

Yeni Tip apraz-Bağlı Miselik Yapılar ve Uygulama alışmaları

Agung Ari Wibowo

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Temmuz 2016

Novel Cross-Linked Micellar Structures and Application Studies

Agung Ari Wibowo

**MASTER OF SCIENCE THESIS**

Department of Polymer Science and Technology

July 2016

Yeni Tip apraz-Bağlı Miselik Yapılar ve Uygulama alışmaları

Agung Ari Wibowo

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmelięi Uyarınca  
Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Vural Bütün

Temmuz 2016

## ONAY

Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Agung Ari Wibowo'nun YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Yeni Tip Çapraz-Bağlı Miselik Yapılar ve Uygulama Çalışmaları ” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Vural BÜTÜN

**İkinci Danışman** : -

**Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:**

**Üye** : Prof. Dr. Vural BÜTÜN

**Üye** : Prof. Dr. Asım OLGUN

**Üye** : Doç. Dr. Macid NURBAŞ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN  
Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Vural Bütün danışmanlığında hazırlamış olduğum “Yeni Tip Çapraz-Bağlı Miselik Yapılar ve Uygulama Çalışmaları” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 25/07/2016

Agung Ari Wibowo

İmza

## ÖZET

Poli[(etilen glikol)metil eter], poli(*ter*-bütil metakrilat) ve poli[2-(*N*-diizopropilamino)etil metakrilat] içerikli iyi tanımlanmış ABC triblok kopolimerler (MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA) atom transfer radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Triblok kopolimerlerin asit hidrolizi ile poli(metakrilik asit) içeren MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA polimerine başarılı bir şekilde dönüşümü sağlanmıştır. Çözelti pH değeri 4'ün altındayken, MPEG / PMAA arasındaki hidrojen bağı içeren kompleks misel çekirdeğini, PDPA ise hidrofilik kabuğunu oluşturduğu miselik yapı oluşmaktadır. Çözelti pH değeri 5 ve 7 aralığında, kısmen iyonlaşmış PMAA ve kısmen protonlanmış PDPA sonucu olarak, miseller poliyon kompleksli çekirdeğe sahip olarak düzenlenmişlerdir. pH 8 üzerinde, PDPA bloğu hidrofobik karakter kazanarak misel çekirdeğini oluşturmuştur.

Sonuç olarak, tabakalar arası çapraz bağlı (SCL) miseller (pH > 8 sulu ortamda PDPA-çekirdekli), MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok kopolimerinden iç PMAA kabuğu 1,2-bis(2-iyodoetoksi)etan (BIEE) bileşiği kullanılarak çapraz bağlatılmıştır. Çapraz bağlanmamış misellerin ve SCL misellerin eş zamanlı zeta potansiyeli çalışmaları ile çapraz bağlanma reaksiyonu doğrulanmıştır. SCL misellerin ve pH duyarlı agregatların üç türdeki formları, dinamik ışık saçılımı (DLS), <sup>1</sup>H NMR spektroskopisi ve geçirimli elektron mikroskopisi ile karakterize edilmişlerdir.

Dipridamole (DIP) ilaç etken maddesi bir model olarak seçilmiş ve SCL misellerden salım profili belirlenmiştir. Dipiridamol pH değeri 10'da hidrofobik olduğu için misellerin PDPA çekirdeğine yüklenebilmiştir. Çapraz bağlama derecesi artışı ile ilaç salımında azalma/yavaşlama olduğu gözlenmiştir. Çekirdekten ilaç salımının azalmasının ara kabukta oluşan kompleks matris yapı olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler** : Atom transfer radikal polimerizasyonu, pH duyarlı polimer, miseller, tabakalar arası çapraz bağlanma (SCL), hidrofobik ilaçlar, ilaç salım.

## SUMMARY

Well-defined ABC triblock copolymers consisting of poly[(ethylene glycol)methyl ether], poly(*tert*-butyl methacrylate), and poly[2-(*N*-diisopropylamino)ethyl methacrylate] (MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA) were synthesized via atom transfer radical polymerization. The obtained triblock copolymers were successfully converted into MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA by acid hydrolysis, where PMAA is poly(methacrylic acid). At pH < 4,0, micellar aggregates comprising of hydrogen bonding interactions between MPEG/PMAA complex cores are formed. In the range of pH 5-7, as a result of charge compensation between partially ionized PMAA and partially protonated PDPA, micelles possessing polyion complex core are formed. Above pH 8, PDPA block gain hydrophobic character and form the core of micelles while MPEG/ionized PMAA hybrid blocks form hydrated coronas.

Shell cross-linked (SCL) micelles (PDPA-core in aqueous media pH 8) were also prepared from these MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblock copolymers by cross-linking the inner PMAA shell using 1,2-bis(2-iodoethoxy)ethane (BIEE). The zeta potential studies of uncross-linked and SCL micelles also be done to confirm the occurrence of the cross linking reactions. The pH-responsive formation of three types of aggregates and SCL micelles were characterized by dynamic light scattering (DLS), <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, and transmission electron microscopy (TEM).

Dipyridamole (DIP) as a model of hydrophobic drugs were used to investigate the release profile of the drugs from SCL micelles. Dipyridamole can be loaded to the PDPA micelles core at pH 10. The increase of the target degree of cross linking give result that the release getting slower. It can be explained that more complex matrix were formed in the intermediary layer of the micelles which can retard drugs release.

**Keywords** : Atom transfer radical polymerization, pH responsive polymer, micelles, shell cross-linked (SCL), hydrophobic drugs, drugs release.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Vural BÜTÜN'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tezin laboratuvar çalışmaları aşamasında yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Gökhan SOLMAZ, Mehtap KILINÇ, Damla ÜLKER, Hüseyin ŞAHİN, Araş. Gör. Dr. Cansel TUNCER, Araş. Gör. Gökhan KOÇAK, Öğrt. Gör. Yasemin SAMAV ve Araş. Gör. Zeynep ERYILMAZ'a yardımları için teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımcı olan ve beni hep destekleyen anne, baba, ve kardeşime desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	vi
<b>SUMMARY</b> .....	vii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	viii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xiv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI</b> .....	4
2.1. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu .....	4
2.1.1. ATRP'nin temelleri .....	4
2.1.2. Başlatıcılar .....	7
2.1.3. Katalizörler (metal/ligand) .....	8
2.1.4. Fonksiyonel monomerler .....	9
2.1.5. Çözücüler .....	10
2.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemler .....	11
2.3. Blok Kopolimer Miseller .....	15
2.3.1. Çapraz bağlı miseller .....	16
2.3.2. Misellerin ilaç salım uygulamaları .....	20
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	23
3.1. Materyal .....	23
3.2. MPEG-Br Makrobaşlatıcı Sentezi .....	23
3.3. MPEG- <i>b</i> -PtBuMA- <i>b</i> -PDPA ve MPEG- <i>b</i> -PMAA- <i>b</i> -PDPA Kopolimerin Sentezi ..	24
3.4. Misellerin ve SCL Misellerin Hazırlaması .....	24
3.5. DIP İlacın Yüklenmesi ve İn-Vitro Salım Çalışmaları .....	25
3.6. Jel Gecirgenlik Kromatografisi .....	25
3.7. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) .....	26

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
3.8. Dinamik Işık Saçılım Ölçümleri.....	26
3.9. Zeta-Potansiyometresi .....	26
3.10. Geçirimli Elektron Mikroskobu .....	27
3.11. UV-Vis spektrofotometrisi .....	27
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>28</b>
4.1. MPEG- <i>b</i> -PMAA- <i>b</i> -PDPA Triblok Kopolimerin Sentez ve Karakterizasyonu.....	28
4.2. pH Duyarlı MPEG- <i>b</i> -PMAA- <i>b</i> -PDPA Triblok Kopolimerin Misellerinin Hazırlanması .....	31
4.3. PDPA pH duyarlı Çekirdek İçeren Kabuk Çapraz Bağlanmış Miseller.....	36
4.4. İlacın Yüklenmesi ve İn-Vitro Salım Çalışmaları .....	43
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>49</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 ATRP genel mekanizması .....	5
2.2 ATRP’de kullanılan başlatıcılar .....	8
2.3 ATRP’de kullanılan ligandlar.....	9
2.4 ATRP ile polimerleştirilen bazı monomer türleri.....	10
2.5 (a) Konvasiyonel salım; (b) Kontrollü salım.....	12
2.6 Plasmadaki ilaçın absorpsiyon profili.....	14
2.7 Ozmotik pompası, referanstan uyarlanmıştır (Verma vd., 2000).....	14
2.8 AB tipi diblok kopolimer ile misel oluşum .....	15
2.9 AB Diblok kopolimerden oluşturulan misellerin çapraz bağlama yerleri.....	16
2.10 Çapraz bağlayıcıların ve uygun monomerlerin çapraz bağlama kimyası: (a) Bir karbodiimid katalizörü varlığında diaminler (b) BİEE (c) DVS ve (d) aktive edilmiş esterler (Read ve Armes, 2007).....	17
2.11 AB diblok kopolimerler misellerin arası çapraz bağlanma ve ABC triblok kopolimerleri misellerin içi çapraz bağlanma .....	19
4.1 MPEG- <i>b</i> -PMAA- <i>b</i> -PDPA triblok kopolimerin ATRP ve asit hidroliz yöntem ile sentezi.....	29
4.2 MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -P <i>t</i> BuMA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> (A) ve MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -P <i>t</i> BuMA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> (B) triblok kopolimerin sentezinde her bloğun GPC kromatogramları.....	29
4.3 <sup>1</sup> H NMR spektrumları: (A) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -P <i>t</i> BuMA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> ve (B) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> .....	30
4.4 <sup>1</sup> H NMR spektrumları: (A) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -P <i>t</i> BuMA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> ve (B) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> .....	30
4.5 MPEG- <i>b</i> -PMMA- <i>b</i> -PDPA triblok kopolimerin 3 çeşit misel oluşumu şematik gösterimi.....	32
4.6 D <sub>2</sub> O içinde pH değişimi ile MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> misellerin <sup>1</sup> H NMR spektrumları.....	33
4.7 D <sub>2</sub> O içinde pH değişimi ile MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> misellerin <sup>1</sup> H NMR spektrumları.....	34
4.8 Farklı pH’larda misellerin hidrodinamik yarıçapı <R <sub>H</sub> > değişimi : (a) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> ve (b) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> PDPA <sub>47</sub> .....	35
4.9 Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde SCL misellerin hidrodinamik yarıçapları: (a) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> ve (b) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> .....	37

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.10 pH 10'da, çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve sulu çözelti içinde (% 1,0) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı dağılım fonksiyonları: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20, (b) % 40 ve (c)% 60 .....	38
4.11 pH 10'da, çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve sulu çözelti içinde (% 1,0) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı dağılım fonksiyonları: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20, (b) % 40 ve (c)% 60 .....	39
4.12 Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> SCL misellerin TEM görüntüleri: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20 <Dh> = ~ 39- 40 nm, (b)% 40 <Dh> = ~ 17-20 nm, (c) % 60 <Dh> = ~ 38-40 nm.....	40
4.13 Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> SCL misellerin TEM görüntüleri: Çapraz bağlanma derecesi % 20 <Dh> = ~ 37- 40 nm, (b)% 40 <Dh> = ~ 25-30 nm, (c) % 60 <Dh> = ~ 31-33 nm.....	41
4.14 Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve pH 8-9 aralığında SCL misellerin zeta potansiyeli: (a) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> ve (b) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> .....	42
4.15 Çeşitli pH'larda MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> SCL misellerin zeta potansiyeli ..	43
4.16 Çeşitli pH'larda MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> SCL misellerin zeta potansiyeli .	43
4.17 Dipiridamol'un (DIP) kimyasal yapısı .....	44
4.18 pH 10'da, DIP yüklü sulu çözelti içinde (% 1,0) triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı: (a) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> ve (b) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> . .....	45
4.19 Tampon çözeltilde, pH 7,4'te ve 37 °C'de : (a) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>47</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>47</sub> ve (b) MPEG <sub>45</sub> - <i>b</i> -PMAA <sub>20</sub> - <i>b</i> -PDPA <sub>18</sub> SCL misellerin DIP salımının profili .....	46

**ÇİZELGELER DİZİNİ****Cizelge****Sayfa**

4.1 Sentezlenen polimerler .....	28
----------------------------------	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

$M_n$	Molekül ağırlığı sayı ortalaması
$M_w/M_n$	Moleküler ağırlık dağılımı
$k_p$	Çoğalma hız sabiti
$k_{deact}$	Deaktivasyon hız sabiti
$k_a$	Aktivasyon hız sabiti

### Açıklama

### Kısaltmalar

ATRP	Atom transfer radikal polimerizasyonu
BİEE	1,2-Bis(iyodoetoksi)etan
Bpy	Bipiridin
CuBr	Bakır bromür
DİP	Dipridamol
DLS	Dinamik ışık saçılımı
DOX	Doxorubicin
GPC	Jel geçirgenlik kromatografisi
MPEG	Poli[(etilen glikol)metil eter]
NMR	Nükleer magnetik rezonans
PAA	Poli(akrilik asit)
PD	Polimerizasyon derecesi
PDEA	Poli[2-( <i>N</i> -dietilamino)etil metakrilat]
PDI	Polidispersite indeks değeri

### Açıklama

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
PDMA	Poli[2-( <i>N</i> -dimetilamino)etil metakrilat]
PDPA	Poli[2-( <i>N</i> -diizopropilamino)etil metakrilat]
PEG	Poli(etilen glikol)
PEO	Poli(etilen oksit)
PMAA	Poli(metakrilik asit)
PMDETA	Pentametildietilentrietilamine
PNIPAM	Poli( <i>N</i> -izopropilakrilamit)
PtBA	Poli( <i>ter</i> -bütil akrilat)
PtBuMA	Poli( <i>ter</i> -bütil metakrilat)
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
THF	Tetrahidrofuran
UV – vis	Ultraviyole-görünür bölge

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son zamanlarda, hedef organlara ve dokulara iletilebilen ilaçlara duyulan ihtiyaç daha da önemli hale gelmiştir. Kontrollü ilaç salımı olarak adlandırılan yeni bir yöntemin ve ilaçların hedef bölgelere iletimi ve salımı üzerine yeni açılımlar sağlamak için bir multi-disipliner çalışmalar ve yaklaşımlar gerekmektedir (Martinho vd., 2011).

Mevcut bir ilacı, yeni bir ilaç salım sistemi ile etkinlik, güvenlik ve hasta daha iyi uyumu açısından anlamlı bir performans artışı sağlanabilir. Hastalara daha etkin bir şekilde ilaç verilebilmesi ve daha az yan etkisi olan ilaç ve sistemler için ilaç firmaları yeni salım sistemleri geliştirmeye önem vermektedirler (Verma vd., 2001).

Tıp alanında, nanomalzemeler kullanılarak, doku mühendisliği iskelet ve cihazları, hedef alana özgü ilaç salım sistemleri, kanser tedavisi ve klinik biyoanalitik teşhis ve tedavi gibi özel alanlarda birkaç uygulama yapılmıştır. Son yıllarda, ilaç ve aşı salımı amacıyla nanoteknoloji kullanmak amacıyla önemli girişimlerde bulunulmuştur (Mahapatro ve Singh, 2011).

Polimerler eczacılığa ait uygulamalarda, özellikle ilaç salımı alanında önemi artar hale gelmiştir. Polimerler sıvılardaki, emülsiyon ve süspansiyonlardaki viskoziteleri ve akış kontrol ajanları olmalarıyla, tabletlerde bağlayıcı maddeler olarak kullanımları değişebilir. Ayrıca, ilaç etkinliğini artırmak ve salım özelliklerini değiştirmek için film kaplamada kullanılabilirler (Shaik vd., 2012).

Kontrollü radikal polimerizasyon tekniklerindeki gelişmeler vasıtasıyla hassas polimerlerin sentezindeki son gelişmeler ile desteklenen, polimerik yapı bloklarının tasarımında esneklik, çeşitlilik ve işlevsellik açısından büyük bir fırsat vardır. Bu çok yönlülük, değişen boyut ve şekilde nano ölçekli nesnelerin kendiliğinden oluşumları üzerinde kontrol sağlar (O'Reilly vd., 2006).

Küresel polimerik miseller ve nanopartiküller belki de tedavi için ilaç dağıtım araçları, moleküler görüntüleme ajanları ve nano boyutlu mikroelektronik cihazlar için ön



maddeler olarak önemli potansiyelleri ile en erişilebilir yapılardır. Genellikle sağlam, kararlı yapıları ve aynı zamanda nanoparçacık iskeletinde fonksiyonel moleküllerin kovalent etkileşimleri bu yapıları daha da öne çıkarmaktadır. Bu çeşitli nanoyapıların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin ayarlanabilmesi bunları potansiyel uygulamalarının gelişiminde merkez haline getirmektedir. Bu nedenle, polimerik misellerin sentezi, çapraz bağlanması ve fonksiyonelliği için yöntemlerin geliştirilmesine büyük ilgi oluşmuştur (O'Reilly vd., 2006).

İlaç salım araçları için tabakalar arası çapraz bağlı (SCL) polimerik misellerin potansiyel uygulama çalışmaları son zamanlarda çeşitli araştırma grupları tarafından yapılmıştır. Bunlardan biri He vd., (2011) tarafından yapılan çalışmadır. Bu çalışmada, ATRP ile hazırlanan poli(etilen oksit)-*blok*-poli(*ter*-bütil akrilat)-*blok*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (PEO-*b*-PtBA-*b*-PNIPAM) triblok kopolimer serileri asit hidroliz ile poli(etilen oksit)-*blok*-poli(akrilik asit)-*blok*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (PEO-*b*-PAA-*b*-PNIPAM) triblok kopolimerlerine dönüştürülmüşlerdir. Tabakalar arası çapraz bağlı miseller DMF içerisinde hazırlanmışlardır. DOX çözeltisi, PEO-*b*-PAA-*b*-PNIPAM çözeltisine eklenmiş ve hemen ardından miselleşmeyi sağlamak için çözelti 37 °C sıcaklığa ısıtılmıştır. Çapraz bağlanma, ortama 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC) ve 2,2'-(etilendioksi)bis(etilamin) (EDEA) eklenmesiyle PAA'in karboksil grupları üzerinden gerçekleşmiştir. Salım çalışmaları pH 7,4'de 37 °C ve 25 °C sıcaklıklarda yapılmıştır. DOX yüklü triblok kopolimerin sıcaklık duyarlı ilaç salımı ve çapraz bağlanma ile yavaş ilaç salım davranışı kazanmıştır.

Biz bu çalışmamızda ise zwitteriyonik miselleri oluşturabilen poli[(etilen glikol)metil eter]-*blok*-poli(*ter*-bütil metakrilat)-*blok*-poli[2-(*N*-diizopropilamino)etil metakrilat] (MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA) polimer serileri atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) ile sentezlenmiştir. Triblok kopolimerlerin asit hidrolizi ile poli(metakrilik asit) içeren MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA polimerine başarılı bir şekilde dönüşümü sağlanmıştır. Bu triblok kopolimerler pH duyarlıdır ve kendiliğinden misel formu oluşturabilmektedir. MPEG bloğunun yüksek hidrofilikliği ve suda çözünmesi iyi bilinmektedir. PMAA, 5,5'lik pK<sub>a</sub> değeri ile iyonize hidrofilik polimerdir. PDPA ise pK<sub>a</sub> 6,4 ile nispeten zayıf poli bazdır (Bütün vd., 2011). Yukarıda da belirtildiği gibi, iyi bir ilaç salım aracı olabilmesi için miseller çevre koşullarının değişimi veya enzimlere karşı

stabilize olmalıdır. Kendiliğinden misel formu oluşturabilen MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA kopolimeri, miselik formda, PMAA bloğu 1,2-bis-(iyodoetoksi)etan (BIEE) ile başarılı bir şekilde çapraz bağlanmıştır. PMAA ve BIEE arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonu Bütün vd., (1999) tarafından çalışılmış ve PMAA bloğunun karboksil gruplarının PDMA da bulunan tersiyer amin gruplarına göre çok daha hızlı bir çapraz bağlandığı rapor edilmiştir. Bu sonuç, ilaç enkapsülasyonu için büyük bir avantaj sağlamakta olup, zamandan tasarruf, kontrollü yükleme ve etkin uygulama çalışmalarına fırsat tanımaktadır. Bu çalışmadaki öngörümüz, ilaç yüklü SCL nin kısa sürede hazırlanması ve çapraz bağlanma derecesi ile salım profilinin kontrolünün sağlanabileceği şeklindedir.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu

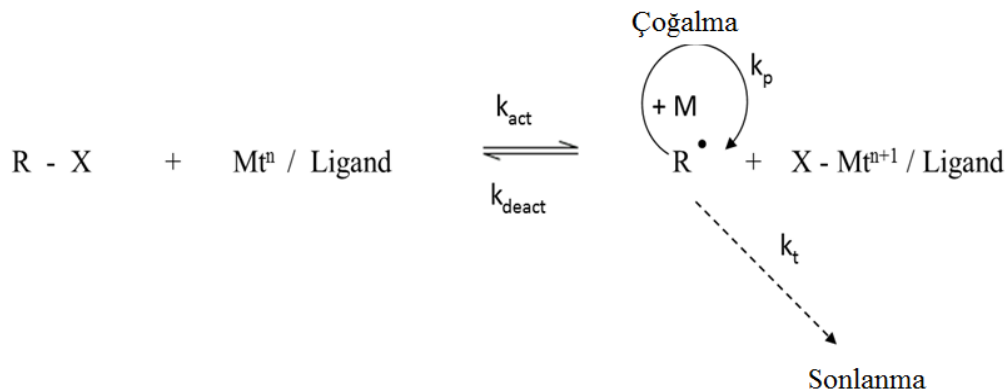
İlk olarak 1995'te ortaya konan bir tekniktir (Wang ve Matyjaszewski, 1995). Araştırmacılar, hedef polimerik yapılara kontrollü olarak ulaşabilmek için “canlı” polimerizasyon teknikleri geliştirmek amacı ile yaklaşık 40 yıldır çalışmalarını sürdürmektedirler. Canlı polimerizasyon, zincir transferi ve sonlanma basamakları olmaksızın ilerleme gösteren bir zincir polimerizasyonudur. Bu tür polimerizasyonlarda, polimerleşme monomerin tamamı tükeninceye kadar devam ettiği gibi ekstra monomer ilavesinde de polimerizasyonun devamı söz konusu olmaktadır. Bu özellik, mükemmel yapıli kopolimerlerin sentezi için etkili bir yöntem olmakla beraber, tahmin edilebilir moleküler ağırlığına sahip, dar moleküler ağırlık dağılımlı polimerler de elde edilebilmektedir. Canlı polimerizasyonlarda, iyi tanımlanmış blok ve grafit kopolimerlerin yanında tarak ve makro halkalı polimerler ile fonksiyonel son grup içeren polimerler de sentezlenebilmektedir. Canlı terimi ilk olarak 1950'lerde, yan reaksiyonların olmadığı anyonik polimerizasyonları açıklayan (her ne kadar bu tür sistemlerin varlığı yirmi yıl öncesinde Ziegler tarafından önerilse de) Szwarc tarafından tanıtılmıştır (Ziegler, 1936; Szwarc, 1954). Szwarc'ın yaptığı bu buluşla beraber canlı polimerizasyon alanında büyük ilerlemeler kaydedilmiş, yaşayan katyonik ve yaşayan serbest radikal polimerizasyon kimyası sırasıyla 1980 ve 1990'larda geliştirilmişlerdir. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) kontrollü bir radikal polimerizasyon yöntemi olup, istenilen mol ağırlığı ve komonomer oranlarında polimer sentezine olanak tanır.

