

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**İŞIKLA TETİKLENEN TERS ELEKTRON GEREKSİNİMLİ DIELS-ALDER
REAKSİYONU İLE TEK ZİNCİR POLİMER NANOPARÇACIKLARIN
HAZIRLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Adalet Nur ALTUNKAYA

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

MAYIS 2024

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**IŞIKLA TETİKLENEN TERS ELEKTRON GEREKSİNİMLİ DIELS-ALDER
REAKSİYONU İLE TEK ZİNCİR POLİMER NANOPARÇACIKLARIN
HAZIRLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Adalet Nur ALTUNKAYA
(509201243)**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Muhammet Übeydullah KAHVECİ

MAYIS 2024

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL

**FABRICATION OF SINGLE-CHAIN POLYMER NANOPARTICLES BY
LIGHT-INDUCED ELECTRON DEMAND DIELS-ALDER REACTION**

M.Sc. THESIS

**Adalet Nur ALTUNKAYA
(509201243)**

Department of Chemistry

Chemistry Programme

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammet Übeydullah KAHVECİ

MAY 2024

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509201243 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Adalet Nur ALTUNKAYA, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "IŞIKLA TETİKLENEN TERS ELEKTRON GEREKSİNİMLİ DIELS-ALDER REAKSİYONU İLE TEK ZİNCİR POLİMER NANOPARÇACIKLARIN HAZIRLANMASI" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç Dr. Muhammet Ü. KAHVECİ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Hakan DURMAZ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Binnur AYDOĞAN TEMEL
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi : 13 Mayıs 2024
Savunma Tarihi : 27 Mayıs 2024



Anneme ve babama,

ÖNSÖZ

İlk olarak, bu tez çalışmasının her aşamasında bana rehberlik eden, bilgi ve tecrübelerini paylaşan danışman hocam Doç. Dr. Muhammet Übeydullah Kahveci'ye en içten teşekkürlerimi sunarım. Onun değerli katkıları olmasaydı, bu çalışma mevcut şeklini alamazdı. Akademik yolculuğumda bana gösterdiği sabır, verdiği destek ve ilham için kendisine minnettarım.

Tez sürecimde bana farklı bir projede çalışma fırsatı sunan, değerli bilgileriyle beni aydınlatan, desteğini her zaman hissettiğim kıymetli hocam Doç. Dr. Çağatay Altıncık'e teşekkür ederim.

Bu çalışmanın analiz aşamasında GPC, DSC ve DLS analizleri için bana imkan sunan ve yorumlanmasında rehberlik eden değerli hocam Prof. Dr. Binnur Aydoğan Temel'e teşekkür ederim.

FT-IR spektroskopisi analizlerini yapmamıza imkan sağlayan Prof. Dr. Hakan Durmaz'a teşekkür ederim.

Lisans eğitimimden bu yana her zaman yanımda olan, yüksek lisans sürecim boyunca da desteğini hiç eksik etmeyen en yakın arkadaşım Ceyda Duyar'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının her aşamasında yanımda olan ve laboratuvar ortamında birlikte çalıştığım, bana hem akademik hem de kişisel olarak çok şey öğreten Dr. Şeyma Sarı ve Araş.Gör. Neslihan Turhan Çakır'a teşekkür ederim. Onların bilgisi, tecrübesi ve dostluğu, bu sürecin çok daha verimli ve keyifli geçmesini sağladı. Kendilerine, değerli katkıları ve sürekli destekleri için minnettarım. Laboratuvarında birlikte çalıştığım için kendimi çok şanslı hissettiğim KahveciLab üyeleri, Dr. Öğr. Üyesi Elif Kahveci, Dr. Sinem Sipahioğlu, Gamze Düz, Dr. Gülşah Bakırdöğen, Ashkan Farid, Celal Bahtiyar, Zeynep Okan ve Işıl Delipınar'a içtenlikle teşekkür ederim.

Her zaman ve her koşulda yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, annem Asiye Kaya, babam Hacı Kaya, abilerim Kerim Kaya, Recep Kaya ve biricik yeğenlerim Dolunay Kaya ve Orbay Asaf Kaya'ya teşekkür ederim.

Sevgili eşim Özgün Altunkaya'ya sonsuz sevgisi, sabrı ve desteği için tüm içtenliğimle teşekkür ederim. O, hayatımın arka planındaki gerçek kahraman; onun varlığıyla her zaman kendimi çok şanslı hissediyorum.

Yüksek lisans sürecimde mali destekte bulunan TÜBİTAK BİDEB 2210/A Yurt İçi Genel Yüksek Lisans Burs Programı'na teşekkür ederim.

Ayrıca finansal destek sağlayan İstanbul Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: PTA-2023-44981) teşekkür ederim.

Mayıs 2024

Adalet Nur ALTUNKAYA
(Kimyager)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı ve Tez Konusunun Özgünlüğü	2
1.2 Nanoparçacıklar	3
1.3 Polimerlerik Malzemeler	5
1.3.1 Tersinir katılma ayrılma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu	7
1.3.2 Polimerik nanoparçacıklar	8
1.4 Click Kimyası	9
1.4.1 Ters elektron gereksinimli Diels-Alder (IEDDA) <i>click</i> reaksiyonu	10
1.4.2 Tetrazin IEDDA <i>click</i> reaksiyonu	11
1.4.3 Işıkla tetiklenebilen ters elektron gereksinimli Diels-Alder (foto-IEDDA) reaksiyonu	12
1.4.4 Foto-IEDDA reaksiyonlarının polimer kimyasında uygulamaları	13
1.5 Tek Zincir Polimer Nanoparçacıklar (SCNP)	15
1.5.1 Tek zincir polimer nanoparçacıkların kullanım alanları	17
2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	21
2.1 Kullanılan Kimyasallar	21
2.2 Kullanılan Cihazlar	21
2.3 SCNP için Öncül Polimerin Sentezi	22
2.3.1 6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro-1,2,4,5- tetrazin-3-il) piridin-3-amin (PPA-dHTz) sentezi	22
2.3.2 4-okso-4-((6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro-1,2,4,5-tetrazin-3-il) piridin-3-il) amino) bütanoik asit (PPA-dHTz- COOH) sentezi	22
2.3.3 Poli(metil metakrilat-ko-hidroksietil metakrilat) sentezi	23
2.3.4 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz sentezi	24
2.3.5 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb sentezi	24
2.4 Tek Zincir Polimer Nanoparçacıkların (SCNP) Hazırlanması	25
3. DENEYSEL SONUÇLAR	27
3.1 PPA-dHTz'nin Karakterizasyonu	27
3.2 PPA-dHTz-COOH Karakterizasyonu	27
3.3 Poli(MMA-ko-HEMA) Karakterizasyonu	29
3.4 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz Karakterizasyonu	30
3.5 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb Karakterizasyonu	31
3.6 Hazırlanan SCNP'lerin Karakterizasyonu	32

4. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ	43



KISALTMALAR

¹³C NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
AIBN	: Azobisisobütironitril
CTA	: Zincir Transfer Ajanı
C/LRP	: Kontrollü/Yaşayan Radikal Polimerizasyon
DCC	: N,N'-Disikloheksilkarbodiimid
dHTz	: Dihidotetrazin
DLS	: Dinamik Işık Saçılım
DMAP	: 4-(Dimetilamino) piridin
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FTIR	: Fourier-Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi
HEMA	: 2-Hidroksi etil metakrilat
IEDDA	: Ters Elektron Gereksinimli Diels-Alder
MMA	: Metil Metakrilat
Nb	: Norbornen
NP	: Nanoparçacık
P(MMA-<i>ko</i>-HEMA)	: Poli(metil metakrilat- <i>ko</i> -hidroksietil metakrilat)
PDI	: Polidispersite
PNP	: Polimerik Nanoparçacık
PPA-dHTz	: 6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro-1,2,4,5- tetrazin-3-il) piridin-3-amin
RAFT	: Tersinir Katılma Ayrılma Zincir Transfer
SCNP	: Tek Zincir Polimer Nanoparçacık
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
Tz	: Tetrazin
UV-Vis	: Ultraviyole Görünür Spektroskopi



SEMBOLLER

°C	: Santigrat derece
cm⁻¹	: Dalga sayısı
kDa	: Kilodalton
M	: Molarite
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
<i>M_n</i>	: Sayıca ortalama molekül ağırlığı
<i>M_w</i>	: Kütlece ortalama molekül ağırlığı
nm	: Nanometre
<i>T_g</i>	: Camı geçiş sıcaklığı
λ	: Lambda



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Morfolojik yapılarına göre polimerik nanoparçacıkların yaygın üretim teknikleri.....	9
Çizelge 1.2 : Sık kullanılan <i>click</i> reaksiyonları ve tepkime hızları.	10
Çizelge 2.1 : SCNP hazırlarken reaksiyon koşulları.	25
Çizelge 3.1 : P(MMA- <i>ko</i> -HEMA) molekül ağırlıkları.	30





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Tek zincir polimer nanoparçacıkların hazırlanması.	3
Şekil 1.2 : Nanomalzemelerin boyutsal sınıflandırılması: Sıfır (0D), bir (1D), iki (2D) ve üç (3D) boyutlu nanomalzemeler.	4
Şekil 1.3 : Nanoparçacıkların aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya sentezlenme süreci.	4
Şekil 1.4 : Organik nanoparçacıklar.	5
Şekil 1.5 : Çeşitli polimerizasyon reaksiyonları.	5
Şekil 1.6 : RAFT ajanları [31].	7
Şekil 1.7 : RAFT polimerizasyonunun mekanizması [31].	8
Şekil 1.8 : Nanoküre ve nanokapsül.	9
Şekil 1.9 : Click reaksiyonları gösterimi.	9
Şekil 1.10 : Diels-Alder ve ters elektron gereksinimli Diels-Alder reaksiyonlarının karşılaştırılması [42].	11
Şekil 1.11 : Farklı tetrazin izomerleri.	11
Şekil 1.12 : IEDDA reaksiyonunun genel şeması.	12
Şekil 1.13 : Tetrazin aracılı biyoortogonal reaksiyonlarda kullanılan substratlar: <i>trans</i> -siklookten (A), norbornen (B), siklopropen (C).	12
Şekil 1.14 : Foto-IEDDA reaksiyonu.	13
Şekil 1.15 : Dihidrotetrazinin yükseltgenme reaksiyonu.	13
Şekil 1.16 : Kırmızı ışıyla tetiklenen IEDDA reaksiyonu ile hazırlanan polimerik hidrojel [47].	14
Şekil 1.17 : Işıyla tetiklenen IEDDA reaksiyonu kullanılarak cam yüzeyine polimer ve biyomolekül aşılama yaklaşımı [13].	14
Şekil 1.18 : Tek zincir polimer nanoparçacıkların (SCNP) genel şeması.	15
Şekil 1.19 : SCNP hazırlarken seyreltme faktörünün etkisi.	15
Şekil 1.20 : SCNP'lerin sentezi için kullanılan dört stratejinin şematik gösterimi: homo-fonksiyonel zincir çökmesi (A), hetero-bifonksiyonel zincir çökmesi (B); çapraz bağlayıcı kullanılarak gerçekleşen zincir çökmesi (C), iki bloklu veya üç bloklu kopolimerlerin tek blokta çökmesi (D) [51].	16
Şekil 1.21 : Suda çözünür PECH-PEG SCNP'ler ve folik asit fonksiyonlu F-PECH-PEG SCNP'ler kullanılarak kanser hücrelerinde ilaç salım sürecinin gösterimi [54].	17
Şekil 1.22 : Pankreas kanserine karşı hedeflenen radyo-etiketli karboksilik asit SCNP'lerin enjekte edildiği pankreas tümörlü farelerin foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi görüntüleri [55].	18
Şekil 1.23 : Zein-piridin-altın etkileşimlerine dayanan sulu etanoldeki zein için kolorimetrik sensörün prensibi [57].	19
Şekil 2.1 : PPA-dHTz sentezi.	22
Şekil 2.2 : PPA-dHTz-COOH sentezi.	23
Şekil 2.3 : Poli(MMA-ko-HEMA) sentezi.	23

Şekil 2.4 : Poli(MMA- <i>ko</i> -HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz sentezi.	24
Şekil 2.5 : Poli(MMA- <i>ko</i> -HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz/Nb sentezi.	25
Şekil 2.6 : Foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak SCNP hazırlanışı.	26
Şekil 3.1 : PPA-dHTz ¹ H-NMR spektrumu (DMSO-d ₆).	27
Şekil 3.2 : PPA-dHTz-COOH DMSO-d ₆ içerisindeki ¹ H-NMR spektrumu.	28
Şekil 3.3 : PPA-dHTz-COOH ¹³ C-NMR spektrumu (DMSO-d ₆).	28
Şekil 3.4 : Kırmızı lazer ile PPA-dHTz-COOH'ın oksidasyonu sırasında alınan UV- Vis spektrumları ve 290 nm ile 325 nm'deki absorbans değerlerinin oranı.	29
Şekil 3.5 : Poli(MMA- <i>ko</i> -HEMA) ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).	30
Şekil 3.6 : Poli(MMA- <i>ko</i> -HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).	31
Şekil 3.7 : Poli(MMA- <i>ko</i> -HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz/ Nb ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).	31
Şekil 3.8 : PPA-dHTz-COOH, P(MMA- <i>ko</i> -HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz ve P(MMA- <i>ko</i> - HEMA)- <i>g</i> -PPA-dHTz/Nb FT-IR sepektrumları.	32
Şekil 3.9 : Kırmızı lazer ile polimer üzerindeki PPA-dHTz'nin oksidasyonu sırasında alınan UV-Vis spektrumları.	33
Şekil 3.10 : SCNP ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃).	33
Şekil 3.11 : SCNP ve öncü polimerinin ¹ H-NMR spektrumları.	34
Şekil 3.12 : Öncü polimerin ve SCNP'lerin GPC kromatogramları.	35
Şekil 3.13 : SCNP-1 (kırmızı) ve öncü polimer (siyah) hidrodinamik dağılımları. ..	35
Şekil 3.14 : Öncü polimere ve SCNP'lere ait DSC termogramları.	36
Şekil 3.15 : SCNP-2'ye ait STEM görüntüleri, ölçek çubukları sırasıyla 1 µm ve 50 nm'dir.	36

İŞIKLA TETİKLENEN TERS ELEKTRON GEREKSİNİMLİ DIELS-ALDER REAKSİYONU İLE TEK ZİNCİR POLİMER NANOPARÇACIKLARIN HAZIRLANMASI

ÖZET

Doğadan alınan ilham kimya alanının gelişmesinde büyük bir rol oynamaktadır. Son yıllarda öne çıkan tek zincir polimer nanoparçacıklar (SCNP) da proteinlerin katlanıp düzenlenmesinden ilham alınarak geliştirilmiştir. Tek zincir polimer nanoparçacıklar, tek bir polimer zincirinin özgün bir şekilde katlanması ve çapraz bağlanması sonucu ortaya çıkan nano ölçekli yapıları ifade etmektedir. Bu katlanma, proteinlerin hidrojen bağları ile katlanmasına benzemektedir, ancak polimerlerin katlanması için radikal kenetlenme, metal ligasyonu, *click* kimyası, supramoleküler etkileşimler gibi birçok kovalent, dinamik kovalent ve kovalent olmayan çapraz bağlanma yöntemleri kullanılmaktadır. Bu reaksiyonlar içinde, özellikle ılımlı koşullarda yüksek verimlilikle kovalent bağlar oluşturan *click* kimyası dikkat çekmektedir. *Click* kimyası başlığı altında siklokatılma, nükleofilik halka açılma, karbon-karbon çoklu bağlara katılma ve aldol olmayan karbonil bileşiklerinin reaksiyonları vardır. Siklokatılma reaksiyonlarının bir örneği olan ters elektron gereksinimli Diels-Alder (IEDDA) reaksiyonu elektronca zengin bir dienofil ve elektronca fakir bir konjuge dien arasında meydana gelen önemli bir [4+2] katılma reaksiyonudur. Genellikle 1,2,4,5-tetrazinler ve olefinler arasında gerçekleşen IEDDA reaksiyonunun biyoortogonal olması, hızlı kinetiğe ve yüksek verimliliğe sahip olması gibi avantajları bulunmaktadır. Işıkla tetiklenen ters elektron gereksinimli Diels-Alder (foto-IEDDA) reaksiyonlarında ise geleneksel IEDDA reaksiyonları ışıkla kontrol edilebilmektedir. Dihidrotetrazin (dHTz) molekülleri IEDDA reaksiyonu için inaktifken bir fotooksidan varlığında ışık ile uyarıldığında yükseltgenerek tetrazin (Tz) molekülüne dönüşmekte ve IEDDA reaksiyonu için reaktif hale gelmektedir.

Bu tez kapsamında, polimer üzerinde bulunan 6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro 1,2,4,5-tetrazin-3-il) piridin-3-amin (PPA-dHTz) ve norbornen (Nb) grupları arasında *in situ* olarak gerçekleşen foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak molekül içi çapraz bağlı nanoparçacıkların hazırlanması için yeni bir strateji geliştirilmiştir. İlk olarak, 4-okso-4-((6-(6-(piridin-2-il)-1,2,4,5 tetrazin-3-il)piridin-3 il)amino)bütanoik asit (PPA-dHTz-COOH) sentezlenmiştir, ardından poli(metil metakrilat-ko-hidroksietil metakrilat) P(MMA-ko-HEMA), tersinir katılma ayrılma zincir-transfer polimerizasyonu (RAFT) kullanılarak sentezlenmiştir. Daha sonra, PPA-dHTz-COOH ve bisiklo[2,2,1]hept-5-en-2-karboksilik asit (Nb-COOH), esterifikasyon reaksiyonu yoluyla polimerin yan zincirlerine bağlanmıştır. Son olarak, SCNP'leri hazırlamak için öncü polimer, P(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb, çözeltisi metilen mavisi (8µM) varlığında etanol içerisinde 0,5 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Polimer, kırmızı lazer ile ($\lambda=680\text{nm}$, $0,3\text{W}/\text{cm}^2$) uyarılmış ve dihidrotetrazinlerin tetrazine oksidasyonu UV-Vis spektrofotometresi ile takip edilmiştir.

Bu tez kapsamında, sentezlenen bileşikler, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ve kızılötesi spektroskopisi (FT-

IR) ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan SCNP'lerin termal davranışlarını incelemek için diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), boyut analizleri için dinamik ışık saçılım (DLS) ve morfolojik yapılarını incelemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre SCNP'ler başarıyla hazırlanmıştır.



FABRICATION OF SINGLE-CHAIN POLYMER NANOPARTICLES BY LIGHT-INDUCED INVERSE ELECTRON DEMAND DIELS-ALDER REACTION

SUMMARY

Nanotechnology is a multidisciplinary field that manipulates matter at the nanoscale, which is about 1 to 100 nanometers. This technology leverages the unique physical, chemical, and biological properties that materials exhibit at such a small scale. The importance of nanotechnology lies in its wide-ranging applications across various fields including medicine, electronics, energy, and materials science. In medicine, for example, nanotechnology is used for targeted drug delivery, which allows drugs to be delivered directly to diseased cells, minimizing side effects and improving treatment efficacy. In electronics, it enables the production of smaller, faster, and more efficient devices. Small size of Nanomaterials gives them a much larger surface area to volume ratio, which can lead to novel physical and chemical properties. Nanomaterials can be classified based on their dimensions, which range from zero-dimensional (0D) to three-dimensional (3D).

Focusing on nanoparticles, these are 0D nanomaterials with all three dimensions in the nanoscale. They have a wide range of applications, including in drug delivery, imaging, and as catalysts due to their high surface area and tunable physical and chemical properties. Nanoparticles can generally be classified into three fundamental categories: carbon-based, inorganic, and organic. Carbon-based nanoparticles encompass nanomaterials entirely composed of carbon elements in their structure. Inorganic nanoparticles, on the other hand, are particles that do not contain carbon, typically based on metals and metal oxides. Organic nanoparticles are commonly referred to as polymeric nanoparticles. Polymeric nanoparticles are based on polymers which are composed of monomers. Polymers are incredibly versatile materials that constitute a fundamental component across a multitude of industrial sectors and consumer products. These materials find extensive applications in fields including but not limited to textile manufacturing, cosmetic formulation, construction engineering, food processing, and healthcare.

