

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTİNİN AŞILANMASI ve BAZI BİYOLOJİK**  
**ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Burak CAN**

**Anabilim Dalı: Kimya**  
**Programı: Fizikokimya**

**Tez Danışmanı**  
**Yrd. Doç. Dr. Mehmet Mürşit TEMÜZ**

**EYLÜL-2012**

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTİNİN AŞILANMASI ve BAZI BİYOLOJİK**  
**ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Burak CAN**  
**101117103**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 03 Eylül 2012**

**Tezin Savunulduğu Tarih : 20 Eylül 2012**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Mürşit TEMÜZ (F.Ü.)**

**Diğer Jüri Üyeleri : Yrd. Doç. Dr. Zülfiye İLTER (F.Ü.)**  
**Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU (F.Ü.)**

**EYLÜL-2012**

## ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımın araştırılması, tespit edilmesi ve yürütülmesi süresince engin bilimsel tecrübeleri ve önerileriyle beni destekleyip yönlendiren, çalışmam boyunca her türlü yardımlarını benden esirgemeyen saygıdeğer hocam, tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Mürşit TEMÜZ'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleriyle çalışmama katkıda bulunan, fikir ve görüşlerinden faydalandığım Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmada her türlü desteklerini gördüğüm yüksek lisans arkadaşım Engin ÖZ'e ve Datateknik A.Ş. Grup İnovasyon Müdürü Sayın Mehmet Salih KOÇ ve çalışma arkadaşlarıma da çok teşekkür ederim.

En önemlisi, hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü desteklerini benden bir an olsun esirgemeyen, beni yetiştirerek bugünlere gelmemi sağlayan ve evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum çok sevdiğim aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

**Burak CAN**  
**ELAZIĞ – 2012**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>I</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>II</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>V</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>VI</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Aşı Kopolimerlerin Tanımı ve Yapısı.....	<b>1</b>
1.2. Aşı Kopolimerlerin Elde Edilmesi .....	<b>6</b>
1.2.1. Geleneksel Yöntemler .....	<b>6</b>
1.2.2. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) Yöntemi .....	<b>10</b>
1.2.2.1. ATRP'nin Temeli .....	<b>11</b>
1.2.2.2. ATRP'de Kullanılan Monomerler.....	<b>11</b>
1.2.2.3. ATRP'de Kullanılan Başlatıcılar .....	<b>12</b>
1.2.2.4. ATRP'de Kullanılan Katalizörler.....	<b>13</b>
1.3. Polimerlerin Termal Özelliklerinin İncelenmesi.....	<b>14</b>
1.3.1. Isısal Geçişler .....	<b>14</b>
1.3.1.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC).....	<b>14</b>
1.3.1.2. Diferansiyel Termal Analiz (DTA).....	<b>14</b>
1.3.1.3. Termogravimetrik Metod (TG) .....	<b>15</b>
1.4. Doğal Polimerler .....	<b>15</b>
1.4.1. Selüloz.....	<b>15</b>
1.4.2. Nişasta .....	<b>16</b>
1.4.3. Kitosan .....	<b>18</b>
1.4.4. Kitin.....	<b>19</b>
1.4.4.1. Kitin ve Türevlerinin Eldesi.....	<b>20</b>
1.4.4.2. Kitin Üretim Kaynakları.....	<b>21</b>
1.4.4.3. Kitinin Kristal Yapısı .....	<b>22</b>
1.4.4.4. Kolloidal Kitinin Hazırlanması .....	<b>23</b>
1.4.4.5. N-Asetilasyon Derecesi.....	<b>24</b>
1.4.4.6. Çözünürlük .....	<b>24</b>
1.4.5. Kitin ve Türevlerinin Kullanım Alanları.....	<b>26</b>
1.4.5.1. Antitümör Ajan Olarak Kullanımları .....	<b>26</b>
1.4.5.2. Ortopedik / Periodontal Uygulamalar .....	<b>26</b>
1.4.5.3. Kitin ve Kitosan Bazlı Sargı Malzemeleri .....	<b>27</b>
1.4.5.4. Oftalmoloji (Gözbilim) .....	<b>27</b>
1.4.5.5. Gıda Endüstrisi Uygulamaları.....	<b>27</b>
1.5. Doğal Polimerler Hakkında Literatür Çalışmaları .....	<b>27</b>
<b>2. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>30</b>
2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	<b>30</b>
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	<b>30</b>
2.3. Kristal Kitinin Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) Yoluyla Aşılması.....	<b>31</b>

2.3.1.	Kitinklorasetat (Kit.ClAc) Başlatıcısının Sentezi .....	31
2.3.2.	Kitinklorasetat (Kit.ClAc.)'ın Bazı Monomerlerle Aşılması .....	32
2.4.	Polimerlerin Antitümör Aktiviteleri.....	34
2.4.1.	MCF-7 L1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi.....	34
2.4.2.	Kullanılacak Hücre Sayısı ve Madde Dozlarının Belirlenmesi .....	34
2.4.3.	İstatistiksel Değerlendirme.....	35
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b> .....	<b>36</b>
3.1.	Aşı Kopolimerlerinin Karakterizasyonu ve Aşılama İlgili Veriler .....	36
3.2.	Aşı Kopolimerlerinin Termal Özellikleri .....	39
3.3.	Polimerlerin Serbest Radikal (DPPH') Giderme Aktivitesi .....	40
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>41</b>
<b>5.</b>	<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>44</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>50</b>

## ÖZET

### KİTİNİN AŞILANMASI VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada kristal kitin bazı monomerlerle Atom Transfer Radikal Polimerizasyon yoluyla aşılandı. Bu teknikte kitinin primer –OH grupları önce klorasetilklorür ile reaksiyona sokuldu. Sonra klorasetil gruplu kitin makrobaşılatıcı olarak kullanılıp CuCl / 2,2'-bipiridin katalizör sistemi yanında metakrilamit (MAM), diasetonakrilamit (DAAM), 4-nitrofenilakrilamit (NFAA) ve 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ile aşılandı.

Aşı kopolimerler; elementel analiz ve IR ile karakterize edildi. Bütün kopolimerlerin termal kararlılıkları ve termal geçişleri termogravimetrik analiz (TGA) ile incelendi.

Ayrıca aşı kopolimerlerin serbest radikal giderme aktiviteleri ve antitümör aktiviteleri gibi bazı biyolojik aktiflikleri de incelenerek sonuçları değerlendirildi.

Sonuç olarak, aşı kopolimerlerin IR, elementel ve termal analiz sonuçlarıyla biyolojik aktiflik sonuçları literatür verilerine uygun olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kitin, Aşı Kopolimer, Atom Transfer Radikal Polimerizasyon

## SUMMARY

### GRAFTING AND STUDYING OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF CHITIN

In this work, crystal chitin grafted with some monomers by Atom Transfer Radical Polymerization method. In this technic primer –OH groups of chitin reacted with chloroacetylchloride. Then chitinchloroacetate was grafted with methachrilamide (MAM), diacetonacrylamide (DAAM), 4-nitrophenylacrylamide (NFAA), 2-hydroxiethylmethachrilate (HEMA) chitin using chloracetyl group as macroinitiator and CuCl / 2,2'-bipyridine as catalyzor system.

Graft copolymers chracterized by elemental analysis and IR methods. Thermal stability and thermal transition of whole copolymers studied by thermogravimetric analysis (TGA) method.

In addition, graft copolymers, such as free-radical reduction activities and the biological activity of antitumor activity by examining the results were evaluated.

As a result, copolymers in the IR, elemental and thermal analysis and the results of biological activity results were fitted to the data of literatüre.

**Keywords:** Chitin, Graft Copolymer, Atom Transfer Radical Polymerization

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1.	ATRP'nin mekanizması ..... 11
Şekil 1.2.	Selülozun kimyasal yapısı ..... 16
Şekil 1.3.	Selülozdaki serbest hidroksil grupları ..... 16
Şekil 1.4.	Pirinç nişastası (a), Mısır nişastası (b), Patates nişastası (c), Tapiako nişastası (d) SEM görüntüleri ..... 17
Şekil 1.5.	Amilozun yapısı ..... 17
Şekil 1.6.	Amilopektinin yapısı ..... 18
Şekil 1.7.	Kitosan ..... 19
Şekil 1.8.	Kitinin kimyasal yapısı ..... 20
Şekil 1.9.	Kabuk artıklarından kitin, kitosan, monomer ve oligomerlerinin elde edilmesi ..... 21
Şekil 1.10.	Kitin zincirlerinin üç farklı formda düzenlenmesi ..... 23
Şekil 1.11.	Selüloz (a) ve kitin (b)'nin koltuk konformasyonları ..... 24
Şekil 1.12.	$\alpha$ kitin (altta) ve $\beta$ kitinde (üstte) kitin moleküllerinin düzeni ..... 25
Şekil 3.1.	Kit.ClAc'nin aşı kopolimerlerinin sentezi ..... 33
Şekil 2.1.	Kitinin modifiye edilerek kitinklorasetat makrobaşılatıcısının sentezlenmesi. 32
Şekil 2.2.	Kit.ClAc'nin aşı kopolimerlerinin sentezi ..... 33
Şekil 3.1.	Kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin IR spektrumları ..... 37
Şekil 3.2.	Kristal kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin TGA eğrileri ..... 39

## TABLULAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1.1.</b> Kitinin biyosferdeki kaynakları.....	22
<b>Tablo 3.1.</b> Kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin IR değerlendirilmesi .....	37
<b>Tablo 3.2.</b> Kitin, Kit.ClAc ile aşı kopolimerlerine ait elementel analiz sonuçları ve değerlendirilmesi .....	39
<b>Tablo 3.3.</b> Kristal kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin TGA eğrilerine ait değerler ..	40
<b>Tablo 3.4.</b> Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yok etme aktiviteleri (%) .....	40
<b>Tablo 3.5.</b> MCF-7 hücrelerinin antitümör aktivite sonuçları.....	41

## KISALTMALAR

<b>ATRP</b>	: Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
<b>Bpy</b>	: Bpiridin
<b>DAAM</b>	: Dasetonakrilamit
<b>DMF</b>	: Dimetilformamid
<b>DMSO</b>	: Dimetilsülfoksit
<b>DPPH</b>	: 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>HEMA</b>	: Hidroksietilmetakrilat
<b>Kit.CIAc</b>	: Kitinklorasetat
<b>MAM</b>	: Metakrilamit
<b>MMA</b>	: Metilmetakrilat
<b>NFAA</b>	: Nitrofenilakrilamit
<b>NMP</b>	: N-metil-2-pirolidon

## 1. GİRİŞ

İlk kez Houtz ve Adkins [1] bir polimer molekülünün, polimerleşmenin olduğu bir ortamda kendi molekül büyüklüğünü arttırabildiğini göstermişlerdir. Stiren monomer ve polimerinin birlikte bulunduğu polimerizasyon çalışmalarında, viskozite ölçümleri sonucu ilk polistiren üzerine yeni stiren birimlerinin katıldığı sonucuna varmışlardır. Sonra polimerizasyon kinetiği üzerine önemli çalışmaları olan Flory [2], teorik olarak polimer molekülü ile büyüyen polimerler arasında meydana gelebilecek zincir transfer tepkimeleri sonucu dallanmış vinil polimerlerinin oluşabileceğini belirtmiştir.

Daha sonra Carlin ve Shakespeare ise [3] kesin olarak büyüyen bir polimer zinciri, hem aynı monomerden oluşan bir polimer zinciriyle hem de farklı monomerden oluşan bir polimer zinciri ile de zincir transferine girebileceğini göstermişlerdir.

1950'lerin başına kadar "aşı kopolimer" tanımı kullanılmamış, 1952'de ise uluslararası alanda bir polimer kimyası kavramı olarak yerini almıştır.

### 1.1. Aşı Kopolimerlerin Tanımı ve Yapısı

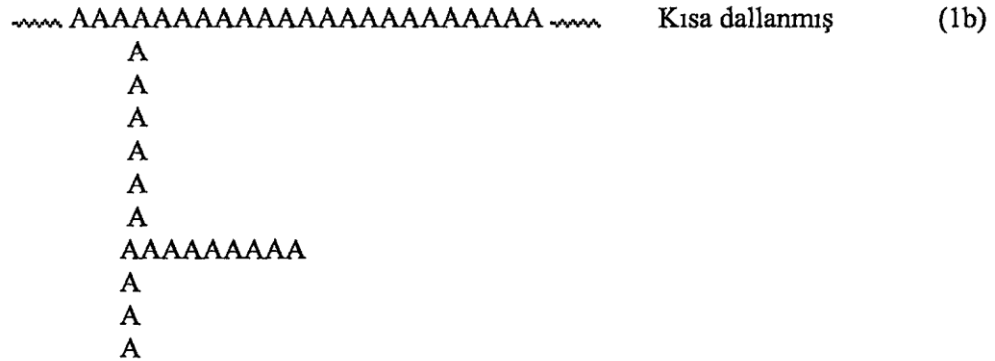
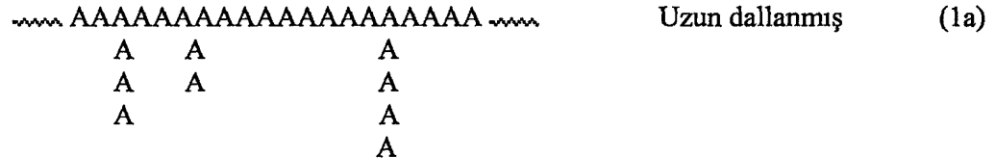
Aşı (graft) kopolimerlerinin tanımı, Temel ve Uygulamalı Kimya Uluslararası Birliği tarafından şöyle yapılmıştır [4]: Aşı kopolimer, iki ya da daha fazla polimerik birim ihtiva eden moleküllerin farklı bileşenlerle ve kimyasal yolla birbirine bağlanmış büyük polimerlerdir. Örneğin bir aşı kopolimer, bir monomerin polimerizasyonu üzerine bir başka çeşit monomerin sonraki polimerizasyonu ile elde edilebilir. İki farklı polimerin birleşmesi, moleküllerinin son grupları arasındaki kimyasal reaksiyonla veya çapraz bağ reaksiyonu ile de bir aşı kopolimer elde edilebilir.

Bu tanımlama düzenli kopolimerlerin çeşitli şekillerini içine almakla beraber birliğin raporunda blok kopolimerlerden bahsetmemesi önemlidir. Sonraki çalışmalar, aşı ve düzenli kopolimerler, birbirine çok yakın oldukları için yeni bir sınıflandırma ihtiyacı doğurmuştur.

Allen ve arkadaşlarının tanımı [5]; "Blok kopolimer terimi standart değildir. Biz onu lineer molekülleri tanımlamak için kullanırken, başka tiplerin yapısı üzerine bir çeşit monomer biriminin yan zincire saldırısından oluşan dallanmış yapılara aşı kopolimerler diyoruz" şeklindedir.

Ceresa, blok ve aşı kopolimerleri şifrelemek ve sınıflandırmak için ilk önemli teşebbüs olarak, 1961’de bilinen 2000 civarında polimer sisteminin listelenmesi üzerine çalışma yapmıştır [6]. Bu sistemin temeli 1966’ya kadar basit bir sınıflandırmaya dayandığı halde, polimerlerin sayısındaki artış sınıflandırma sisteminde karmaşıklığa yol açmıştır. Aşağıda tanımlanan kopolimer yapıları Ceresa’nın sistemine uyarlanmıştır [4]. Bu adlandırma Polimer Bilim ve Teknolojisi Ansiklopedisi’nde de yer almıştır [7].

Dallanmış polimerler oluşumlarına göre kısa – uzun zincirli dallar ve yan (ikincil) dallar olarak kabul edilir ve kesinlikle gereki olmadıkça gösterilmezler. Böylece bir polimer zinciri, uzun ve kısa dallanmış şekliyle şöyle gösterilebilir:



A ve B gibi iki monomerin gelişigüzel polimerizasyonunun en basit durumu şöyle gösterilebilir:



Bu gelişigüzel polimerdeki merlerin birbirine bağlanma durumlarında, polimer, iki monomerin tek basamakta senteziyle hazırlandığı için monomerlerin molar konsantrasyon ve reaktivite oranları hakim olur. Eğer monomerlerden biri, A, homopolimerizasyon reaksiyonuna girmeye muktedir değilse yani A radikali A monomerini katmıyorsa o zaman oluşan kopolimer maleikanhidrit (A) ile stiren’in (B) kopolimerizasyonu gibi olacaktır.

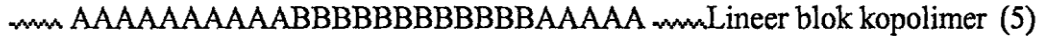


Belli şartlar altında bir ardışık kopolimer yapısı, maleikanhidrit ve allilasetat'ın kopolimerizasyonundaki gibi oluşturulabilir.

