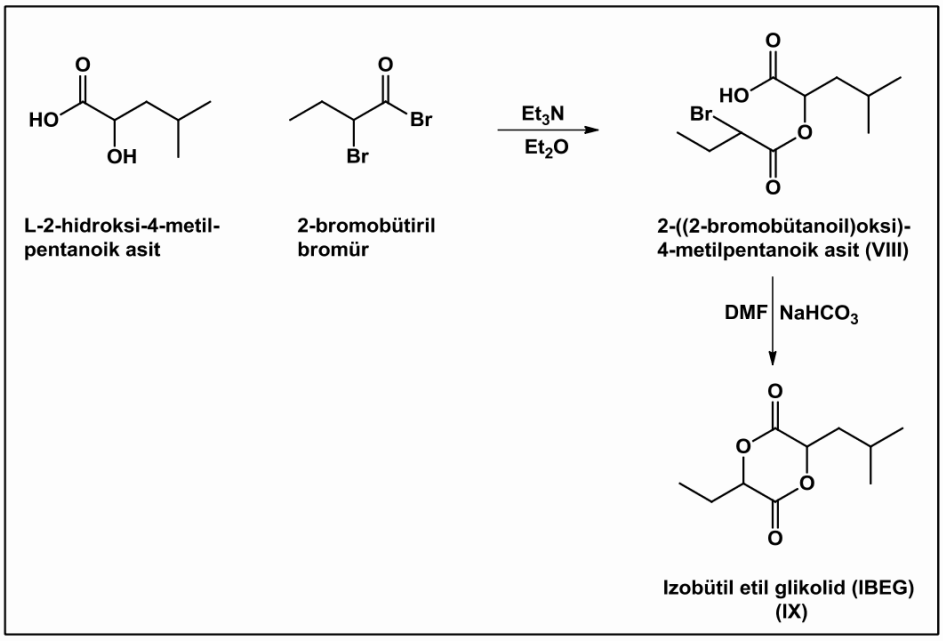
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,88-1,06 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,64-1,7 (d, 3H, CH_3); 1,8-2,04 (m, 3H, CH, CH_2); 4,89-4,97 (dd, 1H, CH); 5,02-5,09 (q, 1H, CH). ^{13}C-NMR

($CDCl_3$) δ: (15,84-17,37); (21,31-21,51); (22,7-23); (23,86-24,22); (38,69-40,45); (72,25-72,37); (74,33-75,61); 166,24; (167,32-167,51). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2961, 2880 (CH), 1749 (C=O).

2.2.2.5. İzobütil etil glikolid (IBEG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromobütanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit Formül (VIII),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: İzobütil etil glikolid Formül (IX)



Şema 14: İzobütil etil glikolid (IBEG) sentezi

2-((2-bromobütanoil)oksi)-4-metilpentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,94-0,98 (d, 3H, CH_3); 0,98-1,03 (d, 3H, CH_3); 1,05-1,12 (t, 3H, CH_3); 1,68-1,79 (m, 1H, CH); 1,8-1,96 (m, 2H, CH_2); 1,98-2,24 (m, 2H, CH_2); 4,17-4,32 (m, 1H, CH); 5,08-5,18 (dd, 1H, CH); 8,5-10,3 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (11,74-11,77); (21,31-21,45); (22,93-23,01); (24,61-24,63); (28,19-28,48); (39,42-39,48); (46,61-47,16); (71,55-71,6); (169,21-169,53); (175,89-176). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2963, 2941, 2876 (CH), 1722 (C=O).

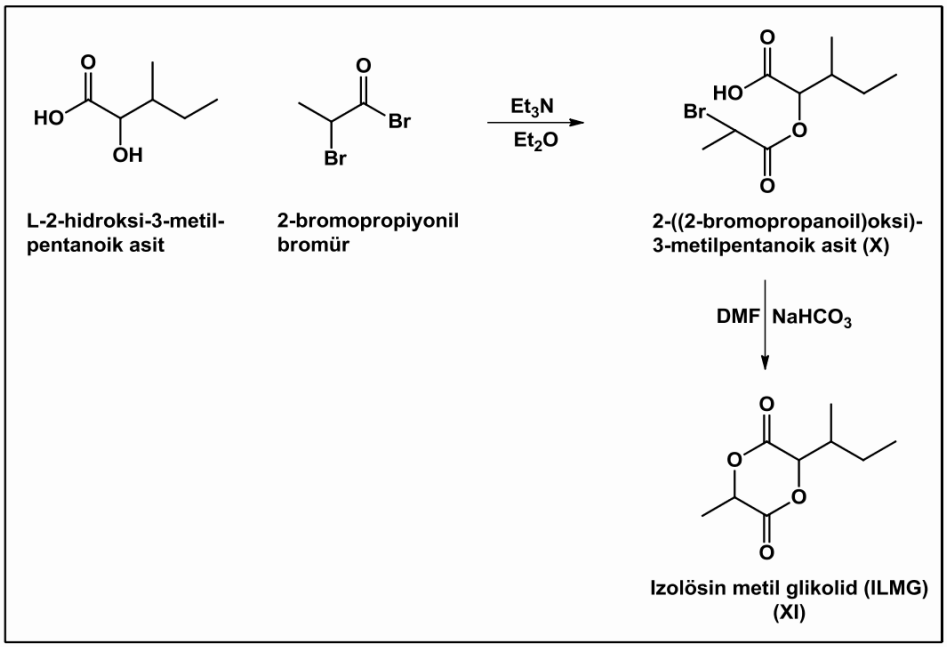
İzobütil etil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,95-1,04 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,08-1,16 (t, 3H, CH_3); 1,82-2,22 (m, 5H, CH, CH_2, CH_2); 4,84-4,95 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (8,84-8,97); (21,27-21,3); (22,74-22,99); (23,56-23,86); (24,14-25,18); (38,79-40,58); (74,15-75,23); (76,53-77,08); (165,57-166,29); (166,75-167,42). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2959, 2872 (CH), 1753 (C=O).

2.2.2.6. İzolösin metil glikolid (ILMG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromopropanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit Formül (X),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: İzolösin metil glikolid Formül (XI)



Şema 15: İzolösin metil glikolid (ILMG) sentezi

2-((2-bromopropanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,94-1,01 (t, 3H, CH_3); 1,04-1,09 (d, 3H, CH_3); 1,34-1,43 (m, 1H, CH); 1,5-1,64 (m,1H, CH); 1,84-1,94 (m, 3H, CH_3); 2,04-2,18 (m, 1H, CH); 4,38-4,54 (m, 1H, CH); 4,99-5,06 (dd, 1H, CH);7,8-9,8 (b, 1H, OH). ^{13}C-NMR

($CDCl_3$) δ: (11,48-11,73); (15,32-15,34); (21,48-21,74); (24,27-24,32); (36,55-36,58); (38,89-39,16-39,43-39,76); (76,83-76,88); (169,66-170,01); (174,84-174,99). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2966, 2934, 2880 (CH), 1722 (C=O).

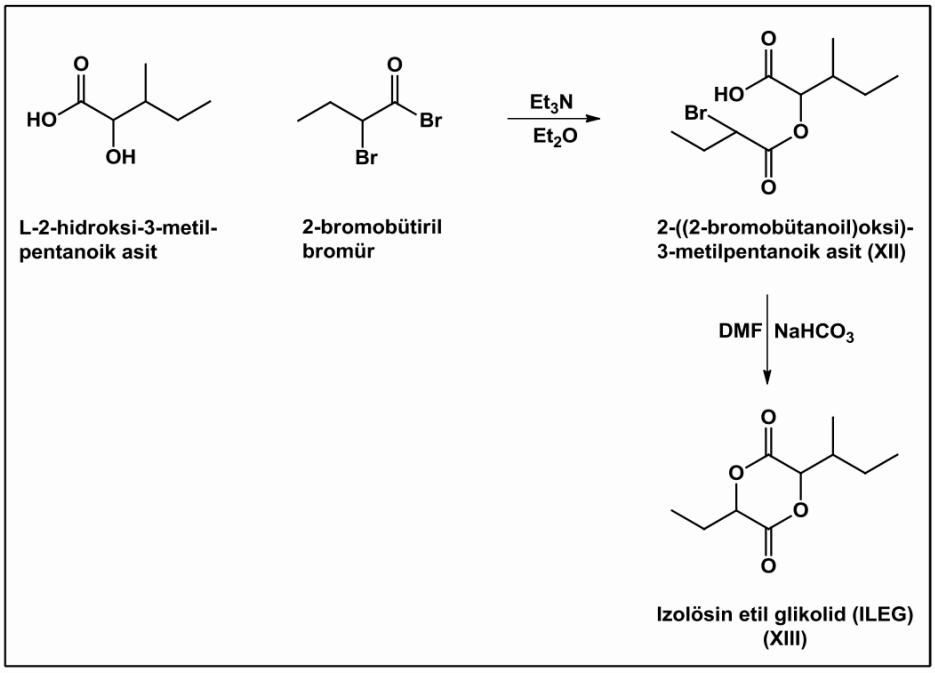
İzolösin metil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,95-1,01 (t, 3H, CH_3); 1,14-1,18 (d, 3H, CH_3); 1,35-1,47 (m, 1H, CH); 1,55-1,65 (m, 1H, CH); 1,65-1,71 (d, 3H, CH_3); 2,2-2,3 (m, 1H, CH); 4,81-4,84 (d, 1H, CH); 4,98-5,04 (q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (10,95-11,78); (14,87-15,1); (15,97-17,8); (23,54-24,47); (35,97-37,59); (72,1-72,33); (79,84-81,21); (165,08-166,19); (166,36-167,58). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2965, 2940, 2880 (CH), 1757 (C=O).

2.2.2.7. İzolösin etil glikolid (ILEG) sentezi

Ara ürün: 2-((2-bromobütanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit Formül (XII),

Elde edilen asimetrik sübstitüye glikolid monomeri: İzolösin etil glikolid Formül (XIII)



Şema 16: İzolösin etil glikolid (ILEG) sentezi

2-((2-bromobütanoil)oksi)-3-metilpentanoik asit'in karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,94-1,01 (t, 3H, CH_3); 1,04-1,12 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,34-1,46 (m, 1H, CH); 1,5-1,64 (m, 1H, CH); 1,98-2,26 (m, 3H, CH_2, CH); 4,18-4,34 (m, 1H, CH); 5-5,06 (t, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (11,48-11,74); (11,77-11,82); (15,33-15,37); (24,29); (28,16-28,22-28,53-29,7); (36,55); (46,78-47,11-47,12-47,39); (76,77-76,84); (169,2-169,55); (174,94-175,02). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2970, 2936, 2882 (CH), 1722 (C=O).

İzolösin etil glikolid monomerinin karakterizasyonu;

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,95-1,01 (t, 3H, CH_3); 1,1-1,15 (t, 3H, CH_3); 1,15-1,18 (d, 3H, CH_3); 1,35-1,47 (m, 1H, CH); 1,55-1,68 (m, 1H, CH), 1,97-2,08 (m, 1H, CH); 2,11-2,29 (m, 2H, CH_2); 4,79-4,81 (d, 1H, CH); 4,81-4,85 (dd, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (8,85-8,94); (11,09-11,77); (14,91-15,13); (23,56-23,68); (24,3-25,66); (36,03-37,8); (76,41-77,09); (79,68-80,88); (165,16-165,69); (166,3-166,85). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2968, 2936, 2880 (CH), 1757 (C=O).

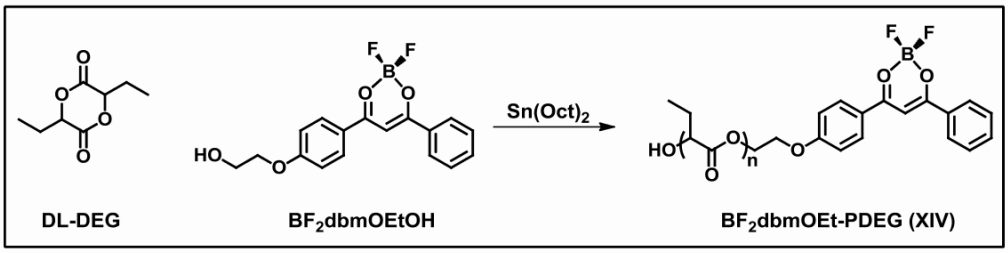
3. Polimer Sentezi

Homopolimerlerin sentezi sırasında; monomer olarak simetrik ve/veya asimetrik sübstitüye glikolid, başlatıcı olarak BF_2dbmOEtOH ve katalizör olarak kalay(II) 2-etilhekzanoat ($Sn(Oct)_2$) kullanıldı. Çözücüsüz ortamda argon gazı altında BF_2dbmOEtOH ve simetrik ve/veya asimetrik sübstitüye glikolid, $Sn(Oct)_2$ varlığında reaksiyona sokularak halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile poli(sübstitüye glikolid) homopolimerleri (BF_2dbmOEt-PSG) elde edildi. Ayrıca L-DIBG ve L-laktid monomeri ile aynı polimerizasyon tekniği kullanılarak BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) kopolimerleri sentez edildi. Polimerlerin karakterizasyonu spektroskopik (NMR, ATR-FTIR), kromatografik (GPC) ve termal (DSC, TGA) metotlardan yararlanılarak yapıldı ve ayrıca optik özellikleri (Floresans, Ömür, UV) incelendi.

3.1. Spektroskopik yöntem ile karakterizasyon

3.1.1. BF_2dbmOEt-PDEG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PDEG Formül (XIV)

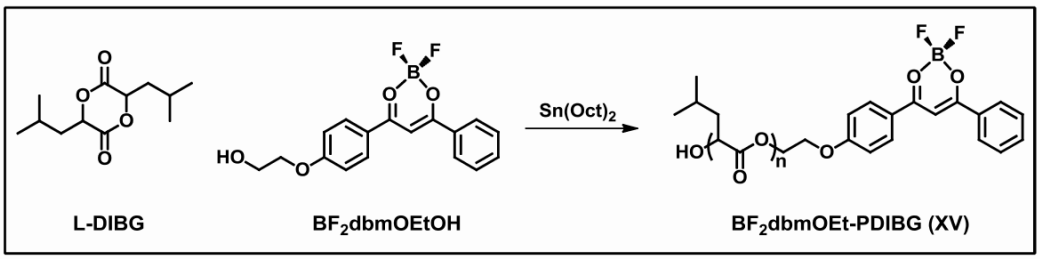


Şema 17: BF_2dbmOEt-PDEG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,94-1,1 (m, 3H, CH_3); 1,82-2,12 (m, 2H, CH_2); 5,02-5,22 (m, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (9,19-9,27-9,4-9,43); (24,37-24,42-24,52-24,57-29,68); (71,35-73,53-73,73-73,91-74,08); (168,68-168,88-169,01-169,14). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2974, 2941, 2884 (CH), 1746 (C=O).

3.1.2. BF_2dbmOEt-PDIBG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PDIBG Formül (XV)

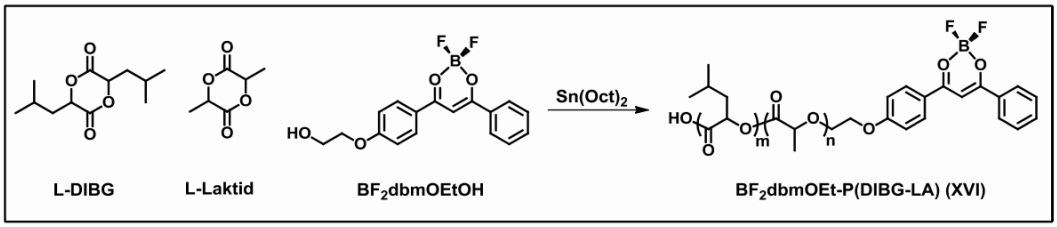


Şema 18: BF_2dbmOEt-PDIBG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,86-0,97 (d, 3H, CH_3); 0,97-1,07 (d, 3H, CH_3); 1,72-1,94 (m, 3H, CH, CH_2); 5,04-5,20 (dd, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 21,42; 22,99; 24,52; 39,32; 71,37; 169,77. ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2959, 2938, 2872, (CH), 1755 (C=O).

3.1.3. BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen kopolimer: BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) Formül (XVI)

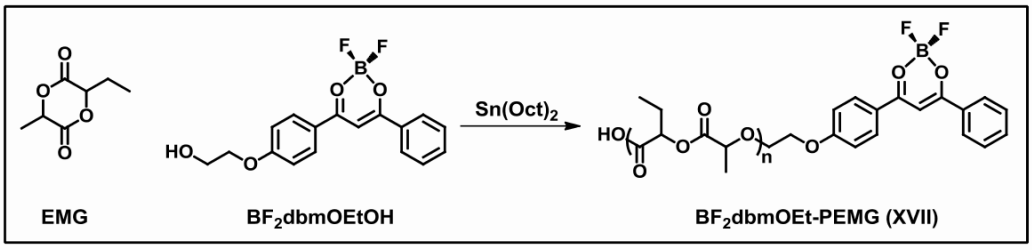


Şema 19: BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,88-0,96 (d, 3H, CH_3); 0,96-1,05 (d, 3H, CH_3); 1,54-1,64 (d, 3H, CH_3); 1,73-1,94 (m, 3H, CH, CH_2), 5,05-5,14 (dist. dd, 1H, CH), 5,14-5,22 (dist. q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 16,65; 21,42; 22,99; 24,53; 39,32; 68,96; 71,37; (169,57-169,6); (169,77-169,87). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2959, 2925, 2874 (CH), 1753 (C=O).

3.1.4. BF_2dbmOEt-PEMG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PEMG Formül (XVII)

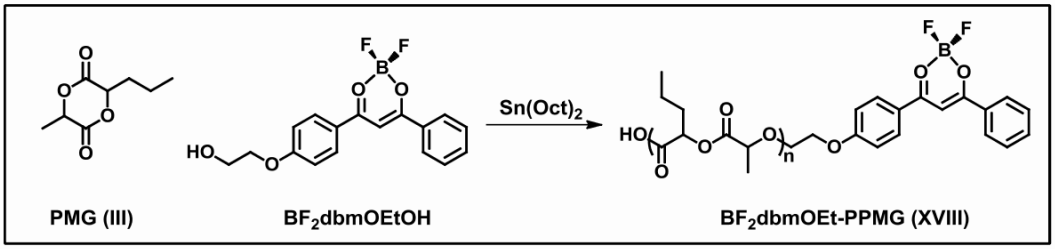


Şema 20: BF_2dbmOEt-PEMG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,98-1,12 (m, 3H, CH_3); 1,54-1,65 (m, 3H, CH_3); 1,86-2,11 (m, 2H, CH_2); 5,02-5,31 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (9,18-9,29-9,38-9,48); (16,7-16,76-16,82-16,91); (24,35-24,38-24,44-24,51); (68,99-69,16-69,38); (73,58-73,69-73,8); (168,69-168,72-168,74); (169,35-169,57-169,84). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2986, 2941, 2876 (CH), 1749 (C=O).