Polymeric nanoparticles (PNPs) are particles crafted from polymeric materials, encompassing nano-sized colloidal organic compounds. Among the common morphological structures of PNPs are nanospheres and nanocapsules. Nanospheres are composed of a dense polymeric matrix, while nanocapsules consist of nano-scaled shells made from polymers. PNPs are employed in biomedical fields due to their numerous advantages compared to other nanoparticles, including high stability, capability for sustained drug release profiles, biocompatibility, and non-toxicity. The most common application of PNPs is in drug delivery systems.

In recent years, single-chain polymer nanoparticles (SCNPs), which have gained prominence, are designed by taking inspiration from the folding and organization of proteins. SCNPs refer to nano-scale structures that emerge from the unique folding of a single polymer chain through cross-linking. A fundamental characteristic of SCNP is their large surface to volume ratio due to their small size. This ratio affects how well these tiny particles work in various uses, like in chemical reactions, detecting substances, delivering drugs, and storing energy. SCNPs have a larger surface area when compared to their size. This larger surface area means they can interact more at the molecular level, making them behave differently than larger particles. SCNPs have found applications in many areas such as drug delivery systems, bioimaging, sensors and catalysts. When preparing SCNPs, it is necessary to work under highly diluted conditions during the folding process to prevent intermolecular cross-linking. Unlike cross-linked polymers, SCNPs are well-dispersed in the solvent.

The folding of SCNPs is similar to the hydrogen bonding in protein folding, yet for polymer folding, a variety of covalent, dynamic covalent, and non-covalent cross-linking methods are utilized, such as radical coupling, metal ligation, *click* chemistry, and supramolecular interactions. Among these reactions, *click* chemistry, known for forming covalent bonds efficiently under mild conditions, stands out. *Click* chemistry includes cycloadditions, nucleophilic ring opening, addition to carbon-carbon multiple bonds, and reactions of non-aldol carbon compounds. A notable example of cycloaddition reactions is the inverse electron-demand Diels-Alder (IEDDA) reaction which is a [4+2] addition reaction occurring between an electron-rich dienophile and an electron-poor conjugate diene. The bioorthogonal nature of the IEDDA reaction, typically between 1,2,4,5-tetrazines and olefins, along with its fast kinetics and high efficiency, are key advantages. In photo-induced inverse electron-demand Diels-Alder (photo-IEDDA) reactions, traditional IEDDA reactions can be controlled with light. Dihydropyridazine (dHTz) molecules are inactive for the IEDDA but can be converted to tetrazine (Tz) molecules upon irradiation in the presence of a photosensitizer leading to a IEDDA reaction.

In this thesis, a strategy for the preparation of intramolecularly cross-linked nanoparticles via an *in situ* the light-induced inverse electron demand Diels-Alder photo-IEDDA reaction between the 6-(6-(pyridin-2-yl)-1,4-dihydro-1,2,4,5-tetrazin-3-yl) pyridin-3-amine (PPA-dHTz) and norbornene (Nb) moieties on the polymer has been developed. Firstly, 4-oxo-4-((6-(6-(pyridin-2-yl)-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)pyridin-3-yl)amino) butanoic acid (PPA-dHTz-COOH) was synthesized and poly(methyl methacrylate-*co*-hydroxyethyl methacrylate) P(MMA-*co*-HEMA) were synthesized using reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization (RAFT). Subsequently, PPA-dHTz-COOH and bicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2-carboxylic acid (Nb-COOH) were grafted onto the polymer via an esterification reaction. Finally, the precursor polymer, P(MMA-*co*-HEMA)-*g*-PPA-dHTz/Nb, was prepared in solution at a concentration of 0.5 mg/mL in ethanol in the presence of methylene blue (8 μ M). The polymer was excited with a red laser (λ =680 nm, 0.3W/cm²), and the oxidation of dihydropyridazines to tetrazines was monitored using UV-Vis spectroscopy.

The synthesized substances were characterized using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, gel permeation chromatography (GPC), and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). Differential scanning calorimetry (DSC) was employed to investigate the thermal behavior of the prepared SCNPs, dynamic light scattering

(DLS) for size analysis, and scanning electron microscopy (SEM) for examining their morphological structures. According to the obtained results, single-chain polymer nanoparticles (SCNPs) were successfully prepared.





1. GİRİŞ

Nanoparçacıklar (NP), son yıllarda malzeme bilimi, biyoteknoloji, ilaç tasarımı ve çeşitli endüstriyel alanlarda büyük ilgi gören malzemelerdir. Bu yapılar, 1-100 nm arasında değişen boyutlara sahiptir. Nanoparçacıklar, bileşenlerine göre organik, karbon-bazlı ve inorganik olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır. Organik nanoparçacıklar, proteinlerden, karbohidratlardan, lipitlerden, polimerlerden veya diğer organik bileşiklerden elde edilen NP'leri içermektedir ve en yaygın örnekleri arasında dendrimerler, lipozomlar, miseller ve ferritin bulunmaktadır [1]. Polimerik nanoparçacıklar, nanoküre veya nanokapsül olmak üzere iki tür morfolojik yapıya sahip olabilen 1-100 nm boyut aralığında kolloidal katı partiküllerdir. Küçük boyutları, yüksek yüzey alanı-hacim oranları, gözenekli yapıları gibi avantajları sebebiyle ilaç taşıma sistemleri, biyosensörler, nanokompozitler gibi farklı uygulamalar için kullanılmaktadırlar [2].

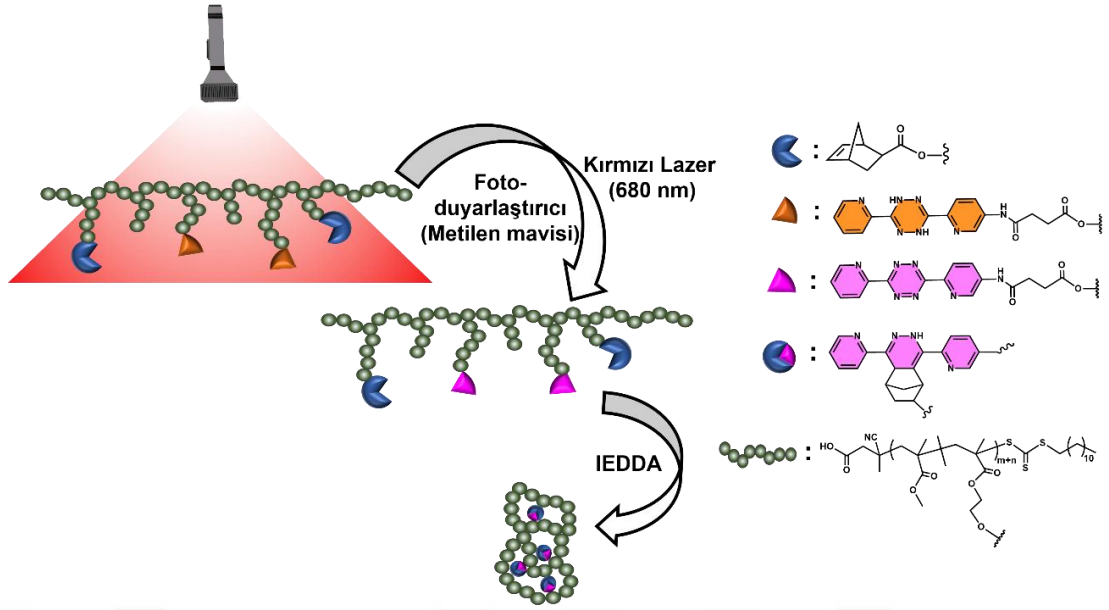
Protein gibi doğal makromoleküllerin katlanarak kendi kendine düzenlenmesinden ilham alınarak tasarlanan tek zincir polimer nanoparçacıklar (SCNP), tek bir polimer zincirinin kendine özgü bir şekilde katlanarak oluşturduğu nano ölçekli yapılardır [3]. Proteinlerin katlanması hidrojen bağları sayesinde gerçekleşirken, SCNP'lerin katlanması için *click* kimyası, moleküller arası etkileşimler, supramoleküler etkileşimler gibi birçok reaksiyon yöntemi kullanılmaktadır [4]. Bu yöntemler arasında en dikkat çeken yöntem, ılımlı koşullarda, etkin ve yüksek verimli kovalent bağlanmanın gerçekleştiği bimoleküler reaksiyonlar olarak tanımlanan *click* kimyasıdır. En yaygın kullanılan *click* reaksiyonları, siklokatılma, nükleofilik halka açılma, karbon-karbon çoklu bağlara katılma ve aldol olmayan karbonil bileşiklerinin reaksiyonlarıdır [5]. Ters elektron gereksinimli Diels-Alder (IEDDA) reaksiyonu bu reaksiyonlar arasından siklokatılma reaksiyonlarına dahil olup, elektronca zengin bir dienofil ile elektronca fakir bir konjuge dien arasında gerçekleşen [4+2] siklokatılma reaksiyonudur. Bu reaksiyon, genellikle 1,2,4,5-tetrazinler ve olefinler arasında meydana gelmektedir ve katalizöre ihtiyaç duyulmaması, hızlı kinetiği, yüksek verimliliği ve biyoortogonal olması gibi pek çok avantaja sahiptir [6, 7]. Bu avantajları dolayısıyla hücresel görüntüleme [8], polimer modifikasyonu [9], DNA ligasyonu

[10], çapraz bağlı hidrojellerin hazırlanması [11] ve SCNP hazırlanması [12] gibi birçok alanda kullanılmıştır. IEDDA reaksiyonunun ışıkla kontrol edilebildiği reaksiyonlar foto-IEDDA reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır [13]. Tetrazin ile gerçekleştirilen foto-IEDDA reaksiyonlarında, inaktif olan dihidrotetrazin molekülü ışıkla yükseltgenerek reaktif tetrazin molekülüne dönüşmekte ve IEDDA reaksiyonu için aktif hale gelmektedir.

1.1 Tezin Amacı ve Tez Konusunun Özgünlüğü

SCNP'ler, son yıllarda nanoteknoloji alanında gittikçe artan bir ilgi görmektedir. Polimer zincirlerinin tek tek nanoparçacık halinde katlanmasıyla oluşan benzersiz yapıları, SCNP'lere boyut, şekil ve işlevsellik açısından pek çok özellik kazandırmakta ve bu özellikleri sayesinde SCNP'ler, biyosensör, ilaç taşıma sistemleri, biyogörüntüleme gibi birçok uygulama alanı için potansiyel taşımaktadır [14]. Bununla birlikte, SCNP'lerin çapraz bağlanma yöntemleri için literatürde çeşitli örnekler bulunmaktadır. Ancak *click* kimyasının kullanıldığı örnek sayısı az olup ışıkla tetiklenen ters elektron gereksinimli Diels-Alder (foto-IEDDA) reaksiyonunun kullanıldığı herhangi bir örnek literatürde mevcut değildir. Bu tez kapsamında foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak SCNP'ler hazırlamak için yeni bir yaklaşım önerilmiştir.

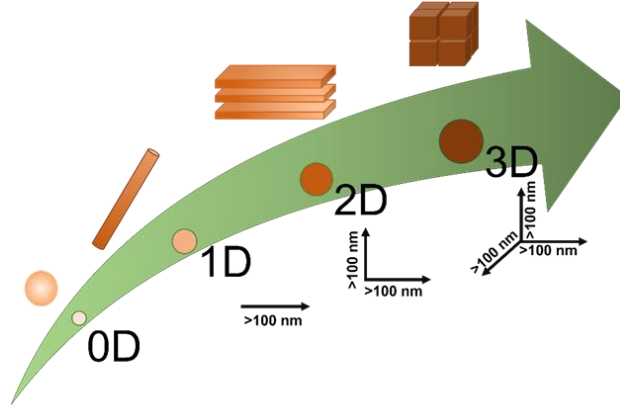
Bu tez çalışmasında, polimer üzerindeki dihidrotetrazin (PPA-dHTz) ve norbornen (Nb) kısımları arasında ışıkla tetiklenen ters elektron gereksinimli Diels-Alder (foto-IEDDA) reaksiyonu kullanılarak molekül içi çapraz bağlı nanoparçacıklar hazırlamak için bir strateji geliştirmek amaçlanmaktadır (Şekil 1.1). Polimer olarak poli (MMA-ko-HEMA) kopolimeri seçilmiş ve RAFT polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Ayrıca, PPA-dHTz ve Nb türevleri polimere HEMA birimlerinden esterifikasyon reaksiyonu kullanılarak graft edilmiştir. Polimer zinciri üzerindeki dihidrotetrazinin tetrazine oksidasyonu, metilen mavisi varlığında 680 nm'de ışık yayan kırmızı bir lazer ($0,3 \text{ W/cm}^2$) ile uyarılarak gerçekleştirilmiş ve UV-vis spektroskopisi kullanılarak takip edilmiştir. Oksidasyon, moleküller arası çapraz bağlanmayı önlemek için seyreltik koşullarda ($0,5 \text{ mg/mL}$) *in situ* şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1.1 : Tek zincir polimer nanoparçacıkların hazırlanması.

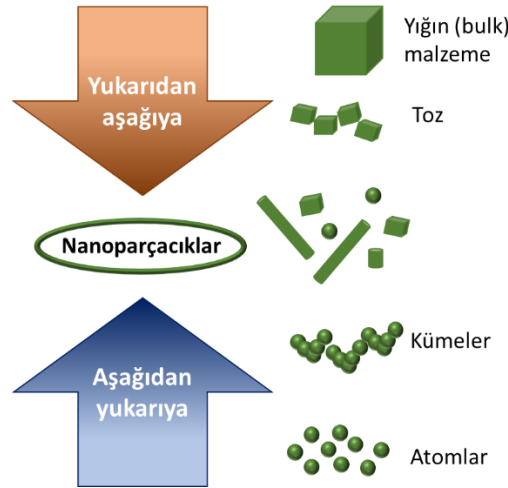
1.2 Nanoparçacıklar

Nanomalzemeler, en az bir boyutu 100 nanometreden daha küçük olan geniş bir malzeme kategorisini temsil etmektedir. Bu malzemeler, şekillerine bağlı olarak sıfır boyutlu (0D), bir boyutlu (1D), iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) olabilir (Şekil 1.2) [15]. Sıfır boyutlu (0D) nanomalzemelerin tüm boyutları (x, y, z) nanoölçeğe kadar ve nanoparçacıklar, kuantum noktaları ve fullerenler sıfır boyutlu nanomalzemelere örnektir. Bir malzemenin bir boyutu nano ölçek aralığının dışındaysa, bu tür malzemelere bir boyutlu (1D) nanomalzeme adı verilir ve nanoteller, nanofiberler ve nanotüpler, bir boyutlu nanomalzemelerin örnekleridir. Malzemenin iki boyutu nano ölçekle sınırlı değilse, bu malzemelere iki boyutlu (2D) nanomalzemeler denmektedir ve nanofilmler ve grafen, iki boyutlu nanomalzemelere örnek olarak verilebilir. Üç boyutlu (3D) nanomalzemelerin herhangi bir boyutu nano ölçekle sınırlı değildir, yani her yönde boyutu 100 nanometrenin üzerindedir. Ancak, nanomalzeme özellikleri gösterdikleri için nanomalzeme sınıfına dahil edilirler. Yığın nanomalzemeler, 3D nanomalzemeler olarak adlandırılmaktadır [16, 17].



Şekil 1.2 : Nanomalzemelerin boyutsal sınıflandırılması: sıfır (0D), bir (1D), iki (2D) ve üç (3D) boyutlu nanomalzemeler.

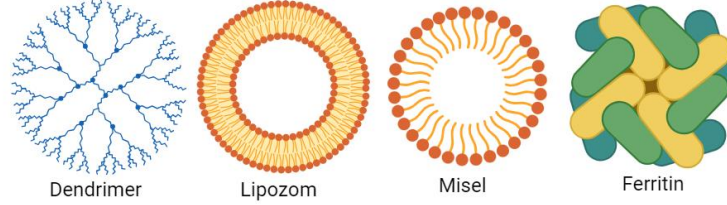
Nanoparçacıklar, sıfır boyutlu nanomalzeme sınıfına aittir. Nanoparçacıkların sentezi için temelde iki ana yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler, aşağıdan yukarıya (bottom-up) ve yukarıdan aşağıya (top-down) olarak adlandırılır (Şekil 1.3). Aşağıdan yukarıya yöntemi, malzemenin atom seviyesinden kümeler ve sonunda nanoparçacıklara kadar oluşturulmasını içerir: Sol-jel, döndürme, piroliz ve biyosentez gibi yöntemler, nanoparçacıkların üretimi için en yaygın kullanılan aşağıdan yukarıya yöntemlerine örnek teşkil etmektedir. Diğer taraftan, yukarıdan aşağıya yönteminde ise yığın malzeme nanoölçekli parçacıklara indirgenir: Nanolitografi, püskürtme ve termal ayrıştırma, bu tür bir yaklaşımın örneklerindendir [18].



Şekil 1.3 : Nanoparçacıkların aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya sentezlenme süreci.

Nanoparçacıklar, genel olarak karbon bazlı, inorganik ve organik olmak üzere üç temel kategoride sınıflandırılabilir. Karbon bazlı nanoparçacıklar, yapılarının tamamının karbon elementinden oluştuğu nanomalzemeleri içerir ve örnekleri arasında

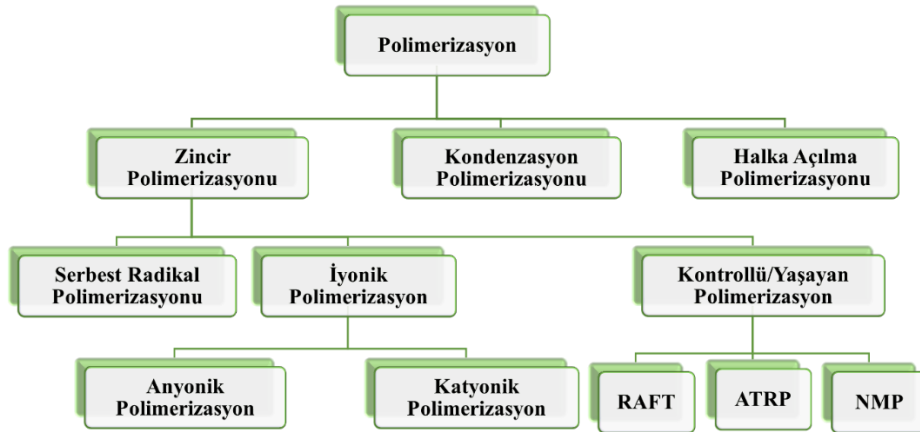
fullerenler, grafen ve karbon nanotüpler bulunmaktadır. İnorganik nanoparçacıklar ise karbon içermeyen parçacıklardır ve metal-metal oksit temelli nanoparçacıkları içermektedir [18]. Organik nanoparçacıklar genellikle polimerik nanoparçacıklar olarak adlandırılmaktadır. Ferritin, dendrimerler, miseller ve lipozomlar, organik nanoparçacıkların örnekleri arasında sayılabilir (Şekil 1.4) [19].



Şekil 1.4 : Organik nanoparçacıklar.

1.3 Polimerlerik Malzemeler

Polimerler, dört tür malezeme sınıfından biri olup monomer olarak adlandırılan yapı taşlarının bir araya gelmesiyle oluşan makromoleküler bileşenlerdir ve tekstil, kozmetik, inşaat, gıda ve sağlık gibi bir dizi diğer sektörde kullanılmaktadır [20]. Polimerlerin sentezinde kullanılan kimyasal reaksiyonlar polimerizasyon olarak adlandırılmakta olup türleri Şekil 1.5'te gösterilmektedir.



Şekil 1.5 : Çeşitli polimerizasyon reaksiyonları.