#### 2.1.1. ATRP'nin temelleri

ATRP, iyi tanımlanmış bir yapıya sahip makromoleküllerin sentezinin gerçekleşebilmesi açısından çok önemli ve güçlü bir teknik halini almıştır (Matyjaszewski ve Xia, 2001). Organik kimya literatüründe, halojen içeren organik bileşiklerden metal katalizör yardımıyla oluşturulan radikallerin olefinlere katılma (atom transfer radikal addition-ATRA) reaksiyonları 1950'li yıllardan bu yana birçok araştırmaya konu olmaktadır. Geçiş metal merkezli ATRP'nin katalitik çevrimli bir geçiş metali

kompleksinin iki oksidasyon hali arasındaki tersinir geçişini içerir (Wang ve Matyjaszewski, 1995).

Yükseltgenme hali daha düşük olan geçiş metali kompleksi, alkil halojenür (R-X) bağının homolitik olarak ayrışmasıyla daha yüksek yükseltgenme haline sahip bir geçiş metali kompleksine dönüşür. Aynı zamanda bu reaksiyon sonucunda bir de alkil radikali oluşur. Bu şekilde reaksiyondaki denge pasif tür denem bileşiğin bulunduğu tarafa doğru kayar. Oluşan radikaller bir vinil monomerinin çifte bağına saldırarak polimerizasyonu başlatır. Daha fazla monomer ilavesiyle çoğalma gerçekleşir. Radikallerin birbiriyle birleşmesiyle ya da daha yüksek oksidasyon halindeki geçiş metal kompleksi tarafından tersinir olarak deaktive edilmeleriyle polimerizasyon sonlanır. Şekil 2.1 ile görüldüğü gibi atom transfer adımlarının kinetiği incelenerek son ürünün yapısı, yani molekül ağırlığı, heterojenliği ve uç grup fonksiyonelliği kontrol edilebilir (Coessens vd., 2001).



**Şekil 2.1** ATRP'nin genel mekanizması

Koordinasyon bileşiği denge sabitlerini etkiler ve bu nedenle reaksiyonun kontrolü katalitik aktif türleri oluşturan metal ve ligandlara fazlaca bağlıdır. ATRP reaksiyonlarında kullanılan başlıca geçiş metalleri; bakır (Cu), rutenyum (Ru), demir (Fe), nikel (Ni), paladyum (Pd) ve rodyum (Rh)'dur. Bu metaller değişik ligandlarla birleşerek ATRP reaksiyonlarının katalizörlerini oluştururlar. Diğerlerine göre daha ucuz ve etkin olmasından dolayı en sık kullanılan geçiş metali ise Cu'dur. ATRP için kullanılacak geçiş metalinin sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Kolaylıkla erişilebilen bir elektron redoks çiftine sahip olmalı, bir halojene karşı orta derecede bir ilgisi olmalı ve oksidasyona uğrayarak yeni bir ligand ile seçici olarak ortaklık kurabilmelidir. Ayrıca

metalin hidrojen atomları ve alkil radikalleri gibi diğer atomlara olan ilgisi düşük olmalıdır (Matyjaszewski, 1999). Bununla beraber, katalizörün polimerizasyon için uygun bir katalizör olup olmadığı metal ve ligand arasındaki doğru kombinasyona bağlıdır. ATRP, bir geçiş metal kompleksi ile bir polimer zinciri sonu arasındaki, bir halojen atomunun transferini içeren kontrollü radikal polimerizasyona yeni bir yaklaşımdır. ATRP genellikle hem sulu hemde susuz ortamda uygulanabilmekte ve fonksiyonel gruplara tolerans göstermektedir. Odak noktası; organik reaksiyonlarda başarıyla kullanılan, Atom Transfer Radikal Katılım'a dayanmaktadır. ATRP, kontrollü radikal yöntemde yeni, randımanlı ve verimli bir yol sağlamaktadır. Çeşitli gruplar tarafından rapor edilen diğer kontrollü radikal polimerizasyon sisteminlerine rağmen, ATRP daha kolay, ucuz ve çok yönlüdür.

ATRP, bütün zincirlerin eş zamanlı olarak büyümesine izin veren, baskın ve aktif parçalar arasındaki dinamik dengeye varan bir yöntemdir. İki farklı monomerin kopolimerizasyondaki (metakrilat-akrilat veya stiren-akrilat) önemli noktalarından biri de; iki muhtemel zincir sonlanması arasındaki denge sabitinin farkıdır.

Moleküler ağırlık dağılımı veya polidispersite ( $M_w/M_n$ ) polimerlerin zincir uzunluğu dağılımı ile endekslidir. ATRP'de heterojenlik indisi aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır.

$$M_w/M_n = 1 + \frac{([RX]_0 \cdot K_p)}{(k_{deact} \cdot [D])} \cdot (2/p - 1) \quad (2.1)$$

$[RX]_0$  = Başlatıcının derişimi

$[D]$  = Deaktivatörün derişimi

$K_p$  = Çoğalma hız sabiti

$k_{deact}$  = Deaktivasyon hız sabiti

$P$  = Monomer dönüşümünü göstermektedir.

Aynı monomer için büyüyen zinciri daha hızlı deaktive eden bir katalizörün kullanılması halinde, düşük moleküler ağırlıklı polimerler elde edilebilir ( $k_p / k_{deact}$  küçük olduğu için). Buna alternatifi olarak daha yavaş polimerizasyon hızlarında deaktivatörün konsantrasyonunun yükselmesiyle de moleküler ağırlık dağılımı düşmektedir. Örnek olarak Cu esaslı ATRP'de az miktarda bakır (II) halojenürün ilavesiyle

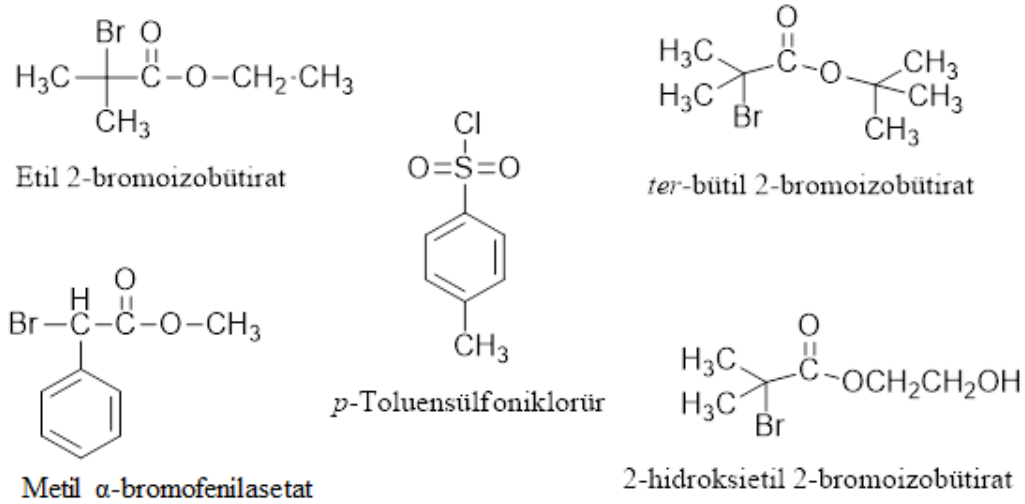
polimerizasyon hızlarında düşme olacağından, polimerizasyonlar daha iyi kontrol edilmiş olur. Alkil halojenürün başlangıçtaki konsantrasyonu yükseltildiğinde daha kısa zincirler oluşacağından moleküler ağırlık dağılımı yükselir. Diğer yandan monomer dönüşümünün artmasıyla da moleküler ağırlık dağılımının düşeceği anlaşılmaktadır. ATRP’de deaktivatörün konsantrasyonu polimerizasyon başlangıcında ani olarak artar ve daha sonra yavaşça yükselir. Polimerizasyon başlangıcında az miktardaki bakır (II) halojenürün ilavesi sonucunda sonlanmış zincirlerin çoğalması azaltılabilir. Böylece atom transfer dengesi kontrol edilebilirken, tersi durumda bakır esaslı ATRP’de az miktarda bakır (I) halojenürün ilavesi sonucunda daha hızlı bir polimerizasyon meydana geleceğinden moleküler ağırlık dağılımı yukarıda anlatıldığı gibi artabilir ( Matyjaszewski, 1999).

### 2.1.2. Başlatıcılar

Başlatıcı, ATRP’nin başarısı için önemlidir. Çünkü başlatıcı başlatılan zincirlerin sayısını tayin eder. Başlama adımında organik halojenür R-X’den halojenür ayrılarak geçiş kompleksine geçer. Aktarılan atomla R’ radikali oluşur ve bunu alkene katılma izler. Sonra geçiş metalinden bir ürün radikale son ürünü oluşturmak için geri transfer olur. Uygun başlatıcılar, başlama hız değerinin büyüme hız değerinden daha büyük olmasına ihtiyaç duyarlar. Ayrıca yan reaksiyonlara izin vermemelidirler. Ayrılan X ve R alkilinin arasındaki R-X bağının P<sub>n</sub>-X bağından zayıf olması gerekir. ATRP’de başlatıcının hızlı olması istenir. Genellikle indüktif ve rezonans stabil süstitüentlerle alkil halojenür R-X’ler ATRP için iyi başlatıcılardır. ATRP mekanizmasının doğasında bir polimer zinciri ucunda R alkil grubu diğer ucunda halojenin olmasıdır. Fonksiyonel polimerler hazırlamak için en iyi yol fonksiyonel gruplar içeren başlatıcılar kullanılmaktadır (Coessens vd., 2001).

Başlatıcı büyüyen polimer zincirlerini oluşturur, yani başlatıcı derişimi sonuçta sentezlenen polimerin molekül ağırlığını belirler. Polimerizasyon derecesi teorik olarak;  $DP = [M]_0 / [I]_0$  eşitliğindeki gibi hesaplanabilir (Matyjaszewski ve Xia, 2001). Burada DP polimerizasyon derecesi,  $[M]_0$  monomerin başlangıç derişimi ve  $[I]_0$  başlatıcının başlangıç derişimidir. Düşük heterojenlik indisine sahip polimerler elde etmek için halojen atomu (X), hızlı ve seçici olarak, büyüyen zincir ve geçiş metal kompleksinin arasında geçiş yapmalıdır. Halojen atomu olarak klor (Cl) ya da brom (Br) en iyi molekül ağırlığı kontrolü sağlar. İyi bir başlatıcı için başlama reaksiyonu çok hızlı olmalıdır. Hızlı başlama

reaksiyonu, düşük heterojenlik indisine sahip polimer sentezi için önemlidir. ATRP’de kullanılan başlatıcıların birkaçı Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



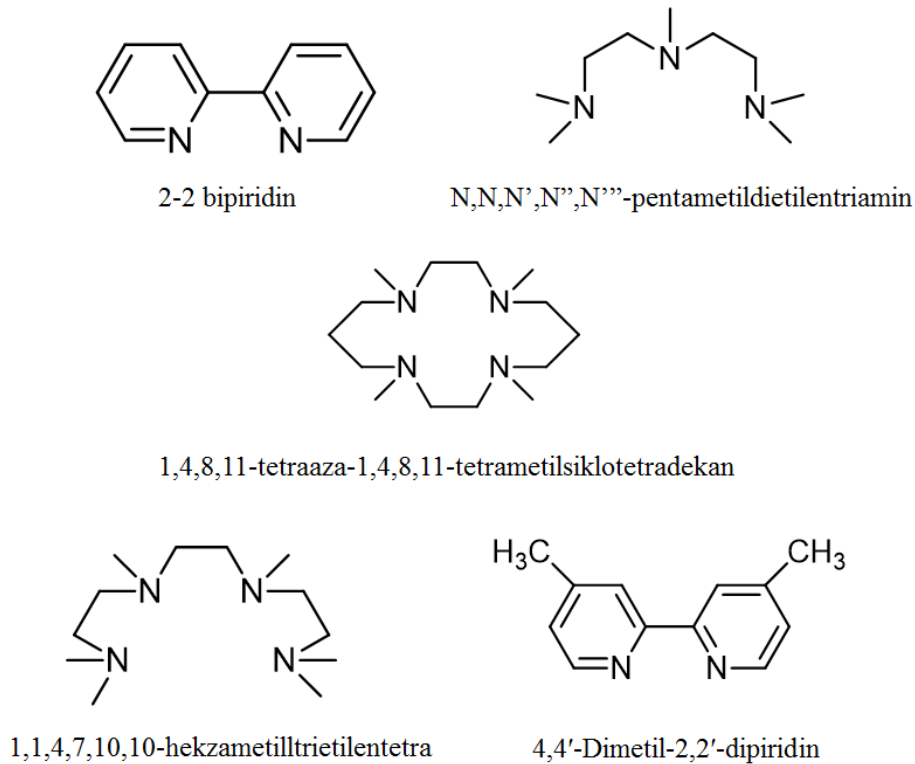
Şekil 2.2 ATRP’de kullanılan başlatıcılar.

### 2.1.3. Katalizörler (metal/ligand)

ATRP için belki de en önemli bileşen katalizörlerdir. Aktif ve deaktif türler arasındaki değişimin dinamiğini ve atom transfer dengesinin konumunu belirlediğinden ATRP’nin anahtarıdır (Matyjaszewski ve Xia, 2001). Bir metal kompleksinin etkin bir ATRP katalizörü olabilmesi için birkaç ön koşul vardır. Bu ön koşulların birincisi, metal merkezi bir elektron ayrılması ile kolayca ulaşılabilir en az iki yükseltgenme durumuna sahip olmalıdır. İkincisi ise metal merkezin (yalancı) halojene karşı makul bir yakınlığa sahip olmasıdır. Ayrıca metal etrafındaki koordinasyon küresi seçici bir halojeni barındırmak için yükseltgenmeye uğraması ile genişletilebilir olmalıdır. Seçilen metal ligand ve (sözde) halojen ile nispeten güçlü bir metal kompleksi oluşturmalıdır.

ATRP reaksiyonlarında en sık kullanılan bakır metali genellikle azot içeren ligandlarla beraber kullanılır. Azot içeren ligandlar iki, üç veya dört azotlu olabilirler. İki azot içeren bipyridin türevi ligandlar iki adet molekülleri ile kompleks yaparken, diğer ligandlar tek molekülleri ile kompleks oluştururlar. Sıklıkla kullanılan en önemli Cu merkezli metal-ligand kompleksleri ise Cu/bipyridin (Bpy) ve Cu/PMDETA kompleks

sistemleridir. Özellikle üç dişli bir ligand olan PMDETA daha az renkli oluşu, daha az polar ortam sağlaması, yüksek aktifliği ve düşük maliyetinden dolayı pek çok monomerin kontrollü polimerizasyonu için kullanılmaktadır (Matyjaszewski ve Xia, 2001). Şekil 2.3 ile ATRP’de en çok kullanılan azot içeren ligandların açık yapıları verilmiştir.

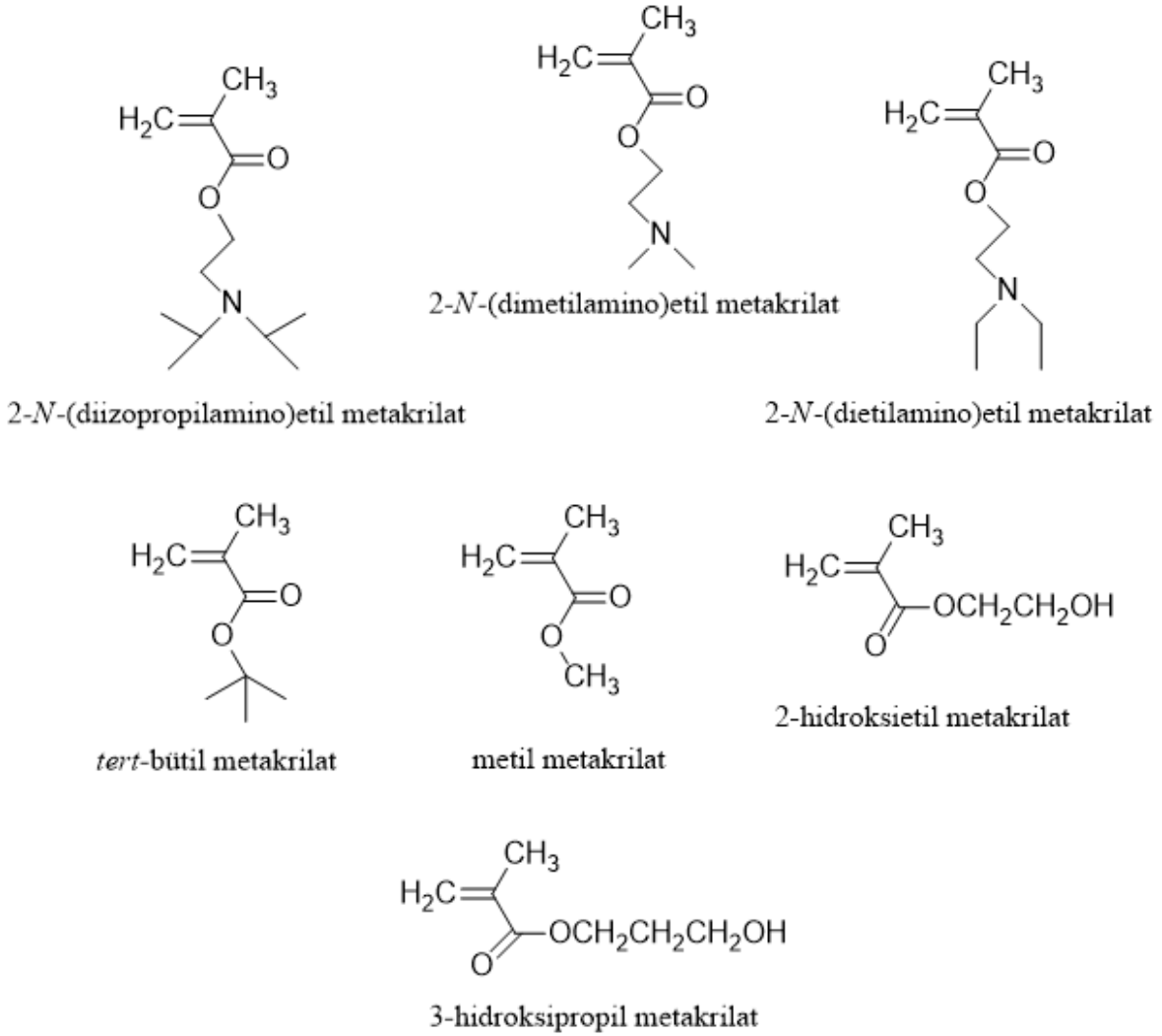


Şekil 2.3 ATRP’de kullanılan ligandlar.

#### 2.1.4. Fonksiyonel monomerler

Stirenler, (met)akrilatlar, (met)akrilik amidler ve akrilonitril gibi monomerler ATRP ile başarılı olarak polimerleştirilmişlerdir (Chieffari vd., 1998). Aynı reaksiyon koşullarında, her monomerin atom transfer denge sabiti aynı değildir. Çünkü her monomer kendi benzersiz özelliğine sahiptir. Birleştirici veya orantısız radikal sonlanma dışında herhangi bir yan reaksiyon yokluğunda, denge sabiti oranı ( $K_{eq} = k_{act}/k_{deact}$ ) polimerizasyon hızını belirler (Fischer, 1997). ATRP ile polimerleştirilebilen bazı monomer türleri Şekil 2.4’de gösterilmiştir.





Şekil 2.4 ATRP ile polimerleştirilen bazı monomer türleri

### 2.1.5. Çözücüler

Radikal polimerizasyon, çözücü etkilerine iyonik reaksiyonlardan daha az duyarlıdır. Bununla beraber katalizörün yapısı ve reaktivitesi çözücü tarafından kuvvetle etkilenir. Örneğin, etilen karbonat gibi polar katıların önemli etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca dimetil formamit Cu(I)Br / Bpy sistemlerini homojenleştirir. Bazı çözücülerin, katalizörün tabiatı ve reaktivitesini özel çözme mekanizmasıyla kuvvetle etkileyebilmesi beklenir (Matyjaszewski, 1999). Su hem homojen hem de heterojen şartlar altında kullanılabilir. Her iki halde de uygun katalizör sistemi kullanılmalıdır. Aktive edici ve deaktive edici monomerin çokca bulunduğu ve polimerizasyonun da olduğu uygun derişimlerde olmalıdır.

