

**POLİ(ALLİL GUANİDİN.HCl)'ÜN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY(ALLYL
GUANIDINE.HCl) AND INVESTIGATION OF ITS
ANTIMICROBIAL PROPERTY**

UFUK YILDIZ

PROF. DR. OLGUN GÜVEN

TEZ DANIŞMANI

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin

KİMYA Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

UFUK YILDIZ'ın hazırladığı '**Poli(allil guanidin.HCl)**'ün sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal özelliğinin incelenmesi' adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Prof.Dr. Olgun Güven

Üye

Prof. Dr. Meral Özalp

Üye

Prof Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu

Üye

Prof.Dr. Günay Kibarer

Üye

Prof. Dr. Dilek Şolpan Özbay

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof.Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Gezi'ye

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

28/08/2013

Ufuk YILDIZ

ÖZET

POLİ(ALLİL GUANİDİN.HCl)'ÜN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞİNİN İNCELENMESİ

UFUK YILDIZ

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. OLGUN GÜVEN

Ağustos 2013, 74 sayfa

Bakterilerin ve mantarların varlığı medikal cihazlar, ilaçlar, su saflaştırma sistemleri, ameliyat gereçleri, tekstil ve gıda ambalajları gibi konularda en ciddi problemlerden biridir. Küçük molekül ağırlıklı, antimikrobiyal özelliğe sahip moleküllerin toksik etkiye, kısa süreli antibakteriyel özelliğe sahip olmaları gibi dezavantajları vardır. Bu nedenle küçük molekül ağırlığına sahip antibakteriyel ajanların polimerlere fonksiyonel grup olarak eklenmesiyle hem toksik etkilerden kurtulmak hem de uzun süreli etkinlik hedeflenmiştir. Bakteriler antibakteriyel maddelere karşı direnç geliştirebildikleri için bu amaçlara yönelik yeni antibakteriyel maddelerin sentezi güncel ve gelişime açık çalışmalardır.

Bu çalışmada poli(allilamin hidroklorür) (PAIAm), farklı oranlarda (1:1,2, 1:1,8, 1:2,6, 1:5,2) siyanamid ile amin grubu üzerinden modifiye edilerek farklı dönüşüm yüzdelerine sahip poli(allilguanidin hidroklorür) (PAIG) elde edilmiştir. Elementel analiz ile belirlenen %N değerleri üzerinden dönüşüm oranları %45, 71, 98 ve 121 olarak hesaplanmıştır. Bu dönüşüm oranlarına sahip PAIG yapıları sırasıyla PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 olarak adlandırılmıştır.

Elde edilen yapılar FT-IR, FT-Raman, ¹H NMR, ¹³C NMR teknikleri ile karakterize edilmiştir. Yapılan spektroskopik analizlerle PAIAm'ün PAIG'e dönüşümü gösterilmiştir. FT-IR ve FT-Raman analizlerinde 1760, 1705 cm⁻¹ de sırasıyla

gözlenen $-C(NH)_2^+Cl^-$, $C=N$, bağlarına ait bantlar ve PAIG yapılarına ait FT-IR spektrumlarında 1150 cm^{-1} de gözlenen C-N-C bağına ait bant yapının guanidinleştirildiğini göstermektedir. *d*-DMSO ile yapılan 1H -NMR analizlerinde guanidin yapısındaki birincil ve ikincil amin ile imin protonlarının dönüşümle değişimi gözlenmiştir. PAIAm yapısındaki birincil amin protonlarının artan dönüşümle azaldığı, PAIG4 spektrumunda ise tamamen kaybolduğu gözlenmiştir. ^{13}C -NMR spektrumlarında guanidin karbonundan kaynaklanan pik 160 ppm civarında gözlenmiştir.

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 yapıları için çözeltiliye geçen serbest klor iyonlarının miktarı klor elektrodu ile bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre 1 mg/mL polimer çözeltililerindeki serbest klor miktarları PAIAm için yaklaşık %10 iken PAIG yapıları için yaklaşık üç kat artış göstererek PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için sırasıyla %27,3, 27,9, 29 ve 31,8 olarak bulunmuştur. PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için artan guanidin dönüşüm oranının polimerin çözelti içerisindeki davranışları üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemi kullanılmıştır. PAIG1, PAIG2 ve PAIG3 için küçük yumak boyutlarının dönüşümle arttığı PAIG4 için ise azaldığı gözlenmiştir. Polimer zincirlerinin taşıdığı yükün yumak yapısına olan etkisini görmek amacıyla PAIAm, PAIG1 ve PAIG4 için zeta potansiyelleri ölçülmüştür. PAIAm için $18,6\text{ mV}$ olarak ölçülen zeta potansiyeli PAIG1 ve PAIG4 için sırasıyla $45,8$ ve $23,7$ olarak ölçülmüştür. PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 yapılarının termal kararlılıkları termogravimetrik analiz (TGA) ile belirlenmiştir. PAIG yapılarına ait termogramlar incelendiğinde ilk basamakta hem başlangıç sıcaklığında hem de kütle kaybında düşmeler gözlenmiştir. Bu durumun, artan guanidin gruplarıyla birlikte yapının hidrofobik karakterinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizlerinde PAIAm için $222\text{ }^\circ\text{C}$ olarak belirlenen camsı geçiş sıcaklığı, (T_g), PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için sırasıyla 194 , 196 , 199 ve $200\text{ }^\circ\text{C}$ olarak bulunmuştur.

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için yapılan minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) çalışmalarında PAIAm'ün polimerik yapılar arasında en yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. PAIG yapılarında ise etkinliğin artan dönüşüm ile azaldığı gözlenmiştir. Bakteriyel tutunma çalışmalarında polimerlerin MİK belirleme çalışmasında alınan sonuçlardan farklı davranış gösterdiği gözlenmiştir. MİK sonuçlarında *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*) bakterisine

karşı PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için alınan sonuçlar sırasıyla 4, 16, 32, >1024, >1024 µg/mL iken nitroselüloz yüzeyine uygulandıklarında oluşan koloni sayıları kontrol grubuna göre logaritmik olarak PAIAm, PAIG3 ve PAIG4 için yaklaşık olarak 2,2 kat PAIG2 için 2,3 kat PAIG1 için ise 5,4 kat azalmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal polimerler, Guanidin, Polimer modifikasyonu.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY(ALLYL GUANIDINE.HCl) AND INVESTIGATION OF ITS ANTIMICROBIAL PROPERTY

UFUK YILDIZ

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. OLGUN GÜVEN

August 2013, 74 pages

Presence of bacteria and fungi is one of the main problems encountered in the field of pharmaceuticals, medical devices, water refinement systems, surgery equipment, textile or food packaging. Compounds with low molecular weight having antimicrobial properties have disadvantages such as toxicity and short term antibacterial behaviour. For this reason, avoiding the toxicity and long term antibacterial behaviour are targeted by the addition of low molecular weight antibacterial agents to polymers. Because the bacteria have the ability to develop resistance against antibacterial compounds, it is an open area for research and synthesis of new antibacterial compounds.

In this work, poly(allylamine hydrochloride) (PAIAm) was modified over its amine group with different equivalents of cyanamide (1:1.2, 1:1.8, 1:2.6, 1:5.2), and poly(allylguanidine hydrochloride) (PAIG) was obtained at different percent conversions. N% values were obtained by elemental analysis and conversion ratio calculated as 45, 71, 98 and 121% for the compounds PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4, respectively.

Synthesized compounds were also characterized by using FT-IR, FT-Raman, ¹H NMR and ¹³C NMR techniques. Results show that PAIAm was converted to PAIG.

Bands at 1760 and 1705 cm^{-1} in FT-IR and FT-Raman spectra belongs to $-\text{C}(\text{NH})_2^+\text{Cl}^-$ and $\text{C}=\text{N}$ bonds and the band at 1150 cm^{-1} in the FT-IR spectrum belongs to $\text{C}-\text{N}-\text{C}$ bond. These bands show the conversion to guanidine structure. ^1H NMR analysis in *d*-DMSO show that the conversion of the protons of primary and secondary amine and the protons of imine within guanidine structure. According to these results, peak intensity of protons of primary amine in PAIAm structure was decreased by increased conversion as the peak intensity of protons of PAIG4 disappeared. Peaks due to guanidine carbons were observed at 160 ppm.

Measurements of free chloride ion amount in PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 solutions were achieved using Chloride Electrode. Results showed that, 1mg/mL of polymer solution of PAIAm has approximately 10% of free chloride ion. PAIG structures have shown nearly a three-fold increase and amounts were recorded as 27.3, 27.9, 29.0 and 31.8 for PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4, respectively.

Dynamic Light Scattering (DLS) method was used to investigate the effect of increased conversion ratio of guanidine on polymer behavior in solutions of PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, and PAIG4. Size of small coils increased with conversion for PAIG1, PAIG2 and PAIG3 while decreasing for PAIG4. Zeta potentials were measured to understand the effect of charge on polymer chains to coil structure. Zeta potentials were recorded as 18.6, 45.8 and 23.7 mV for PAIAm, PAIG1 and PAIG4, respectively.

Thermal stabilities of PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 structures were determined using thermogravimetric analysis (TGA) method. PAIG thermograms showed that first step includes decrease in both the mass and the initial temperature. It is thought that, this result is due to the increase in the hydrophobic character of PAIG structure as the number of guanidine groups increased. Differential Scattering Calorimetry (DSC) analysis showed that, glass transition temperature (T_g) for PAIAm is 222 °C and 194, 196, 199 and 200 °C for PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4, respectively. According to the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) studies for PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4, the maximum effectiveness was determined for PAIAm among the structures. In addition, effectiveness in PAIG structures decreased as the conversion increased. Furthermore, adherence study results showed that polymers have different

behaviours in contrast to the MIC studies. According to MIC results, 4, 16, 32, >1024, >1024 $\mu\text{g/mL}$ measurements on *S. Aureus* were recorded for PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 and PAIG4, respectively. On the nitrocellulose surface in contrast, number of colonies formed were decreased ~ 2.2 -fold for PAIAm, PAIG3 and PAIG4, ~ 2.3 -fold for PAIG2 and ~ 5.4 -fold for PAIG1 logarithmically.

Keywords: Antimicrobial polymers, guanidine, modification of polymer.

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca tüm bilgi birikimi, tecrübesi ve desteğiyle yanımda olan, hem akademik hayatı, hem de hayat felsefesi ile örnek aldığım Deđerli Hocam, Sayın Prof. Dr. Olgun GÜVEN'e bana kazandırdığı her şey için sonsuz teşekkür ediyorum.

Antimikrobiyal çalışmalar için laboratuvarlarında çalışma imkânı sağlayan, güler yüzü ile verdiği destek için H. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Meral Özalp'e ve bu çalışmalar sırasında yoğun emek harcayan Yrd. Doç. Dr. Melike Ekizođlu'na sonsuz teşekkür ediyorum.

Polimer Kimyası Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat Ően'e tüm desteği ve katkıları için teşekkür ediyorum.

Başta Ayőe Bakar Atıcı, Ali Eren Atıcı, S. Duygu Işık Sütekin, Seda Çınar, Gökçe Kılıç, Fulya Özmen Atılgan, Feyza Genç Kıraç, Meshude Akbulut Söylemez olmak üzere diğer tüm çalışma arkadaşlarım ve polimer grubu üyelerine katkılarından dolayı teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca her an yanımda olan, eğitim hayatım boyunca maddi, manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bana duydukları güvenle her konuda beni cesaretlendiren ve yol gösteren canım anneme, babama ve kardeőime tüm fedakârlıkları için sonsuz teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

İTHAF	ii
ETİK	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	x
İÇİNDEKİLER	xi
ÇİZELGELER.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
1.GİRİŞ	1
2.ANTİMİKROBİYAL AJANLAR	3
2.1. Küçük molekül ağırlıklı inorganik ve organik antimikrobiyal ajanlar	3
2.2 Yüksek molekül ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar	4
2.3. Sentetik Antimikrobiyal Polimerler	5
3. ANTİMİKROBİYAL ETKİ MEKANİZMASI	10
4. ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	12
4.1. Molekül ağırlığının etkisi	12
4.2. Karşıt iyon etkisi	12
4.3. Aktif grubun polimer zincirine uzaklığı ve alkil zincirinin etkisi	13
5. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ	15
5.1. Besiyeri Dilüsyon Yöntemi	15
5.2. Antimikrobiyal Gradyan Yöntemi	16
5.3. Disk Difüzyon Yöntemi	17
5.4. Otomatik Enstrüman Sistemleri	17
5.5. Duyarlılık Testlerinin Yorumlanması	18
6. ANTİMİKROBİYAL POLİMERLERİN BAŞLICA KULLANIM ALANLARI	19
6.1. Su arıtma	19
6.2. Tıp ve Sağlık Bakım Ürünleri	20
6.3. Gıda Uygulamaları	21
6.4. Tekstil Ürünleri	23
7. DENEYSEL TEKNİKLER	25
7.1. Kimyasallar	25
7.2. Poli(allil guanidin hidroklorür)'ün Sentezi	25

7.3. Polimerlerin Yapısal Karakterizasyonu.....	26
7.3.1. FT-IR Spektroskopisi	26
7.3.2. FT-Raman Spektroskopisi	26
7.3.3. NMR spektroskopisi	26
7.3.4. Elementel Analiz	26
7.4. Polimerlerin Çözelti Davranışlarının İncelenmesi.....	26
7.4.1. Klor Elektrot	26
7.4.2. Dinamik Işık Saçılımı	27
7.5. Polimerlerin Termal Karakterizasyonu	27
7.5.1. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	27
7.5.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)	27
7.6. Polimerlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi.....	27
7.6.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu	27
7.6.2. Bakteriyel Tutunma Testi	28
8. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	29
8.1. Poli(allilguanidin hidroklorür)'ün Sentezi	29
8.2. Polimerlerin Yapısal Karakterizasyonu.....	30
8.2.1. FT-IR Spektroskopisi	30
8.2.2. FT-Raman Spektroskopisi	32
8.2.3. NMR spektroskopisi	35
8.3. Polimerlerin Çözelti Davranışlarının İncelenmesi.....	40
8.3.1. Klor Elektrodu ile Çalışma.....	40
8.3.2. Dinamik Işık Saçılımı	42
8.3.3. Zeta Potansiyeli	48
8.4. Polimerlerin Termal Karakterizasyonu	51
8.4.1. Termogravimetrik Analiz	51
8.4.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	55
8.5. Polimerlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi.....	56
8.5.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerinin Bulunması	56
8.5.2. Bakteriyel Tutunma Testi	59
9. SONUÇLAR.....	61
10. KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel yapısı	4
Şekil 2.2: (a) poli(N-asetil-β-d-glukozamin), (b) poli(d-glukozamin), (c) kısmi deasetillenmiş kitosan	5
Şekil 2.3: Trifenilfosfin ile kuaternize edilmiş çapraz bağlı kopolimer.....	6
Şekil 2.4: Polimerik taşıyıcı ve ampisilinin bağlanma reaksiyonu	6
Şekil 2.5: Poli(N-vinil guanidin)'in sentezi	7
Şekil 2.6: AMBS ve MMBS sentezi.....	8
Şekil 2.7: SMPM'nin yapısı]	9
Şekil 3.1: Guanidin polimeri için sentez şeması.....	10
Şekil 3.2: Farklı derişimlerde guanidin polimeri ile etkileştirilen <i>E. coli</i> 'nin morfolojisi	11
Şekil 4.1: Tributyl 4-vinilbenzil fosfonyumklorür monomeri	13
Şekil 4.2: 2-(3-akrilamidopropildimetilamonyum)etanoat (APDMAE) ile floroalkanoil peroksitlerin reaksiyonu.....	14
Şekil 5.1: Tek kullanımlık 96 kuyulu mikrodilüsyon plağı	15
Şekil 5.2: Mueller-Hinton besiyerinde üretilmiş <i>S. aureus</i> 'a karşı vancomisin(VA), Daptomisin(DM) ve Linezolit (LZ) içeren şetirlerin gradyan yöntemi ile uygulanması	16
Şekil 5.3: İdrar kültüründe izole edilmiş <i>E. coli</i> 'ye karşı disk difüzyon yönteminin uygulanması	17
Şekil 6.1: Su arıtma kartuş diyagramı.....	19
Şekil 6.2: Çeşitli dozların uygulanmasıyla kandaki ilaç derişimleri: (a) ağız yoluyla alınan standart doz; (b) ağız yoluyla alınan aşırı doz; (c) damar içine enjeksiyon; (d) kontrollü salım sistemi.....	21
Şekil 6.3: PVA ile elde edilen geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğe sahip yapının hazırlanışı	24
Şekil 7.1: a) poli(allilamin hidroklorür) b) siyanamid.....	25
Şekil 8.1: PAIG sentez mekanizması	29
Şekil 8.2: Allilik monomerlerde degradatif zincir transferi	30

Şekil 8.3: Polimerlerin FT-IR spektrumları a)PAIAm, b)PAIG1, c)PAIG2, d)PAIG3, e)PAIG4.....	31
Şekil 8.4: Polimerlere ait Raman spektrumları a) PAIAm, b) PAIG1, c) PAIG2, d) PAIG3, e) PAIG4	32
Şekil 8.5: Raman spektrumunda 1705 cm^{-1} C=N/ 1450 cm^{-1} C-H bantları	34
Şekil 8.6: Polimerlere ait $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de $^1\text{H-NMR}$ spektrumları a) PAIAm, b) PAIG1, c) PAIG2, d) PAIG3, e) PAIG4	35
Şekil 8.7: PAIAm ve PAIG yapıları	35
Şekil 8.8: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de D_2O ile alınan PAIAm (a), PAIG1 (b) $^1\text{H-NMR}$ spektrumları ..	36
Şekil 8.9: PAIAm ve PAIG yapıları	37
Şekil 8.10: <i>d</i> -DMSO ile alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumları (5-10 ppm arası) (a) PAIG1, (b) PAIG2, (c) PAIG3, (d) PAIG4	38
Şekil 8.11: (a) PAIAm, (b) PAIG1 (D_2O içerisinde), (c) PAIG2, (d) PAIG3, (e) PAIG4 (<i>d</i> -DMSO içerisinde) $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları	39
Şekil 8.12: Klor elektrodu için kalibrasyon eğrisi.....	40
Şekil 8.13: Çözeltide polimer derişimi ile değişen klor oranları	41
Şekil 8.14: 1 mg/mL PAIAm çözeltisinin DLS analizi	42
Şekil 8.15: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisinin DLS analizi	43
Şekil 8.16: 1 mg/mL PAIG2 çözeltisinin DLS analizi	44
Şekil 8.17: 1 mg/mL PAIG3 çözeltisinin DLS analizi	45
Şekil 8.18: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisinin DLS analizi	46
Şekil 8.19: Polimer dönüşümleri ve yumak boyutları arasındaki ilişki	47
Şekil 8.20: PAIAm çözeltisi için zeta-potansiyel analizi.....	48
Şekil 8.21: PAIG1 çözeltisi için zeta-potansiyel analizi	49
Şekil 8.22: PAIG4 çözeltisi için zeta-potansiyel analizi	50
Şekil 8.23: PAIAm'e ait TGA termogramı.....	51
Şekil 8.24: PAIG1' e ait TGA termogramı	52
Şekil 8.25: PAIG2' ye ait TGA termogramı.....	52
Şekil 8.26: PAIG3'e ait TGA termogramı	53

Şekil 8.27: PAIG4'e ait TGA termogramı	54
Şekil 8.28: PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için dönüşümle değişen nem yüzdeleri	54
Şekil 8.29: PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için DSC termogramları	55
Şekil 8.30: a) ergosterol b)kolesterol	57
Şekil 8.31: Ergosterolün biyolojik sentez basamakları	58

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1: Antimikrobiyal ajanların sınıflandırılması	3
Çizelge 2.2: PVAm, PVG ve klorheksidin dihidroklorür yapılarının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri	8
Çizelge 6.1: Su arıtma kartuşundan geçen su içerisindeki bakteri sayısı	20
Çizelge 6.2: Gıda paketlerinde kullanılabilen polimerler ve sahip oldukları fonksiyonel gruplar	23
Çizelge 8.1: Elementel analiz sonuçları	29
Çizelge 8.2: Yapıların içerdikleri azot ve hesaplanan dönüşüm yüzdeleri	29
Çizelge 8.3: PAIAm'a ait spesifik bantların dalga sayıları	31
Çizelge 8.4: PAIG'e ait spesifik bantların dalga sayıları	32
Çizelge 8.5: PAIAm'a ait spesifik bantlar için Raman Kaymaları	33
Çizelge 8.6: PAIG'de bazı spesifik gruplara ait Raman kaymaları	34
Çizelge 8.7: Polimer yapısından çözeltiye geçen klor oranları	41
Çizelge 8.8: 1 mg/mL PAIAm çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı	42
Çizelge 8.9: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı	43
Çizelge 8.10: 1 mg/mL PAIG2 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı	44
Çizelge 8.11: 1 mg/mL PAIG3 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı	45
Çizelge 8.12: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı	46
Çizelge 8.13: 1 mg/mL PAIAm çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı	48
Çizelge 8.14: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı	49
Çizelge 8.15: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı	50
Çizelge 8.16: Polimerlere ait MİK değerleri	56
Çizelge 8.17: Nitroselüloz yüzeyinden alınan bakterilerin TSA'da oluşturduğu koloni sayıları	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

nm	nanometre
mV	Mili-volt
δ	Bükülme titreşimi
ν	Gerilme titreşimi
Da	Dalton

Kısaltmalar

PAIAm	Poli(allil amin hidroklorür)
PAIG	Poli(allil guanidin hidroklorür)
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
FT-IR	Frouier dönüşümlü infrared
NMR	Nükleer manyetik rezonans
TGA	Termogravimetrik analiz
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
DLS	Dinamik ışık saçılması
MIC	Minimum inhibitory concentration
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
cfu	colony forming unit
CLSI	Klinik ve laboratuar standartları enstitüsü
<i>d</i> -DMSO	Dötero-Dimetil sülfoksit

1. GİRİŞ

Mikrobiyal kontaminasyon özellikle tıbbi cihazlar, ilaçlar, hijyen uygulamaları, su saflaştırma sistemleri, cerrahi aletler, tekstil ürünleri, yiyeceklerin paketlenmesi ve depolanması gibi alanlarda ciddi sorunlar oluşturmaktadır [1]. Antimikrobiyal ajanlar bu tür hastalık yapıcı mikroorganizmaları yok etme özelliğine sahiptir [2]. Bitkiler, hayvanlar hatta mikropların kendisi patojenleri uzak tutmak için çeşitli mekanizmalar geliştirebilmektedir [3]. Fakat insanlarda bu sistem etkili olarak çalışmamaktadır. Bu durum mikrobiyal bulaşmayı dünyanın bir numaralı ölüm nedeni yapmaktadır ve bu durumun tedavisi dirençli bakteri sayısının kullanılabilir antibiyotik sayısından daha hızlı artması nedeniyle her geçen gün daha da zorlaşmaktadır [4, 5].