Kondenzasyon polimerizasyonu iki fonksiyonel grubun (-OH, -COOH, NH₂, vb.) farklı bir fonksiyonel grup oluşturmak üzere etkileşime girdiği kimyasal reaksiyonlardır. Bu reaksiyon sırasında küçük bir molekül ayrılır, bu küçük moleküller H₂O, HCl veya NH₃ gibi moleküller olabilmektedir [21]. Halka açılma polimerizasyonu (ROP), reaktif bir merkezin (radikal, iyonik veya katyonik) siklik bir

monomerin halkasını açarak polimer zincirlerini oluşturabileceği reaksiyonlardır. Bu polimerizasyon çeşidinde tetikleyici faktör halka geriliminin serbest bırakılmasıdır, bu sebepten halkanın yapısı ve boyutu polimerizasyonu etkilemektedir [22]. Zincir polimerizasyonunda doymamış monomerler büyüyen bir polimer zincirindeki aktif bölgeye birer birer hızlı bir şekilde eklenir. Zinciri başlatan türlerin serbest radikal, katyon veya anyon olmasına bağlı olarak serbest radikal polimerizasyonu, katyonik polimerizasyon veya anyonik polimerizasyon olarak adlandırılmaktadır [23, 24].

Zincir polimerizasyonlarında temel olarak dört basamak bulunmaktadır.

Başlama basamağı, radikaller veya iyonlar oluşturmaya yönelik reaksiyonlardır.

Zincir büyüme basamağı, oluşan polimer moleküllerindeki aktif merkezin, bir monomer bileşimini ekleyerek yeni bir polimer molekülü oluşturduğu adımdır; bu yeni molekül, bir tekrar birimi daha uzun olup yeni bir aktif merkeze sahiptir.

Zincir transfer basamağı, polimer A'nın aktif merkezinin B bileşiminden bir atom olarak sonlanmasıdır. Ardından B molekülü bir aktif merkez oluşturur. Bu adımda aktif nokta sadece başka bir moleküle kayar ve kaybolmaz.

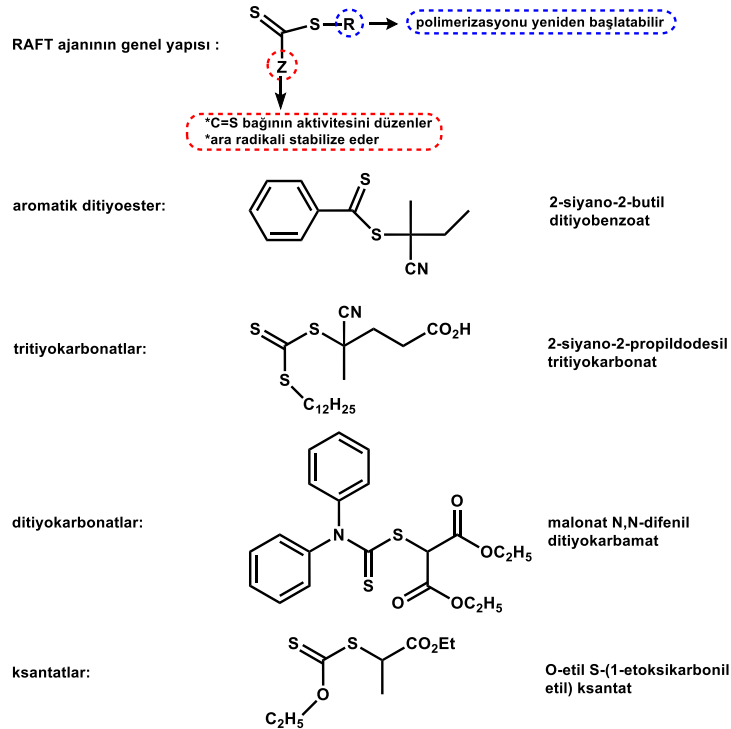
Sonlanma basamağı, zincir polimerizasyonunda aktif merkezin kaybolması ve zincir büyümesinin sonlanmasına neden olur [23].

Serbest radikal polimerizasyonu diğer polimerizasyon çeşitlerine kıyasla birçok avantaj sunmaktadır. Reaksiyon koşulları kolaydır ve çeşitli vinil monomerlerin (ko)polimerizasyonu için uygundur. Ticari sentetik polimerlerin birçoğu serbest radikal polimerizasyonu kullanılarak üretilmektedir. Ancak, serbest radikal polimerizasyonunda molekül ağırlığının, polidispersitenin ve zincir mimarisinin kontrolü oldukça zordur. Böyle bir kontrol elde etmek, zincir transfer ve sonlanma reaksiyonlarını en aza indirmeyi gerektirir ve tüm zincirlerin aynı anda başlatılmasını ve aynı hızda büyümesini sağlamayı içermektedir. Bunun sonucunda kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyon (C/LRP) çeşitleri geliştirilmiştir. C/LRP bu kontrolleri sağlayarak farklı türde biyokonjugatların, organik/inorganik kompozitlerin ve kopolimerlerin hazırlanmasına olanak sağlamaktadır. C/LRP çeşitleri nitroksit aracılı polimerizasyon (NMP), atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) ve tersinir katılma ayrılma polimerizasyonudur (RAFT) [21, 25, 26]. NMP polimerizasyonu, geleneksel serbest radikal polimerizasyonu sürecine kararlı bir nitroksit bileşiminin eklenmesi ile gerçekleşir. Sterik olarak engellenmiş nitroksitin

eklenmesiyle polimerizasyondaki radikal konsantrasyonu düşük tutulur ve dolayısıyla sonlanma reaksiyonları en aza indirilebilir [27]. ATRP polimerizasyonu ile çeşitli vinil ve akrilik monomerler ılımlı koşullar altında polimerleşebilmektedir. ATRP'nin başlama aşamasında, bir alkil başlatıcı ve bir geçiş metali katalizörü (en çok kullanılan bakırdır) kullanılmaktadır [28] .

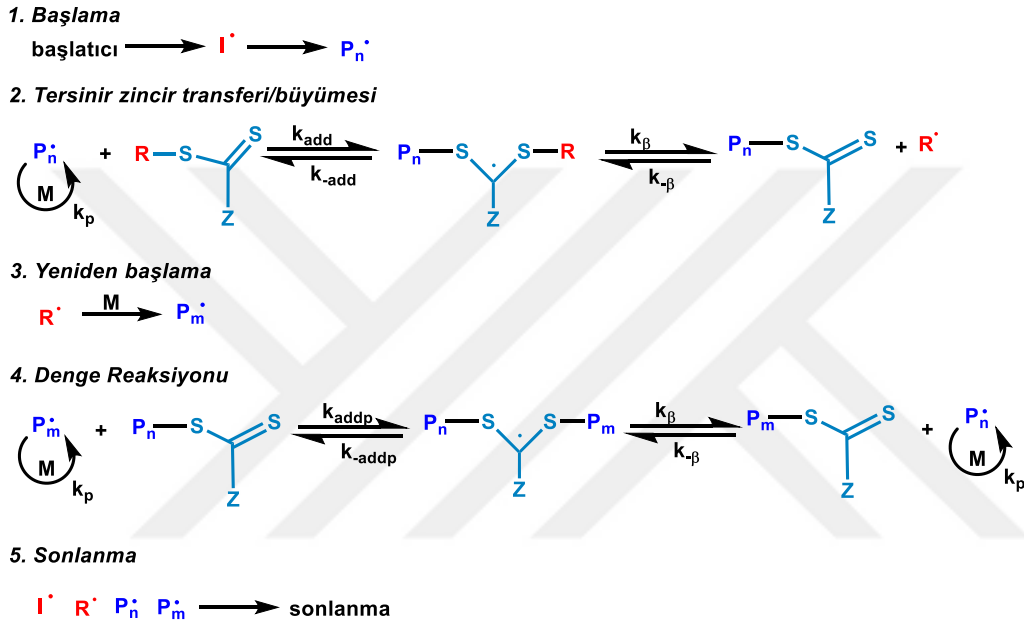
1.3.1 Tersinir katılma ayrılma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu

RAFT polimerizasyonu 1998 yılında kontrollü/yaşayan polimerizasyon çeşitlerinden biri olarak keşfedilmiştir. Bu polimerizasyon yöntemi uygun bir zincir transfer ajanı (CTA) içeren serbest radikal polimerizasyonu olarak tanımlanabilir [29]. CTA kullanılmasıdaki amaç RAFT polimerizasyonundaki aktivasyon-deaktivasyon dengesini sağlamaktır. Bu aktivasyon-deaktivasyon süreci sırasında radikal konsantrasyonunda net bir değişiklik olmaz. Bu sayede büyüyen zincirler arasında hızlı ve geri dönüşümlü bir denge oluşmaktadır ve istenmedik bir sonlanmanın önüne geçilmektedir [30]. Uygun bir CTA kullanılması sonucunda dar molekül ağırlığı dağılımına (PDI) ve yüksek işlevselliğe sahip polimerler sentezlenebilmektedir. En sık kullanılan RAFT ajanları Şekil 1.6'da gösterilmiştir [31]. Yıldız, blok, aşı ve karmaşık mimarilere sahip olan sentezi zor polimerler RAFT polimerizasyonu ile yüksek saflıkta sentezlenebilmektedir [32].



Şekil 1.6 : RAFT ajanları [31].

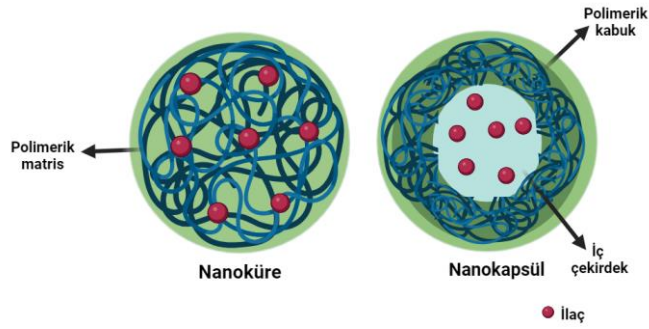
RAFT polimerizasyonunun genel mekanizması Şekil 1.7’de gösterildiği gibidir. RAFT polimerizasyonu diğer kontrollü/yaşayan polimerizasyon türleri (NMP ve ATRP) ile karşılaştırıldığında toksik bir kimyasalın kullanılmamasından dolayı büyük avantaja sahiptir [33]. Ayrıca RAFT polimerizasyonunun çeşitli reaksiyon koşullarına ve fonksiyonlandırılmaya uygun olması, birçok monomer türü ile kullanılması da RAFT polimerizasyonunu diğer polimerizasyon türlerine göre avantajlı kılmaktadır. Bu avantajları sayesinde biyomedikal uygulamalarda kullanılan polimerlerin sentezi için oldukça uygundur.



Şekil 1.7 : RAFT polimerizasyonunun mekanizması [31].

1.3.2 Polimerik nanoparçacıklar

Polimerik nanoparçacıklar (PNP’ler), nano boyutta koloidal organik bileşikler içeren polimerik malzemelerden üretilen parçacıklardır. PNP’lerin yaygın morfolojik yapıları arasında nanoküreler ve nanokapsüller bulunmaktadır [31]. Nanoküreler yoğun polimerik matristen oluşurken, nanokapsüller doğal veya sentetik polimerlerden oluşan nano ölçekli kabuklardır (Şekil 1.8) [34]. PNP’ler diğer nanoparçacıklar ile kıyaslandığında, basit sentezleri, yüksek kararlılıkları, uzun süreli ilaç salım profiline sahip olmaları, biyoyumlu olabilmeleri ve toksik olmayışları gibi birçok avantaja sahiptir [35, 36] ve bu avantajları sayesinde biyomedikal alanlarda kullanılmakta olup, en yaygın kullanım alanı ilaç taşıma sistemleridir.



Şekil 1.8 : Nanoküre ve nanokapsül.

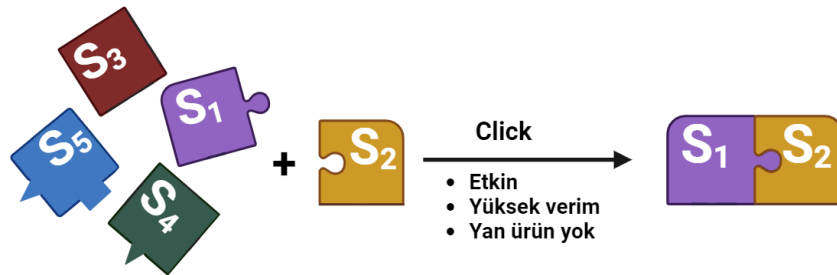
PNP'lerin morfolojik yapılarına göre en sık kullanılan üretim teknikleri Çizelge 1.1'de gösterilmektedir [37].

Çizelge 1.1 : Morfolojik yapılarına göre polimerik nanoparçacıkların yaygın üretim teknikleri.

Polimerik Nanoparçacık	Üretim Tekniği
Nanoküre	Çözücü buharlaştırma
	Çözücü difüzyonu
	Nanoçöktürme
	Ters tuzlama
Nanokapsül	Nanoçöktürme

1.4 Click Kimyası

Click kimyası ilk olarak 2001 yılında Sharpless ve arkadaşları tarafından ortaya konmuştur. Click reaksiyonları iki substrat arasında gerçekleşen etkin, yüksek verimli, stereospesifik reaksiyon sınıfının bütünü olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.9) [38]. Bu reaksiyonlar doymamış bileşiklerin siklokatımları (1,3 dipolar siklokatılma, Diels-Alder), gergin heterosiklik elektrofillerin nükleofilik halka açılma reaksiyonları (epoksitler, aziridinler ve aziridinyum iyonları), aldol tipi olmayan karbonil reaksiyonları (üre, hidrazon, oksimlerin oluşumu) ve karbon-karbon çoklu bağlara katılma reaksiyonlarıdır (tiyol kimyası ve Michael katımları) [39].



Şekil 1.9 : Click reaksiyonları gösterimi.

Sık kullanılan *click* reaksiyonlarının hızları Çizelge 1.2’de verilmiştir [40]. Bu reaksiyonlar arasındaki en hızlı reaksiyonlar *trans*-siklookten – tetrazin ve tetrazin – norbornen arasında gerçekleşen IEDDA reaksiyonlarıdır.

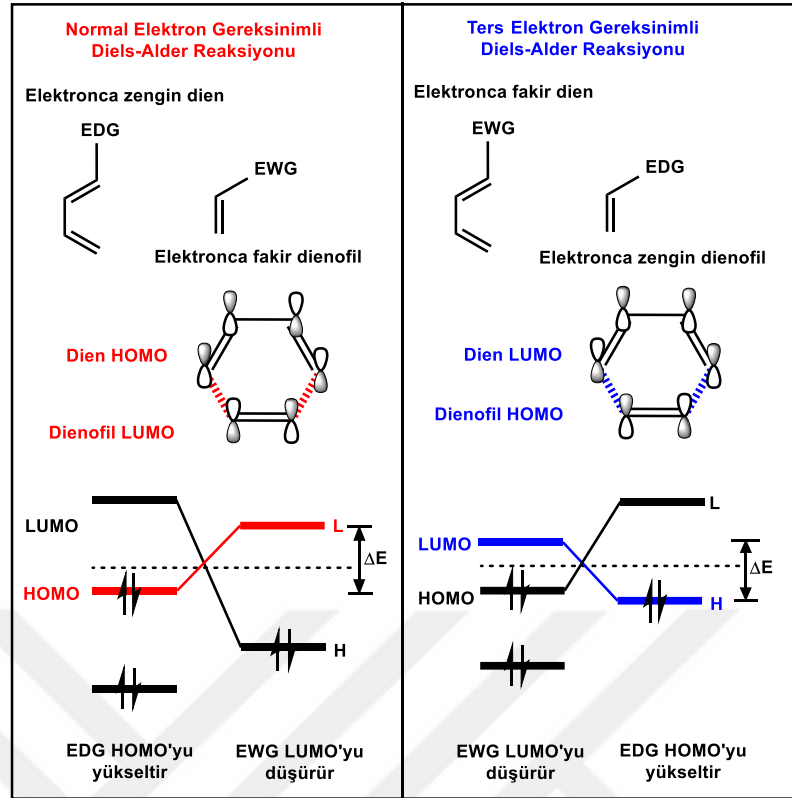
Çizelge 1.2 : Sık kullanılan *click* reaksiyonları ve tepkime hızları.

Reaksiyonlar	Reaktanlar	Hız ($M^{-1}s^{-1}$)
CuAAC	Alkin - azid	$10^{-2}-10^{-4}$
Staudinger–Bertozzi ligasyonu	Azid - fosfin	$2,2 \times 10^{-3}$
Yetersiz Elektronlu AAC	Diflorosiklooktin - azid	8×10^{-2}
SPAAC	Biarilazasiklooktinon - azid	1
IEDDA	Norbornen - tetrazin	1-10
IEDDA	<i>trans</i> -siklookten - tetrazin	$3,8 \times 10^5$

1.4.1 Ters elektron gereksinimli Diels-Alder (IEDDA) *click* reaksiyonu

Click reaksiyonlarından en yaygın olarak bilineni azid-alkin siklokatalıma (CuAAC) reaksiyonudur. Bu reaksiyon bakır (I) katalizörü kullanılarak gerçekleşmektedir. Ancak bu metal katalizörünün toksik olması nedeniyle biyolojik sistemlerde kullanılması uygun değildir. Bunun bir sonucu olarak biyolojik ortamlarda inert olan biyoortogonal reaksiyonlar geliştirilmiştir [40]. Biyoortogonal reaksiyonlar, biyolojik ortamlardaki biyokimyasal reaksiyonlardan etkilenmeyen ve aynı zamanda bu reaksiyonların üzerinde olumsuz bir etki göstermeyen kimyasal reaksiyonlardır.

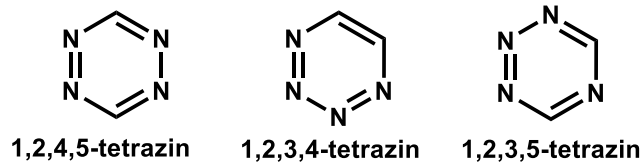
Diels-Alder reaksiyonu, elektron eksikliği bulunan bir dienofil molekülü ile elektron fazlalığına sahip olan konjuge dien arasında gerçekleşen [4+2] siklokatalıma reaksiyonunu ifade etmektedir. Diels-Alder reaksiyonu ılımlı koşullara, hızlı kinetiğe ve yüksek verime sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı *click* reaksiyonları arasında gösterilmektedir [41]. Ters elektron gereksinimli Diels-Alder (IEDDA) reaksiyonu, Diels-Alder reaksiyonuna benzer şekilde gerçekleşir. Ancak, bu mekanizmada elektron eksikliği bulunan konjuge dien ile elektron fazlalığına sahip olan bir dienofil arasında [4+2] siklokatalıma reaksiyonu gerçekleşmektedir. IEDDA reaksiyonunda, daha küçük $HOMO_{dienofil}-LUMO_{dien}$ enerji farkına sahip dien/dienofil çiftleri Diels-Alder reaksiyonu ile kıyaslandığında daha hızlı reaksiyon vermektedir (Şekil 1.10) [42].



Şekil 1.10 : Diels-Alder ve ters elektron gereksinimli Diels-Alder reaksiyonlarının karşılaştırılması [42].

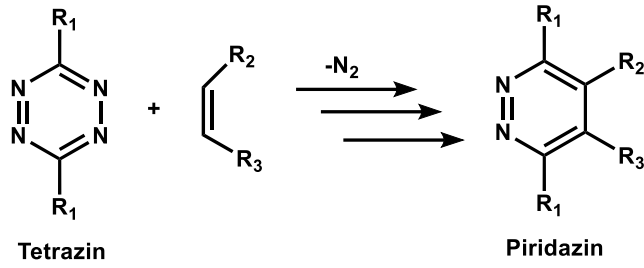
1.4.2 Tetrazin IEDDA *click* reaksiyonu

Tetrazin (Tz) molekülü dört adet azot atomu içeren altı üyeli bir aromatik halkadan oluşmaktadır. Üç farklı izomeri bulunan tetrazinin IEDDA reaksiyonu için en uygun izomeri 1,2,4,5-tetrazindir (Şekil 1.11) [42, 43].