Benzen, toluen, anisol, difenileter, etilasetat, aseton, dimetilformamid, etilen karbonat, alkoller, su ve karbondioksit de dahil, çeşitli çözücüler farklı monomerler için kullanılmıştır. ATRP’de iyi bir çözücü için birkaç ön koşul vardır. Birincisi, çözücü bir zincir transfer ajanı olarak hareket etmemelidir (THF de olduğu gibi). İkincisi, çözücü katalizörü bozmamalıdır (bakır esaslı ATRP’deki karboksilik asit veya fosfinler gibi). Üçüncüsü ise, çözücü yan reaksiyonlara destek vermemelidir (polar protonlu çözücüde daha belirgin olan polisitril halojenürden HX’in giderilmesi gibi). Dahası, muhtemel katalizörün çökme durumu veya yapısının farklı çözücülerde değişebileceği dikkate alınmalıdır (Matyjaszewski ve Xia, 2001).

## 2.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

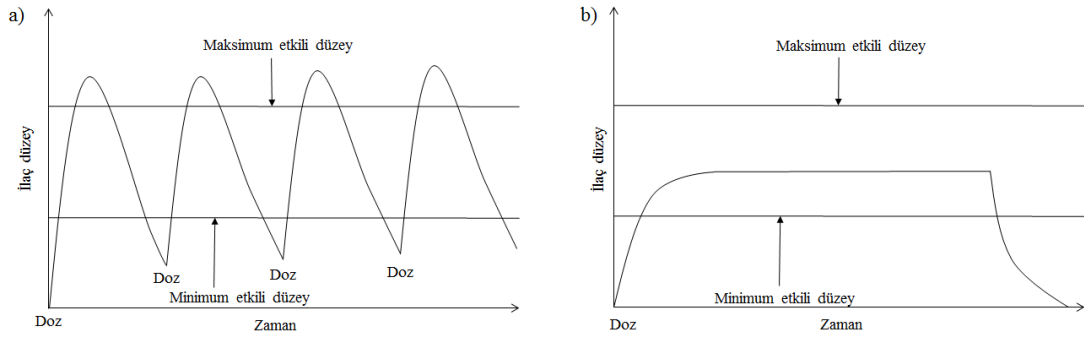
İlaç salım sistemleri ilaçların, hedef bölgeye yönlendirilmesini, hedef bölgede kontrollü olarak salınmasını sağlayan sistemlerdir. Bu sistemlerde ilaçları taşıyacak bir taşıyıcıya ihtiyaç vardır. Taşıyıcı grup olarak, katı nano partiküller ve nano süspansiyonlar gibi çeşitli taşıyıcı sistemlerin yanı sıra suda çözünebilir, biyouyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip polimerik taşıyıcı sistemlerde kullanılabilir (Kayser vd., 2005).

İlaç uygulama yöntemleri ile ilgili çalışmalara olan ilgi son yıllarda artmıştır. Geleneksel yöntemde ilaç bir seferde ve yüksek dozda verilir ve dozun birkaç saat yada gün sonra tekrar edilmesi gerekir. Bu yöntem ekonomik olmamakla birlikte zararlı yan etkileri de beraberinde getirir. Bunun yanında hedeflenmiş bölgelerdeki yetersiz ilaç konsantrasyonu, hızlı metabolize olma ve ilaç bozunumu gibi sorunlar da görülebilir. Bu nedenle ilaçların daha uzun süre boyunca devamlı olarak ve kontrollü bir şekilde verildiği yöntemlere olan ilgi giderek artmıştır (Murillo-Cremaes vd., 2013). Suda çözünürlüğü az olan düşük molekül ağırlıklı moleküller ve biyoaktif kısımların oluşu, dokuya kısıtlı nüfuz, ilaç bozunumu yada kaybı, ilaçların seçici olmayan dağılımı, hastayla uyumlu olmaması, ağır toksisite ve ilaç direnci gibi nedenler etkili bir ilaç taşıma sistemini gerekli kılar.

İlaç taşıma sistemi, bir terapötik maddenin vücuda verilmesini sağlayan ve ilacın vücutta salım hızını, zamanını ve yerini kontrol ederek verimliliğini ve güvenliğini arttıran araç ya da formülasyon olarak tanımlanır. Bu süreç terapötik ürünün kullanımı, ürün

tarafından aktif bileşenlerin salımı ve aktif bileşenlerin biyolojik membranlardan etkinlik bölgesine yeterli taşınımını içerir (Jain, 2008).

İlaç taşıma sisteminin etkinliği, ilaç moleküllerinin bulunduğu yer ve zamanı kontrol edebilmesi ile belirlenir. Bu nedenle, ilacın uygulanma yöntemi bir ilaç taşıma sisteminin tasarlanmasında oldukça önemlidir.



**Şekil 2.5** (a) Konvasiyonel salım; (b) Kontrollü salım

Şekil 2.5.a'da konvasiyonel, Şekil 2.5.b'de kontrollü salım sistemlerinin çalışma prensipleri gösterilmiştir. Kontrollü salım sistemlerinde, (şekil 2.5.b) kandaki ilaç seviyesinin toksik düzeye çıkmaması ya da etkin dozun altına düşmemesi hedeflenmektedir. Kandaki ilaç miktarı belirli bir konsantrasyonda (optimum düzeyde) tutularak, dozajın zamana bağlı değişiminin önüne geçilmesi ve vücudu daha az toksik maddeye maruz bırakarak iyileşmenin daha kısa sürede gerçekleşmesi hedeflenmektedir. Kontrollü salım sistemlerinde etken madde, ortama yavaş yavaş difüze olmaktadır. İlacın tümünün taşıyıcı sistemden bırakılması için geçen süre yüklenen ilaç miktarına, kullanılan polimerin biyobozunma süresine ve çevresel şartlara (pH, sıcaklık, bulunulan ortamın bileşenlerine) bağlıdır. Bu sistemlerde ilaç iki farklı yolla ortama bırakılır;

- i. Aktif hedeflendirme ile
- ii. Pasif hedeflendirme [*Enhanced Permeability and Retention (EPR)* etkisi] ile

Pasif hedeflendirmede ilacın kan akış hızına bağlı olarak istenen bölgeye taşınması hedeflenmektedir. Ancak, ilaç istenen kan konsantrasyonuna ulaşmadan ortama bırakılabilir ya da istenilenin haricinde bir bölgede ortama bırakılarak istenmeyen yan

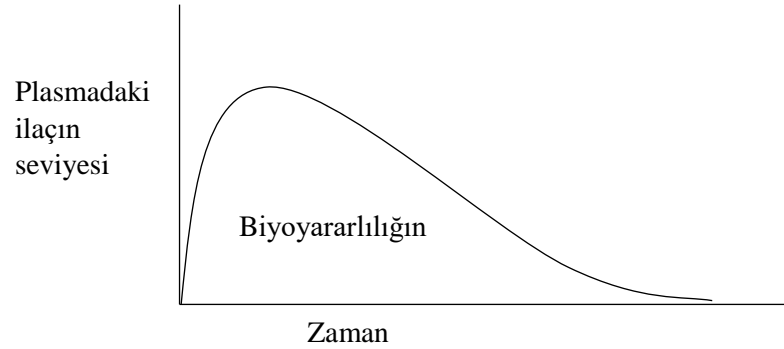
reaksiyonların oluşmasına sebep olabilir. Aktif hedeflendirmede ise PEG molekülüne biyomarkırlar ya da hedef uçlar takılarak ilacın istenen bölgeye bırakılması hedeflenmektedir. PEG molekülü, kontrollü salım sistemlerini ‘görünmez’ kılarak ortamda daha uzun süre bulunmalarını sağlar. PEG bu yönüyle tek olsa da, kontrollü salım sistemlerinde kullanılan doğal ve sentetik polimerlerin hepsi, kullanıldığı bölge ve uygulanış biçimi ile çeşitlendirmektedir.

Kontrollü salım sistemleri geliştirilmeden önce, uzun etki sağlayan, ilaç salımları birbirinden farklı olan ve değişik isimlerle ifade edilen birçok sistem vardı. Örneğin uzatılmış salım sistemleri, sürekli salım sistemleri, tekrarlanan doz içeren ve geciktirilmiş salım sistemleri gibi. Bu sistemler birbirlerinden farklı olsalar da etkin maddenin klasik ilaç şekillerine göre daha yavaş salıverilmesi ortak paydasında birleşirler ve hepsi modifiye (değiştirilmiş) salım sistemleri içerisinde incelenebilirler.

Salım karakterlerinin değişiklik göstermesi nedeniyle, kontrollü salım sistemlerini tanımlamak için çok sayıda ve farklı ifade kullanılmakta ve farklı kaynaklara göre değişik sınıflandırma şekillerine rastlanmaktadır.

- a) Geciktirilmiş salım sistemleri (*delayed release systems*):Etkin maddenin sistemden salımı belli bir bölgede olmaktadır. Genellikle mide sıvısından etken maddeleri korumak için intestinal bölgede salım yapabilen enterik kaplı ürünlerdir. (Vilar vd., 2012)
- b) Uzatılmış salım sistemleri (*extended release systems*): Uzatılmış tedavi sağlamak üzere uzun bir zaman süreci içerisinde salım yapan preparatlardır. (Vilar vd., 2012)
- c) Tekrarlanan doz içeren sistemler (*Pulsatile-release*): Tek bir dozaj şekli içinde etkin maddenin birden fazla dozu vardır ve bu dozlar belli zaman aralıkları ile salınırlar (Kost vd., 1985 ; Reddy vd., 2009)
- d) Zaman kontrollü modifiye salım sistemleri; Bu sistem, ilacı koruyan ve tutan bir system üzerinden serbest bırakılması içindir. Zamanlama ile control

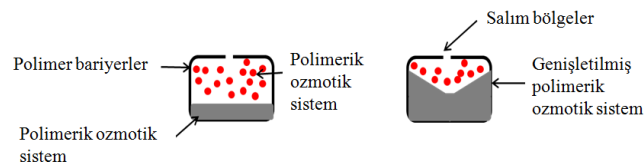
sayesinde bu sistem ilacın, dokularda terapötik konsantrasyonlara ulaşmasını sağlar. Bunun aksine, geliştirilmiş salım sistemi, önceden tespit edilmiş bir hızda veya uygulama dışındaki bir bölgede aktif maddenin salımı için tasarlanmıştır. Bu sistem de, ilaç salımını ayarlayan sistemlerin temelinde sınıflandırılabilir.



**Şekil 2.6** Plasmadaki ilacın absorpsiyonunun profili

Şekil 2.6 ilaç absorpsiyonu maksimum konsantrasyon ulaştığında genellikle aniden durmaz, ama eğrinin aşağı kısmı boyunca bir süre daha devam edebileceğini göstermektedir. Biyolojik olarak doz absorbe edildikten sonra ilaç emilimi zamanla sona erer. Bu nedenle, plazmadaki ilaç konsantrasyonu eliminasyon fazını metabolize edilme ile çıkarılması oranına bağlıdır (Vilar vd., 2012).

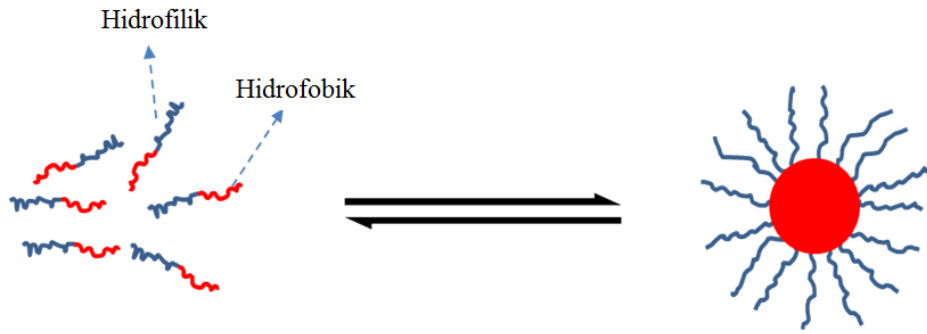
- e) Sürekli salım formülasyonu: Aktif madde sürekli sıfır düzenin bir kinetik profili ile serbest bırakılır. Bu tür bir sistemde en yakın farmasötik formülasyonlar ozmotik pompalardır (Şekil 2.7). Bu cihazlar, yarı-geçirgen polimer bariyerleri boyunca ozmotik potansiyel gradyanları ile ilaç çözeltinin çıkışı kontrol eder (Verma vd., 2001).



**Şekil 2.7** Ozmotik pompası, referanstan uyarlanmıştır (Verma, vd, 2000)

### 2.3. Blok Kopolimer Miselleri

Hidrofobik ve hidrofilik kısımlardan oluşan blok kopolimerlerin sulu ortamda bir araya gelerek polimerik miseller halinde toplandığı bilinmektedir (Douroumis ve Fahr, 2013). Blok kopolimer miselleri, düşük molekül ağırlıklı surfaktantlar ile oluşan misellerin çoğu özellikleri ile benzerlik gösteren yapılardır. Bunlar, seçici çözücüde çözüldüğünde blok kopolimerlerin kendinden oluşum (*self-assembly*) eğiliminin bir sonucu olarak ortaya çıkan küresel, silindirik, disk vb yapılardır (bkz. Şekil 2.8). Seçici çözücü, bloklardan biri için iyi bir çözücü iken diğeri için, bloğu daha az çözmekte olur. Bunun sonucu olarak çözünür blok koronayı (dış kabuk), çözünmez blok ise misel çekirdeğini oluşturur (Loh, 2002).



Şekil 2.8 AB tipi diblok kopolimer ile misel oluşumu.

Miselleşme, zaten düşük molar kütleli surfaktantlarla iyi açıklanmış bir olaydır, fakat amfifilik kopolimerler, oldukça düşük kritik misel konsantrasyonları, daha geniş ve sağlam yapılar oluşturmaları ve istenilen herhangi bir organik ya da sulu çözücüde miselleşme gibi potansiyel avantajları nedeniyle tercih edilmektedir. Bununla birlikte, amfifilik blok kopolimerler gerçekte düşük molar ağırlıklı surfaktantlara göre çok daha komplekstir (Hussain, 2004).

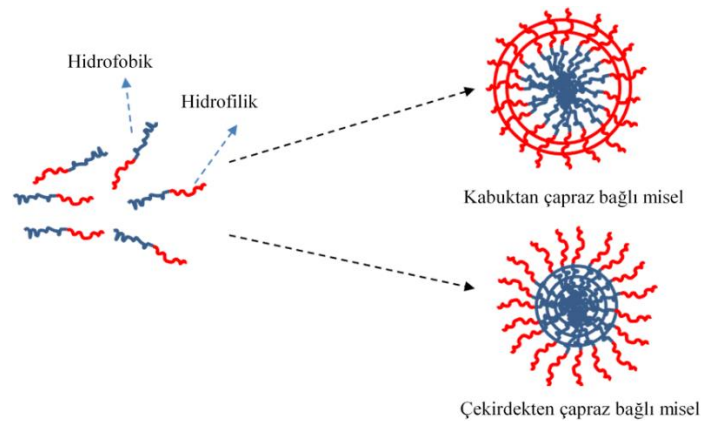
Canlı polimerizasyon tekniklerinin gelişmesi ile iyi tanımlanmış hidrofilik-hidrofobik blok kopolimerlerin hazırlanması mümkün hale gelmiş ve ilgi, sulu ortamda misel oluşumuna kaymıştır. Bu şekilde, suda misel oluşturabilen blok kopolimerler hidrofilik-

hidrofobik blok kopolimerler ve hidrofilik-hidrofilik blok kopolimerler olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

Hidrofilik-hidrofilik blok kopolimerler, sulu çözeltilerde moleküler olarak çözünebilirler ve daha sonra, bloklardan birinin çözünürlüğünün seçici olarak azalmasıyla miselleşme başlayabilir. Örneğin; PDMA-*b*-PMEMA (PMEMA: poli[2-(*N*-morfolino)etil metakrilat] diblok kopolimerleri, oda sıcaklığında moleküler olarak suda çözünürler; daha sonra bu moleküler halden, çözelti sıcaklığının artırılması (pH 7-8 arasında) veya tuz ilavesi ile PMEMA bloğunun dehidrate olması sağlanarak miselleşme gerçekleştirilir (Bütün vd., 2001). Yine hem PDMA-*b*-PDEA blok kopolimerleri hem de PDMA-*b*-PDPA blok kopolimerleri, düşük pH'larda tersiyer amin gruplarının protonlanması ile moleküler olarak çözünürken, çözelti pH'ın artırılması ile PDEA veya PDPA bloğunun deprotonlanması sonucu dehidrate olurlar ve miselleşme gerçekleşir (Bütün vd., 2001).

### 2.3.1. Çapraz bağlı miseller

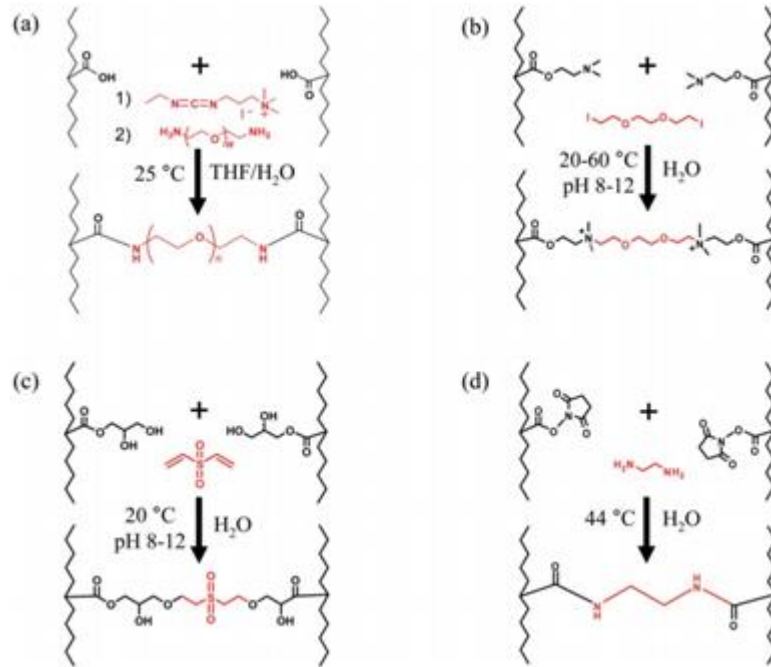
Kimyasal çapraz bağlanma, misellerin ayrışmasını önlemek için ve hidrofobik çekirdek içindeki ilacı korumak için önemli bir yoldur (Hu vd., 2006). Polimerik miseller bazı potansiyel çapraz bağlanma gruplarına sahiptir, ana zincir ucunda, merkez alanı içinde, kabuk tabakada, çekirdek-kabuk arayüzeyinde dahil olmak üzere ve yüzeyde. Kullanılan yöntem ek olarak, çapraz bağlanma oranı aynı zamanda bu şekilde elde edilen malzemenin stabilizasyonunu ve yapısına etki edebilir (Şekil 2.9) (O'Reilly vd., 2006).



Şekil 2.9 AB diblok kopolimerden oluşturulan misellerin çapraz bağlama yerleri

Ticari canlılığı için ideal bir çapraz bağlanmanın önemli koşulları; maliyet etkin olmalı, toksik olmayan, çevre sıcaklığında ve sulu çözelti içinde yapılabilmesidir. Çapraz bağlanma stratejisi çeşitli şekillerde yapılabilir (bkz. Şekil 2.10). Bunlardan bir tanesi, karbodiimid, 1,2-bis-(2-iyodoetoksi)etan (BİEE), divinil sülfon (DVS) ve aktive edilmiş esterler gibi çift fonksiyonlu çapraz bağlama maddeleri ile bir reaksiyonudur (Read ve Armes, 2007).

Bütün ve arkadaşları 2000'li yılların başında oldukça popülerite kazanan *shell crosslinked Knedel* (SCK çapraz-bağlı miselleri) sentezi alanında bir seri çalışma gerçekleştirmiştir (Bütün vd., 1999 a, 1999 b; 2001, Jiang vd., 2007). Oldukça önemli gelişmeler sağladıkları bu alanda ilk kez; a) miselin tekrar çözünübilirliği ve çekirdekte yer alan blokun hidrofilik-hidrofobik dönüşümünün mümkün olduğu SCK sentezi, b) yüksek konsantrasyonlarda SCK sentezi ve c) zwitteriyonik yapıda SCK sentezini başarı ile gerçekleştirmişlerdir. Daha sonraları bu tür çapraz bağlı miseller, "*shell cross-linked micelles*", SCL miselleri olarak da ifade edilmiştir (Liu ve Armes, 2001).



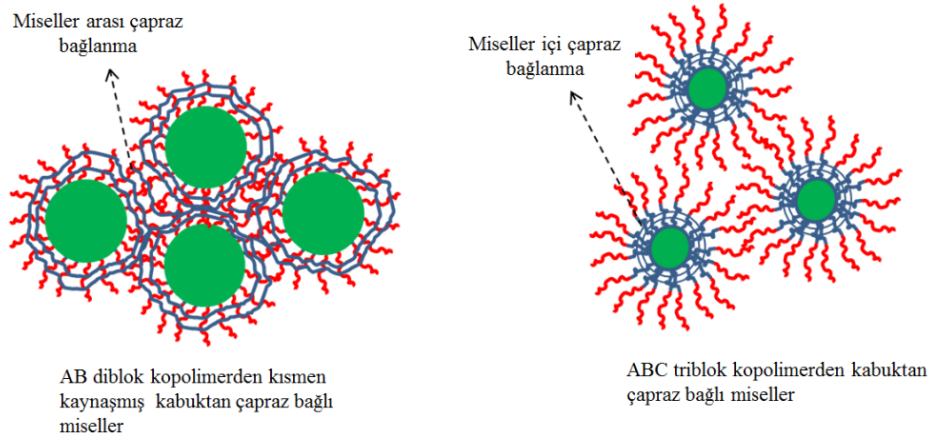
**Şekil 2.10** Çapraz bağlayıcıların ve uygun monomerlerin çapraz bağlama kimyası: (a) Bir karbodiimid katalizörü varlığında diaminler (b) BİEE (c) DVS ve (d) aktive edilmiş esterler (Read ve Armes, 2007).