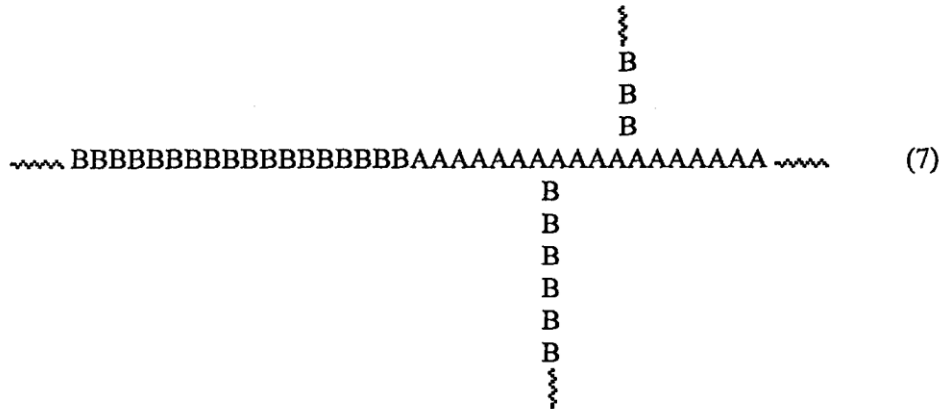


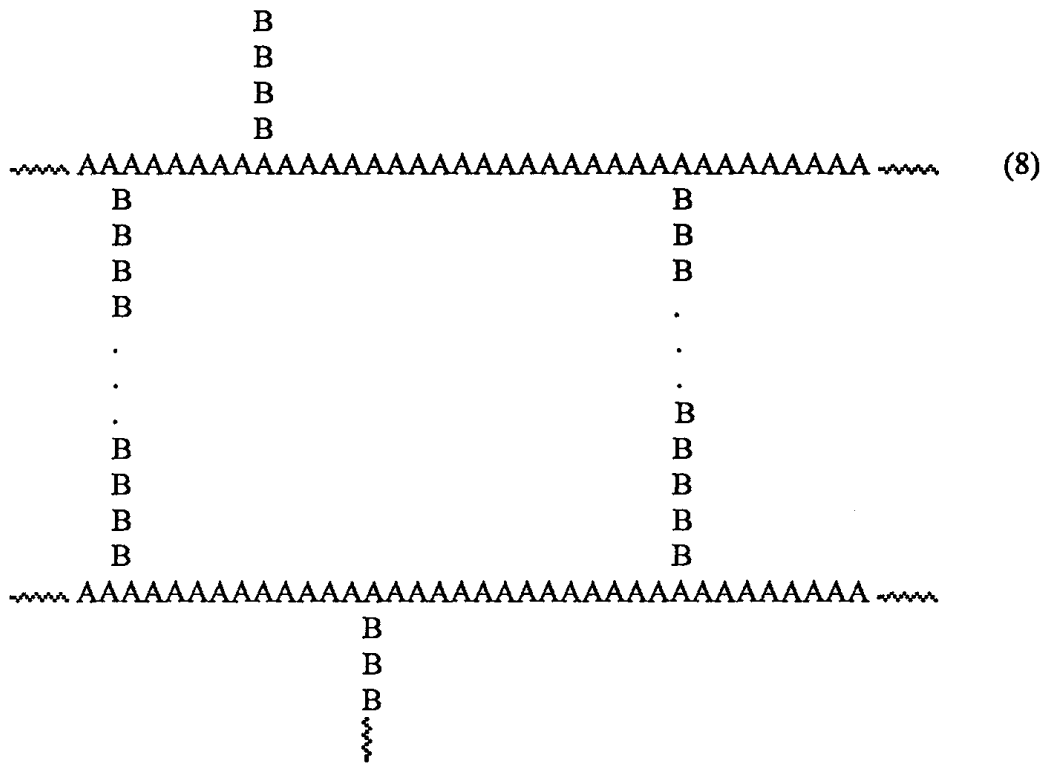
Yukarıdaki açıklamalar basit ikili sistemler için geçerlidir, ancak sıra ve monomer sayısında oldukça karışık olan yüksek mertebeli sistemler doğal polimerlerdeki gibi sentetik polimerlere de uygulanabilir.

Aynı sistem kullanılarak bir lineer blok kopolimer ve aşılınmış blok kopolimer şöyle gösterilebilir:

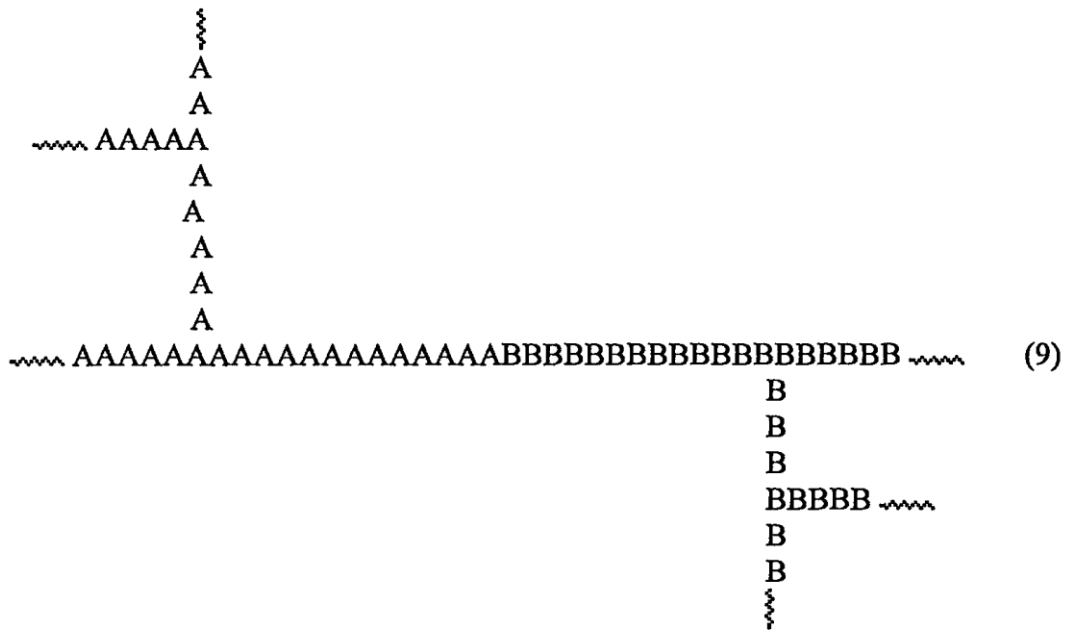


Hazırlamadaki çeşitli metodlar ya da anlaşılması zor muhtemel mekanizmalar yüzünden aşağıdaki polimerler kabul edilen sınıflandırma içindedir.





Blok ve aşırı kopolimer segmentlerinin bileşimi düşünüldüğünde ayrıca alt sınıf oluşturulması gereklidir. Bu polimerler homo veya kopolimer olabilir. (Eğer kopolimerlerse ardışık veya gelişigüzeledir.)



~~~~~ AAAAAAAAAAAAAAAAAAABBABBABBAABBABABBBBA ~~~~~ (10)

~~~~~ BBBBBBBBBBBBBBBBBBBBABABAABBABBAABABAB~~~~~ (11)

~~~~~ AAAAAAAAAAAAAAAAAA ~~~~~ (12)

|   |   |
|---|---|
| B | A |
| A | B |
| B | A |
| A | B |
| A | A |
| B | A |
| A | B |
| ⋮ | A |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |

~~~~~ BBBBBBBBBBBBBBBBBBB ~~~~~ (13)

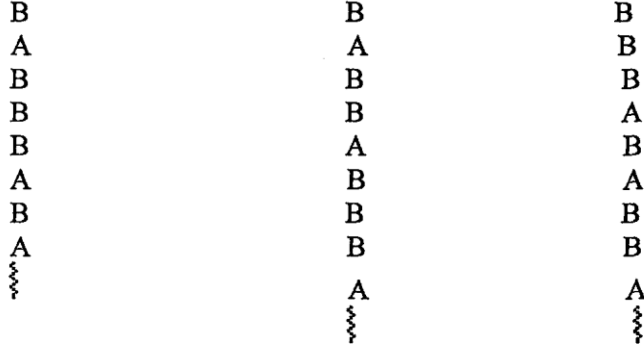
|   |   |
|---|---|
| A | B |
| B | A |
| A | B |
| B | B |
| B | A |
| A | A |
| A | A |
| B | B |
| A | A |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |

~~~~~ ABABAABBABABAABAABAABABABAABAABAABBAAAABABABA~~~~~ (14)

|   |   |
|---|---|
| A | A |
| A | A |
| A | A |
| A | A |
| A | A |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |

~~~~~ ABABAABABABAABAABBABBABABAABABAABBABABAABBBAB ~~~~~ (15)

|   |   |
|---|---|
| B | B |
| B | B |
| B | B |
| B | B |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |



\* : İskelet (yapı) blok veya aşı zincirdeki farklı oranlarda iki komonomerli blok ve aşı kopolimerler.

1958'de Natta [8], taktisite kavramını tanımladığından beri ana, blok veya aşı zincirinde ya da her ikisinde taktisiteye sahip birkaç blok ve aşı kopolimerler hazırlandı. Dolayısıyla taktisitenin gerekli olduğu yerlerde yapılara a, iso, syndio gibi taktisiteyi belirtir ekler ilave edilmelidir.

## 1.2. Aşı Kopolimerlerin Elde Edilmesi

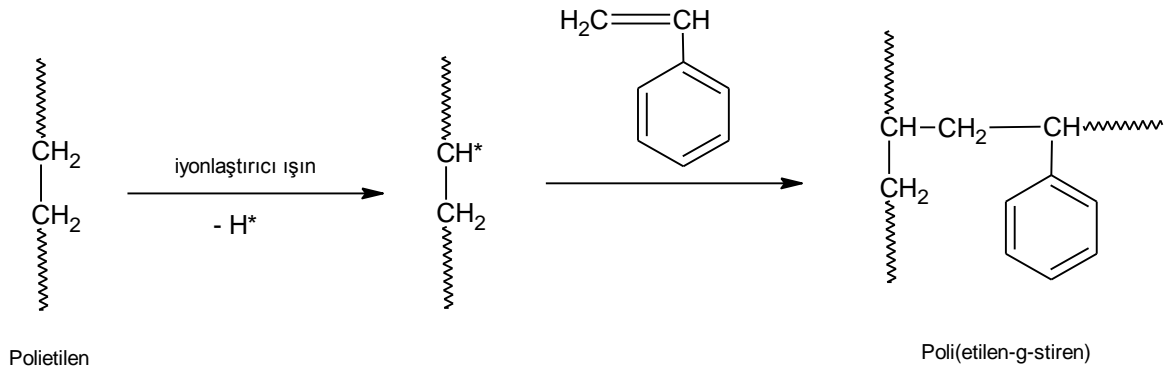
Aşı kopolimerlerinde bir polimerin ana zincirine farklı bir polimer zinciri, zincir sonları dışında bir yerden bağlanmıştır. İki ayrı tür polimer zincirinin, zincir sonlarından birleşmesi blok kopolimer yapısına yol açar. Aşı kopolimerleri bilinen birçok yöntemle (geleneksel yöntemler) ve son yıllarda polimer sentezinin en büyük yeniliği olan atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) yöntemiyle elde edilebilir.

### 1.2.1. Geleneksel Yöntemler

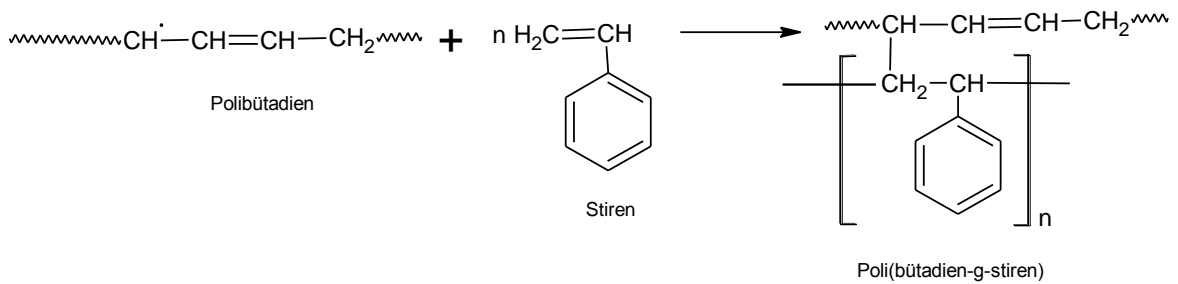
Aşı kopolimerler, bir polimer yanında başka tür bir monomerin polimerizasyonu ile elde edilebilir. Bu koşullarda polimerizasyon sonunda ortamda aşılınmamış polimer, aşı kopolimer ve aşılınan monomerin homopolimerinin bulunduğu bir karışım oluşacaktır. Karışım, homopolimerleri çözebilen uygun çözücülerle yıkanarak aşı kopolimer ayrılır. Karışımından aşı kopolimerin çöktürülerek ayrılması bir başka yöntemdir.

Aşı kopolimerler bilinen çok değişik yollarla sentezlenebilir. Aşağıda bazı örnekler verilmiştir [9].

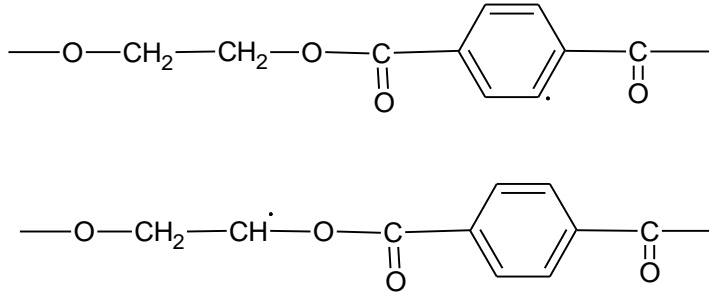
1. Çapraz bağ vermeye yatkın polimerlerin bir monomer yanında iyonlaştırıcı ışınlarla etkileştirilmesi aş kopolimer verebilir. Polimerizasyon ortamında çoğu kez aşılana monomerin homopolimeri de oluşur. Poli (etilen-g-stiren) kopolimerinin sentezi, bu yaklaşıma bir örnektir. Işın etkisiyle polietilen zincirinden hidrojenler homolitik kopar ve polietilen zincirleri üzerinde kalan radikallere ortamda bulunan stiren molekülleri yan dal halinde art arda katılır.



2. Herhangi bir monomerin radikalik katılma polimerizasyon ortamında bulunan başka tür bir polimer varlığında yapılsa, polimere zincir transferi sonucu diğer polimer zincirleri üzerinde aktif merkezler oluşabilir. Örneğin, polibütadien yanında stiren polimerleştirilirken, aktif polistiren zincirleri polibütadien zincirlerinden hidrojen kopararak aşılama için uygun merkezler oluştururlar. Daha sonra bu aktif merkezlere stirenin katılması ile poli(bütadien-g-stiren) elde edilir.

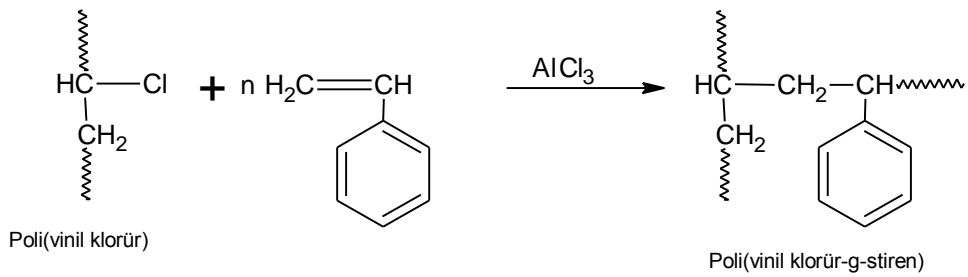


Zincir transfer tepkimeleri poli(etilenteraftalat) lifleri üzerine yapılan aşılmalarda da etkin olabilir. Poli(etilenteraftalat) üzerine yapılan elektron spin rezonans çalışmaları bu polimerin aşağıda yapıları verilen iki radikal türü verdiğini göstermiştir.

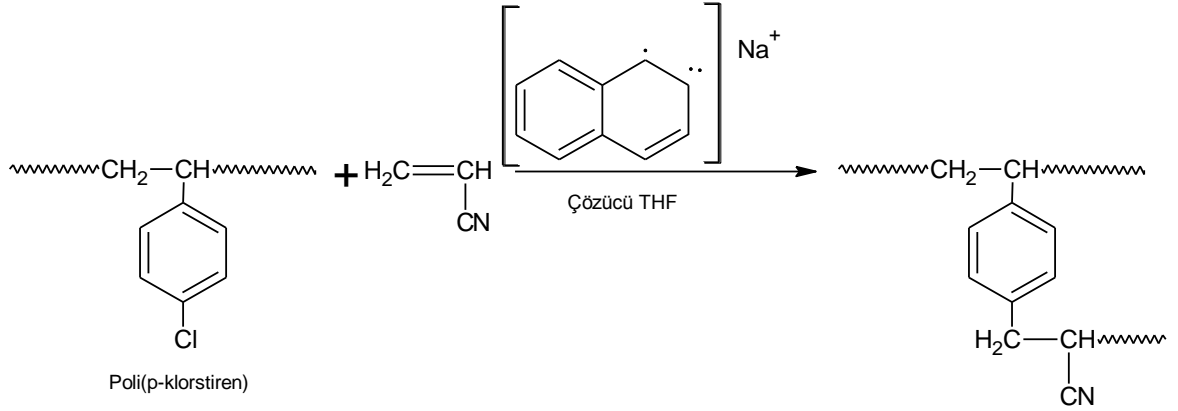


Poli(etilenteraftalat) liflerin bulunduğu bir ortamda akrilamid, akrilikasit, stiren gibi monomerlerin polimerizasyonu yapılırsa, zincir transferi tepkimeleriyle oluşacak yukarıdaki aşılama noktalarına monomerler katılır. Daha sonra lifler uygun bir çözücüyle yıkanarak aşılamanın monomerin homopolimeri uzaklaştırılır.

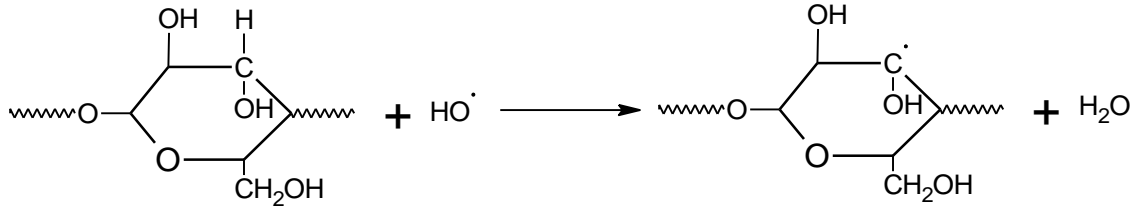
3. Katyonik polimerizasyon yöntemi de aşı kopolimer sentezinde kullanılabilir. Stiren,  $AlCl_3$  yardımıyla poli(vinil klorür) üzerine aşağıda gösterildiği gibi katyonik mekanizma üzerinden aşılır.