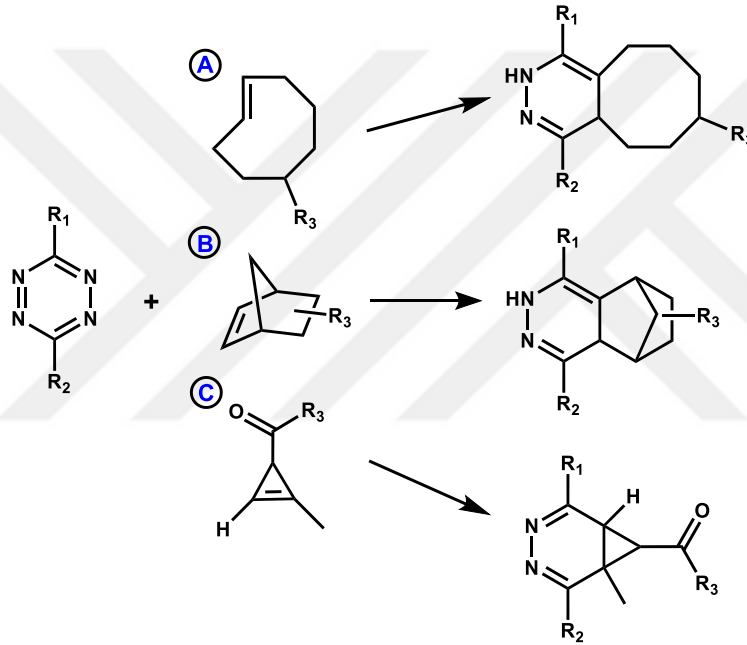
Şekil 1.11 : Farklı tetrazin izomerleri.

Tetrazin ile uygun dienofiller arasında gerçekleşen IEDDA reaksiyonu sırasında N_2 gazı açığa çıkmaktadır. Bu durum, IEDDA reaksiyonunu tersinmez hale getirmektedir (Şekil 1.12) [42, 43].



Şekil 1.12 : IEDDA reaksiyonunun genel şeması.

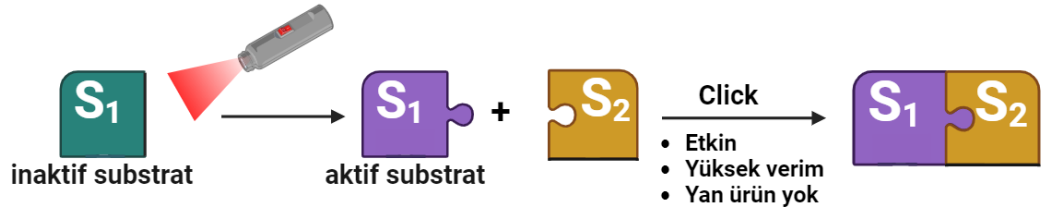
Tetrazin aracılı biyoortogonal reaksiyonlar için üç temel substrat vardır. Şekil 1.13'te bu substratlar ve reaksiyon şemaları gösterilmektedir [44]. Bu tez kapsamında tetrazinin partneri olarak norbornen türevi seçilmiştir.



Şekil 1.13 : Tetrazin aracılı biyoortogonal reaksiyonlarda kullanılan substratlar: *trans*-siklookten (A), norbornen (B), siklopropen (C).

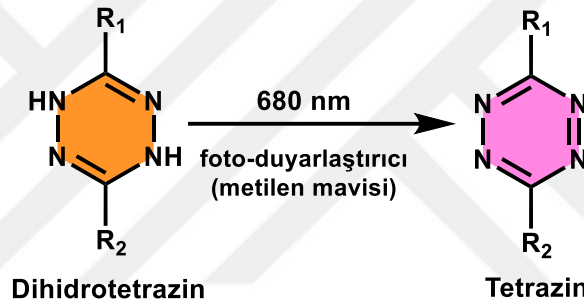
1.4.3 Işıklı tetiklenebilen ters elektron gereksinimli Diels-Alder (foto-IEDDA) reaksiyonu

Işık, fotosentez ve atmosferdeki ozon üretimi de dahil olmak üzere doğadaki birçok önemli süreci yönlendirir. Işığa bağlı kimyasal reaksiyonlarda ışığın absorpsiyonu ile yüksek enerjili reaktif moleküller oluşturulur ve bu moleküller daha sonra kimyasal değişikliklere uğrar. Işık kaynaklı reaksiyonlar, fotonların belirli bir alana odaklanmasıyla, ışığa maruz kalma süresi, dalga boyu ve yoğunluğun gerektiği gibi değiştirilmesiyle birlikte reaksiyonun kontrol edilebilir olmasını sağlamaktadır. Böylece foto-IEDDA reaksiyonu geleneksel IEDDA *click* reaksiyonunun faydalarını ve fotokimyasal sürecin avantajlarını birleştirmektedir (Şekil 1.14) [5].



Şekil 1.14 : Foto-IEDDA reaksiyonu.

Tetrazin molekülünün sentezi için ilk olarak dihidrotetrazin adı verilen bir öncül sentezlenmektedir. Ardından dihidrotetrazinin oksidasyonu ile tetrazin elde edilmektedir (Şekil 1.15). Bu oksidasyon reaksiyonu kimyasal yükseltgeyiciler kullanılarak gerçekleştirilebildiği gibi fotokimyasal olarak da gerçekleştirilebilmektedir [42, 45]. Böylelikle tetrazin, IEDDA reaksiyonu ışık ile tetiklenebilir duruma gelmektedir.



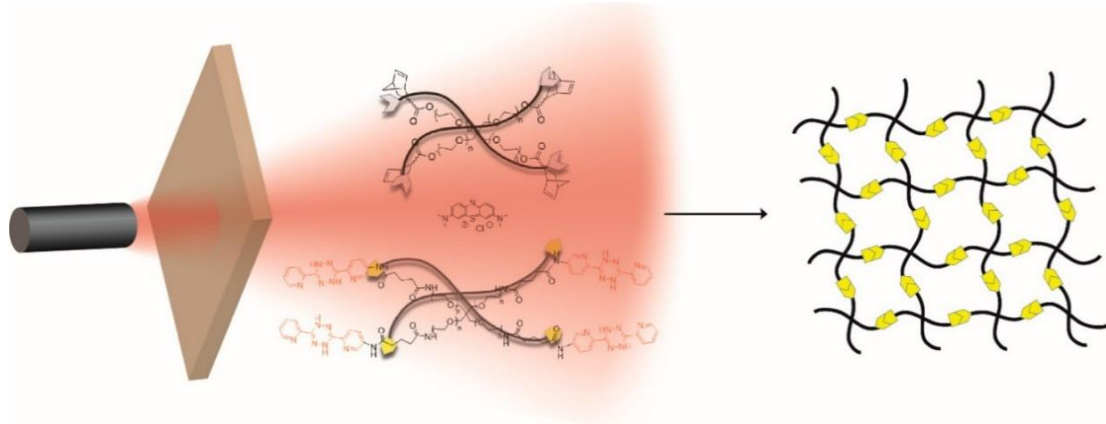
Şekil 1.15 : Dihidrotetrazinin yükseltgenme reaksiyonu.

1.4.4 Foto-IEDDA reaksiyonlarının polimer kimyasında uygulamaları

IEDDA reaksiyonları hem polimer kimyası hem de biyokimyasal uygulamalar dahil olmak üzere birçok alanda kullanılmıştır. Buna polimerlerin fonksiyonlandırılması, hidrojel sentezi, biyo-etiketleme, yüzey modifikasyonu gibi örnekler verilebilir [46]. Bununla birlikte, foto-IEDDA reaksiyonları için literatürde az sayıda örnek bulunmaktadır ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir.

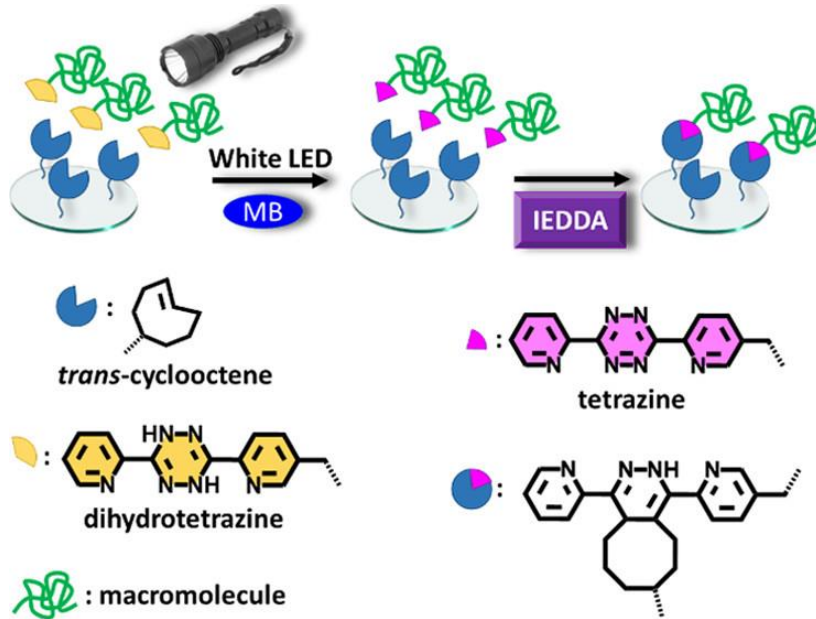
Forsythe ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada (Şekil 1.16) tetrazin-norbornen IEDDA konjugasyonu için inaktif olan dihidrotetrazin molekülünün kırmızı ışık yardımıyla reaktif tetrazine oksidasyonu rapor edilmiştir. Polimer zinciri üzerinde bulunan inaktif dihidrotetrazin fizyolojik koşullarda ve hızlıca reaktif hale getirilmiş ve tetrazin-norbornen reaksiyonu *in situ* bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın amacı, tetrazinin aktivasyonu sonrası çapraz bağlama fonksiyonu göstermesini sağlamak ve hidrojeller oluşturmaktır. Dört kollu PEG-tetrazin ve PEG-norbornen

arasında meydana gelen reaksiyon sonucu jelleşmenin 1 cm kalınlıkta bir dermal doku modelinde olduğu gözlemlenmiştir [47].



Şekil 1.16 : Kırmızı ışıkla tetiklenen IEDDA reaksiyonu ile hazırlanan polimerik hidrojel [47].

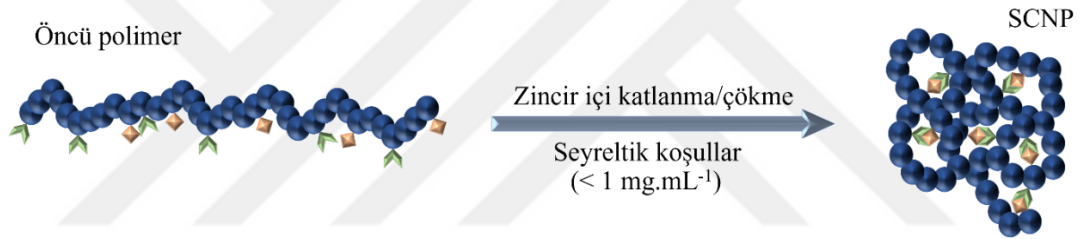
Kahveci ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (Şekil 1.17) yüzey modifikasyonu için ışıkla tetiklenebilir *click* reaksiyonu kullanılmış ve foto-IEDDA reaksiyonuna dayanan cam yüzeyine aşılama tekniği geliştirilmiştir. Bu çalışmada, polimer üzerindeki dihidrotetrazin molekülünün fotokimyasal olarak oksidasyonu *in situ* şekilde beyaz led kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ardından, polimer üzerindeki tetrazin molekülü ve cam yüzeydeki *trans*-siklookten (TCO) arasında IEDDA reaksiyonu meydana gelmiştir [13].



Şekil 1.17 : Işıkla tetiklenen IEDDA reaksiyonu kullanılarak cam yüzeyine polimer ve biyomolekül aşılama yaklaşımı [13].

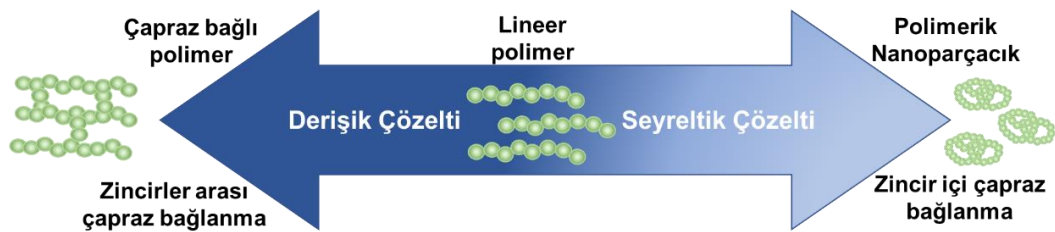
1.5 Tek Zincir Polimer Nanoparçacıklar (SCNP)

Proteinler, bir veya birden fazla katlanmış peptit zincirinden oluşan ve özgün konformasyonlar altında fonksiyon gören biyomoleküler bileşenlerdir. Karmaşık ve kendi kendine katlanabilen yapıları sayesinde çeşitli biyolojik işlevlere sahiptirler ve proteinlerin önemli bir sınıfı olan enzimler, biyolojik reaksiyonların hızını 10^{19} kat artırabilir. Bu işlem enzim katalizi olarak bilinmektedir ve yüksek katalitik verime sahip yapay enzim tasarımı, yoğun bir araştırma alanı oluşturmaktadır [48]. Proteinlerin bir taklidi olan tek zincir polimer nanoparçacıkların sentezi ve eldesinde polimerler oldukça ilgi görmektedir. Tek zincir polimer nanoparçacıklar (SCNP), polimer zincirlerinin tek tek molekül içinde kendi kendine katlanması ve çökmesi yoluyla sentezlenen yumuşak nanoparçacıkları ifade eder (Şekil 1.18). Tek zincir polimer nanoparçacıkların temel özelliği, küçük boyutları (<20 nm) nedeniyle sahip oldukları büyük yüzey/hacim oranıdır [49].



Şekil 1.18 : Tek zincir polimer nanoparçacıkların (SCNP) genel şeması.

Moleküller arası çapraz bağlanmayı önlemek için katlama/çöktürme işlemleri sırasında polimer konsantrasyonunun $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ den daha az olması gerekmektedir (Şekil 1.19) [50].



Şekil 1.19 : SCNP hazırlarken seyreltme faktörünün etkisi.

Tek zincir polimer nanoparçacıkların hazırlanması için kullanılan yaklaşımlar aşağıdaki gibidir:

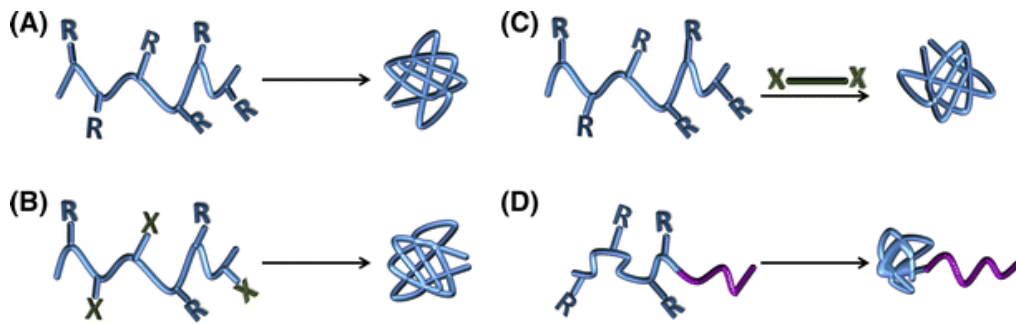
Homofonksiyonel zincir çökmesi: yönteminde polimer zinciri molekül içi reaksiyona girebilecek aynı reaktif “R” grubu ile fonksiyonlaştırılır. Kullanılan reaktif grubun

yüzdesi %10 ve %100 arasında değişebilir ve çapraz bağlanma türü kovalent veya kovalent olmayan nitelikte olabilmektedir (Şekil 1.20 (A)).

Hetero-bifonksiyonel zincir çökmesi: homofonksiyonel zincir çökmesi ile oldukça benzerdir. Ancak polimer zinciri üzerinde tek bir reaktif yerine aynı anda iki farklı reaktif grup (R ve X) bulunmaktadır (Şekil 1.20 (B)).

Çapraz bağlayıcı kullanılarak gerçekleşen zincir çökmesi: yönteminde SCNP sentezlemek için bir çapraz bağlayıcı kullanılır. Uygun bir “R” fonksiyonel grubu ile fonksiyonlaştırılan polimer zinciri, çapraz bağlayıcının iki “X” uç grubu ile reaksiyona girerek çöktürülür. Bu yöntemde istenmeyen moleküller arası çapraz bağlanmayı önlemek için bileşenlerden biri diğerine yavaşça eklenmelidir. Bu yöntemin temel avantajları, öncü polimerlerin daha kolay sentezlenmesi ve çapraz bağlama maddesi yoluyla ek bir işlevsellik kazandırma potansiyelidir (Şekil 1.20 (C)).

İki bloklu veya üç bloklu kopolimerlerin tek blokta çökmesi: yönteminde molekül içi çökme önceki üç yaklaşımdan herhangi biri kullanılarak gerçekleştirilebilir. Ancak oluşan nanoparçacığın yapısı diğer yöntemlerin sonucunda oluşan yapılara göre farklıdır. Bu yapı, “tadpoles (kurbağa yavruları)” ya da “bobin nanoparçacık kopolimeri” olarak adlandırılır. Bu yaklaşımda fonksiyonel reaktif gruplar öncü kopolimer zincirinin bloklarından sadece birinde bulunur. Molekül içi çapraz bağlanma gerçekleştiğinde reaktif grupların bulunduğu blok küre şeklinde oluşurken diğer blok bir bobin halinde kalır (Şekil 1.20 (D)) [51].



Şekil 1.20 : SCNP'lerin sentezi için kullanılan dört stratejinin şematik gösterimi: homo-fonksiyonel zincir çökmesi (A), hetero-bifonksiyonel zincir çökmesi (B); çapraz bağlayıcı kullanılarak gerçekleşen zincir çökmesi (C), iki bloklu veya üç bloklu kopolimerlerin tek blokta çökmesi (D) [51].

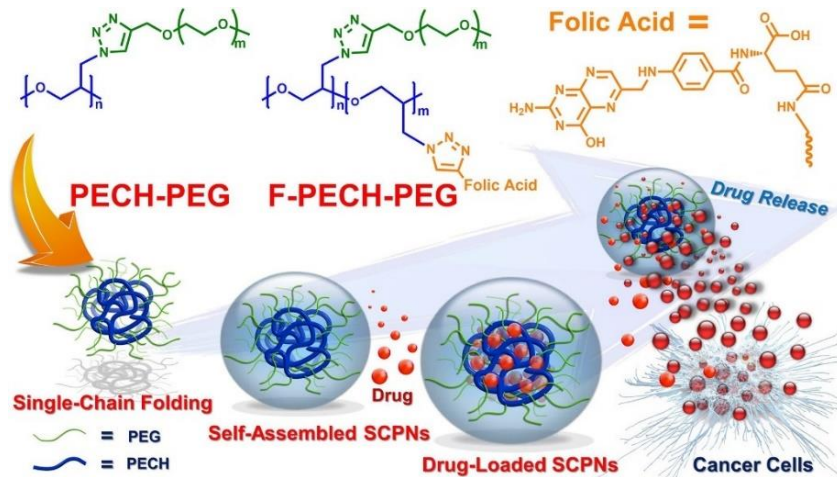
SCNP'leri elde etmek için birçok çapraz bağlama yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemler metal ligasyonu, *click* kimyası, siklo ekleme, hidrojen bağı, fotodimerizasyon ve disülfür oluşumu dahil olmak üzere kovalent, dinamik kovalent

ve kovalent olmayan bağlanma yöntemlerini içermektedir [52]. SCNP'ler, boyut dışlama kromatografisi (SEC), ışık saçılımı (DLS) nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR), difüzyon sıralı spektroskopi (diffusion ordered spectroscopy) (DOSY) ve transmisyon elektron mikroskopu (TEM) gibi yöntemlerle karakterize edilebilir. SCNP'lerin molekül ağırlıkları öncü polimerleri ile kıyaslandığında hidrodinamik yarıçaplarının azalması sebebiyle daha düşüktür; molekül ağırlığındaki bu azalmayı belirlemek için SEC tekniği kullanılır. SCNP'lerin boyutlarının ölçümü için DLS tekniği kullanılmaktadır. Ayrıca, TEM hazırlanan SCNP'lerin morfolojik yapılarını incelemeye yardımcı olur [53].