1996 yılında, Wooley'in grubu kabuk çapraz bağlanmış miseller polistiren-*blok-poly(4-vinil piridin) (PS-b-PVP)*'den elde etmişler ve yayınlamışlardır. Polimerler, argon atmosferi altındaki anyonik polimerleşme yöntemi ile hazırlanmış, PS blok hidrofobik bloğu, PVP bloğunda hidrofilik bloğu oluşturmaktadır. Ayrıca PVP çapraz bağlanabilen grup ihtiva etmektedir. Sonuç olarak, bir bloğun intra-moleküler çapraz bağlanmasından sonra, benzersiz makromoleküler yapıya sahip olan yeni materyallerin hazırlanabilmesine imkan tanımıştır. İçi boş olan küresel polimerlere benzediği için, bunlar çeşitli uygulam alanlarında, salım işlemleri, hidrolik sıvılar gibi uygulamalarda kullanabilmektedir.

Ayrıca, Bütün vd., (1999 a) tarafından, poli[2-(*N*-dimetilamino)etil metakrilat]-*blok-poli(2-tetrahidropiraniil metakrilat) (PDMA-b-PHPMA)* diblok kopolimeri ön madde olarak kullanan zwitteriyonik kabuktan çapraz bağlı misellerin ilk sentezi rapor edilmiştir. Bu zwitteriyonik SCL sonradan hidrofilik özelliklere de sahip olmaktadır. Reaksiyon yollarına göre, SCK'nın iki türü elde edilmiştir. Birinci tür, BIEE kullanarak PDMA blok üzerinden çapraz bağlanmayı yapılmıştır. Zwitteriyonik SCL'in ikinci türünde, PDMA-*b*-PMAA blok kopolimeri vermek için, asit hidrolizi ile THP grupları PDMA-*b*-PMPMA ön maddeden ayrıştırılarak sentezlenmiştir. Bu zwitteriyonik blok kopolimerin yüksek sıcaklıktaki sulu çözelti içinde PDMA çekirdeği ve PMAA koronası ile miselleri oluştururlar. Bu misellerin kabuktan çapraz bağlanması 60 °C sıcaklıkta BIEE kullanarak sağlanmıştır. Bu kabuktan çapraz bağlanma kimyası daha hızlı reaksiyon zamanına sahip olduğu ve PMAA üzerinden esterleşmeyi içerdiği için dikkat çekicidir (PMAA homopolimerinin BIEE ile reaksiyon süresi 5 - 10 dakika).

AB diblok kopolimerlerden hazırlanan kabuktan çapraz bağlanmış miseller, istenmeyen miseller arası çapraz bağlanmayı engel olmak için, genellikle yüksek seyreltmede hazırlanırlar (Şekil 2.11). Armes grubu ilk kez AB diblok kopolimerlerin kullanımı yerine, yüksek konsantrasyonlarda misellerin çapraz bağlanmasında ABC triblok kopolimerlerin kullanımını başlatmışlardır. ABC triblok kopolimeri, kalıcı hidrofilik A bloğundan, [(poli(etileneoksit), (PEO)], çapraz bağlanabilen B bloğundan ve uyarıya duyarlı C bloğundan oluşmaktadır (Read ve Armes, 2007).



**Şekil 2.11** AB diblok kopolimerler misellerin arası çapraz bağlanma ve ABC triblok kopolimerleri misellerin içi çapraz bağlanma.

ABC triblok kopolimer kullanımı ile SCL sentezi ilk kez Armes'in grubu tarafından yapılmıştır. Kullanılan triblok kopolimer poli(etilen oksit)-*blok*-poli[2-(*N*-dimetilamino) etil metakrilat]-*blok*-poli[2-(*N*-morfolino) etil metakrilat] PEO-*b*-PDMA-*b*-PMEMA'dır. Bu triblok kopolimer 20 °C sıcaklıkta suda moleküler olarak çözülmüş, ama Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilavesi ile PMEMA bloğunun dehidrate olmasıyla, soğana benzeyen üç katlı miseller oluşturmuştur. Misellerin iç kabuğu suda çözünen PDMA bloğu ve dış kabuğu PEO ile oluşmuştur. İç kabuğun çapraz bağlanması 3-7 gün boyunca BIEE ilave edilmesi ile 20°C sıcaklıkta Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,0 M) varlığında sağlanmıştır. Aşırı seyreltme ile de çapraz bağlama gerçekleşebilir. Çünkü PEO blok sterik engellemeyi sağlayarak miseller arası çapraz bağlanmaya engel olmaktadır (Bütün vd., 1999 b).

Ayrıca, çözeltinin pH değeri tuz konsantrasyonuna nazaran kontrol edilmesi daha kolay ve daha uygundur. pH ile miselleşme, sıcaklık ile miselleşmeye göre, daha hidrofobik misel çekirdeklerine yol açabilmektedir. Liu vd.,(2002), poli(etilen oksit)-*blok*-poli[2-(*N*-dimetilamino) etil metakrilat]-*blok*-poli[2-(*N*-dietilamino) etil metakrilat] PEO-*b*-PDMA-*b*-PDEA'dan pH'ya duyarlı çekirdek ile SCL misellerin verimli sentezleri bildirmişlerdir. Triblok kopolimer ATRP ile hazırlanmış, PDMA bloğunu iç çapraz bağlanması pH 8,5-9,0'da BIEE ile ve oda sıcaklığında en az 3 gün boyunca karıştırarak sağlanmıştır. Çapraz bağlamadan sonra çözelti pH değeri 2'ye indirilerek, çekirdekteki PDEA blok protonlanmasın ile düşük pH'da sistem daha hidrofilik hale geldiği için, SCL misellerin hidrodinamik çaplarında artış gözlenmiştir.

### 2.3.2. Misellerin ilaç salım uygulamaları

İlaç salımı için, misellerin hidrofobik çekirdeği suda az çözünür ilaçlar için bir hazine olarak işlev görebilir, dış kabuk ise nano-taşıyıcının hızlı hareketinde ilacı koruyabilir. İlaç salım uygulamalarında polimerik misellerin seçiminde en önemli kriter biyolojik uyumluluk ve/veya biyo-bozunurluktur. Şu anda, en yaygın olarak kullanılan misel koronası oluşturucu polimer, polietilen glikoldür (PEG) (Mukerjee, 1971). Az çözünen ilaçların çözünürleştirilmesi için misellerin kullanılması, son birkaç on yıl içinde büyük ilgi çekmiştir (Jones ve Leroux, 1999). Sudaki çözünürlüğü düşük pek çok ilaç, özellikle anti-kanser ajanları arasında öne çıkmaktadır, çünkü birçoğu büyük polisiklik bileşiklerdir. Hidrofobiklik ilaç molekülünün bir ölçüde hücre çizgisine geçmek için gerekli ve hücre reseptörü ile etkileşim kurması için bu tür yapılara odaklanılmaktadır (Lipinski vd., 2012).

Amfifilik blok kopolimer tarafından oluşturulan misellerin kullanılmasının üzerine son yıllarda çokça çalışılmıştır. Albendazole (ABZ) gibi antikanser ilaçlarının özelliği suda çok düşük çözünürlüğü olmasıdır. Bu problemlerin üstesinden gelmek için, blok kopolimer miselleri ilaç taşıyıcı sistemler olarak incelenmiştir. Kim vd., (2012) ilaç salımı ve taşıyıcı olarak misellerin performansında çapraz bağlanmanın etkisi incelemiştir. Bu çalışma kapsamında, poli(etilen glikol)metil eter metakrilat-co-metakrilik asit)-*blok*-poli(metil metakrilat) P(MPEG-co-MAA)-*b*-PMMA blok kopolimerinin farklı serileri RAFT polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Bu kopolimerin kendinden oluşumlu miselleri albendazole için ilaç salım taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Çapraz bağlanma 1,8-diamino oktan ve EDC katalizörü kullanılarak PMAA blokları üzerinden gerçekleşmiştir. Sonuç olarak, çapraz bağlanmış misellerde, çapraz bağlanmamış misellere göre, ilaçların muhafaza zamanlarının daha yüksek olduğunu (ilaç salım sürecinde polimer ağı engel olarak görev yaptığı için) görülmüştür.

Yue vd., (2012) tarafından biyoloji olarak parçalanabilen Y-şekilli amfifilik blok kopolimer poli(etilen glikol)metil eter-*blok*-poli(-L-glutamat)-*blok*-(poli laktik asit) (MPEG-*b*-PLG-*b*-(PLA)<sub>2</sub>) kullanımı rapor edilmiştir. Bu blok kopolimerden kabuktan çapraz bağlanmış miselleri sentezlenmiş ve DOX ilacı için taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Y-şekilli blok kopolimerin DOX ile yüklü misellerini hazırlamak için, ilk olarak polimer ve

DOX asetonda çözdürülmüş, sonra PBS çözeltisine aktarılarak buharlaşma yöntemi izlenmiştir. Sonra, bu süspansiyon asetonun çoğunluğu buharlaştırılana kadar karıştırılmış, çözelti içerisindeki geri kalan aseton ise diyaliz ile ayrıştırılmıştır. DOX-yüklü kabuktan çapraz bağlanmış miseller PBS çözeltisinde oda sıcaklığında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan sistamin ile PLG bloğunun karboksil grupları üzerinden çapraz bağlanmaya sokulmuş ve 12 saat boyunca karıştırılmıştır. pH 7,4'te ilaçların salım davranışları, SCL misellerden DOX salımının, çapraz bağlanmamış misellerdeki salıma göre, daha yavaş olduğunu göstermektedir.

Xu vd., (2011) tarafından sentezlenen  $\alpha$ -metoksipoli(etileneoksit)-*b*-poli[*N*-(3-aminopropil)metakrilamit]-*b*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (mPEO-*b*-PAPMA-*b*-PNIPAM) blok kopolimeri hem sıcaklık hem de pH duyarlı olarak kullanımı bildirilmiştir. Oda sıcaklığında, polimer hidrofilitir ve sulu çözeltisinde unimerler olarak bulunmaktadır. Çözelti sıcaklığı, PNIPAM bloğun alt kritik çözelti sıcaklığının üstüne çıkarıldığında, PNIPAM bloğu dehidrate olarak hidrofobik karakter kazanmakta ve misel çekirdeği oluşturmaktadır. PAPMA bloğu misel iç kabuğunu ve mPEO bloğu da misel koronasını oluşturmaktadır. PAPMA bloğu, bölünebilen imin bağları ile kabuktan çapraz bağlanmış miselleri oluşturmak için idealdir. pH 9,0'da tereftaldikarboksaldehit (TDA) ile çapraz bağlama gerçekleştirilmiştir. pH ve sıcaklığa bağımlı olarak SCL misellerin davranışları, sıcaklığın 25 °C ye ve pH'ın da 5'e kadar indirilmesi ile incelendi. Burada misellerin parçalanması bölünebilir amin ile oluşmakta, ama çapraz bağlama misellerin parçalanmasına engel olamaktadır. Aynı zamanda, prednisolon 21-asetat (PA) ilaç yüklenmiş SCL misellerden hidrofobik modelin salımı belirli pH ve sıcaklık koşullarında incelenmiştir. PA'nın salımı, çözelti pH'ı normal fizyolojik koşulların altında, yavaş ama devamlı salım olarak endozomal koşullarında karşılaştırılmalı olarak net bir şekilde gözlenmiştir. Bu sonuçlar imin bağlarını etkileyen çözelti pH'ı ve model ilacın kontrollü salımında önemli olduğunu göstermektedir.

Sıcaklık duyarlı blok kopolimerde PNIPAM'ın kullanımı He vd., (2011) tarafından rapor edilmiştir. Poli(etilen oksit)-*blok*-poli(*ter*-bütil akrilat)-*blok*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (PEO-*b*-PtBA-*b*-PNIPAM) kopolimerlerini ATRP ile sentezleyerek asit hidrolizi ile poli(etilen oksit)-*blok*-poli(akrilik asit)-*blok*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (PEO-*b*-PAA-*b*-PNIPAM) blok kopolimerlerini üretmişlerdir. Dox-yüklü, tabakalar arası çapraz

bağlı miselleri hazırlamak için ilk olarak DOX.HCL'ı DMF'te çözüp sonra hidroklorürü ayırtmak için trietilamin eklemişlerdir. Sonra, bu DOX çözeltisi, PEO-*b*-PAA-*b*-PNIPAM polimerinin sulu çözeltisine eklenmiş ve miselleşmeyi sağlamak için çözelti sıcaklığı 37 °C'ye çıkarılmıştır. Çapraz bağlanma, 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC) ve 2,2'(etilendioksi)bis(etilamin) (EDEA) eklenmesiyle PAA bloğu üzerinden karboksil gruplarının reaksiyonuyla gerçekleşmiştir. İlaç salım çalışması pH 7,4'te, 37 °C ve 25 °C sıcaklıklarda yapılmıştır. DOX ile yüklenen triblok kopolimer, sıcaklık duyarlı olarak ilaç salımı davranışı göstermiştir. Ayrıca çapraz bağlanma, ilaç salımını yavaşlatmıştır.

Poli[2-(*N*-dietilamino) etil metakrilat]-*blok*-poli[2-(*N*-dimetilamino) etil metakrilat]-*blok*-poli(*N*-izopropilakrilamit) (PDEA-*b*-PDMA-*b*-PNIPAM) blok kopolimerinin çift duyarlı SCL miselleri ve DIP ilacı salımı davranışları Jiang vd.,(2007) tarafından rapor edilmiştir. Miselleşme için, oda sıcaklığında ve pH 4-5 arasında sulu çözelti içerisinde blok kopolimerin, PDEA bloğunun misel çekirdeğini oluşturması için çözelti pH 9'a ayarlanmıştır. Kabuktan çapraz bağlanmış miseller üretmek için BIEE'nin eklenmesi ile PDMA bloğu reaksiyon vererek çapraz bağlanmıştır. Sonra, DIP ilacı SCL misel çözeltisine eklenmiş, çözeltinin pH'ı 4-5 arasına ayarlanarak DIP'nin tam çözünmesi engellenmiş, sonra çözelti pH 9'a tekrar getirilmiştir. İlaç salımının çalışması ise pH 8 ve 5'in altında hem 37 °C hem de 25 °C sıcaklıklarda yapılmıştır. Aynı sıcaklıkta düşük pH ile, DIP salımı daha çok yüksektir. pH 5'te, 37 °C ve 25 °C sıcaklıklardaki salım çalışmalarında, 37 °C sıcaklıkta olan çalışmada DIP salımının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni PNIPAM koronasında termal aşama geçişi ile ilaç molekülleri için daha fazla geçirgenliğe neden olması olarak bildirilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Polimer sentezlerinde 2-(*N*-diizopropilamino)etil metakrilat (DPA, Aldrich,  $\geq$ %98) ve *ter*-bütil metakrilat (*t*BuMA, Tokyo Chemical Industriel, %98) monomerleri kullanılmıştır. Monomerler kullanılmadan önce içerdikleri radikal inhibitöründen ayrıştırılmak için bazik alümina kolondan geçirilerek saflaştırılmış ve reaksiyonlarda kullanılmadan önce -20°C sıcaklıkta soğutucuda saklanmışlardır.

ATRP makrobaşlatıcısı olarak kullanılan MPEG-Br, poli(etilen glikol)metil ether (Fluka, MPEG<sub>45</sub>-OH, M<sub>n</sub> 2000 g/mol) ve 2-bromoizobütiril bromürden (BIBB, Aldrich %98) trietilamin (TEA, Merck, %99) varlığında sentezlenmiştir.

Bakır (I) bromür (Cu(I)Br, ChemPUR, %99,9) ve 2,2'-bipridin (Bpy, AlfaAesar, %98) ATRP' de katalizör sistemi olarak kullanılmıştır.

1,2-Bis(iyodoetoksi)etan (BIEE, Aldrich-%96) çapraz bağlı misel sentezlerinde çapraz bağlayıcı ajanlar olarak kullanılmışlardır.

Hidroklorik asit (HCl, Aldrich, %36,5) polimer modifikasyonunda kullanılmıştır.

Selüloz diyaliz membran (Sigma, 14 000 g/mol ) çapraz bağlı misel çözeltilerini saflaştırmak için ve in vitro ilaç salım çalışmalarında kullanılmıştır.

Aksi belirtilmediği sürece tüm kimyasallar Sigma-Aldrich' den temin edilmiştir.

#### 3.2. MPEG-Br Makrobaşlatıcı Sentezi

MPEG (M<sub>w</sub> : 2000 g / mol, 20 gr) 100 ml kadar tolüen içeren balonuna ilave edilip ve 20 dakika karıştırılmıştır. 2,3 ml BIBB'nin ilavesinden önce TEA ( 2,6 mL ) ana balona ilave edilmiş, reaksiyona 72 saat boyunca devam edilerek daha sonra oluşan tuzlar

filtrelenmiştir. Vizkoz çözelti elde edilene kadar, evaporatör kullanılarak çözücü buharlaştırılmıştır. MPEG-Br makrobaşlatıcısı, 500 ml dietil eterin içinde çökelti olarak geri toparlanmış ve 2 kez yıkanıp daha sonra 24 saat vakum altında kurutulmuştur.

### 3.3. MPEG-*b*-*t*BuMA-*b*-PDPA ve MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA Kopolimerin Sentezi

MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerin sentezi ATRP ile gerçekleştirilmiştir. Bütün sentetik adımlar, nitrojen atmosferi altında gerçekleştirildi. MPEG-Br ( 2 gr ) makro-başlatıcı olarak , Cu(I)Br ( 0,134 gr ) ve Bpy ( 0,29 gr ), 50 ml ana reaksiyon balonuna ilave edilip inert haline getirmek için azotlanır. Diğer tarafta, anisol (15 ml) ve *t*BuMA (7,5 ml) ayrı ayrı olarak aynı şekilde N<sub>2</sub> ile inertlenmiştir. 15 dakika sonra anisol kanüla yardımıyla ana balonuna aktarılmıştır. Çözelti kahverengi bir renk almış olup, MPEG-Br tam olarak aktiflenmesini sağlamak için 15 dakika süre ile karıştırılmıştır. *t*BuMA kanula kullanılarak reaksiyon balonuna aktarılarak 24 saat reaksiyona devam edilmiştir. Az miktarda (0,3 ml) numune alınarak, GPC ile analiz edilmiştir. Sonra anisol (10 ml) ve DPA (10,8 ml) (üçüncü blok olarak ) reaksiyon balonuna aktarılmıştır. 24 saat sonunda reaksiyon sonlandırılıp aseton ile seyreltilmiştir. Buradan elde edilen ürün önce bazik alumina kolonu ile bakır kalıntılardan ayrıştırılıp evaporatör yardımıyla çözücüsü uzaklaştırılarak 24 saat vakum altında kurutulmuştur.

Elde edilen polimerin *ter*-bütil grupları 72 saat boyunca oda sıcaklığında THF içerisinde konsantre edilmiş HCL ile hidrolize edilmiştir. Çözelti yapışkan hale gelene kadar çözücü buharlandırdıktan sonra dietil eter içinde çöktürülmüştür. Son ürün 24 saat vakum altında kurutulmuştur. MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> triblok kopolimerin sentezi, MPEG-Br'nun (4 gram), Cu(I)Br'nun (0,264 gr) ve bpy'nin ( 0,58 gr) miktarı değiştirerek aynı yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.4. Misellerin ve SCL Misellerin Hazırlaması

MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok polimeri %1,0 konsantrasyonda olacak şekilde damıtılmış suda çözündürülmüştür. 1,0 M NaOH kullanarak çözelti pH değeri 10 olarak ayarlanmıştır. Hem dinamik ışık saçılımı (DLS) hem proton NMR spektroskopisi ile miselleşme incelenmiştir. PMAA bloklara göre çeşitli çapraz bağlama dereceleri

amaçlanarak iç kabuğu çözelti pH değeri 10'da ve 20 °C sıcaklıkta, 2 saat boyunca BIEE ile çapraz bağlanmıştır.

### 3.5. DIP İlacın Yüklenmesi Ve İn-Vitro Salım Çalışmaları

DIP (10 mg) 5 ml pH 3 değerindeki su içinde tam çözünmesi sağlamak için 10 dakika karıştırılmıştır. Başka bir şişede 0,4 g polimer 35 ml su içinde çözülmüştür. İlaç çözeltisi polimer çözeltiliye ilave edilmiştir (polimer konsantrasyonu %1). Çözeltinin pH 10'a ayarlamak için NaOH ilave edilerek 24 saat boyunca karıştırılmıştır. İlaç yüklü miselar çözeltisi oda sıcaklığında 20 dakika boyunca dengeye bırakılarak daha sonra kapsüllenmemiş DIP çıkarılması için 0,45 mikrolitrelik filtreden süzülmüştür. UV-Vis absorpsiyon analizi 283,52 nm'de (su ile seyreltilip ve tekrar pH 3,0'a ayarladıktan sonra) misel çekirdek içinde kapsüllenmiş ilaç için yapılmıştır. Daha sonra, çözelti 4 kısma ayrılmıştır (herbiri 10 ml). Çapraz bağlama reaksiyonu % 0 (çapraz bağlanmamış olmadan), % 20, % 40 ve % 60 olacak şekilde (PMAA ya bağlı olarak) yapılmıştır. Çapraz bağlama reaksiyonu, BIEE çapraz bağlayıcı kullanarak ve 2 saat boyunca karıştırılarak yapılmıştır. Dört sistem için aynı anda paralel olarak zamana bağlı ilaç salım deneyleri yapılmıştır. Her ilaç yüklü SCL misel çözeltisinden 2 ml alınıp, R-14000 bir moleküler ağırlık kesmesine sahip diyaliz tüpler içine aktarılmış daha sonra pH 7,4 ve 37 °C sıcaklıkta 200 mL tampon çözümleri içine batırılmıştır. Alikotları (2,0 mL) tampon çözeltiden zaman aralıklarında alınmıştır. Çözelti su ile seyreltilip ve pH değeri 3,0'a ayarlanmıştır. İlaç salım hızını belirlemek için UV-vis spektroskopisi ile 283,52 nm'de ölçüm alınmıştır. Bu arada, tampon çözümleri sabit toplam hacmi tutmak için her örneklemeden sonra 2,0 mL taze tampon eklenmiştir.