Modern “antibiyotik çağ”ın başlangıcı genellikle Paul Ehrlich ve Alexander Fleming adları ile anılır. Ehrlich; seçici olarak sadece hastalığa neden olan mikroorganizmayı etkileyecek, konak hücreyi ise etkilemeyecek kimyasal bir bileşik sentezleme düşüncesi ile yola çıkarak kimyager Alfred Bertheim ve bakteriyolog Sahachiro Hata ile birlikte elde ettiği “Salvarsan” adını verdikleri organoarsenik türevi ile 1909 yılında sifilisi tedavi etmeyi başararak modern antibiyotik çağının başlamasını sağlamıştır [6].

1928 yılında A. Fleming tesadüfen penisilini keşfetmiş [7], saflaştırmak ve kararlı hale getirmek için 12 yıl çalıştıktan sonra başarılı olamayınca bu çalışmadan vazgeçmiştir. Fakat aynı yıl Oxford Üniversitesi’nden Howard Florey ve Ernst Chain tarafından klinik testler için yeterli miktarda penisilinin saflaştırma yöntemi yayımlanmıştır [8].

Bu antimikrobiyallerin keşfi gelecekteki araştırmalar için paradigmaların belirlenmesinde örnek oluşturmuştur. 1950-1970 yılları arası yeni antibiyotik sınıflarının keşfi açısından altın çağ olmuştur ve o zamandan günümüze yeni bir sınıf keşfedilememiştir. Keşif hızındaki azalma ile genel yaklaşım ortaya çıkan dirençli patojenlerle mücadele için var olan antibiyotiklerin modifikasyonu olmuştur [9].

Küçük molekül ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar keşiflerinden bu yana ilaçlardan, yiyeceklerin korunmasına kadar çok geniş alanda kullanılmıştır. Fakat bu ajanların atık toksisitesi nedeniyle kullanımında sınırlamalar mevcuttur [10, 11]. Pek çok plastik malzeme ısı ya da iyonlaştırıcı radyasyon ile de sterilize edilir [12]. Fakat bu malzemelere, atmosferle temas ettiklerinde yeniden bakteri, mantar gibi

mikroorganizmalar bulaşabilir. Bu sorunları aşmak için antimikrobiyal polimerler başarılı bir çözüm sunabilir. Antimikrobiyal polimerlerin kullanımı var olan bazı antimikrobiyal ajanların etkinliğini, seçiciliğini ve kullanım süresini arttırırken, bunlardan kaynaklanan atık toksisitesini azaltarak çevresel problemleri en aza indirir. Ayrıca polimerik antimikrobiyal ajanlar uçucu olmayan, kimyasal olarak kararlı yapılardır ve boyutları nedeniyle deri içine geçemezler. Bu nedenle buharlaşma, fotolitik bozunma ve taşınma ile ilgili kayıplar azaltılabilir. Biyomedikal polimerler; özellikle daha yaygın kullanılan implantlar için biyomalzemelerle ilgili enfeksiyonlar önemli bir sorun teşkil etmektedir [13-17]. Antimikrobiyal polimerler bu gibi vakaların azaltılmasında önemli rol oynamaktadır. Yavaş bir şekilde antibiyotik salımı gerçekleştiren polimerik kateter enfeksiyona maruz kalmış pek çok hastanın hayatını kurtarmaktadır. Ayrıca antimikrobiyal polimerler kalp pili gibi kalıcı implantların yüzeyinde ya da etrafında bakteri üremesini de engellemektedir [1].

T. A. Hatton ve grubu tarafından monomeri olmayan bu nedenle poli(N-vinilformamid)'in hidrolizi ile elde edilebilen poli(N-vinilamin)'in guanidinleştirilmesi ile sentezlenen Poli(N-vinilguanidin)'in antimikrobiyal açıdan oldukça etkin olduğu görülmüştür [18]. Bu nedenle, bu tez çalışmasında; ticari olarak bulunan, allil karbonu nedeniyle hidrofobik grup bakımından daha zengin olan poli(allilamin hidroklorür)'ün farklı oranlarda siyanamid kullanılarak farklı dönüşüm oranlarında elde edilen poli(allil guanidin hidroklorür)'ün antimikrobiyal açıdan etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. ANTİMİKROBİYAL AJANLAR

Antimikrobiyal ajanlar etki biçimlerine göre Çizelge 2.1'de görüldüğü gibi sınıflandırılırlar [19].

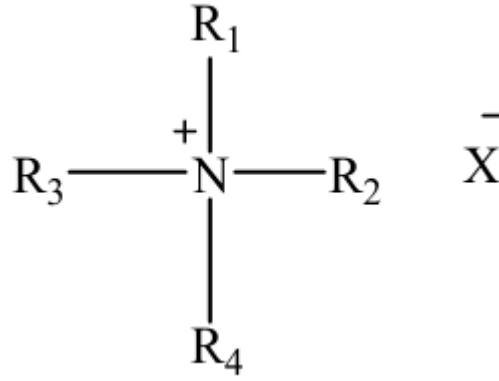
Çizelge 2.1: Antimikrobiyal ajanların sınıflandırılması [19]

Terim	Tanım
Antibiyotik	Mikroorganizmaların çoğalmasını önleyen veya ölmesini sağlayan sentetik veya doğal kimyasal madde
Bakteriyostatik madde	Bakterileri öldürmeyen sadece çoğalmasını önleyen ajan
Sanitize edici ajan	Mikroorganizma sayısını güvenli olarak belirlenen değere indiren ajan, genellikle nesnelere kullanılır
Antiseptik	Canlı dokularda bakteri çoğalmasını önleyen madde
Dezenfektan	Enfeksiyondan arındırmak için kullanılır, genellikle kimyasal maddelerdir fakat UV ışığı gibi fiziksel uygulamasıda olabilir.
Sterilan	Mikroorganizmaların tamamının arındırılması yöntemidir.

2.1. Küçük molekül ağırlıklı inorganik ve organik antimikrobiyal ajanlar

Metaller antimikrobiyal özellikleri bilinen malzemelerdir ve iyonik haldeki antifungal özelliklerine göre etkinlik sıralamaları şu şekildedir; Ag>Hg>Cu>Cd>Cr>Ni>Pb>Co>Zn>Fe>Ca [20]. Gümüş bileşiklerinin ve gümüş iyonunun polimerler ile birlikte hava ve su filtrelerinde, gıda ambalaj paketlerinde, yara örtülerinde kullanımı yaygındır. Fakat gümüşün fazlası sağlık açısından tehdit oluşturur. Örneğin gümüş ile kararlılığı sağlanmış sitrat ve poli(vinilpirolidon) nanoparçacıkları suda yavaşça çözünerek gümüş iyonu salımı gerçekleştirir. Bu gümüş iyonları DNA ile etkileşerek çoğalmasını (replikasyon) aksatır [21, 22].

Organik bazlı küçük molekül ağırlıklı ajanlar antibiyotik, dezenfektan ve gıda koruyucusu olarak kullanılır. Formik, sorbik, asetik, sitrik, benzoik, laktik, tartarik ve propiyonik asitler ve tuzları bilinen gıda koruyucularındandır [23-24]. Kuaterner amonyum bileşikleri geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve hastanelerde dezenfektan olarak kullanılır. Şekil 2.1 de genel yapısı görülen kuaterner amonyum bileşiklerinde R¹-R⁴ alkil ya da heterosiklik gruplar X⁻ ise klorür, iyodür ya da bromürdür [19].

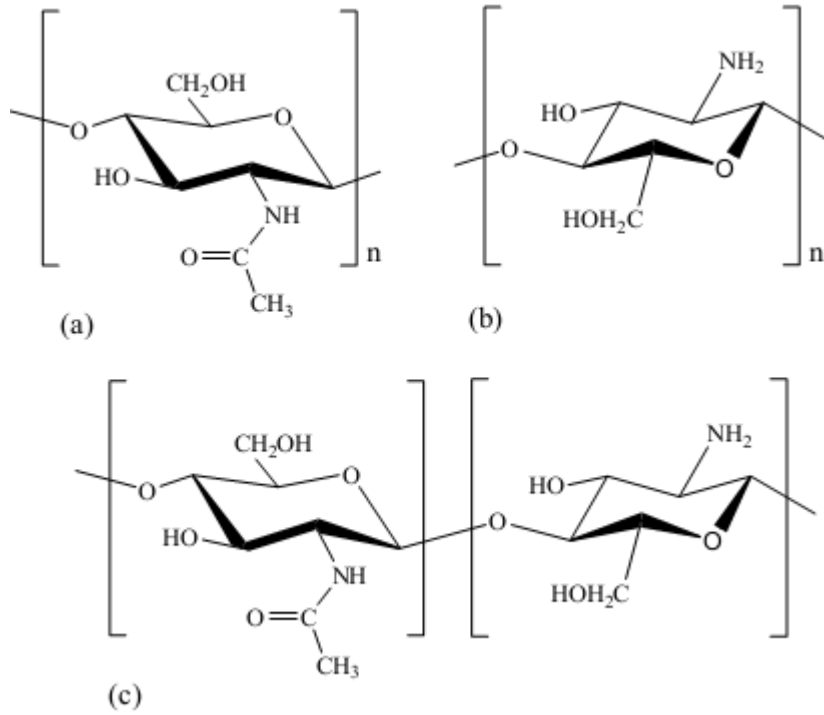


Şekil 2.1: Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel yapısı

2.2 Yüksek molekül ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar

Antimikrobiyal peptitler bakterilerin, böceklerin, bitkilerin, hayvanların ve insanların doğal savunma sistemleridir [25]. Bu peptitler α -helis peptitler, sistein-zengin peptitler ve aminoasitler ile modifiye edilmiş peptitler olarak sınıflara ayrılırlar. Çoğu antimikrobiyal peptit katyoniktir ve genellikle amfililik yapıdadır. Hidrofobik ve hidrofilik yan zincirlere (protonlanmış amin) sahip antimikrobiyal sentetik polimerler antimikrobiyal peptitlerden esinlenerek tasarlanmışlardır ve antimikrobiyal peptitlerin sentetik taklitleri (SMAMPs) olarak adlandırılırlar [26, 27]. Tanımlanmış antimikrobiyal peptitlerin büyük ölçekli üretimi çok pahalıdır ve bu peptitlerin canlı dokular (in vivo) içerisindeki kararlılıkları üzerine yapılmış çalışma sayısı çok azdır. Örneğin nisin F etkisiz hale getirildikten sonra antimikrobiyal aktivitesini canlı doku üzerinde 15 dakika sürdürebilmiştir [28].

Kitosan, yapısı içerisinde rastgele dağılmış β -(1-4) D-glukozamin (deasetile olmuş birim) ve N-asetil-D-glukozaminden (asetillenmiş birim) oluşan lineer polisakkarittir (Şekil 2.2). Kitosan ticari olarak deniz kabuklularının dış iskeletlerinden ve mantarların hücre duvarlarından elde edilen ve doğada selülozdan sonra en fazla bulunan doğal polimer olan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir [29]. Kitosanın geniş spektrumlu antimikrobiyal etkisi algler, bakteriler ve mantarlar üzerinde gösterilmiştir [30].



Şekil 2.2: (a) poli(N-asetil-β-d-glukozamin), (b) poli(d-glukozamin), (c) kısmi deasetillenmiş kitosan.

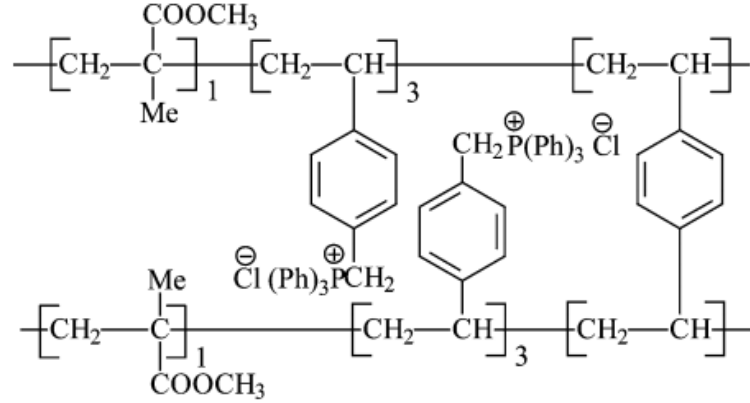
Kitosanın pH 6.5 üzerinde çözünürlüğünün azalması nedeniyle etkinliği asidik koşullarla sınırlıdır. Ayrıca kitosanın antimikrobiyal özellikleri ortalama molekül ağırlığına, deasetilasyon derecesine ve sıcaklığa bağlıdır. Kitosan türevlerinin (kitosan asetat ve kuaternize kitosan) nötral pH değerlerindeki çözünürlüğü ve antimikrobiyal etkinliği fazladır [19].

2.3. Sentetik Antimikrobiyal Polimerler

Polimer kimyası özel uygulamalar için antimikrobiyal yapılar sentezlenmesine olanak sağlar. Antimikrobiyal polimerler iki gruba ayrılır. Birinci grup antimikrobiyal ajan emdirilmiş (Microban® ürünü içerisinde triklosan) ve gümüş gibi antimikrobiyal özelliği olan metal iyonları içeren polimerik yapıları kapsar. Zamanla bu ajanların ve metallerin salımı ile antimikrobiyal özellik gösterir [31].

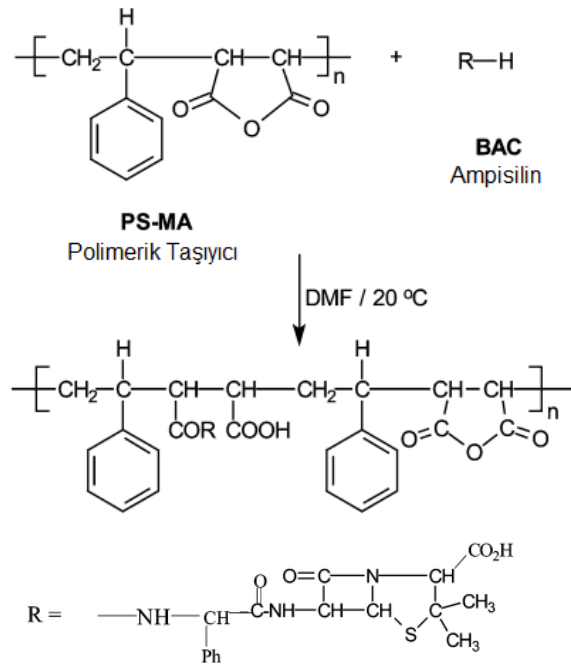
Kenawy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada vinilbenzil klorür, 2-kloroetil vinil eter ve metilmetakrilat ile ayrı ayrı kopolimerleştirilerek divinilbenzen ile çapraz bağlanmış ve çapraz bağlı yapı trifenilfosfin (Şekil 2.3) ve trietilamin ile kuaternize edilerek çeşitli mikroorganizmalar (*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Aspergillus flavus* (*A. flavus*), *Fusarium oxysporum* (*F. oxysporum*), *Candida albicans* (*C. albicans*))

üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. En etkin yapının trifenilfosfonyum yapısı olduğu bulunmuştur [32].



Şekil 2.3: Trifenilfosfin ile kuaternize edilmiş çapraz bağlı kopolimer [32].

Patel ve araştırma grubu tarafından çözelti polimerizasyonu ile farklı anhidrit yüzdelere sahip poli(stiren-ko-maleikanhidrit) sentezlenerek bu matriksin üzerine (BAC) ampisilin tutturulmuştur (Şekil 2.4) ve zayıf bazik ortamda ampisilin salımı ile yapının antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışmada aktif grubun salım kontrolünün anhidrit grupları tarafından sağlandığı görülmüştür. Sistemin kontrollü salım sistemi olarak çalıştığı başlangıçta bakterilerin çoğalma hızının azalması, 8-16 saat aralığında ise bakterilerin çoğalmasının engellenmesi ile gösterilmiştir [33].

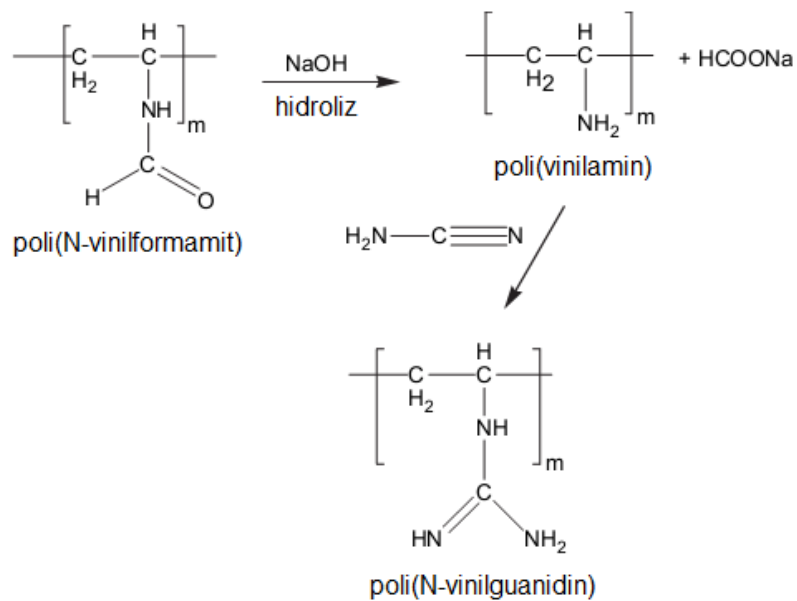


Şekil 2.4: Polimerik taşıyıcı ve ampisilinin bağlanma reaksiyonu [33].

Setrimid ve gümüş içeren çok tabakalı polielektrolit filmlerin antimikrobiyal davranışları Grunlan ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Gümüş nitrat ve setrimid içeren polietilenimin ve poli(akrilik asit) ile korona ile muamele edilen ve edilmeyen PET yüzeyinde 175µm kalınlığında altı adet film oluşturularak yapılan çalışmada korona ile muamele edilen PET yüzeyinin negatif yüklü olması nedeniyle daha derişik antimikrobiyal ajan ile kaplandığı gözlenmiştir ve bu nedenle etkinliğinin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bir kuaternize amonyum bileşığı olan setrimid yüklü filmlerin, gümüş yüklü filmlerden daha etkin olduğu bu çalışmada ulaşılan başka bir sonuç olmuştur [34].

Bu tip polimerlerde antimikrobiyal bileşığın düşük derişimde yavaş salımı mikroorganizmalarda direnç gelişimine neden olabilmektedir. Örneğin; hayvansal ürünlerde bu tip antibiyotiklerin kullanımı insan ve hayvanlarda hastalığa neden olan mikroorganizmaların direnç kazanma riskini yükseltebilmektedir [35].

İkinci grup antimikrobiyal polimerler ise kendisi antimikrobiyal özelliğe sahip yapılardır. Toksik maddelerin salımı gerçekleşmeyeceğı için çevre dostudur [36]. Antimikrobiyal polimerler; polimerizasyon sonrası modifikasyon ile biyosidal grupların kovalent olarak yapıya bağlanmasıyla elde edilir [37]. Başka bir sentez yolu ise, biyosit özellik gösteren molekülün kimyasal modifikasyon ile polimerleşebilecek bir bileşige dönüştürülerek polimerleştirilmesi ya da başka bir monomer ile kopolimerleştirilmesidir [38-40].



Şekil 2.5: Poli(N-vinil guanidin)'in sentezi [18].

T. A. Hatton ve grubu tarafından poli(N-vinilformamid)'in (PNVF) hidrolizi ile sentezlenen poli(vinilamin)'in (PVAm) modifikasyonu sonucu elde edilen poli(N-vinilguanidin) (PVG) (Şekil 2.5) polimeri ile Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı yapılan çalışmada, PVG'nin PVAm'e göre 10-ile 40 kat daha etkin olduğu gösterilmiştir (Çizelge 2.2) [18].

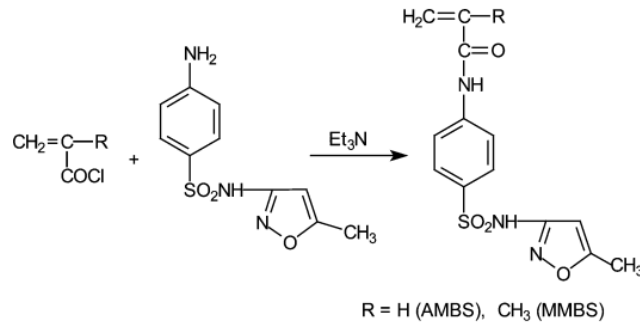
Çizelge 2.2: PVAm, PVG ve klorheksidin dihidroklorür yapılarının minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri ($\mu\text{g/mL}$) [18].

Mikroorganizmalar	PVAm1 ^a	PVAm2 ^b	PVG1 ^a	PVG2 ^b	CHX
Gram-pozitif bakteri					
<i>Staphylococcus aureus</i>	1400	2100	68	68	0.6
<i>Streptococcus mutans</i>	700	500	128	128	1.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000	700	68	68	1.8
<i>Candida albicans</i> (Fungus)	700	1000	128	255	4.0
Gram-negatif bakteri					
<i>Escherichia coli</i>	1000	700	34	34	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	350	500	34	68	32
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1400	1000	128	68	4.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700	700	68	34	4.0

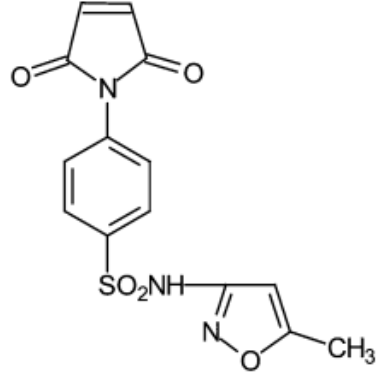
a) Polimerizasyon derecesi= 166

b) Polimerizasyon derecesi= 642

Reddy ve arkadaşları tarafından sentezlenen AMBS, MMBS monomerleri (Şekil 2.6) ve N-[4-sülfonamido-N-(5-metil-3-izoksazolil)-fenil]maleimit (SMPM) (Şekil 2.7) monomeri serbest radikal polimerizasyonu ile polimerleştirilerek bu polimerlerin *Aspergillus niger* (*A. niger*), *C. albicans* mantarları üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda SMPM monomerinin ve poli(SMPM)'nin mantarlar üzerinde oldukça etkili olduğu gözlenmiştir [38].