3.1.5. BF_2dbmOEt-PPMG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PPMG Formül (XVIII)

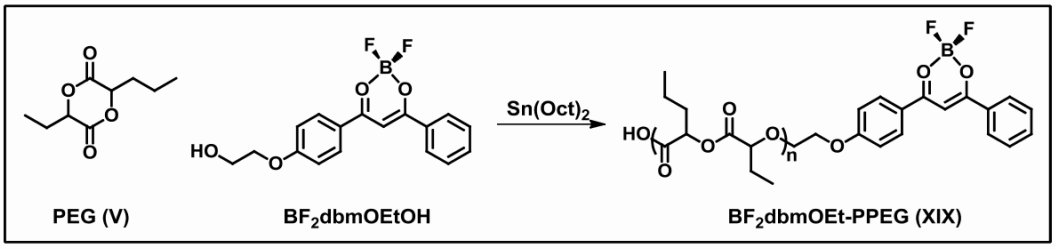


Şema 21: BF_2dbmOEt-PPMG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,91-1,02 (m, 3H, CH_3); 1,35-1,64 (m, 5H, CH_2, CH_3); 1,78-2,02 (m, 2H, CH_2); 5,04-5,29 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 13,54; (16,6-16,67-16,73-16,81-16,89); (18,2-18,27-18,35-18,44); (32,78-32,82-32,91-32,96); (68,97-69,18); (72,44-72,49-72,64); (168,65-168,75-168,92); (169,19-169-37-169,58). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2965, 2938, 2878 (CH), 1749 (C=O).

3.1.6. BF_2dbmOEt-PPEG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PPEG Formül (XIX)

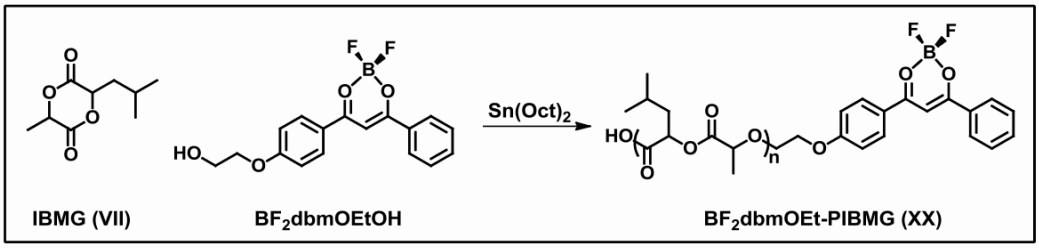


Şema 22: BF_2dbmOEt-PPEG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,9-1,1 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,38-1,58 (m, 2H, CH_2); 1,8-2,1 (m, 4H, CH_2, CH_2); 5,02-5,24 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: (9,2-9,28-9,38-9,44); (13,51-13,55); (18,21-18,26-18,37); (24,38-24,42-24,57); (32,87-33,05); (72,45-72,59-72,85); (73,52-73,71); (168,66-168,91); (169,19-169,35). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2965, 2938, 2878 (CH), 1751 (C=O).

3.1.7. BF_2dbmOEt-PIBMG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PIBMG Formül (XX)

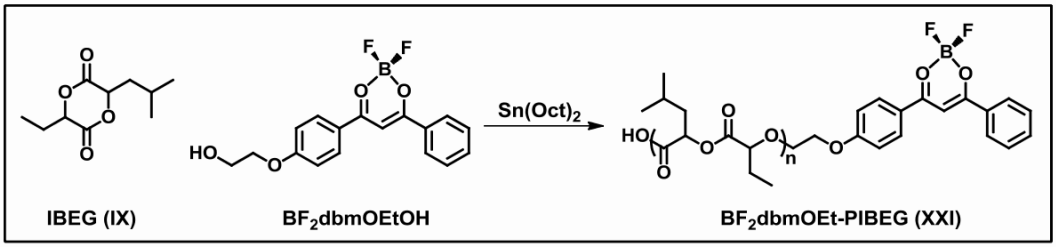


Şema 23: BF_2dbmOEt-PIBMG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,88-0,96 (d, 3H, CH_3); 0,96-1,13 (d, 3H, CH_3); 1,53-1,64 (d, 3H, CH_3); 1,74-1,94 (m, 3H, CH, CH_2), 5,07-5,15 (dist. dd, 1H, CH), 5,15-5,24 (dist. q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 16,67; 21,42; 22,99; 24,56; 39,29; 68,99; 71,4; (169,49-169,57); (169,79-169,89). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2961, 2926, 2876 (CH), 1753 (C=O).

3.1.8. BF_2dbmOEt-PIBEG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PIBEG Formül (XXI)

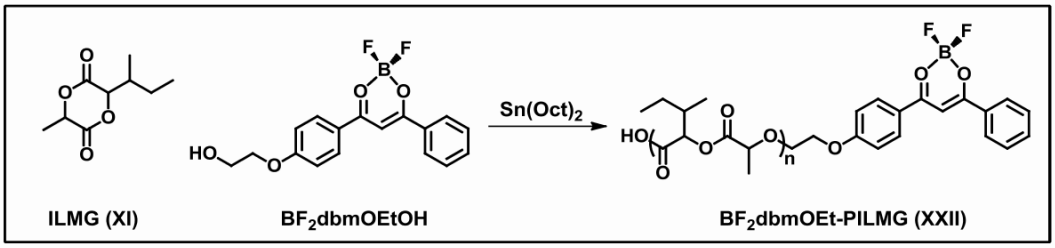


Şema 24: BF_2dbmOEt-PIBEG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,89-0,97 (d, 3H, CH_3); 0,97-1,01 (d, 3H, CH_3); 1,02-1,11 (t, 3H, CH_3); 1,64-2,12 (m, 5H, CH_2, CH_2, CH), 5-5,26 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 9,18; 21,44; 22,98; 24,4; 24,54; 39,39; 71,34; 73,54; (169,07-169,14-169,21); (169,69-169,77-169,84). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2961, 2926, 2878 (CH), 1753 (C=O).

3.1.9. BF_2dbmOEt-PILMG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PILMG Formül (XXII)

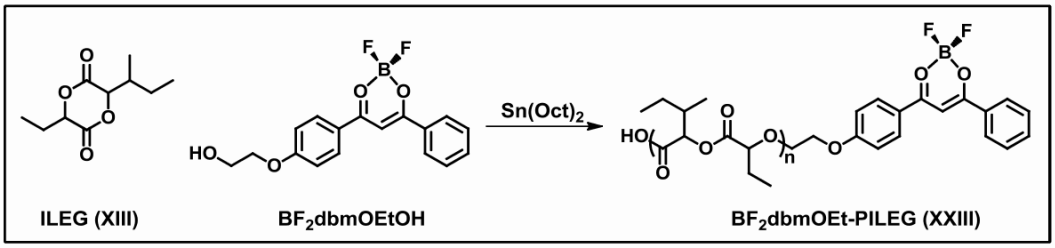


Şema 25: BF_2dbmOEt-PILMG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,89-0,99 (t, 3H, CH_3); 1,0-1,09 (d, 3H, CH_3); 1,29-1,45 (m, 1H, CH); 1,51-1,68 (m, 1H, CH; d, 3H, CH_3), 2-2,15 (m, 1H, CH); 4,98-5,08 (dist. d, 1H, CH), 5,12-5,29 (dist. q, 1H, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 11,53; (14,99-15,05); (16,66-16,86); (24,15-24,28); (36,56-36,69); (68,91-69); (76,49-77,22); (168,34-168,45); (169,54-169,79). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2972, 2943, 2880 (CH), 1751 (C=O).

3.1.10. BF_2dbmOEt-PILEG polimer sentezi ve karakterizasyonu

Elde edilen homopolimer: BF_2dbmOEt-PILEG Formül (XXIII)



Şema 26: BF_2dbmOEt-PILEG polimer sentezi

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0,9-0,99 (t, 3H, CH_3); 0,99-1,12 (m, 6H, CH_3, CH_3); 1,25-1,45 (m, 1H, CH); 1,55-1,7 (m, 1H, CH), 1,84-2,16 (m, 3H, CH_2, CH), 4,98-5,22 (m, 2H, CH, CH). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ: 9,16; 11,53; (14,95-15,01); 24,22; 24,51; (36,67-36,73); 73,55; (76,43-76,57-77,23); (168,52-168,64-168,68-168,75); (169,04-169,08-169,14-169,22). ATR-FTIR (ν_{max}/cm^{-1}): 2970, 2936, 2880 (CH), 1753 (C=O).

3.2. Kromatografik ve termal yöntem ile karakterizasyon

Sentezlenen polimerlerin molekül ağırlığı ve molekül ağırlığı dağılımı GPC ile belirlendi (Tablo 1, Şekil 1). Termal karakteristik özellikleri DSC analiziyle (Şekil 2) dekompozisyon özellikleri ise TGA analizi (Şekil 3) ile incelendi (Tablo 2).

Polimer	M_w (g/mol)	M_n (g/mol)	HI	Teorik	%	SG/ BF_2dbmOEtOH	SG/ $Sn(Oct)_2$
PDEG	3260	2700	1,2	17220	97	100	100
PDIBG	20900	13200	1,58	11410	99,1	50	50
P(DIBG-LA) 37,5-12,5	17270	11880	1,45	10360	99,3	37,5	37,5
P(DIBG-LA) 25-25	13590	9260	1,47	9310	99,7	25	25
P(DIBG-LA) 12,5-37,5	14920	9050	1,65	8260	99,6	12,5	12,5
PEMG	10330	7750	1,33	7910	99,7	50	50
PPMG	8830	7020	1,26	8610	99,4	50	50
PPEG	14420	9380	1,54	9310	96,5	50	50
PIBMG	16400	9770	1,68	9310	99,1	50	50
PIBEG	13440	10000	1,34	10010	99,1	50	50
PILMG	14860	9400	1,58	9310	99,4	50	50
PILEG	17650	10200	1,73	10010	99,1	50	50

Tablo 1: BF_2dbmOEt-PSG polimerlerinin molekül ağırlıkları

Polimer	DSC (T_g) (ºC)		TGA (ºC)		
	Onset	Midpoint	Büküm Noktası	Onset	Endset
PDEG	-6,04	1	313	286,65	324,57
PDIBG	17,97	23,73	393	369,72	405,76
P(DIBG-LA) 37,5-12,5	23,6	27,49	391,67	366,94	402,27
P(DIBG-LA) 25-25	27,43	30,88	375	351,7	387,63
P(DIBG-LA) 12,5-37,5	34,16	37,92	387,67	359,25	398,71
PEMG	24,1	27,97	376,33	351,25	388,95
PPMG	14,18	18,14	376,33	346,44	390,19
PPEG	-0,7	4,08	387	366,99	399,63
PIBMG	27,7	31,93	381	357,54	392,65
PIBEG	18,51	23,04	392,33	371,69	403,92
PILMG	23,5	28,84	391,67	368,9	404,24
PILEG	20,1	24,63	400,33	376,67	412,25

Tablo 2: BF_2dbmOEt-PSG polimerlerinin termal özellikleri

(Şekil 1: BF_2dbmOEt-PSG polimerlerinin GPC kromatogramlarıdır.)

(Şekil 2: BF_2dbmOEt-PSG polimerlerinin DSC termogramlarıdır.)

(Şekil 3: BF_2dbmOEt-PSG polimerlerinin TGA eğrileridir.)

3.3. Polimerlerin optik özelliklerinin incelenmesi

BF_2dbmOEtOH, BF_2dbmOEt-PLA ve sentez edilen tüm polimerlerin optik özellikleri UV-Vis, floresans ve ömür (lifetime) ölçümleri ile incelendi. Öncelikle tüm malzemelerin çözünürlükleri THF, etil asetat, metanol ve diklorometan gibi çeşitli organik çözücülerde test edildi, polimerlerin çözünürlüğünün bu çözücülerde düşük olduğu en uygun çözücünün ise seyreltik diklorometan olduğuna karar verilip tüm ölçümler UV için $2x10^{-5}$ M, floresans için $0,5x10^{-5}$ M DCM içerisinde yapıldı. Çözünürlüğün düşük olması polimer zincirlerinin iç içe geçmesinden ve

belki de artan dipol momentinden kaynaklanabilir (Örn. dbm 2,7 D iken BF_2dbm, 6,7 D olması, Zhang vd., 2009a). BF_2dbmOEt-PIBEG polimeri 350 nm'de, diğer tüm polimerler 384 ve 397 nm'de iki boyunlu π-π* geçişi gösterdi (Şekil 4a). BF_2dbmOEt-PILEG polimeri, BF_2dbmOEt-PLA polimerine göre daha güçlü π-π* karakteri sergileyerek neredeyse iki kat sönümleme katsayısı artışı gösterdi (ε = 28 000 vs 54 000 $M^{-1}.cm^{-1}$). 380 nm'de uyarılan polimerlerin maksimum emisyon değerleri ise floresans spektrumunda 424-431 nm aralığında değiştiği gözlemlendi. (Tablo 3, Şekil 4b). UV ölçümleri incelenerek absorpsiyon konsanstrasyon grafikleri çizildiğinde tüm polimerlerin Lambert–Beer kanununa $2x10^{-5}$-$5{,}6x10^{-6}$ aralığında uyduğu gözlemlendi. BF_2dbmOEt-PILEG için konsantrasyon-absorpsiyon değişimi Şekil 4c-d'de verildi. DbmOEtOH'nin CH_2CI_2 çözeltisi, oda sıcaklığında floresans değilken, BF_2dbmOEtOH ve tüm polimerler 365 nm'de uyarıldığında yoğun mavi emisyon sergilediği bulundu. Tüm polimerlerin floresans ömür değerleri τ_F 1,87-1,96 ns aralığında birbirine çok yakın olduğu, başlatıcının ise biraz daha uzun olduğu (τ_F 2,04) gözlemlendi. Tüm örnekler tekli üstel azalma (single exponential decay) sonuç verdi. Beklenildiği gibi BF_2dbmOEtOH başlatıcısı maksimum floresans şiddeti ve lifetime değeri verdi. Referans örnek olarak başlatıcıya PLA bağlandığında beklenildiği gibi maksimum absorpsiyondaki floresans şiddeti ve ömürde sırasıyla $2{,}73\times10^{7}$'den $2{,}39\times10^{7}$'ye ve 2,04'den 1,91'e küçük bir düşüş gözlendi (Tablo 3). BF_2dbmOEt-PILEG polimeri, BF_2dbmOEt-PLA referans örneğinden ve diğer tüm polimerlerden daha fazla floresans şiddeti vermiştir.

Polimer	Floresans			UV	
	λ_{max}^{em}	Floresans Şiddeti	τ	Absorbans	Sönümleme katsayısı
	(nm)	(max absorpsiyon)	(ns)	(384 nm)	(ε)
Başlatıcı	430	2,73E+07	2,04	0,841	42050
PDIBG	426	2,27E+07	1,91	0,942	47100
P(DIBG-LA) 37,5-12,5	424	1,68E+07	1,90	0,584	29200
P(DIBG-LA) 25-25	425	1,83E+07	1,90	0,669	33450
P(DIBG-LA) 12,5-37,5	424	1,08E+07	1,91	0,792	39600
PLA	426	2,39E+07	1,91	0,56	28000
PEMG	426	2,29E+07	1,92	0,784	39200
PPMG	426	1,54E+07	1,89	0,526	26300
PPEG	427	2,17E+07	1,89	0,919	45950
PIBMG	426	2,39E+06	1,89	0,897	44.850
PIBEG	431	1,56E+06	1,88	0,662 (354 nm)	33100
PILMG	424	2,14E+07	1,96	0,822	41100
PILEG	424	2,96E+07	1,87	1,071	53550

Tablo 3:Polimerlerin UV ve floresans verileri

(Şekil 4: $2x10^{-5}$ M konsantrasyonda hazırlanmış bor bazlı homopolimerlerin UV-Vis absorpsiyon spektrumu (a), floresans spektrumu (b), BF_2dbmOEt-PILEG için farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış dalga boyu-absorpsiyon değişimi (c), BF_2dbmOEt-PILEG için konsantrasyon-absorpsiyon değişimini (d) göstermektedir.)

4. Polimerlerden İlaç Yüklü Nanopartiküllerin Üretilmesi

Yeni BF_2dbmOEt-PSG nanopartikülleri, tekli emülsiyon ve nanoçöktürme yöntemleri ile çeşitli formülasyon parametreleri (sürfaktan, sürfaktan konsantrasyonu, organik çözücü türü) kullanılarak hazırlandı ve bu parametrelerin nanopartikül boyutu ve ilaç yükleme yüzdesi üzerine etkileri incelendi. Üretilen nanopartiküllerin boyut dağılım ve % ilaç yükleme verileri Tablo 4'te, boyut grafikleri Şekil 5-15'te ve SEM görüntüleri Şekil 16'da verilmektedir.

Polimer	Yöntem	Zetasizer Sonuçları		HPLC Sonuçları
		Pik	PDI	% İlaç Yükleme
PDIBG	Tekli Emülsiyon	346 ± 15,6	0,151 ± 0,02	2,4 ± 0,2
P(DIBG-LA) 37,5-12,5	Tekli Emülsiyon	304 ± 11,5	0,101 ± 0,02	4,9 ± 0,4
P(DIBG-LA) 25-25	Tekli Emülsiyon	304 ± 3,6	0,081 ± 0,01	5,2 ± 1,2
P(DIBG-LA) 12,5-37,5	Tekli Emülsiyon	295 ± 11,2	0,080 ± 0,02	6,2 ± 0,8
PEMG	Nanoçöktürme	259 ± 6,3	0,045 ± 0,02	9,7 ± 1,0
PPMG	Nanoçöktürme	236 ± 12,5	0,062 ± 0,01	8,3 ± 1,5
PPEG	Nanoçöktürme	253 ± 11,4	0,070 ± 0,01	5,04 ± 0,04
PIBMG	Nanoçöktürme	236 ± 4,4	0,081 ± 0,01	5,2 ± 0,5
PIBEG	Nanoçöktürme	264 ± 10,3	0,081 ± 0,02	4,0 ± 0,2
PILMG	Nanoçöktürme	236 ± 6,2	0,075 ± 0,02	4,9 ± 0,1
PILEG	Nanoçöktürme	264 ± 11,2	0,136 ± 0,01	17,8 ± 1,0

Tablo 4: Nanopartiküllerin boyut dağılım ve % ilaç yükleme verileri

(Şekil 5: BF_2dbmOEt-PDIBG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 6: BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 37,5-12,5 nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 7: BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25 nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 8: BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 12,5-37,5 nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 9: BF_2dbmOEt-PEMG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 10: BF_2dbmOEt-PPMG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 11: BF_2dbmOEt-PPEG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 12: BF_2dbmOEt-PIBMG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 13: BF_2dbmOEt-PIBEG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 14: BF_2dbmOEt-PILMG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 15: BF_2dbmOEt-PILEG nanopartikülüne ait zeta boyut grafiğidir.)

(Şekil 16: Polimerik partiküllerin SEM görüntüleridir. (A) BF_2dbmOEt-PDIBG, (B) BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25, (C) BF_2dbmOEt-PEMG, (D) BF_2dbmOEt-PPMG, (E) BF_2dbmOEt-PPEG, (F) BF_2dbmOEt-PIBMG, (G) BF_2dbmOEt-PIBEG, (H) BF_2dbmOEt-PILMG, (I) BF_2dbmOEt-PILEG, (J) paklitaksel.)

5. In Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Nanopartiküllerden paklitaksel antikanser ilacının salım kinetiklerinin belirlenmesi amacı ile 5 mg PTX/BF_2dbmOEt-PSG, pH'ı 7,4 olan 5 mL PBS içerisinde süspanse edildi ve PBS'in üzerine 0,5 mL oktanol eklendi. Bu numuneler 37°C'de inkübatör

içerisine yerleştirilip 200 rpm karıştırma hızında karıştırıldı. Her 24 saatte bir numuneler inkübatörden dışarı çıkartılarak jelin üzerindeki oktanol fazı ayrı bir ependorfa alınıp -20°C'de muhafaza edildi. Ardından yeni 0,5 mL oktanol, PBS'in üzerine eklendi ve bir sonraki zamana kadar 37°C'de inkübatör içerisinde tutuldu. Salınan ilacın kantitatif analizi HPLC kullanılarak gerçekleştirildi. Paklitaksel antikanser ilacının salım davranışı Şekil 17'de ve verileri Tablo 5'te verilmektedir.