### 3.6. Jel Geçirgenlik Kromatografisi

Tüm polimerin molekül ağırlıkları ( $M_n$ ) ve molekül ağırlık dağılımları ( $M_w/M_n$ ), GPC ile belirlenmiştir. GPC cihazı bir Agilent 1200 serisi olup bir pompa, bir refraktif index (RI) dedektör, bir UV dedektör içermekte olup sentezlenen polimerin molekül kütlesine bağlı olarak, mixed kolonlardan (mixed "C", "D" ve "E") oluşmaktadır.

GPC cihazı, molekül ağırlıkları 650 g/mol ile 220000 g/mol arasında değişen PMMA homopolimer standartları kullanarak kalibre edilmiştir. GPC sürükleyici fazı



olarak, HPLC türü THF (Sigma-Aldrich) kullanılmış olup, BHT (2,6-di-t-bütül-4-metil fenol, Fluka) ile stabilize edilmiştir. THF akış hızı 1,0 mL/dak olarak seçilmiştir.

### 3.7. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR)

Tüm blok kopolimer bileşimleri (mol oranları) ve gerçek polimerizasyon dereceleri Bruker AC-P 400 MHz veya 500 MHz cihazı ile  $CDCl_3$  çözücüsü kullanılarak incelenmiştir. Hidrolizden sonra elde edilen blok kopolimer bileşimleri, DMSO çözücüsünde belirlenmiştir. MPEG-Br başlatıcısının metil sinyal fragmanına bağlı  $\delta$  3,3-3,4 ppm deki sinyal, triblok kopolimerin her bloğun polimerizasyon gerçek derecesini (DP) tahmin etmek için kullanılmıştır.  $^1H$  NMR çalışmaları Bruker AC-P 400 MHz veya 500 MHz cihazı ile yapılmıştır. Polimer miselleşmeleri davranışları,  $D_2O$  içinde ortam pH'nın DCl ve NaOD kullanılarak ayarlanması ile incelenmiştir.

### 3.8. Dinamik Işık Sacılım Ölçümleri

Su ortamında blok kopolimerin misel hidrodinamik çapları ve misellerin polidispersite indeks değeri (PDI),  $\lambda_0 = 632$  nm'de çalışan 22mV Helyum-Neon Lazeri ve ALV/LSE-5003 Multiple Tau Digital korrelatör donanımlı bir Malvern ALV – CGS-3 spektrometre cihazı ile ölçülmüştür. Bütün ölçümler,  $90^\circ$  sabit açıda alınıp ve %1,0 (w/v) konsantrasyonlarında sulu fazda yapılmıştır. Aynı şartlarda misellerin ebatlarının ve ebat dağılımlarının belirlemede DLS ölçümlerinden yararlanmıştır

### 3.9. Zeta-Potansiyometresi

Elektroforetik hareketlilik ölçmeleri Zeta sizer nano ZS cihazı (Malvern) kullanarak yapılmıştır. Ölçümler üç kez yenilenmiştir. Smuluchowski yaklaşımı nedeniyle elektroforetik hareketlilikten elde edilmiş SCL misellerin Zeta potansiyal değerleri, pH'a bağlı olarak incelenmiş ve SCL misellerin çapraz bağlama derecelerinin değişiminin izoelektrik nokta üzerine etkisi tespit edilmiştir. Hem DLS hem zeta-potansiyal ölçümleri için, SCL misellerin konsantrasyonu %1,0 olarak ayarlanmıştır.

### **3.10. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)**

Blok polimerler miselleri gözlenmesi için mikro-grafiklerinin alınmasında JEM 1220 TEM cihazı kullanılmıştır.

### **3.11. UV-Vis Spektrofotometresi**

Elde ettiğimiz ilaç yüklü misellerin ilaç yükleme miktarını ve salım oranlarını belirlemeye yardımcı olması amacıyla Perkin Elmer UV/vis Lambda 35 Spektrofotometre cihazı kullanılarak 283,52 nm'deki absorpsiyonlar ölçülmüştür.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA Triblok Kopolimerin Sentez ve Karakterizasyonu

Amfifilik MPEG-*b*-P*t*BuMA-*b*-PDPA triblok kopolimerinden hidroliz yöntemi ile pH-duyarlı MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok kopolimeri elde edilmiştir. Makrobaşılatıcı olarak MPEG-Br, monomer olarak ise *t*BuMA ve DPA kullanılarak ATRP ile sentez gerçekleştirilmiştir. MPEG-Br, 2-bromoizobütiril bromür (BIBB) ve MPEG'in esterleşme reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen makrobaşılatıcı ile anisol (çözücü) ve CuBr/Bpy (katalizator sistem) varlığında MPEG-*b*-P*t*BuMA-*b*-PDPA triblok kopolimeri sentezlenip bu polimerin hidroliz edilmesiyle pH duyarlı MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok kopolimeri elde edildi (Şekil 4.1).

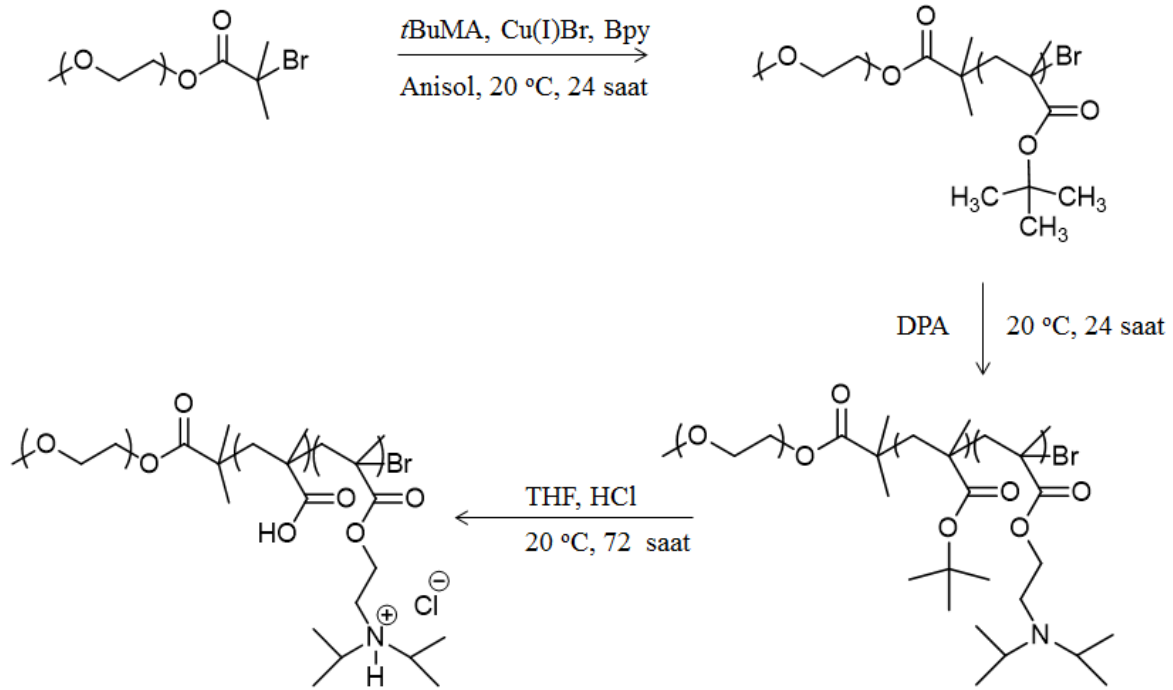
MPEG ve BIBB'nin esterleşme reaksiyonu toluen varlığında TEA ilavesi ile MPEG-Br eldesi sağlanmıştır. Ortama BIBB'in fazlası ilave edilerek MPEG hidroksil gruplarının tamamının dönüştürülmesi amaçlanmıştır. Molekülün ağırlık ortalaması ( $M_n$ ) ve moleküler ağırlık dağılım indeksi değerini ( $M_w/M_n$ ) belirlemek için GPC kullanılmıştır (Şekil 4.2) Sonuçlar Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. MPEG-*b*-P*t*BuMA-*b*-PDPA triblok kopolimer sentezinde her bloğun GPC kromatogramları Şekil 4.2 de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.1** Sentezlenen polimerler

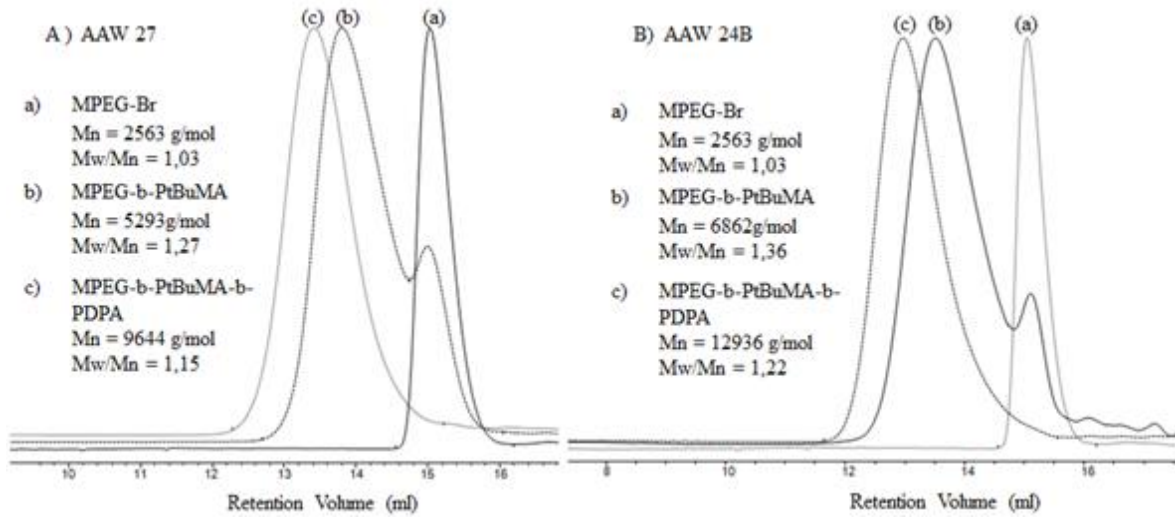
Kode	Bileşimleri	PD**	$M_n$ (g/mol) **	Öncü Madde $M_w/M_n$ *
AAW 27	MPEG- <i>b</i> -MAA- <i>b</i> -DPA	45/20/18	7700	1,15
AAW 24B	MPEG- <i>b</i> -MAA- <i>b</i> -DPA	45/47/47	16220	1,22

\* GPC ile belirlenmiştir

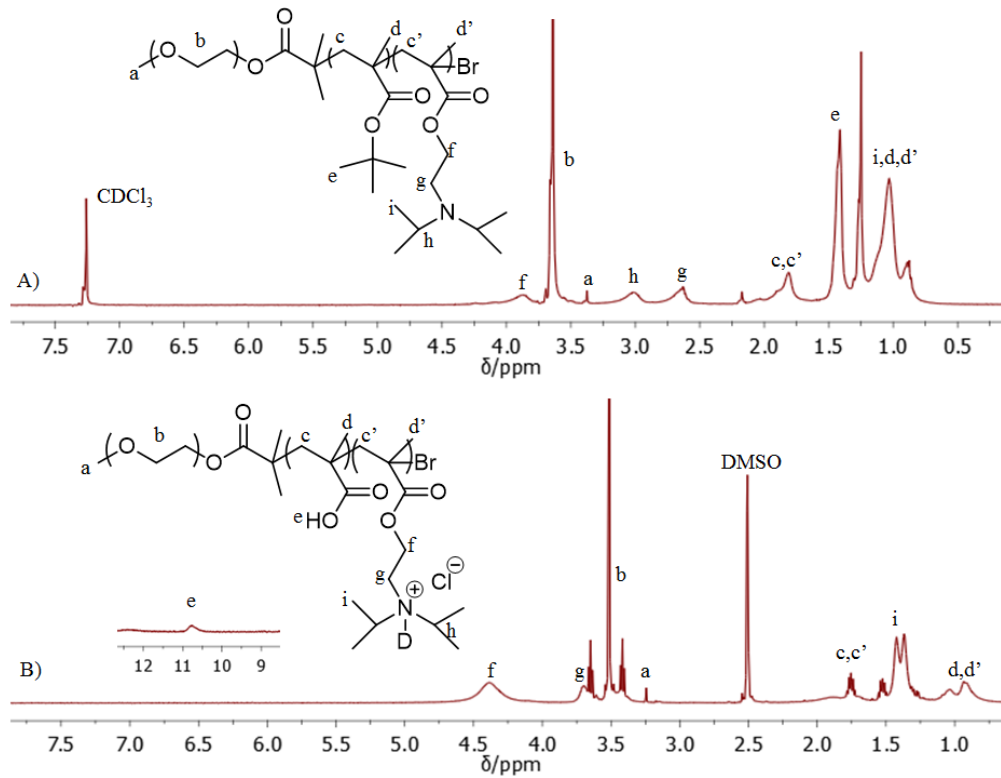
\*\*  $^1H$  NMR spektrumlarından hesaplanmıştır



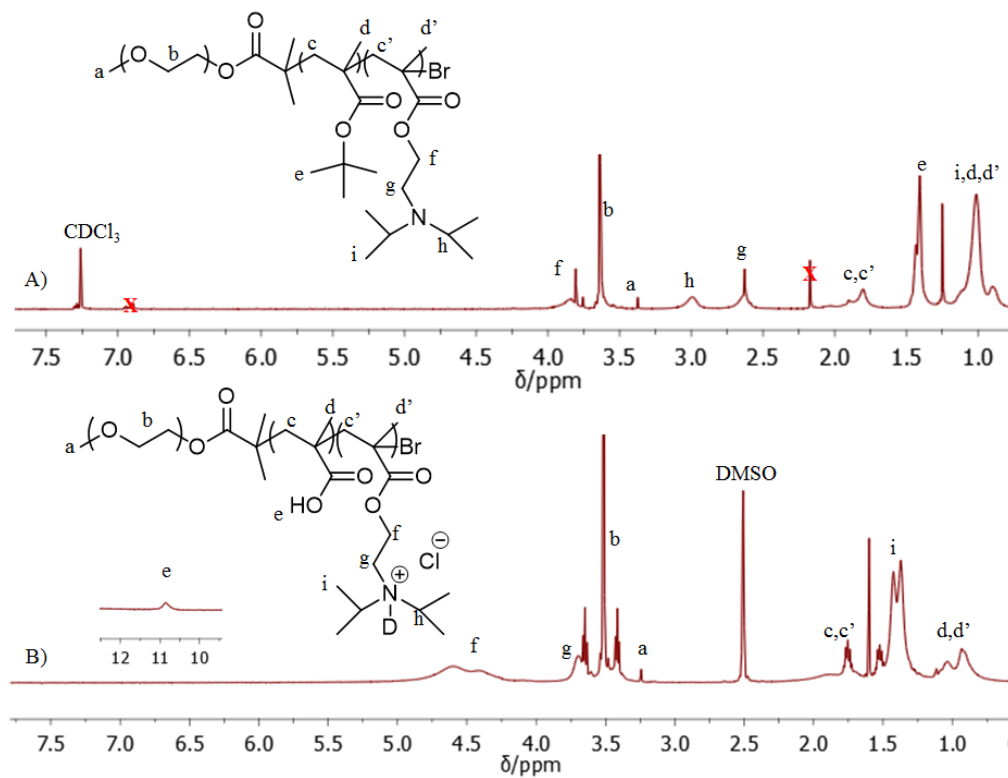
**Şekil 4.1** MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok kopolimerin ATRP ve asit hidroliz yöntem ile sentezi



**Şekil 4.2** MPEG<sub>45</sub>-*b*-PtBuMA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> (A) ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PtBuMA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> (B) triblok kopolimerin sentezinde her bloğun GPC kromatogramları



Şekil 4.3  $^1\text{H}$  NMR spektrumları: (A)  $\text{MPEG}_{45}\text{-}b\text{-PtBuMA}_{20}\text{-}b\text{-PDPA}_{18}$  ve (B)  $\text{MPEG}_{45}\text{-b-PMAA}_{20}\text{-b-PDPA}_{18}$



Şekil 4.4  $^1\text{H}$  NMR spektrumları: (A)  $\text{MPEG}_{45}\text{-}b\text{-PtBuMA}_{47}\text{-}b\text{-PDPA}_{47}$  ve (B)  $\text{MPEG}_{45}\text{-b-PMAA}_{47}\text{-b-PDPA}_{47}$

MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA triblok kopolimer sentezi aşamalarının <sup>1</sup>H NMR spektrumları (CDCl<sub>3</sub>) Şekil 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. Spektrumda (Şekil 4.3A ve 4.4A)  $\delta = 3,6$  ppm'de gözlenen sinyal MPEG'in yapısında bulunan metilen protonlarına ait karakteristik sinyaldir. Triblok kopolimerin blok uzunluklukları uç grup analizi ile kullanılmıştır.  $\delta = 3,6$  ppm'de gözlenen MPEG'e ait CH<sub>3</sub>- protonları uç grup olarak belirlenmiştir. Hem  $\delta = 1,4$  ppm'de PtBuMA'nın ter-bütül grubuna ait 9 protonunun integral alanı hem de  $\delta = 1,1$  ppm'de DPA'nın diizopropil amino grubuna ait 12 protonluk integral alanı MPEG'in 3 protonu ile karşılaştırarak MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA polimerinin her bir bloğunun gerçek polimerizasyonun derecesi sırasıyla 45/20/18 ve 45/47/47 olarak hesaplanmıştır.

Hidroliz ürünü MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA (DMSO-d<sub>6</sub> çözüsünde) triblok kopolimeri <sup>1</sup>H NMR ile karakterize edilmiştir ve spektrumlar Şekil 4.3B ile Şekil 4.4B'de verilmiştir. Spektrumlarda görüldüğü gibi  $\delta = 1,4$  ppm'de gözlenen ter-bütül grubunun protonu yerine hidrolizden sonra DPA'nın diizopropil amino grubunda bulunan 12 protonu gelmiştir. Ter-bütül grubunun kalıntısı bulunmayıp grubun tam hidrolizi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

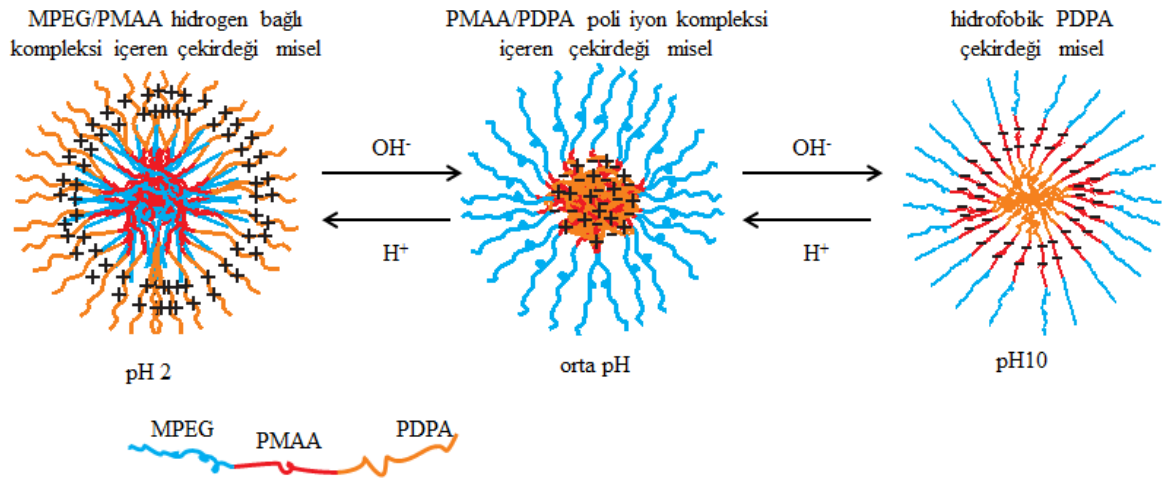
#### **4.2. pH Duyarlı MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA Triblok Kopolimerin Misellerinin Hazırlanması**

MPEG bloğu çok hidrofilik olduğu ve suda iyi çözünebildiği bilinmektedir. PMAA, pK<sub>a</sub> 4,4 ile iyonize hidrofilik polimerdir. PMAA, bazik ortamda zayıf anyonik polielektrolit olduğu için, moleküler olarak suda çözünürken asidik çözeltilerde daha az çözünebilir (Liu vd., 2009). PDPA homopolimeri pK<sub>a</sub> 6,4 değerine sahip zayıf bir poli bazdır (Bütün vd., 2011; Liu vd., 2002) ve asidik çözeltilerde katyonik polielektrolit gibi suda çözünebilir.

Son zamanlarda, H. Liu vd. (2009) ABC miktoarm yıldız terpolimerlerin, PEG-*b*-(PMAA)-*b*-PDEA, pH-duyarlı miselleşmesi hakkında bilgi vermiştir. Üç çeşit misel kümeleşmesi gözlenmiştir. Bunlar; düşük pH'larda hidrojen bağı ile bağlı çekirdeği PEG/MAA kompleksi içeren miseller, orta pH'larda katyonik diblok kopolimer ve anyonik

homopolimer arasındaki polielektrolit kompleksi ve yüksek pH'larda çekirdeği hidrofobik PDEA bloktan oluşturan misellerdir.

MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerin orta ve son blokların pH duyarlılık farklılığı ve izoelektrik noktasına sahip olması nedeni ile pH ile farklı miselleşme davranışları göstereceği düşünülmüştür. MPEG ve PMAA pH < 4'te kuvvetli bir hidrojen bağ yapar ve pH < 4'ün altında, çekirdeği MPEG/PMAA kompleksinden oluşan misel yapılar oluşturulmuştur. Bu yapıların stabilizasyonu ise dışarıda kalan hidrojen bağlanmasına katılmamış MPEG ve protonlanmış PDPA blokları tarafından sağlanmaktadır (Şekil 4.5).