4. Akrilonitril'in, poli(p-klorstiren) üzerine anyonik polimerizasyon yöntemiyle aşılması poli(p-klorstiren-g-akrilonitril) kopolimeri verir. Anyonik başlatıcı sodyumnaftalin, çözücü tetrahidrofurandır.

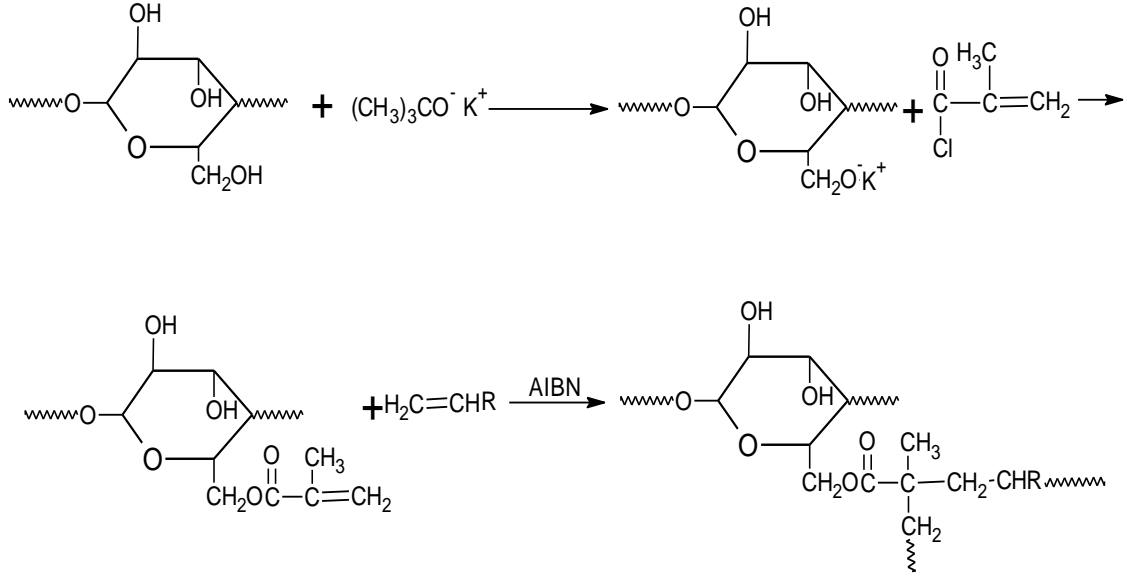


5. Pamuk, nişasta, jelatin, selüloz ve jüt gibi doğal polimerler üzerine de yoğun aşılama çalışmaları yapılmıştır. Araştırma sonuçları selüloz üzerindeki aşılama merkezlerinin zincir transferiyle değil, daha çok başlatıcıdan oluşan serbest radikallerin doğrudan selülozdan hidrojen koparmasıyla oluştuğunu göstermiştir.  $H_2O_2-Fe^{+2}$  redoks başlatıcı sisteminden oluşan  $OH^\bullet$  radikalleri aşağıdaki tepkimeyle selülozun hidroksil gruplarıyla etkileşir ve selüloz zincirleri üzerinde aktif merkezler oluşturur. Ortamda ayrıca bir vinil monomeri bulunduğundan bu aktif merkezler üzerinden aşılama gerçekleşir.



6. Yeni bir vinil monomeri oluşumu için polimer zincirinde çeşitli modifikasyon işlemleri yapılarak zincir üzerine istenilen oranlarda polimerleşebilen monomer bağlanır. Polimer üzerinde oluşan monomer aşılama merkezleri durumundadır.

Polimerdeki vinil grubu, geleneksel serbest radikal polimerizasyonu gibi AIBN gibi bir başlatıcı kullanılarak bu yöntemle polimerleşebilen herhangi bir monomerin polimerizasyonu ile aşılama kopolimerleri elde edilir.



### 1.2.2. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) Yöntemi

Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) 1995’de keşfinden beri hızlıca geliştirilmiş ve günümüzde sübtitüe stirenler, metakrilatlar ve akrilonitril gibi geniş bir monomer türevlerinin polimerleştirilmesinde uygun bir yöntem olarak kullanılmaktadır [10]. Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) ile kontrollü olarak lineer, çeşitli şekillerde dallanmış homo ve kopolimerler, aşırı kopolimerleri, diblok ve çok bloklü kopolimerler sentezlendiği gibi belli bir merkezden dışarıya doğru çok kollu büyümelerle yıldız polimerlerin sentezi de kolayca yapılabilmektedir [11].

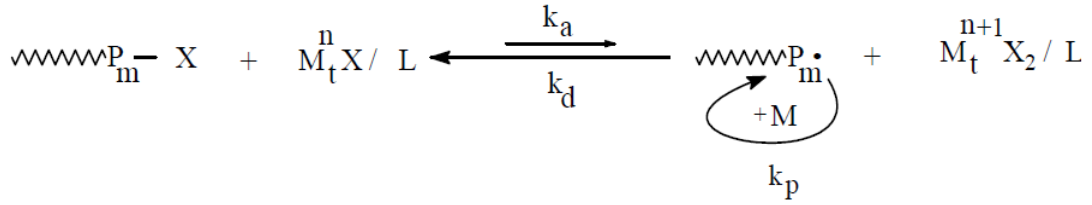
Sentetik polimerlerin eldesinde radikal polimerizasyon en önemli yöntemlerden biridir. Radikal polimerizasyonun ticari başarısının birkaç temel sebebi vardır [12].

i. Çok sayıda monomer radikal yolla polimerleşebilir. Hemen bütün olefinik monomerler radikalik yolla homopolimerler veya kopolimerler oluşturabilirler. Çünkü, hidroksil, asit, amino vb. pek çok grup radikalik olarak büyüyen türleri pek etkilemezler.

ii. Muhtelif monomerler arasında kolayca kopolimerizasyon olabilir. Özel şartlar pek gerektirmez, sıcaklık, çözücü ve ortamın şartları (sadece oksijeni uzaklaştırmak yeterlidir) kolayca ayarlanabilir.

iii. Radikal polimerizasyon saf monomer içinde, sulu süspansiyonda, emülsiyonda, dispersiyonda ve başka ortamlarda yapılabilir.

### 1.2.2.1. ATRP'nin Temeli



Şekil 1.1. ATRP'nin mekanizması

Atom transfer radikal polimerizasyon mekanizmasında (Şekil 1.1.), başlatıcı olarak kullanılan alkil halojenürdeki R-X bağının homolitik kopması sonucunda oluşan X<sup>•</sup> halojen atomu, komplekste bulunan geçiş metaline transfer edilerek geçiş metal bir elektronluk oksidasyonu sağlar. Transfer sonucunda geriye kalan R<sup>•</sup> radikaline bir monomer birimi bağlanarak RM<sup>•</sup> şeklinde yeni bir radikal oluşturur. Bu radikale diğer bir monomer birimi bağlanmadan, kompleksteki geçiş metali indirgenerek X<sup>•</sup> halojen atomunun RM<sup>•</sup> radikaline geri transferi sağlanır. Bu aradaki hız basamağı  $k_{\text{deact}}$  'tir. Her bir monomerin katılımı bu mekanizmaya göre ilerler. Böylelikle ortamdaki bütün monomer birimleri tükeninceye kadar polimerizasyon kontrollü bir şekilde devam eder.

Homojen sistemlerde, ATRP hızının monomer ve başlatıcı bağlamında birinci mertebede olduğu gösterilmiştir [13,14]. Polimerizasyon hızı, aktivatörün deaktivatöre oranıyla da (polimerizasyon sırasında değişebilmesine rağmen) etkilenir.

Atom transfer radikal polimerizasyon yöntemi kullanılarak random [15], blok [16], graft [17], yıldız [18], gibi çeşitli bileşenli ve topolojik yapıları kopolimerlerin hazırlanması ve belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmış, monomerlerin uç fonksiyonallikleri çok iyi bir şekilde kontrol edilebilmiştir.

### 1.2.2.2. ATRP'de Kullanılan Monomerler

Atom transfer radikal polimerizasyon yöntemi kullanılarak stiren, akrilat, metakrilat, akrilamit, metakrilamit ve akrilonitril gibi büyüyen radikalleri stabilize olabilen geniş bir monomer kitlesi ATRP ile polimerleştirilebilmektedir [19].

Aynı şartlar altında her bir monomerin aktif ve ölü türler arasında kendine has bir atom transfer denge sabiti vardır. Birleşmeyle veya orantısız sonlanmayla meydana gelen yan zincir reaksiyonlarının olmadığı bir polimerizasyonda, atom transfer denge sabitinin

büyüklüğü ( $k_{eq} = k_{act} / k_{deact}$ ) polimerizasyon hızını belirtir. Denge sabitinin çok küçük olması halinde ATRP ya meydana gelmez ya da çok yavaş ilerler. Bunun tersi bir durum olan atom transfer denge sabitinin ( $k_{eq}$ ) çok büyük olması, yüksek radikal konsantrasyonundan dolayı zincir transfer veya zincir sonlanma reaksiyonlarına neden olacaktır. Bu durum metal kompleksin daha yüksek oksidasyon halinin deaktive edilmesi ile başarılmış olabilir. Böylece, spesifik bir monomer için büyüyen radikallerin konsantrasyonu ve radikallerin deaktivasyon hızı, polimerizasyon hızını ayarlamaya yaramaktadır. Bununla birlikte ATRP bir katalist sistem olduğundan dengenin toplam pozisyonu sadece radikal (monomer) ve ölü türlere bağlı kalmaz. Aynı zamanda ilave edilen geçiş metal kompleksinin reaktivitesi ve miktarına da bağlı olacaktır.

Stiren ve metakrilatlarla polivinil klorür'ün graft kopolimerleri makrobaşılatıcı olarak polivinil klorür-ko-vinil klorasetat kullanılarak ATRP ile hazırlandı [20]. Birkaç AB monomeri: 2-[2-bromopropiyoniloksi etakrilat (metakrilat)], 2-[2-bromizobütiloksi) etil akrilat (metakrilat)], m(1-kloretil) stiren, p-klorometil stiren ATRP ile hiper dallı polimerleri sentezlenmiştir [21]. Hiper dallı polimerler çok kollu yıldız polimerlerin hazırlanması için de kullanılmıştır.

### 1.2.2.3. ATRP'de Kullanılan Başlatıcılar

Başlatıcıların esas rolü birçok polimer zincirinin büyümesini sağlamaktır. Zincir transfer ve zincir sonlanma reaksiyonları ihmal edilebilecek kadar az ve hızlı bir başlama sağlanıyorsa, birçok büyüyen zincir sabit kalır ve ilk başlatıcı konsantrasyonuna eşit olur. Teoriksel molekül ağırlığı veya polimerizasyon derecesi (DP), yaşayan (canlı) bir polimerizasyonda başlatıcının ilk konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

ATRP'deki alkil halojenürler (RX) tipik olarak kullanılan başlatıcılardır. Polimerizasyon hızı başlatıcının konsantrasyonuna bağlı olarak birinci dereceden çıkar. İyi tanımlanmış molekül ağırlıklı polimerler elde etmek için X halojen atomunun büyüyen zincir radikalleri ile geçiş metal kompleksi arasındaki transferi hızlı ve seçici olmalıdır.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda X halojen grubunun brom veya klor olması halinde molekül ağırlık kontrolünün en iyi olduğu görülmüştür. İyot, bakır esaslı ATRP'de akrilatların polimerizasyonunda iyi görev yaparken, flor ise C-F bağının çok güçlü olması nedeniyle homolitik olarak koparılması çok güç olduğundan atom transfer radikal polimerizasyonunda başlatıcı olarak kullanılmamaktadır [22].

Ayrıca spesifik olarak tiyosiyanatlar ve tiyokarbonatlar gibi bazı psödo halojenler, akrilat ve stirenlerin polimerizasyonunda başarılı bir şekilde kullanılmıştır [23,24].

ATRP ile elde edilen polimerlerin zincir uçlarında aktif halojen atomları olduğundan bu tür polimerler birer makrobaşılatıcı olarak da kullanılabilirler. Böyle makrobaşılatıcılar yeni diblok, triblok ve aşırı kopolimerler oluşturmak için ATRP ile zincir uzatmada başarıyla kullanılabilirler [25].

#### **1.2.2.4. ATRP’de Kullanılan Katalizörler**

ATRP’de, atom transfer dengesinin sağlanabilmesi için ATRP’nin kilit noktasını katalizörler teşkil etmektedir. Bu nedenle atom transfer radikal polimerizasyonunun en önemli ögesi katalizörlerdir denilebilir. Bir geçiş metal katalizörünün etkili olabilmesi için gerekli olan birkaç husus vardır.

i. Metal merkez, bir elektron tarafından kolayca ulaşılabilir en az iki oksidasyon basamağına sahip olmalıdır.

ii. Metal merkezin bir halojene karşı ilgisi olmalıdır.

iii. Metalin koordinasyon küresi, oksidasyon sonucunda bir halojen barındırabilecek kadar geniş olmalıdır.

iiii. Ligant, metal ile güçlü bir kompleks oluşturmalıdır.

Bakır esaslı ATRP’de ligant olarak genelde çift dişli bir ligand olan bipyridin (bpy) kullanılmaktadır. Hızlı deaktivasyonu sağlamak ve CuBr’nin bipyridin ile olan çözünürlüğünü arttırmak için alkil dallanmış bipyridinler de kullanılabilirler. Bu çok düşük heterojenlik indisli polimerlerin oluşumunu sağlamaktadır ( $M_w / M_n < 1.1$ ). Piridiniminler ve fenantrolinler gibi diğer çift dişli ligantlar ile pentametildietilentiyaamin (PMDETA) ve permetillenmiş tetraaminler gibi çok dişli ligantlar da benzer olarak kullanılabilirler.

Günümüzde bakır esaslı ATRP halen en önemli katalist sistem olarak görülmesine rağmen Ru, Fe, Ni, Pd ve Pt gibi diğer geçiş metalleri de başarıyla kullanılmaktadır.

### **1.3. Polimerlerin Termal Özelliklerinin İncelenmesi**

#### **1.3.1. Isısal Geçişler**

Polimerlerin yumuşama sıcaklıkları  $T_g$  ve kristal erime sıcaklıkları  $T_m$  bu maddelerin kullanılabilirlik limitlerini belirleyen önemli büyüklüklerdir. Kısmen kristal bir polimerin katı bir madde olarak kullanılabilmesi için çalışma sıcaklığı hem  $T_g$  hem de  $T_m$ 'nin altında olmalıdır. Öte yandan bir polimer, plastik olarak kullanılacaksa daima  $T_g$ 'nin üzerinde ve  $T_m$ 'nin altında bir sıcaklıkta bulunmalıdır. Erime sıcaklığı  $T_m$ 'de polimer katı halden sıvı hale dönüşür. Yumuşama sıcaklığı  $T_g$ 'de ise katı halden elastik hale geçiş olur.

Isısal geçişleri belirlemek amacıyla, polimerlerin çeşitli özelliklerinin sıcaklıkla değişimini incelemek gerekir. Örneğin; spesifik hacmin, kırılma indisinin, dielektrik sabitinin sıcaklıkla değişimi, camlaşma ve erime sıcaklıklarında kesiklikler olarak ortaya çıkar ve böylece bu iki büyüklük bulunmuş olur. Ancak, gerek  $T_g$  gerekse  $T_m$ 'nin belirlenmesinde çabuk ve kolay sonuç alınan (ve ek birtakım bilgilerin edinildiği) termal yöntemler arasında Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) en çok kullanılan iki tekniktir.

##### **1.3.1.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)**

Kararlı çevre şartlarında tutulan bir çift mikro kalorimetreden ibarettir. Bunlardan biri incelenen örneğe, diğeri referans maddeye aittir.

Örnek ve referans kalorimetrelerin ısıtıcıları elektrik güç ilavesi ile yaklaşık aynı programlanmış sıcaklıkta sabit tutulur. İki kalorimetreye bağlanmış güçler arasındaki fark, örnekteki enerji değişim hızını ölçer ve zamanın bir fonksiyonu olarak kaydeder.

##### **1.3.1.2. Diferansiyel Termal Analiz (DTA)**

Bu metotta, kontrollü şartlarda sıcaklığın bir fonksiyonu olarak örnek polimer ile referans maddenin sıcaklığı arasındaki farklar ölçülür. Polimerik numune ısıtılırken ekzotermik bir olay cereyan ederse numunenin sıcaklığı referansın sıcaklığından daha fazla yükselecektir. Endotermik bir olay ise, ters yönde bir sıcaklık farkı meydana gelir. DTA ölçümlerinde katı ve sıvı örnekler kullanılabilir.

### 1.3.1.3. Termogravimetrik Metod (TG)

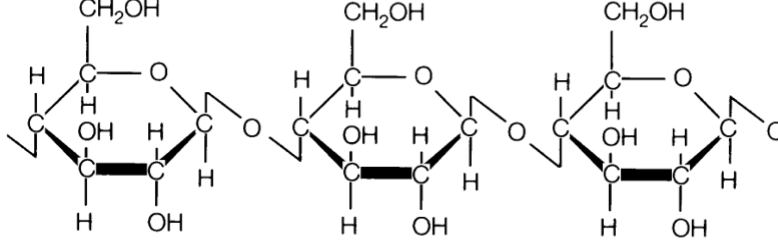
Kontrollü şartlarda maddelerin sıcaklığının değiştirilmesi ile ağırlığındaki değişimin ölçümüne “termogravimetri” denir. Bir TG deneyinde ölçülen değişkenler; ağırlık, zaman ve sıcaklıktır. Polimerlerin termal kararlılığının ölçülmesinde genellikle termogravimetrik analiz tekniği kullanılır. Termogravimetri, bir polimer örneğinin ağırlık kaybını, zamanın ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak izleme tekniğidir. Eğer sabit bir ısıtma hızında sıcaklıkla ağırlık kaybı incelenecekse buna “dinamik termogravimetri” ; sabit bir sıcaklıkta zamanın bir fonksiyonu olarak ağırlık kaydediliyorsa buna “izotermal termogravimetri” denir. Termogravimetrik analiz sonunda bir polimerin bozunmaya başladığı sıcaklık ve % 50 ağırlık kaybının meydana geldiği sıcaklık (yarı ömür sıcaklığı) kolaylıkla belirlenebilir. Ayrıca değerlendirme tekniklerinden yararlanarak polimerin termal bozunma tepkimesinin derecesi ve aktifleşme enerjisi gibi büyüklükler de hesaplanabilir.