Gün	% Paklitaksel Kümülatif Salımı										
	PDIBG	P(DIBG-LA) 37,5-12,5	P(DIBG-LA) 25-25	P(DIBG-LA) 12,5-37,5	PEMG	PPMG	PPEG	PIBMG	PIBEG	PILMG	PILEG
1	44,3±6,1	62,4±6,1	55,5±2,5	41,8±1,9	33,5±2,9	25,2±1,1	19,7±1,2	57,6±7,6	53,9±2,1	43,8±2,8	39,0±2,9
2	67,2±7,4	83,8±7,7	81,4±4,5	71,5±4,9	64,7±4,8	49,3±1,1	38,5±3,3	78,4±6,7	79,6±6,8	73,3±3,8	69,5±0,4
3	91±0,8	92,7±6,3	90,9±4,2	88,1±3,1	82,2±2,7	72,0±1,4	54,6±3,0	85,3±6,8	87,5±5,8	87,3±1,4	85,9±0,8
4	95,1±0,8	96,6±3,2	95,9±2,6	95,2±1,5	89,5±1,6	88,2±1,8	70,6±2,7	88,7±6,2	91,9±3,8	92,5±0,3	92,2±0,4
5	97,3±0,5	98,3±1,6	97,8±1,7	98,1±0,8	92,8±1,0	94,2±0,4	82,1±2,1	91,5±5,2	94,7±1,8	95,2±0,3	96,3±0,3

Tablo 5: BF_2dbmOEt-PSG partiküllerinden paklitakselin % kümülatif salım davranışı

(Şekil 17: Paklitaksel antikanser ilacının salım eğrileri gösterilmiştir.)

6. Nanoparçacıkların Biyouyumluluğu

Nanoparçacıkların biyo-uyumluluğu çalışmaları BF_2dbmOEt-PDIBG (homopolimer) ve BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25 (kopolimer) nanoparçacıkları için gerçekleştirildi.

Biyo-uyumluluk analizleri somatik hücreler olan fibroblast hücreleri kullanılarak kültür koşullarında (in vitro) gerçekleştirildi. İlaç yüklenmemiş olan nanoparçacıklar kültür ortamına eklenerek inkübasyon sonrasında hücre kültürü üzerindeki etkileri incelendi. Biyo-uyumluluk; morfolojik inceleme, hücreler üzerinde apoptoz etkisinin belirlenmesi, toksisite analizi, metabolik olarak aktif (canlı) hücrelerin ölçülmesi ve hücre çoğalma indeksi olmak üzere beş farklı metot kullanıldı.

Nanoparçacık ve hücreler arasındaki ilişkiyi incelemek için ilaç içeren ve içermeyen nanoparçacıklar hücre kültürü ortamına eklenerek 72 saat boyunca kültüre edildi. Kültür sonrasında ilk inceleme mikroskop altında gerçekleştirildi. Fibroblast hücreleri kültür sonrasında sağlıklı oldukları görülürken hiçbirinde belirgin bir anomali gözlemlenmedi (Şekil 18). Hücrelerin membran yapılarının bozulmadığı; çekirdeklerinin bütün ve hücre başına tek olduğu gözlemlendi. Bu sonuca göre 72 saatlik inkübasyon sonrasında her iki polimerden fibroblastların olumsuz yönde etkilenmediği, apoptoz ya da nekroz olgusunun görülmediği, genotoksik durumun olmadığı gözlemlendi. Bazı kanser hücrelerinde gözlemlenen çok çekirdekli hücre morfolojisi kültür sonrasında gözlemlenmedi. Tunel boyaması sonrasında hücrelerde apoptozu gösteren yeşil boyanması gözlemlenmedi. AnnexinV-PI boyaması ve takiben akım sitometre analizlerinin verdiği bilgiler doğrultusunda apoptotik bir durumun olmadığı belirlendi.

(Şekil 18: Nanoparçacıkların biyo-uyumluluk analizi (hücre morfolojisi). Fibroblast hücrelerinin nanoparçacıklardan olumsuz yönde etkilenmediği görüldü. İlaç yüklenmemiş kopolimer (BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25) (A) ve homopolimer (BF_2dbmOEt-PDIBG) (B) ile birlikte fibroblast hücreleri 72 saat kültür sonrasında membran bütünlüklerini korudukları ve çekirdeklerde bir parçalanmanın olmadığı gözlemlendi. Ölçek çubuğu, 200 μm.)

Hücre çoğalması 48 saat sonra 24. saate göre kopolimerde düşme gözlemlenmiş olsa da 72 saat sonra hücrelerde çoğalma hızlanmıştır (Şekil 19A). Homopolimer yapısı hücre canlılığını %300 artış ile oldukça kuvvetli desteklemiş olduğu gözlemlendi (Şekil 19B). WST1 sadece hücre sayıları ile değil aynı zamanda metabolik aktivite ile doğrudan ilişki içerisinde olduğu için polimerlerde 72. saatte gözlemlenen hızlı yükselme metabolik aktivite ile ilişkilendirilebilir. Kontrol (nanoparçacık içermeyen) grubunda 48. saate kadar devam eden çoğalmada 72. saat sonunda düşme gözlemlenmesinin açıklanması konfluensiye ulaşmış hücrelerin daha fazla çoğalmayarak sessiz duruma geçtiği olarak söylenebilir. Bu hücre

konumunda hücre sayısı artmaz ve bizim elde ettiğimiz bulgulara benzer sonuçlara ulaşılabilir.

(Şekil 19: Hücre çoğalması ve canlılığı üzerinde nano parçacıkların etkisi. 72 saat kültür sonrasında hücre çoğalmasının (A) devam ettiği ve canlılıklarında (B) belirgin bir azalma olmadığı hesaplandı. Hücre canlılığı nano parçacık eklenmemiş kültür ortamındaki hücreler ile oranlanmış ve % olarak gösterildi. Dipnot: Şekil 19-30 aralığındaki grafikler üzerinde gösterilen H-: ilaç yüklü olmayan BF_2dbmOEt-PDIBG partiküllerini, H+: ilaç yüklü BF_2dbmOEt-PDIBG partiküllerini, C-: ilaç yüklü olmayan BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25 partiküllerini ve C+: ilaç yüklü BF_2dbmOEt-P(DIBG-LA) 25-25 partiküllerini temsil etmektedir.)

LDH ölçümlerine göre her iki polimerde önemsiz derecede toksik etki olduğu görüldü (Şekil 20). Negatif kontrol grubuna göre nanoparçacık içeren gruplardaki toksik etki daha yüksek olduğu belirlenirken genel olarak bakıldığında önemsiz bir toksik değer hesaplandı. Hücre kültürünün sıkışması (konfluensi) ile ya da 3 gün içerisinde biriken atıkların hücre canlılığı üzerinde etkisinin olması sonucunda az da olsa toksik etkinin gözlemlenmesi olağandır.

(Şekil 20: Hücre kültüründe toksisitenin belirlenmesi. LDH ölçümü ile toksisite belirlenmiştir. Hücre membran bütünlüğünün tamamen bozulduğu (azami toksisite) bir ortama göre hücrelerden salınan enzimin aktivitesinin değerine göre göreceli olarak hesaplandı. % 10'un altındaki değerler önemsiz derecede toksik etkiye karşılık geldiği için hem nanoparçacık içeren hem de içermeyen kontrol grubunda hücre membran bütünlüğünü etkileyecek oran da toksisiteye rastlanmadı.)

Biyo-uyumluluk olarak ilaç içermeyen nanopartiküller değerlendirildiğinde fibroblast (somatik) hücrelerin gösterdikleri tepkinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde oldukları söylenebilir. Hücre canlılığı azalmamış, çoğalma hızı düşmemiş ve toksik değerler kabul edilebilen sınırların altında kalmıştır. Biyo-uyumlulukta bakılması gereken diğer iki kriter, hemotoksisite ve pirojenite canlı

hayvan deneyleri ile değerlendirdi. Nanoparçacıkların kanser hücreleri çevresinde toplandıkları gözlemlenmiş olup bu bulgu canlı hayvan deneyleri ile de desteklendi.

7. Nanoparçacıkların kanser hücrelerine karşı etkisi, in vitro

Kültür ortamında, sentezlenen nanoparçacıkların kanser hücrelerine karşı etkinliği test edildi. Analizlerde hücre morfolojisi ve kanser hücresine yönelmesi, apoptoz, toksisite ve canlılık incelendi. In vitro analizler sonrasında nanoparçacıklar ilaç taşımamasına rağmen hücre sayılarında azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 21). Ortamdaki nanoparçacıklar oto-floresan özellikleri kullanılarak gözlemlendi. Bu parçacıkların DU145 ve MCF7 hücreleri etrafında toplandıkları belirlendi (Şekil 21 C,D). Ancak MCF7 hücreleri etrafındaki toplanmanın daha belirgin olduğu görülmektedir. Hücre davranışları dikkate alındığında MCF7 hücre hattı epitel karakterde olsa da DU145 hücrelerine göre daha hareketli (motile) oldukları için nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerine tutunma olasılığını arttırabilmektedir.

(Şekil 21: Kültür sonrasında (72 saat) nanoparçacıkların hücre sayılarını belirgin oranda etkilediği gözlemlenirken DU145 (C) ve MCF7 (D) hücre sayılarının ilgili hücrelerin nano parçacık eklenmemiş kontrol grubuna göre (A, B) daha az olduğu görüldü. Mavi floresan ışıma ile kendini gösteren nanoparçacıklar hücrelerin etrafında toplanma (beyaz oklar) eğilimini gösterirken özellikle MCF7 hücreleri üzerinde kümelenmiş oldukları gözlemlendi (D). Ölçek çubuğu, 200 µm.)

Kanser hücrelerine yönelik canlılık analizinde nanoparçacıkların 72. saatte daha kuvvetli etki ederek hücre sayılarında azalmaya yol açmıştır. DU145'de hücre sayısı ilk günlerden itibaren azaldığı gözlemlenirken (Şekil 22 A) 72. saate gelindiğinde ilaç yüklü olan gruplarda % 10'un altına inen canlılık azalması belirlendi. İlaç yüklü olmayan partiküllerde de DU145 üzerinde canlılık azaltıcı etkileri olduğu görülmekte olup (Şekil 22 B) bu etkinin beklendiği gibi ilaç yüklü olanlara göre daha zayıf olmuştur. MCF7'de ise genel olarak partiküllerden ve paklitakselden daha az etkilendiği görülmektedir. DU145'in aksine MCF7 hücrelerinin nanoparçacık ve paklitakselden etkilenebilmesi için 72 saatin geçmesi

gerektirdi (Şekil 22 C). Canlılık analizlerinde ise 72. saatte kontrole göre 1,5-2,5 kat daha fazla canlılığın gözlemlenmesi olumsuz bir durum gibi gözükse de aslında bu değerler 48. saate göre düşmüş değerlerdir (Şekil 22 D).

(Şekil 22: Kanser hücresi canlılık analizi. 72 saat kültür sonrasında DU145 (A,B) ve MCF7 (C,D) hücrelerinin çoğalma ve canlılık durumları incelendi. Her iki hücre hattı için ilaç yüklü olan ve olmayan nanopartiküllerin etkili olduğunu ve çoğalmayı durdurup hücre canlılığını azalttığı görülmektedir. Hücre canlılığı nanoparçacık eklenmemiş kültür ortamındaki hücreler ile oranlanmış ve % olarak gösterildi (B,D). Nanoparçacık eklenmesiyle MCF7 hücreleri kontrol grubuna göre ilk günlerde hızlı büyüme gözlemlenirken 72. saatte hücre sayısında düşme olduğu ölçümlerde belirlendi.)

Parçacıklar ile etkileşim sonrasında hücrelerde gerçekleşen sitotoksisite, laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitesinin ölçülmesiyle belirlendi. Hücrelerdeki toksisite tamamen parçalanmış hücrelerin gösterdiği aktivite (% 100) ile oransal olarak hesaplandı. Bu ölçümlere göre parçacıklar ile etkileşim sonrasında % 10 değerinin altında ölçülen bir toksisite değeri önemsiz olarak değerlendirildi. DU145 hücrelerinde ise bütün parçacıklarda % 19'a varan toksisite değerleri ölçüldü (Şekil 23 A). Nanoparçacık içermeyen kontrol DU145 hücre kültürlerinde ise toksisite % 6 değerinin altında kaldı. Kontrol hücreleri ile parçacık içeren kültürlerdeki hücrelerin toksisitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır ($p<0,05$). Buna karşın MCF7 hücrelerinin kültürlerinde toksisite ölçümlerinde kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark olduğu ($p<0,05$) hesaplanırken toksisite % 10-12 olarak ölçüldü (Şekil 23 B). Ancak hücre canlılık testlerine paralel olarak toksisite değerleri DU145'e göre düşük kalmıştır. 24-72 saatlik zaman sürecinde nanoparçacıkların etkileri her iki hücre hattı için artmış olarak gözlemlenmişken bu etki DU145'te daha hızlı gerçekleşti. Homopolimer temelli nanoparçacığın ilaç yüklü olan ve olmayan türlerinin her iki kanser hattı için daha iyi olduğu söylenebilir.

(Şekil 23: Kanser hücresi toksisite analizi. LDH testi ile 24, 48 ve 72. saatlerdeki membran bozulmasına bağlı olarak hücre besiyerinde artan LDH enzim aktivitesi ölçüldü. DU145 (A) ve MCF7 (B) hücrelerinin kültür besiyerleri alınarak ölçümler gerçekleştirildikten sonra yüksek toksisite gösteren kimyasal ile işlem görmüş aynı hücre hattına oranlanarak % ifade hesaplandı. DU145 hücre hattı 72. saatin sonunda nanoparçacıklardan daha fazla etkilendiği gözlemlendi. MCF7'de bu etki daha sınırlı olup daha yavaş geliştiği gözlemlendi. Her iki kontrol hücresinde ortamın sıkışıklığına bağlı olarak artan bir LDH aktivitesi ölçüldü. Ancak % 10 değerinin altı olan ölçümler toksik etki yoktur şekilde değerlendirildi.)

Apoptoz durumu ise AnnexinV/PI boyaması ile değerlendirildi. Akım sitometre cihazı ile ölçüldükten sonra ilaç taşıyan nanoparçacıkların etkili oldukları gözlemlendi. Homopolimer ya da kopolimer olduğu fark etmeksizin ilaç MCF7 üzerinde hücrelerin yaklaşık % 68 oranında apoptozu uyardığı ölçüldü. Buna karşın DU145'te farklı sonuçlar elde edildi. Kopolimer hücreler üzerinde % 94 gibi yüksek bir oranda apoptozu uyarırken homopolimer kullanıldığında DU14 hücrelerinin % 55'inde apoptoz uyarılmış oldu (Şekil 24). Tunel boyamasıyla da benzer sonuçlar elde edildi. Bu bulgularda etkin bir şekilde ilaç salımı nanoparçacıklardan gerçekleştirilerek hücrelerde apoptotik yolağın uyarıldığı gösterilmiştir. Kontrol deneylerinde, eşdeğer paklitaksel kullanılıp nanoparçacık kullanılmadığı grup, MCF7 ve DU145 hücrelerinde apoptoz uyarılması daha düşük gerçekleşmiştir (MCF7, % 52 ve DU145, % 55). Hücrelerde apoptozun indüklenmesi nanoparçacıklar kullanıldığında daha yüksek oranda olduğu görüldü. Bu noktada nanoparçacıklara ilaç yüklenmesi sonrasında MCF7 ve DU145 hücreleri üzerinde etkin bir apoptotik etkinin yapıldığı görüldü. Ancak hücre ölüm oranı daha düşük olmasını bu hücrelerin apoptozun erken evresinde (early-apoptosis) olmalarıyla açıklanabilir. Standartların önerdiği gibi 72 saatlik bir inkübasyon değil de daha uzun süreli bir hücre kültürü çalışması ile daha yüksek hücre ölümlerinin alındığı sonuçlara ulaşılabilir.

(Şekil 24: Hücrelerin apoptotik durumunun değerlendirilmesi. Hücreler nanoparçacık eklenmiş besi ortamlarında kültüre edildikten sonra annexinV ve PI ile boyanarak canlı ve apoptotik hücreler belirlendi (A: DU145, ilaç yüklü kopolimer; B: MCF7, ilaç yüklü kopolimer; C: DU145, ilaç yüklü homopolimer; D: MCF7, ilaç yüklü homopolimer). Sonuç panellerindeki verilerin grafiksel gösterimi sağda verilmiştir (E). Veriler MCF7 için materyalin yapısının fark etmediği, aynı apoptotik sonuçları verdiği görüldü. Kontrol değeri ise % 52 oranı olarak hesaplandı. Ancak DU145 ilaç eklenmiş kopolimere karşı daha hassas olduğu yaklaşık % 94'lük apoptotik hücre oranı ile gösterildi. İlaç yüklü homopolimer apoptozu kuvvetli olarak uyarmasalar da uyarı nanoparçacıksız ilaç aktarımından (% 55) daha iyi gerçekleşti.)

In vitro testler genel olarak irdelendiğinde kanser hücrelerine karşı ilaç yüklü nanoparçacıkların etkili olduğu ve doğrudan kültür ortamına verilen kanser ilacına göre çok daha yüksek ya da eşdeğer apoptotik değer elde edilmiştir. Nanoparçacıklar ile birlikte yavaş ilaç salımı paklitakselin proje başında ön görüldüğü gibi daha etkili olması sonucunu getirdi. Aynı zamanda bu yapıların kanser hücreleri etrafında toplanması ile bor temelli bu nanoparçacıkların kanser tedavilerinde kullanılabilme potansiyelini arttırmaktadır.

8. Nanoparçacıkların kanser hücrelerine karşı etkisi, in vivo

Nanoparçacıklar karın boşluğunda bulunan kanser hücrelerinin bulunduğu bölgeye yakın yere ve damara enjekte edilerek kanser hücreleri üzerindeki etkisi ve yönelmesi incelenmiştir. Bu kapsamda canlıya verilen nanoparçacıklar canlı üzerindeki etkileri makroskopik olarak incelenmiştir. Bu işlem sonrasında hayvanlar üzerinde bir etki, ör. davranış bozukluğu ya da stress belirtisi, gözlemlenmemiştir. İmplante edilen enkapsüle hücreler çıkarıldığında enflamasyon olarak nitelendirilebilecek çok yüksek bir damarlanma, kanlanma ya da kızarma gözlemlenmediği gibi kapsülün temas ettiği bölgede ödem gibi enflamasyon belirteçleri görülmedi. Kanser hücreleri sodyum alginat içerisine gömüldükten sonra 0,5-1,8 mm çapında kürecikler elde edildi. Bu küreler daha sonra Wistar

albino sıçanın karın boşluğuna (intraperitonal; ip) ya da vene (İntravenöz; iv) verilerek tümör modeli (Gorelik vd., 1987'ye göre) oluşturuldu. Kültür koşullarında gerçekleştirilen deneylerde gözlemlenen nanoparçacıkların kanser hücrelerine doğru yönelme olayı canlı hayvan çalışmalarıyla gösterilmeye çalışılmıştır. Karın boşluğuna implante edilen kanser hücrelerinin yakınına ve kuyruk veninden olmak üzere uzak bir yerden verilmesiyle tümör modeline parçacıkların yönelmesi izlendi (Şekil 25). Bu çalışmada karın boşluğuna verilen örneklerin daha etkin bir şekilde tümör üzerinde biriktiği gösterildi (Şekil 25A,C). Damara verilen nanoparçacıkların da tümör üzerinde biriktiği gözlemlenmiş olsa da miktar olarak oldukça az olduğu gözlemlendi (Şekil 25 B,D). Tümör üzerindeki birikimin rastgele ve heterojen olduğu ve nano parçacık kompozisyonu ile ilişkili olmadığı gözlemlendi.