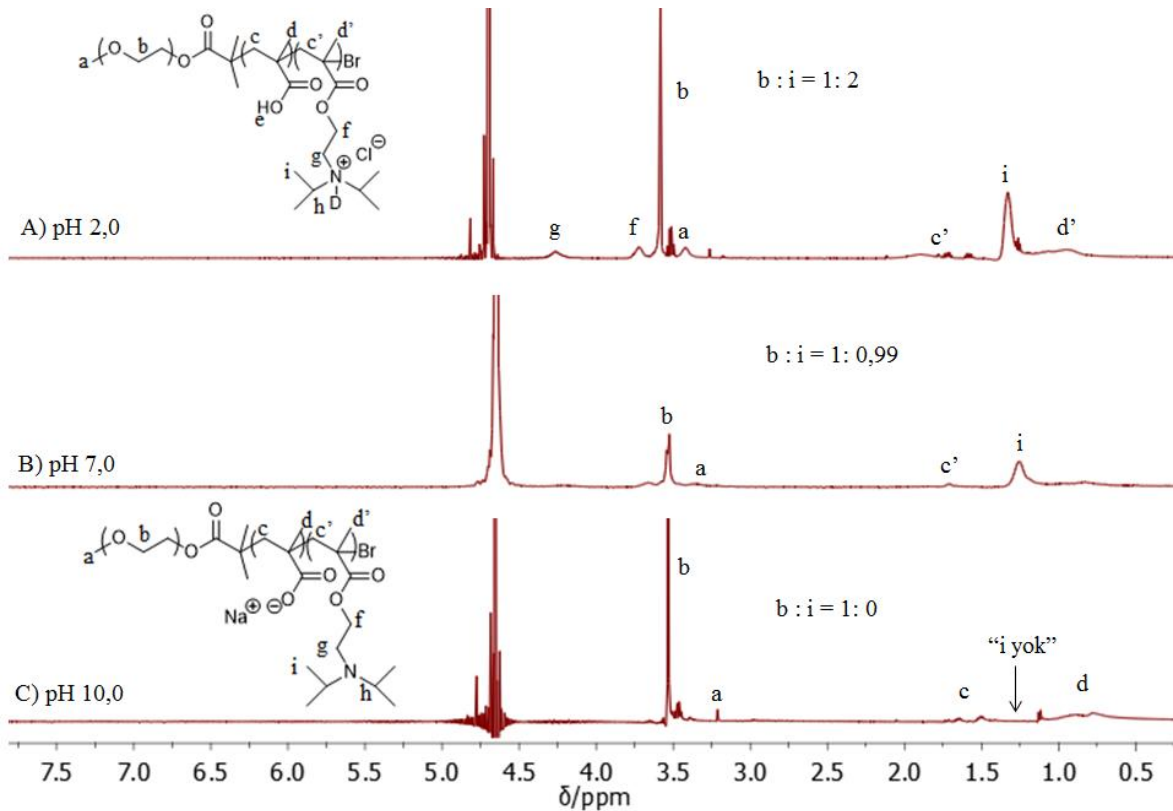


**Şekil 4.5** MPEG-*b*-PMMA-*b*-PDPA triblok kopolimerin 3 çeşit misel oluşumu şematik gösterimi

<sup>1</sup>H NMR spekturumları pH değeri 2'de hem MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> hem de MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerleri, MPEG'in metilen protonlarının (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-) varlığını göstermektedir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Bu durum, bazı MPEG protonlarının PMAA ile hidrojen bağı oluşturduğunu işaret etmektedir. pH değeri 7,0'de ki <sup>1</sup>H NMR spektrumu incelendiğinde, teorik olarak, bu pH'da poli-iyon kompleks çekirdeğine (izoelektrik nokta) sahip olan misellerin oluşması gerekmesine rağmen, PDPA'nın izopropil grubundan proton hala bulunduğu görülmüştür ancak pH değeri 2,0'dekinden daha az orandadır. Bu durumda MPEG ve PMAA'nın arasında hidrojen bağının bozulmaya başlayıp, PDPA/PMAA poli iyon kompleks çekirdeği yerleştirmeye

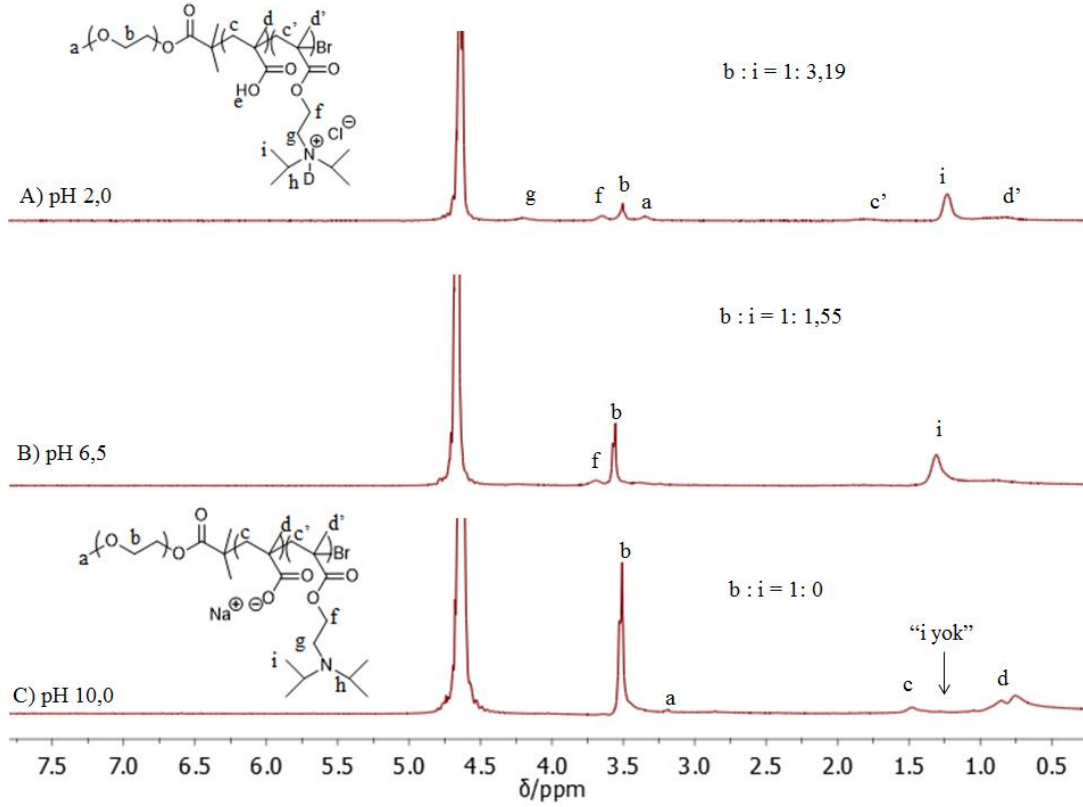
başladığını göstermektedir. DLS çalışmaları ile pH değeri 6,4'te misellerin çapındaki artış teyit edilmiştir.

pH değeri 10'da, PDPA bloğu protonlanmamış halde bulunur ve oluşturduğu misellerin çekirdeğine hidrofobik özellik kazandırır (Şekil 4.6C ve Şekil 4.7C ). Öte taraftan PMAA bloğu ise tamamen iyonlaşarak hidrofilik hal alır. pH değeri 10'daki  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu bu söylemi doğrular niteliktedir.  $\delta = 1,4$  ppm'de PDPA'nın izopropil grubuna ait sinyal tamamen ortadan kalktığı ancak MPEG'in ve PMAA'nın sinyali, kalıntıların varolduğu gösterir. Bu sonuç, beklendiği gibi, pH değeri 10'da, PDPA-çekirdekli, protonlanmamış PMAA ve nötral MPEG karışımından oluşan korona misellerin varlığı ile uyumuştur.  $\text{MPEG}_{45}\text{-}b\text{-PMAA}_{20}\text{-}b\text{-PDPA}_{18}$  ve  $\text{MPEG}_{45}\text{-}b\text{-PMAA}_{47}\text{-}b\text{-PDPA}_{47}$ 'dan, PDPA-çekirdekli misellerin oluşumu için şema Şekil 4.5'te verilmiştir.



**Şekil 4.6**  $\text{D}_2\text{O}$  içinde pH değişimi ile  $\text{MPEG}_{45}\text{-}b\text{-PMAA}_{20}\text{-}b\text{-PDPA}_{18}$  misellerin  $^1\text{H}$  NMR spektrumları : (A) pH 2,0; (B) pH 7,0 ve (C) pH 10,0



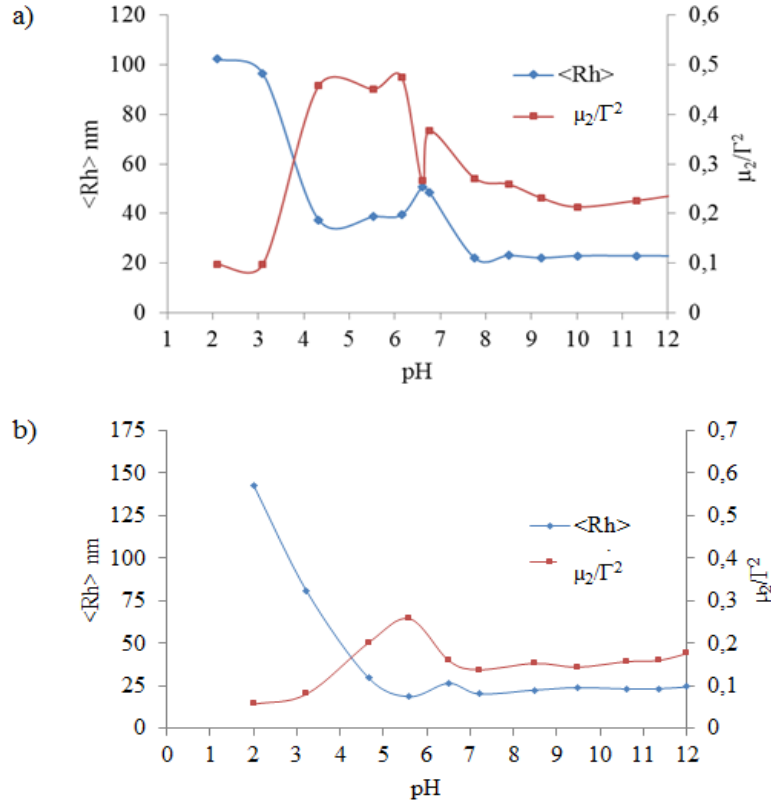


**Şekil 4.7** D<sub>2</sub>O içinde pH değişimi ile MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> misellerin <sup>1</sup>H NMR spektrumları : (A) pH 2,0; (B) pH 6,5 ve (C) pH 10,0

DLS ile yapılan çalışmalar, sulu çözeltide 20 °C sıcaklıkta MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>4</sub> triblok kopolimerlerden kendi kendine bir araya gelerek oluşan miseller için pH ile  $\langle R_h \rangle$ 'nin değiştiğini göstermektedir (bkz. Şekil 4.8). pH > 8 olduğu durumda,  $\langle R_h \rangle$  sabit kalmaktadır. MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> için  $\langle R_h \rangle = 23$  nm ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> için  $\langle R_h \rangle = 21$  nm'dir. Bu sonuçtan MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub>'nin, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub>'ye göre daha büyük PDPA-çekirdekli miseller oluşturduğu görülmektedir. Bu da, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub>'da bulunan PDPA içeriği daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. pH 8'in altında, iki triblok kopolimerin  $\langle R_h \rangle$ 'ı önemli bir artış göstermektedir. pH 8'in altında, PMAA bloğun karboksilik asit grubu iyonlaşmış halde bulunurken öte yandan PDPA bloğunun bir kısmının protonlanmamasından dolayı onun bazı katyonik özelliğini kaybetmesine neden olur. Yani PMAA iyonlaşarak bir kısmı negatif yük kazanırken, PDPA'nın da bir kısmı pozitif yük kazanacaktır. Bu nedenle, yük-telafili MPEG korona ile PMAA/PDPA çekirdeğe sahip miseller oluşmaktadır. MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> triblok kopolimerlerin mışleşme davranışlarının birbirine benzer

olduğunu söylenebilir. Şekil 4.8'ya bakıldığında, pH değeri 4,7-6,6 aralığında  $\langle R_h \rangle$ 'ın arttığı ve *ulaşabileceği en yüksek değere* ulaştığı (MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> için ~50,5 nm) görülmüştür. Bu durumda,  $\langle R_h \rangle$  pH değeri 8'in altında belirgin olarak arttığı ve yaklaşık pH değeri 6,4'te maksimuma ulaştığı söylenebilir.

Zwitterionik diblok kopolimerler genelde izoelektrik noktada sulu çözeltilerde çökme eğilimindedirler. Bu çalışmada, non-iyonik PEG bloğu, hem poli iyon kompleksler için sterik stabilizatör olarak davranabilmektedir, hem de orta pH'da sabit misellerin oluşumunu engellemektedir. pH değeri 2,0 ile 4,0 arasında geniş çaplı miseller gözlenmiştir. pH değeri 2,0'de MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> triblok kopolimeri için  $\langle R_h \rangle = 100$  nm ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimeri için  $\langle R_h \rangle = 124$  nm'dir. Misellerin çekirdeği hidrojen bağlı PEG/PMAA tarafından oluşturulduğunu ve PDPA'nın protonlaşmış kabuklar tarafından oluşması beklentimizi karşılamaktadır. İki misel sistemi için 0,1'e yakın polidispersite indeks değerleri ( $\mu_2/\Gamma^2$ ), dataların güvenilirliği sağlamaktadır (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8** Farklı pH'larda misellerin hidrodinamik yarıçapı  $\langle R_H \rangle$  değişimi : (a) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve (b) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub>

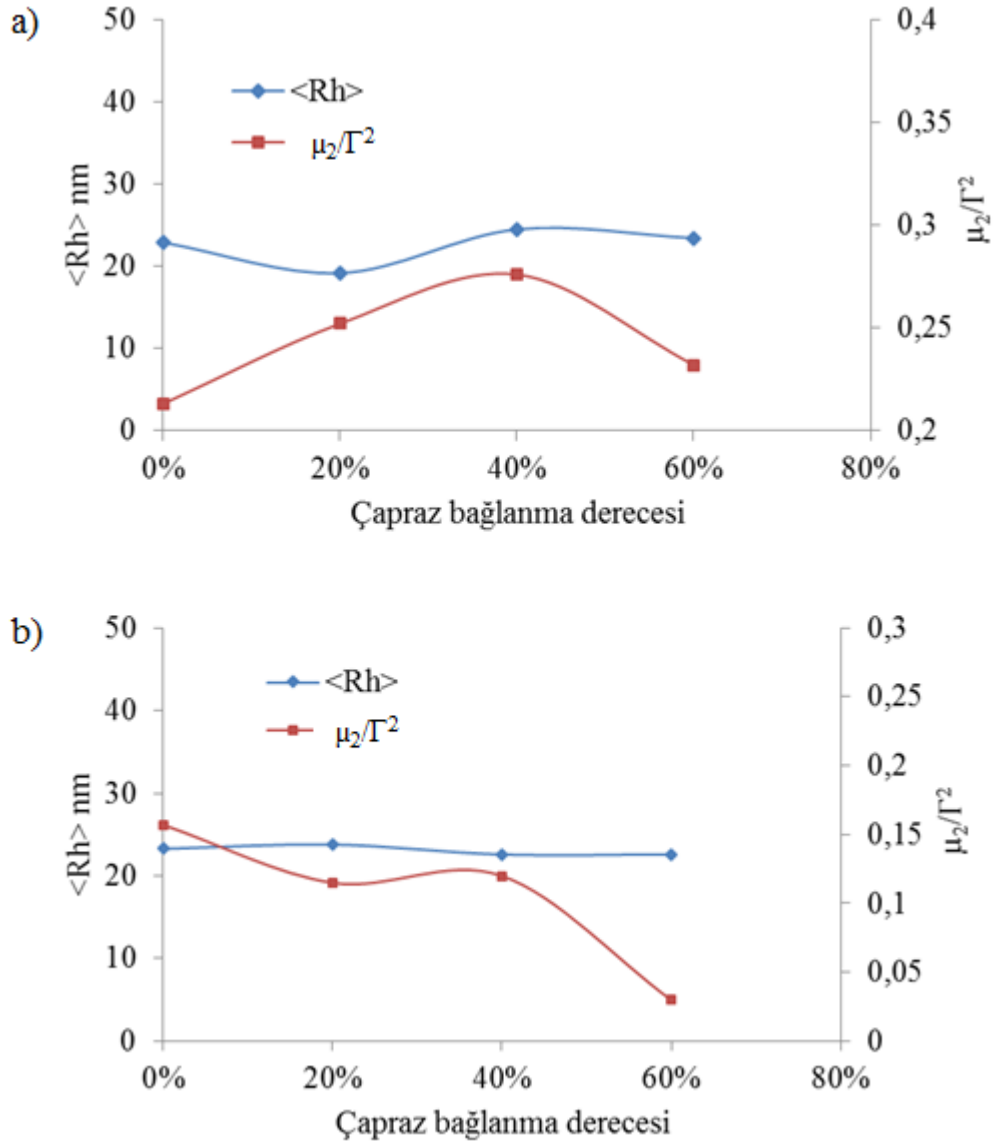
### 4.3. PDPA pH Duyarlı Çekirdek İçeren Kabuk Çapraz Bağlanmış Miseller

BIEE, blok kopolimerde DMA kalıntıları çapraz-bağlamak için ve misel yapılarını kilitlemek için çok kullanılmıştır. ( Bütün vd., 1999, 2011, 2006; Jiang vd., 2007; Liu ve Armes, 2001). Fakat, BIEE kullanarak DMA kalıntıları çapraz-bağlamak için, en az 3 gün etkileşmesi gerekmektedir. Öte yandan, Bütün vd., (1999 a), PDMA-*b*-PTHPMA önmaddeden iki çeşit zwitteriyonik kabuk çapraz-bağlanmış misel sentezi yapmıştır. Birinci çeşit için çapraz-bağlanma PDMA kısımları üzerinden yapılırken ikinci çeşit için ise PMAA kısımları üzerinden yapılmıştır (asit hidrolizi tarafından THP grubun çıkarılmasından sonra). BIEE, PMAA karboksil kısımları arasında daha hızlı reaksiyon vermiştir. MAA homopolimer için yaklaşık 4-10 dakika arasında çapraz bağlanma tamamlanmıştır.

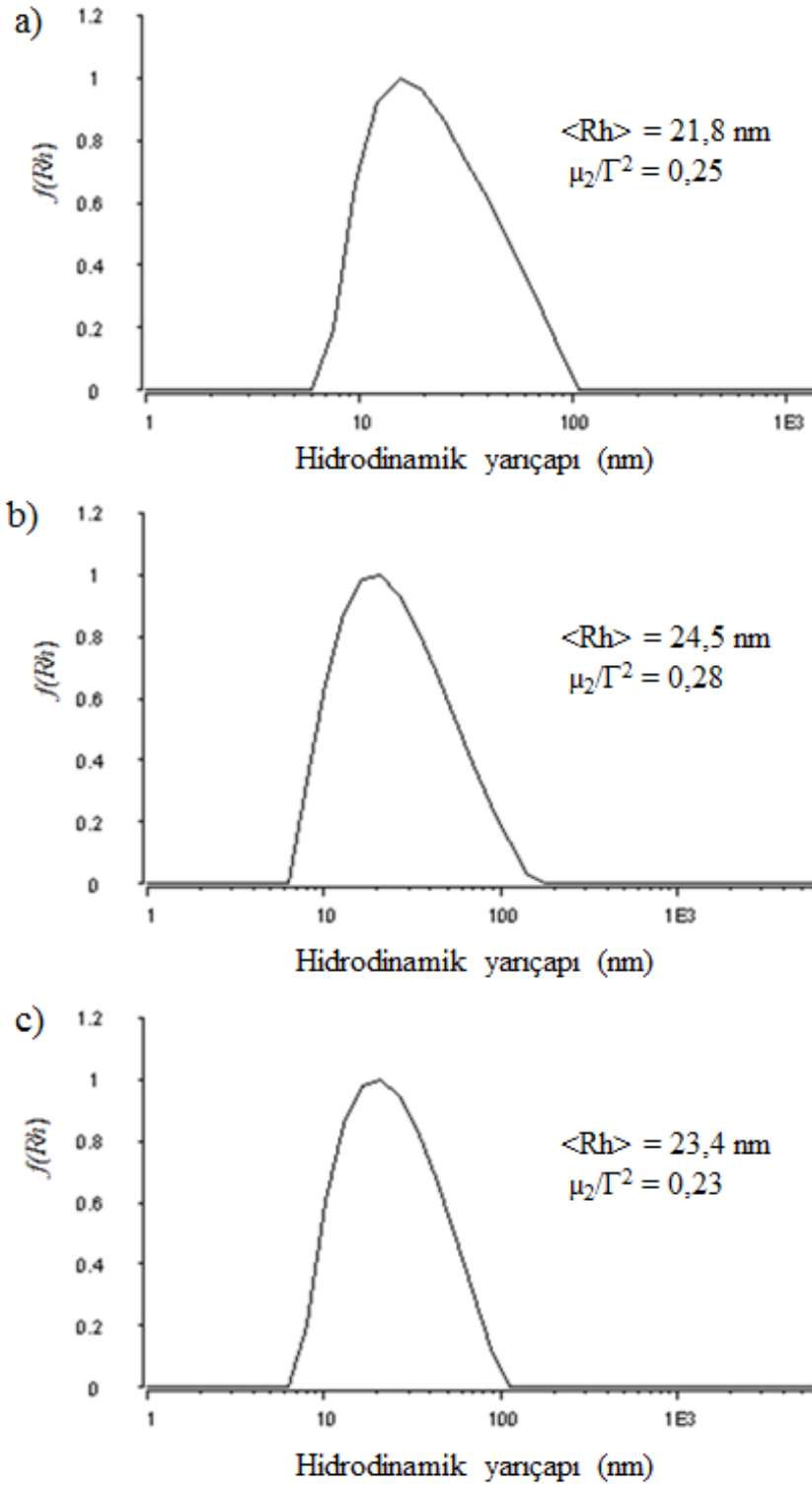
Yukarıdaki verilere göre, bu çalışmada, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimeri sentezlenmiştir. SCL misellerin sentezi için, ilk olarak, MPEG/PMAA kompleks çekirdekli miselleri tehlikeye sokan toplama oluşumundan dolayı görüntüsü bulanık olan triblok kopolimerler saf suda doğrudan çözüldü. Çözeltinin pH 10'na kadar artırılarak, iyonlaşmış PMAA ve MPEG kabuğu ve PDPA-çekirdekli misellerin oluşumu gösteren maviye doğru belirgin bir renk alır. Kendiliğinden çapraz-bağlı, BIEE'nin toplaması ile iç hidrate haldeki PMAA tabakanın çapraz bağlanması gerçekleştirilmiştir. Çapraz-bağlama hedefi PMAA bloğundaki karboksil grubuna dayalı olarak %20, %30, ve %60 olacak şekilde ayarlanmıştır. Çözelti 1250 rpm hızında karıştırılırken, BIEE ilave edilir ve ilaveden sonra 2 saat boyunca karıştırılır.