## 1.4. Doğal Polimerler

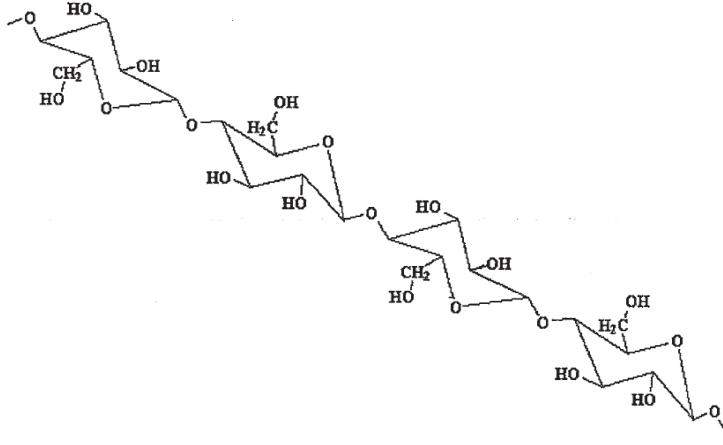
### 1.4.1. Selüloz

Selüloz molekülleri  $(C_6H_{10}O_5)_n$  formülüne sahip anhidroglukoz birimlerinin uç uca eklenmesiyle oluşmuştur. Bu birimlerin sayısına “polimerizasyon derecesi” (DP) denir ve birbirlerine 1,4- $\beta$ -glikozidik bağlarla bağlanmış olup, her iki birimden birisi diğerine göre 180 °C’lik bir dönüşle bağlanmıştır. Bunun sonucu olarak da gerilimsiz lineer bir yapı ortaya çıkmaktadır. Polimerler, tekrar eden monomerlerden oluşan zincir halindeki moleküllerdir. Moleküller bir arada bir takım çekim kuvvetleri sayesinde dururlar. Selüloz molekülündeki her glukoz birimi iki adet sekonder alkol grubundan ve bir adet primer alkol grubundan oluşan üç serbest hidroksil grubu taşır. Bu hidroksil grupları 2., 3. ve 6. karbon atomlarına bağlıdır. Selüloz molekülündeki alkol grupları; alkolat oluşumu, ester oluşumu ve yükseltgenme gibi tipik alkol reaksiyonları verirler. Bu gruplar selülozun su emicilik özelliğinden sorumludurlar. Her yüz veya daha fazla glukoz biriminde yaklaşık bir adet karboksil grubu vardır. Bu gruplar selülozun iyonizasyon katsayısı yaklaşık  $2 \times 10^{-14}$  olan zayıf bir baz monobazik asit olarak hareket etmesine yetecek sayıda vardır.

Selüloz birimlerinde reaksiyon verebilecek üç serbest hidroksil grubu vardır. Şekil 1.3.'de selülozdaki serbest hidroksil grupları gösterilmiştir [26].



Şekil 1.2. Selülozun kimyasal yapısı

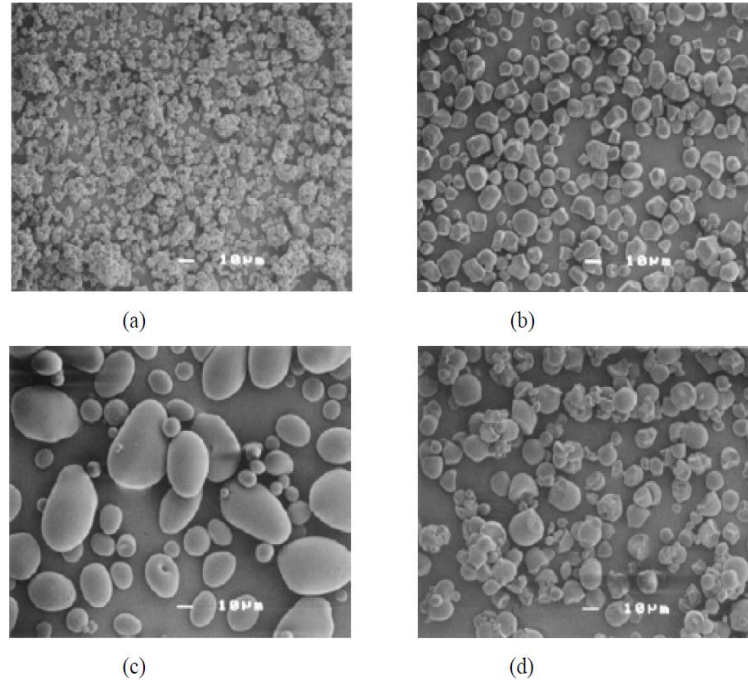


Şekil 1.3. Selülozdaki serbest hidroksil grupları

#### 1.4.2. Nişasta

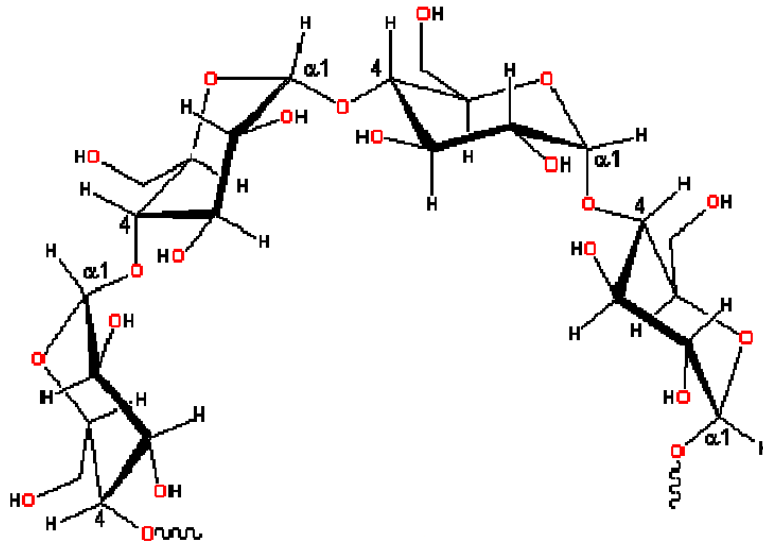
Nişasta, bitkiler tarafından sentezlenebilen ve doğada yaygın olarak bulunan bir maddedir. Başlıca kaynakları; buğday, patates, pirinç, mısır, tapiako, sago, kassava vb. bitkilerdir. Nişastanın endüstriyel olarak kağıt, yiyecek, tekstil, farmakoloji ve biyomateryal alanlarında çok geniş bir uygulama sahası vardır.

Nişastanın tanecik boyutları sentezlediği bitkisel kaynağa göre 0.5 ile 175  $\mu\text{m}$  arasında değişmektedir. Ayrıca taneciklerin şekli de farklılık göstermektedir [27].

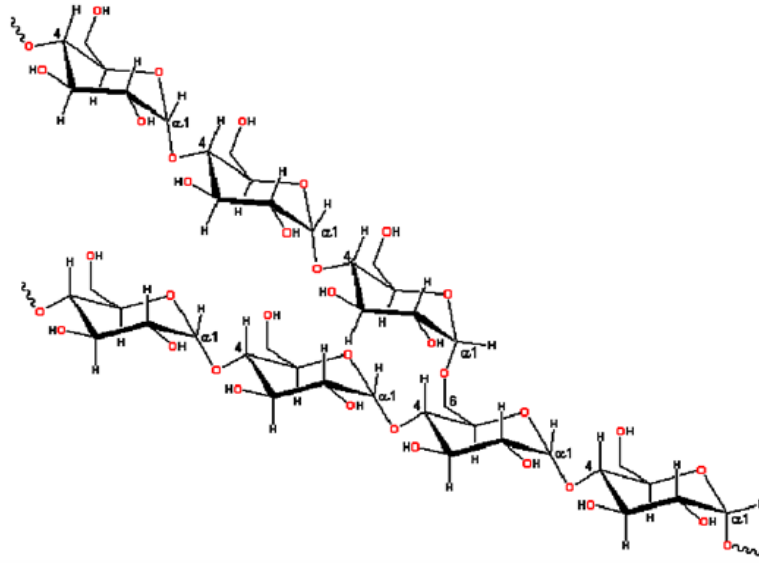


Şekil 1.4. Pirinç nişastası (a), Mısır nişastası (b), Patates nişastası (c), Tapiako nişastası (d) SEM görüntüleri

Nişasta D-glukoz birimleri içeren bir polisakkarittir. Zincirler  $\alpha$  konfigürasyonunda bağlanmıştır. Nişasta, amilaz ve amilopektin adı verilen iki farklı makromolekülden oluşmaktadır. Molekül ağırlığı  $10^5$  ve  $10^6$  arasında değişen amiloz, düzlemsel ya da seyrek dallanmış yapıda bulunan  $\alpha$ , 1-4 bağları içeren bir karbonhidrattır. Yüksek molekül ağırlıklı ( $10^7$ - $10^9$ ) ve çok dallanmış bir polimer olan amilopektinde ise zincir, spiral şeklinde olup tek ya da çift heliks yapıdadır. Amilopektin  $\alpha$ , 1-4 bağlarının yanında dallanmış noktaların olduğu her 22 ile 70 glukoz biriminde bir  $\alpha$ , 1-6 bağı içerir [28].



Şekil 1.5. Amilozun yapısı



Şekil 1.6. Amilopektinin yapısı

Niştadaki doğrusal yapı olan amiloz, yapının % 15-25'ini oluştururken, yapının geriye kalanını amilopektin oluşturmaktadır. Nişasta, makro moleküllerin radyal ekseninde yerleştikleri özel bir granüler yapı göstermektedir. Bu yapıda, makro molekül içindeki hidrojen bağları, yapıya katılan su molekülleri ile hidroksil gruplarının arasında yer almaktadır. Amilopektin, nişasta içindeki baskın olan kristalin yapıyı oluştururken amiloz yapıda da kristalin bölgelere rastlanabilmektedir [29].

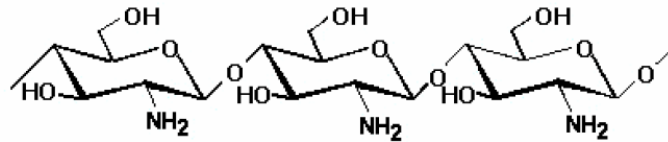
Niştaya kullanım alanlarını arttırmak amacıyla bazı işlemler uygulanmaktadır. Bu işlemlerden biri de niştanın jelatinizasyonu işlemidir. Jelatinize nişasta sulu ortamda ısıtılarak elde edilmektedir. Bu işlem niştadaki tanecik yapısını bozmaktadır. Nişasta şişerek viskoz bir yapıya dönüşür ve makro molekül yapı içindeki hidrojen bağlarının büyük bir kısmı bozunur. Erime sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığı, yapıdaki bozunma ve içerdiği su miktarına göre bir azalma göstermektedir.

### 1.4.3. Kitosan

Kitosan, kitinin N-deasetillenmiş türevidir. Ancak bu asetilasyon neredeyse hiçbir zaman tamamlanamamaktadır. Kitin, selülozdan sonra dünyada en çok bulunan ikinci doğal biyopolimerdir. Aynı zamanda doğal olarak en çok “amino şeker” içeren

polisakkarittir. Doğada bol bulunuşu, kitin ve onun bir türevi olan kitosanın kendilerine özgü kimyaları ile birleştiğinde pek çok potansiyel uygulamaları ortaya çıkmaktadır.

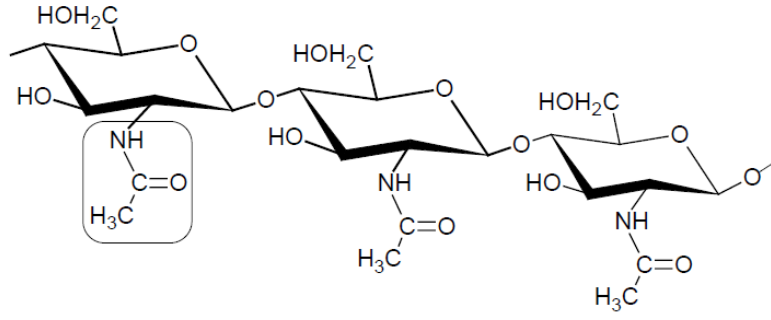
Kitosan, kitine göre daha reaktiftir ve toz, film, lif ve bunun gibi pek çok formda üretilmektedir. Bu yüzden pek çok ticari uygulamada, kitine nazaran, N-deasetillenmiş türevi olan kitosan kullanılmaktadır. Kitosan D-glukozamin gruplarından oluşmuş bir polisakkarittir.



Şekil 1.7. Kitosan

#### 1.4.4. Kitin

Kitin kelimesi, Yunanca kökenli olup tırnak örtüsü anlamına gelen “chiton”dan türemiştir. Kitin suda ve karada yaşayan (yengeç, karides, solucan, eklembacaklılar) canlıların ve mantarların yapısında bulunan doğal bir polisakkarittir. Doğa’da selülozdan sonra en çok bulunan polisakkarit kitindir. Yapısal olarak kitin selülozun türevlenmiş haline benzer. Selülozun C2’deki hidroksil (OH) grubu yerine asetamid (NHCOCH<sub>3</sub>) grubu gelmiştir. Kitinin kimyasal ismi poliasetilaminoglikoz’dur. Kimyasal formülü de (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>)<sub>n</sub> şeklindedir. Molekül ağırlığı birim başına 203 gr/mol’dür. Dünya’da yıllık kitin üretiminin yaklaşık 150000 ton civarında olduğu belirtilmektedir. Kitin üretiminde en fazla kullanılan deniz kabuklusu karides, yengeç ve ıstakoz kabuklarıdır. Kitin; konsantre HCl asit, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> asit ve çok soğuk CH<sub>3</sub>COOH asit içerisinde çözünür. Ancak su, seyreltik asit, alkali ve organik çözücülerde çözünemez. Kitindeki amino gruplarının varlığı farklı biyolojik işlevsellikler sağlaması ve modifikasyon reaksiyonlarının yürütülmesi için oldukça yararlıdır. Bu yüzden kitinin birçok alanda selülozdan daha yüksek potansiyele sahip olacağı düşünülmektedir. Kitin; biyolojik bozunabilirlik, biyolojik uyumluluk ve biyolojik aktiflik gibi özellikleri olan özel bir biyopolimerdir.



Şekil 1.8. Kitinin kimyasal yapısı

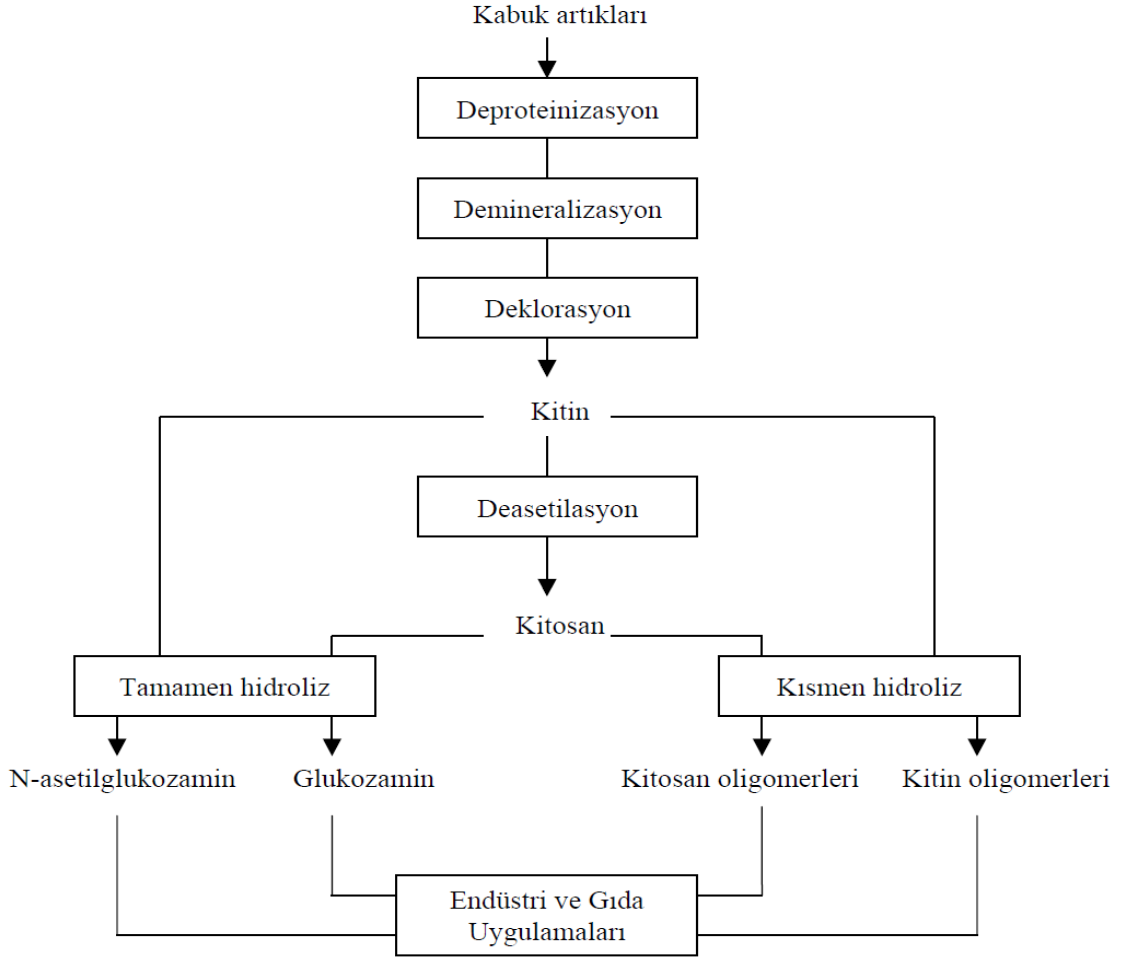
#### 1.4.4.1. Kitin ve Türevlerinin Eldesi

Kitin, yengeç ve karides kabuklarından ve mantar misellerinden kolayca elde edilmektedir. Mantar misellerinden elde edilmesinde, kitosan-glukan bileşiklerinin üretimi fermantasyon yolu ile yapılır alkali ile muamele gerekmektedir. Alkali, eşzamanlı olarak proteini uzaklaştırır ve kitini deasetiller. Alkali konsantrasyonuna bağlı olarak bazı çözümler glukanlar uzaklaştırılır. Kabukluların kabuklarının işlenmesi esas olarak proteinlerin uzaklaştırılması ve özellikle yengeç kabuklarında yüksek oranda bulunan kalsiyum karbonatın ( $\text{CaCO}_3$ ) eritilmesinden oluşmaktadır. Ortaya çıkan kitin % 40'lık sodyum hidroksitte ( $\text{NaOH}$ )  $120^\circ\text{C}$ 'de 1-3 saat deasetillenir. Bu işlem sonunda % 70 deasetillenmiş kitosan oluşur [30,31]

Krustate kabuk atıklarının % 30-40'ı protein, % 30-50'si kalsiyum karbonat, % 20-30'u kitinden oluşmaktadır. Bu oranlar türler ve mevsimlere bağlı olarak da değişim göstermektedir [32]. Kabuk artıklarından kitin eldesi için, kabuk artıkları alkali ve asit ile muamele edilerek, bu artıklardan protein ve mineral maddelerin uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Sonuçta uygun işleme metodları uygulanarak yüksek kalitede kitin elde edilebilmektedir [33].