İlaç yüklenmemiş nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerindeki etkisi incelendi ve in vitro deneylerinkine benzer şekilde canlılığı azaltıcı etkisinin in vivo ortamda da devam ettiği gözlemlendi. Bu etkinin malzemenin kendisinden kaynaklanıyor olabileceği bir olasılıktır. İki farklı yöntemle, karın boşluğuna ve damar bölgesine verilmiştir. Nanoparçacıkların etkin bir şekilde ulaşıp etkinliklerini göstermişlerdir. Genel olarak bakıldığında damara verilen hücrelerin öldürücü etkinliğinin çok az farkla da olsa daha düşük olduğu gibi bazen eşit oranda etki göstermişlerdir (Şekil 26). Canlı/ölü hücre boyaması yapılmış ve WST-1 ile karşılaştırılmıştır (Şekil 27). Hücre ölümlerinin rastgele ve heterojen olduğu göz önüne alındığında boyamalar WST1 sonuçlarını desteklemektedir. Nanoparçacıklar ne kadar çok ilacı taşıyan sistemler olsa da tümör bölgesinin yakınında ilacı salıverecek kontrollü sistemleri taşımamaktadır. Bu yüzden kan dolaşımına verildiği andan itibaren ilacı yavaşça kana vermiş ve böylece ilaç etkisini göstermiştir. Ancak kullanılan malzemenin biyo-uyumlu olmasına ve fibroblast hücrelerine zarar vermemesine karşın kanser hücrelerinin olduğu bölgede immün sistem hücrelerini, ör. T-lenfositler, etkileyerek kanser hücrelerine karşı daha toksik koşullar oluşturmuş olabilir.

(Şekil 25: Alginat-tümör modeli ve nanoparçacıkların yönelmesi. Nakil yapılan enkapsüle MCF7 kanser hücrelerinin 7 gün beklemeyi takiben 3 günlük nanoparçacık uygulaması sonrasında otofloresan özellik gösteren nanoparçacıklar

mavi ışıldama ile yerleri belirlendi. A, homopolimer, ip enjeksiyon; B, homopolimer, iv enjeksiyon; C, kopolimer, ip enjeksiyon; D, kopolimer, iv enjeksiyon. Ölçek çubuğu, 200 µm).

(Şekil 26: Nanoparçacıklar ile nakil sonrasında kanser hücrelerinin canlılık analizi (WST-1). Hücrelerin canlılığının belirlenebilmesi için WST-1 deneyi kurulmuştur. Bu basamak sonrasında ip verilen homopolimerin, pozitif kontrol olarak kullanılan yalnız kanser ilacı kullanımına göre daha kuvvetli etkilediği sonuçlar elde edildi. Diğerleri yakın bir sonuç vermişken kopolimerin iv ile nakledildiğinde en az canlılığı azaltıcı etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Canlılık oranı hiç ilaç verilmemiş deney grubundan elde edilen ölçümlerin ilgili gruplar ile oranlanarak gösterilmiştir.)

(Şekil 27: Canlı/ölü hücre boyaması. Canlıdan tümör çıkarıldıktan sonra calcein a/ethidium homodimer ile boyandı. Canlı hücreler yeşil olarak gözlemlenirken kırmızı hücreler ölü hücreleri göstermektedir. Mavi olan ışıldamalar otofloresan özellik gösteren nanoparçacıklardır. A, homopolimer, ip enjeksiyon; B, homopolimer, iv enjeksiyon; C, kopolimer, ip enjeksiyon; D, kopolimer, iv enjeksiyon.; E, Pozitif kontrol olarak nanoparçacık kullanılmadan doğrudan kanser ilacının kuyruk venine verildiği gruptur. Ölçek çubuğu, 200 µm.)

Model oluşturulduktan sonra ilaç yüklü nanoparçacıkların tümör modeli üzerindeki etkileri incelenmiştir. Alginat oldukça sıkı bir matriks olduğundan kanser hücrelerinin ölümü sonrasında bir boyut kaybı gözlemlenmeyecektir. Bu sebeplerden ötürü canlılık testleri implant çıkarıldıktan sonra test edilmiştir. İlaç uygulaması sonrasında model ve kanser hücreleri iyi durumda, morfolojileri bozulmadan, durmaktadırlar (Şekil 28). Canlılık boyamasından sonra hücrelerdeki ciddi canlılık gözlemlendi. Doğrudan nanoparçacıkların temas etmediği tümör modelinde parçacıklardan salınan kanser ilacı ile canlılıkları azalmıştır (Şekil 29). Canlılıktaki bu azalma enkapsülasyon içerisindeki difüzyonun olası

engellenmesi/zorlaşması sebebiyle değil ilaç etkisiyle olduğu ilaç uygulanmamış olan negatif gruplarda gözlemlenmektedir (Şekil 29 C.F).

(Şekil 28: Kanser ilacı sonrasında hücrelerin görüntüleri. Farklı nanopartiküller ile birlikte inkübe edildikten sonra DU145 (A-C) ve MCF7 (D-F) hücrelerinin kapsül içerisindeki durumları gösterilmiştir. A,D: kopolimer; B,E: homopolimer; C,F: nanoparçacık ya da kanser ilacı verilmemiş deney grubu (negatif grup). Ölçek çubuğu, 200 μm.)

(Şekil 29: İlaç uygulaması sonrasında alginat içerisindeki hücrelerin canlılık durumu. DU145 hücreleri (A-C) ve MCF7 hücreleri (D-F) calcein a/ethidium homodimer boyası ile boyanarak canlılıkları görsel olarak karşılaştırıldı. Yeşil boyanma canlı hücreleri gösterirken kırmızı boyanma ortamdaki ölü hücreleri göstermektedir. A,D: kopolimer; B,E: homopolimer; C,F: nanoparçacık ya da kanser ilacı verilmemiş deney grubu (negatif grup). Ölçek çubuğu, 200 μm.)

Canlılık testi ile ilaç yüklü nanoparçacıkların paklitaksel uygulamasına göre ne kadar etkili olduğu karşılaştırılmıştır (Şekil 30). İlaç uygulanmamış gruplara göre nanoparçacıklar içeren ortamlarda istatistiksel olarak belirgin oran hücre sayısı düşmüştür ($p<0,01$). Bu düşme nanoparçacıklardan salınan ilacın etkisiyle olup temas olmadığından polimerlerin temas ile öldürmesi söz konusu değildir. Ancak nanoparçacıkların kullanılmadığı ilaç uygulamalarına (pozitif kontrol) göre de nanoparçacıklar DU145 kültüründe daha etkili olduğu ($p<0,05$) bulunmuşken MCF7'deki bu etki pozitif kontrol ile benzer olduğu görülmüştür.

(Şekil 30. İlaç yüklü nanoparçacıklarla canlılık testi (WST-1). DU145 hücreleri nanopartiküllerden en çok etkilenen grup olduğu gözlemlendi (A). İlaç eklenmemiş (negatif) grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0,01$) çıkmıştır (*). İlaç eklenmiş, nanoparçacık eklenmemiş (pozitif) grupta ise fark (°) yine belirgin derecede yüksektir ($p<0,01$). MCF7 hücreleri ise buna karşın biraz farklı sonuçlar vermişlerdir. Negatif kontrole göre fark belirgindir ($p<0,01$). Pozitif

kontrole göre kopolimerde fark yüksek iken ($p<0,05$) homopolimer ile pozitif kontrol arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.)

Sonuç olarak; nanoparçacıklar ilaç salımını başarıyla gerçekleştirip her iki kanser hücrelerinin sayılarını başarıyla azaltmıştır. Bu azalmanın normal ilaç uygulamasından farklı olarak yavaş salınması, serum içerisinde kısa süre stabilitesi olan bu ilacın daha etkin olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Canlı hayvan içerisinde nanoparçacıkların tümör modeline yönelmesi ve model içerisindeki kanser hücrelerinin sayılarını azaltmasıyla kanser tedavisinde etkin bir şekilde kullanılabileceği bu çalışmada gösterilmiştir. MCF7 hücrelerine göre kopolimerin homopolimerden daha iyi bir nanoparçacık olduğu kültür ve canlı hayvan çalışmalarında gösterildi. Ancak homopolimerin biyo-uyumluluğu kopolimere göre biraz daha iyi desteklemesi bir avantaj gibi görünse de belirgin bir fark yoktur. Nitekim canlı hayvanlardaki makroskobik gözleme göre her iki materyalin olumsuz etkilerinin olduğu gözlemlenmemiştir.

Referanslar

Bender, J. L., Corbin, P. S., Fraser, C. L., Metcalf, D. H., Richardson, F. S., Thomas, E. L., Urbas, A. M. 2002. "Site-isolated luminescent europium, complexes with polyester macroligands: Metal-centered heteroarm stars and nanoscale assemblies with labile block junctions", Journal of the American Chemical Society, 124 (29), 8526-8527.

Brouwer, A. M., Bakker, N. A. C., Wiering, P. G., Verhoeven, J. W. 1991. "Highly Solvatochromic Emission of Electron Donor-Acceptor Compounds Containing Propanedioato Boron Electron Acceptors", Journal of the Chemical Society-Chemical Communications,16, 1094-1096.

Bueno, M., Molina, I., Galbis, J. A. 2009. "1,4-Dioxane-2,5-dione-type monomers derived from L-ascorbic and D-isoascorbic acids. Synthesis and polymerisation", Carbohydrate Research, 344, 2100-2104.

Chow, Y. L., Johansson, C. I., Zhang, Y., Gautron, R., Yang, L., Rassat, A., Yang, S. 1996. "Spectroscopic and electrochemical properties of 1,3-diketonatoboron derivatives", Journal of Physical Organic Chemistry, 9 (1), 7-16.

Cogne-Laage, E., Allemand, J. F., Ruel, O., Baudin, J. B., Croquette, V., Blanchard-Desce, M., Jullien, L. 2004. "Diaroyl(methanato)boron Difluoride Compounds as Medium-Sensitive Two-Photon Fluorescent Probes", Chemistry A-European Journal, 10 (6), 1445-1455.

Gorelik, E., Ovejera, A., Shoemaker, R., Jarvis, A., Alley, M., Duff, R., Mayo, J., Herberman, R., Boyd, M. 1987. "Microencapsulated tumor assay: new short-term assay for in vivo evaluation of the effects of anticancer drugs on human tumor cell lines", Cancer Res, 47 (21), 5739-5747.

Halik, M., Wenseleers, W., Grasso, C., Stellacci, F., Zojer, E., Barlow, S., Bredas, J. L., Perry, J. W., Marder, S. R. 2003. "Bis(dioxaborine) compounds with large two-photon cross sections, and their use in the photodeposition of silver", Chemical Communications, 13, 1490-1491.

Ikada, Y., Tsuji, H. 2000. "Biodegradable polyesters for medical and ecological applications", Macromolecular Rapid Communications, 21, 117-132.

Kersey, F. R., Zhang, G., Palmer, G. M., Dewhirst, M. W., Fraser, C. L. 2010. "Stereocomplexed Poly(lactic acid)Poly(ethylene glycol) Nanoparticles with Dual-Emissive Boron Dyes for Tumor Accumulation", ACS Nano, 4 (9), 4989-4996.

Müller, J., Feifel, S. C., Schmiederer, T., Zocher, R., Süssmuth, R. D. 2009. "In vitro Synthesis of New Cyclodepsipeptides of the PF1022-Type: Probing the α-D-Hydroxy Acid Tolerance of PF1022 Synthetase", Chembiochem, 10 (2), 323-328.

Ono, K., Yoshikawa, K., Tsuji, Y., Yamaguchi, H., Uozumi, R., Tomura, M., Taga, K., Saito, K. 2007. "Synthesis and photoluminescence properties of BF_2 complexes with 1,3-diketone ligands", Tetrahedron, 63 (38), 9354-9358.

Pfister, A., Zhang, G., Zareno, J., Horwitz, A. F., Fraser, C. L. 2008. "Boron Polylactide Nanoparticles Exhibiting Fluorescence and Phosphorescence in Aqueous Medium", ACS Nano, 2 (6), 1252-1258.

Yin, M., Baker, G. L. 1999. "Preparation and Characterization of Substituted Polylactides", Macromolecules, 32 (23), 7711-7718.

Zhang, G., Chen, J., Payne S. J., Kooi, S. E., Demas, J. N., Fraser, C. L. 2007. "Multi-emissive difluoroboran dibenzoylmethane polylactide exhibiting intense fluorescence and oxygen-sensitive room-temperature phosphorescence", Journal of the American Chemical Society, 129(29), 8942-8943.

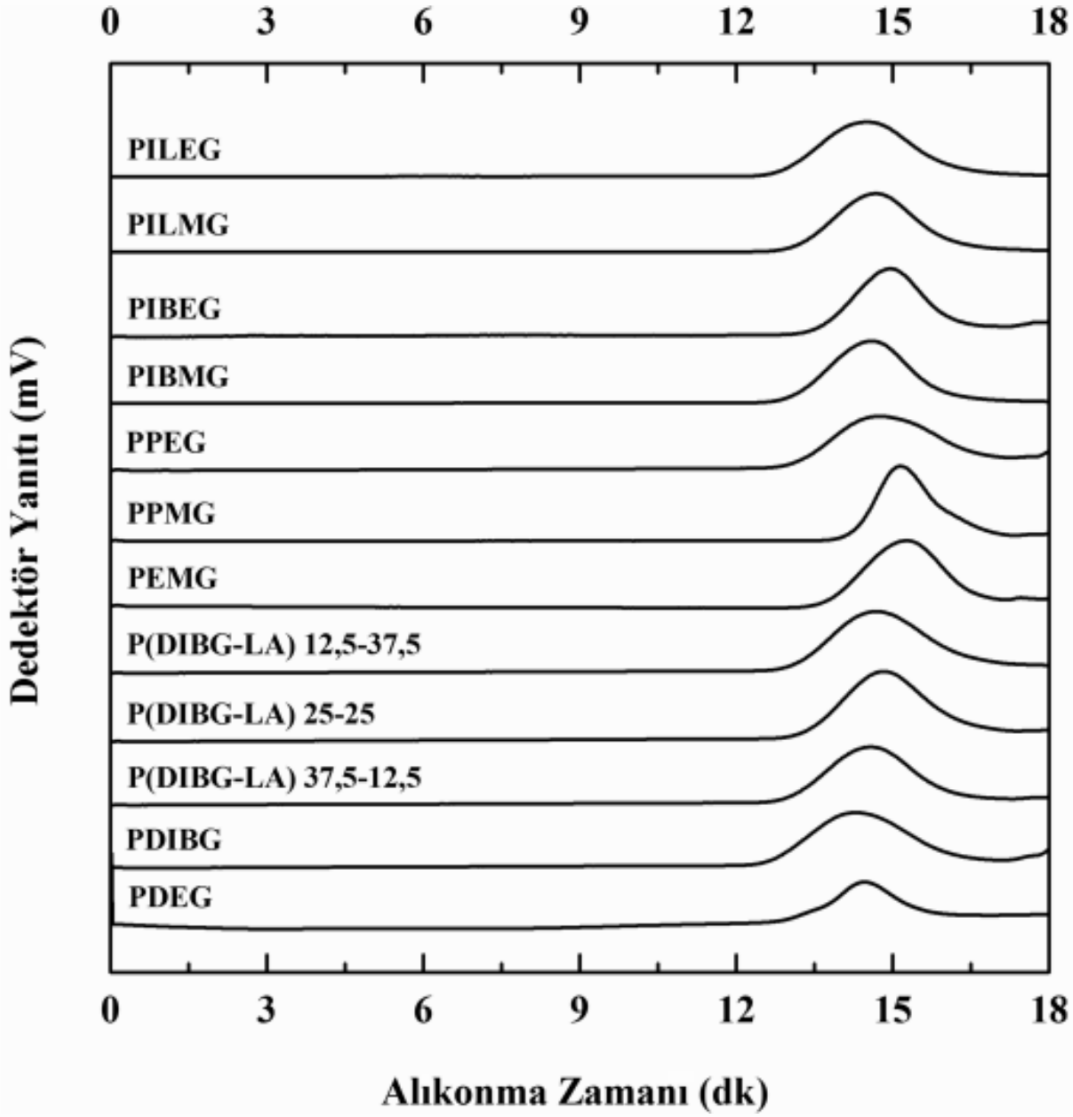
Zhang, G., Evans, R. E., Campbell, K. A., Fraser, C. L. 2009a. "Role of Boron in the Polymer Chemistry and Photophysical Properties of Difluoroboron-Dibenzoylmethane Polylactide", Macromolecules, 42 (22), 8627-8633.

Zhang, G., St. Clair, T. L., Fraser, C. L. 2009b. "Synthesis and Fluorescent Properties of Difluoroboron Dibenzoylmethane Polycaprolactone", Macromolecules, 42 (8), 3092-3097.

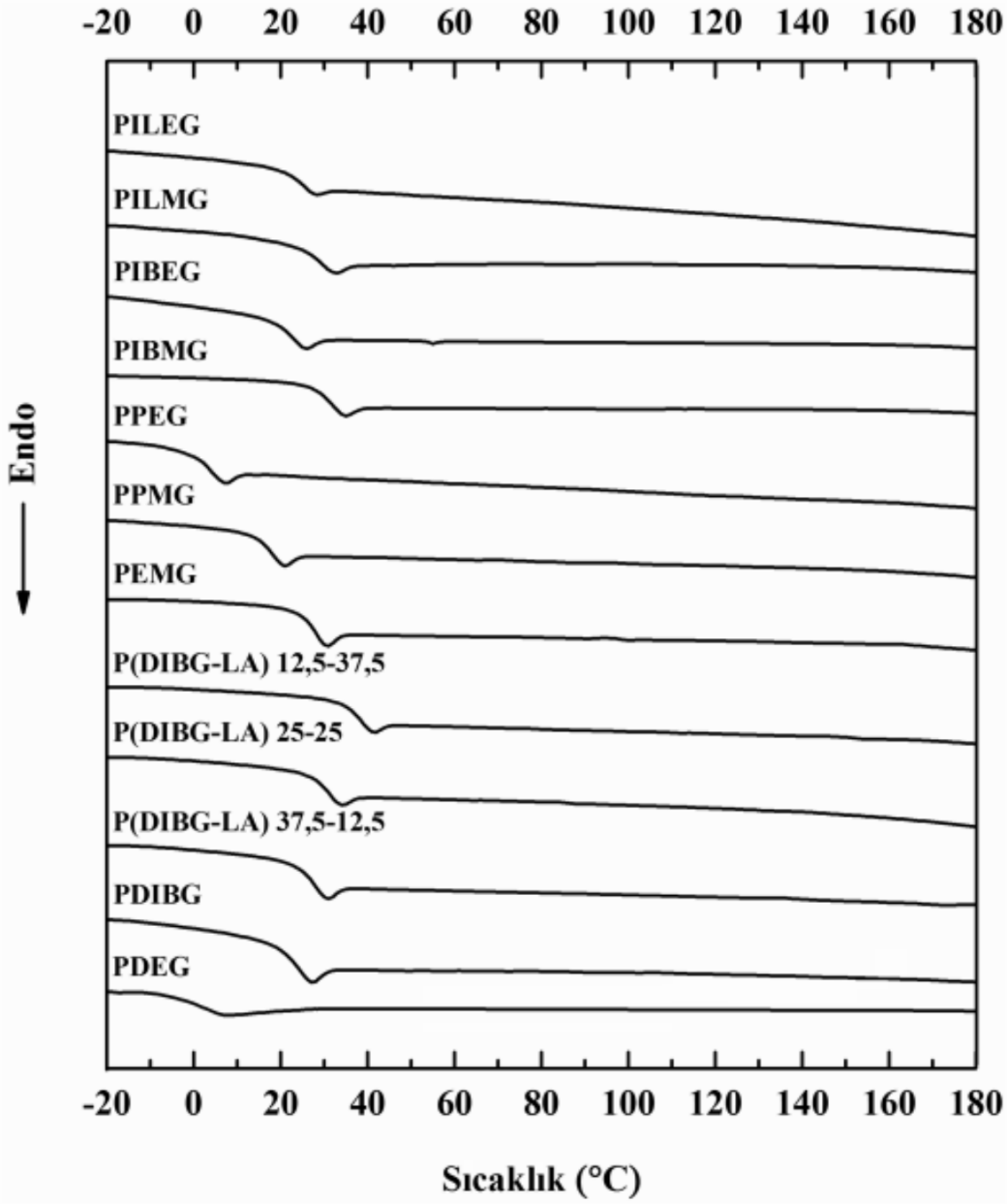
Zhang, G., Fiore, G. L., St. Clair, T. L., Fraser, C. L. 2009c. "Difluoroboron Dibenzoylmethane PCL-PLA Block Copolymers: Matrix Effects on Room Temperature Phosphorescence", Macromolecules, 42 (8), 3162-3169.