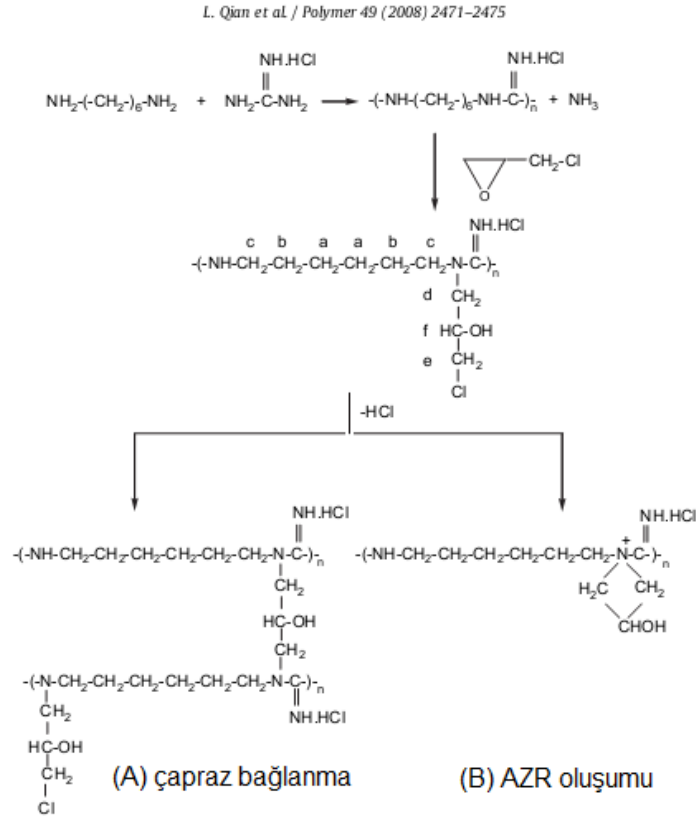
Şekil 2.6: AMBS ve MMBS sentezi [38]



Şekil 2.7: SMPM'nin yapısı [38]

3. ANTİMİKROBİYAL ETKİ MEKANİZMASI

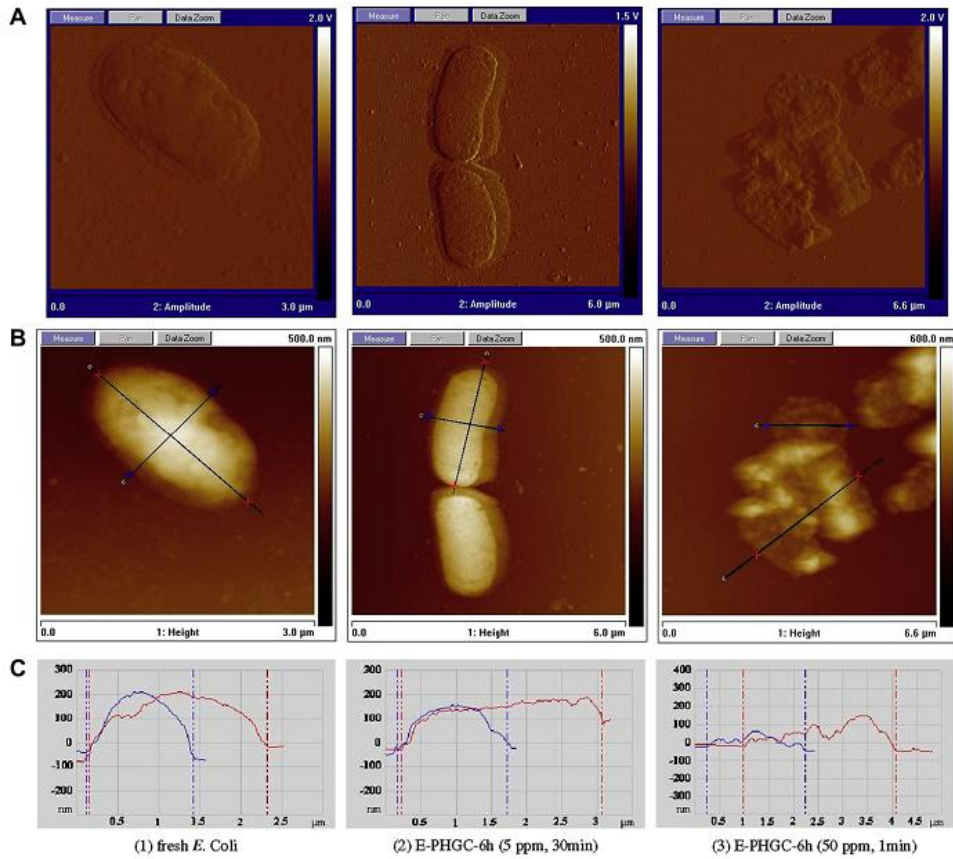
Sentetik antimikrobiyal polimerlerin eldesindeki temel strateji bakterilerin hücre zarlarının gösterdiği ortak özellik olmuştur. Bu önemli özellik zar yüzeyinin negatif yüklü olmasıdır. Bu yük gram-pozitif bakterilerin hücre duvarında (HD) bulunan teikoik (ya da lipoteikoik) asit moleküllerinden, gram-negatif bakterilerin dış zarındaki (DZ) lipopolisakkaritlerden ve fosfolipitlerden, ayrıca sitoplazmik zarın (SZ) kendisinden kaynaklanır. Sitoplazmik zar seçici geçirgen özelliğe sahiptir ve maddelerin hücre sitoplâzmasına girişini ve sitoplâzmadan çıkışını düzenler [41-45]. HD, DZ ve CZ özellikleri temel alınarak elde edilen antimikrobiyal polimerlerin büyük kısmı katyonik, hidrofilik-hidrofobik makromoleküler sistemlerdir. Bu sistemler katyonik yük taşıyan hidrofilik fonksiyonel grubun hidrofobik gruba bağlanması ile elde edilebildiği gibi hidrofobik monomer ve hidrofilik komonomerin kopolimerleşmesi ile de elde edilir. Bu şekilde elde edilen polimer/kopolimer hücre zarına bağlanma eğilimindedir ve hücre zarının yapısal bütünlüğünü bozarak sitoplazma içeriğinin hücre dışına çıkmasına neden olur [1, 46-50].



Şekil 3.1: Guanidin polimeri için sentez şeması [51]

L.Qian ve arkadaşları tarafından heksametilendiamin ile guanidin hidroklorürün kondenzasyon polimerizasyonu ile elde edilen önpolimer epiklorohidrin ile muamele edilerek yüksek molekül ağırlıklı çapraz bağlı guanidin polimeri sentezlenmiştir (Şekil 3.1). Muamele görmemiş ve guanidin polimeri ile muamele edilmiş *E. coli* bakterisinin yüzey değişimi polimerin etki mekanizmasının gözlenebilmesi için AFM ile gözlenmiştir (Şekil 3.2). A, B sırasıyla muamele edilmemiş ve edilmiş *E. coli*'nin yüzey görüntüsü ve yükseklik görüntüsü, C ise B'de alınan görüntünün kesitini göstermektedir. Muamele öncesi *E. coli* oval şekilde ve yaklaşık 200 nm yüksekliğinde iken yüksek ve düşük derişimde polimer ile muamele sonrası farklı şekiller gözlenmiştir. Şekil 3.2-2A da görüldüğü gibi düşük derişimle yapılan muamelede yüzeyde çökme meydana gelmezken zar etrafında az miktarda sızıntı gözlenmiştir. Kesit görüntüsünde de bakteri yüksekliğinin 100-150 nm'ye düştüğü görülmüştür. Şekil 3.2-3A da yüksek derişimle muamele edilen bakterinin hücre zarının tamamen zarar gördüğü ve yüksekliğinin 100 nm'nin altına düştüğü gözlenmiştir [51].

L. Qian et al / Polymer 49 (2008) 2471–2475



Şekil 3.2: Farklı derişimlerde guanidin polimeri ile etkileştirilen *E. coli*'nin morfolojisi [51]

4. ANTIMİKROBİYAL ETKİNLİĞİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Antimikrobiyal polimerler için etkinliği ve etkinlik mekanizmasını molekül ağırlığı, aktif grup ve polimer ana zinciri arasındaki mesafe, hidrofilik - hidrofobik denge ve karşıt iyon gibi parametreler etkiler [52, 53].

4.1. Molekül ağırlığının etkisi

Molekül ağırlığı antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesinde önemli rol oynar. Pek çok grup bu konu üzerinde çalışmalar yapmıştır.

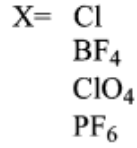
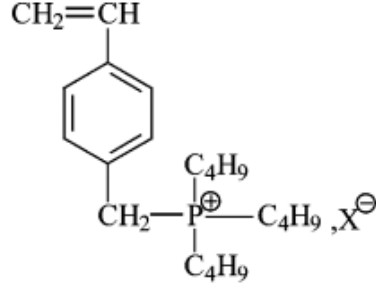
Ikeda ve arkadaşları poliakrilat homopolimerleri, biguanidin yan zincirine sahip poli metilakrilatlar ve bunların akrilamit ile kopolimerleri üzerine yaptıkları çalışmalarda biguanidin yapısına sahip poli(metilakrilat)'ın *S. aureus*'a karşı olan etkinliğinin molekül ağırlığına bağlı olduğunu bulmuşlardır. Beklenen etkinin 5×10^4 ve $1,2 \times 10^5$ Da arasında olduğunu, molekül ağırlığı 5×10^4 Da'un altında olduğunda antimikrobiyal özelliğin artan molekül ağırlığı ile arttığını, $1,2 \times 10^5$ Da üzerine çıktığında ise etkinliğin keskin bir şekilde düştüğünü görerek bu durumu hücre duvarının geçirgenliği ile açıklamışlardır [54].

Kanazawa ve arkadaşları poli(tributil 4-vinilbenzil fosfonyumklorür)ün tuzlu su içindeki *S. aureus*'a karşı etkinliğini molekül ağırlığı üzerinden incelediklerinde antimikrobiyal özelliğin $1,6 \times 10^4$ Da'dan $9,4 \times 10^4$ Da'a kadar arttığını gözlemlemiştir [55].

Ikeda ve arkadaşları sentezledikleri; yan gruplarında fosfonyum tuzları olan polikasyonik biyositler ile onların yerlerini tutacak monomerlerin antimikrobiyal etkinliklerini karşılaştırmış ve etkinliğin molekül ağırlığı ile birlikte arttığını göstermişlerdir [56, 57].

4.2. Karşıt iyon etkisi

Kanazawa ve arkadaşları tarafından *S. aureus*'a karşı poli(tributil 4-vinilbenzil fosfonyumklorür)'ün (Şekil 4.1) etkinliğini karşıt iyon yönünden incelenmiştir ve antimikrobiyal etkinliğin karşıt iyonun yapısından etkilendiğini bulunmuştur. Buna göre fosfonyum ile sıkı iyon çifti oluşturan karşıt iyonun etkinliği azalttığını, serbest iyonlara ayrılmayı kolaylaştıran anyonların ise etkinliği arttırdığını gözlemlediler. Antimikrobiyal özellik polimerin çözünürlüğü ile bağdaştırılarak karşıt iyon sıralaması klorür>tetraflorür>perklorat>hekzaflorofosfat şeklinde verilebilir [58].



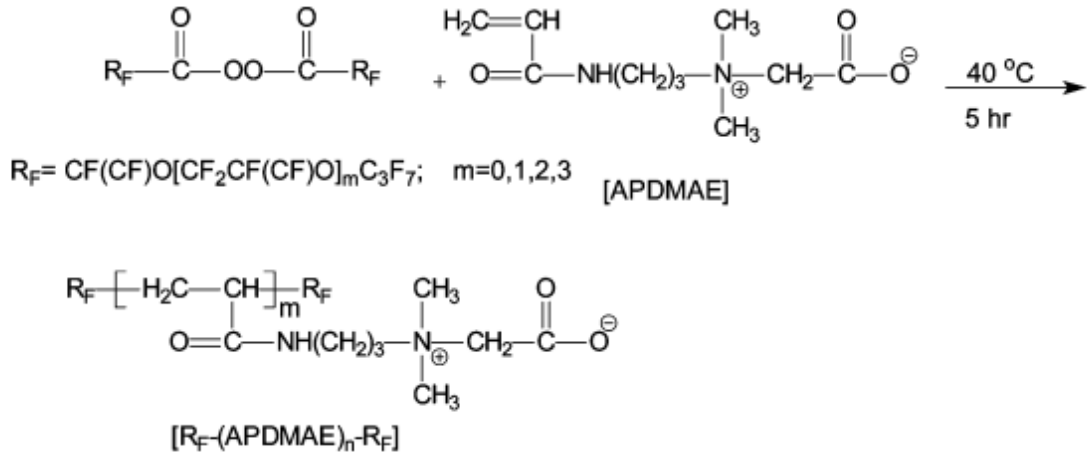
Şekil 4.1: Tributil 4-vinilbenzil fosfonyumklorür monomeri [58]

Chen ve arkadaşları sentezledikleri kuaterner amonyum dendrimerlerinde karşıt iyonun bromür olduğu yapının klorür olan yapıdan daha etkin olduğunu gözlemlemiştir [59]. Ancak, Panarin ve arkadaşları sentezledikleri kuaterner amonyum gruplarına sahip vinilamin ve metakrilat homopolimerlerinde karşıt iyonun (klorür, bromür, iyodür) antimikrobiyal özelliğe etkisinin olmadığını görmüşlerdir [60].

Karşıt iyonun polimer çözünürlüğüne etkisi dışında antimikrobiyal etkinliği neden etkilediği aydınlatılamamıştır [1].

4.3. Aktif grubun polimer zincirine uzaklığı ve alkil zincirinin etkisi

Aktif grubun ana zincire olan uzaklığı konformasyonu ve yük yoğunluğunu etkilediği için yapının sitoplazmik membranla olan etkileşimini belirler, bu yüzden antimikrobiyal özellik üzerinde etkisi büyüktür [52]. Fakat Panarin ve arkadaşları çalışmalarında farklı alkil uzunluklarının antimikrobiyal etkinlik üzerinde etkisi olmadığını gözlemlemiştir [60]. Ikeda ve arkadaşları ise poli(trialkilvinil benzilamonyumklorür) yapısının etkinliğinin artan alkil zincir uzunluğu (C₁₂) ile arttığını göstermiştir [53].



Şekil 4.2: 2-(3-akrilamidopropildimetilamonyum)etanoat (APDMAE) ile floroalkanoil peroksitlerin reaksiyonu [61].

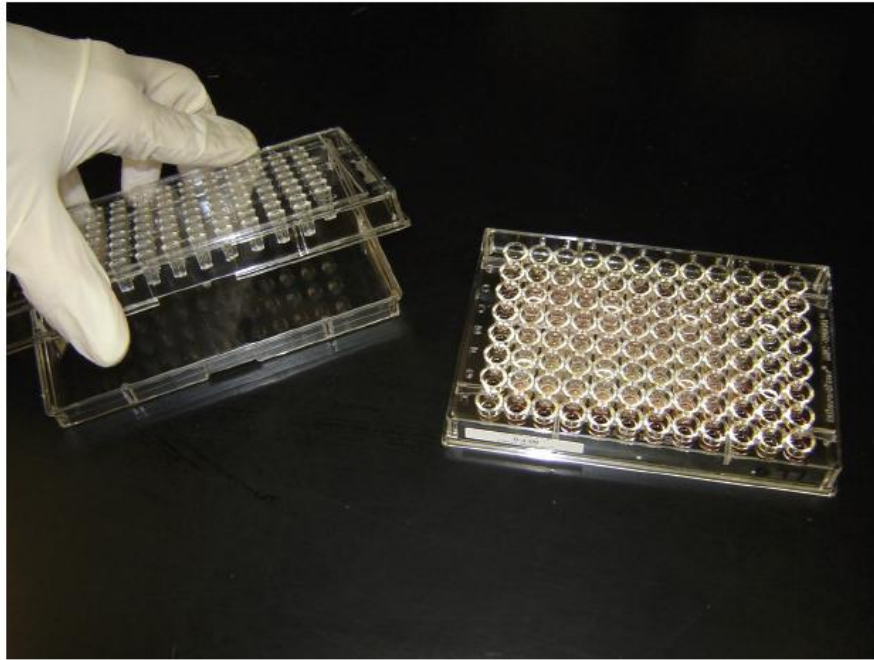
Sawada ve arkadaşları tarafından hazırlanan perfloro-propillenmiş ve perfloro-okzoalkillenmiş 2-(3-akrilamidopropildimetilamonyum)etanoat (APDMAE) (Şekil 4.2) ile sonlanmış yapı ile *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) bakterilerine karşı yapılan çalışmada perfloro-okzoalkillenmiş APDMAE yapısının daha uzun alkil zincirine sahip olduğu için daha etkin olduğu bulunmuştur [61].

5. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ

Mikrobiyoloji laboratuvarları için bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkinlik testlerinin yapılması mikroorganizmanın belirlenen ajana karşı duyarlı ya da dirençli olmasının anlaşılması açısından çok önemlidir. Bazı yöntemler minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) gibi nicel sonuçlar verirken, yöntemlerin tamamı bakterinin uygulanan ilaca karşı nitel olarak duyarlı, orta derecede duyarlı ya da dirençli olduğu bilgisini verir [62].

5.1. Besiyeri Dilüsyon Yöntemi

Makrodilüsyon yöntemi bilinen en eski yöntemlerden biridir. Antibiyotiğin test tüpü içerisindeki üreme ortamına ikişer kat seyrelterek (1, 2, 4, 8, 16 µg/mL) dağıtılması ile hazırlanır [63, 64]. Antibiyotiğin bulunduğu tüp içerisine $1-5 \times 10^5$ cfu/mL standartlaştırılmış bakteri süspansiyonu eklenerek bir gece 35°C sıcaklıkta bekletildikten sonra bakteri çoğalması bulanıklık ile takip edilir. Çoğalmanın engellendiği en düşük derişim minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak belirlenir. Bu yöntemin kesinliği +/- 1 kat seyreltmedir [65]. Bu yöntemin avantajı nicel sonuç vermesi iken, uğraş verici olması, çözeltilerin hazırlanması sırasında hata olasılığı ve büyük miktarlarda çalışıldığından geniş alanda çalışma gerekliliği dezavantajlarıdır [62].



Şekil 5.1: Tek kullanımlık 96 kuyulu mikrodilüsyon plağı [62]

Bu test; küçük, tek kullanımlık, polistiren, polipropilen mikrodilüsyon plakları (Şekil 5.1) ile pratik ve popüler hale gelmiştir. Standart plaklar 0,1 mL hacimli 96 hücreden oluşur ve 12 kat seyreltme ile 8 antibiyotik test edilebilir [64, 66]. MİK değerinin bulunmasının yanında tekrarlanabilirlik, test hazırlığındaki kolaylık ve küçük hacimlerde çalışılabilindiği için kazanılan alan yöntemin avantajlarıdır [62].

5.2. Antimikrobiyal Gradyan Yöntemi

Bu yöntem antimikrobiyal ajan derişiminin derecelendirilmesi ile duyarlılığın belirlenmesi yoludur. Bir yüzeyinde derişim skalası bulunan diğer yüzeyinde ise o derişimdeki antimikrobiyal ajanı barındıran plastik şeritler (Şekil 5.2) 150 mm'lik petrilerde bakteri ekilmiş besiyerinde 35°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildiğinde MİK değeri elips şeklinin en alt kısmından okunur.

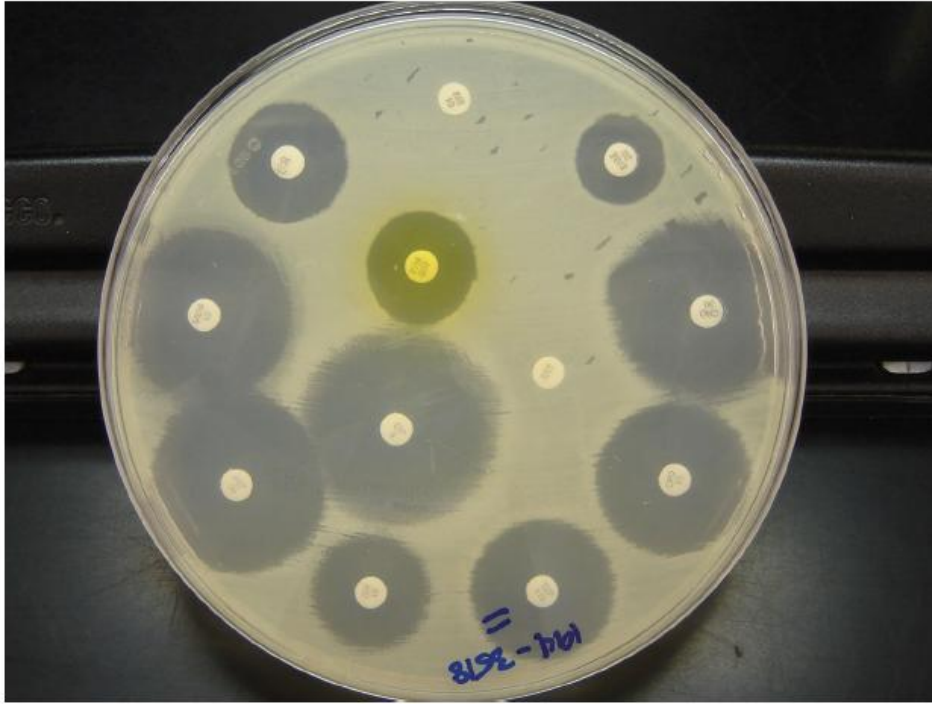


Şekil 5.2: Mueller-Hinton besiyerinde üretilmiş *S. aureus*'a karşı vancomisin(VA), Daptomisin(DM) ve Linezolit (LZ) içeren şeritlerin gradyan yöntemi ile uygulanması [62]

Bu yöntem her antibiyotik için uygulama esnekliğine sahiptir. Fakat fazla sayıda antibiyotik için kullanımı pahalı olabilir. Zor üreyen, üremek için özel koşullara ihtiyaç duyan mikroorganizmalara karşı denecek antimikrobiyal ajanlar için en uygun yöntemdir [67-69].