Kabuklu atıklardan kitinin izolasyonu üç basamaktan oluşmaktadır:

- i. Protein ayrımı: Uygun bir alkali ile deproteinizasyon
- ii. Kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat ayrımı: Uygun bir asit ile demineralizasyon
- iii. Renk ayrımı: Sodyum hipoklorit ile deklorasyon [34].



**Şekil 1.9.** Kabuk artıklarından kitin, kitosan, monomer ve oligomerlerinin elde edilmesi

#### 1.4.4.2. Kitin Üretim Kaynakları

Kitinin üretimi ya da ekstraksiyonu için öncelikle, kitinin bulunduğu yerlerin belirlenmesi lazımdır. Tablo 1.1.'de kitinin biyosferde bulunduğu yerler listelenmiştir [35].

**Tablo 1.1.**Kitinin biyosferdeki kaynakları

| <b>Deniz Canlıları</b> | <b>Böcekler</b> | <b>Mikroorganizmalar</b> |
|------------------------|-----------------|--------------------------|
| Halkalı solucanlar     | Akrepler        | Yeşil alg                |
| Yumuşakçalar           | Örümcekler      | Kahverengi alg           |
| Deniz omurgasızları    | Kolsu ayaklılar | Maya                     |
| Kabuklular:            | (Brachiopods)   | Penicillium miselleri    |
| Yengeç                 | Karıncalar      | Ascomydes                |
| Karides                | Hamam böceği    | Chytridiaceae            |
| İstakoz                | Arılar          | Blastocladiaceae         |

Kabuklular, kitinin endüstriyel proseslerinde halen en büyük kaynaktır. Kitinin en iyi kaynakları içerisinde kabuklular (karides, yengeç, istakoz), mürekkep balığı ve istiridye bulunur. Kabukluların toplam kütlesine göre kitin içeriği % 2-12 arasında değişmektedir. Kabuklu atığındaki kitin, protein, mineral ve karetonoid içeriğinin çeşitliliği proses sırasındaki kabuk soyma koşullarına, türlere, organizmanın kısımlarına, yaşam döngüsünün evresine bağlıdır. Protein çoğunlukla etin atıklarında tutulur ve dokuların arasında da kitin ve mineral tuzlarla kompleks yapılar oluşturarak deniz kabuklularının dış iskeletini oluştururlar. Hayvanların çoğalma dönemlerine ve yaşlarına bağlı olarak, mineral tuzlar kabuğun dayanıklılığını ve geçirgenliğini etkiler. Yaşlı örneklerin dış iskeletinde kalsiyum içeriğinin daha yüksek olduğu ve buna bağlı olarak kitin içeriğinin daha düşük olduğu gözlenir. Kabuktaki mineral oranı çoğunlukla kalsiyum ve magnezyumun fosfatları ve karbonatları olarak bulunmaktadır [36,37].

#### **1.4.4.3. Kitinin Kristal Yapısı**

Kitin üç polimerik forma sahiptir. Bunlar kristal bölge içindeki zincirlerin farklı düzenlenmesi ile oluşan  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  kitindir.

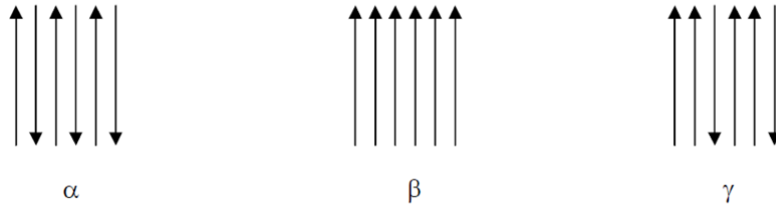
$\alpha$  kitin, doğada en fazla bulunan ve kolayca elde edilebilen formdur. Bu formda moleküller antiparalel bir şekilde sıralanır [38]. Bu moleküller düzen güçlü moleküller arası hidrojen bağları oluşumu için uygundur ve  $\alpha$  kitin üç kristal yapının içinde en stabil olan formdur.

$\beta$  kitinde moleküller paralel bir düzende toplanır, bu da daha zayıf moleküller arası güçlere sebep olur [39,40]. Bu yüzden  $\beta$  kitinin  $\alpha$  kitine göre daha az kararlı olduğu

düşünülmektedir. Çözülme ve şişme halinde  $\beta$  kitin  $\alpha$  kitine dönüşür fakat tersi söz konusu değildir [41]. Sulu HCl de  $\beta$  kitinin  $\alpha$  kitine dönüşümüne sebep olur. Morfolojik ve kristalografik incelemeler, kristaller arası biçim değişiminin asit konsantrasyonuna bağlı olduğunu açığa çıkarmıştır [42].

$\alpha$  ve  $\beta$  kitinlere nazaran  $\gamma$  kitin daha nadir olarak bulunmaktadır.  $\gamma$  kitinin,  $\alpha$  ve  $\beta$  formlarının bir karışımı veya ara formu olduğu düşünülmektedir.  $\gamma$  kitin hem paralel hem de antiparalel bir düzene sahiptir [43,44].

Farklı polimerik formlar farklı koşullar altında kullanılır. Örneğin,  $\alpha$  kitin bu üç polimerik form arasında en sert olanıdır ve eklem bacaklıların dış iskeletlerinde, mollusk kabuklarında ve planktonlarda bulunur. Diğer yandan  $\beta$  ve  $\gamma$  kitin, esnekliğin ve yumuşaklığın gerektiği bölgelerde bulunur.  $\beta$  kitin fungal hücre duvarlarının temel bileşenidir.  $\gamma$  kitin ise mürekkep balığının mide duvarında bulunur [43,44].



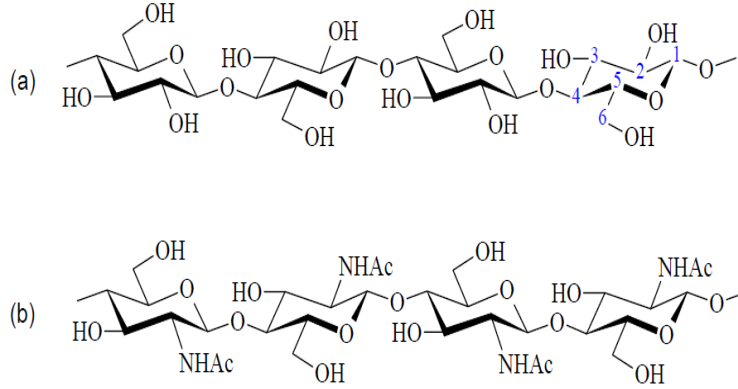
Şekil 1.10. Kitin zincirlerinin üç farklı formda düzenlenmesi

#### 1.4.4.4. Kolloidal Kitinin Hazırlanması

Kitin suda çözünmediğinden dolayı, ince toz haline getirilir ve bu malzeme “kolloidal kitin” olarak adlandırılır. Kolloidal kitin kimyasal reaksiyonlarda başlangıç malzemesi olarak, kitinle bozunan enzimleri denemede bir substrat olarak ve kitin sindirici mikroorganizmalar için karbon ve azot kaynağı olarak kullanılır. Bu materyal kitinin derişik HCl içerisinde sıcakta çözülmesi ve ardından çözeltinin suya ilave edilmesiyle hazırlanır [45]. Kitin toz halinde çöker ve daha sonra suda kolloidal halde dağılıbilir. Ancak, ana polimer zincirinin HCl ile bozunmasının bir sonucu olarak moleköl ağırlığı tipik olarak azalır.

#### 1.4.4.5. N-Asetilasyon Derecesi

Kitin molekülünde tekrar eden temel birim N-asetil-D-glukozamin'dir. Kitinin C-2 pozisyonundaki amino gruplarının büyük kısmının asetillenmesine rağmen, doğal halde serbest amino gruplarının da bazı boyutlarda mevcut olacağı düşünülmektedir.



Şekil 1.11. Selüloz (a) ve kitin (b)'nin koltuk konformasyonları

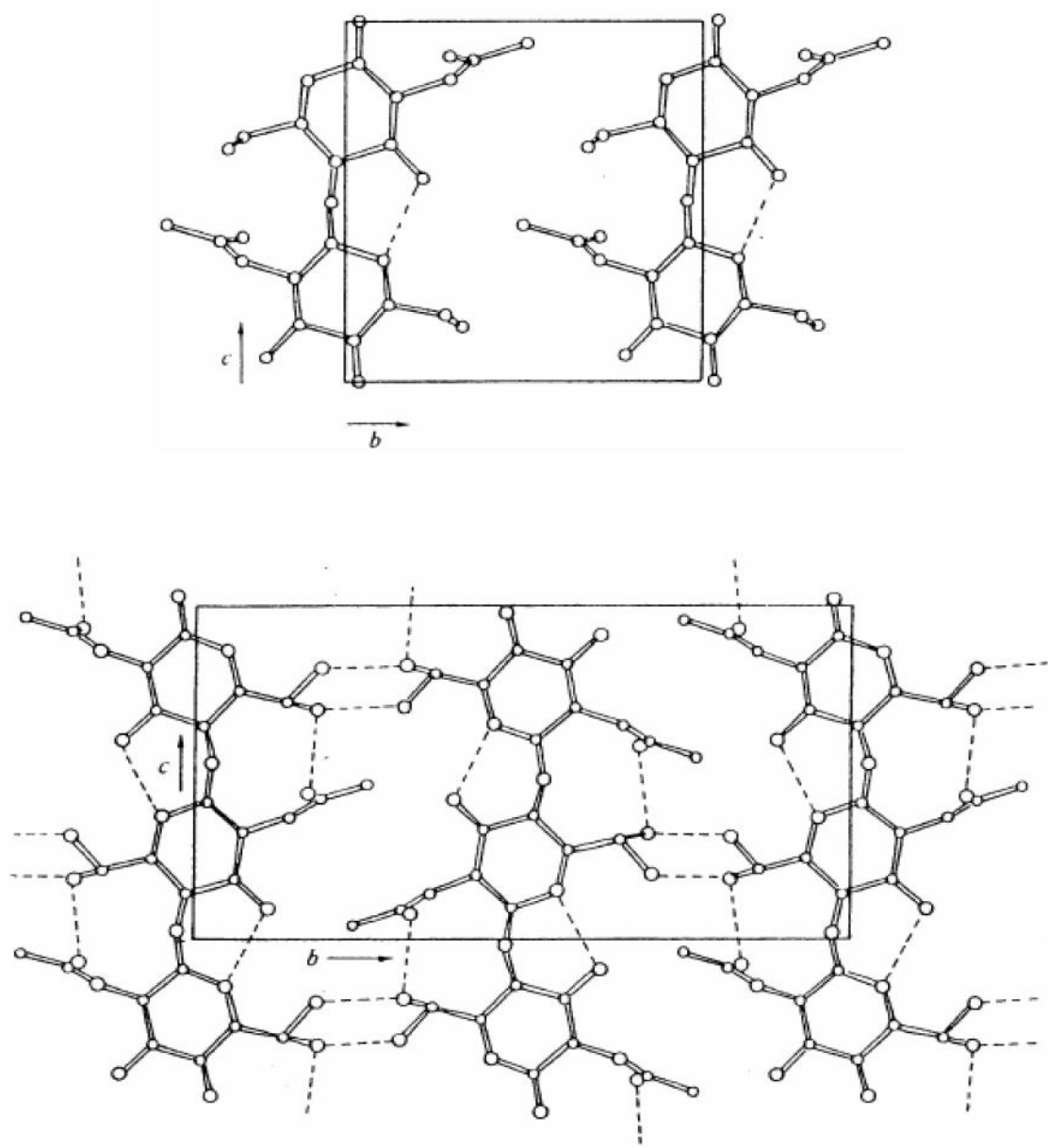
Ayrıca proteinleri uzaklaştırmak için alkali muamelesi yapılırken deasetilasyon meydana gelir. Dolayısıyla izolasyon işleminin kaynağına ve moduna bağlı olarak kitin numuneleri 0.005-0.15 arasında değişen deasetilasyon derecelerine sahiptir. Yeksenak (tekdüze) yapılı veya tamamen N-asetillenmiş kitin, poli(N-asetil-D-glukozamin), hazırlamak için serbest amino gruplarının seçici N-asetillemesi gereklidir [46].

#### 1.4.4.6. Çözünürlük

Kitin molekülleri kuvvetli molekül içi hidrojen bağları yaptığından dolayı bilinen çözücülerde çözünmez ve kabul edilebilir ölçüde şişmez. Çözünürlüğü kitinin kaynağına bağlı olmasına rağmen, sadece % 5-10 LiCl içeren N,N-dimetilasetamid (DMAc) gibi özel çözücülerde ve hekzafloroaseton ve hekzafloro-2-propanol gibi bazı florlu çözücülerde çözünür.

% 5-8 LiCl içeren DMAc ve N-metil-2-pirolidon (NMP) karışımı film dökmek için sıklıkla uygulanır [47]. Son zamanlarda, naylon için kullanılan solventlerden kalsiyumklorürdihidrat ile doyurulmuş metanol de kitin solventi olarak kullanılabilir.  $\alpha$  kitinin inatçı doğasının tam aksine,  $\beta$  kitin zayıf molekül içi

hidrojen bağı yaptığından dolayı su ve organik çözücülere karşı daha yüksek ilgi göstermesiyle karakterize edilir.  $\beta$  kitin suda ciddi ölçüde şişer ve formik asitte bile çözünür.



Şekil 1.12.  $\alpha$  kitin (altta) ve  $\beta$  kitinde (üstte) kitin moleküllerinin düzeni

#### **1.4.5. Kitin ve Türevlerinin Kullanım Alanları**

Kitin ve türevleri (kitosan, kitin ve kitosan oligosakkaritleri) sahip oldukları özellikler sayesinde tıp da dahil pek çok kullanım alanı bulmuştur. Kitin ve kitosanın ticari açıdan ilgi görmesinin başlıca sebebi yüksek oranda (ortalama % 6.98) azot içermeleridir. Bu oran kitini yararlı bir şelatlama (metal tutma) ajanı yapmaktadır. Son yıllarda kitosan, potansiyel bir polisakkarit kaynağı olarak ilgi görmektedir [30,31].

Son otuz yılda kitin ve kitin türevlerinin tıpta kullanımlarına ilgi yoğunlaşmıştır [30,31,48]. Yapılan araştırmalar kitin ve kitosanın toksik ve alerjik olmadığını göstermiştir. Bu nedenle vücudun bu bileşikleri yabancı bir istilacı olarak görüp kabul etmesi mümkün değildir. Kitinin biyolojik bozunması ve antifungal özellikleri çevresel ve tarımsal olarak kullanımları için avantajdır [30]. Kitin kullanımını sınırlayan en büyük etken zayıf çözünürlüğüdür. Bu kısıtlamaya rağmen, kitin ve türevleri pek çok uygulama alanı bulmuştur.

##### **1.4.5.1. Antitümör Ajan Olarak Kullanımları**

Suda çözünebilen kitosan antitümör ajanı olarak kullanılmaktadır. Kısmen depolimerize edilmiş kitosanların kemirgen peritoneal makrofajları uyardığı, tümör hücrelerini öldürdüğü ve antitümör aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur [49].

##### **1.4.5.2. Ortopedik / Periodontal Uygulamalar**

Son yıllarda, polimer matris-kalsiyum temelli bileşik sistemlerinin, sert doku yerine kullanılabilirlikleri üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Bu tip bileşik sistemlerinin avantajı, kalsiyum bileşiklerinin dağılımını engelleyen polimer matrisin bağlayıcı özelliğinden ileri gelmektedir. Örneğin; polimerin hidroksiapatit ile kombinasyonunun hidroksiapatitin osteoiletken (kemik-iletken) davranışını maksimuma çıkardığı ve böylece matris emildilçe implantta kemiksi gelişim sağladığı gösterilmiştir. Kemik ve periodontal dolgu malzemesi olarak kullanım potansiyeli olan hidroksiapatit-kitosan mikrosferler (içi boş küresel tanecik) hazırlanmıştır [50]. Wan ve arkadaşları [48], kitin ve kalsiyum türleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Hidroksiapatiti kitinde disperse ederek yeni bir hidroksiapatit-kitin kompozit materyal elde etmişlerdir.