Zhang, G., Singer, J. P., Kooi, S. E., Evans, R. E., Thomas, E. L., Fraser, C. L. 2011. "Reversible solid-state mechanochromic fluorescence from a boron lipid dye" Journal of Materials Chemistry, 21 (23), 8295-8299.

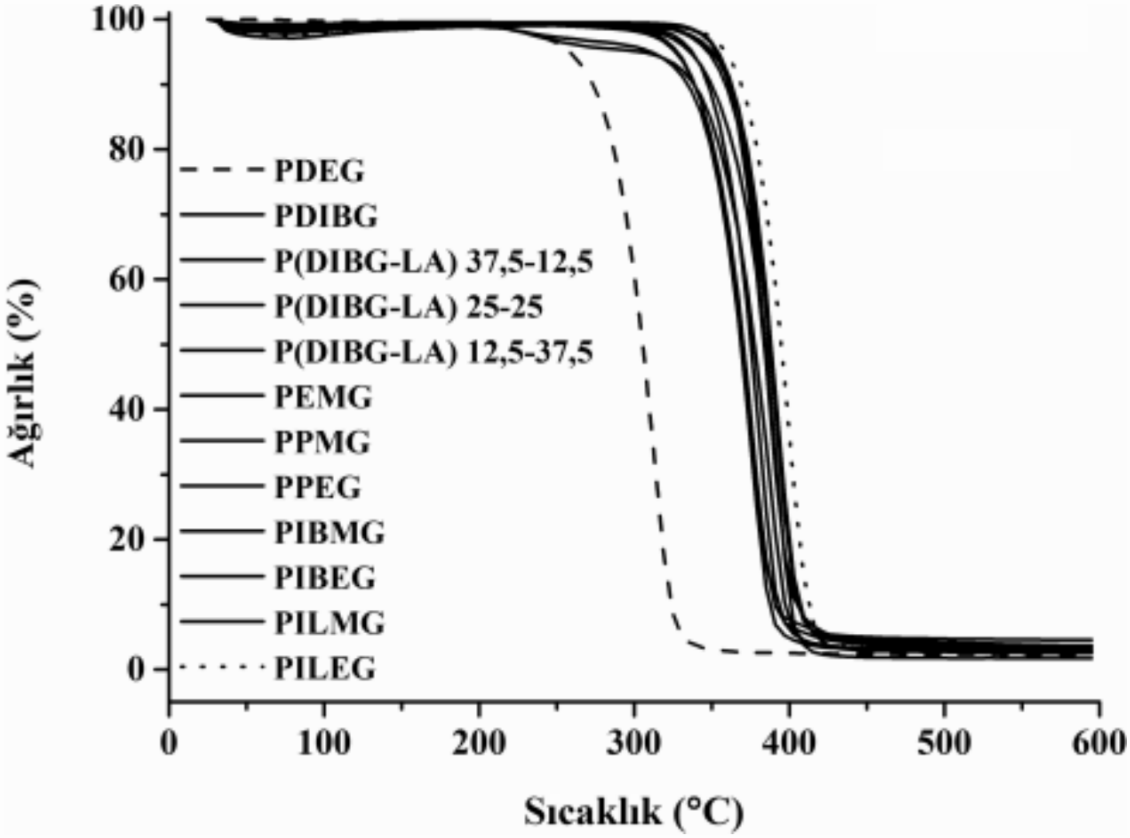
Şekil 1


0
3
6
9
12
15
18
PILEG
PILMG
PIBEG
PIBMG
PPEG
PPMG
PEMG
P(DIBG-LA) 12,5-37,5
P(DIBG-LA) 25-25
P(DIBG-LA) 37,5-12,5
PDIBG
PDEG
Dedektör Yanıtı (mV)
Alıkonma Zamanı (dk)

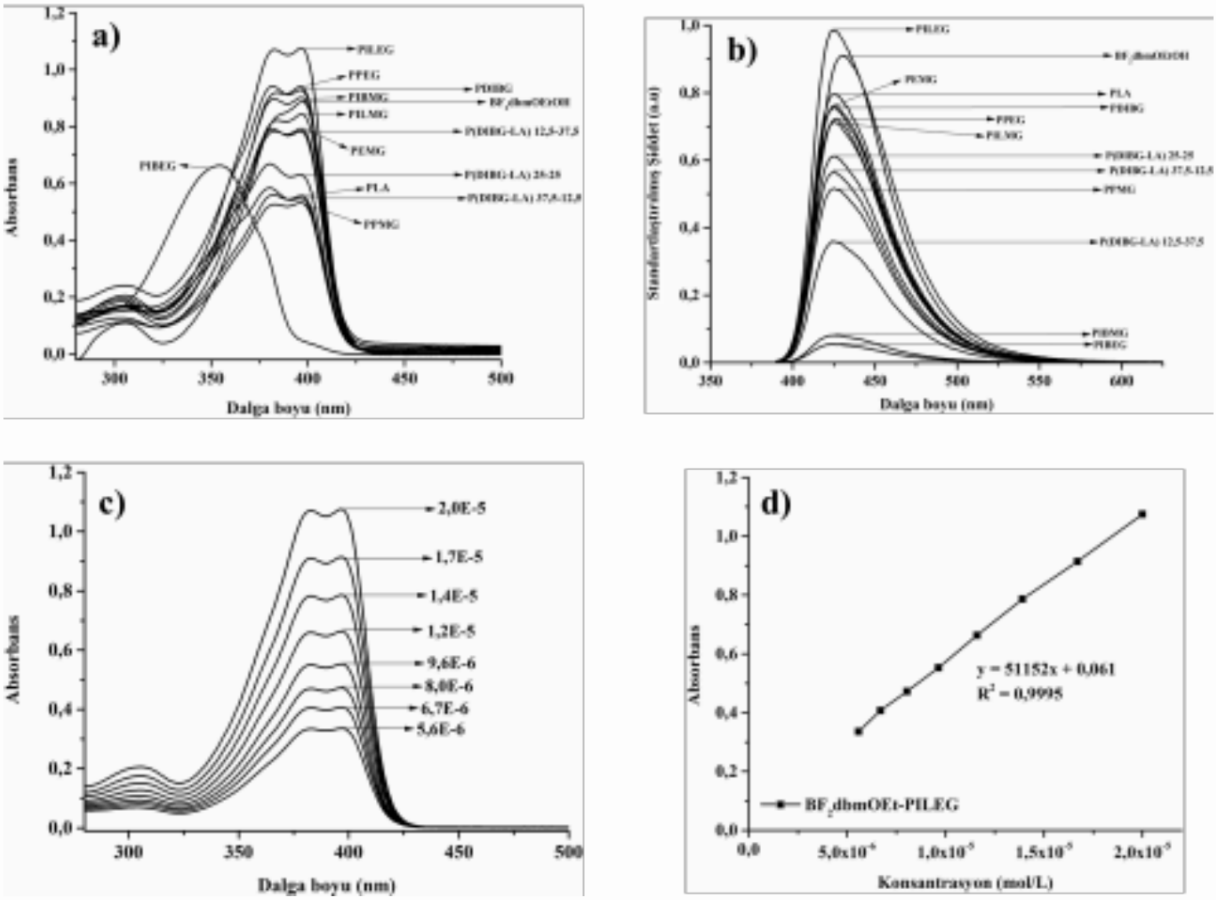
Şekil 2


-20
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
PILEG
PILMG
PIBEG
PIBMG
PPEG
PPMG
PEMG
P(DIBG-LA) 12,5-37,5
P(DIBG-LA) 25-25
P(DIBG-LA) 37,5-12,5
PDIBG
PDEG
Endo
Sıcaklık (°C)

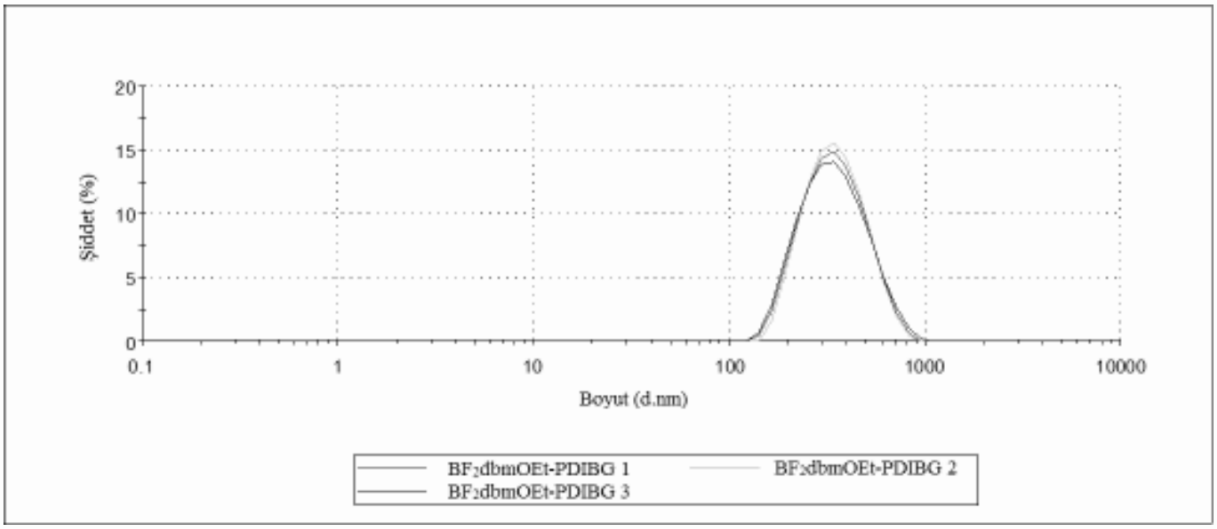
Şekil 3


100
80
60
40
20
0
Ağırlık (%)
0
100
200
300
400
500
600
Sıcaklık (°C)
PDEG
PDIBG
P(DIBG-LA) 37,5-12,5
P(DIBG-LA) 25-25
P(DIBG-LA) 12,5-37,5
PEMG
PPMG
PPEG
PIBMG
PIBEG
PILMG
PILEG

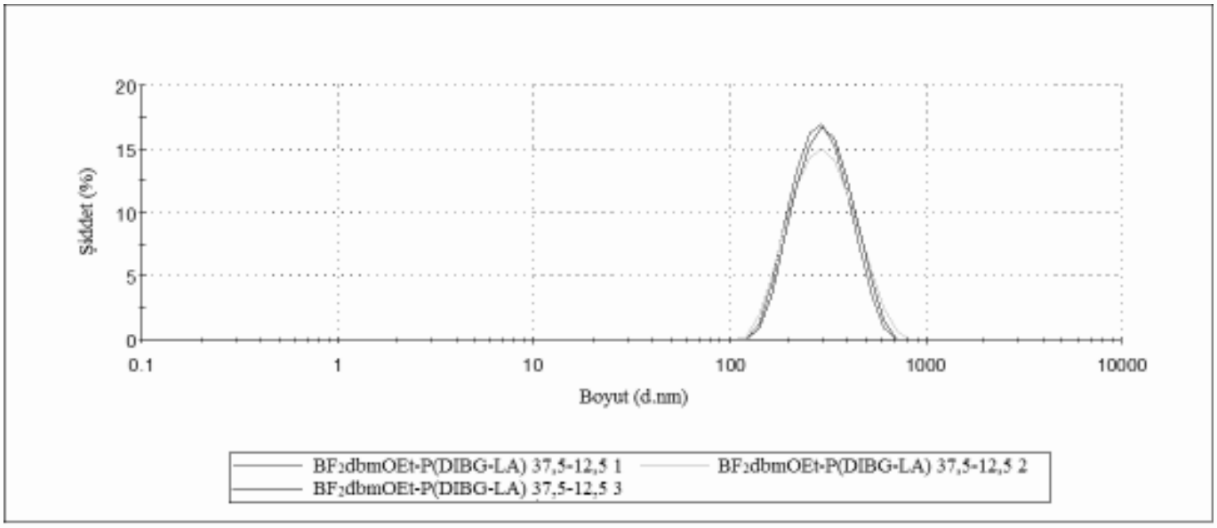
Şekil 4


a)
PILEG
PPEG
PIHBG
PIHMG
PILMG
PEMG
PIHBG
PLA
PPMG
Absorbans
Dalga boyu (nm)
b)
PILEG
PEMG
PLA
PPEG
PPMG
PPMG
PILEG
Standartlaştırılmış Şiddet (a.u)
Dalga boyu (nm)
c)
2,0E-5
1,7E-5
1,4E-5
1,2E-5
9,6E-6
8,0E-6
6,7E-6
5,6E-6
Absorbans
Dalga boyu (nm)
d)
y = 51152x + 0,061
R² = 0,9995
BF2dbmOEt-PILEG
Absorbans
Konsantrasyon (mol/L)