5.3. Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde $1-2 \times 10^8$ cfu/mL bakteri 150 mm çaplı petrilerdeki Mueller-Hinton besiyerinde üremesi sağlanır. Ticari olarak hazırlanmış, sabit derişimde kâğıt antimikrobiyal diskler (Şekil 5.3) petri içerisinde bakteri inkübe edilmiş besiyeri yüzeyine yerleştirilir. Petriler 35°C sıcaklıkta 16-24 saat bekletildikten sonra sonuçlar belirlenir. Her bir diskin etrafındaki çoğalmanın engellendiği bölge milimetre cinsinden ölçülür. Bu bölgenin çapı hem bakterinin ilaca olan duyarlılığının hem de ilacın besiyeri ortamına difüzyon hızının ölçüsüdür.



Şekil 5.3: İdrar kültüründe izole edilmiş *E. coli*'ye karşı disk difüzyon yönteminin uygulanması [62]

Her ilaç için zon çapları Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yorumlanmıştır [70]. Disk difüzyon test sonuçları niteldir ve sadece antimikrobiyal ajanın kategorisi (duyarlı, kısmi duyarlı, dirençli) hakkında fikir verir. Bu yöntem son derece basit, özel bir donanım gerektirmeyen, her uzman tarafından kolaylıkla yorumlanabilen ayrıca en ucuz yöntemdir [62].

5.4. Otomatik Enstrüman Sistemleri

Enstrümanların kullanımı ile sonuç okumaları standart hale getirilir ve bu cihazlar bakterilerin üremesindeki küçük farkları belirleyebilecek optik detektöre sahip

oldukları için genellikle diğer yöntemlere göre daha hassas olarak kısa sürede sonuç verebilir. Bu prensiple çalışan “FDA” onaylı dört cihazdan üçü 3,5-16 saat arasında sonuç verirken bir tanesi bir günde sonuç vermektedir [71].

5.5. Duyarlılık Testlerinin Yorumlanması

MIC değerlerinin en uygun şekilde yorumlanması, ilacın insan vücudundaki farmakokinetiğinin bilinmesi ve vücudun çeşitli bölgelerindeki bakterilerin tamamen yok edilebilmesi için belirli bir ilacın olası başarısı hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlar [72]. Bunun için de en başarılı yöntem “CLSI” gibi pek çok bakteri türü ile ilgili MİK kriterlerini yayımlayan bir kuruma başvurulmasıdır [70]. CLSI bu bilgileri 3 çeşit veri ile analiz etmektedir:

- 1- Fenotipik ya da genotipik olarak direnç mekanizması açıklanmış bakteri kümeleri için MİK ve disk çap değerleri karşılaştırılarak elde edilen mikrobiyolojik veri,
- 2- Farmakokinetik ve farmakodinamik veri,
- 3- Klinik çalışmaların sonuçları [72],

“Duyarlı” sonuç; hasta organizmasının o enfeksiyon ve türler için tavsiye edilen antibiyotik dozuna karşılık verdiğini gösterir. Bu durumun aksine, MİK ya da bölge çapı “dirençli” olarak yorumlanan organizmanın çoğalması belirlenen ilaç için uygulanan dozla bastırılmaz. “Kısmi duyarlı” sonuç MİK değerine yakın ya da fazla antibiyotik miktarına karşı duyarlı bakteri kümesine göre muhtemelen daha az karşılık veren fakat duyarlılık sınırları içerisinde kalan mikroorganizmalar için kullanılır [70, 72].

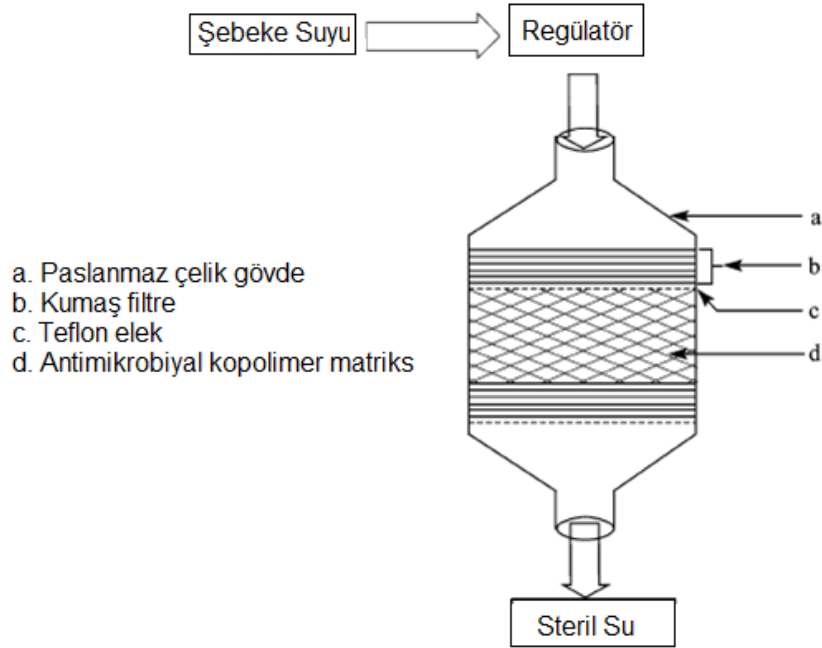
6. ANTİMİKROBİYAL POLİMERLERİN BAŞLICA KULLANIM

ALANLARI

6.1. Su arıtma

Klor ya da suda çözünebilir dezenfektanlar su arındırılmasında kullanılır. Fakat çözünebilir dezenfektanlar uygun miktarlarda kullanılsalar dahi atık toksisitesi riski taşırlar [73]. Bu atıklar doğada gıda zincirinde derişik hale gelebilir. Buna ek olarak serbest klor ve diğer benzeri kimyasallar sudaki organik maddelerle reaksiyona girerek kanserojen olması muhtemel ve kullanımı yasaklanan trihalometan ve benzeri bileşiklerin oluşumuna neden olabilir. Bu sorunlar mikroorganizmaların sudan, suda çözünmeyen maddelerle uzaklaştırılması ile aşılabilir [11, 74].

Polimerik dezenfektanlar taşınabilir su filtrelerinde, yüzey kaplamalarında ve fiber olarak kullanılabilir. Çünkü çeşitli tekniklerle üretilerek suda çözünmez halde elde edilebilir. Tyagi ve çalışma arkadaşları tarafından iyotlu poli(metil metakrilat-ko-N-vinil-2-pirolidon) suda çözünmeyen kopolimeri sentezlenmiştir. Bu kopolimerin antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi için Şekil 6.1'deki özel kartuş hazırlanmıştır.



Şekil 6.1: Su arıtma kartuş diyagramı [75]

Şekil 6.1'de görüldüğü gibi sistem şebeke suyuna bir düzenleyici üzerinden bağlıdır. Rezervuar içerisine bilinen derişimde *E. coli*, *S. aureus* ve *Candida spp.* eklenmiştir. Sistemden geçirilen su düzenli aralıklarla test edilerek toplamda 8000 L su kullanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 6.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1: Su arıtma kartuşundan geçen su içerisindeki bakteri sayısı (cfu/mL) [75]

Türler	Mikrobiyal Yoğunluk/100 L su		
	Başlangıç	5000 L'ye kadar	5000 - 8000 L
<i>S. aureus</i>	2×10^5	0	1 ± 1
<i>E. coli</i>	2×10^5	0	5 ± 2
<i>Candida spp.</i>	1.5×10^5	0	1 ± 1

Sonuçlar iyotlanmış polimerin 5000 L ye kadar seçilen bakterilere karşı etkin olduğunu göstermiştir [75].

Tan ve grubu tarafından örgüsüz polipropilen (PP) kumaşlar üzerine radyasyonla 4-vinilpridin aşılansarak modifiye edilmiş daha sonra benzil bromür, benzil klorür, etil bromür, butil bromür ya da heksadesil bromür gibi halojenür yapılarla kuaternize edilmiştir. Etkinlik sonuçları modifiye edilmiş örgüsüz PP kumaşların bakterileri yakalama özelliğine sahip olduğunu göstermiştir. *E. coli*'nin uzaklaştırılmasında en etkin yapının benzil bromür ile kuaternize edilmiş yapı olduğu bulunmuştur. SEM ile yapılan çalışmada yüzeye tutunan bakterilerin herhangi bir değişime uğramadığı gözlenmiştir. Böylece modifiye edilmiş PP örgüsüz kumaş yüzeyinin bakterisit etki göstermese de bakteriyostatik etki gösterdiği açıklanmıştır [10].

Kim ve grubu tarafından yapılan çalışmada TiO_2 -nylon-6 kompozit malzeme Ag nanoparçacıkları ile yüklenmiş ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. TiO_2 , Ag nanoparçacıkların topaklanmadan yapıda kalmasını sağlamıştır. Bu malzeme uygun maliyetiyle su filtresi olarak kullanılabilir [76].

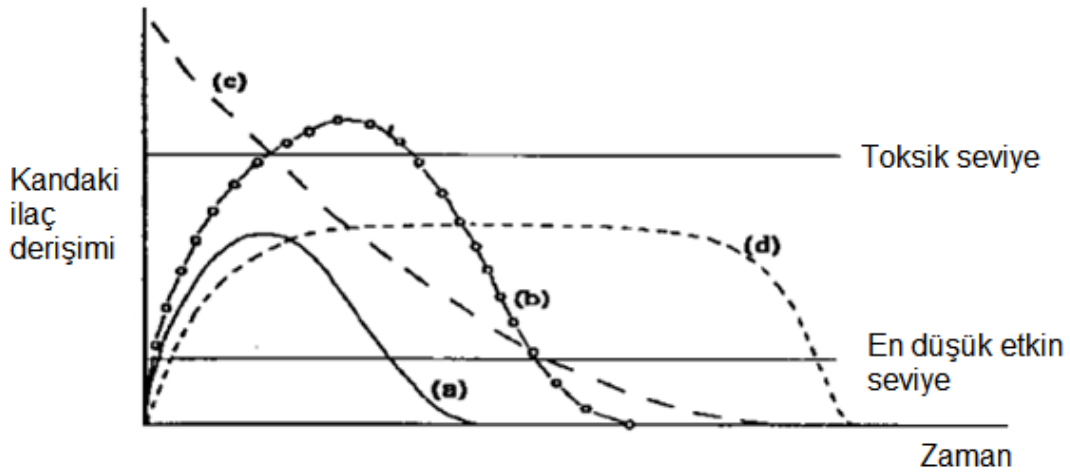
6.2. Tıp ve Sağlık Bakım Ürünleri

Farmakolojik açıdan en aktif ajanlar tüm hücrelerle kısa sürede etkileşebilen ve hızlıca vücuttan atılabilen küçük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Sonuç olarak tedavi edici etki sağlamak için yüksek ve yinelenen dozlar verilmelidir, buna ek olarak seçicilik düşük olduğunda ilaçlar her zaman zararlı yan etki gösterir. Antimikrobiyal

ajanların makromoleküllerle taşınması ilacın vücuttan atılma süresini değiştirerek uzun sürede kontrollü salımı sağlar [77].

Yeni polimerik ilaçlardaki en ilgi çekici yaklaşım bilinen ilaçların çözünebilir ya da biyobozunabilir makromoleküllere kovalent olarak bağlanmasıdır [78].

Bu sistemin fiziksel bağlanma ile elde edilen geleneksel ilaçlara olan üstünlüğü polimerin taşıyıcı olmasının yanı sıra kendisinin de farmakolojik açıdan aktif olabilmesidir.



Şekil 6.2: Çeşitli dozların uygulanmasıyla kandaki ilaç derişimleri: (a) ağız yoluyla alınan standart doz; (b) ağız yoluyla alınan aşırı doz; (c) damar içine enjeksiyon; (d) kontrollü salım sistemi [1]

Umulan ilaç derişim profilinin farklı ilaç uygulama yöntemleri ile derişimi şekil 6.2'de verilmiştir. (a) eğrisinde ağız yoluyla alınan normal dozda kandaki ilaç derişiminin hızlıca yükseldiği ve kısa sürede minimuma geldiği görülmektedir. Bu noktada uygulamanın yenilenmesi gerekmektedir. Başlangıç derişiminin tedavi edici dozun üzerine çıkması yan etkilere ve toksik etkiye neden olabilir (b eğrisi). Diğer taraftan minimum derişim tedavi edici seviyenin altında olabilir. Böylece standart doz aşırı doz ve yetersiz doz seviyesinde salınabilir (c eğrisi). Kontrollü salım sistemlerinde kandaki ilaç derişimi ideal olarak yavaşça artar ve aynı seviyede bir süre kalır (d eğrisi) [1].

6.3. Gıda Uygulamaları

Mikrobiyal bulaşma gıdaların raf ömrünü azaltır ve yiyeceklerden kaynaklanan hastalıklara neden olur. Az sayıda işleme elde edilen, kolay hazırlanabilir gıda

ürünlerine olan talep gıda ticaretinin küreselleşmesine ve gıda ürünlerinin tek merkezden işlenerek dağıtılmasına neden olmuştur. Bu durum gıda güvenliği ve kalitesi açısından büyük sorun teşkil etmektedir [79].

Gıda ürünlerinin kalitesini, tazeliğini ve güvenliğini etkilemeksizin mikrobiyal üremenin engellenmesinde yenilikçi yolların aranmasına gidilmiştir. Gıdaların korunmasında kullanılan başlıca geleneksel yöntemler; ısıtma, soğutma, ışınlatma ve antimikrobiyal ajanların eklenmesidir. Fakat bu yöntemler taze etler ve hazır gıdalar gibi bazı gıda ürünlerine uygulanamazlar [80]. Ayrıca kimyasal koruyucu içermeyen gıdalara olan talep günden güne artmaktadır.

Antimikrobiyal maddeler gıda ambalaj malzemelerine dâhil edilerek bakterilerin çoğalma hızının düşürülmesi sağlanır böylelikle mikrobiyal bulaşma kontrol altına alınabilir [81]. Antimikrobiyal polimerler de ambalajlama gibi gıda ile ilgili çeşitli uygulamalarda kullanılır [82]. Bu uygulamalardan biri doğrudan ambalaj ile temas eden gıda yüzeyinde seçici olarak mikroorganizmaların çoğalma hızını azaltarak gıda güvenliğinin gelişmesini ve raf ömrünün arttırılmasını sağlar. İkincisi; antimikrobiyal paketleme malzemeleri işlenmiş gıdalarda mikrobiyal bulaşmanın tekrarlanma potansiyelinin büyük ölçüde düşürülmesini sağlar. Diğer bir uygulama özellikle meyve suları gibi yüksek asit içeriğine sahip sıvılarda kendi kendine sterilizasyonu sağlar. Antimikrobiyal polimerler ayrıca gıdaların işlenmesi sırasında kullanılan dolgu contaları, taşıyıcı, kıyafet, eldiven gibi araç gereçlerin sterilizasyonu için de kullanılabilir [1].

Antimikrobiyallerin polimerin üzerine iyonik ya da kovalent olarak yüklenmesi ile elde edilen ajanlar için hem polimerin hem de seçilen antimikrobiyal yapının fonksiyonel gruplara sahip olması gerekir. Gıda paketlerinde kullanılan fonksiyonel grup içeren polimerlerin listesi Çizelge 6.2'de verilmiştir [80].

Prombutara ve arkadaşları tarafından özellikle düşük pH'lı ve ısıtma işlem gören gıdaların korunması amacıyla nisin yüklü katı lipit nanoparçacıklar (KLN) üretilmiştir. Yapılan çalışmada nisin salımı ile gerçekleşen etki ile *Listeria Monocytogenes* ve *Lactobacillus Palantarum* bakterilerine karşı sırasıyla 20 ve 15 gün sürmüştür. Serbest haldeki nisin ile yapılan kontrol çalışmasında bu etki sırasıyla 1 ve 3 gün olarak belirlenmiştir [83].

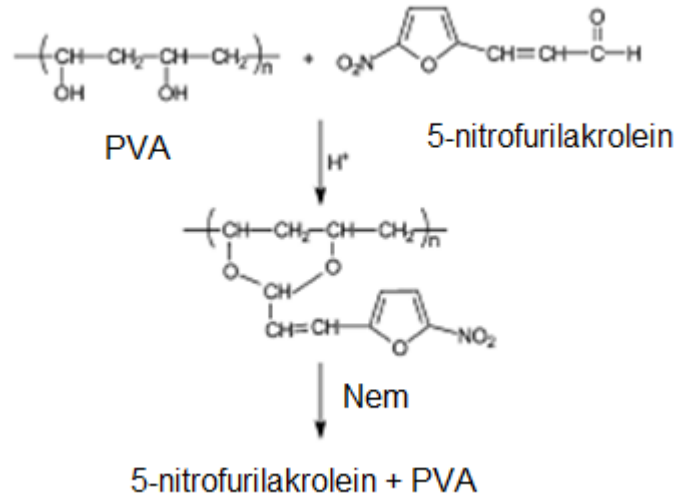
Çizelge 6.2: Gıda paketlerinde kullanılabilen polimerler ve sahip oldukları fonksiyonel gruplar [80].

Polimer	Yapısı
Etilen vinilasetat (EVA)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}}{\text{CH}} \right)_n$
Etilen metil akrilat (EMA)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}}{\text{CH}} \right)_n$
Etilen Akrilik asit (EAA)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{OH} \end{array}}{\text{CH}} \right)_n$
Etilen metakrilik asit (EMAA)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{OH} \end{array}}{\text{C}} \right)_n$
İyonomer	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{O}^- \text{Na}^+ \end{array}}{\text{C}} \right)_n$
Naylon	$\left[\text{-(CH}_2\text{)}_x\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{-C-NH}\text{-} \right]_x$
Poliviniliden klorür (PVdC)- Polivinil klorür kopolimeri	$\left(\overset{\text{Cl}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\overset{\text{Cl}}{\underset{ }{\text{C}}} \right)_n$
Etilen vinil alkol (EVOH)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_m \left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{OH} \end{array}}{\text{CH}} \right)_n$
Polietilen (PE)	$\left(\text{CH}_2-\text{CH}_2 \right)_n$
Polistiren (PS)	$\left(\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ \text{Ph} \end{array}}{\text{CH}} \right)_n$

6.4. Tekstil Ürünleri

Antimikrobiyal uygulama tıbbi, kurumsal ve hijyenik kullanım amaçlı gibi tekstil ürünlerinde standart kaplama olarak kullanılır hale gelmiştir [84, 85]. Tekstil ve fiber malzemeler çeşitli amaçlar için antimikrobiyal hale getirilir;

- Kullanıcı ürününün hijyenik ve tıbbi amaçlarla bakteri, dermatofit gibi mikroorganizmalara karşı korunması,
- Tekstil ürünün kendisinin biyobozunmaya neden olabilecek küf ve maya gibi benzeri mikroorganizmalara karşı korunması,
- Yine tekstil ürününün böceklere karşı korunması [86, 87].



Şekil 6.3: PVA ile elde edilen geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğe sahip yapının hazırlanışı [1].

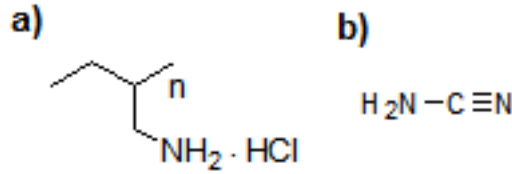
Temel olarak tekstil ürünlerinin mikrobiyal bulaşmadan korunması için kullanılan üç yöntem vardır. En çok kullanılan yöntem ise kontrollü salım mekanizmasıdır. Bu konuda en iyi örnek poli(vinil alkol)ün (PVA) taşıyıcı olarak kullanıldığı yapıdır (Şekil 6.3). Bu yapı asit katalizörlüğünde 5-nitrofurilakrolein ile PVA'nın reaksiyonu ile elde edilir [1]. Yapının antimikrobiyal etkinliği nem ile birlikte nitro gruplarının salımından kaynaklanmaktadır.

Buchenska ve arkadaşları tarafından antibakteriyel özelliğe sahip poliamit (PA6) fiberler; PA6 iplikler üzerine akrilik asitin aşı polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Bu fiberler daha sonra karboksil grupları üzerinden penisilin, neomisin ve gentamisin ile modifiye edilerek antimikrobiyal fiberler elde edilmiştir. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* üzerinde yapılan testlerde fiberlerin gram pozitif bakteri olan *S. aureus* ve gram negatif bakteri olan *E. coli* üzerinde kuvvetli biyosidal etki gösterdiği gözlemlenmiştir [88].

7. DENEYSEL TEKNİKLER

7.1. Kimyasallar

Poli(allil guanidin hidroklorür) (PAIG) elde etmek için kullanılacak poli(allil amin hidroklorür) (PAIAm) ($M_w=15.000$) (Şekil 7.1a) ve %99 saflıkta siyanamid (şekil 7.1b) Aldrich firmasından, reaksiyon ortamının asidik olabilmesi için kullanılan %37lik hidroklorik asit (HCl) Merck firmasından temin edilmiştir. Reaktif yapıları Şekil 7.1'de verilmiştir.



Şekil 7.1: a) poli(allilamin hidroklorür) b) siyanamid

Reaksiyon sonrası oluşan polimerin çöktürülmesi için kullanılan aseton Aldrich firmasından temin edilmiştir. Bütün çözeltiler deiyonize su ile hazırlanmıştır.

Antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesi için yapılan çalışmada iki gram-pozitif bakteri [*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)], bir gram-negatif bakteri [*Escherichia coli* (ATCC 25922)] ve üç mantar [*Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida parapsilosis* (22019)] kullanılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal test için sırasıyla Mueller-Hinton (MHB, Difco Laboratories) ve L-Glutamin içeren RPMI-1640 (ICN-Flow, Aurora besi yerleri kullanılmıştır.

Aderans çalışmasında 13 mm çaplı nitroselüloz membran (Millipore), Triptik Soy Agar (TSA), Triptik Soy Broth (TSB) (Merck) kullanılmıştır.