1.5.1 Tek zincir polimer nanoparçacıkların kullanım alanları

Tek zincir polimer nanoparçacıklar ilaç salım sistemleri, biyo-görüntüleme, sensör ve katalizör gibi pek çok alanda kendine uygulama alanı bulmuştur [14].

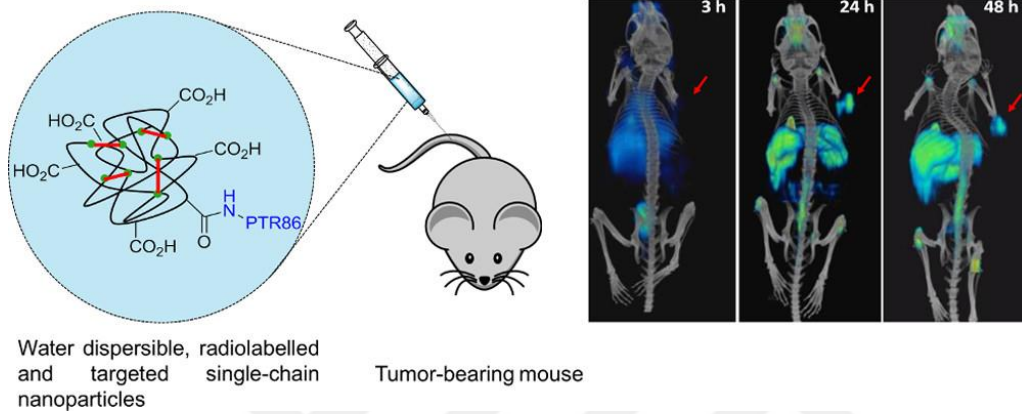
Chen ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada (Şekil 1.21), doksorubisin yüklü poli(etilen glikol)-poli(epiklorohidrin) SCNP'ler rapor edilmiştir. Hazırlanan bu SCNP'ler antikanser ilacı olan doksorubisini etkili bir şekilde enkapsüle edebilmiştir. Bununla birlikte, ilaç yüklü SCNP'lerin normal hücrelere karşı sitotoksik olmadığını ancak normal fizyolojik koşullar altında tümör hücrelerine karşı önemli ölçüde sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir [54].



Şekil 1.21 : Suda çözünür PECH-PEG SCNP'ler ve folik asit fonksiyonlu F-PECH-PEG SCNP'ler kullanılarak kanser hücrelerinde ilaç salım sürecinin gösterimi [54].

Benito ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (Şekil 1.22), poli (metakrilik asit) bazlı biyo-uyumlu tek zincir polimer nanoparçacıklar (SCNP'ler) pankreas kanseri tümörlerini görüntülemek amacıyla kullanılmıştır. Hedefleme kısmı olarak SCNP'ler

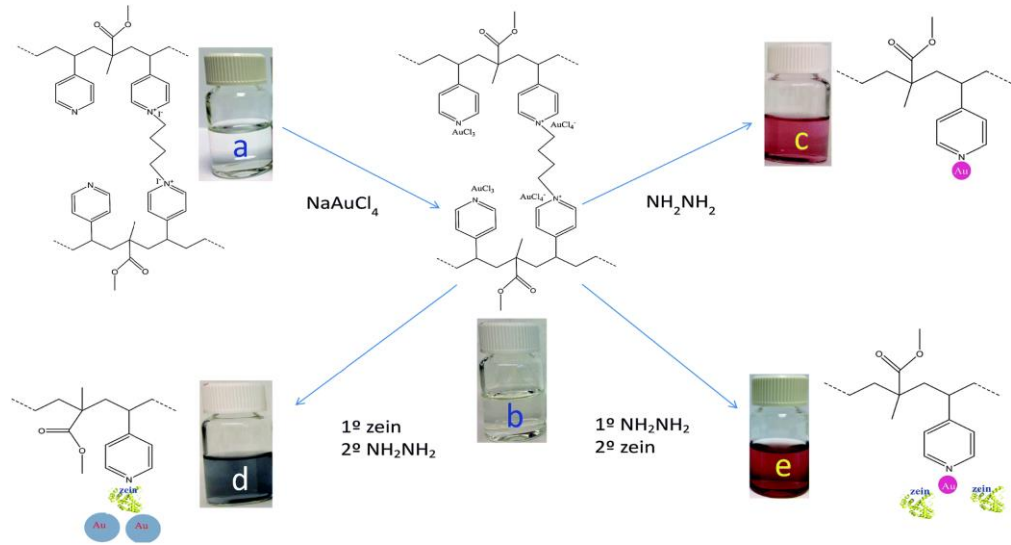
PTR86 (somatostatin analogu) ile fonksiyonlaştırılmıştır. Radyo-etiketli SCNP'lerin görüntüleme ajanı olarak potansiyeli, insan pankreas adenokarsinomunun ksenograft fare modelinde test edilmiş ve foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi kullanılarak görüntüleme yapılmıştır. Görüntüleme sonuçları, tümörlü dokuda radyo-etiketli SCNP'lerin birikiminin daha iyi tutulum göstermesi nedeniyle daha yüksek olduğunu göstermiştir [55].



Şekil 1.22 : Pankreas kanserine karşı hedeflenen radyo-etiketli karboksilik asit SCNP'lerin enjekte edildiği pankreas tümörlü farelerin foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi görüntüleri [55].

Liu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Cu(I) ve Pd(II) içeren SCNP'lerin katalitik aktivitesi serbest katalizörlerle karşılaştırılmış ve SCNP'lerin daha üstün katalitik aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir [56].

Latorre-Sanchez ve Pomposo, piridin fonksiyonlu tek zincirli nanoparçacıkların varlığında sulu etanolde zein proteini için zein-piridin-altın etkileşimine dayalı basit, hızlı, yüksek hassasiyetli bir tespit yöntemi bildirmiştir (Şekil 1.23). Çalışmada, zein proteini içermeyen şeffaf SCNP çözeltisine bir damla hidrazin eklenmesiyle ilk olarak altın nanoparçacıklar oluşturulmuştur ve buna bağlı olarak çözelti renginin pembeye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Daha sonra şeffaf SCNP çözeltisine ilk olarak zein eklenmiş ardından bir damla hidrazin eklendiğinde çözelti rengi maviye dönmüştür. Son olarak şeffaf SCNP çözeltisine sırasıyla bir damla hidrazin ve zein proteini eklendiğinde çözelti rengi kırmızıya dönmüştür [57].



Şekil 1.23 : Zein-piridin-altın etkileşimlerine dayanan sulu etanoldeki zein için kolorimetrik sensörün prensibi [57].

Bu tez çalışmasında, *click* reaksiyonlarından biri olan biyoortogonal foto-IEDDA reaksiyonu SCNP'leri hazırlamak amacıyla çapraz bağlama yöntemi olarak uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda, foto-IEDDA reaksiyonu için polimer kimyasında yeni bir uygulama alanı önerilmekte ve SCNP hazırlanması için alternatif bir çapraz bağlama yöntemi sunulmaktadır. Bu yöntem, hem polimer biliminde hem de nanomalzeme alanında önemli bir gelişme olarak değerlendirilebilir.



2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1 Kullanılan Kimyasallar

Tez kapsamında; 5-amino-2-piridin karbonitril (Sigma-Aldrich, %96), 2-piridin-karbonitril (Sigma, %99), hidrazin monohidrat (Sigma-Aldrich, 98%), süksinik anhidrit (Sigma-Aldrich), metil metakrilat (MMA) (Sigma, %99), 2-hidroksi etil metakrilat (HEMA) Sigma Aldrich, %98), azobisizobutironitril (AIBN) (Sigma Aldrich, %98), 4-siyano 4[(dodesilsülfaniltiokarbonil) sülfanil]pentanoik asit (CTA) (%97, HPLC, Sigma Aldrich), bisiklo ((2,2,1) hept-5-en-2-karboksilik asit (norbornen karboksilik asit) (%95, Oxchem), *NN'*-1,3-disikloheksilkarbodiimid (DCC) (Aldrich), 4-(dimetilamino) piridin (DMAP) (Sigma, >%98), metilen mavisi (Sigma-Aldrich) ve diğer kimyasallar satın alınarak kullanılmıştır. Tetrahidrofuran (THF) (Merck) metalik sodyum üzerinde reflüks edilip kurutularak kullanılmıştır.

2.2 Kullanılan Cihazlar

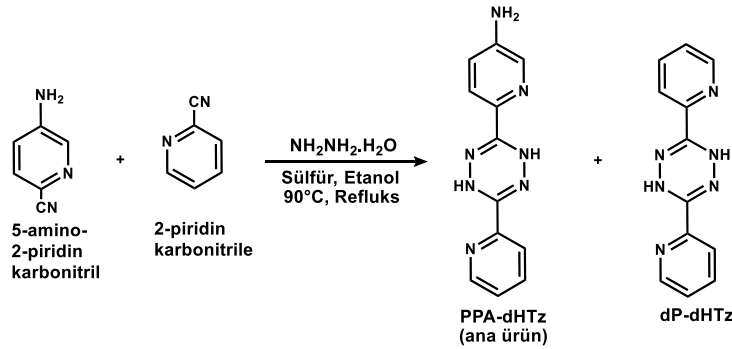
NMR analizleri, döteryumlu çözücüler kullanılarak Agilent NMR System VNMRS 500 Spektrometresi cihazı ile yapılmıştır. UV-Vis absorbans ölçümleri, Peak Instruments C-7000 UV spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. FT-IR spektrumları Agilent Technologies Cary 630 FT-IR cihazında kaydedilmiştir. Dihidrotetrazinlerin fotooksidasyonları kırmızı lazer (CNI Laser, Model No:FC-680-2W; $\lambda \sim 680$ nm) ile gerçekleştirildi. Polimerlerin moleküler ağırlıkları, boyut dışlama kromatografisi (SEC) cihazı, bir pompa, üç ViscoGEL GPC kolonu (G2000HHR, G3000HHR ve G4000HHR), bir Viscotek diferansiyel kırılma indeksi detektöründen oluşan Viscotek GPCmax Otomatik Numune Alma sistemi ile belirlendi. Tetrahidrofuran eluent olarak 1,0 mL dk⁻¹ akış hızında kullanıldı. Sayısal ortalamalı molekül ağırlıkları doğrusal polistiren standartları kullanılarak belirlendi. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) ölçümleri, nitrojen atmosferi altında 10°C dk⁻¹ ısıtma hızıyla TA Instruments Discovery DSC 250 kullanılarak gerçekleştirildi. Parçacık boyutu dağılımları, bir Malvern NanoZSP cihazı kullanılarak THF dispersiyonlarında

dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılarak belirlendi. SCNP'ler, yüksek vakum ve 30 kV altında Thermo Scientific Quattro ESEM marka taramalı geçirmeli elektron mikroskobu (STEM) detektörü kullanılarak görüntülenmiştir.

2.3 SCNP için Öncül Polimerin Sentezi

2.3.1 6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro-1,2,4,5- tetrazin-3-il) piridin-3-amin (PPA-dHTz) sentezi

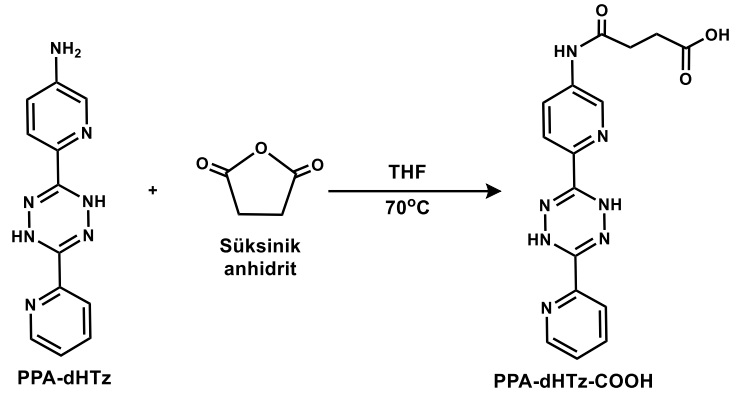
2-piridin karbonitril (2,00 g, 19.2 mmol, 1 ekv.), 5-amino-2-piridin karbonitril (1,14 g, 9,6 mmol, 0,5 ekv.) ve sülfür (0,60 g) etanol (9 mL) içinde inert azot atmosferi altında sırasıyla çözüldü. Reaksiyon buz banyosuna (0°C) alındı ve hidrazin monohidrat (5 mL, 103 mmol, 5,4 ekv.) şırınga yardımıyla damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı (siyah) oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldıktan sonra karışım (turuncu) 90°C'ye ısıtıldı ve 2 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. İki saat sonunda reaksiyon karışımı oda sıcaklığına alındı ve gece boyunca karıştırıldı. Reaksiyon karışımı daha sonra 0°C'ye soğutuldu, katı ürün süzülerek soğuk etanol (3 x 15 mL) ile yıkandı ve vakum altında kurutuldu. Ürün (PPA-dHTz) son olarak kolon kromatografisi (kloroform/etanol, 15:1) ile saflaştırıldı (998 mg, verim: %41) (Şekil 2.1) [46].



Şekil 2.1 : PPA-dHTz sentezi.

2.3.2 4-okso-4-((6-(6-(piridin-2-il)-1,4-dihidro-1,2,4,5-tetrazin-3-il) piridin-3-il) amino) bütanoik asit (PPA-dHTz- COOH) sentezi

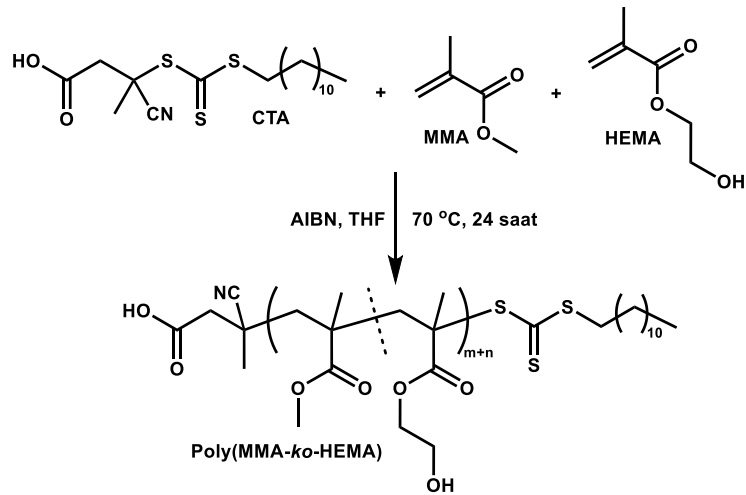
PPA-dHTz (200 mg, 0,79 mmol), süksinik anhidrit (400 mg, 4,00 mmol) ve kuru THF (8 mL) schlenk tüpüne eklendi. Reaksiyon 70°C yağ banyosunda 24 saat devam etti. Reaksiyon sonunda karışım buz banyosunda soğutuldu. Çökelti süzüldü ve sırasıyla THF (2 mL) ve etil asetat (3x3 mL) ile yıkandı. Elde edilen katı ürün vakum altında kurutuldu (279 mg, verim: >%99) (Şekil 2.2) [58].



Şekil 2.2 : PPA-dHTz-COOH sentezi.

2.3.3 Poli(metil metakrilat-ko-hidroksietil metakrilat) sentezi

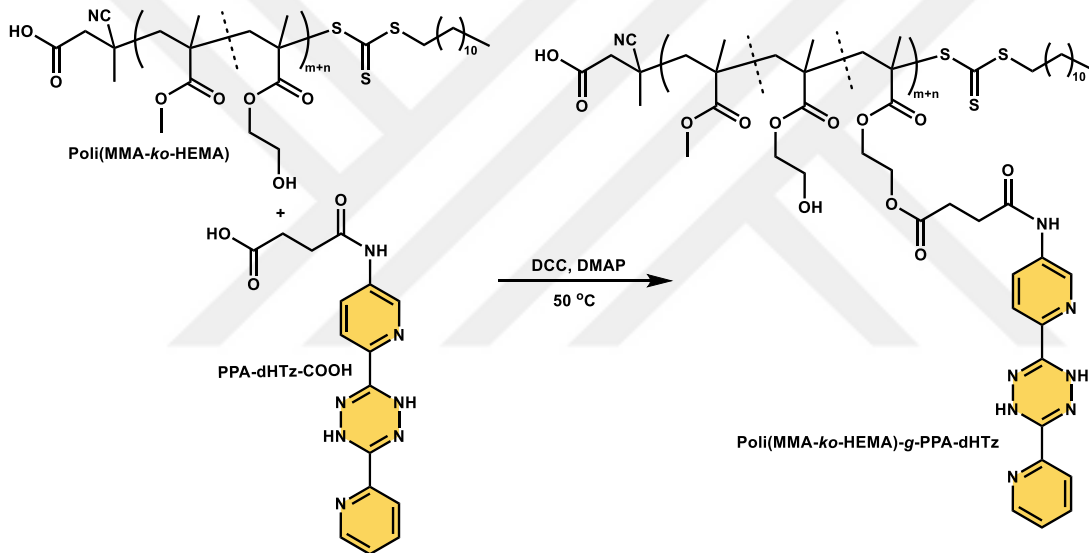
Poli(metil metakrilat-ko-hidroksietil metakrilat) [poli(MMA-ko-HEMA)] sentezi, RAFT polimerizasyonu yöntemi ile reaktiflerin oranı $[\text{MMA}]:[\text{HEMA}]:[\text{RAFT}]:[\text{AIBN}]=220:95:1:0,3$ olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. MMA (2,5 mL, 23,37 mmol), HEMA (1,22 mL, 10,09 mmol), CTA (43 mg, 0,106 mmol) ve AIBN (5,2 mg, $3,19 \times 10^{-5}$ mol) schlenk tüpünde kuru THF (14 mL) içerisinde çözüldü. Dört kez “dondur-vakumla-erit (freeze-pump-thaw)” işlemi uygulandı. Reaksiyon azot gazı altında 70°C yağ banyosunda bir gece devam etti. Süre sonunda reaksiyon karışımındaki çözücünün bir kısmı döner buharlaştırıcıda uçuruldu ve 150 mL dietil eterde çöktürüldü. Ardından çöktürülen polimer sentrifüj edilerek ayrıldı ve polimer bir gece oda sıcaklığında vakum altında kurutuldu (1,76 g, verim: %70) (Şekil 2.3) [59].



Şekil 2.3 : Poli(MMA-ko-HEMA) sentezi.

2.3.4 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz sentezi

İki boyunlu 50 mL'lik balonda, azot gazı altında PPA-dHTz-COOH (73 mg, 0,206 mmol) kuru THF (7 mL) içerisinde çözüldü. Üzerine 0 °C'de THF (2 mL) içerisinde çözülmüş DCC (85 mg, 0,413 mmol) ve DMAP (5 mg, 0,0413 mmol) karışımı damla damla eklendi ve bulanıklaşma meydana geldi. Reaksiyon karışımı, iki saat karıştırıldıktan sonra, üzerine THF (5 mL) içerisinde çözülmüş poli(MMA-ko-HEMA) (150 mg, $7,51 \times 10^{-3}$ mmol, içerisindeki HEMA miktarı 0.413 mmol) eklendi. Reaksiyon, bir gece boyunca 50°C yağ banyosunda devam etti. Reaksiyon sonunda çözücünün bir kısmı döner buharlaştırıcı yardımı ile uçuruldu, sırasıyla su ve hekzanda çöktürüldü. Katı madde santrifüjlenerek elde edildi ve ürün oda sıcaklığında bir gece vakum altında kurutuldu (Şekil 2.4).