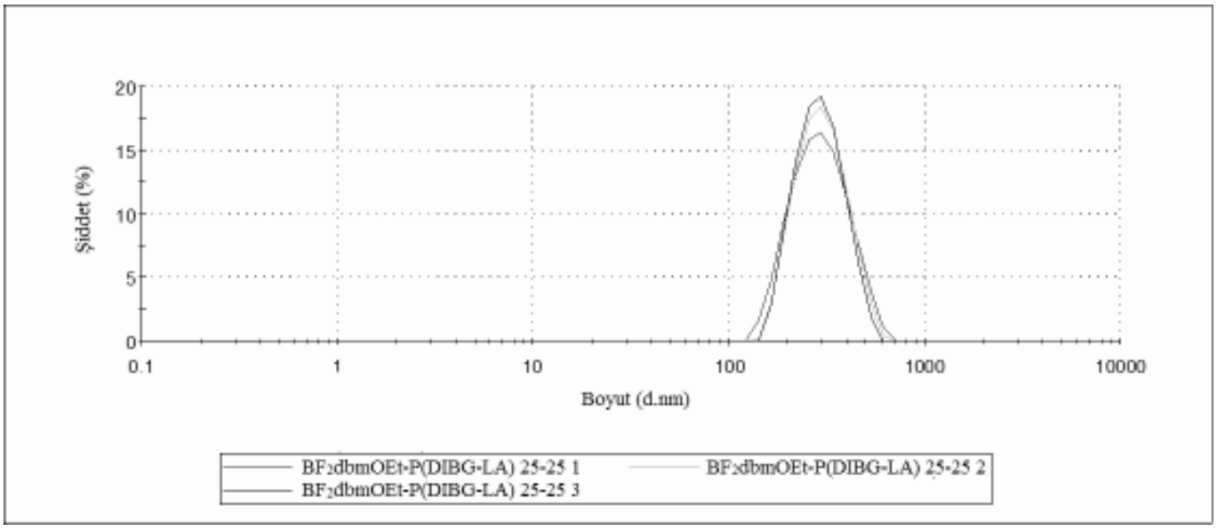
Şekil 5



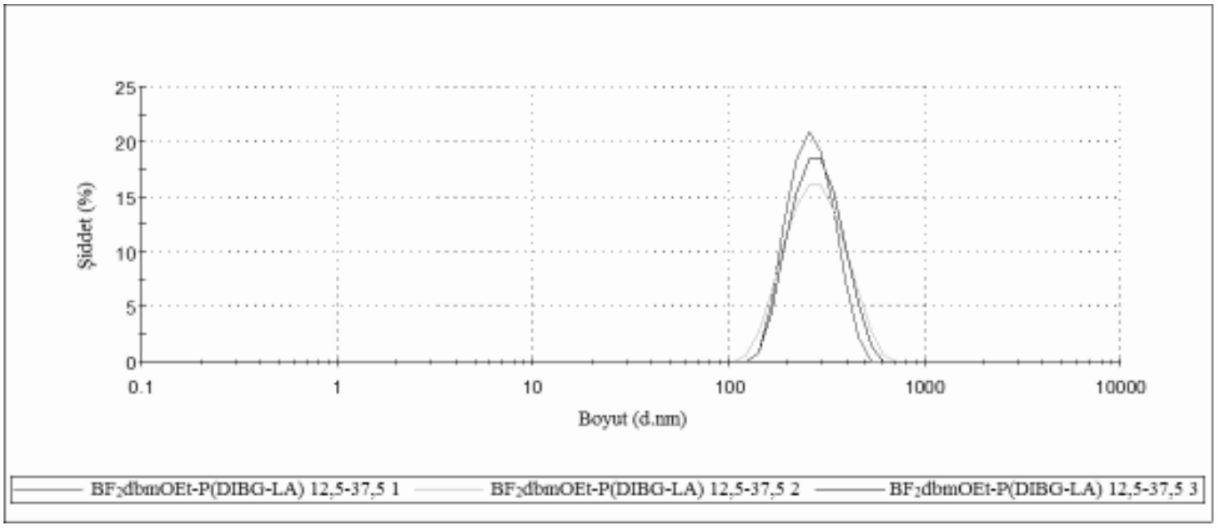
Şekil 6



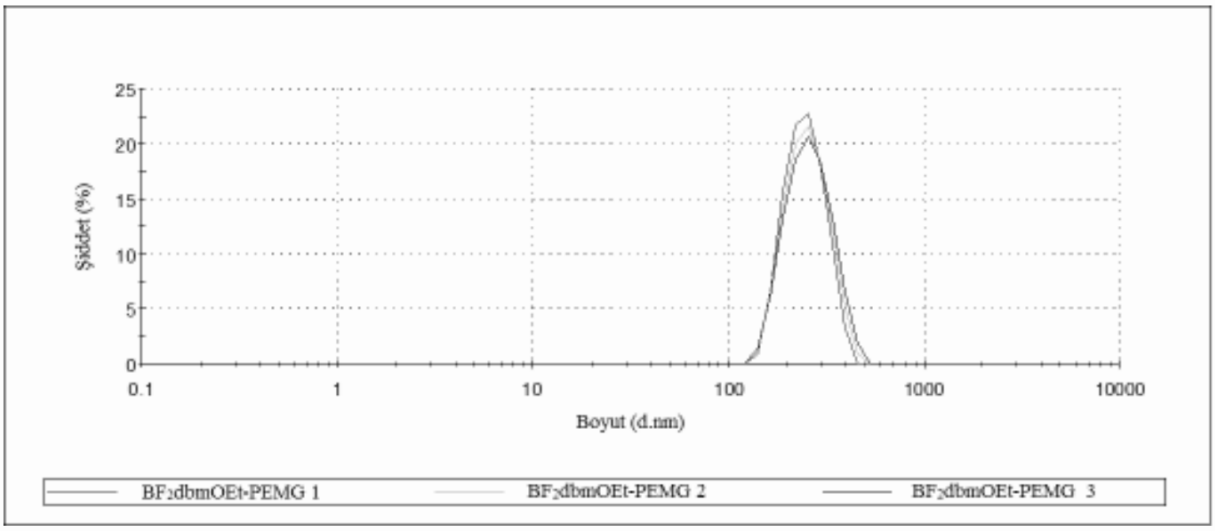
Şekil 7



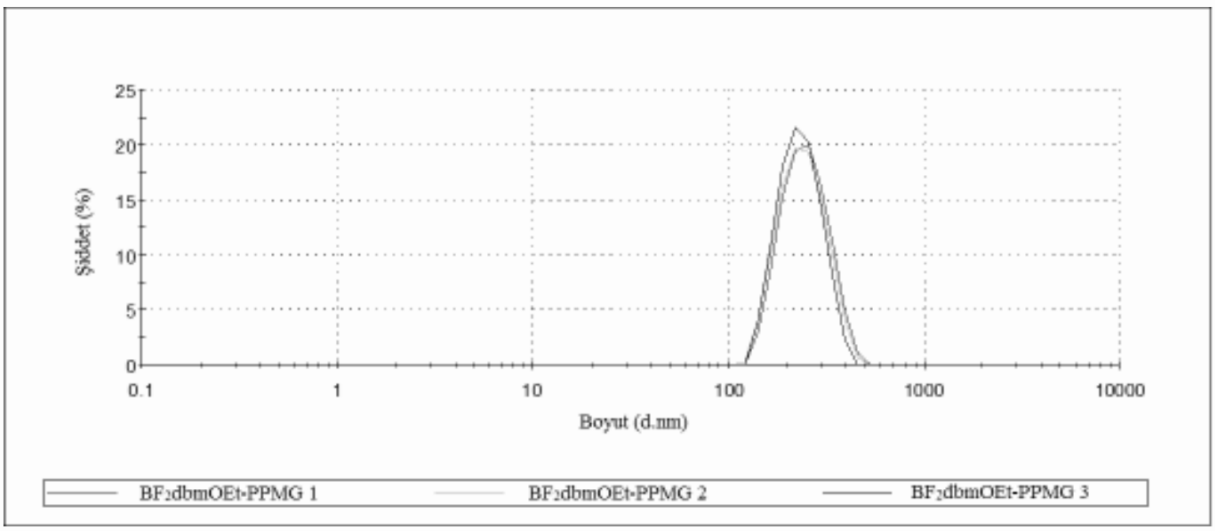
Şekil 8



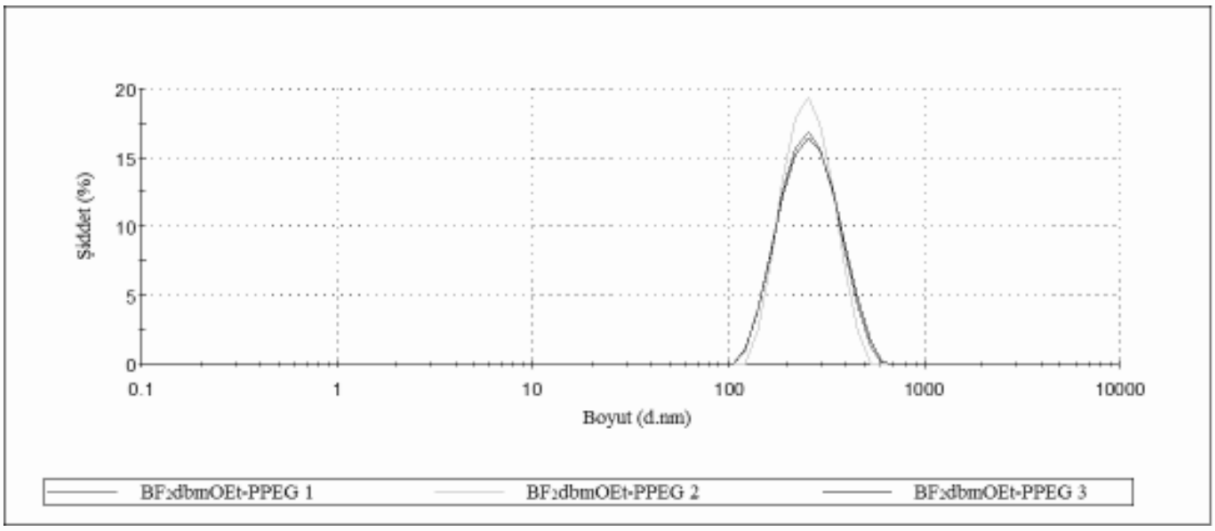
Şekil 9



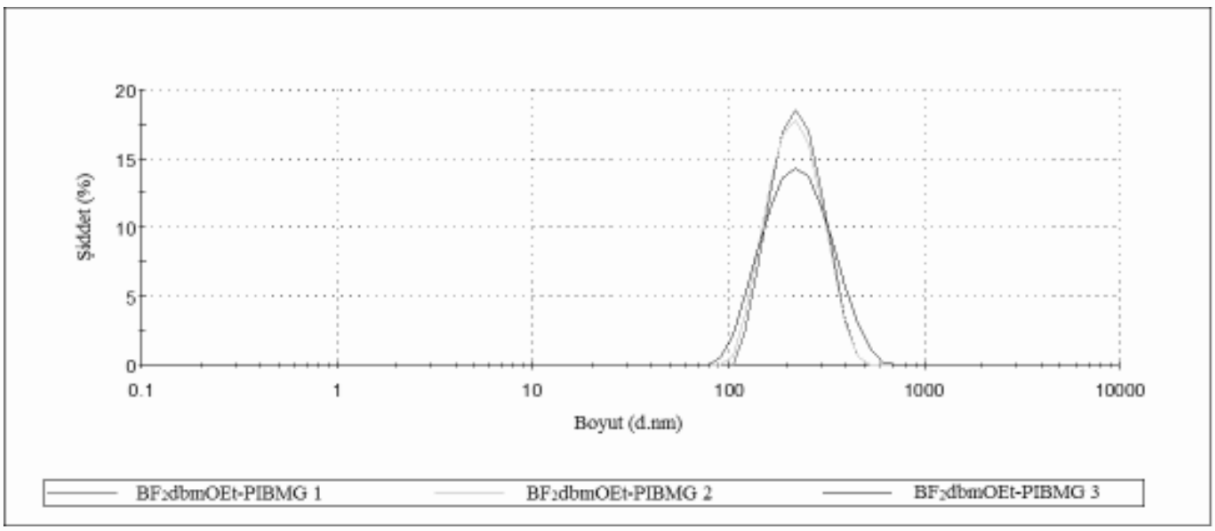
Şekil 10



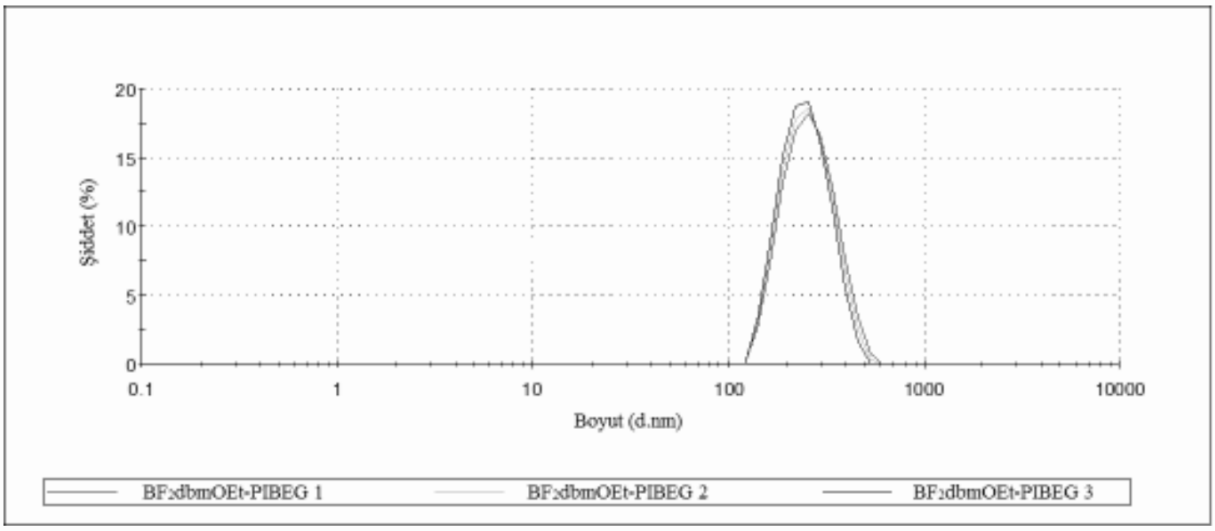
Şekil 11



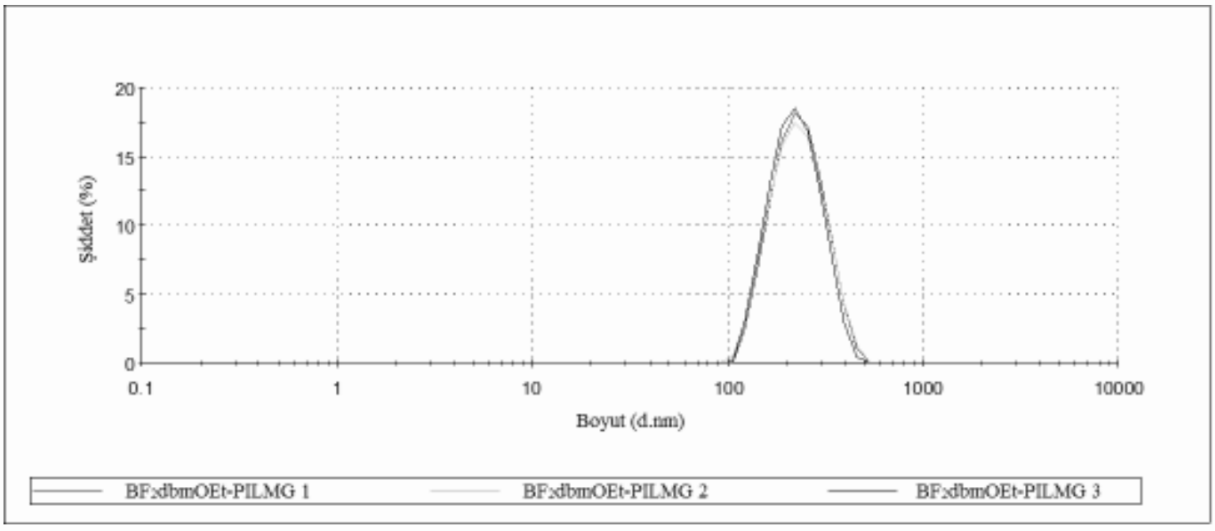
Şekil 12



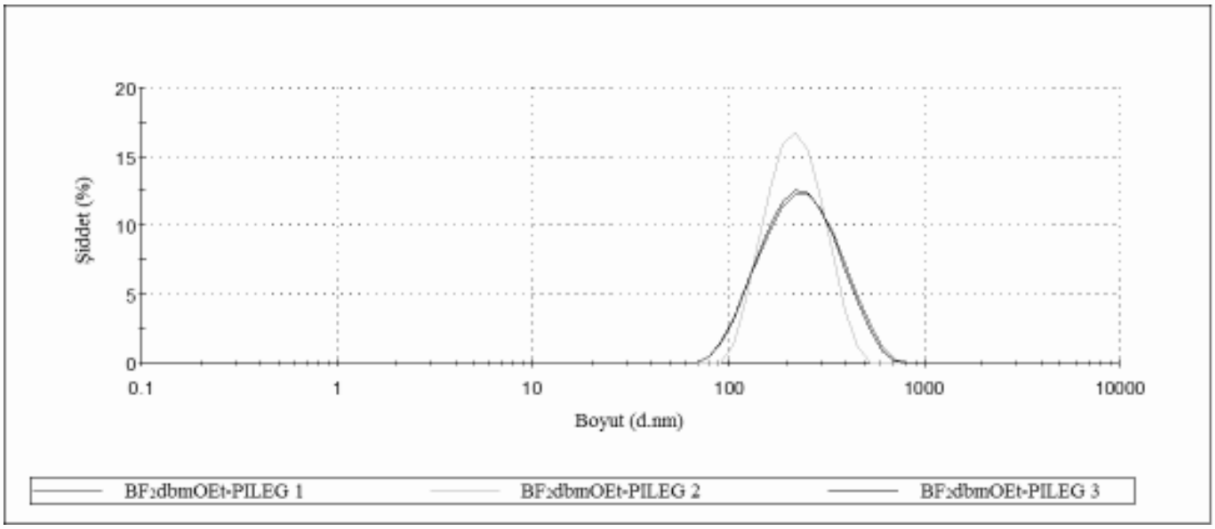
Şekil 13



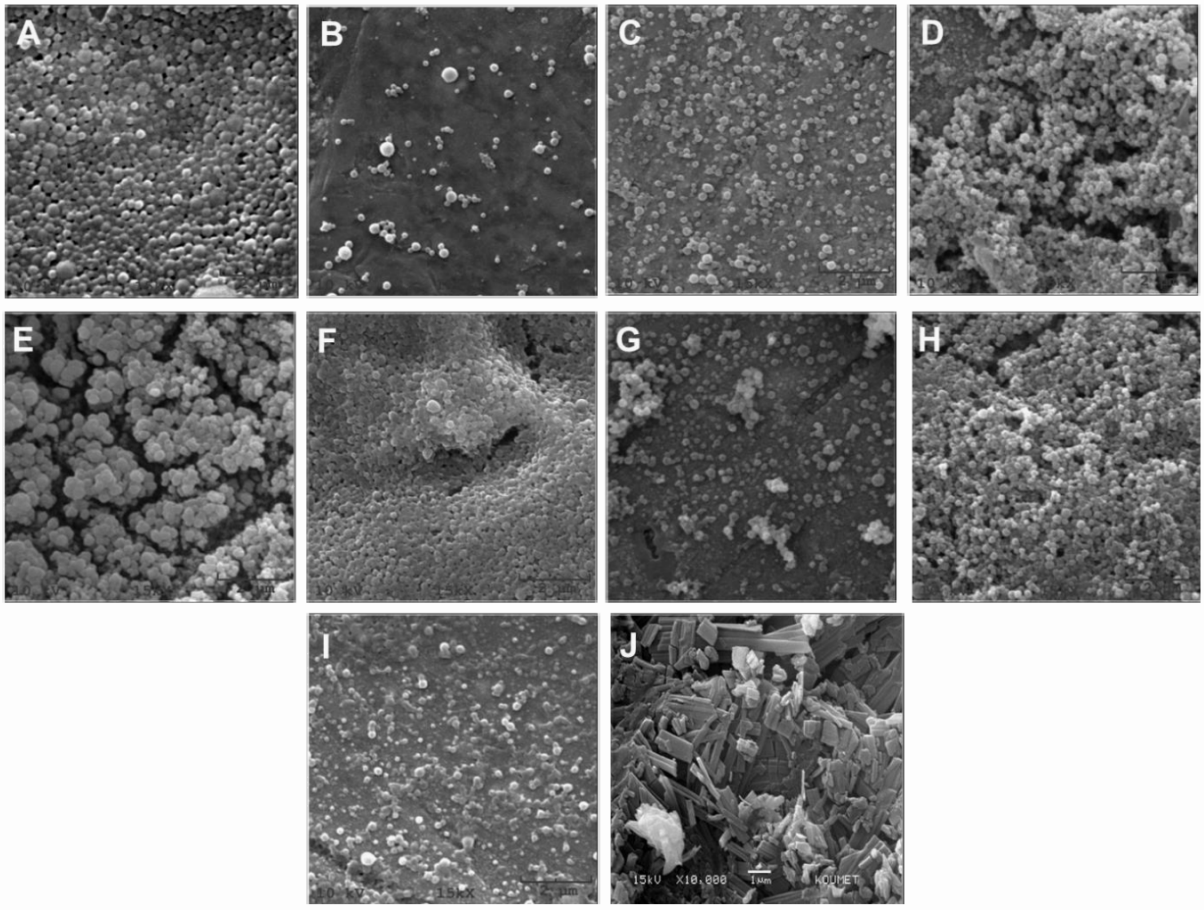
Şekil 14



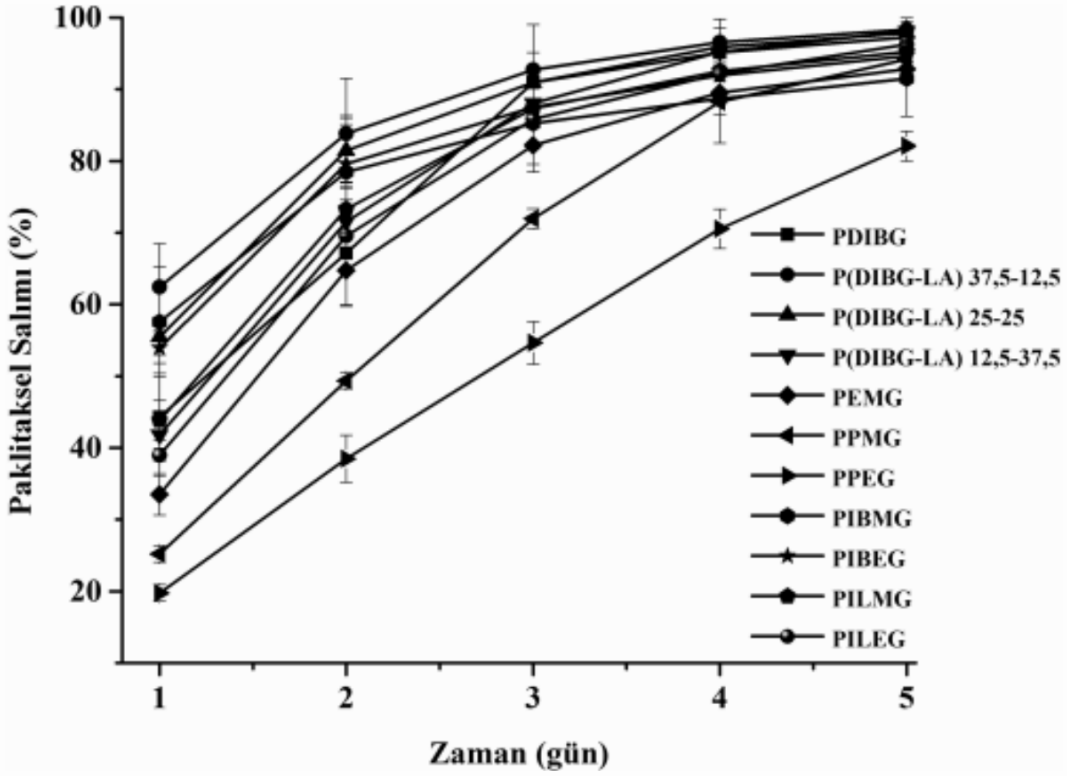
Şekil 15


20
15
10
5
0
Şiddet (%)
0.1
1
10
100
1000
10000
Boyut (d.nm)
BF2dbmOEt-PILEG 1
BF2dbmOEt-PILEG 2
BF2dbmOEt-PILEG 3