7.2. Poli(allil guanidin hidroklorür)'ün Sentezi

3 g (32,1mmol) PAIAm 25 mL suda çözüldükten sonra oluşan çözelti 2,5 mL %37'lik HCl ile asitlendirilerek 50 mL su ilave edilmiştir. Daha sonra farklı oranlarda dönüşüm elde edebilmek amacıyla sırasıyla 38,5, 57,8, 83,5, 166,9 mmol %50 lik sulu siyanamid çözeltileri hazırlanarak asitlendirilmiş PAIAm çözeltisine eklenmiştir. Hazırlanan karışım geri soğutucu altında, 90-95 °C sıcaklıkta, azot atmosferinde 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

Reaksiyon sonucu elde edilen çözeltilerden fazla miktarda aseton ile çöktürülen polimer yıkandıktan sonra 45 °C sıcaklıktaki etüvde 2 saat bekletilerek kurutulmuş,

ardından aynı sıcaklıkta vakum etüvünde 1 gece bekletilerek nemin ve asetonun tamamen uzaklaşması sağlanmıştır. Elde edilen farlı dönüşümlerdeki PAIG; PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 olarak adlandırılmıştır.

7.3. Polimerlerin Yapısal Karakterizasyonu

7.3.1. FT-IR Spektroskopisi

FT-IR spektrumları KBr pelet ile 32 tarama sayısı ve 4 cm^{-1} ayırıcılıkta Perkin Elmer Spectrum Two UATR model spektrometre kullanılarak alınmıştır.

7.3.2. FT-Raman Spektroskopisi

Polimerlere ait Raman spektrumları 1064 nm dalga boyunda He-Ne lazerli Thermo Scientific NXR FT-Raman ile 1500 tarama sayısı ve 8 cm^{-1} ayırıcılık ile alınmıştır.

7.3.3. NMR spektroskopisi

Polimer örnekleri için Bruker 400 Ultra Shield spektrometre kullanılarak ^1H (400 MHz) ve ^{13}C (100 MHz) NMR spektrumları alınmıştır. PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için D_2O ile ^1H -NMR 70 °C'de, *d*-DMSO ile 25 °C'de alınmıştır. ^{13}C -NMR PAIAm ve PAIG1 için D_2O , PAIG2, PAIG3, PAIG4 için *d*-DMSO kullanılarak 25 °C'de alınmıştır.

7.3.4. Elementel Analiz

Polimerlerin C, N ve H oranlarının bulunmasında Thermo Scientific Flash 2000 model cihaz, 2,5-Bis (5- ter-bütil-2-benzoksazol-2-yl) tiyofen (BBOT) standart ile kalibre edilerek kullanılmıştır. Ölçümler 1-1,5 mg standart ve örnekler ile 8-10 mg V_2O_5 (vanadyum pentaoksit) katalizörlüğünde yakılarak alınmıştır.

7.4. Polimerlerin Çözelti Davranışlarının İncelenmesi

7.4.1. Klor Elektrot

Değişen polimer derişimi ile çözelti içerisindeki klor miktarları Orion klor elektrodu ile belirlenmiştir. 1011, 505,5, 252,8, 126,4, 63,2, 31,6 ppm'lik klor çözeltileri kalibrasyon için kullanılmıştır. Çözeltiye geçen klor miktarı bu kalibrasyon eğrisinden bulunmuştur.

7.4.2. Dinamik Işık Saçılımı

Dinamik ışık saçılımı metodu (DLS) seyreltik çözelti içerisindeki küçük parçacıklardan, boyutlarına bağlı olarak saçılan ışığın şiddetinin ve değişiminin ölçülmesi temeline dayanmaktadır.

Zeta potansiyeli parçacıklar arasındaki itme ya da çekmenin yük olarak büyüklüğüdür. Parçacıkların çözelti içerisinde dağıldığının ya da kümелendiğinin bilgisini verir.

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 polimerlerin boyut dağılımları ve zeta potansiyelleri NanoZS model ZetaSizer (Malvern) ile 25 °C oda sıcaklığında 4 mW He-Ne lazeri (633 nm dalga boyunda) kullanılarak Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nde (UNAM) incelenmiştir.

7.5. Polimerlerin Termal Karakterizasyonu

7.5.1. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Termogravimetrik analiz için Perkin Elmer Pyris 1 model (TGA) kullanılmıştır. Yaklaşık 10 mg polimer örnekleri platin kefedede oda sıcaklığından 900 °C'ye 10 °C/dk ısıtma hızıyla, 20 mL/dk akış hızında azot atmosferinde ısıtılarak polimerlerin termal kararlılıkları incelenmiştir.

7.5.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

DSC analizleri polimerlerin camsı geçiş sıcaklığının (T_g) belirlenmesi amacıyla 8-10 mg örnek ile Perkin Elmer Diamond model diferansiyel taramalı kalorimetre ile yapılmıştır. PAIAm -5 °C'den 250 °C'ye 20 °C/dk ısıtma hızıyla azot atmosferinde analiz edilmiştir. PAIG örnekleri ise -5 °C'den 230 °C'ye 20 °C/dk ısıtma hızıyla azot atmosferinde analiz edilmiştir.

7.6. Polimerlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

7.6.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

Antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesi için CLSI (Clinic and Laboratory Standard Institute) tarafından önerilen besiyeri dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal test için sırasıyla Mueller-Hinton ve L-Glutamin içeren RPMI-1640 besiyerleri kullanılmıştır. Bakteri yoğunluğu 5×10^5 cfu/mL, mantar yoğunluğu $0,5-2,5 \times 10^3$ cfu/mL olacak şekilde besiyerlerine ekilmiştir.

Sterilize edilen saf su ile ikişer kat seyreltilerek 1024-1 µg/mL derişimlerde hazırlanan, pH değerleri PAIAm ve PAIG için sırasıyla 5,50 ve 5,10 olan polimer

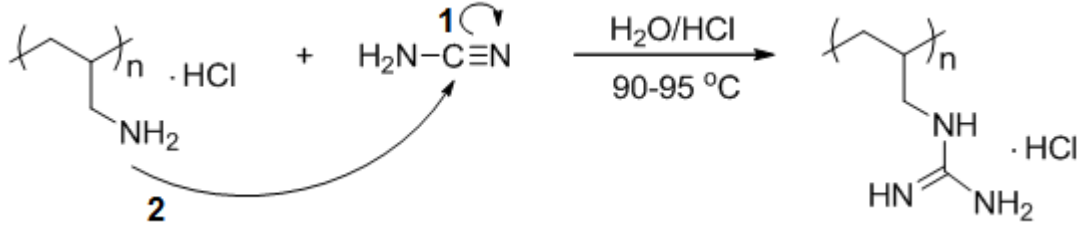
çözeltileri üzerine önceden hazırlanan bakteri ve mantar süspansiyonu eklenerek 35 °C'de 24 saat bekletilmiştir. Kontrol amaçlı etkinliği bilinen antibakteriyel ve antifungal ilaçlar seftazidim ve flukonazol 64-0,0625 µg/mL derişimlerde bakteri ve mantarlara aynı koşullarda uygulanmıştır. 24 saat sonunda örneklerin bakterilere ve mantarlara karşı MİK değerleri görsel olarak değerlendirilmiştir.

7.6.2. Bakteriyel Tutunma Testi

Bakteri tutunmasının çalışılacağı yüzey nitroselüloz olarak seçilmiştir. Yüzeye 1000 µg/mL polimer çözeltileri emdirilerek kuruması beklenmiştir. Ardından McFarland 0,5 standart bulanıklık tüpleri kullanılarak 10^8 cfu/mL derişimde hazırlanan *S. aureus* süspansiyonu TSB içerisinde 1:100 oranında seyreltilerek bakteri derişimi 10^6 cfu/ml olarak ayarlanmıştır. Buradan 1 mL bakteri çözeltilisi, 24'lü doku kültür plağına yerleştirilen nitroselüloz üzerine eklenmiştir. PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 filmleri ile hazırlanan nitroselüloz membranlar bakteri ekildikten sonra 37 °C'de çalkalamalı etüvde (50 RPM) 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra diskler 1 mL SF (serum fizyolojik) çözeltilisi ile üç defa yıkanarak yüzeye tutunmayan bakterilerin uzaklaşması sağlanmıştır. Ardından 1 mL SF çözeltilisi içeren deney tüplerine alınmıştır. Nitroselüloz membran yüzeyine tutunmuş olan bakterilerin alınması amacıyla bu tüpler 30 saniye ultrasonik banyoda karıştırılmış ve 5 dakika banyo içerisinde tutulmuştur. Bu işlemlerin 3 defa tekrarlanmasının ardından tüpteki sıvıdan 0,1 mL alınan örnek TSA'a ekilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda oluşan bakteri kolonileri sayılmıştır.

8. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

8.1. Poli(allilguanidin hidroklorür)'ün Sentezi



Şekil 8.1: PAIG sentez mekanizması

PAIAm'ün hazırlanan asidik çözeltisine eklenen siyanamid asidik ortamda nitril grubunun azot üzerine açılan bağ nedeniyle karbon üzerinden PAIAm'ün amin grubuna katılmasıyla poli(allilguanidin hidroklorür) elde edilmiştir. 24 saatlik reaksiyon süresi sabit tutularak farklı oranlarda eklenen siyanamid ile elde edilen yapılar için elementel analiz sonuçları Çizelge 8.1'de verilmiştir.

Çizelge 8.1: Elementel analiz sonuçları

	PAIAm:siyanamid mol oranları	%N	%C	%H	%Cl (farktan hesaplanan)
PAIAm		13.97	36.96	8.96	40.11
PAIG1	1:1,2	20.64	29.13	8.96	41.26
PAIG2	1:1,8	22.69	29.47	8.63	39.20
PAIG3	1:2,6	24.33	28.27	7.49	39.92
PAIG4	1:5,2	25.41	24.87	7.46	42.27

PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için elementel analiz ile elde edilen %N değerleri üzerinden dönüşüm oranları hesaplanmıştır (Çizelge 8.2).

Çizelge 8.2: Yapıların içerdikleri azot ve hesaplanan dönüşüm yüzdeleri

	% N	% Dönüşüm
PAIG1	% 20,64	% 45
PAIG2	% 22,69	% 71
PAIG3	% 24,33	% 98
PAIG4	% 25,41	% 121

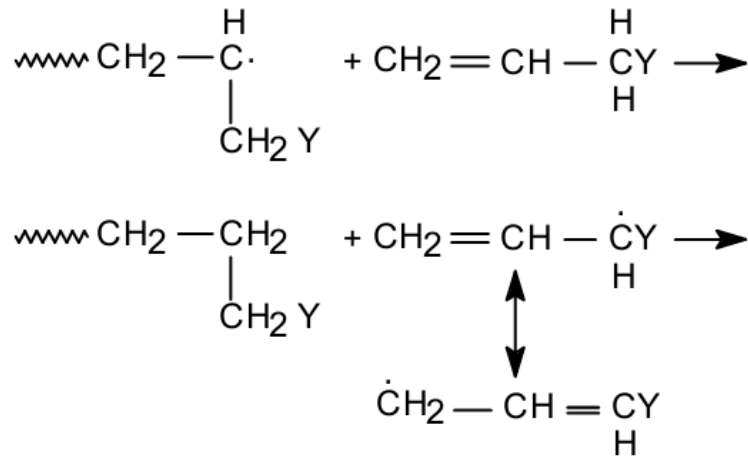
Çizelge 8.2'deki sonuçlara göre sabit reaksiyon süresinde, artan siyanamid oranı daha fazla nitril grubunun polimer zinciri üzerinde daha fazla amin grubu ile etkileşerek dönüşümün artmasını sağlamaktadır.

8.2. Polimerlerin Yapısal Karakterizasyonu

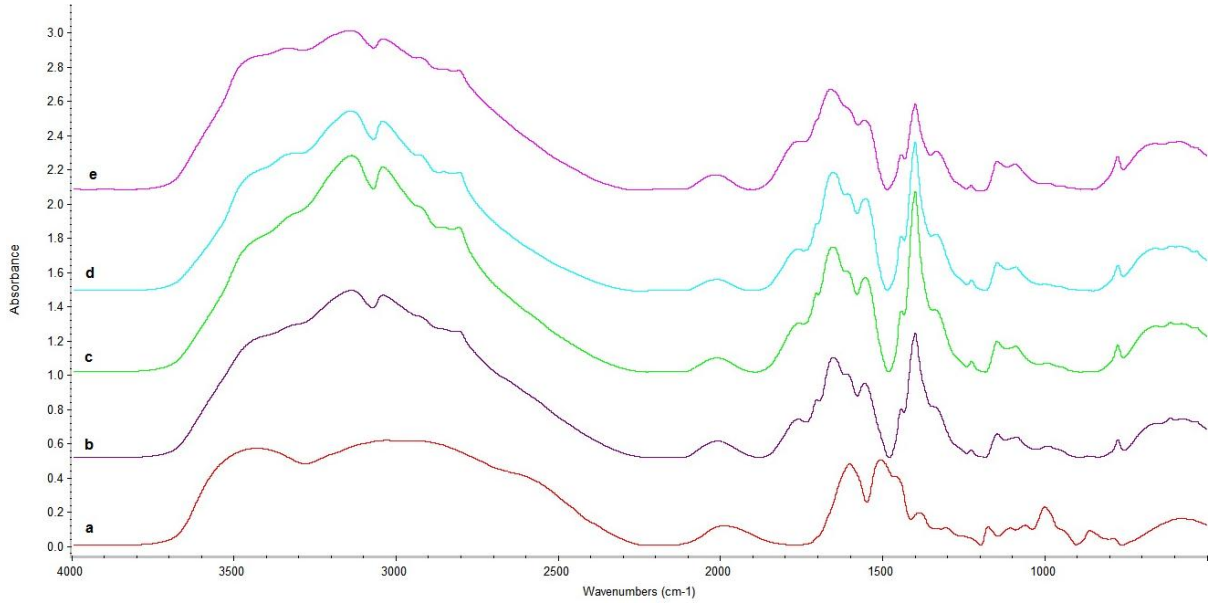
8.2.1. FT-IR Spektroskopisi

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 polimerlerinin yapısal karakterizasyonu için 2 mg polimer 100 mg KBr ile karıştırılarak hazırlanan peletlerin FT-IR spektrumları alınmıştır.

Şekil 8.3 (a)'da PAIAm'e ait spektrumda 3430 cm^{-1} de protonlanmış amin grubuna ait N-H gerilme titreşimi gözlenmektedir. $3060\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ de yayvan olarak görülen pik C-H gerilme titreşimidir. Allil monomerlerinin polimerleşmesinde karşılaşılan allil radikallerinin rezonans kararlılığı nedeniyle meydana gelen degradatif zincir transferi sonucu ana zincir üzerinde kalmış C=C bağına ait pik 1605 cm^{-1} de gözlenmiştir (Şekil 8.2) [89]. 1510 cm^{-1} dalga sayısında N-H bükülme bandı gözlenmiştir [90]. C-H bükülme titreşimine ait bantlar $1460\text{-}1380\text{ cm}^{-1}$ de gözlenmiştir. 1305 ve 1005 cm^{-1} de C-N gerilme titreşimine ait bantlar gözlenmiştir (Çizelge 8.3).



Şekil 8.2: Allilik monomerlerde degradatif zincir transferi [89]



Şekil 8.3: Polimerlerin FT-IR spektrumları a)PAIAm, b)PAIG1, c)PAIG2, d)PAIG3, e)PAIG4

Çizelge 8.3: PAIAm'a ait spesifik bantların dalga sayıları

Dalga Sayısı (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri	Dalga Sayısı (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri
3430	ν N-H	1460	δ C-H
3060-2800	ν C-H	1400	ν C-N
1605	ν C=C	1150	ν C-N-C
1510	δ N-H		

Şekil 8.3 (b), (c), (d), (e) sırasıyla PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 polimerlerine ait spektrumları göstermektedir. 3450-3130 cm^{-1} aralığındaki geniş omuzlu pik N-H gerilme titreşimlerine aittir. 3000-2800 cm^{-1} dalga sayısındaki bantlar ise C-H gerilme titreşimlerine aittir. 1760 cm^{-1} de yer alan pik ise amidin klorür yapısından kaynaklanmaktadır. Amin yapısının guanidine dönüşmesiyle oluşan C=N bağına ait bant 1705 cm^{-1} de gözlenmiştir [18]. 1400 cm^{-1} de arttığı gözlenen pik C-N bağına ait gerilme titreşimidir. 1150 cm^{-1} de yeni oluşan pik C-N-C bağlarına ait gerilme titreşimidir (Çizelge 8.4) [91].

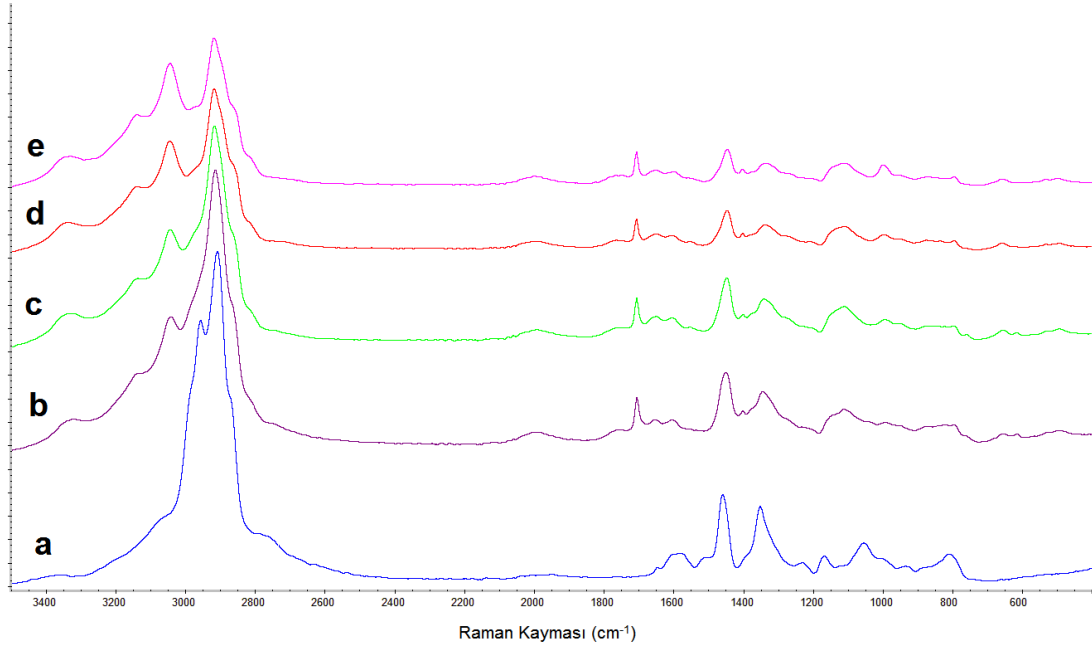
FT-IR sonuçlarına göre 1760, 1705, 1150 cm^{-1} de sırasıyla gözlenen $-\text{C}(\text{NH})_2^+\text{Cl}^-$, C=N, C-N-C bağlarına ait bantlar yapının başarıyla guanidinleştirildiğini göstermektedir.

Çizelge 8.4: PAIG'e ait spesifik bantların dalga sayıları

Dalga Sayısı (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri	Dalga Sayısı (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri
3450-3130	ν N-H	1550	δ N-H
3000-2800	ν C-H	1450-1400	δ C-H
1760	ν $-\text{C}(\text{NH}_2)^+\text{Cl}^-$	1340	ν C-N
1705	ν C=N	1150	ν C-N-C
1650-1605	ν C=C		

8.2.2. FT-Raman Spektroskopisi

PAIAm ve modifikasyon sonrası elde edilen PAIG polimerleri için allil grubundan kaynaklanan degradatif zincir transferi nedeniyle yapıda kalabilecek Raman aktif C=C bağlarının ve bu bağlarda meydana gelebilecek değişimlerin gözlenebilmesi için polimerlerin Raman spektrumları alınmıştır.



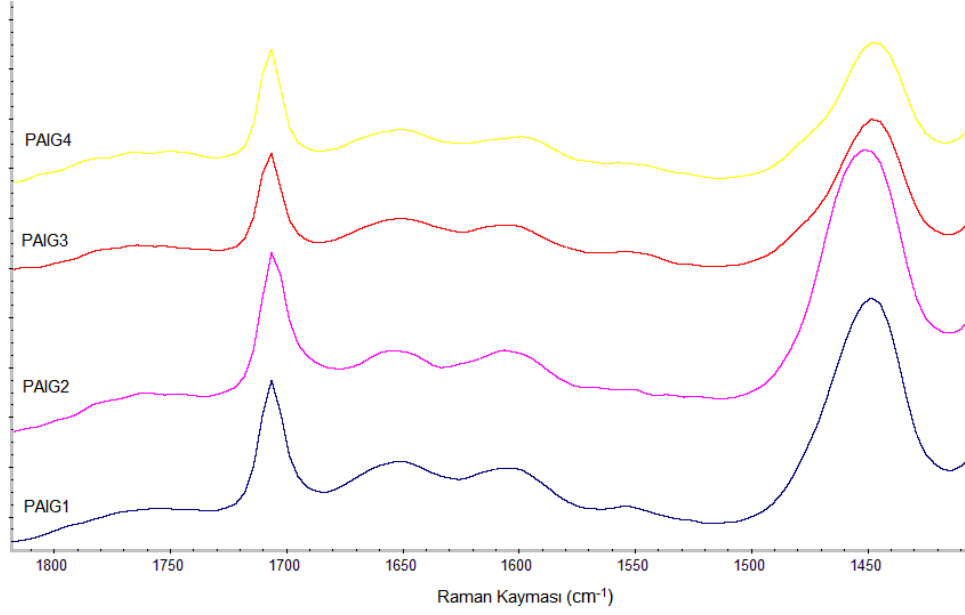
Şekil 8.4: Polimerlere ait Raman spektrumları a) PAIAm, b) PAIG1, c) PAIG2, d) PAIG3, e) PAIG4

PAIAm spektrumunda 3000 cm^{-1} civarında omuz olarak gözlenen N-H gerilme bandı PAIG spektrumlarında $3100\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ arasında üç ayrı pik olarak gözlenmektedir. Dönüşüm sonrası oluşan $\text{-C(NH)}_2^+\text{Cl}^-$ ve C=N bağları sırasıyla 1760 ve 1705 cm^{-1} de gözlenmiştir [18].

Degradatif zincir aktarımı nedeniyle PAIAm yapısı içerisinde kalmış C=C bağlarından kaynaklanan gerilme bandı $1600\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ gözlenmiştir [89]. Modifikasyon sonrası $1605\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ gözlenen bantlar C=C bağlarının büyük oranda korunduğu bu pik alanlarının yapıda değişmeden kalan -CH gruplarının bükülmesinden kaynaklanan 1450 cm^{-1} deki pik alanına oranlanarak bulunan indeks değerinden görülmüştür. Bu değerler PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için sırasıyla 0,51, 0,22, 0,37, 0,41, 0,43 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 8.5, 8.6).