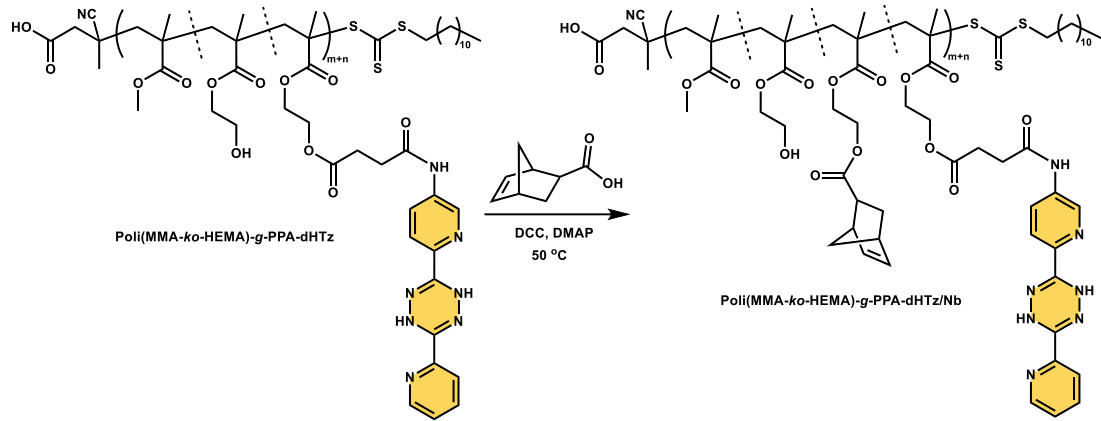


Şekil 2.4 : Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz sentezi.

2.3.5 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb sentezi

İki boyunlu 50 mL'lik balonda, azot gazı altında Nb-COOH (29 mg, 0,206 mmol) kuru THF (5 mL) içerisinde çözüldü. Üzerine 0°C'de THF (2 mL) içerisinde çözülmüş DCC (85 mg, 0.413 mmol) ve DMAP (5 mg, 0.0413 mmol) karışımı damla damla eklendi ve bulanıklaşma meydana geldi. Reaksiyon karışımı iki saat karıştırıldıktan sonra üzerine THF (10 mL) içerisinde çözülmüş poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz (150 mg, $7,51 \times 10^{-3}$ mmol, içerisindeki HEMA miktarı 0.413 mmol) eklendi. Reaksiyon bir gece boyunca 50°C yağ banyosunda devam etti. Reaksiyon sonunda çözücünün bir kısmı döner buharlaştırıcı yardımı ile uçuruldu, hekzanda çöktürüldü. Katı madde

santrifüjlenerek elde edildi ve ürün oda sıcaklığında bir gece vakum altında kurutuldu (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb sentezi.

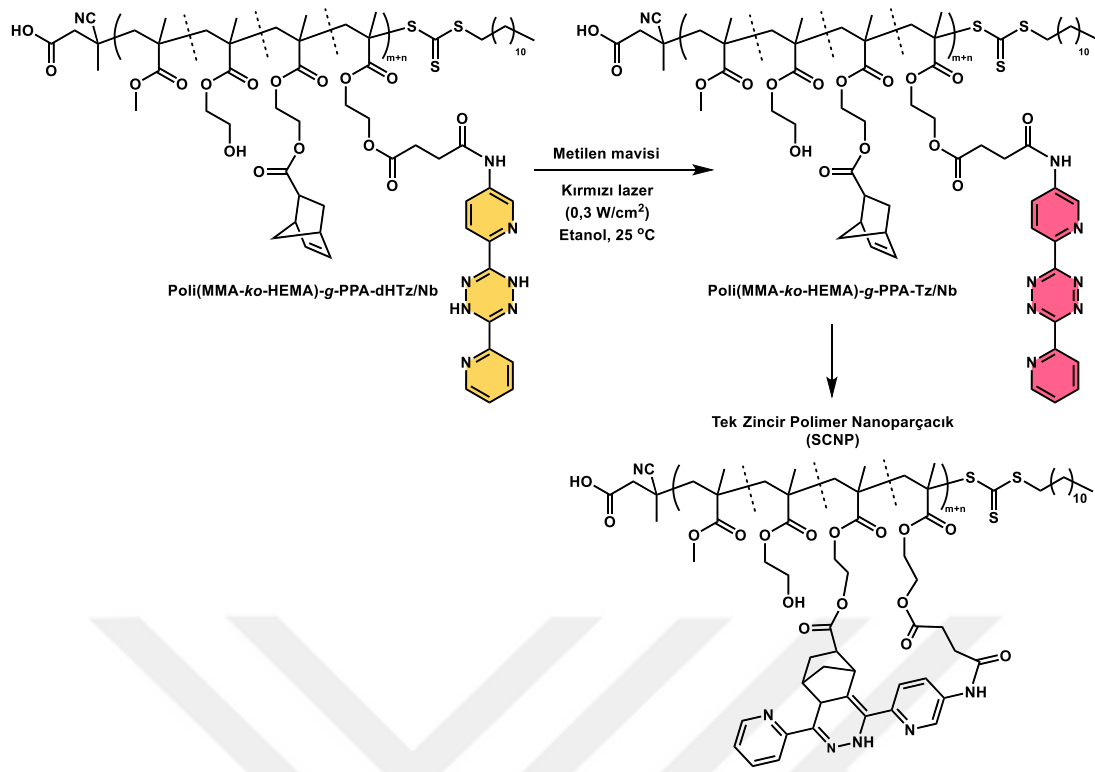
2.4 Tek Zincir Polimer Nanoparçacıkların (SCNP) Hazırlanması

Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb (öncü polimer) çözeltisi etanol içerisinde metilen mavisi (foto-duyarlaştırıcı) (8 μ M) ile birlikte konsantrasyonu 0,5 mg/mL olacak şekilde hazırlandı. Kırmızı lazer (λ : 680 nm, ışık şiddeti: %60, ışık gücü: 0,3 W/cm²) yardımıyla bu çözelti toplam iki saat uyarıldı ve UV-Vis spektroskopisi ile reaksiyon takip edildi. Daha sonra reaksiyon bir gece boyunca karıştırıldı (Çizelge 2.1). Bir gece sonunda çözücünün bir kısmı döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırıldı. Suda çöktürüldü ve su ile üç kez yıkandı. Elde edilen katı yüksek vakum altında kurutuldu (Şekil 2.6).

Çizelge 2.1 : SCNP hazırlarken reaksiyon koşulları.

Polimerik Nanoparçacık	Aydınlatma* süresi (saat)	Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (mg/mL)
SCNP-1	2	25	0,5
SCNP-2	2	80	0,5
SCNP-3	2	80	0,2

* Aydınlatma sırasında sıcaklık 25°C'dir.

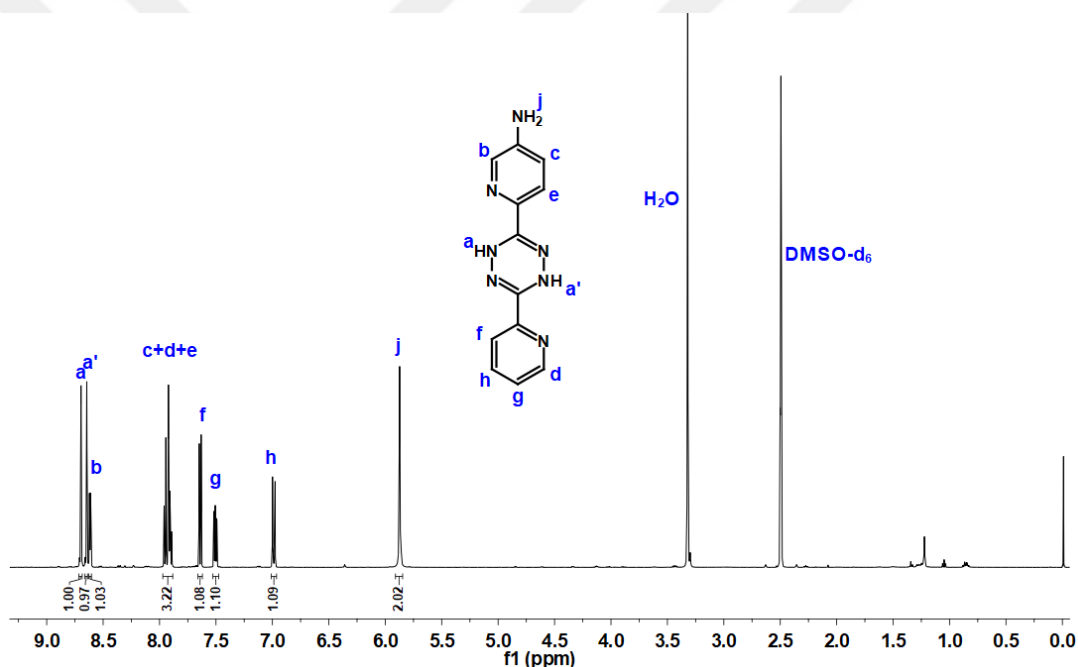


Şekil 2.6 : Foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak SCNP hazırlanışı.

3. DENEYSEL SONUÇLAR

3.1 PPA-dHTz'nin Karakterizasyonu

PPA-dHTz'nin ^1H -NMR spektroskopisi incelendiğinde ikincil amin protonlarına ait pikler 8,89 ve 8,64 (a, a') ppm'de ve yedi aromatik protona denk gelen pikler 6,98-8,61 ppm arasında gözlenmektedir. Buna ek olarak diğer bir karakteristik pik olan uç amin protonlarının piki ise 5,87 ppm'de görülmektedir (Şekil 3.1). Bu bilgiler ışığında maddenin başarı ile sentezlendiği değerlendirilmiştir.

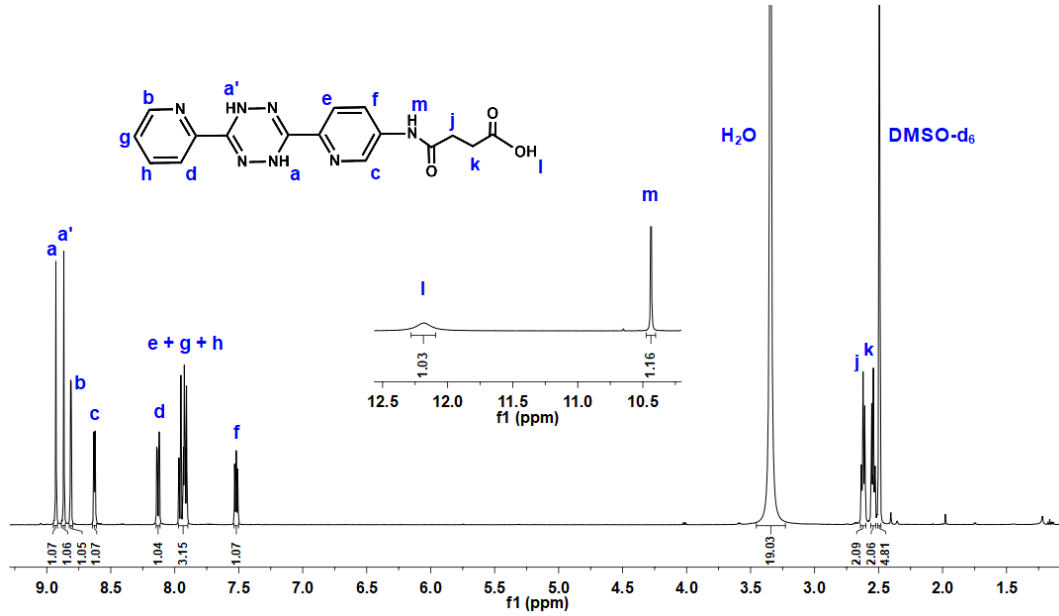


Şekil 3.1 : PPA-dHTz ^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6).

3.2 PPA-dHTz-COOH Karakterizasyonu

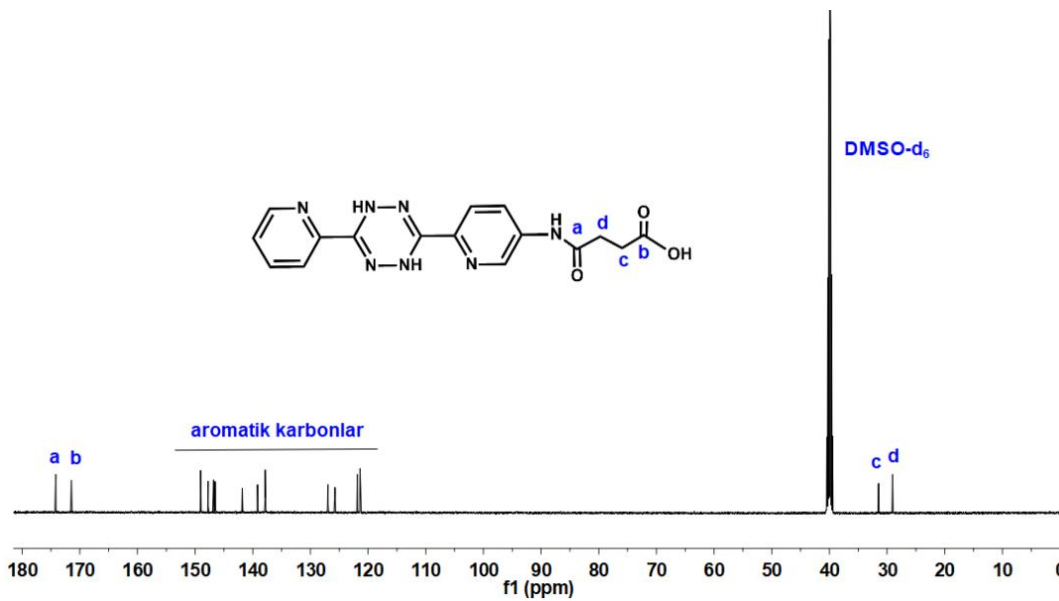
PPA-dHTz'nin suksinik anhidrit ile reaksiyonu sonucu elde edilen PPA-dHTz-COOH, ^1H -NMR ve ^{13}C NMR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. PPA-dHTz ile benzer şekilde ^1H -NMR spektrumunda ikincil amin protonlarına ait pikler 8,89 ve 8,64 ppm'de, yedi aromatik protona denk gelen pikler 6,98-8,61 ppm arasında gözlenmektedir. Beklenildiği üzere uçtaki amine ait 5,87 ppm'deki pik kaybolmuş ve oluşan yeni amide ait pik 10,44 ppm gözlenmektedir. Buna ek olarak, süksinik asit

grubundaki metilen protonlarının kimyasal kaymasının 2,55-2,70 ppm civarında ve uç karboksilik asite ait protonun 12,20 ppm civarında tespit edilmesi hedeflenen molekülün elde edildiğini göstermektedir (Şekil 3.2).



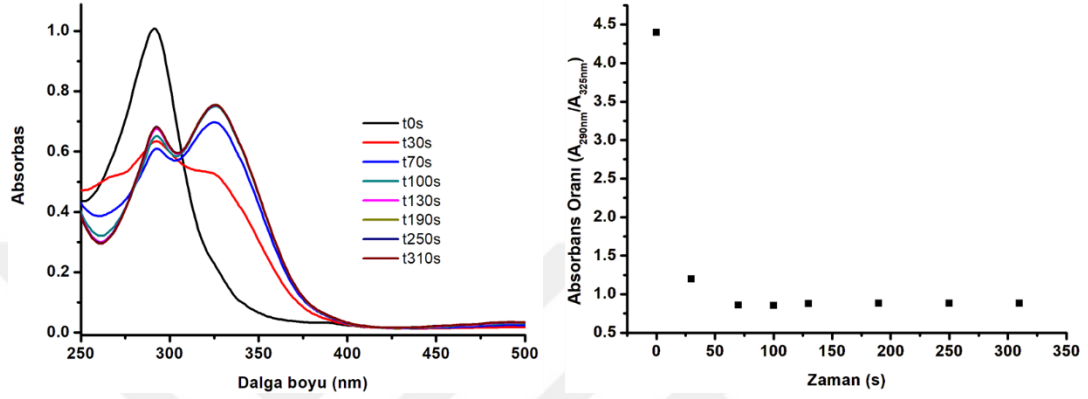
Şekil 3.2 : PPA-dHTz-COOH DMSO-d₆ içerisindeki ¹H-NMR spektrumu.

PPA-dHTz-COOH'a ait ¹³C-NMR spektrumunda aromatik karbonlara ait pikler 121-149 ppm arasında, amit karbonil karbonuna ait pik 174 ppm'de ve karboksilik asit karbonil karbonuna ait pik 171 ppm'de gözlenmektedir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 : PPA-dHTz-COOH ¹³C-NMR spektrumu (DMSO-d₆).

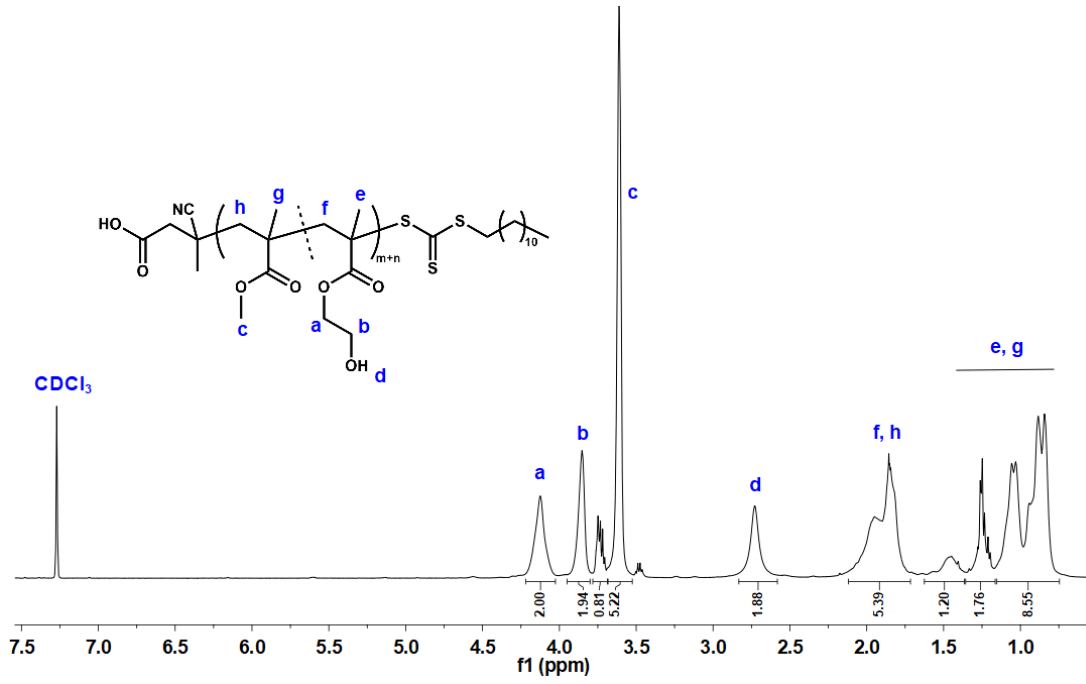
PPA-dHTz-COOH molekülünün kırmızı lazer ile oksidasyon reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve UV-Vis spektroskopisi ile oksidasyonu takip edilmiştir. 290 nm'deki absorbans bandı azalarak 325 nm'de yeni bir bant oluşmuştur. İki dalga boyuna ait absorbans bantları birbirine oranlandığında (A_{290nm}/A_{325nm}) değişimin 70. saniyede tamamlandığı gözlemlenmiştir ve bu oksidasyonun çok hızlı bir şekilde gerçekleştiğinin bir göstergesidir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : Kırmızı lazer ile PPA-dHTz-COOH'ın oksidasyonu sırasında alınan UV-Vis spektrumları ve 290 nm ile 325 nm'deki absorbans değerlerinin oranı.

3.3 Poli(MMA-ko-HEMA) Karakterizasyonu

Poli(MMA-ko-HEMA) sentezi ^1H -NMR spektroskopisi ile doğrulanmıştır. MMA biriminin metil ester grubunun metil protonlarına ait pik 3,66 ppm'de, HEMA biriminde hidroksil (-OH) grubuna komşu olan metilen gruplarına ait pikler 3,85 ve 4,12 ppm'de ve hidroksil grubuna proton piki 2,73 ppm'de gözlenmektedir. Ayrıca, NMR spektrumunda herhangi bir akrilat pikinin gözükmemesi de sentezlenen polimerde herhangi bir monomer kalmadığını kanıtlamaktadır (Şekil 3.5). NMR spektrumundaki "a" ve "b" piklerinin integral alanı ile "c" pikinin integral alanı oranlanarak MMA ve HEMA terarlayan birimlerinin oranı bulunmuştur. Bu oranla birlikte GPC'den belirlenen molekül kütlesi bilgisi kullanılarak da tekrar eden birim sayıları belirlenmiştir (Çizelge 3.1).