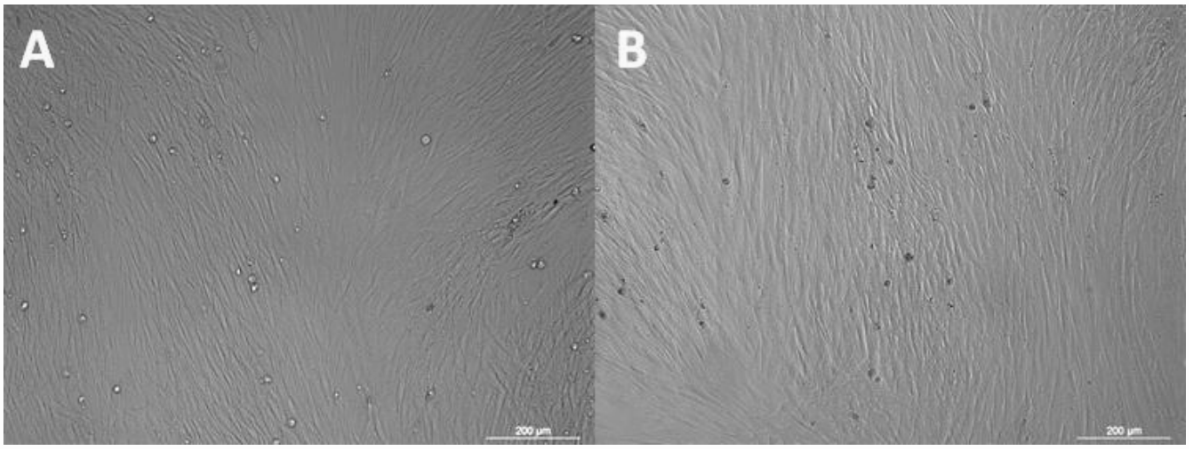
Şekil 16



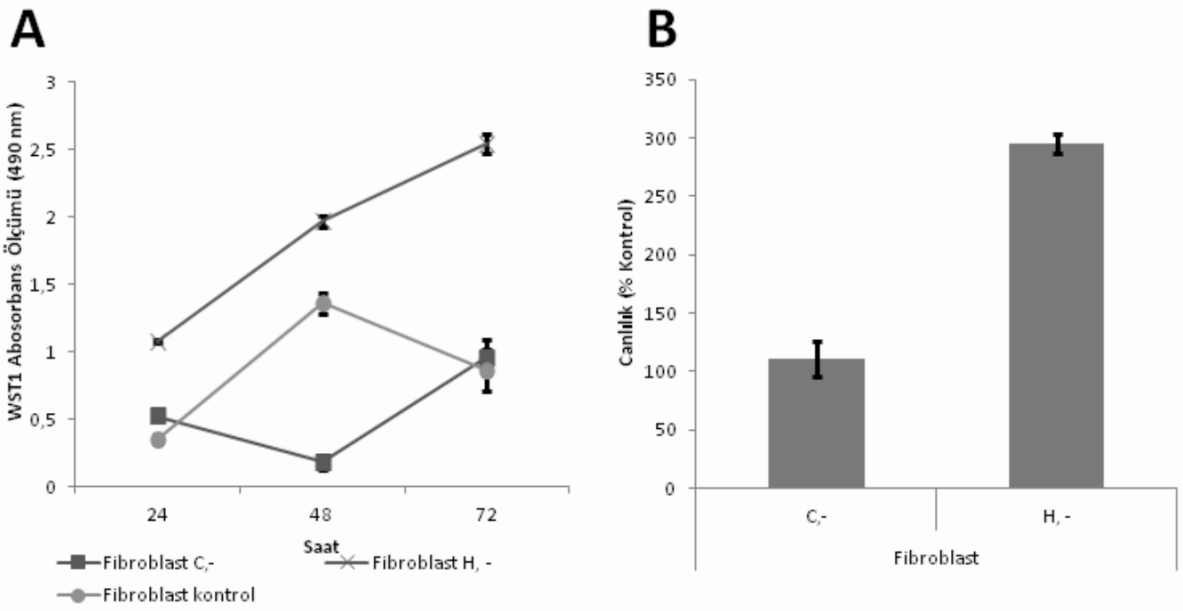
Şekil 17


Paklitaksel Salımı (%)
100
80
60
40
20
1
2
3
4
5
Zaman (gün)
PDIBG
P(DIBG-LA) 37,5-12,5
P(DIBG-LA) 25-25
P(DIBG-LA) 12,5-37,5
PEMG
PPMG
PPEG
PIBMG
PIBEG
PILMG
PILEG

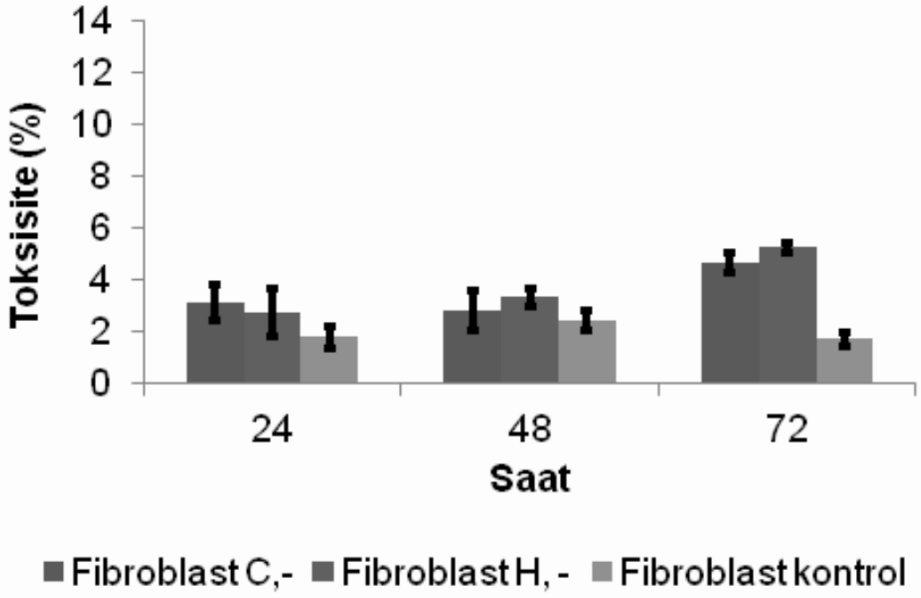
Şekil 18



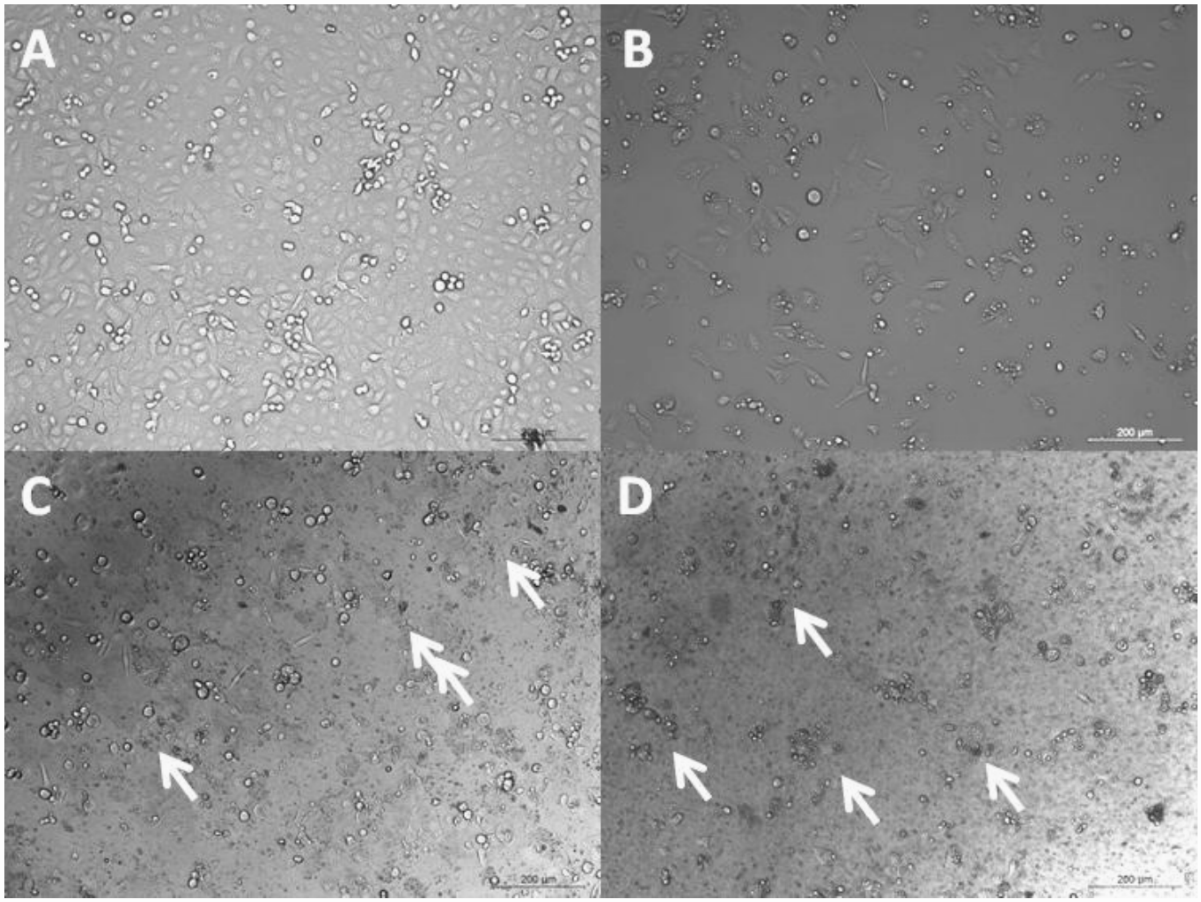
Şekil 19



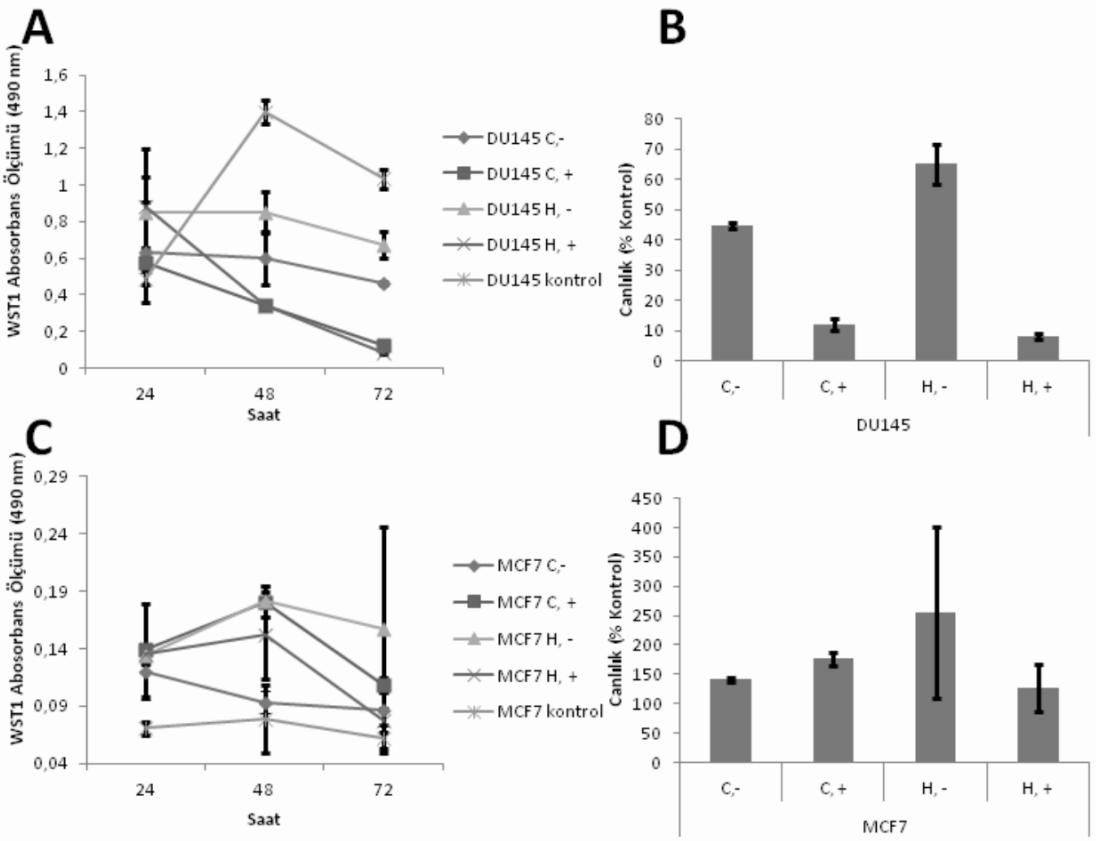
Şekil 20


14
12
10
8
6
4
2
0
Toksisite (%)
24
48
72
Saat
Fibroblast C,-
Fibroblast H, -
Fibroblast kontrol

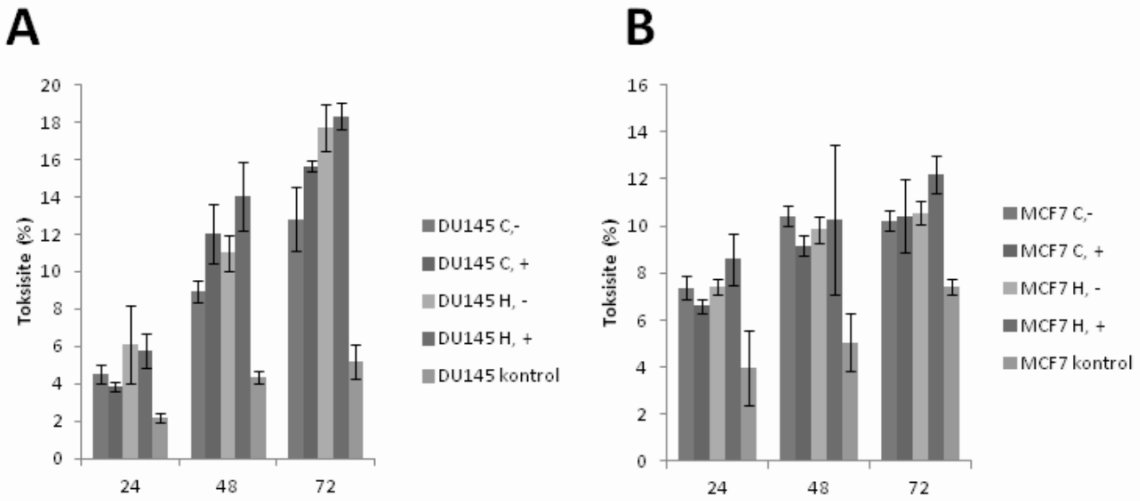
Şekil 21



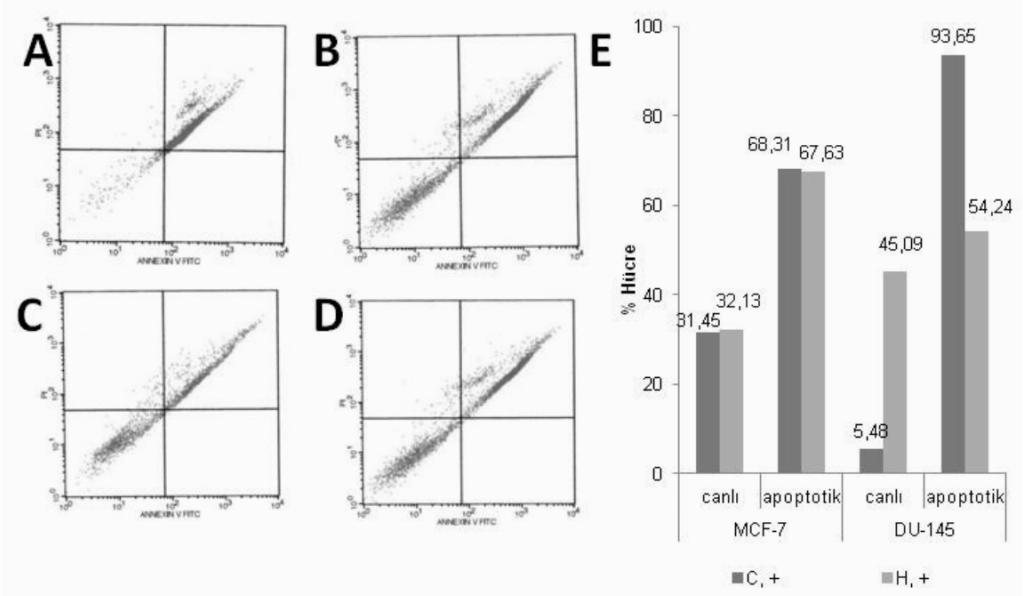
Şekil 22


A
WST1 Absorbans Ölçümü (490 nm)
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
24
48
72
Saat
DU145 C,-
DU145 C, +
DU145 H, -
DU145 H, +
DU145 kontrol
B
Canlılık (% Kontrol)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
C,-
C, +
H, -
H, +
DU145
C
WST1 Absorbans Ölçümü (490 nm)
0,29
0,24
0,19
0,14
0,09
0,04
24
48
72
Saat
MCF7 C,-
MCF7 C, +
MCF7 H, -
MCF7 H, +
MCF7 kontrol
D
Canlılık (% Kontrol)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
C,-
C, +
H, -
H, +
MCF7