### **1.4.5.3. Kitin ve Kitosan Bazlı Sargı Malzemeleri**

Muzzarelli [51], yeni bir kitosan türevi bulmuştur; 5-metilpirolidinonkitosan. Bu kitosan türevinin tıp alanında kullanılabileceği düşünülmektedir. Yaraya uygulandığında lizozim etkisiyle üretilen oligomer yapıya dönüşmektedir. Kitinle ilgili ilk çalışmaların ardından Beschitin® (Unitika) adlı kitin bazlı bir yara sargı bezi Japonya'da piyasaya sürülmüştür. Bu alanda daha birçok çalışma devam etmektedir [30].

### **1.4.5.4. Oftalmoloji (Gözbilim)**

İdeal bir kontakt lens yapmak için gerekli tüm özellikler kitosanda mevcuttur; optik berraklık, mekanik dayanıklılık, yeterli optik düzeltme, gaz (özellikle oksijen) geçirgenliği, ıslanabilirlik ve bağışıklık sistemine uyumluluk gibi özelliklere sahiptir [30].

### **1.4.5.5. Gıda Endüstrisi Uygulamaları**

Kitin, kitosan ve türevleri gıda endüstrisinde de geniş bir uygulama alanına sahiptir. Bakteri ve küf gelişimini önleyici antimikrobiyal madde olma özellikleriyle tarımsal hammaddelerde küf kontaminasyonunun ölçümünde kullanılmaktadırlar. Gıda endüstrisinde; gıda ve çevre arasında nem transferinin kontrolünde, antioksidanların, tatlandırıcıların geliştirilmesinde, meyvelerde enzimatik kararmanın kontrol edilmesinde kullanılırlar. Katkı maddesi olarak; içeceklerin ve meyvelerin asitlendirilmesinde, doğal tatlandırıcıların arttırılmasında kullanılırlar. Ayrıca yüksek kolesterolü azaltıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Kabuklu ve balık beslenmesinde katkı maddesi olarak, tek hücre proteini üretiminde, gastrit önleyici madde olarak da kullanılmaktadırlar [34].

## **1.5. Doğal Polimerler Hakkında Literatür Çalışmaları**

Varma ve Narasimhan [52], pamuk ipliği üzerine etil akrilat, n-butilakrilat, metakrilat ve metilmetakrilatın graft kopolimerizasyonunu incelemişlerdir. Graftlanmış örneklerin termogravimetrik analizleri sonucunda, graft yüzdesinin artması ile termal kararlılığın arttığı gözlenmiştir.

Mehrotra ve Ranby [53],  $Mn^{3+}$  'ü başlatıcı olarak kullanarak akrilonitrilin nişasta üzerine graft kopolimerizasyonunu incelemişler ve monomer dönüşümünün reaksiyon sıcaklığıyla değişmediğini gözlemişlerdir.

Gao, Tian ve arkadaşları [54], manganez pirofosfat başlatıcısını kullanarak nişasta üzerine metilmetakrilatın graft kopolimerizasyonunu incelemişlerdir ve graflanma yüzdesinin ve graflanma oranına reaksiyon sıcaklığının, reaksiyon süresinin, başlatıcı ve monomer konsantrasyonunun, reaksiyona giren nişastanın miktarı ile değiştiğini gözlemişlerdir. Nişasta miktarının artmasıyla graflanma yüzdesinin belli bir konsantrasyona kadar arttığını daha sonra bir maksimumdan geçtiği bulunmuştur. Zamana, başlatıcı miktarına ve monomer konsantrasyonuna göre incelendiğinde de, graflanma yüzdesinin bu parametreler arttıkça arttığı bulunmuştur.

Gurruchaga, Goni ve arkadaşları [55], hidroksilik metakrilatlarla nişastanın graft kopolimerizasyonunu asit hidrolizi ile gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyonu  $N_2$  atmosferinde ve 30 °C'de gerçekleştirmişler ve reaksiyon süresini 4 saat olarak belirlemişlerdir. Asit hidrolizi ile akrilik polimer zincirlerini ayırıp nişasta üzerine graflanmasını sağlamışlardır. Hidroklorik (HCl) asidin hidrolizini, hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve hidroksipropilmetakrilat (HPMA)'nın graflanması için uygun bulmuşlardır. Perklorik asidin hidrolizi metodunda ise farklı graflanma verimi ve ürünü elde edilmiştir.

Tahlawy ve Hudson [56], ATRP yöntemiyle kitosan üzerine metoksipolietilen glikolmetakrilat'ın aşılmasını sağlamışlardır. Önce kitosan Brom uçlu 2-bromoizobutirilin ile modifiye edilerek Brom uçlu ATRP makrobaşlatıcısı oluşturulmuş, daha sonra kitosandaki amino grubu imin olarak korunmuş ve sulu ortamda metakrilat metoksi ile kaplanarak aşılama yapılmıştır.

Hanton ve arkadaşları [57], kitosanı ATRP yöntemiyle aşılıyarak sentezlemiş ve karakteristik özelliklerini incelemişlerdir. Bunun için iki sentetik yöntem kullanmışlardır. Bunlar: "Aşılardan gelerek ve aşılmaya gidilerek" olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada kitosandan ATRP başlatıcısı oluşturulup, etilenglikolmetakrilat ile aşılmıştır. Kopolimerler  $^1H$  NMR, FT-IR, Elementel Analiz ve GPC yöntemleriyle karakterize edilmişlerdir. Bu iki yöntemin karşılaştırılması sonucunda, sentetik ve doğal polimerlerin yapısındaki tarak polimerlerin bulunma oranları farklılık göstermiştir. "Aşılmaya gidilerek" sentetik yolu daha yüksek saflıkta ve iyi tanımlanmış olduğundan dolayı tercih edilmiştir.

Liu ve Zhixing [58] bu çalışmada, Yüzey Başlatıcı Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (SI-ATRP) ile kitosan parçacıklarını polistirenle aşılama sonunda monomerin dönüşümü (%C) ve aşılama yüzdesi (%PG) polimerizasyon süresinin artmasıyla önce % 5.31 olmuş, 5 saatlik polimerizasyon sonunda da % 19.12 olmuştur. Oluşan maddeler elementel analiz, FT-IR, DSC ve XRD yöntemleriyle karakterize edilmiştir.

Tomoya ve arkadaşları [59] bu çalışmada, toz kitin ve kitin hidrojel kullanarak tosil kitin ve iyodokitin elde etmişler ve bunların ATRP'de makro başlatıcı fonksiyonunu incelemişlerdir. Sonuçta iyodokitin ve MMA kullanılarak aşılama çalışması yapılmış ve bunun özellikleri incelenmiştir.

Kong-Soo ve arkadaşları [60], seryum içerikli tuz başlatıcısı varlığında kitin üzerine MMA'nın graft polimerizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bunun için seryumlu amonyumnitrat başlatıcısı varlığında kitin üzerine MMA'nın graft polimerizasyonu araştırılmıştır. Formik asit ve metanol gibi bilinen organik çözücüler içinde aşılama gözlenmemiş ve aşılama suyun gerekli olduğu bulunmuştur. Ağırlık artışı, aşılama yüzdesi ve aşılama derecesine en uygun koşullar; reaksiyon ısı, reaksiyon süresi, monomer ve başlatıcı konsantrasyonları ile belirlenmiştir. Aşı polimer IR spektroskopisi ve elektron mikroskop kullanılarak karakterize edilmiştir.

Jilan ve arkadaşları [61], radyasyonla indüklenen kitin ve kitosan üzerine stireni aşılama sonucunda kitin ve kitosan üzerine stirenin aşılama verimi de artmıştır. Aynı dozda stirenin kitosan üzerindeki aşılama verimi kitin üzerine olan aşılama veriminden daha fazla bulunmuştur. Aşılama reaksiyonu gecikmiş metanol ve oksijen varlığında ilerlemiş fakat tamamen inhibe etmemiştir. Reaksiyon aşılama mekanizmasının çalışması ve aşılama ürünleri analiz etmek için, aşılama ürünleri benzen ile ilk kez ekstrakte edilmiştir. Sonra yapıları hidrolize edilmiş ve bir ince tabaka kromatografisi ile ayrılmıştır. Üç farklı polistiren; kitin üzerine aşı polistiren, kitin üzerine gömülü polistiren ve polistiren aşılama çözeltisi elde edilmiştir. Bunların farklı aşılama koşullarında jel geçirgenlik kromatografisi tarafından belirlenen moleküler ağırlık dağılımı genişlik endeksi değişkenliği tartışılmıştır.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Cam malzeme olarak; çeşitli hacimlerde üç veya dört ağızlı rodajlı reaksiyon balonları, normal ve vakum destilasyon düzeneği, geri soğutucu, damlatma hunisi, termometre, havan, mezür, huni, erlen, beher, deney tüpü, baget, pipet.
- Polimerizasyon için; termostatlı yağ banyosu, özel tüp ve balonlar.
- IR spektrumları için; MATTSON 1000 FT-IR Spektrometre (Fırat Üniversitesi, Elazığ) kullanıldı.
- Element analizleri için; Thermo Finnigan-1112 Organik Elementel Analiz Cihazı (Fırat Üniversitesi, Elazığ) kullanıldı.
- Tartımlar için Elektronik Teraziler: Chyo J.L. 180 model.
- Termal analizler için; SHIMADZU marka DSC 50 (Fırat Üniversitesi, Elazığ).
- Kurutma işlemi için; Elektro-Mag M 50 model Etüv kullanıldı.
- Karıştırma için (Jubbo ET 401) marka magnetik karıştırıcı kullanıldı.
- Çözücüleri uzaklaştırmak için evaporatör.

### 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

#### Reaktifler

Kristal kitin sırasıyla; seyreltik NaOH, su, seyreltik CH<sub>3</sub>COOH, su, deiyonize su, metanol ve asetonda yıkanarak kurutuldu. Potasyumtersiyerbütoksit, klorasetilklorür, 2,2'-bipiridin olduğu gibi kullanıldı.

#### Polimerizasyonda Kullanılan Monomerler

Diasetonakrilamit, Metakrilamit, 4-nitrofenilakrilamit, 2-hidroksietilmetakrilat olduğu gibi kullanıldı.

## **Çözücüler**

Çöktürme ve yıkama işleminde kullanılan asetonitril, N,N-dimetilformamit (DMF), kloroform, su + etanol + HCl karışımı, deiyonize su, aseton ve dietileter çözücülerini olduğu gibi kullanıldı.

IR çekiminde tüm katı maddeler için KBr olduğu gibi kullanıldı. Kullanılan tüm kimyasal maddeler Merck, Aldrich veya Fluka markadır.

**Katalist Sistem:** CuCl ve 2,2'-bipiridin

**İnert Gaz:** Argon gazı

Uygulamalarda MCF-7 hücresi (insan göğüs kanseri hücresi) antitümör aktivite belirlenmesinde kullanıldı.

## **2.3. Kristal Kitinin Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) Yoluyla Aşılması**

### **2.3.1. Kitinklorasetat (Kit.ClAc) Başlatıcısının Sentezi**

4.06 gr kristal kitin alınarak reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine 50 ml asetonitril eklenerek bir gece reaksiyon balonunda bekletildi. Şişen kitin üzerine 50 ml asetonitrilde çözülmüş 0.07 mol potasyumtersiyerbütoksit ilave edildi. Reaksiyon sürekli karıştırılarak oda sıcaklığında 4 saat sürdürüldü. Sonra damlatma hunisinde, 50 ml asetonitril'de çözülmüş 0.20 mol klorasetilklorür oda sıcaklığında sürekli karıştırılan reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Reaksiyon, 12 saat geri soğutucu altında kaynatılarak tamamlandı. Karışım soğutulup süzüldü ve ayrılan çökelek sırasıyla; su, etanol, aseton ve dietileterde yıkandı ve etüvde kurutuldu.





## 2.4. Polimerlerin Antitümör Aktiviteleri

### 2.4.1. L1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi

Hücre kültür bankasından (ATCC, ABD) aldığımız donmuş haldeki L1210 kemirgen lösemi hücreleri oda sıcaklığında çözdürülerek 75 ml flask içerisine aktarıldı. Flaskın içerisine daha önceden hazırlanmış olan DC<sub>5</sub> (25 ml) ilave edildi ve flasklar, Nuair marka bir %5 CO<sub>2</sub> ortamlı inkübatöre (Plymouth, MN, ABD) yerleştirildi. Günlük olarak hücrelerin durumu Soif marka (Soif Optical Inc., Çin) bir invert mikroskop kullanılarak kontrol edildi ve üçüncü günün sonunda flasklarda bulunan DC<sub>5</sub> çekilerek tazeyle değiştirildi. Bu işlem üç gün aralıklarla sürekli tekrar edildi.

Sayıları artmaya devam eden hücreler flaskın tabanını tamamen kaplayarak üst üste tabakalar oluşturmaya başladılar. 15. günün sonunda flasklardaki medyum çekildi ve yerine 3 ml tripsin ilave edilerek inkübatöre yerleştirildi. 2-3 dakikada bir flasklar hafifçe sallanarak hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmasını sağlandı. Tüm hücreler flaskın yüzeyinden ayrıldıktan sonra flaskın içerisine 12 ml DC<sub>5</sub> ilave edildi ve dikkatli bir şekilde tritürasyon (süspansiyonun pipet içerisine çekilip boşaltılarak yapılan ayrıştırma işlemi) yapılarak hücrelerin homojen olarak solüsyona dağılmasını sağlandı.

Hücreler bir hemositometre kullanılarak sayıldı. Her flaska  $5 \times 10^6$  hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu konulup üzerlerine DC<sub>5</sub> ilave edildi (toplam hacim 25 ml olacak şekilde) ve tüm flasklar inkübatöre yerleştirildi. Hücrelerin ekimleri, beslenmeleri ve deneyler steril bir Class II Laminar Flow (Bolaf, Ankara) içerisinde gerçekleştirildi [62,63].

### 2.4.2. Kullanılacak Hücre Sayısı ve Madde Dozlarının Belirlenmesi

L1210 kemirgen lösemi hücreleri, flasklara tripsin ilave edilerek yerlerinden söküldü ve hücre süspansiyonu 2000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edildi. Tüplerdeki tripsin medyum karışımı alınarak yerine DC<sub>5</sub> ilave edildi ve tritürasyon ile hücrelerin *single cell suspension* haline gelmeleri sağlandı. Hemositometre kullanılarak hücreler sayıldı ve hücre sayısı L1210 hücre deneyleri için  $1 \times 10^6$ /ml, hücreye ayarlandı. Dozların belirlenmesinde ön denemeler yapıldı ve aşağı yukarı yöntemi kullanıldı [64].

Hücre süspansiyonundan birer ml deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar 7,5 – 15  $\mu$ M, 30 – 60  $\mu$ M konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *Vehicle* tüplerine de aynı miktarda DMSO ilave edildi ve tüpler inkübatöre yerleştirildi. Hücre süspansiyonlarındaki DMSO miktarı %1 den fazla değildir. 24 saat sonra tüpler inkübatörden çıkarılarak tritürasyon yapıldı ve hücre süspansiyonu % 0.4 tryphan blue ile 1:1 (v/v) oranında rastgele seçilen 100 adet hücre hemositometrede sayıldı. Hücre canlılığı yüzde olarak ifade edildi. Aynı işlem 48 saat sonra tekrar edildi ve deney sonlandırıldı [64].