Şekil 3.5 : Poli(MMA-ko-HEMA) ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

P(MMA-ko-HEMA)'nın molekül ağırlığı yapılan GPC (eluent THF) analizinde M_n , $M_{\text{GPC}}=19.980$ g/mol, PDI=1,32 olarak belirlenmiştir, teorik $M_{n, \text{teorik}}=16.550$ g/mol olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.1).

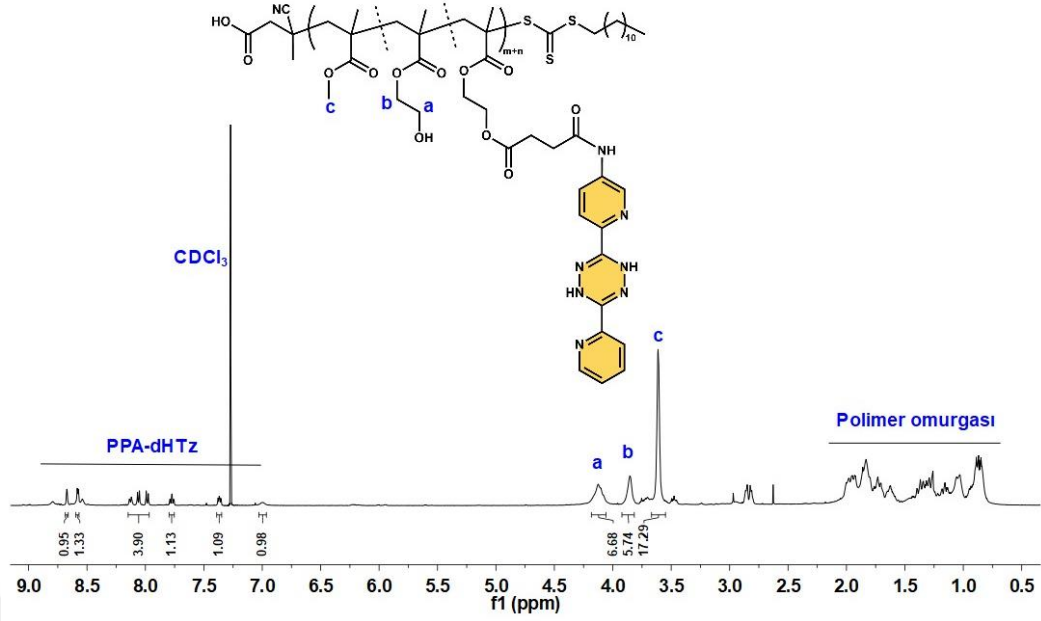
Çizelge 3.1 : P(MMA-ko-HEMA) molekül ağırlıkları.

Polimer	MMA birimi	HEMA birimi	M_n , teorik (kDa)	M_n , GPC (kDa)	M_w , GPC (kDa)	PDI*
P(MMA-ko-HEMA)	127	55	16,55	19,98	26,40	1,32

*GPC datalarından elde edilen veriler (M_w/M_n)

3.4 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz Karakterizasyonu

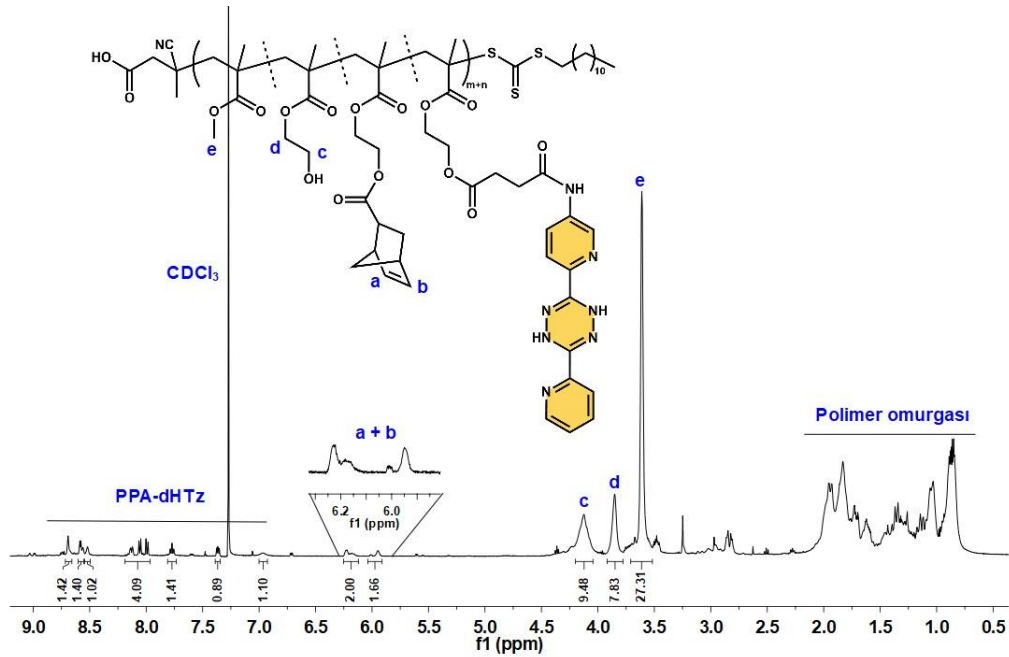
PPA-dHTz'nin aromatik protonlarına ait 6,98-8,61 ppm arasında gözlenen piklerin poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz'nin NMR spektrumunda gözlenmesi, PPA-dHTz'nin polimere bağlandığını (graft edildiğini) desteklemektedir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 : Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

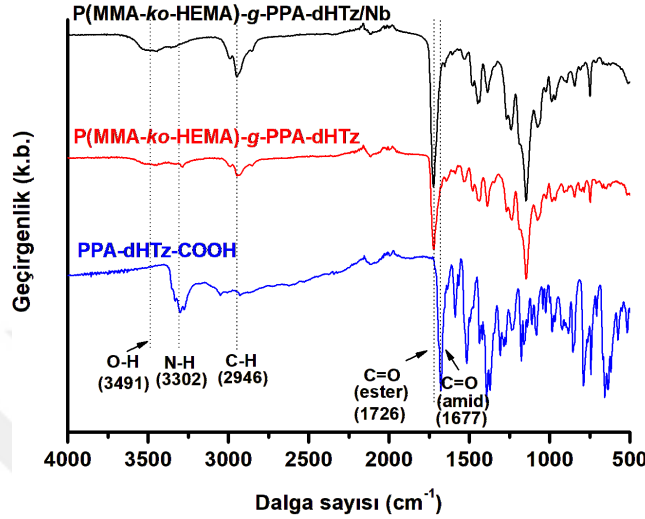
3.5 Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb Karakterizasyonu

Norbornen grupları ile modifiye edilen polimerin NMR spekturumunda (poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb) gözlenen 5,92-6,22 ppm civarındaki tipik norbornen olefinik pikleri polimerin başarılı bir şekilde fonksiyonlandırıldığını göstermektedir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 : Poli(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/ Nb ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

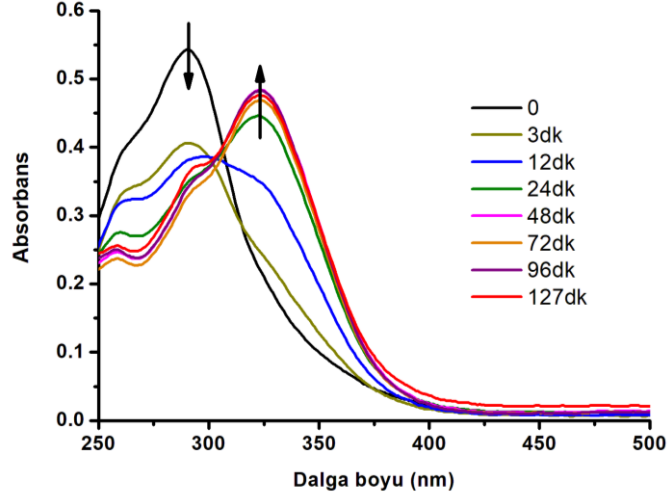
Sentezlenen maddelerin yapıları Şekil 3.8’de gösterildiği gibi FTIR spektroskopisi ile de desteklenmiştir. Amid gruplarına ait karbonil gerilme bandı 1677 cm^{-1} ’de, karboksilik/estere ait karbonil gerilme bantları ise 1726 cm^{-1} ’de gözlenmektedir. C-H’a, N-H’a ve O-H’a ait bantların sırasıyla 2946 cm^{-1} , 3302 cm^{-1} ve 3491 cm^{-1} ’de olduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 3.8 : PPA-dHTz-COOH, P(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz ve P(MMA-ko-HEMA)-g-PPA-dHTz/Nb FT-IR sepektrumları.

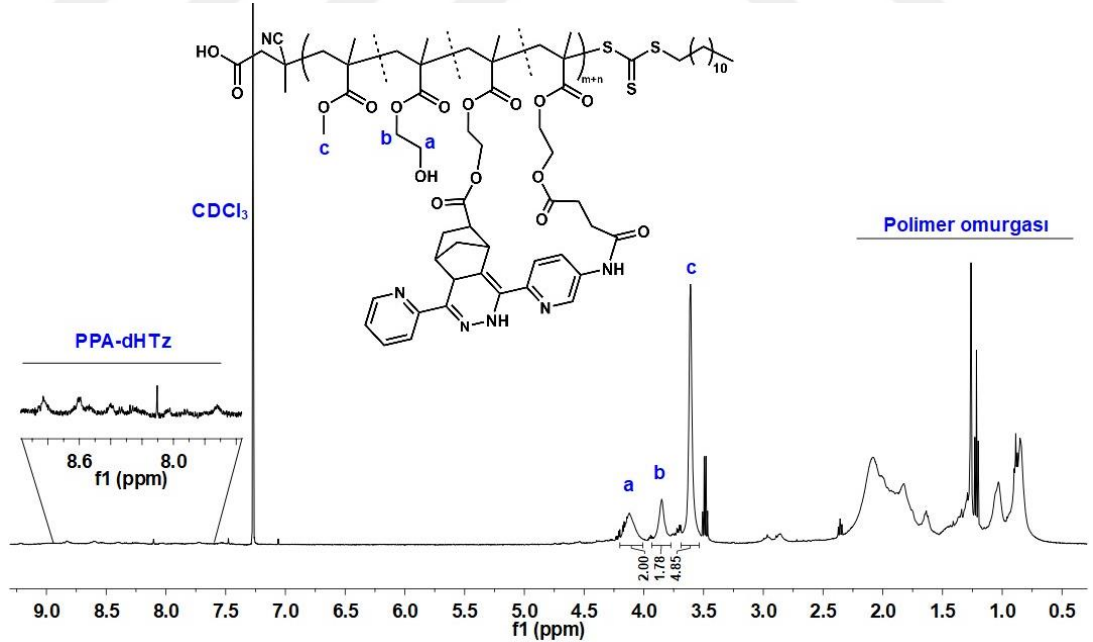
3.6 Hazırlanan SCNP’lerin Karakterizasyonu

Polimer üzerine graft edilmiş olan dihidrotetrazinin kırmızı lazer yardımıyla oksidasyonu UV-Vis spektrofotometresi ile takip edilmiştir. Polimere bağlı dihidrotetrazinin 290 nm ’de gözlemlenen absorbans bandı oksidasyonu sonucu azalmış ve 325 nm ’de yeni bir absorbans bandı ortaya çıkmıştır (Şekil 3.9). Aynı değişimin küçük dihidrotetrazin türevi olan PPA-dHTz-COOH (Şekil 3.4) oksidasyonunda da gözlenmesi polimerik yapıda oksidasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini IEDDA için gerekli olan tetrazin molekülünün polimerin üzerinde olduğunu desteklemektedir.



Şekil 3.9 : Kırmızı lazer ile polimer üzerindeki PPA-dHTz'nin oksidasyonu sırasında alınan UV-Vis spektrumları.

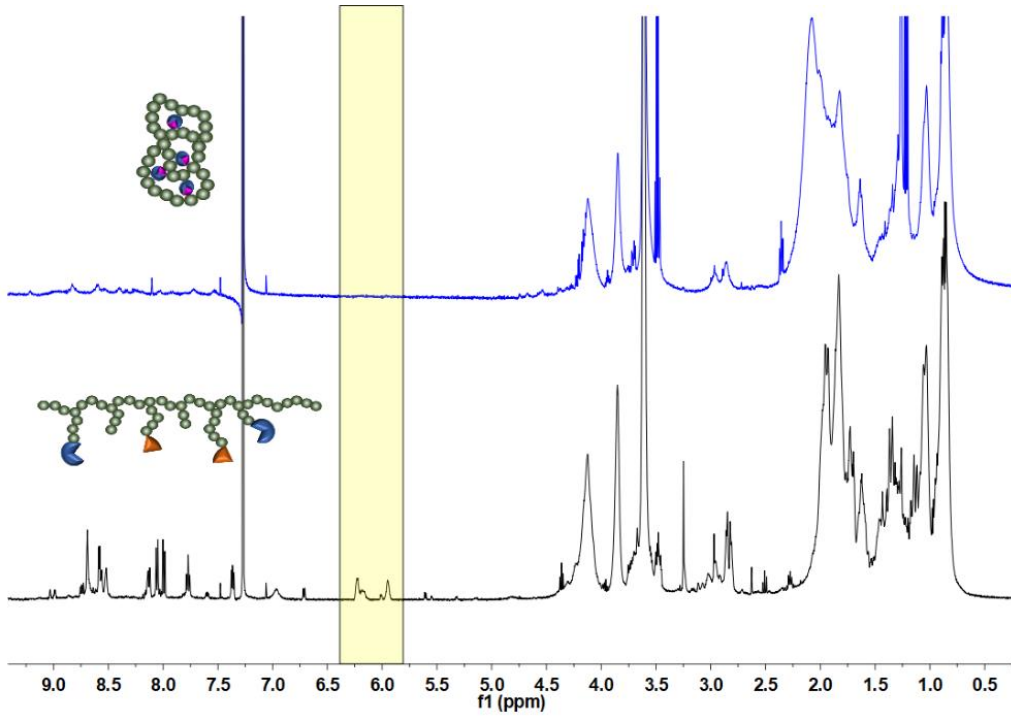
Polimere bağlı PPA-dHTz'nin foto-oksidasyonu sonucu tetrazin oluşması ve oluşan tetrazinin yine polimere bağlı norbornen grupları ile reaksiyona girmesi sonucu norbornene ait 5,92-6,22 civarındaki olefinik piklerin kaybolmasına sebep olduğunu değerlendirilmektedir. Bu durum foto-IEDDA reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 : SCNP ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).

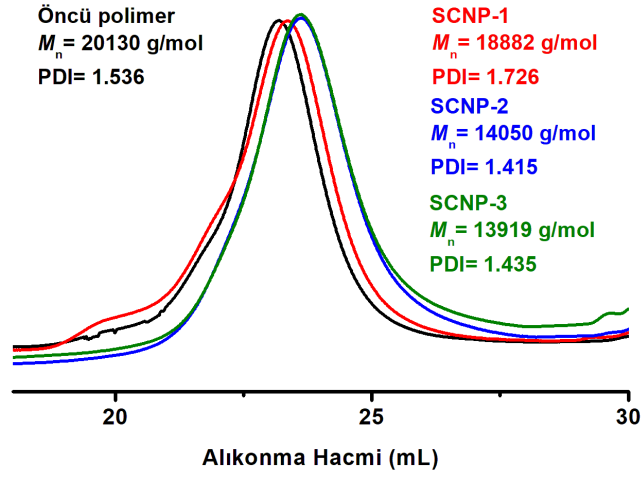
Seyreltik ortamda gerçekleştirilen bu foto-IEDDA sonucunda SCNP'lerin oluştuğu düşünülmektedir. SCNP'lerin ve öncü polimerinin Şekil 3.11'da gösterilen ^1H -NMR

spektrumları karşılaştırıldığında norbornene ait piklerin kaybolduğu net bir şekilde görülmektedir.



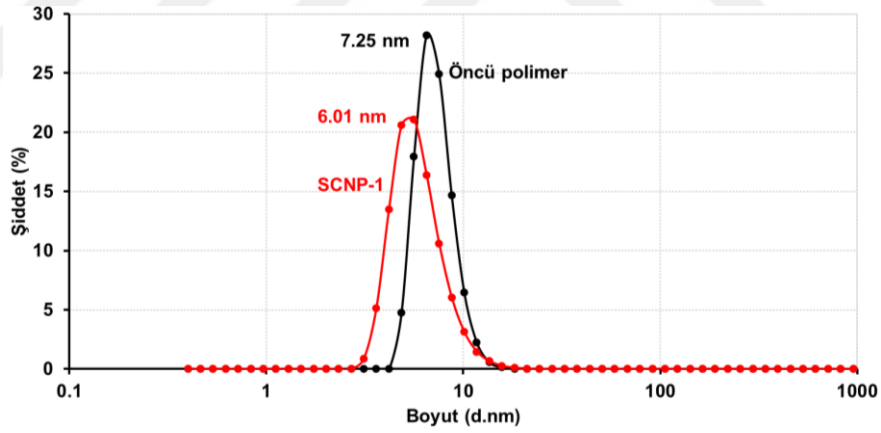
Şekil 3.11 : SCNP ve öncü polimerinin ^1H -NMR spektrumları.

Öncü polimerin ve SCNP'lerin molekül kütleleri GPC ile tayin edilmiştir. SCNP'lerin molekül kütleleri (M_n), hidrodinamik hacimlerinin azalması ve kompakt morfolojiye sahip olmaları sebebiyle öncü polimer ile kıyaslandığında genellikle daha düşük olmaktadır [60]. Aynı öncü polimerden farklı sıcaklık (SCNP-1, 25 °C ve SCNP-2, 80°C) veya farklı polimer konsantrasyonlarında (SCNP-2, 0,5 mg/mL ve SCNP-3, 0,2 mg/mL) elde edilen SCNP'lerin molekül kütleleri ve GPC kromatogramları Şekil 3.12'de verilmiştir. Görüldüğü üzere tez kapsamında hazırlanan tüm SCNP'lerin, M_n değerleri öncü polimer ile kıyaslandığında daha düşük olması molekül içi çapraz bağlanmanın gerçekleştiğinin bir göstergesidir. Yüksek sıcaklıkta (80°C) gerçekleştirilen reaksiyonlardan elde edilen SCNP'lerin molekül kütlelerinin daha düşük olduğu dolayısıyla molekül içi çapraz bağlanmanın daha etkin olduğu anlaşılırken diğer taraftan polimer konsantrasyonun molekül kütlesi değişiminde etkisinin az olduğu anlaşılmaktadır.



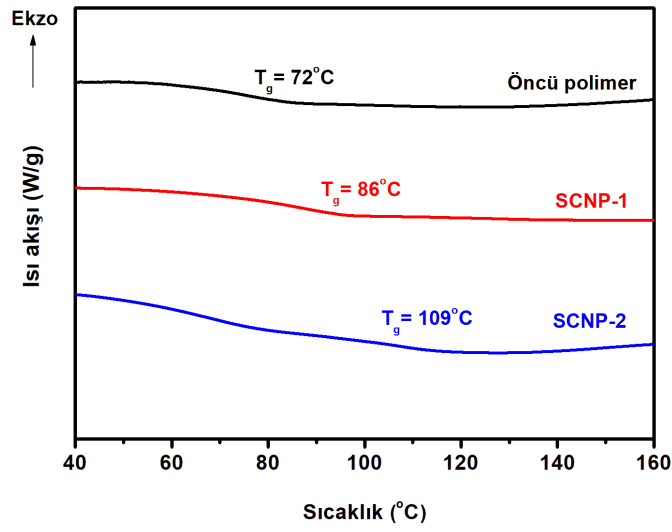
Şekil 3.12 : Öncü polimerin ve SCNP'lerin GPC kromatogramları.