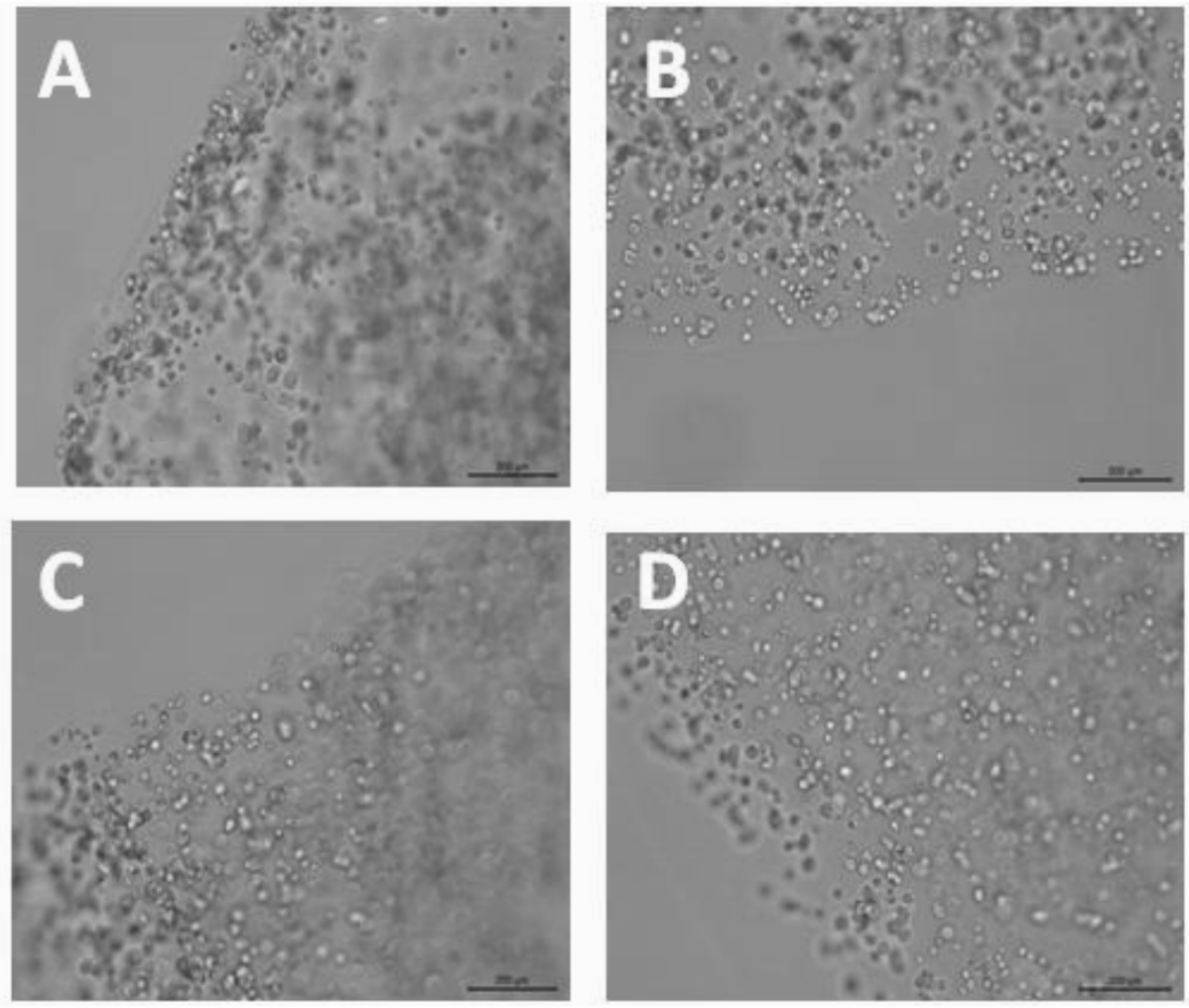
Şekil 23



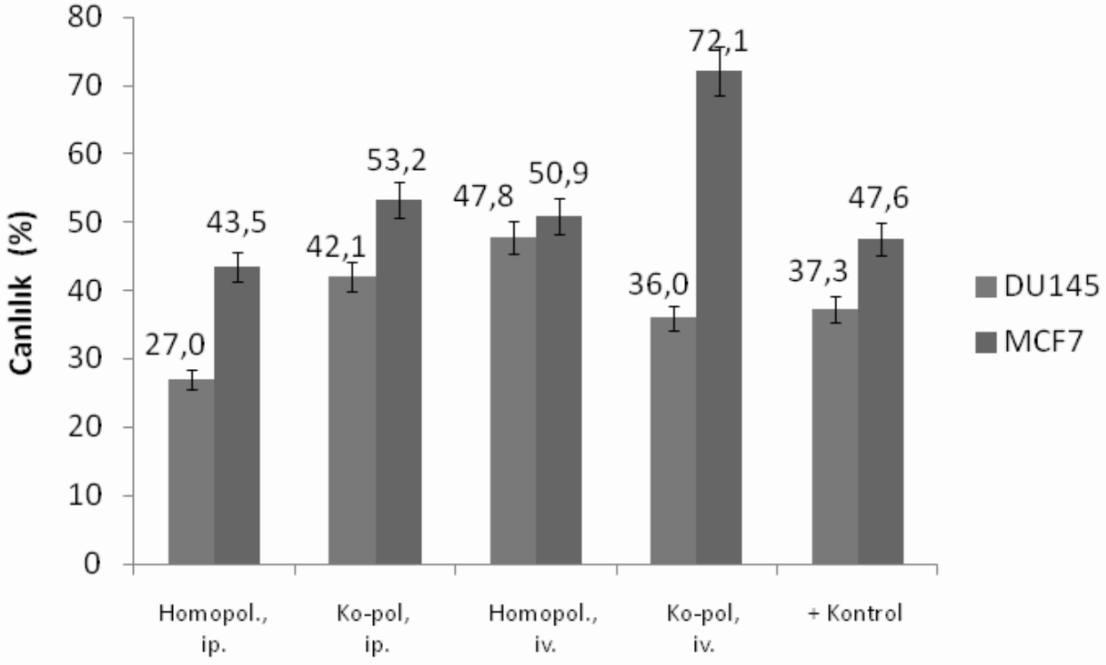
Şekil 24



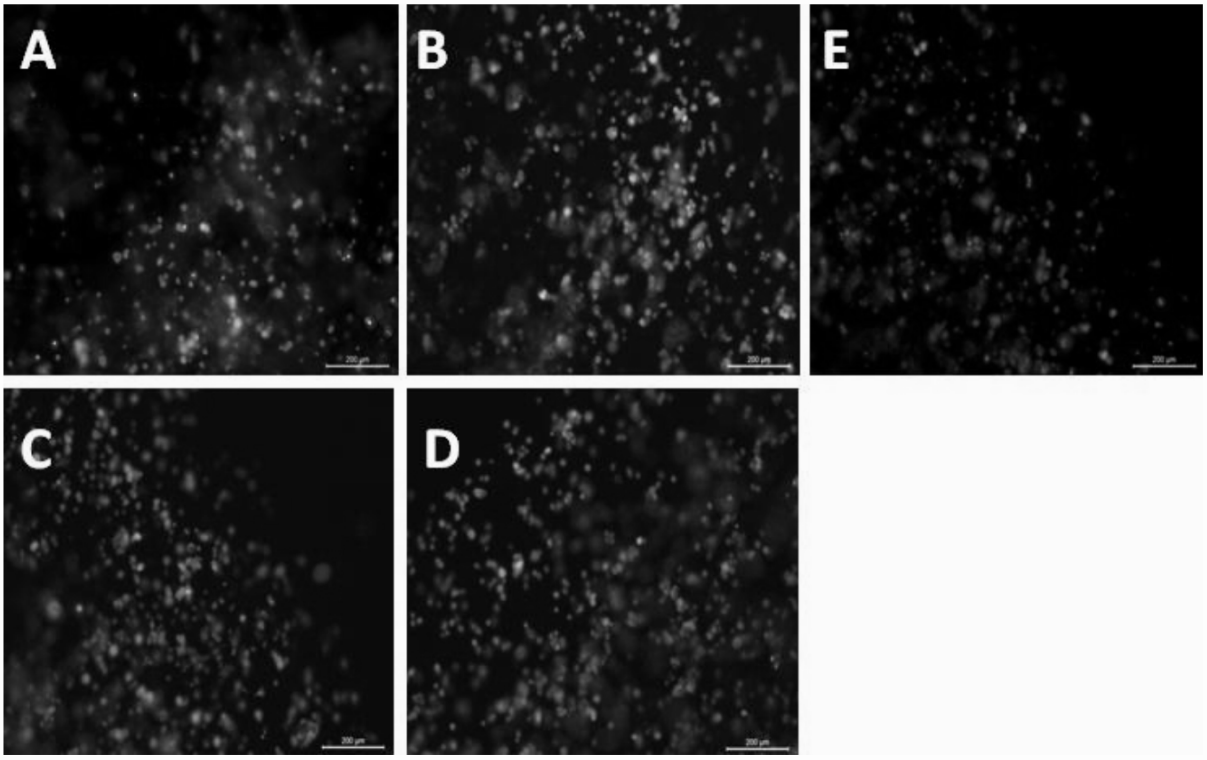
Şekil 25



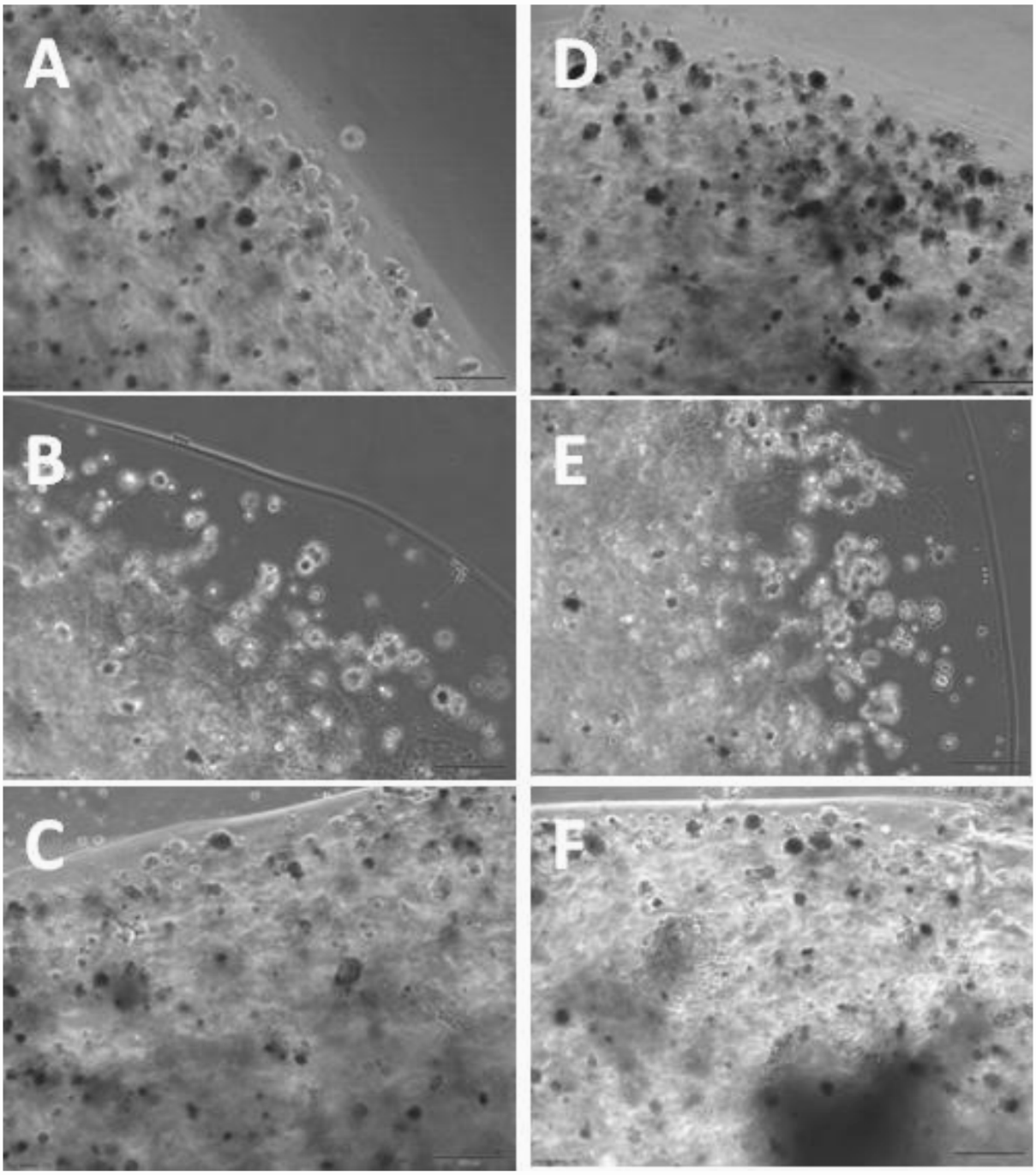
Şekil 26


Canlılık (%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
27,0
43,5
42,1
53,2
47,8
50,9
36,0
72,1
37,3
47,6
Homopol., ip.
Ko-pol, ip.
Homopol., iv.
Ko-pol, iv.
+ Kontrol
DU145
MCF7

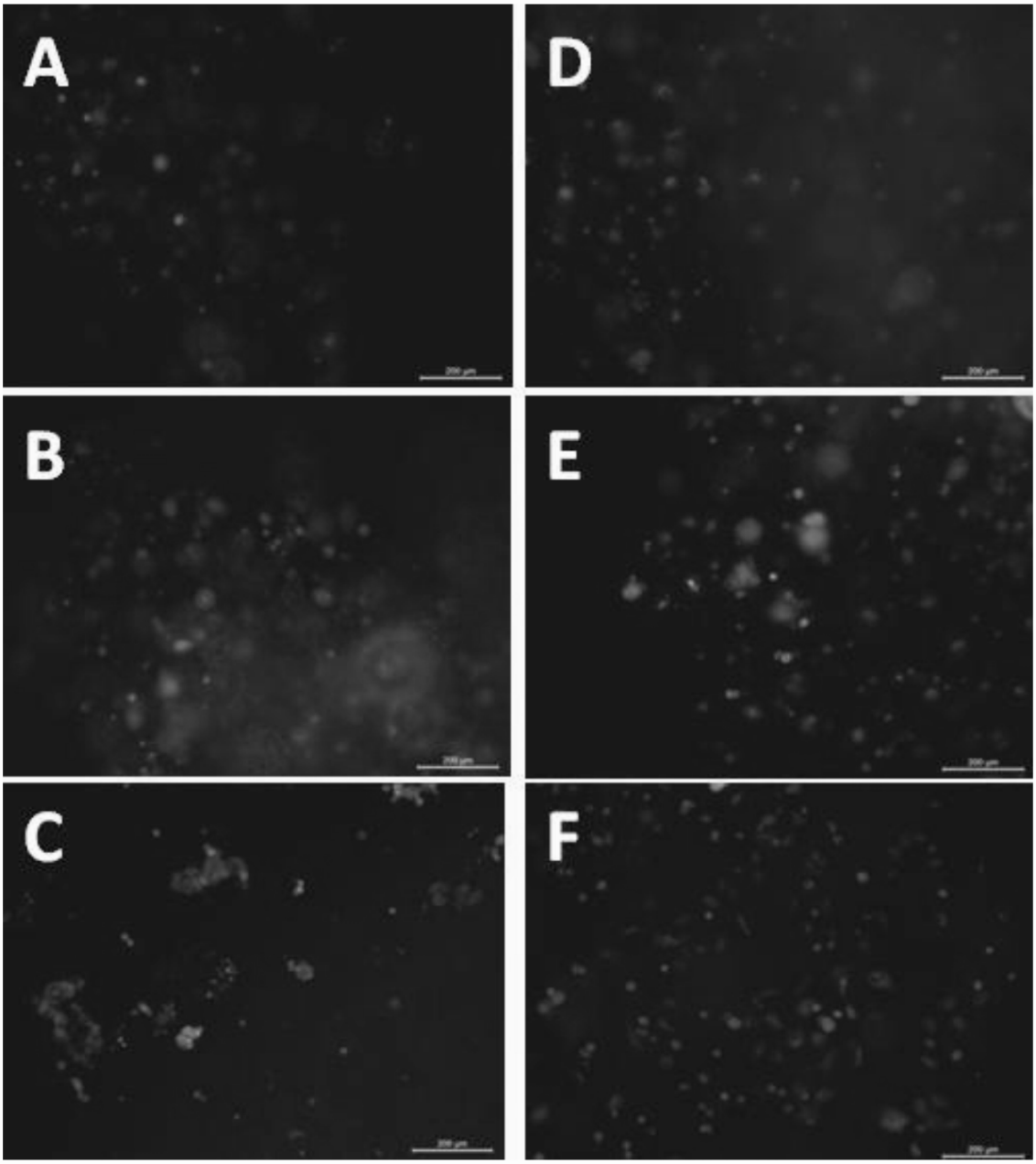
Şekil 27



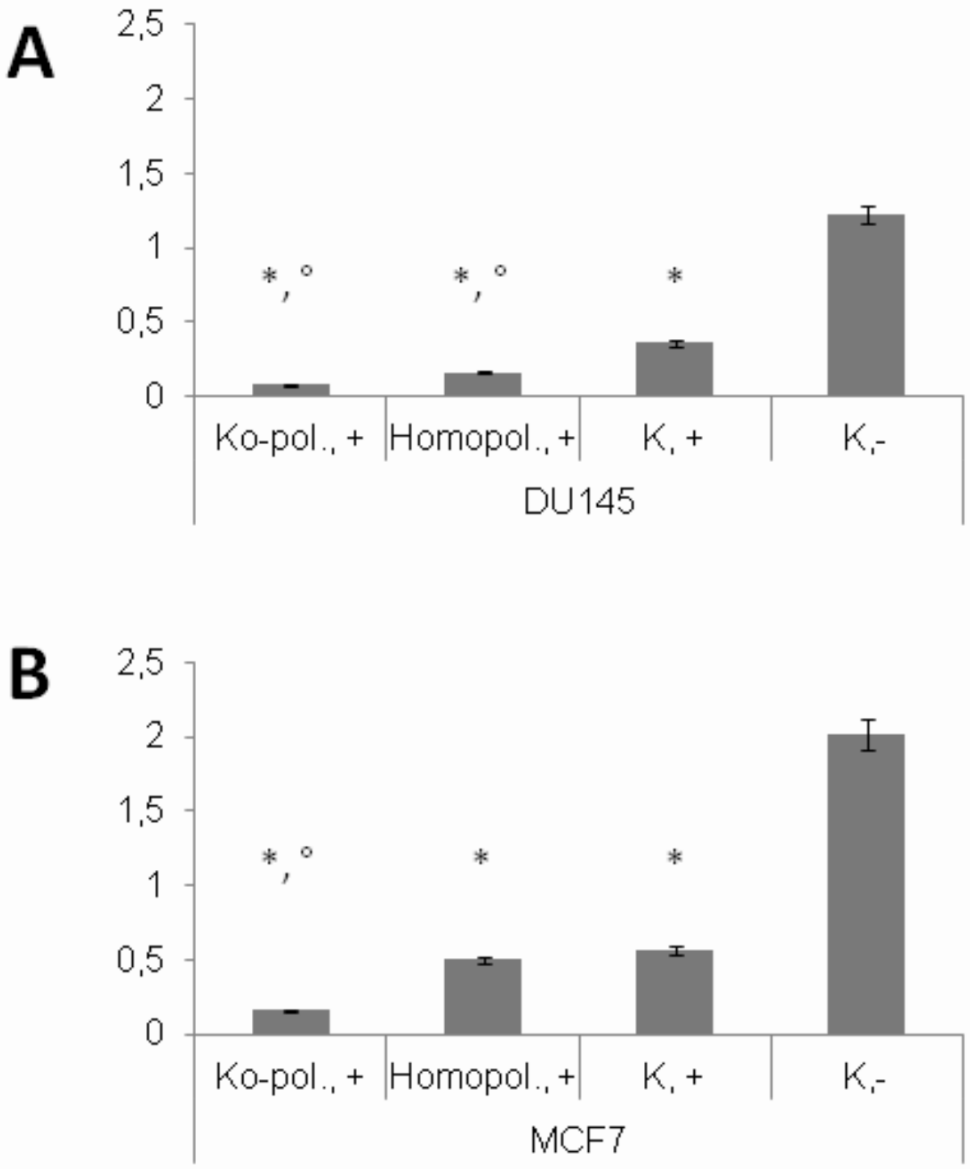
Şekil 28



Şekil 29



Şekil 30


A
2,5
2
1,5
1
0,5
0
*, °
*, °
*
Ko-pol., +
Homopol., +
K, +
K,-
DU145
B
2,5
2
1,5
1
0,5
0
*, °
*
*
Ko-pol., +
Homopol., +
K, +
K,-
MCF7