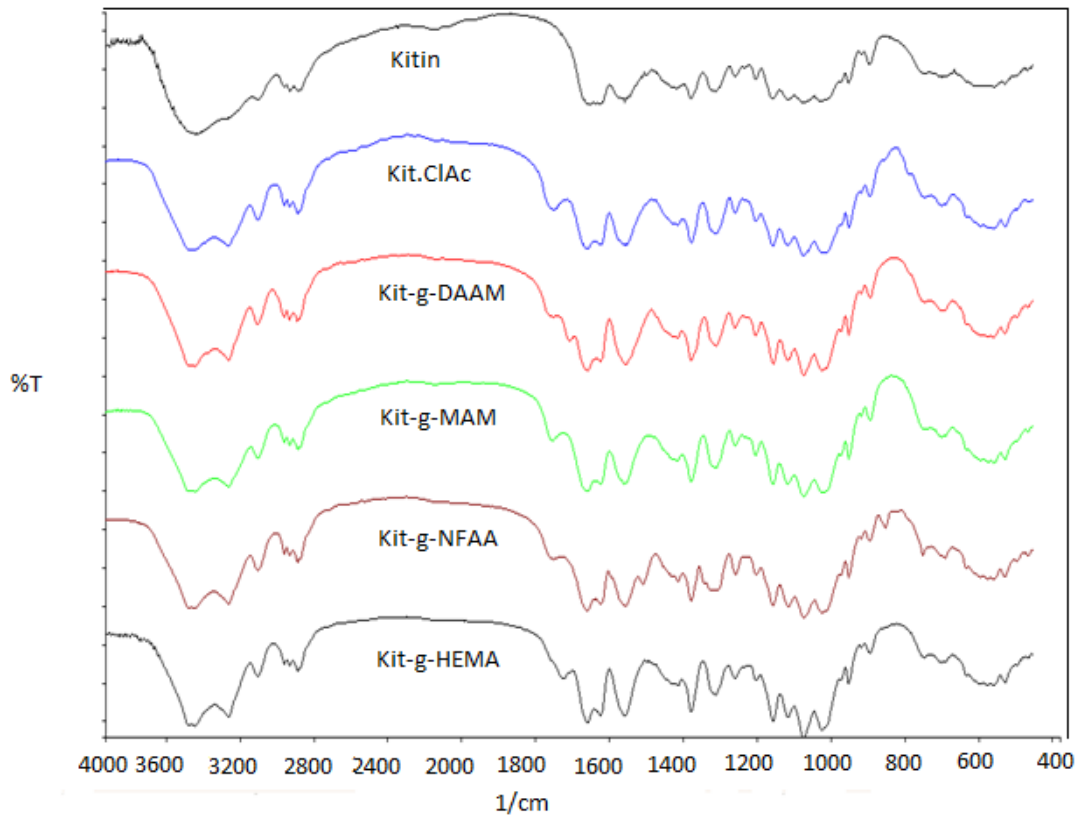
### **2.4.3. İstatistiksel Değerlendirme**

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler; SPSS/PC paket programı kullanılarak yapılmıştır. Aktiviteler arasındaki istatistiksel farklılıkları ortaya koymak için sonuçlara varyasyon analizi uygulandı ve 0,05'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Deneysel çalışmalar sonunda elde edilen veriler, antitümör özellik için One-way Anova analizi, Tukey testi yapılarak değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Aşı Kopolimerlerinin Karakterizasyonu ve Aşılama İlgili Veriler

Kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin IR spektrumları Şekil 3.1'de ve değerlendirmeleri Tablo 3.1'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin IR spektrumları

**Tablo 3.1.** Kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin IR değerlendirilmesi

| Polimer         | Dalga Sayısı( $\text{cm}^{-1}$ ) | Titreşim Türü        |
|-----------------|----------------------------------|----------------------|
| Kitin           | 3350                             | O-H gerilmesi        |
|                 | 1670                             | C=O amit gerilmesi   |
| Kitinklorasetat | 3350                             | O-H gerilmesi        |
|                 | 1745                             | C=O ester gerilmesi  |
|                 | 794                              | C-Cl gerilmesi       |
| Kit-g-DAAM      | 3350                             | O-H gerilmesi        |
|                 | 1740                             | C=O ester gerilmesi  |
|                 | 1660                             | C=O amit gerilmesi   |
| Kit-g-MAM       | 3350                             | O-H gerilmesi        |
|                 | 1722                             | C=O ester gerilmesi  |
|                 | 1665                             | C=O amit gerilmesi   |
| Kit-g-NFAA      | 3350                             | O-H gerilmesi        |
|                 | 1722                             | C=O ester gerilmesi  |
|                 | 1665                             | C=O amit gerilmesi   |
|                 | 1320                             | $\text{NO}_2$ yapısı |
| Kit-g-HEMA      | 1745                             | C=O ester gerilmesi  |
|                 | 750                              | C-Cl gerilmesi       |
|                 | 1660                             | C=O amit gerilmesi   |

Tablo 3.2.'de verilen polimerlerin elementel analiz sonuçlarına göre aşağıdaki formüller yardımıyla, kitindeki  $-\text{CH}_2\text{OH}$  gruplarının klorasetiklorür ile süstitüsüyonu yani kitinin mol olarak yüzde süstitüsüyonu (y), kitinin her bir aşı kopolimerindeki amit monomerlerinin ağırlık fraksiyonu (x) ile Kit.ClAc birimine oranı (n) hesaplandı.

$$Y = \frac{A - B}{C - D} \times 100$$

Y = Kitinin ağırlıkça yüzde süstitüsüyonu

A = Kit.ClAc'nin deneysel karbon yüzdesi

B = Kitinin deneysel karbon yüzdesi

C = % 100 süstitüsyon gerçekleştiğinde Kit.ClAc'nin teorik karbon yüzdesi

D = Kitinin teorik karbon yüzdesi

Kitinin ağırlıkça yüzde süstitüsüyonu 22.32 olarak hesaplandıktan sonra molce yüzde süstitüsyona (y) geçmek için;

$$y = \frac{Y / 279,50}{Y / 279,50 + (100 - Y) / 203} \cdot 100$$

203 = Kitinde tekrar eden glukozaminin birim ağırlığı

279.50 = % 100 süstitüsyon gerçekleştiğinde Kit.ClAc'nin birim ağırlığı

formülü kullanılarak kitinin mol olarak yüzde süstitüsüyonu 17.39 bulundu.

Aşılınmış kitinlerin her birindeki amit monomerlerinin ağırlık fraksiyonu (x);

$$E = (1 - x) \cdot A + F \cdot x$$

E = Aşı kopolimerlerinin deneysel karbon yüzdesi

F = Monomerlerin teorik karbon yüzdesi

Aşı kopolimerlerinde amit monomer biriminin Kit.ClAc birimine oranı (n) ise;

$$n = \frac{x / M_m}{(1 - x) / M_{ort}} / y$$

$$M_{ort} = y \cdot 279,50 + (1 - y) \cdot 203$$

$M_m$  = Monomerin molekül ağırlığı

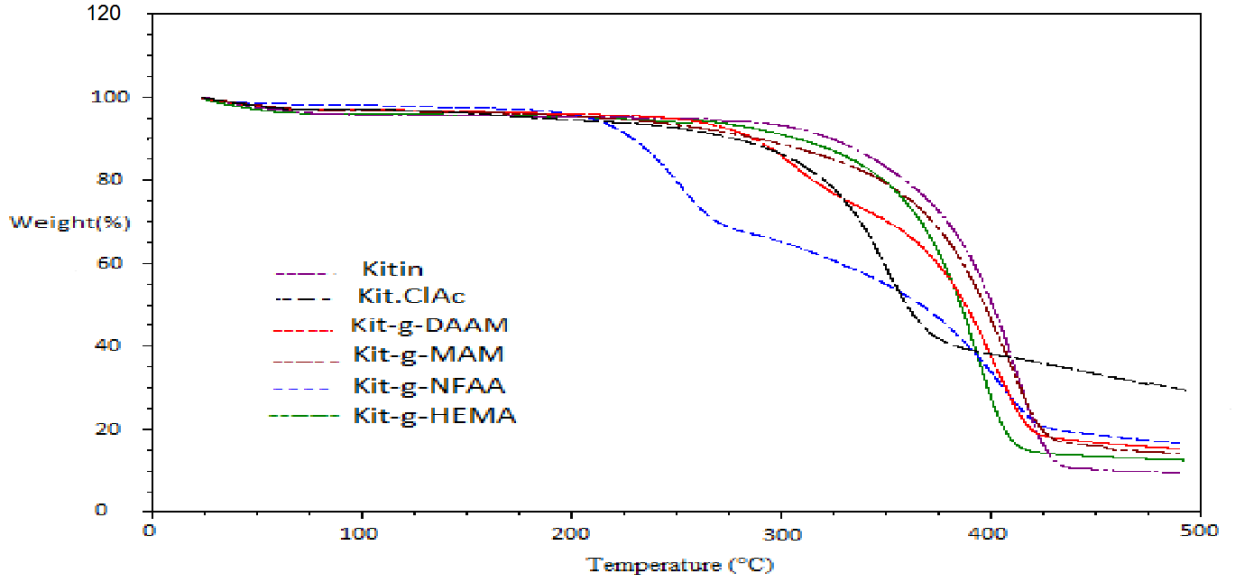
formülleri yardımıyla hesaplandı.

**Tablo 3.2.** Kitin, Kit.ClAc ile aşı kopolimerlerine ait elementel analiz sonuçları ve değerlendirilmesi

| Polimer          | Elementel Analiz |      |      | Monomerlerin Ağırlık Fraksiyonu (x) | Monomer Birimi / Kit.ClAc Birimi (n) |
|------------------|------------------|------|------|-------------------------------------|--------------------------------------|
|                  | % C              | %H   | %N   |                                     |                                      |
| Kitin            | 43.93            | 6.29 | 6.63 | -                                   | -                                    |
| Kitin klorasetat | 36.25            | 5.20 | 5.40 | -                                   | -                                    |
| Kit-g-DAAM       | 47.65            | 6.65 | 6.87 | 0.41                                | 0.36                                 |
| Kit-g-MAM        | 44.85            | 6.47 | 7.28 | 0.43                                | 0.77                                 |
| Kit-g-NFAA       | 47.80            | 5.75 | 9.22 | 0.54                                | 0.56                                 |
| Kit-g-HEMA       | 45.69            | 6.70 | 6.17 | 0.49                                | 0.66                                 |

### 3.2. Aşı Kopolimerlerinin Termal Özellikleri

Kristal kitinin ATRP yöntemiyle elde edilen aşı kopolimerlerinin TGA eğrileri Şekil 3.2.'de görülmektedir. TGA eğrilerine ait değerler ise Tablo 3.3.'de yer almaktadır.



**Şekil 3.2.** Kristal kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin TGA eğrileri

**Tablo 3.3.** Kristal kitin, Kit.ClAc ve aşı kopolimerlerinin TGA eğrilerine ait değerler

| Polimer         | Bozunmanın Başladığı Sıcaklık (°C) | % 50 Kütle Kaybının Olduğu Sıcaklık (°C) | Atık Madde Miktarı (%) |
|-----------------|------------------------------------|--|------------------------|
| Kitin           | 305                                | 405                                      | 8                      |
| Kitinklorasetat | 270                                | 370                                      | 30                     |
| Kit-g-DAAM      | 275                                | 395                                      | 15                     |
| Kit-g-MAM       | 295                                | 400                                      | 14                     |
| Kit-g-NFAA      | 220                                | 375                                      | 18                     |
| Kit-g-HEMA      | 280                                | 385                                      | 12                     |

### 3.3. Polimerlerin Serbest Radikal (DPPH') Giderme Aktivitesi

**Tablo 3.4.** Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yok etme aktiviteleri

| Örnekler (5 mg) | DPPH' Yok Etme Aktivitesi (%) |
|-----------------|-------------------------------|
| Kontrol         | 0.00                          |
| Kitin           | 0.00                          |
| Kitinklorasetat | 56.95                         |
| Kit-g-DAAM      | 15.19                         |
| Kit-g-MAM       | 9.03                          |
| Kit-g-NFAA      | 7.97                          |
| Kit-g-HEMA      | 5.24                          |
| Pirokatekol     | 85.24                         |

Serbest radikal olarak DPPH' kullanıldı ve 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak 5 mg miktarında polimerler kullanıldı. Her bir deney tüpüne stok DPPH' çözeltisinden 4 mL ilave edildi. Daha sonra üzerine 5 mg miktarındaki polimerler ilave edilip 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçüldü.

Kontrol olarak 4 mL DPPH<sup>•</sup> çözeltisi, kör olarak etil alkol kullanıldı. Azalan absorbans, geriye kalan DPPH<sup>•</sup> çözeltisi miktarını serbest radikal giderme aktivitesini verir [65]. DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) bir serbest radikaldır ve bir elektron veya bir hidrojen radikali ile etkileşerek stabil bir diamanyetik bir molekül olma eğilimindedir [65,66]. DPPH<sup>•</sup> radikalleri miktarındaki meydana gelen azalma, 517 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu yüzden DPPH<sup>•</sup> radikali, antioksidan aktivite tayininde sıklıkla kullanılır. Ortamda bulunan radikal giderici veya söndürücü antiradikal türlerin (AH)<sub>n</sub> varlığında koyu menekşe renginde olan DPPH<sup>•</sup> radikalleri açık sarı renkli olan indirgenmiş DPPH formuna (DPPH-H) dönüşmektedir. Bu indirgenmiş formdaki DPPH ise 517 nm’de maksimum absorbans göstermektedir. Örneklerin ortamdaki DPPH radikali miktarları yüzde olarak şu eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ Yok Etme Yüzdesi } \% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub> kontrolün absorbansı, A<sub>1</sub> örneklerin absorbansı olarak alınmıştır.

Analizde kullanılan pirokatekol, uluslararası düzeyde antioksidan özelliği bilinen ve kabul edilen bir kimyasaldır.

### 3.4. Polimerlerin Antitümör Aktivite Sonuçları

Elde edilen bulgular parametrelerin her birinde uygulama boyunca grupların kontrol grubu ile kıyaslarını gösterecek tablolar halinde verildi. Maddelerle muamele edilmiş L1210 hücrelerine ait canlı hücre sonuçları Tablo 3.5.’de verilmiştir.

**Tablo 3.5.** L1210 hücrelerinin antitümör aktivite sonuçları

| Gruplar         | 24 h 2.5 mg<br>(% canlılık) | 24 h 5 mg<br>(% canlılık) | 48 h 2.5 mg<br>(% canlılık) | 48 h 5 mg<br>(% canlılık) |
|-----------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Kontrol         | 88.00±0.70                  | 87.00±0.41                | 83.75±0.47                  | 82.25±0.63                |
| Kitin           | 25.75±1.37 <sup>c</sup>     | 16.00±0.40 <sup>c</sup>   | 14.25±1.10 <sup>c</sup>     | 9.50±0.50 <sup>c</sup>    |
| Kitinklorasetat | 8.00±0.91 <sup>c</sup>      | 0.00±0.00 <sup>c</sup>    | 0.00±0.00 <sup>c</sup>      | 0.00±0.00 <sup>c</sup>    |
| Kit-g-DAAM      | 26.50 ± 1.55 <sup>c</sup>   | 18.75±0.47 <sup>c</sup>   | 14.50±0.64 <sup>c</sup>     | 2.00±0.40 <sup>c</sup>    |
| Kit-g-MAM       | 30.25±1.25 <sup>c</sup>     | 20.25±0.47 <sup>c</sup>   | 17.50±1.32 <sup>c</sup>     | 8.50±1.04 <sup>c</sup>    |
| Kit-g-NFAA      | 15.75±0.47 <sup>c</sup>     | 7.25±0.63 <sup>c</sup>    | 0.00±0.00 <sup>c</sup>      | 0.00±0.00 <sup>c</sup>    |
| Kit-g-HEMA      | 35.50±1.32 <sup>c</sup>     | 26.50±0.95 <sup>c</sup>   | 15.00±1.78 <sup>c</sup>     | 7.00±0.70 <sup>c</sup>    |

a : P< 0.05; b : P< 0.01; c : P< 0.001

#### 4. TARTIŞMA

Kristal kitinin aşılmasında ATRP yöntemi kullanıldı. ATRP yöntemi için gerekli Kit.ClAc başlatıcısı sentezlendi.

Kit.ClAc'nin IR spektrumunda kitinden farklı olarak  $1745\text{ cm}^{-1}$ 'de ester C=O gerilmesi ve  $795\text{ cm}^{-1}$ 'de C-Cl gerilme titreşimine ait pikler ile elementel analiz karbon yüzdesine dayalı hesaplamalar sonucu bulunan 17.39 mol olarak yüzde süstitüsyon derecesine sahip Kit.ClAc başlatıcısının sentezlendiği görüldü [67,68].

Kit.ClAc başlatıcısının ATRP yöntemiyle aynı şartlarda bazı monomerlerle aşılması sonucu elde edilen aşı kopolimerlerin IR spektrumlarında;  $1740\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O ester ile  $1660\text{ cm}^{-1}$ 'deki C=O amit gerilme pikleri Kit-g-DAAM'yi karakterize etmektedir.  $1665\text{ cm}^{-1}$ 'deki C=O amit gerilmesi Kit-g-MAM için,  $1320\text{ cm}^{-1}$ 'deki  $\text{NO}_2$  yapısı gerilme piki ise Kit-g-NFAA için karakteristik piklerdir. Ayrıca bağıl olarak artan  $1745\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O ester piki ile yine bağıl olarak azalan  $1660\text{ cm}^{-1}$ 'deki C=O amit gerilme pikleri de Kit-g-HEMA'yı karakterize etmektedir. Kit-g-DAAM'nin IR spektrumunda  $1660\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikin Kit.ClAc'nin IR spektrumuna göre şiddetinin artması, kitinin aşılmasına kanıt olarak gösterilebilir.

Elementel analiz sonuçlarına göre aşı kopolimerlerinde monomerlerin ağırlık fraksiyonları (x) ve başlatıcı birimi başına düşen monomer birimi (n) hesaplandı [67,68]. n değerinin Kit-g-MAM'da, x değerinin de Kit-g-NFAA'da diğerlerine göre en yüksek olması söz konusu monomerlerin diğer iki monomerden daha etkin olduğu söylenebilir.

Bozunmanın başladığı ve % 50 ağırlık kaybının olduğu sıcaklık, termal kararlılığın bir ölçüsü alındığında, tüm aşı kopolimerlerin termal kararlılığının azaldığı görülmektedir [69]. Kitinin bozunması tek basamakta ve dar bir sıcaklık aralığında gözlenirken, aşı kopolimerlerinde bozunma iki basamakta olup, aralığın genişlediği görülmektedir. Bu durum, bozunma esnasında bazı çapraz bağ reaksiyonları ile ilgili olabilir. Ayrıca kitinin bozunma sıcaklığı aralığının literatür değer aralığına uygun olduğu görülmüştür [70].

DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarına göre polimerlerin serbest radikal giderme aktiviteleri standart bir antioksidan olarak kabul edilen pirokatekol ile karşılaştırıldığı zaman oldukça düşük bulunmuştur [71].

Oksidan miktarına bağlı olarak Kit.ClAc'nin orta düzeyde, aşı kopolimerlerin düşük düzeyde antioksidan etki gösterdikleri görülmüştür. Kitin'de antioksidan etki görülmemektedir.

Örneklerin DPPH radikali giderme aktiviteleri büyükten küçüğe doğru şu şekilde sıralanmaktadır: Pirokatekol (% 85.24) > Kit.ClAc (% 56.95) > Kit-g-DAAM (% 15.19) > Kit-g-MAM (% 9.03) > Kit-g-NFAA (% 7.97) > Kit-g-HEMA (% 5.24) > Kitin (% 0.00) (Tablo 3.4.)

Kitin ile kontrol grubunun antitümör sonuçları karşılaştırıldığında, kitinin zaman ve konsantrasyona bağlı olarak belirgin bir şekilde antitümör etki gösterdiği ve 48 saat-5 mg'de 9.50 olarak görülmüştür [72].