Öncü polimer ve SCNP'lerin boyut analizi DLS ile yapılmıştır. Öncü polimerin hidrodinamik yarıçapı 7,23 nm iken elde edilen SCNP-1'in hidrodinamik yarıçapı 6,01 nm'ye düşmüştür. Bu sonuç, nanoparçacıkların polimere göre daha kompakt bir morfolojiye sahip olması ile açıklanmakta olup GPC'den elde edilen sonuçları desteklemektedir (Şekil 3.13).



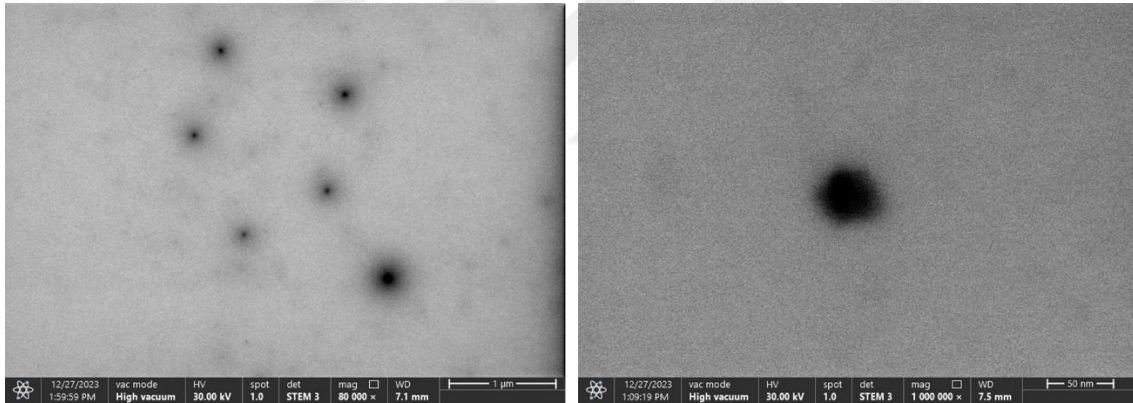
Şekil 3.13 : SCNP-1 (kırmızı) ve öncü polimer (siyah) hidrodinamik dağılımları.

Öncü polimerin ve SCNP'lerin termal davranışları DSC analizi ile incelenmiştir. Molekül içi çapraz bağlı nanoparçacıkların termal özellikleri, öncü polimerinki ile karşılaştırıldığında SCNP'lerin daha yüksek camı geçiş sıcaklığına (T_g) sahip olduğu gözlemlenmiştir. Öncül polimerin T_g değeri 72°C'de gözlemlenirken molekül içi çapraz bağlanmanın sonucunda zincir hareketliliğinin azalması ile SCNP-1 ve SCNP-2'de T_g değerleri sırasıyla 86°C'ye ve 109°C olarak belirlenmiştir (Şekil 3.14) [60]. Ayrıca SCNP-2'nin T_g değerinin SCNP-1'inkinden yüksek olması, yine SCNP-2'nin daha etkin bir molekül içi çapraz bağlanma yapmasıyla açıklanabilir.



Şekil 3.14 : Öncü polimere ve SCNP'lere ait DSC termogramları.

Hazırlanan SCNP'lerin morfolojik yapılarını görüntülemek için STEM analizi kullanılmıştır. Şekil 3.15'te gösterildiği gibi hazırlanan SCNP'lerin morfolojik yapıları beklendiği gibi küresel yapıdadır.



Şekil 3.15 : SCNP-2'ye ait STEM görüntüleri, ölçek çubukları sırasıyla 1 µm ve 50 nm'dir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu tez kapsamında ilk kez foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak tek zincir polimer nanoparçacıkların sentezi için yeni bir yaklaşım geliştirilmiştir. Bunun için ilk olarak PPA-dHTz, PPA-dHTz-COOH sentezlenmiş olup NMR ve FT-IR yöntemleri ile karakterize edilmiştir. PPA-dHTz'nin oksidasyonu kırmızı lazer ile yapılmış, UV-Vis ile oksidasyon takip edilmiş ve sonucunda 70 saniye gibi kısa bir sürede oksidasyonun tamamlandığı gözlemlenmiştir. P(MMA-ko-HEMA) RAFT polimerizasyonu ile sentezlenmiş, NMR ile sentezin başarılı bir şekilde gerçekleştiği gösterilmiştir. GPC ile molekül ağırlığı tayin edilmiş ve $M_n, GPC=19.980$ g/mol, $PDI=1,321$ olarak belirlenmiştir. P(MMA-ko-HEMA)'ya esterifikasyon reaksiyonu ile PPA-dHTz-COOH ve Nb-COOH graft edilmiş ve öncü polimer elde edilmiştir. Öncü polimer, NMR ve FT-IR yöntemleri ile karakterize edilmiş ve başarılı bir şekilde sentezlendiği gösterilmiştir. Öncü polimer kırmızı lazer ile aydınlatılmış, polimer üzerindeki PPA-dHTz'nin oksidasyonu *in situ* olarak gerçekleştirilmiş ve seyreltik koşullarda IEDDA reaksiyonu ile SCNP'ler elde edilmiştir. Öncü polimerin ve SCNP'lerin molekül ağırlıkları GPC ile tayin edilmiş ve beklenildiği üzere SCNP'lerin molekül ağırlıkları öncü polimere göre daha düşük çıkmıştır. Bunun sebebi SCNP'lerin hidrodinamik hacimlerinin azalması ve öncü polimere göre daha kompakt morfolojiye sahip olmalarıdır. SCNP'lerin boyut analizi DLS ile yapılmıştır ve boyutları öncü polimer ile kıyaslandığında daha küçüktür. Öncü polimerin ve SCNP'lerin termal özellikleri DSC ile incelenmiş olup T_g değerleri belirlenmiştir. SCNP'lerin çapraz bağlanması sonucu zincir hareketliliği azaldığından dolayı T_g değerleri öncü polimerden daha yüksektir. SCNP'lerin morfolojik yapıları STEM ile incelenmiş olup küresel yapıya ulaşıldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında, foto-IEDDA reaksiyonu kullanılarak tek zincir polimer nanoparçacıklar başarıyla elde edilmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] **Joudeh, N., and Linke, D.** (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists, *Journal of Nanobiotechnology* 20, 262.
- [2] **Adhikari, C.** (2021). Polymer nanoparticles-preparations, applications and future insights: A concise review, *Polymer-plastics technology and materials* 60, 1996-2024.
- [3] **Pomposo, J. A.** (2014). Bioinspired single-chain polymer nanoparticles, *Polymer international* 63, 589-592.
- [4] **Genc, F., Temel, G., and Temel, B. A.** (2020). Single-chain polymeric nanoparticles using 4-armed star copolymers, *Polymer* 201, 122659.
- [5] **Tasdelen, M. A., and Yagci, Y.** (2013). Light-induced click reactions, *Angewandte Chemie International Edition* 52, 5930-5938.
- [6] **Kara, S. S., Ateş, M. Y., Deveci, G., Cetinkaya, A., and Kahveci, M. U.** (2019). Direct synthesis of tetrazine functionalities on polymer backbones, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 57, 673-680.
- [7] **Bakirdogen, G., Kahveci, E. L. S., and Kahveci, M. U.** (2020). Fast and efficient preparation of three-arm star block copolymers via tetrazine ligation, *European Polymer Journal* 140, 110027.
- [8] **Devaraj, N. K., Weissleder, R., and Hilderbrand, S. A.** (2008). Tetrazine-based cycloadditions: application to pretargeted live cell imaging, *Bioconjugate chemistry* 19, 2297-2299.
- [9] **Barker, I. A., Hall, D. J., Hansell, C. F., Du Prez, F. E., O'Reilly, R. K., and Dove, A. P.** (2011). Tetrazine-norbornene click reactions to functionalize degradable polymers derived from lactide, *Macromolecular rapid communications* 32, 1362-1366.
- [10] **Schoch, J., Wiessler, M., and Jäschke, A.** (2010). Post-synthetic modification of DNA by inverse-electron-demand Diels–Alder reaction, *Journal of the American Chemical Society* 132, 8846-8847.
- [11] **Carthew, J., Frith, J., Forsythe, J., and Truong, V.** (2018). Polyethylene glycol–gelatin hydrogels with tuneable stiffness prepared by horseradish peroxidase-activated tetrazine–norbornene ligation, *Journal of Materials Chemistry B* 6, 1394-1401.
- [12] **Hansell, C. F., Lu, A., Patterson, J. P., and O'Reilly, R. K.** (2014). Exploiting the tetrazine–norbornene reaction for single polymer chain collapse, *Nanoscale* 6, 4102-4107.
- [13] **Ozbek, N., Sahkulubey Kahveci, E. L., and Kahveci, M. U.** (2021). Light-Induced Inverse Electron Demand Diels–Alder Reaction as an Approach for Grafting Macromolecules to Glass Surfaces, *ACS Applied Polymer Materials* 3, 3721-3732.
- [14] **Pomposo, J. A.** (2017). *Single-Chain Polymer Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Simulations, and Applications*, John Wiley & Sons.
- [15] **Khan, I., Saeed, K., and Khan, I.** (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arabian journal of chemistry* 12, 908-931.

- [16] **Al-Douri, Y.** (2022). *Nanomaterials: Basics to Applications*, Springer Nature.
- [17] **Murillo-Tovar, M. A., Saldarriaga-Noreña, H., and Saeid, A.** (2021). Trace Metals in the Environment: New Approaches and Recent Advances.
- [18] **Ealia, S. A. M., and Saravanakumar, M. P.** (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application, In *IOP conference series: materials science and engineering*, p 032019, IOP Publishing.
- [19] **Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., and Bukhari, A.** (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles, *Green Chemistry Letters and Reviews* 13, 223-245.
- [20] **Young, R. J., and Lovell, P. A.** (2011). *Introduction to polymers*, CRC press.
- [21] **Vivaldo-Lima, E., and Saldívar-Guerra, E.** (2013). *Handbook of polymer synthesis, characterization, and processing*, John Wiley & Sons, Incorporated.
- [22] **Macchione, M. A., Bedoya, D. A., Figueroa, F. N., and Strumia, M. C.** (2021). Synthetic and semi-synthetic polymers for pharmaceutical applications, In *Advances and Challenges in Pharmaceutical Technology*, pp 45-73, Elsevier.
- [23] **Saleh, T. A.** (2021). *Polymer Hybrid Materials and Nanocomposites: Fundamentals and Applications*, William Andrew.
- [24] **Khalifeh, S.** (2020). *Polymers in Organic Electronics: Polymer Selection for Electronic, Mechatronic, and Optoelectronic Systems*, Elsevier.
- [25] **Matyjaszewski, K., and Spanswick, J.** (2004). Controlled/living radical polymerization, In *Handbook of Polymer Synthesis*, pp 907-954, CRC Press.
- [26] **Edmondson, S., and Gilbert, M.** (2017). The chemical nature of plastics polymerization, In *Brydson's Plastics Materials*, pp 19-37, Elsevier.
- [27] **Narain, R.** (2020). *Polymer science and nanotechnology: fundamentals and applications*, Elsevier.
- [28] **Reyes-Ortega, F.** (2014). pH-responsive polymers: properties, synthesis and applications, In *Smart polymers and their applications*, pp 45-92, Elsevier.
- [29] **McCormick, C. L., and Lowe, A. B.** (2004). Aqueous RAFT polymerization: recent developments in synthesis of functional water-soluble (co) polymers with controlled structures, *Accounts of chemical research* 37, 312-325.
- [30] **Hill, M. R., Carmean, R. N., and Sumerlin, B. S.** (2015). Expanding the scope of RAFT polymerization: recent advances and new horizons, *Macromolecules* 48, 5459-5469.
- [31] **Tian, X., Ding, J., Zhang, B., Qiu, F., Zhuang, X., and Chen, Y.** (2018). Recent advances in RAFT polymerization: Novel initiation mechanisms and optoelectronic applications, *Polymers* 10, 318.
- [32] **Rizzardo, E., Chen, M., Chong, B., Moad, G., Skidmore, M., and Thang, S. H.** (2007). RAFT polymerization: Adding to the picture, In *Macromolecular symposia*, pp 104-116, Wiley Online Library.
- [33] **Boyer, C., Bulmus, V., Davis, T. P., Ladmira, V., Liu, J., and Perrier, S.** (2009). Bioapplications of RAFT polymerization, *Chemical reviews* 109, 5402-5436.
- [34] **Baghaban-Eslaminejad, M., Oryan, A., Kamali, A., and Moshiri, A.** (2017). The role of nanomedicine, nanotechnology, and nanostructures on oral bone healing, modeling, and remodeling, In *Nanostructures for Oral Medicine*, pp 777-832, Elsevier.
- [35] **Sardoiwala, M. N., Kaundal, B., and Choudhury, S. R.** (2018). Development of engineered nanoparticles expediting diagnostic and therapeutic applications

across blood–brain barrier, *Handbook of nanomaterials for industrial applications*, 696-709.

- [36] **Klinkova, A., and Thérien-Aubin, H.** (2023). *Nanochemistry: Chemistry of Nanoparticle Formation and Interactions*, Elsevier.
- [37] **Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., Durazzo, A., Lucarini, M., Eder, P., and Silva, A. M.** (2020). Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology, *Molecules* 25, 3731.
- [38] **Ramapanicker, R., and Chauhan, P.** (2016). Click chemistry: mechanistic and synthetic perspectives, *Click Reactions in Organic Synthesis*, 1-24.
- [39] **Kolb, H. C., Finn, M., and Sharpless, K. B.** (2001). Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions, *Angewandte Chemie International Edition* 40, 2004-2021.
- [40] **Knall, A.-C., and Slugovc, C.** (2013). Inverse electron demand Diels–Alder (iEDDA)-initiated conjugation: a (high) potential click chemistry scheme, *Chemical Society Reviews* 42, 5131-5142.
- [41] **Tasdelen, M. A.** (2011). Diels–Alder “click” reactions: recent applications in polymer and material science, *Polymer Chemistry* 2, 2133-2145.
- [42] **Oliveira, B., Guo, Z., and Bernardes, G.** (2017). Inverse electron demand Diels–Alder reactions in chemical biology, *Chemical Society Reviews* 46, 4895-4950.
- [43] **Kang, K., Park, J., and Kim, E.** (2016). Tetrazine ligation for chemical proteomics, *Proteome Science* 15, 1-13.
- [44] **Zheng, M., Zheng, L., Zhang, P., Li, J., and Zhang, Y.** (2015). Development of bioorthogonal reactions and their applications in bioconjugation, *Molecules* 20, 3190-3205.
- [45] **Selvaraj, R., and Fox, J. M.** (2014). An efficient and mild oxidant for the synthesis of s-tetrazines, *Tetrahedron Letters* 55, 4795-4797.
- [46] **Png, Z. M., Zeng, H., Ye, Q., and Xu, J.** (2017). Inverse-Electron-Demand Diels–Alder Reactions: Principles and Applications, *Chemistry–An Asian Journal* 12, 2142-2159.
- [47] **Truong, V. X., Tsang, K. M., Ercole, F., and Forsythe, J. S.** (2017). Red Light Activation of Tetrazine–Norbornene Conjugation for Bioorthogonal Polymer Cross-Linking across Tissue, *Chemistry of Materials* 29, 3678-3685.
- [48] **Huo, M., Wang, N., Fang, T., Sun, M., Wei, Y., and Yuan, J.** (2015). Single-chain polymer nanoparticles: Mimic the proteins, *Polymer* 66, A11-A21.
- [49] **Burgos, M. G.** (2017). Single-chain nanoparticles: exploring novel synthesis routes, basic properties and potential applications, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea.
- [50] **Alkan, B., Daglar, O., Temel, B. A., Durmaz, H., and Temel, G.** (2022). Rapid synthesis of polyester based single-chain polymeric nanoparticles via an intramolecular aza-Michael addition reaction, *Polymer Chemistry* 13, 2442-2449.
- [51] **Aiertza, M. K., Odriozola, I., Cabañero, G., Grande, H.-J., and Loinaz, I.** (2012). Single-chain polymer nanoparticles, *Cellular and Molecular Life Sciences* 69, 337-346.
- [52] **Alqarni, M. A., Waldron, C., Yilmaz, G., and Becer, C. R.** (2021). Synthetic Routes to Single Chain Polymer Nanoparticles (SCNPs): Current Status and Perspectives, *Macromolecular Rapid Communications* 42, 2100035.

- [53] **Kröger, A. P. P., and Paulusse, J. M.** (2018). Single-chain polymer nanoparticles in controlled drug delivery and targeted imaging, *Journal of controlled release* 286, 326-347.
- [54] **Cheng, C.-C., Huang, S.-Y., Fan, W.-L., Lee, A.-W., Chiu, C.-W., Lee, D.-J., and Lai, J.-Y.** (2020). Water-soluble single-chain polymeric nanoparticles for highly selective cancer chemotherapy, *ACS Applied Polymer Materials* 3, 474-484.
- [55] **Benito, A. B., Aiertza, M. K., Marradi, M., Gil-Iceta, L., Shekhter Zahavi, T., Szczupak, B., Jiménez-González, M., Reese, T., Scanziani, E., and Passoni, L.** (2016). Functional single-chain polymer nanoparticles: targeting and imaging pancreatic tumors in vivo, *Biomacromolecules* 17, 3213-3221.
- [56] **Liu, Y., Pujals, S., Stals, P. J., Paulöhr, T., Presolski, S. I., Meijer, E., Albertazzi, L., and Palmans, A. R.** (2018). Catalytically active single-chain polymeric nanoparticles: exploring their functions in complex biological media, *Journal of the American Chemical Society* 140, 3423-3433.
- [57] **Latorre-Sanchez, A., and Pomposo, J. A.** (2015). A simple, fast and highly sensitive colorimetric detection of zein in aqueous ethanol via zein–pyridine–gold interactions, *Chemical Communications* 51, 15736-15738.
- [58] **Zhang, H., Trout, W. S., Liu, S., Andrade, G. A., Hudson, D. A., Scinto, S. L., Dicker, K. T., Li, Y., Lazowski, N., and Rosenthal, J.** (2016). Rapid bioorthogonal chemistry turn-on through enzymatic or long wavelength photocatalytic activation of tetrazine ligation, *Journal of the American Chemical Society* 138, 5978-5983.
- [59] **Islam, M. R., Bach, L. G., Park, J. M., Hong, S. S., and Lim, K. T.** (2013). Synthesis and characterization of poly (HEMA-co-MMA)-g-POSS nanocomposites by combination of reversible addition fragmentation chain transfer polymerization and click chemistry, *Journal of applied polymer science* 127, 1569-1577.
- [60] **Dashan, I., Balta, D. K., Temel, B. A., and Temel, G.** (2019). Preparation of single chain nanoparticles via photoinduced radical coupling process, *European Polymer Journal* 113, 183-191.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Adalet Nur ALTUNKAYA

ÖĞRENİM DURUMU

- **Lisans** : 2020, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2024, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü

DENEYİM

- **Mart 2024 – Halen** : Araştırma Görevlisi, İstanbul Üniversitesi, Fen-Fakültesi, Kimya Bölümü, Fizikokimya Anabilim Dalı

TEZDEN TÜRETİLEN SUNUMLAR

- **Altunkaya, A.N.,** Temel, B., Kahveci, M.U. “Fabrication of Single-Chain Polymer Nanoparticles by Light-Induced Inverse Electron Demand Diels-Alder (Photo-IEDDA) Reaction”, 2023. *19th Asian Chemical Congress* İstanbul, Turkey, 09-14 July 2023.

DİĞER YAYINLAR VE SUNUMLAR

- Yahsi, A. Y., Uzun, H., **Altunkaya, A. N.**, Unalkizilirmak, A., Tulu, M., Tav, C., & Yahsi, U. (2024). Free-Volume analysis of PAMAM dendrimers by means of positron annihilation lifetime spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 1302, 137527.
- Cakir, N.T., Altinkok C., **Altunkaya, A.N.**, Kahveci, M.U. “Development of Thermoresponsive Glycopolymer Based Drug Carriers with Cancer Cell Tageting Ability”, 2023. *19th Asian Chemical Congress* İstanbul, Turkey, 09-14 July 2023.