Çapraz bağlanmadan sonra, DLS ile yapılan çalışmalarda pH 10'da MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> için hidrodinamik yarıçapın  $\langle R_h \rangle$ , çapraz bağlanma derecesi arttıkça, kısmen de olsa doğrusal olarak arttığını gösterir. Çapraz bağlanma derecesi %40 ve %60 iken  $\langle R_h \rangle$  değeri yaklaşık  $\sim 23$  nm'dir (bkz. Şekil 4.9 a). MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı  $\langle R_h \rangle$  22-24 nm arasında olup çapraz-bağlanmadan sonra nispeten benzerdir. pH değeri 10'da SCL misellerin polidispersite indeks değerleri MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> için 0,24 ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-

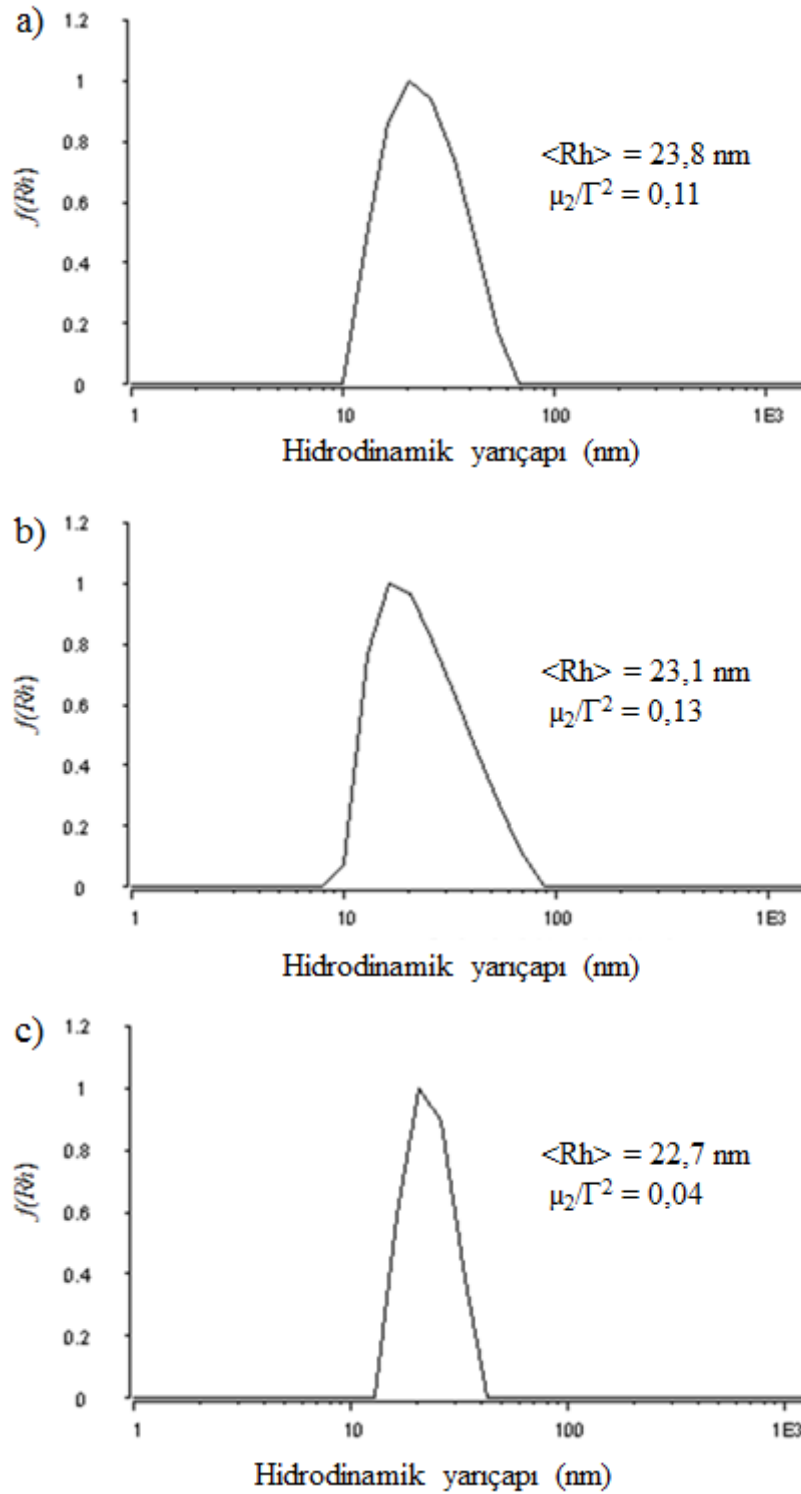
PDPA<sub>47</sub> için 0,1 civarındadır (bkz. Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). PMAA iç tabakada yer aldığını ve miseller arasında çapraz bağlanmayı MPEG kabuğu ile sağlanan sterik stabilizasyondan dolayı engellendiği söylenebilir.



**Şekil 4.9** Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde SCL misellerin hidrodinamik yarıçapları: (a) MPEG<sub>45</sub>-b-PMAA<sub>20</sub>-b-PDPA<sub>18</sub> ve (b) MPEG<sub>45</sub>-b-PMAA<sub>47</sub>-b-PDPA<sub>47</sub>

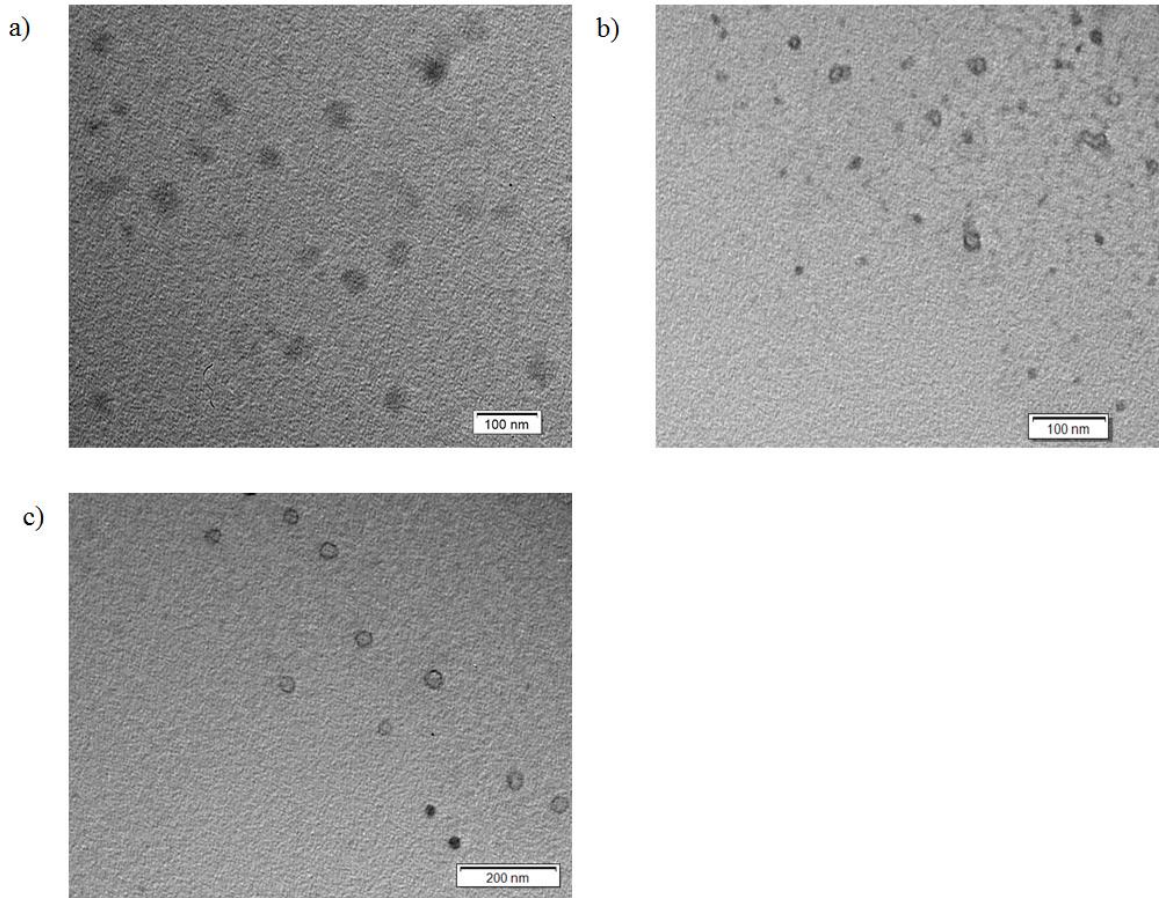


**Şekil 4.10** pH 10'da, çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve sulu çözelti içinde (%1,0) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı dağılım fonksiyonları: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20, (b) % 40 ve (c) % 60



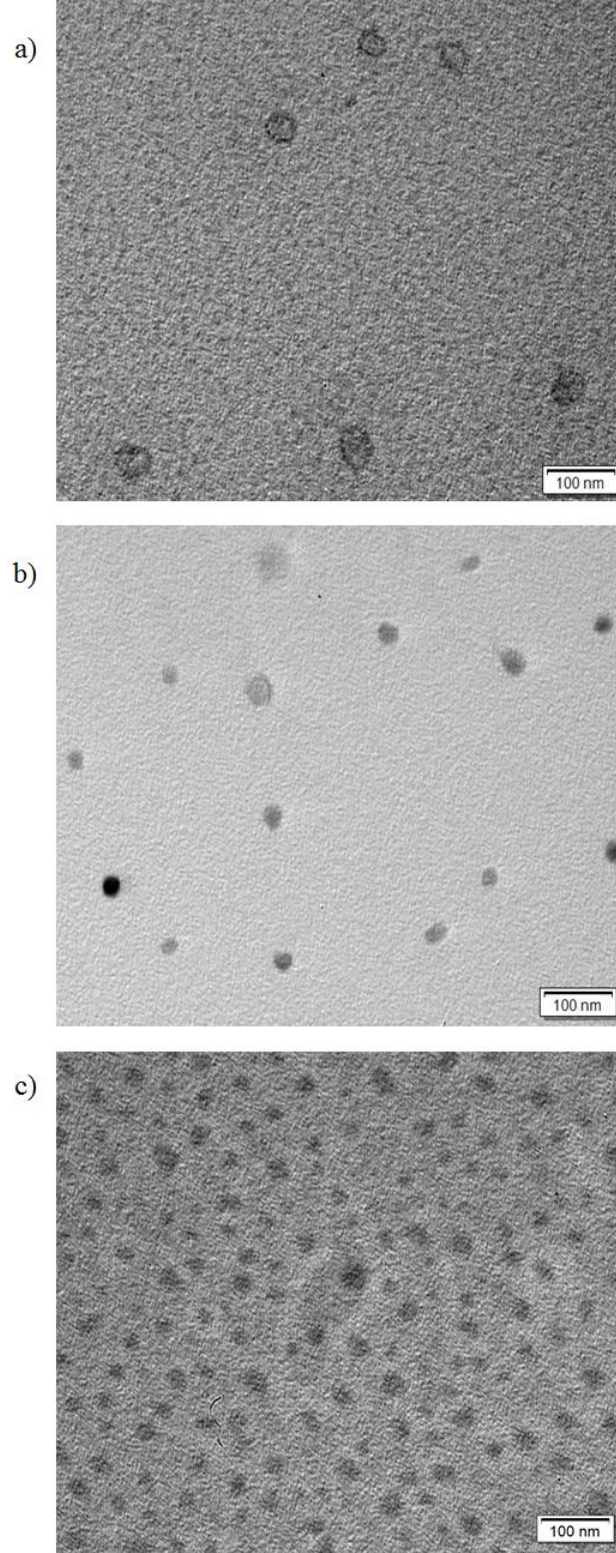
**Şekil 4.11** pH 10'da, çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve sulu çözelti içinde (%1,0) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı dağılım fonksiyonları: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20, (b) % 40 ve (c) % 60

SCL misellerin TEM görüntüleri (Şekil 4.12 ve 4.13) tahminen DLS'den elde edilene göre daha küçük çap ile küresel şeklinde misellerin varlığını göstermektedir. Genelde TEM ile elde edilen çap sonuçlarının DLS'den elde edilene göre daha küçük olduğu bilinir. Çünkü TEM kuru halinde hacimleri yansıtırken DLS sulu ortamda bulunan nispeten yayılmış PEG ve PMAA koronanın hacimleri yansıtır. Bu nedenle DLS ile yapılan çalışmalarda misellerde bulunan sudan dolayı hidrodinamik çapları, TEM ile yapılan çalışmalar sonucuna göre daha yüksek değerlerdedir.



**Şekil 4.12** Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> SCL misellerin TEM görüntüleri: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20  $\langle Dh \rangle = \sim 39-40$  nm, (b) % 40  $\langle Dh \rangle = \sim 17-20$  nm, (c) % 60  $\langle Dh \rangle = \sim 38-40$  nm

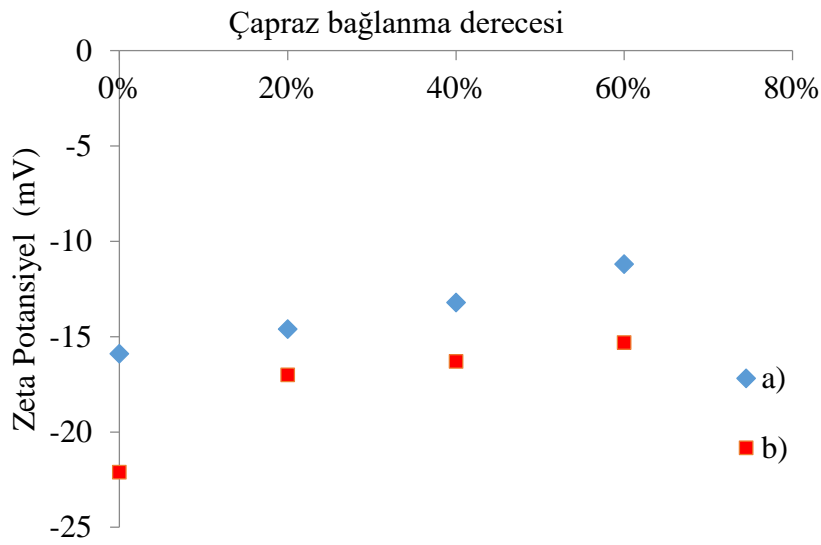




**Şekil 4.13** Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> SCL misellerin TEM görüntüleri: Çapraz bağlanma derecesi (a) % 20  $\langle Dh \rangle = \sim 37-40$  nm, (b) % 40  $\langle Dh \rangle = \sim 25-30$  nm, (c) % 60  $\langle Dh \rangle = \sim 31-33$  nm

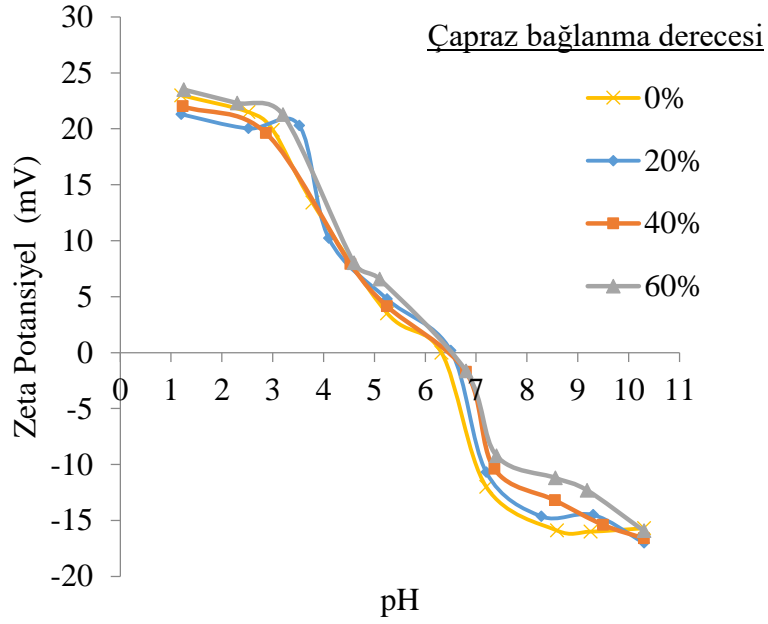


SCL misellerde çapraz bağlanma reaksiyonu olup olmadığını belirlemek için pH değeri 8,0-9,0'da zeta potansiyeli ölçülmüştür (Şekil 4.14). Çapraz bağlanma oranının artması ile zeta potansiyelindeki artışın bir doğrusallık göstermesi beklentimizi karşılamaktadır. Yüksek pH'da PMAA negatif yük kazanacağından BIEE ile arasında esterleşme reaksiyonundan dolayı, zeta potansiyelin artışı PMAA'nın negatif yükün azalışı ile anlatılabilmektedir. Çapraz bağlanma hedefi ne kadar yüksekse, daha çok PMAA ve BIEE reaksiyon vereceğinden daha çok negatif yük kaybedileceğinden zeta potansiyeli pozitif yönde artacaktır.

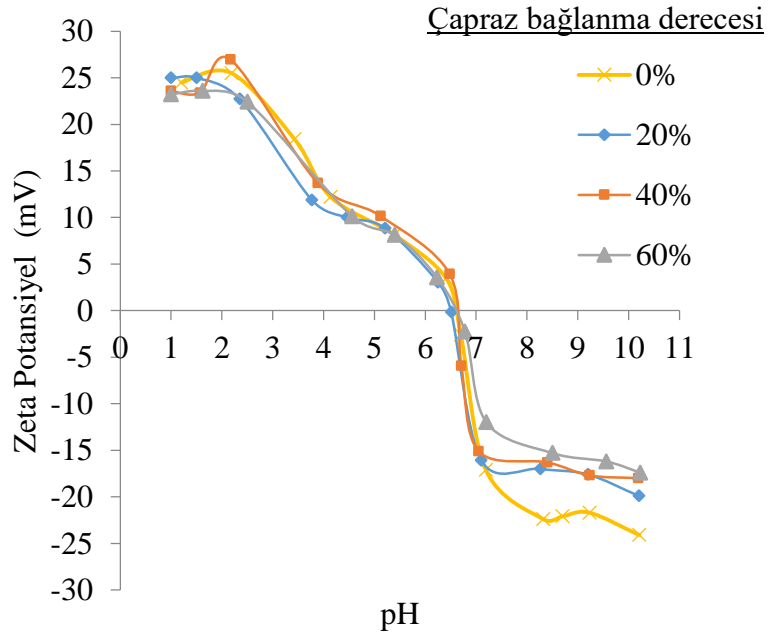


**Şekil 4.14** Çeşitli çapraz bağlanma derecesinde ve pH 8-9 aralığında SCL misellerin zeta potansiyeli: (a) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve (b) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub>

Çeşitli pH'larda SCL misellerin zeta potansiyeli Şekil 4.15'te ve Şekil 4.16'da gösterilmektedir. Yüksek pH'da çapraz bağlanma oranının artması ile zeta potansiyel değerinin arttığı görülmüştür. Çünkü çapraz bağlanma oranı yüksek hedefin zeta potansiyeli, düşük çapraz bağlananınkine göre yüksektir. Fakat düşük pH'da, DPA bloğunun protonlanmasından dolayı pozitif zeta potansiyel değeri görülmektedir. Çünkü çapraz-bağlı bütün hedef derecesinde DPA miktarları hemen hemen aynıdır.