Çizelge 8.5: PAIAm'a ait spesifik bantlar için Raman Kaymaları

Raman Kayması (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri	Raman Kayması (cm^{-1})	Bağlar ve Titreşim Hareketleri
3375	ν N-H	1460	δ C-H
3000-2800	ν C-H	1350	δ C-N
1645-1590	ν C=C	1165	ν N-H
1510	δ N-H		



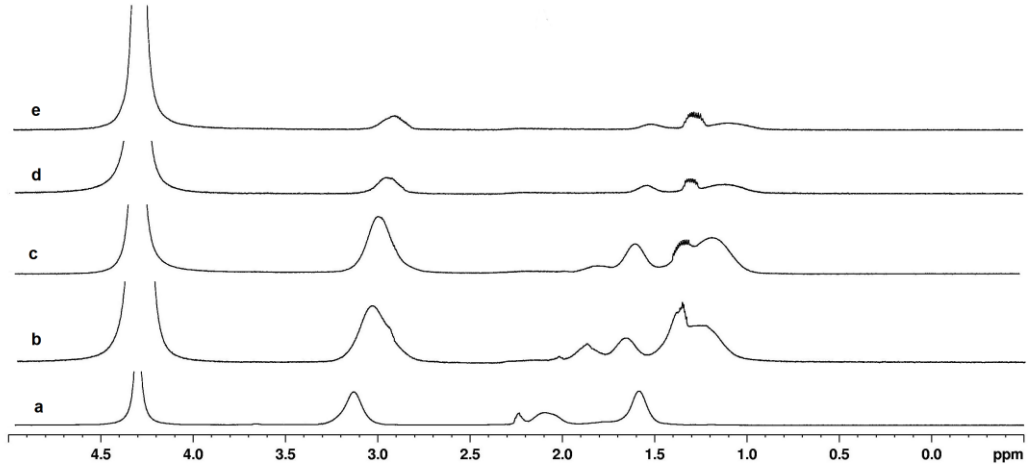
Şekil 8.5: Raman spektrumunda 1705 cm⁻¹ C=N/ 1450 cm-1 C-H bantları

Modifikasyonun Raman spektrumu üzerinden görülmesi amacıyla dönüşüm sonrası yapıda oluşan C=N bağına ait 1705 cm⁻¹ deki pik alanının yapıda dönüşüm öncesi ve sonrası çok sayıda olduğu için iç standart olarak kullanılabilir C-H bağına ait 1450 cm⁻¹ deki pik alanına oranlanmasıyla C=N indeksleri bulunmuştur. PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için elde edilen C=N indeksleri sırasıyla 0,21, 0,23, 0,27, 0,34 olarak bulunmuştur. Artan siyanamit oranıyla elde edilen PAIG yapıları için artan C=N indeksleri dönüşümün siyanamit miktarıyla arttığını göstermektedir.

Çizelge 8.6: PAIG'de bazı spesifik gruplara ait Raman kaymaları

Raman Kayması (cm ⁻¹)	Bağlar ve Titreşim Hareketleri	Raman Kayması (cm ⁻¹)	Bağlar ve Titreşim Hareketleri
3040-3330	ν N-H	1445	δ C-H
2800-2900	ν C-H	1330	δ C-N
1760	ν -C(NH) ₂ ⁺ Cl ⁻	1150	ν N-H
1705	ν C=N	800-875	ν C-C
1605-1650	ν C=C		

8.2.3. NMR spektroskopisi



Şekil 8.6: Polimerlere ait 70 °C'de ¹H-NMR spektrumları a) PAIAm, b) PAIG1, c) PAIG2, d) PAIG3, e) PAIG4

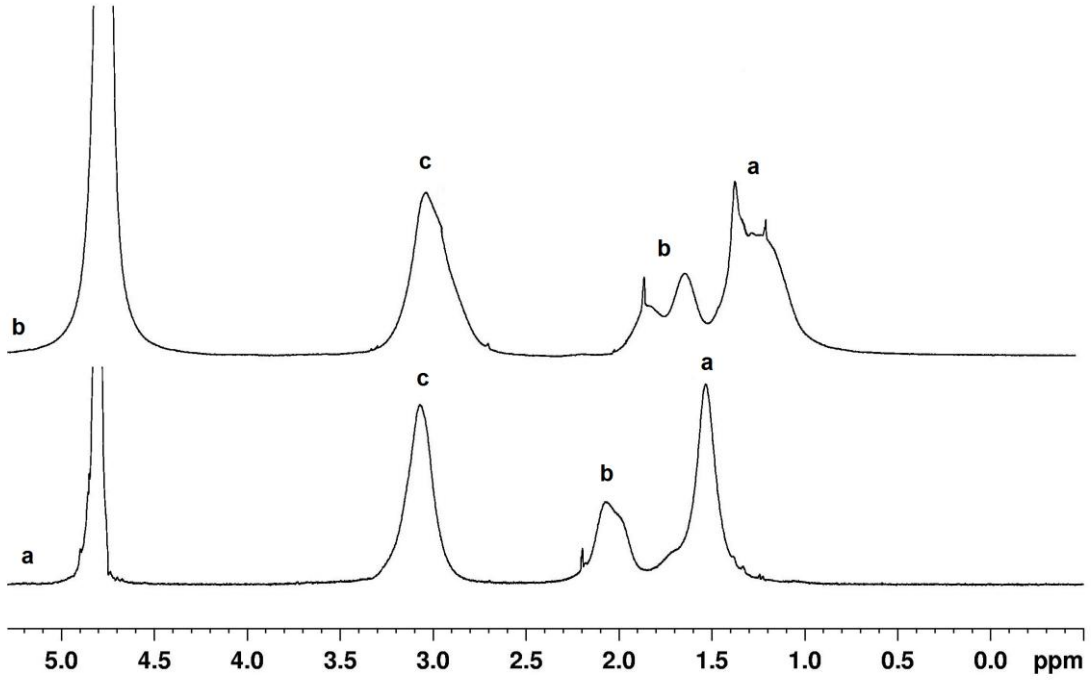
PAIG yapıları için dönüşüm arttıkça çözünürlük azaldığı için piklerdeki kaymaların takip edilebilmesi amacıyla tüm spektrumlar 70 °C'de alınmıştır (Şekil 8.6). İç standart kullanılmadan alınan spektrumlarda kaymalar bu sıcaklıktaki D₂O pikine (4,3 ppm) göre belirlenmiştir [92].



Şekil 8.7: PAIAm ve PAIG yapıları

Şekil 8.6-a'da PAIAm'e ait ¹H-NMR spektrumunda a, b, c (şekil 8.7) protonları sırasıyla 1,6, 2-2,3, 3-3,3 ppm de gözlenmiştir. b, c, d, e spektrumlarında artan dönüşümle birlikte tüm piklerin yüksek alana kaydığı gözlenmiştir. PAIAm'e ait spektrumda degradatif büyümeden kaynaklanan, yapıda olduğu FT-IR ve FT-Raman spektrumlarında gözlenen CH=CH protonları sıcaklık nedeniyle gözlenememiştir. Fakat PAIG yapılarında ise 1,1-1,5 ppm'de (a) protonuna ait piklerde gözlenen ve artan dönüşüm ile belirginleşen pikin degradatif zincir

transferinden kaynaklanan CH= protonuna ait olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle PAIAm ve PAIG1 için D₂O ile 25 °C ¹H-NMR alınmıştır (Şekil 8.8).



Şekil 8.8: 25 °C'de D₂O ile alınan PAIAm (a), PAIG1 (b) ¹H-NMR spektrumları

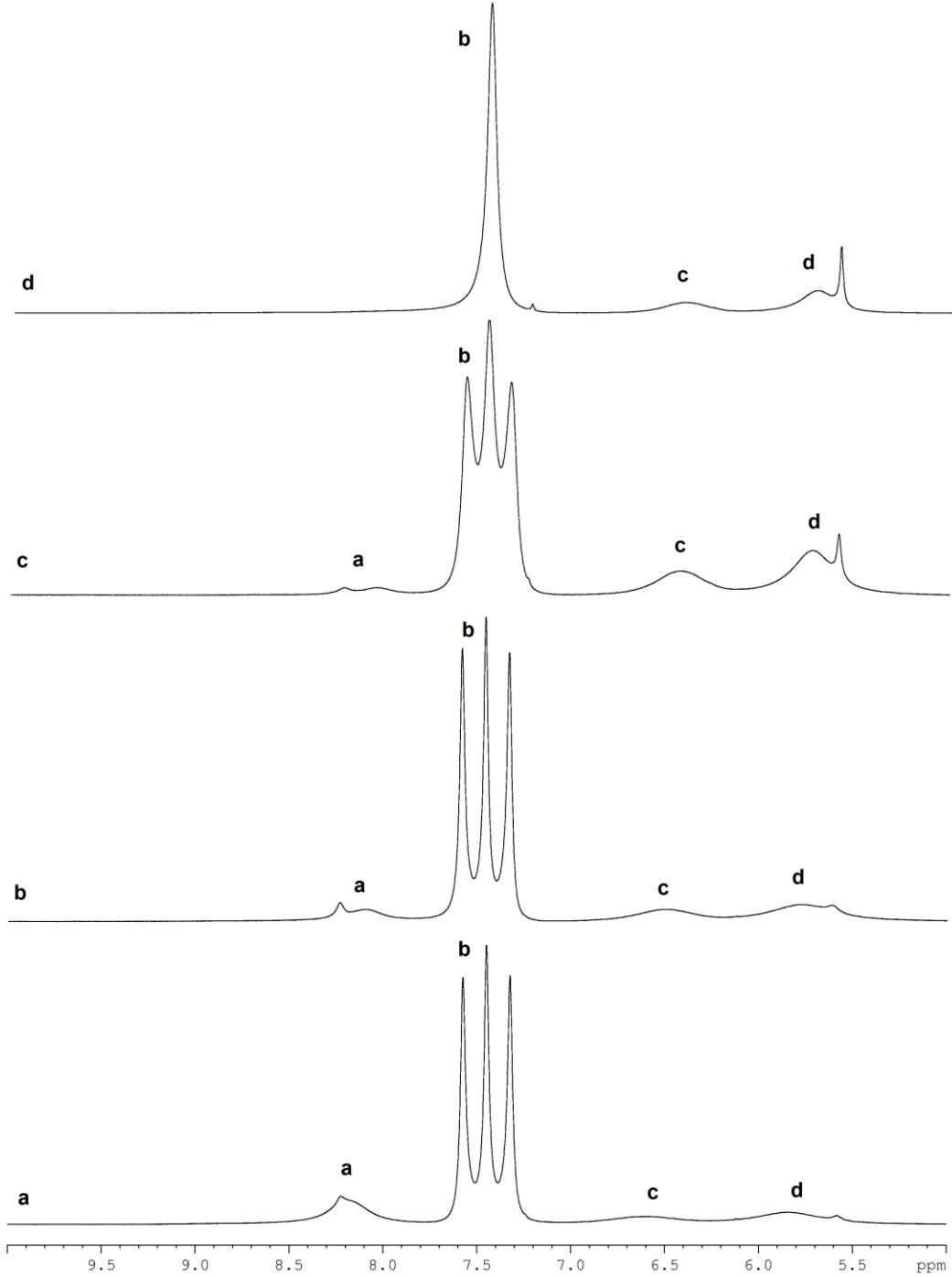
Şekil 8.8'de verilen spektrumlar incelendiğinde PAIAm'e ait (a) spektrumunda 3.1 ppm deki simetrik pik allil karbonuna ait protonlardan kaynaklanmaktadır. Degredatif büyümeden kaynaklanan bir omuz gözlenmemiştir. 1,9-2,1 ppm'deki omuzlu pik ana zincir üzerindeki –CH protonundan kaynaklanmaktadır [89]. Omuzun nedeni olarak kuyruk-baş, kuyruk-kuyruk konformasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Dönüşümün ardından PAIG1'e ait spektrumda (b) aynı karbona ait pik 1,5-2 ppm arasında ayrı 2 pik olarak gözlenmiştir. Amin grubuna bağlanan guanidin yapısının sterik etkisi nedeniyle konformasyon farkını daha belirgin hale getirdiği düşünülmektedir. (a) spektrumunda 1,3-1,6 ppm arasında ana zincir üzerindeki –CH₂ protonları gözlenmektedir [93]. Bu pikin ardından 1,7 ppm de gözlenen pikin de konformasyon nedeniyle olduğu düşünülmektedir. (b) spektumunda PALG1'e ait ana zincir üzerinde yer alan –CH₂ protonuna ait pik 1-1,5 ppm'de gözlenmektedir ve konformasyondan kaynaklandığı düşünülen omuz PAIAm'e ait spektrumdan sterik etki nedeniyle daha belirgin durumdadır.

PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 yapıları içindeki farklı karakterde bulunan amin ve imin protonları için *d*-DMSO kullanılarak ¹H-NMR spektrumları alınmıştır (Şekil 8.10). PAIAm'deki birincil amin (a), PAIG'deki birincil amin (d), ikincil amin (b) ve imin (c) protonları şekil 8.9'daki gibi işaretlenmiştir.



Şekil 8.9: PAIAm ve PAIG yapıları

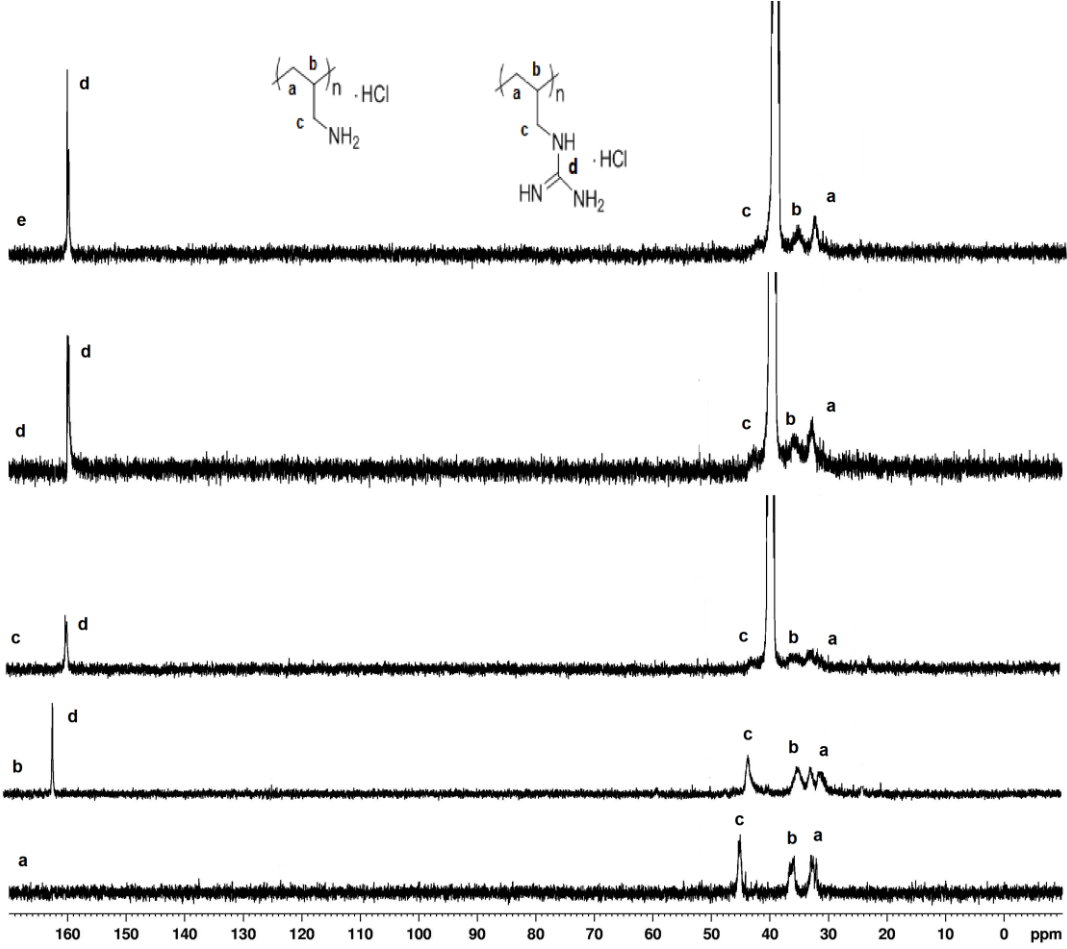
Şekil 8.10-(a),(b),(c) spektrumlarında 8-8,4 ppm'de yapıda dönüşmeden kalmış PAIAm'den kaynaklanan birincil amin(a) protonları gözlenmiştir ve şiddeti artan dönüşümle azalmıştır. (d) spektrumu en yüksek dönüşümün sağlandığı PAIG4 yapısına aittir, bu spektrumda (a) protonları gözlenmemiştir. PAIG'deki ikincil amin protonu(b) komşu allil karbonundaki 2 proton nedeniyle (a), (b), (c) spektrumlarında üçe yarılmış olarak 7,2-7,6 ppm'de gözlenmektedir. PAIG4 spektrumunda ise tek pik olarak gözlenmiştir. PAIG yapısındaki imin(c) ve birincil amin protonları (d) sırasıyla 6,3-6,5 ve 5,5-6 ppm'de gözlenmiştir. Artan dönüşümle bu piklerin belirginlikleri artmıştır [94].



Şekil 8.10: *d*-DMSO ile alınan ^1H -NMR spektrumları (5-10 ppm arası) (a) PAIG1, (b) PAIG2, (c) PAIG3, (d) PAIG4

D_2O ((a) PAIG1) ve *d*-DMSO ((c) PAIG2, (d) PAIG3, (e) PAIG4) ile alınan ^{13}C -NMR spektrumları Şekil 8.11'de verilmiştir. PAIG1'e ait spektrumda ana zincir üzerinde bulunan (a) $-\text{CH}_2$, (b) $-\text{CH}$ ve allil (c) $-\text{CH}_2$ karbonlarına ait pikler sırasıyla 32, 36 ve 45 ppm'de gözlenmiştir. (a) karbonu ikili olarak gözlenmektedir ve PAIG1'e ait spektrumda bu durum daha net gözlenmiştir ve yine konformasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. PAIG2, PAIG3 ve PAIG4

sudaki çözünürlükleri azaldığı için *d*-DMSO kullanılarak NMR spektrumları alınmıştır. 39 ppm'de çözücü piki gözlenmektedir. PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 yapıları için (a), (b), (c) karbonları sırasıyla 32, 35, 43 ppm'de gözlenmiştir. Yapının guanidinleştiğinin en önemli kanıtı –C=N- karbonuna ait 160 ppm civarındaki piktir [18]. PAIG1 için 162 ppm'de gözlenen bu pik artan dönüşümle yüksek alana doğru ufak kaymalar göstermiştir. PAIG4 için 159 ppm'de gözlenmiştir.



Şekil 8.11: (a) PAIAm, (b) PAIG1 (D₂O içerisinde), (c) PAIG2, (d) PAIG3, (e) PAIG4 (*d*-DMSO içerisinde) ¹³C-NMR spektrumları

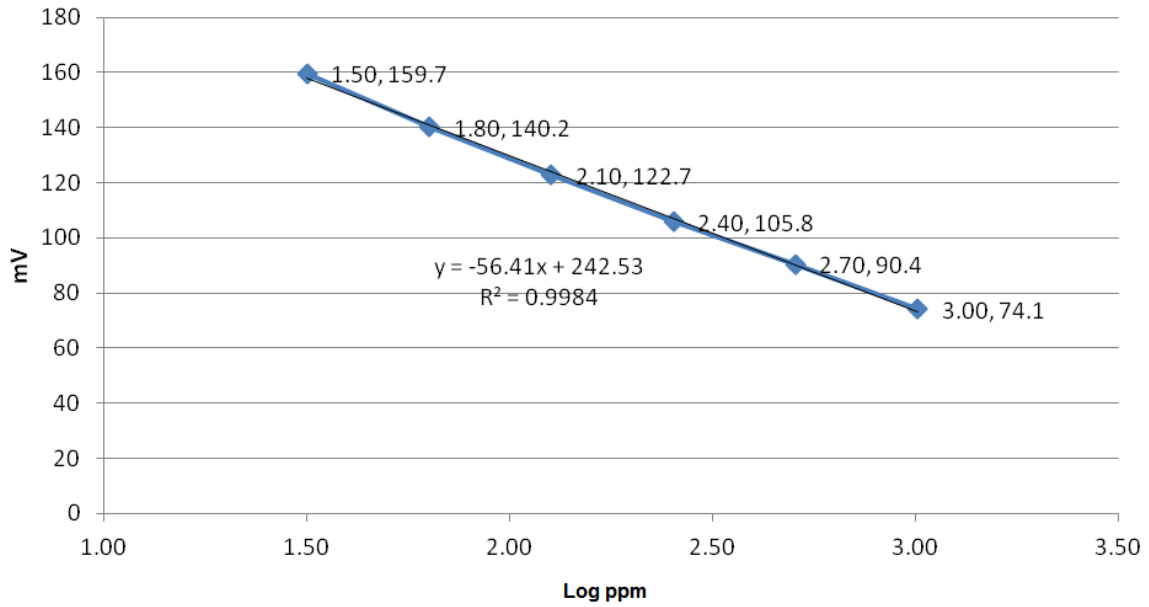
Yapılan spektroskopik analizlerle PAIAm'ün PAIG'e dönüşümü gösterilmiştir. FT-IR ve FT-Raman analizlerinde 1760, 1705 cm⁻¹ de sırasıyla gözlenen –C(NH)₂⁺Cl⁻, C=N, bağlarına ait bantlar, ayrıca PAIG yapılarına ait FT-IR spektrumlarında 1150 cm⁻¹ de gözlenen C-N-C bağına ait bantlar yapının guanidinleştirildiğini göstermektedir. *d*-DMSO ile yapılan ¹H-NMR analizlerinde guanidin yapısındaki birincil, ikincil amin ve imin protonlarının dönüşümle değişimi gözlenmiştir. PAIAm yapısındaki birincil amin protonlarının artan dönüşümle azaldığı, PAIG4

spektrumunda tamamen kaybolduğu gözlenmiştir. ¹³C-NMR spektrumlarında ise guanidin karbonundan kaynaklanan pik 159-162 ppm arasında gözlenmiştir.