Kitin ile aşı kopolimerlerin (Kit-g-DAAM, Kit-g-MAM, Kit-g-NFAA ve Kit-g-HEMA) antitümör sonuçları karşılaştırıldığında, aşı kopolimerlerin zaman ve konsantrasyona bağlı olarak belirgin bir şekilde antitümör etki gösterdiği ve 48 saat-5 mg'de Kit-g-DAAM 2.00, Kit-g-MAM 8.50, Kit-g-NFAA 0.00 ve Kit-g-HEMA 7.00 olarak görülmüştür. Ayrıca bu aşı kopolimerler kontrol ile de kıyaslandığında yine zaman ve konsantrasyona bağlı olarak çok iyi antitümör sonuçlar verdikleri görülmüştür.

Tabloya genel olarak bakıldığında oluşturulan aşı kopolimerler, Kit.ClAc'ye göre hücre canlılığını daha fazla korumuşlardır. Eğer bu etki sadece Kit.ClAc'nin etkisi olsaydı Kit-g-NFAA'nın 48 saat değerlerinde de sıfırın üzerinde değerler görülmeliydi. Bu değerlerin sıfır olması etkinliğin Kit.ClAc'nin değil de aşı kopolimerin kendi etkisinin olduğunu gösterir. Sonuçlar genel olarak Kit.ClAc ile mukayese edildiğinde yüksek değerler görüldüğü halde Kit-g-NFAA'nın 48 saat 2.5 ve 5.00 mg uygulamalarında sıfır canlılığın görülmüş olması bu etkinin Kit.ClAc'den ziyade aşı kopolimerin etkisinden kaynaklandığını göstermektedir.

Kit.ClAc, her ne kadar tek başına iyi bir antitümör etki göstermiş olsa dahi, bu çalışmada önemli olan oluşturulan aşı kopolimerlerin antitümör aktivitesi olduğu için, değerlendirme oluşturulan aşı kopolimerler üzerinden yapılmış ve ana madde olan kitin ile kontrol grubu mukayese edilerek sonuç verilmiştir.

## 5. KAYNAKLAR

1. **Houtz, R.C. and Adkins, H.**, 1933, The Catalysis of Polymerization by Ozonides, II, 3. *Am. Chem. Soc.*, **55**, 241 – 253.
2. **Flory, P.J.** 1937, The Mechanism of Vinyl Polymerization, *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 241 – 253.
3. **Carlin, W. and Shakespear, N.**, 1946, Block and Graft Copolymers, *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 876.
4. **Huggins, M.L., Kratky. O. and Mark H.F.**, 1952, Report on Nomenclature in The Field of Macromolecules, *J. Polym. Sci.*, **8**, 257.
5. **Allen, P.E.M., Downer, J.M., Hastings, G.W., Melville, H.W., Molyneux, P. and Urwin, J.R.**, 1956, New Methods of Preparing Block Copolymers, *Nature Publishing Group*, **177**, 910.
6. **Ceresa, R.J.**, 1962, *Block and Graft Copolymers*, Butterworths, London.
7. **Ceresa, R.J.**, 1965, *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, Interscience, **2**, 485, New York.
8. **Natta, G.**, 1960, *Makromol, Chem.*, **35**, 94, Tokyo.
9. **Saçak, M.**, 2002, *Polimer Kimyası*, Gazi Kitapevi, Ankara.
10. **Matyjaszewski, K., Patent T.E., and, Xia, J.**, 1997, Controlled Living Radical Polymerization. Kinetics of the Homogeneous Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene, *J. Am. Chem. Soc.* , **119**, 674.
11. **Matyjaszewski, K.**, 1988, Controlled Radical Polymerization, ACS Symposium Series 685, *American Chemical Society* : Washington, DC.
12. **Matyjaszewski, K.**, 1999, Controlled / Living Radical Polymerization in the Undergraduate Laboratories, *Chem. Eur. J.* **5**, No. 11.
13. **Kamigaito, M., Ando T. and Savamoto, M.**, 2001, Metal-Catalyzed Living Radical Polymerization and Radical Polyaddition for Precision Polymer Synthesis, *Chem. Rev.* , **101**, 3689.
14. **Matyjaszewski, K., Patent, T.E., Xia, J.H.**, 1997, Controlled / “living” radical polymerization. Kinetics of the homogeneous atom transfer radical polymerization of styrene, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 674 – 680.

15. **Matyjaszewski, K., Wei, M.L., Xia, J.H., et al.,** 1997, Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene Catalyzed by Copper Carboxylate Complexes. *Macromol. Chem. Physic.*, **199**, 2289 – 2292.
16. **Kotani, Y., Kamigaito, M., Sawamoto, M.,** 1998, Living Random Copolymerization of Styrene and Methyl Methacrylate with a Ru (II) Complex Synthesis of ABC – type “Block – Random” Copolymers, *Macromolecules*, **31**, 5582 – 5587.
17. **Wang, X.S., Luo, N., Ying, S.K.,** 1999, Controlled – Living Polymerization of MMA Promoted by Heterogeneous Initiation System (EPN – X – CuX – bpy), *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, **37**, 1255 – 1263.
18. **Wang, X.S., Luo, N., Ying, S.K.,** 1999, Controlled–Radical Polymerization of Methacrylates at Ambient Temperature and The Synthesis of Block Copolymers Containing Methacrylates, *Polymer*, **40**, 4157 – 4161.
19. **Angot, S., Murthy, K.S., Tanton, D., et al.,** 1998, Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene Using a Novel Octafunctional Initiator : Synthesis of Well – Defined polystyrene stars, *Macromolecules*, **31**, 7218 – 7225.
20. **Matyjaszewski, K., Beers, K.L., Kern., A., et al.,** 1998, Hydrogels by Atom Transfer Radical Polymerization. I. Poly (N–vinylpyrrolidinone–g–styrene) via the Macromonomer Method, *J Polym Sci Pol Chem*, **36**, 823 – 830.
21. **Paik, H.J., Gaynor, S.G., Matyjaszewski, K.J.,** 1998, Synthesis and characterization of Graft Copolymers of poly (vinyl chloride) with Styrene and (Meth) acrylates by Atom Transfer Radical Polymerization, *Macromol. Rapid. Comm.*, **19**, 47 – 52.
22. **Matyjaszewski, K., Gaynor, S.G., Kulfan, A., et al.,** Preparation of Hyperbranched polyacrylates by Atom Transfer Radical Polymerization – 1. Acrylic AB\* Monomers in “Living” *Radical Polymerizations*, *Macromolecules*, **30**, 5192 – 5194.
23. **Matyjaszewski, K., Wei, M., Xia, J., et al.,** Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene Catalyzed by Copper Carboxylate Complexes, *Macromol. Chem. Physic.*, **199**, 2289 – 2292.
24. **Davis, K., Malley’O, J., Paik, H.J., et al.,** Effect of the Counteranion in Atom Transfer Radical Polymerization using Alkyl (pseudo) Halide Initiators, *Am. Chem.* **214**, 75 – Poly. Part. 2.
25. **Nishimura, M., Kamiagito, M., Savamoto, M.,** Living Radical Polymerizations of Styrene with Transition – Metal Dithiocarbamate AIBN Systems : Halogen-Free Living Process, *Am. Chem.* **218**, 521 – Poly. Part. 2.
26. **Kirk – Othmer,** 1967, Pectic Substances, *Encyclopedia of Chemical Technology*, **14**, 636 – 651.

27. **French, D., Organization of starch granules**, 1984, In starch: Chemistry and Technology, Whistler, R.L. ; Bemiller, J.N. ; Paschall, E.F. ; Eds. ; Academic Press: London, 183 – 247.
28. **Zobel, H.F.**, 1988, “Molecules to granules: a comprehensive starch review“, *Starch/Starke*, **40**, 44 – 50.
29. **Thompson, D.B.**, 2000, “On the non – random nature of amylopectin branching“, *Carbohydrate, Polymers*, **43**, 223 – 239.
30. **Kumar, M.N.V.R.**, 2000, “A review of chitin and chitosan applications“, *React. Funct. Polym.*, **46**, 1 – 27.
31. **Synowiecki, J. and Al – Khateeb, A.N.**, 2003, “Production, Properties, and Some New Application of Chitin and Its Derivates“, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **43**, 145 – 171.
32. **Cho, Y.I., No, H.K., Meyers, S.P.**, 1998, “Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products“, *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3839 – 3843.
33. **Pinelli, S.A., Toledo, G.A., Esquerra, B.I., Luviano, S.A., Hiquera, C.I.**, 1998, “Shrimp shell waste as a source of chitin biopolymers“, *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, **48**, 58 – 61.
34. **Shadidi, F., Arachchi, J.K.V. and Jean, Y.J.**, 1999, “Food applications of chitin and chitosan“, *Trends Food Sci. Tech.*, **10**, 37 – 51.
35. **Kirubakaran, R.**, 2005, Application of chitin and chitosan. *OSTI Newsletter, Issue 8*.
36. **Shadidi, F. and Abuzaytoun, R.**, 2005, Chitin, Chitosan, and coproducts : chemistry, production, applications and health effects. *Adv Food Nutr Res* **49**, 93 – 135.
37. **Simpson, B.K., Gagne, N. and Simpson, M.V.**, 1994, Bioprocessing of chitin and chitosan. *Fisheries Processing : Biotechnological applications*. (Ed. A. M. Martin) *Chapman and Hall*, London, 155 – 203.
38. **Minke, M. and Blackwell, J.**, 1978, “Structure of alpha – chitin“, *J. Mol. Biol.*, **120**, 167 – 181.
39. **Gardner, K.H. and Blackwell, J.**, 1975, “Refinement of structure of beta – chitin“, *Biopolymers*, **14**, 1581 – 1595.
40. **Mazaeu, K., Winter, W.T. and Chanzy, H.**, 1994, “Molecular and crystal – structure of a high – temperature polymorph of chitosan from electron – diffraction data“, *Macromolecules*, **27**, 7606 – 7612.

41. **Rudall, K.M. and Kenchington, W.**, 1973, "Chitin system", *Biologic. Rev. Cambridge Philosophic., Soc.*, **48**, 597.
42. **Saito, Y., Putaux, J.L., Okano, T., Gaill, F. and Chanzy, H.**, 1997, "Structural aspect of the swelling of beta chitin in HCl and its conversion into alpha chitin", *Macromolecules*, **30**, 3867 – 3873.
43. **Zakaria, Z.**, 1997, "Lactic acid purification of chitin from prawn waste using a horizontal rotating bioreactor", *Ph. D. Thesis*, Loughborough University.
44. **Muzzarelli, R.A.A.**, 1999, "Native, industrial, and fossil chitins. In Muzzarelli R. A. A. And Jooaes P. editors, Chitin and chitinases", *Birkhauser Verlag., Basel*, Switzerland.
45. **Nitoda, T., Kurumatani, H., Kanzaki, H., Kawazu, K.**, 1999, Improved Bioassay Method for Spodoptera Litura Chitinase Inhibitors Using a Colloidal Chitin Powder with a Uniform Particle Size as Substrate. *J. Pestic. Sci.* **55**, 563–565.
46. **Kurita, K., Sannan, T., Iwakura, Y.**, 1977, Studies on Chitin. 4. Evidence for Formation of Block and Random Copolymers of N – Acetyl – D – Glucosamine and D – Glucosamine by Heterogeneous and Homogeneous Hydrogels. *Makromol. Chem.*, **178**, 3197 – 3202.
47. **Urugami, T., Ohsumi, Y., Sugihara, M.**, 1981, Studies on Synthesis and Permeabilities of Special Polymer Membranes. 35. Preparation and Permeation Characteristics of Chitin Membranes., *Polymer* **22**, 1155 – 1156.
48. **Khor, E. and Lim, L.Y.**, 2003, "Implantable applications of chitin and chitosan", *Biomaterials*, **24**, 2339 – 2349.
49. **Muzzarelli, R.A.A., Terbojevich, M., Cosani, A.**, 1996, "Molecular parameters of chitosans depolymerized with the aid of papain", *Carbohydr. Polym.*, **29**, 63 – 68.
50. **Sunny, M.C., Ramesh, P., Varma, H.K.**, 2002. "Microstructured microspheres of hydroxyapatite bioceramic", *J. Materials Sci. Materials in Medicine*, **13**, 623 – 632.
51. **Muzzarelli, R.A.A., Terbojevich, M., Muzzarelli, C., Francescangeli, O.**, 2002, "Chitosans depolymerized with the aid of papain and stabilized as glycosylamines", *Carbohydr. Polym.*, **50**, 69 – 78.
52. **Varma, D.S., Narasimhan, V.J.**, 1972, "Thermal behaviour of graft copolymers of cotton cellulose and acrylate monomers", *J. Applied Polymer Science*, **16**, 3325.
53. **Mehrotra, R., Ranby, B.**, 1976, "Graft copolymerization onto starch. I. Complexes of Mn<sup>3+</sup> as initiators", *Journal of Applied Polymer Science*, **21**, **6**, 1647 – 1654.

54. **Gao, J., Tian, R., Yu, J., Duan, M.**, 1994, "Graft Copolymers of Methyl Methacrylate onto Canna Starch Using Manganic Pyrophosphate as an Initiator", *Journal of Applied Polymer Science*, **53**, 1091 – 1102.
55. **Gurruchaga, M., Goni, I., Valero, M., Guzman, M.G.**, 1993, "study of the Acid Hydrolysis of the Starch Graft Copolymers with Hydroxylic Methacrylates", *Journal of Applied Polymer Science*, **47**, 1003 – 1011.
56. **Tahlawy, K. El, Textile Research Division, National Research Division, Dokki, Cairo, Egypt. S. M. Hudson.**, 2003, Fiber and Polymer Science Program, Box 8301, North Carolina State University, *Raleigh*, NC USA 27695 – 8301.
57. **Natasha H., Munro, L.R.H., Stephen, C., Moratti, B.H.**, 2009, Robinson Department of Chemistry, University of Otago, P.O., Box 56, *Dunedin*, 9054, New Zealand.
58. **Liu, P., Zhixing, S.**, 2005, Institute of Polymer Science and Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, *Lanzhou*, 730000, People's Republic of China.
59. **Tomoya, E., Tadashi, N., Hiroshi, T.**, 2005, Chemical Modification of Chitin using Chitin Hydrogel (4) Graft polymerization by ATRP, *Japan Science and Technology Agency*, **11**, 203.
60. **Lee, Y.C., Kim, K.S., Shin, J.S.**, 1989, Graft Polymerization of Methyl Methacrylate onto Chitin Initiated by Ceric Salt, *Polymer Society of Corea*, **13**, 442 – 446.
61. **Pengfei, L., Maolin, Z., Jilan, W.**, 2001, Study on radiation-induced grafting of styrene onto chitin and chitosan, *Radiation Physics and Chemistry*, **61**, 149 – 153.
62. **Offeing, B.M., Martelli, S.**, 1997. Steochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2-Acetypyridine Thiosemicarbazones, *Transition Metal Chemistry.*, **22**, 263-269.
63. **Ferrari, B.M., Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lungni, P.**, 1999. Synthesis, Structural Charaziation and Biological Activity of Helicin Thisemicarbazone Monohydrate and a Copper (II) Complexes of Salisilaldehydde Thiosemicarbazone, *Inorganica, Chimica Acta.*, **286**, 134-141.
64. **Kumammoto, T., Toyooka, K., Nishida, M., Kuwahara, H., Yashimura, Y., Kawada, J., Kubota, S.**, 1990. Effect of 2,4-Dihydro-3H-1,2,4- Triazole-3 –Thiones and Thiosemicarbazones on Iodide Uptake by The Mause Thyroid , The Relationship Between Their Structure and Antithyroid Activity, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2595-2596.

65. **Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. and Ameida, L.M.,** 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, *Free Radical Research*, **26**, 469-478.
66. **Gülcin, İ., Oktay, M., Küfreviöglu O.I. and Aslan, A.** 2002. Determination of antioxidant activity of Lichen *Ceîraria islandica* (L) *Ach. Journal of Ethnopharmacology*, **79**, 325-329.
67. **Akelah, A., Sherrington, D.C.,** 1981, Synthesis os some vinyl derivatives of cellulose and their grafting copolymerization with styrene, *Journal of Applied Polymer Science*, **26**, 3377 – 3384.
68. **Bojanic, V., Jovanovic, S., Tabakovic, R., Tabakovic, I.,** 1996, Synthesis and electrochemistry of grafted copolymers of cellulose with 4-vinylpyridine, 1-vinylimidazole, 1-vinyl-2-pyrrolidinone and 9-vinylcarbazole, *Journal of Applied Polymer Science*, **60**, 1719 – 1725.
69. **Tanodekaew, S., Prasitsilp, M., Swasdison, S., Thavornnyutikarn, B., Pothsree, T., Pateepasen, R.,** 2004, Preparation of acrylic grafted chitin for wound dressing application, *Biomaterials*, **25**, 1453 – 1460.
70. **Tanodekaew, S., Prasitsilp, M., Swasdison, S., Thavornnyutikarn, B., Pothsree, T., Pateepasen, R.,** 2004. Preparation of acrylic grafted chitin for wound dressing application, *Biomaterials.*, **25**, 1453 – 1460.
71. **Keser, S., Turkoglu, S., Celik, S., Turkoglu, I.,** 2012, Determination of Antioxidant Capacities of *Phlomis pungens* Willd. var. *Hispida* Hub. – *Mor. Asian Journal of Chemistry*, **24**, 2780 – 2784.
72. **Liang, T.W., Chen, Y.J., Yen, Y.H., Wang, S.L.,** 2007, The antitumor activity of the hydrolysates of chitinous materials hydrolyzed by crude enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* V656, *Process Biochemistry*, **42**, 527 – 534.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burak CAN

Doğum Tarihi : 09.11.1984

Doğum Yeri : Elazığ

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lise : Elazığ Balakgazi Lisesi (1998-2001)

Lisans : Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (2002-2006)

Yüksek Lisans: Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya A.B.D. (2010-2012)