Şekil 4.15 Çeşitli pH'larda MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> SCL misellerin zeta potansiyeli



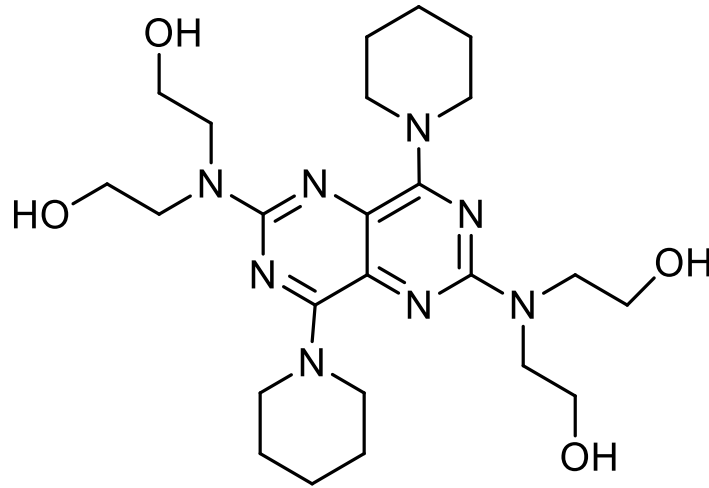
Şekil 4.16 Çeşitli pH'larda MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> SCL misellerin zeta potansiyeli

#### 4.4 İlacın Yüklenmesi ve İn-Vitro Salım Çalışmaları

Misellerin hidrofobik kısımlarına uygun şartlarda hazırlanan ilaçlar yüklenebilmektedir. Dipiridamol (DIP) yüksek pH'larda çok düşük bir çözünürlüğe sahip

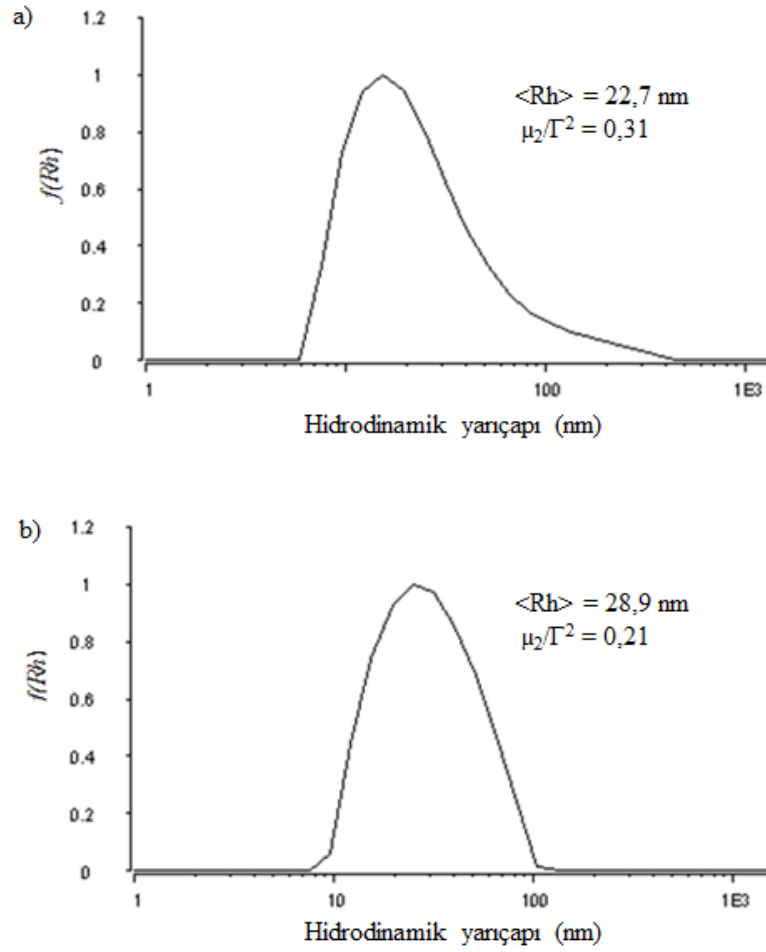
olup, koronari vazodilatör bir ilaçtır. DIP pH değeri 4,9'un altında amin grubu protonlanmış olduğu için suda çözünürken (Şekil 4.17), pH değeri 4,9'un üstünde suda çözünmeyip sarı, iğne şeklinde kristaller olarak bulunur (Tang vd., 2003).

DIP, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimeri, misellerin kontrollü salım özelliklerini değerlendirmek için örnek ilaç olarak kullanılmıştır. DIP, yüzey aktif misellerin varlığında hidrofobik çekirdeğe yerleştirilir. SCL miseller hidrofilik, biyoyumlu PEG tabakalı ve pH dayanıklı PDPA çekirdekten oluşmasından dolayı ilaçlar için taşıyıcı sistem olabilme potansiyeline sahiptir. DIP sulu çözelti içinde pH değeri 3,0'te kopolimer miseller ile karıştırdıktan sonra, NaOH ile çözeltinin pH değeri 10 civarı ayarlanarak DIP misellerin çekirdeğine hapsedilir ve buradan salımı gerçekleştirilir.



Şekil 4.17 Dipiridamol'un (DIP) kimyasal yapısı

Misellerin DIP yükleme kapasitesi MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerleri için sırasıyla yaklaşık 5,9 mg/g ve 9,7 mg/g olduğu hesaplanmıştır. DLS ile yapılan analizlerde DIP yüklü misellerin boş misellere göre daha geniş hidrodinamik yarıçapa sahip olduğu görülmüştür. DLS ile hesaplandığı gibi, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerleri için DIP yüklü misellerin hidrodinamik yarıçapları sırasıyla 22,7 nm ve 28,9 nm'dir (Şekil 4.18).

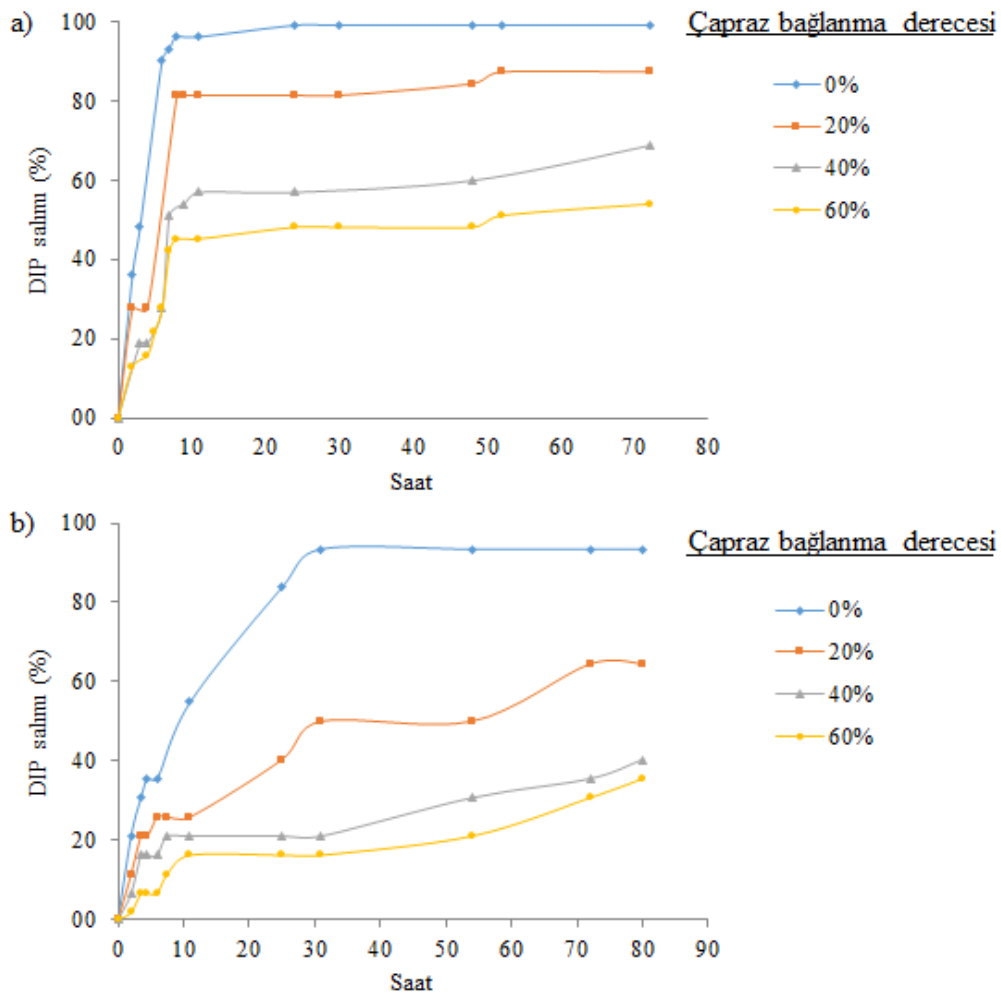


**Şekil 4.18** pH 10'da, DIP yüklü sulu çözelti içinde (%1,0) triblok kopolimerin hidrodinamik yarıçapı: (a) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve (b) MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub>

Daha uzun PDPA zincirine sahip polimerlere daha fazla miktarda ilaç yüklendiği görülmüştür. İlaçları misellerin çekirdeğine yükledikten sonra, çözelti dörde bölünmüş (herbiri 10 ml), sonra misel ara kabuğu çapraz-bağlı PMAA oranı %0, %20, %40 ve %60 olacak şekilde hazırlanmıştır. Çapraz-bağlanmanın farkını belirlemek için ilaç salım profili diyaliz yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. Dış tampon çözeltide salınmış DIP miktarı, DIP'in pH değeri 3,0'da belirlenen maksimum absorbans dalga boyu 283,52 nm kullanılarak tespit edilmiştir.

Şekil 4.19'da farklı çapraz bağlanmanın hedef derecesinde ilaç-yüklü SCL misellerden tampon çözeltide biriken DIP salımının zamana bağlılığı gösterilmiştir. İlaç yüklü çapraz bağlanmamış miseller ve SCL miseller pH değeri 7,4'te 37 °C sıcaklıkta

tampon çözeltiye yerleştirilmiş, ve yüklenmiş ilacın %40, %60 çapraz bağlı misellerde, 80 saattan sonra bile SCL misellerden salındığı görülmüştür. Bu da hidrofobik ilacı iyi tutabilen PDPA'nın, hala hidrofobik halde kalmasından dolayıdır. Fakat kabuk çapraz-bağlanma ilaç salımını yarı yarıya geciktirebilmektedir. Şekil 4.19a'da görüldüğü gibi, çapraz bağlanmanın artışı misellerin çekirdekten ilaç salımını beklediği gibi geciktirmiştir. Çapraz bağlanmamış misellerden pH değeri 7,4'te ve 37 °C sıcaklıkta tampon çözeltisinde, DIP'in %99'u 10 saatte salındığı, fakat %20, %40 ve %60 oranında çapraz-bağlı SCL misellerden ilacın sırasıyla yaklaşık %84, %46 ve %37 oranında salındığı gözlenmiştir. Şekil 4.19B salım profiline bakıldığında, MPEG<sub>45</sub>-b-PMAA<sub>20</sub>-b-PDPA<sub>18</sub> SCL misellerin çapraz bağlanma oranı arttırıldıkça daha uzun süre (>24 saat) kontrollü salım yapabildikleri anlaşılmaktadır.



**Şekil 4.19** Tampon çözeltide, pH 7,4'te ve 37 °C'de : (a) MPEG<sub>45</sub>-b-PMAA<sub>47</sub>-b-PDPA<sub>47</sub> ve (b) MPEG<sub>45</sub>-b-PMAA<sub>20</sub>-b-PDPA<sub>18</sub> SCL misellerin DIP salımı profili

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Amfifilik MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA triblok kopolimerler ATRP ile sentezlenmiştir. Asidik ortamda hidroliz ile triblok MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA zwitterionik ABC tipi triblok kopolimerlere başarılı bir şekilde dönüştürülmüştür. zwitterionik triblok kopolimerlerin miselleri; sulu çözeltideki davranışları, ortam sıcaklığı ve çözeltinin pH'ı olmak üzere üç şekilde kümeleşme gösterirler. Bu üç çeşit miselleri oluşturmak için enerji veren kuvvetler hidrofobik etkileşim, interpolielektrolit kompleklesme, ve hidrogen bağıdır. MPEG-*b*-PtBuMA-*b*-PDPA triblok kopolimerleri pH değeri 8,0'de, PDPA çekirdekli ve MPEG/iyonlaşmış PMAA hibrid tabakalar oluşturarak 3 katlı 'soğan-tipi' miselleri ve IEP'nin çevresinde, poli iyon formuna sahip miseller oluşturulmaktadır. Hidrojen bağı ile bağlı MPEG/PMAA kompleks çekirdeğe sahip ve düşük pH'larda protonlanmış PDPA tabakalı miseller oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, ara kabuk çapraz-bağlanmış (SCL) miseller (sulu ortamda PDPA çekirdekli), 1,2-bis(2-iodoethoxy)ethane (BIEE) ile PMAA kabuğu çapraz bağlanarak MPEG-*b*-PMAA-*b*-PDPA triblok kopolimer ile kısa sürede başarı ile hazırlanabilmektedir. Ara kabuk çapraz-bağlanmış misellerde, %1,0 (w/v) çapraz-bağlı polimer konsantrasyonda bile, dış kabuk (PEG) stabilizatör olarak görev yaparak miseller arasında toplamaya engel olmaktadır.

Dipiridamol, asidik pH'da çözünüp pH değeri 4,8'in üstünde çözünmeyen hidrofobik bir ilaçtır. İlaç çözeltisi pH değeri 3,0'te hazırlanıp kopolimer çözeltisi ile birleştirilince çözelti pH'ı hızlıca 10,0 değerine getirilerek misellere ilaç başarı ile yüklenmiştir. Bu kapsülleme yönteminin avantajı, ilaçları çözmek için herhangi organik çözücü kullanılmamasıdır. DLS ile yapılan analizlerde DIP-yüklü misellerin boş misellere göre daha geniş hidrodinamik yarıçapa sahip olduğunu göstermektedir. DLS sonuçlarına göre DIP-yüklü misellerin hidrodinamik yarıçapları MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>20</sub>-*b*-PDPA<sub>18</sub> ve MPEG<sub>45</sub>-*b*-PMAA<sub>47</sub>-*b*-PDPA<sub>47</sub> triblok kopolimerleri için sırasıyla 22,7 nm ve 28,9 nm'dir.

pH değeri 7,4 ve 37 °C ile tampon çözeltide yapılan ilaç salım çalışması, çapraz bağlanma derecesinin misellerden dipiridamolun salım profilini etkilediğini göstermektedir.

Hedef derecesi ne kadar yüksekse, salım daha yavaştır. Bu durum beklendiği gibidir. Çünkü çapraz bağlanma misellerin çekirdekten ilaç salımını geciktirmektedir. Dolayısıyla çapraz bağlanma derecesi ile ilaç salımı profili istenildiği gibi ayarlanabilir olduğu söylenebilir.

Bu çalışma ile

- 1) Biyouyumlu ve pH duyarlı SCL miselik yapılar hazırlanmıştır.
- 2) Misel yapı çekirdeğinde DIP gibi ilaçlar solubilize edilebilmektedir.
- 3) İlaç yüklü misel yapılar 1-2 saatte çapraz bağlanabilmektedir.
- 4) İlaç yüklü SCL yapıların çapraz bağlama derecesine bağlı olarak ilaç salım hızları ayarlanabilmektedir.
- 5) Bu salımların 5 saat ile yaklaşık 30 saat süre ile yapılabilirlikleri çapraz bağlama derecesi ayarı ile sağlanabilmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Bütün, V., Armes, S. P., Billingham, N. C., 2001, Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers, *Polymer.*, 42(14): 5993–6008.
- Bütün, V., Billingham, N. C., Ames, S. P., 1999, Synthesis of novel shell cross-linked micelles with hydrophilic cores, *Am. Chem. Soc. Polym. Prepr. Div. Polym. Chem.*, 40(2): 236–237.
- Bütün, V., Lowe, A. B., Billingham, N. C., Armes, S. P., 1999, Synthesis of zwitterionic shell cross-linked micelles, *J. Am. Chem. Soc.*, 121(17): 4288–4289.
- Bütün, V., Taktak, F. F., Tuncer, C., 2011, Tertiary Amine Methacrylate-Based ABC Triblock Copolymers: Synthesis, Characterization, and Self-Assembly in both Aqueous and Nonaqueous Media, *Macromol. Chem. Phys.*, 212(11): 1115–1128.
- Bütün, V., Top, R. B., Ufuklar, S., 2006, Synthesis and characterization of novel “schizophrenic” water-soluble triblock copolymers and shell cross-linked micelles, *Macromolecules*, 39(3): 1216–1225.
- Chiefari, J., Chong, Y. K. B., Ercole, F., Krstina, J., Jeffery, J., Le, T. P. T., South, C., 1998, Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition - Fragmentation Chain Transfer : The RAFT Process, *Macromolecules*, 31(16): 5559–5562.
- Coessens, V., Pintauer, T., Matyjaszewski, K., 2001, Functional polymers by atom transfer radical polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, 26(3): 337–377.
- He, X., Wu, X., Gao, C., Wang, K., Lin, S., Huang, W., Xie, M., 2011, Reactive & Functional Polymers Synthesis and self-assembly of a hydrophilic , thermo-responsive poly ( ethylene oxide ) monomethyl ether- block -poly ( acrylic acid ) - block -poly ( N-isopropylacrylamide ) copolymer to form micelles for drug delivery, *React. Funct. Polym.*, 71(5): 544–552.
- Hu, F. Q., Ren, G. F., Yuan, H., Du, Y. Z., Zeng, S., 2006, Shell cross-linked stearic acid grafted chitosan oligosaccharide self-aggregated micelles for controlled release of paclitaxel, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 50(2): 97–103.
- Jain, K. K., 2008, Drug delivery systems - an overview., *Methods Mol. Biol.*, 437: 1–50.
- Jiang, X., Ge, Z., Xu, J., Liu, H., Liu, S., 2007, Fabrication of multiresponsive shell cross-linked micelles possessing pH-controllable core swellability and thermo-tunable corona permeability, *Biomacromolecules*, 8(10): 3184–3192.
- Jones, M., Leroux, J., 1999, Polymeric micelles ± a new generation of colloidal drug carriers, 48.
- Kayser, O., Lemke, a, Hernández-Trejo, N., 2005, The impact of nanobiotechnology on the development of new drug delivery systems., *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 6(1): 3–5.
- Kim, Y., Liemmawal, E. D., Pourgholami, M. H., Morris, D. L., Stenzel, M. H., 2012, Comparison of shell-cross-linked micelles with soft and glassy cores as a drug delivery vehicle for albendazole: Is there a difference in performance?, *Macromolecules*, 45(13): 5451–5462.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kost, J., Horbett, T. A., Ratner, B. D., Singh, M., 1985, Glucose-sensitive membranes containing glucose oxidase : Activity, swelling and permeability studies, *J. Biomed. Mater. Res.*, 19: 1117–1133.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., 2012, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 64: 4–17.
- Liu, H., Li, C., Liu, H., Liu, S., 2009, PH-responsive supramolecular self-assembly of well-defined zwitterionic ABC miktoarm star terpolymers, *Langmuir*, 25(8): 4724–4734.
- Liu, S., Armes, S. P., 2001, The facile one-pot synthesis of shell cross-linked micelles in aqueous solution at high solids., *J. Am. Chem. Soc.*, 123(40): 9910–9911.
- Liu, S., Weaver, J. V. M., Tang, Y., Billingham, N. C., Armes, S. P., Tribe, K., 2002, Synthesis of shell cross-linked micelles with pH-responsive cores using ABC triblock copolymers, *Macromolecules*, 35(16): 6121–6131.
- Mahapatro, A., Singh, D. K., 2011, Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines., *J. Nanobiotechnology*, 9(1): 55.
- Martinho, N., Damgé, C., Reis, C. P., 2011, Recent Advances in Drug Delivery Systems, *J. Biomater. Nanobiotechnol.*, 02(05): 510–526.
- Matyjaszewski, K., 1999, Transition Metal Catalysis in Controlled Radical Polymerization : Atom Transfer Radical Polymerization, *ChemEur J*, 15213(11): 3095–3102.
- Matyjaszewski, K., Xia, J., 2001, Atom transfer radical polymerization., *Chem. Rev.*, 101(9): 2921–2990.
- Mukerjee, P., 1971, Analysis of Distribution Model for Micellar Solubilization Using Thermodynamics of Small Systems : Nonideality of Solubilization of Benzoic Acid Derivatives in Nonionic Surfactants, *Journaf Pharm. Sci.*, 1(10): 1531–1534.
- Murillo-Cremaes, N., López-Periago, A. M., Saurina, J., Roig, A., Domingo, C., 2013, Nanostructured silica-based drug delivery vehicles for hydrophobic and moisture sensitive drugs, *J. Supercrit. Fluids*, 73: 34–42.
- O'Reilly, R. K., Hawker, C. J., Wooley, K. L., 2006, Cross-linked block copolymer micelles: functional nanostructures of great potential and versatility., *Chem. Soc. Rev.*, 35(11): 1068–1083.
- Read, E. S., Armes, S. P., 2007, Recent advances in shell cross-linked micelles., *Chem. Commun. (Camb)*, (29): 3021–3035.
- Reddy, J. R. K., Jyothsna, M. V., Saleem, T. S. M., Chetty, C. M. S., 2009, Review on : Pulsatile Drug Delivery Systems, *J. Pharm. Sci. Res*, 1(4): 109–115.
- Shaik, M. R., Korsapati, M., Panati, D., 2012, Polymers in Controlled Drug Delivery Systems, *Int. J. Pharma Sci.*, 2(4): 112–116.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Szwarc, M., 1954, Replica polymerization, *J. Polym. Sci.*, 13(69): 317–318.
- Tang, Y., Liu, S. Y., Armes, S. P., Billingham, N. C., 2003, Solubilisation and controlled release of a model hydrophobic drug using novel micelle-forming ABC triblock copolymers, 1636–1645.
- Verma, R. K., Garg, S., Directions, F., 2001, Current Status of Drug Delivery Technologies and Future Directions, *Pharm. Technol.*, 25(February): 1–14.
- Vilar, G., Tulla-puche, J., Albericio, F., 2012, *Polymers and Drug Delivery Systems*, 1–28.
- Wang, J.-S., Matyjaszewski, K., 1995, Controlled/“Living” Radical Polymerization. Halogen Atom Transfer Radical Polymerization Promoted by a Cu(I)/Cu(II) Redox Process, *Macromolecules*, 28(23): 7901–7910.
- Xu, X., Flores, J. D., McCormick, C. L., 2011, Reversible Imine Shell Cross-Linked Micelles from Aqueous RAFT Synthesized Thermoresponsive Triblock Copolymers as Potential Nanocarriers for “pH-Triggered” Drug Release, *Macromolecules*, 44: 1327–1334.
- Yue, J., Wang, R., Liu, S., Wu, S., Xie, Z., Huang, Y., Jing, X., 2012, Reduction-responsive shell-crosslinked micelles prepared from Y-shaped amphiphilic block copolymers as a drug carrier, *Soft Matter*, 8(28): 7426.
- Ziegler, K., 1936, Die Bedeutung der alkalimetallorganischen Verbindungen für die Synthese, *Angew. Chemie*, 49(30): 499–502.