8.3. Polimerlerin Çözelti Davranışlarının İncelenmesi

8.3.1. Klor Elektrodu ile Çalışma

Orion klor elektrodu polimer çözeltilerinde bulunan serbest klor miktarının bulunması için kullanılmıştır. 1011, 505,5, 252,8, 126,4, 63,2, 31,6 ppm'lik klor çözeltilerinden okunan potansiyel (mV) değerleri ile kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır (Şekil 8.12). Çözeltilerden okunan potansiyel (mV) değerleri ile kalibrasyon eğrisi kullanılarak çözelti içerisindeki serbest klor derişimleri bulunmuştur.



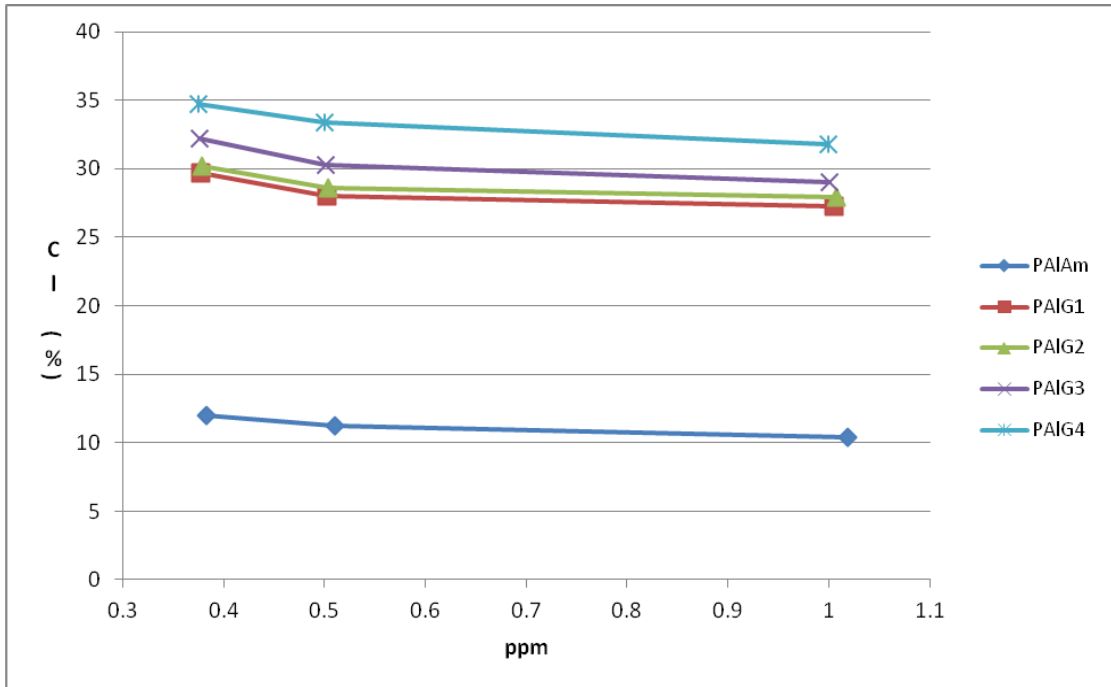
Şekil 8.12: Klor elektrodu için kalibrasyon eğrisi

Polimer çözeltilerinin derişimiyle değişen klor miktarları Çizelge 8.7'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre polimerler seyreltik çözelti içerisinde daha fazla ayrışarak çözeltiliye daha fazla klor vermektedir. Ayrıca PAIAm'den PAIG'e dönüşüm klor miktarında yaklaşık 3 kat artışa neden olmuştur. Bu artış PAIG yapısı için protonlanan azot grubunun PAIAm'dan fazla olduğunu göstermektedir. PAIG yapıları içerisinde dönüşümün artması çözeltiliye geçen klor miktarında küçük artışlara neden olmuştur.

Çizelge 8.7: Polimer yapısından çözeltiliye geçen klor oranları

	PAIAm	PAIG1	PAIG2	PAIG3	PAIG4
C (mg/mL)	1,019	1,005	1,008	1,001	1
% Cl ⁻	10.4	27.3	27.9	29	31.8
C (mg/mL)	0,51	0,503	0,504	0,501	0,5
% Cl ⁻	11.2	28.0	28.6	30.3	33.4
C (mg/mL)	0,383	0,377	0,378	0,376	0,375
% Cl ⁻	12.0	29.7	30.2	32.2	34.7

Kalibrasyon eğrisinden elde edilen klor yüzdelerinin polimer derişimi ile değişimi Şekil 8.13'te verilmiştir. Bu grafik üzerinden derişim 0'a ekstrapole edilerek klor oranları PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için sırasıyla 12,6, 30,3, 30,7, 33,2 ve 35,9 olarak bulunmuştur. Bu verilerin deneysel olarak ölçülen en düşük derişimdeki klor oranlarına oldukça yakın olduğu görülmüştür.



Şekil 8.13: Çözeltide polimer derişimi ile değişen klor oranları

8.3.2. Dinamik Işık Saçılımı

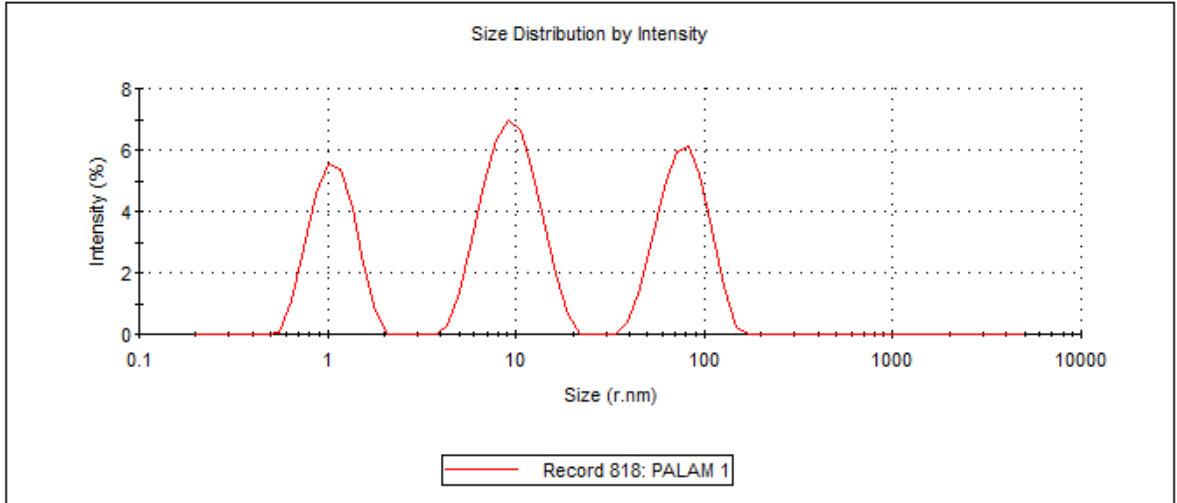
PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için artan guanidin dönüşüm oranının polimerin çözelti içerisindeki davranışları üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla dinamik ışık saçılması yöntemi kullanılmıştır.

Çizelge 8.8 ve şekil 8.14'de 1 mg/mL PAIAm çözeltisi içerisinde 1, 10 ve 80 nm boyutlarında, oranlarının sırasıyla %26, 41 ve 32 olduğu farklı yumakların bulunduğu görülmektedir. Bu duruma hidrofobik etkileşimlerle polimer zincirlerinin farklı kümeler halinde yumaklaşmasının neden olduğu düşünülmektedir. 1 nm civarındaki yumakların degradatif zincir transferi nedeniyle ortamda bulunan oligomerler olduğu tahmin edilmektedir.

Çizelge 8.8: 1 mg/mL PAIAm çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (r.nm): 97,34	Peak 1: 9,795	41,3	3,127
Pdl: 0,306	Peak 2: 79,60	32,2	22,07
Intercept: 0,451	Peak 3: 1,095	26,5	0,2762

Result quality : Refer to quality report

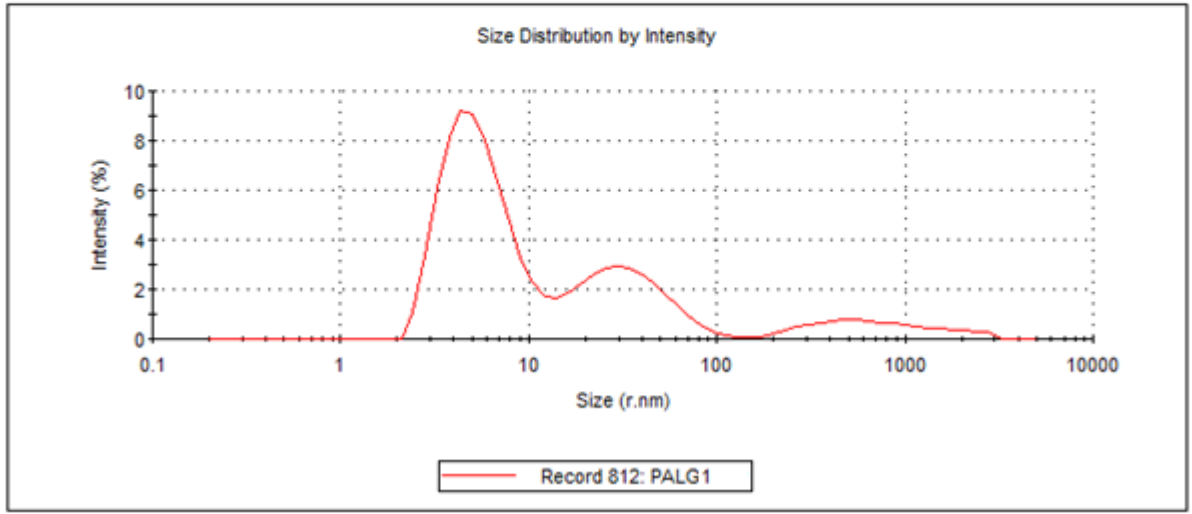


Şekil 8.14: 1 mg/mL PAIAm çözeltisinin DLS analizi

Çizelge 8.9'da, şekil 8.15'te 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisinde 6, 36, 858 nm boyutlarındaki yumakların, %64, 26 ve 10 oranlarında olduğu görülmektedir. Yumakların boyutunda meydana gelen artışın guanidin dönüşümü ile artan yan grup hacmi ve hidrofobik etkileşimler nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 8.9: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (r.nm): 7,231	Peak 1: 5,748	63,8	2,589
Pdl: 0,452	Peak 2: 35,31	26,5	18,28
Intercept: 0,816	Peak 3: 857,8	9,7	645,5
Result quality: Good			

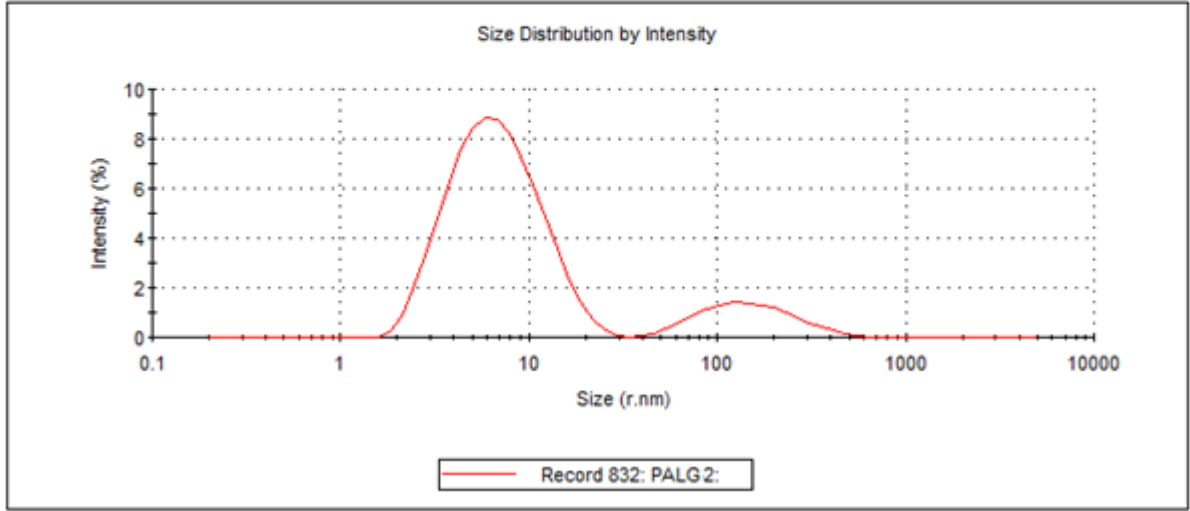


Şekil 8.15: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisinin DLS analizi

Çizelge 8.10'da, şekil 8.16'da 1 mg/mL PAIG2 çözeltisi içerisinde 7 ve 162 nm boyutlarındaki yumakların %86 ve 14 oranlarında olduğu görülmektedir. Artan guanidin grupları nedeniyle yumak boyutlarındaki artışın devam ettiği gözlenmektedir.

Çizelge 8.10: 1 mg/mL PAIG2 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (r.nm): 6,474	Peak 1: 7,396	85,9	4,084
Pdl: 0,356	Peak 2: 162,4	14,1	92,00
Intercept: 0,842	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			

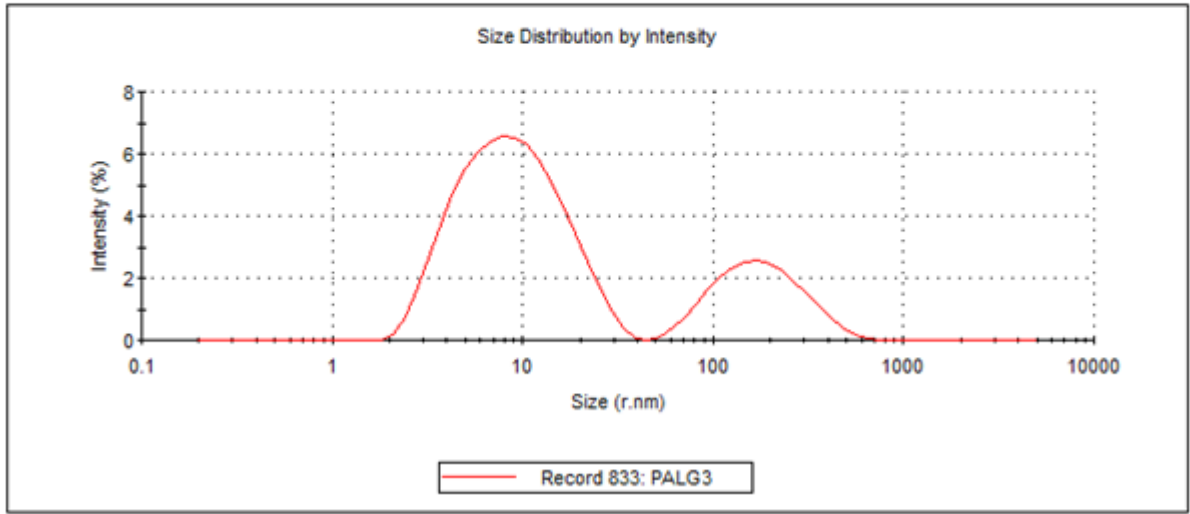


Şekil 8.16: 1 mg/mL PAIG2 çözeltisinin DLS analizi

Çizelge 8.11'de, şekil 8.17'de 1 mg/mL PAIG3 çözeltisi içerisinde 10 ve 194 nm boyutlarındaki yumakların %76 ve %24 oranlarında olduğu ve guanidin gruplarındaki artışın yumaklar üzerindeki etkisinin PAIG1 ve PAIG2 örnekleri üzerindeki etki ile paralel olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 8.11: 1 mg/mL PAIG3 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (r.nm): 9,580	Peak 1: 9,954	75,7	6,141
Pdl: 0,501	Peak 2: 194,0	24,3	101,6
Intercept: 0,748	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			

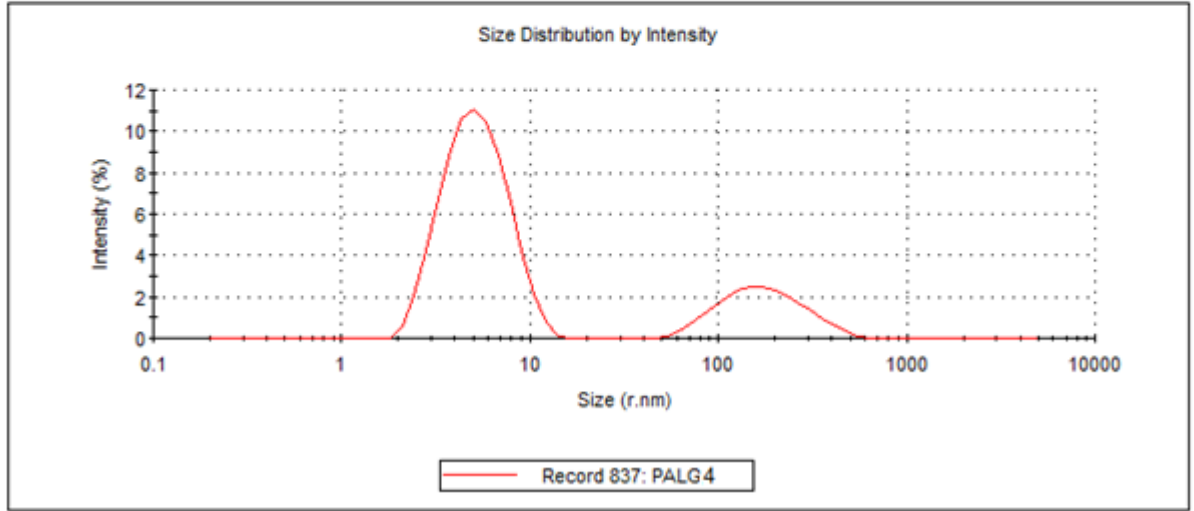


Şekil 8.17: 1 mg/mL PAIG3 çözeltisinin DLS analizi

Çizelge 8.12'de, şekil 8.18'de 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi içerisinde 5 ve 188 nm boyutlarındaki yumakların %77 ve %23 oranlarında olduğu görülmektedir. Yumak boyutundaki bu azalmadan polimer zincirinde artan guanidin gruplarının hidrofobikliği arttırdığı anlaşılmaktadır.

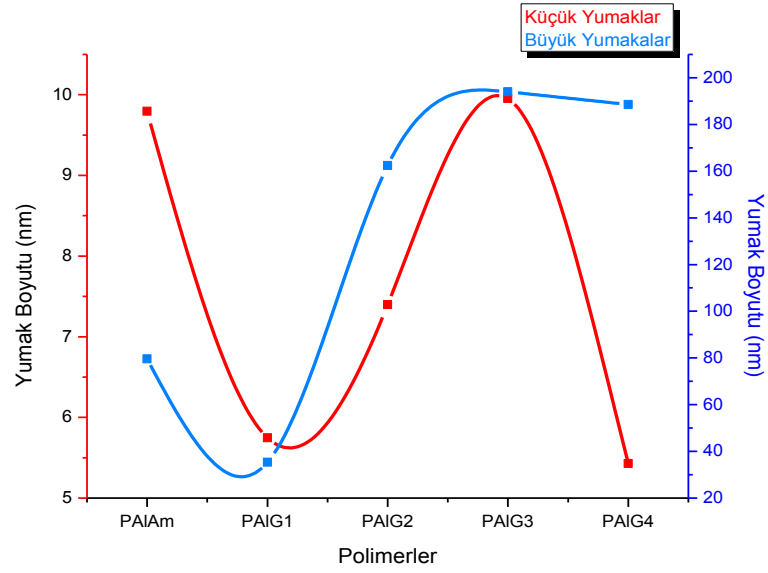
Çizelge 8.12: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi içerisindeki yumak dağılımı

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (r.nm): 5,894	Peak 1: 5,427	77,4	2,073
Pdl: 0,391	Peak 2: 188,5	22,6	95,41
Intercept: 0,787	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			



Şekil 8.18: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisinin DLS analizi

DLS sonuçlarına göre çizilen grafikte (Şekil 8.19) yumak boyutlarının dönüşüm ile değişimi izlenmiştir. Buna göre 1 mg/mL olarak hazırlanan PAIG1, PAIG2 ve PAIG3 için küçük yumak boyutlarının dönüşümle yapıda artan iyonik karakter arttığı için arttığı PAIG4 için ise artan iyonik karakterle birlikte artan hidrofobiklik nedeniyle azaldığı gözlenmiştir. PAIAM ile kıyaslandığında PAIG1, PAIG2 ve PAIG4 için yumak boyutlarının daha küçük olduğu, PAIG3 için aynı olduğu gözlenmiştir. Büyük yumak boyutlarında da PAIG1 ve PAIG2 yapıları arasında benzer bir davranış olduğu gözlenmiştir. PAIG3 ve PAIG4 yumaklarının çok fazla değişmediği gözlenmiştir.



Şekil 8.19: Polimer dönüşümleri ve yumak boyutları arasındaki ilişki

8.3.3. Zeta Potansiyeli

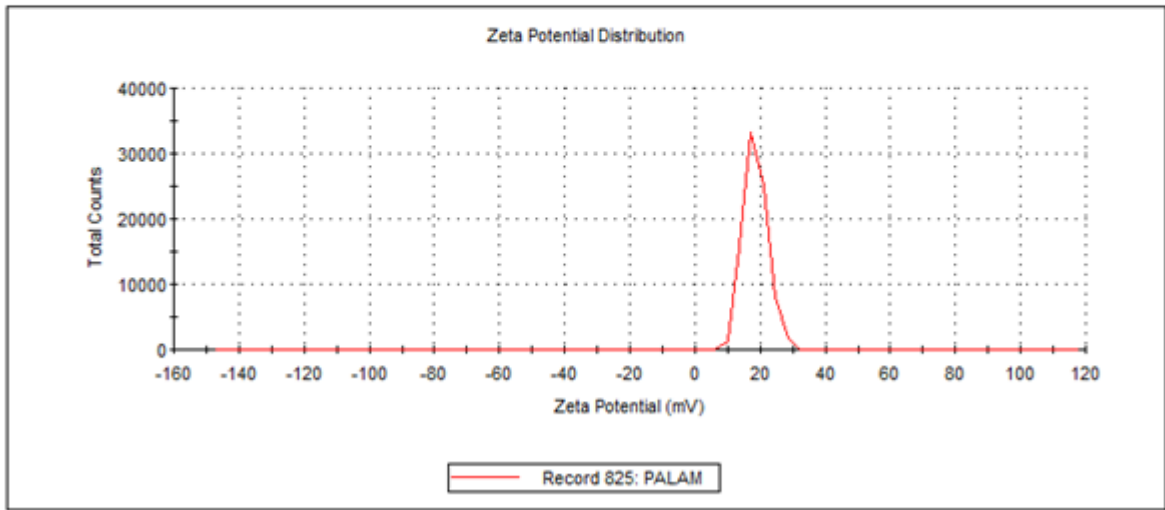
Polimer zincirlerinin taşıdığı yükün yumak yapısına olan etkisini görmek amacıyla PAIAM, PAIG1 ve PAIG4 için zeta potansiyelleri ölçülmüştür.

Çizelge 8.13'te ve şekil 8.20'de 1 mg/mL PAIAM çözeltisi içerisindeki zeta potansiyelinin homojen olarak 18,6 mV olduğu görülmektedir. Bu durum PAIAM yapısında bulunan protonlanmış amin gruplarından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 8.13: 1 mg/mL PAIAM çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): 18,6	Peak 1: 18,6	100,0	3,73
Zeta Deviation (mV): 3,73	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,540	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality : Good



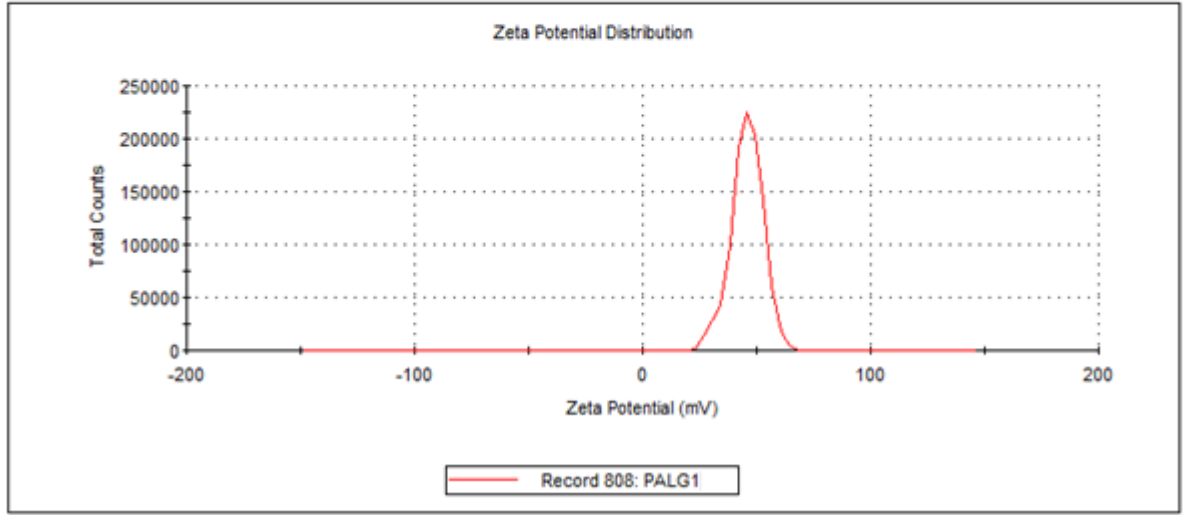
Şekil 8.20: PAIAM çözeltisi için zeta-potansiyel analizi

Çizelge 8.14'te ve şekil 8.21'de guanidin dönüşümünün %45 olduğu 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisindeki zeta potansiyelinin homojen olarak 45,8 mV'a çıktığı görülmektedir. Bu değer PAIG1 çözeltisinin PAIAm'e göre daha kararlı olduğunu göstermektedir. %45 dönüşüm oranına sahip PAIG1 yapısında artan iyonik karakter polimer yumaklarının çözücü içerisinde daha fazla dağılmasını sağlamaktadır.

Çizelge 8.14: 1 mg/mL PAIG1 çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): 45,8	Peak 1: 45,8	100,0	6,90
Zeta Deviation (mV): 6,90	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 1,34	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality : Good



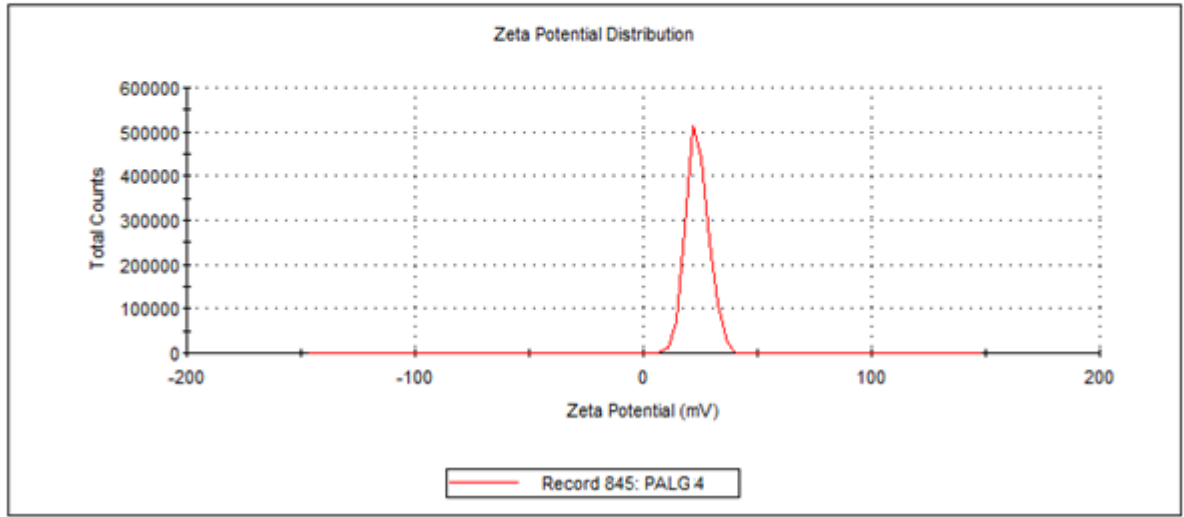
Şekil 8.21: PAIG1 çözeltisi için zeta-potansiyel analizi

Çizelge 8.15'te, Şekil 8.22'de guanidin dönüşümünün en yüksek olduğu 1 mg/mL PAIG4 çözeltisinin zeta potansiyelinin 23,7 mV olduğu görülmektedir. Artan dönüşümle çözelti kararlılığının azaldığı fakat PAIAm'e göre daha kararlı olduğu gözlenmiştir. En yüksek dönüşüm oranına sahip PAIG4 yapısında artan iyonik karakterle birlikte hidrofobik etkileşimlerin artması nedeniyle çözücü içerisinde PAIG1 kadar dağılamamaktadır.

Çizelge 8.15: 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi içerisindeki zeta potansiyel dağılımı

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): 23,7	Peak 1: 23,7	100,0	4,93
Zeta Deviation (mV): 4,93	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 1,55	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality : Good



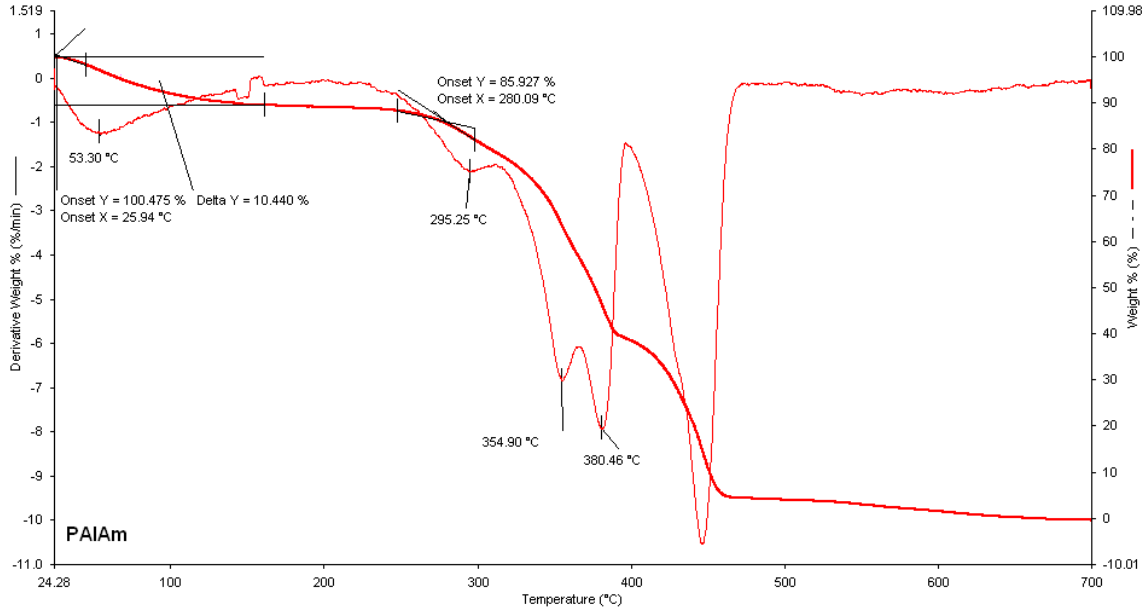
Şekil 8.22: PAIG4 çözeltisi için zeta-potansiyel analizi

Çözelti içerisindeki parçacıkların çözücü içerisinde dağılma ya da kümelenme eğilimi hakkında fikir veren zeta potansiyeli ile elde edilen bilgilere göre çözücü içerisinde en kararlı yapının PAIG1 olduğu gözlenmiştir.

8.4. Polimerlerin Termal Karakterizasyonu

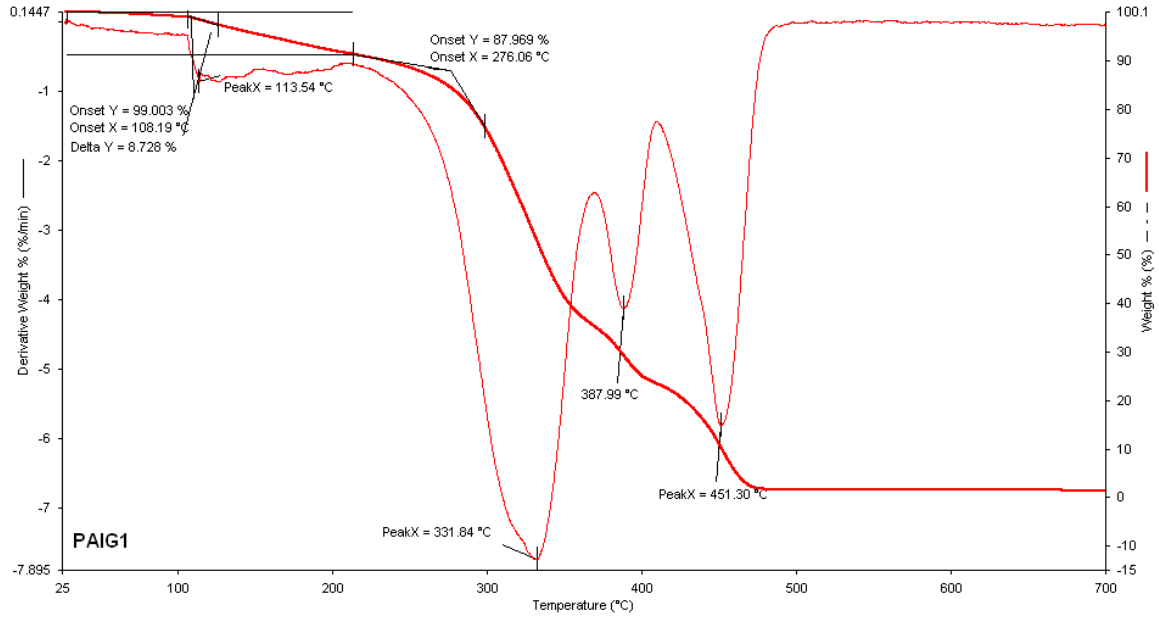
8.4.1. Termogravimetrik Analiz

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 yapılarının termal kararlılıkları termogravimetrik analiz ile belirlenmiştir. Şekil 8.23'te verilen PAIAm termogramında polimerin dört basamakta bozunduğu gözlenmiştir. Buna göre ilk bozunma 280 °C'de başlamaktadır.



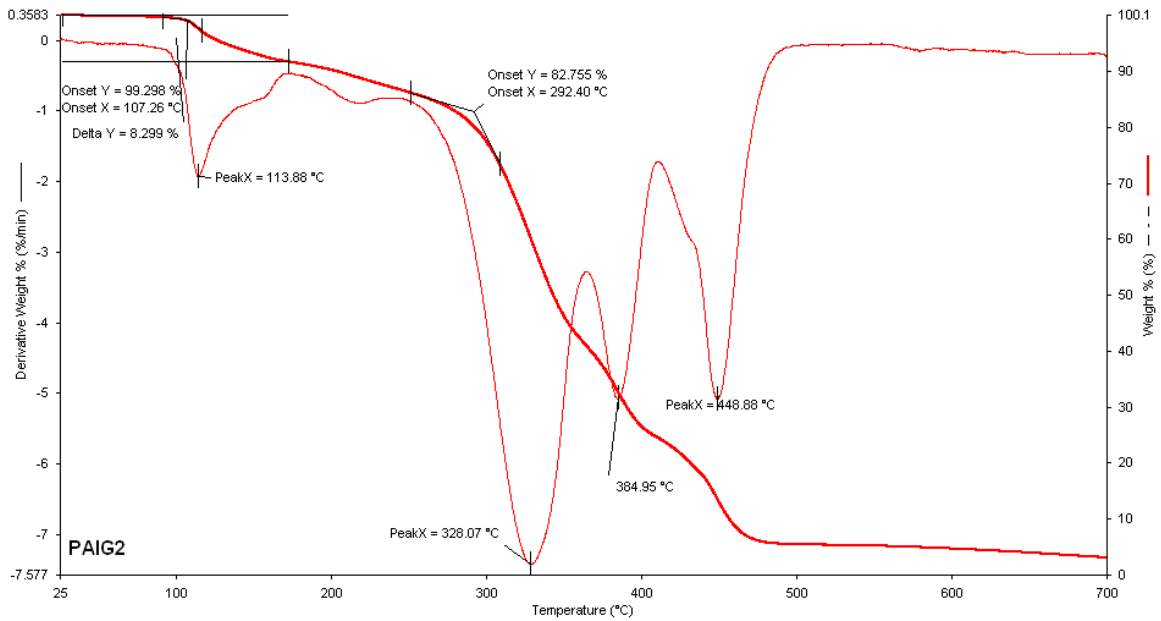
Şekil 8.23: PAIAm'e ait TGA termogramı

PAIG1 için şekil 8.24'te verilen termogramda bozunmanın dört basamakta gerçekleştiği görülmektedir. Yapıdaki nemden kaynaklandığı düşünülen ilk basamak 108 °C'de başlamakta ve kütlelerin yaklaşık %8'i kaybolmaktadır. 276 °C'de başlayan bozunma ile yapının büyük kısmı bozunmaktadır.



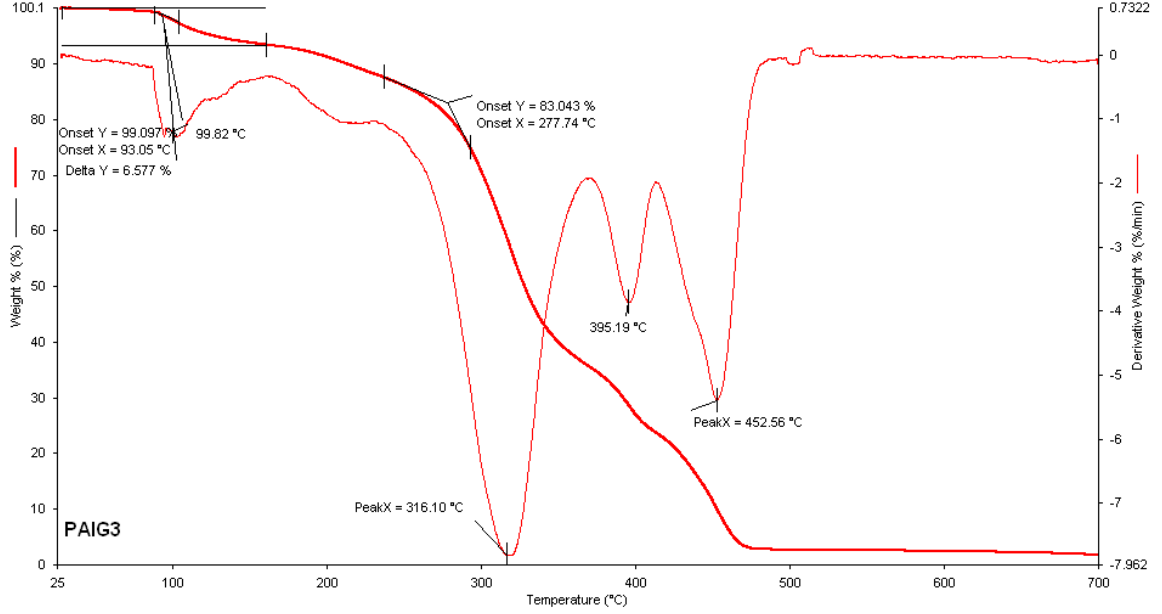
Şekil 8.24: PAIG1' e ait TGA termogramı

PAIG2 polimeri şekil 8.25'te görüldüğü gibi yapıdaki nem çıkışı 107 °C'de başlamakta ve kütlelerin %8'i kaybolmaktadır. PAIG1'de olduğu gibi PAIG2'de dört basamakta bozunmakta ve kütlelerin büyük çoğunluğu 292 °C'de başlayan bozunmayla kaybolmaktadır.



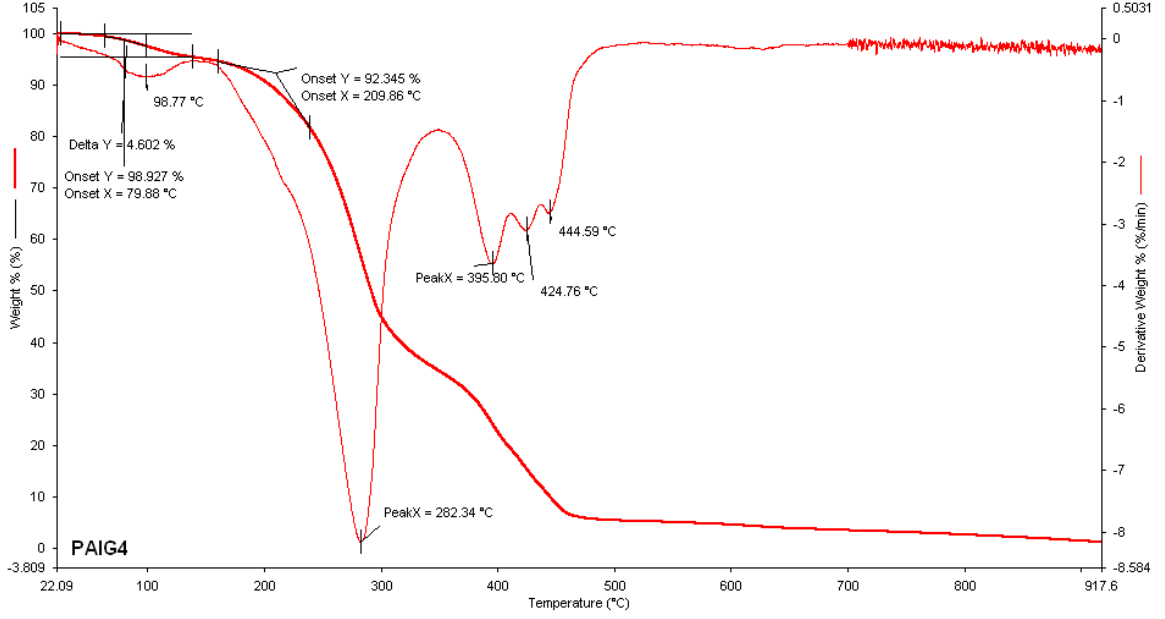
Şekil 8.25: PAIG2' ye ait TGA termogramı

Şekil 8.26'da verilen termogram incelendiğinde PAIG3 yapısının da diğer PAIG yapıları gibi dört basamakta bozunduğu gözlenmiştir. İlk basamak 93 °C başlamakta ve polimer ağırlığının %6'sını kaybetmektedir. 278 °C'de başlayan ikinci basamakta ise kütle büyük çoğunluğu kaybolmaktadır.



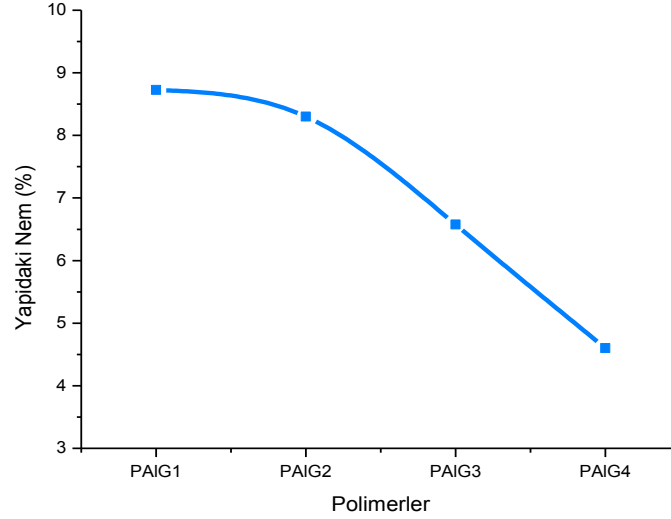
Şekil 8.26: PAIG3'e ait TGA termogramı

PAIG4 için şekil 8.27'de verilen termogramda ilk basamağın 79 °C başladığı ve kütle kaybının %4'ünün kaybolduğu görülmüştür. Büyük kütle kaybının olduğu ikinci basamak ise 209 °C'de başlamaktadır.



Şekil 8.27: PAIG4'e ait TGA termogramı

PAIG yapılarına ait termogramlar incelendiğinde ilk basamakta hem başlangıç sıcaklığında hem de oluşan kütle kaybında düşmeler gözlenmiştir. Bu durumun yapıda artan guanidin gruplarıyla birlikte yapının hidrofobik karakterinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle yapıdaki nem miktarı azalmakta, olan miktarın da uzaklaşması kolay hale gelmektedir. Şekil 8.28'de artan guanidin dönüşümü ile yapıdaki su miktarı arasındaki grafik verilmiştir.

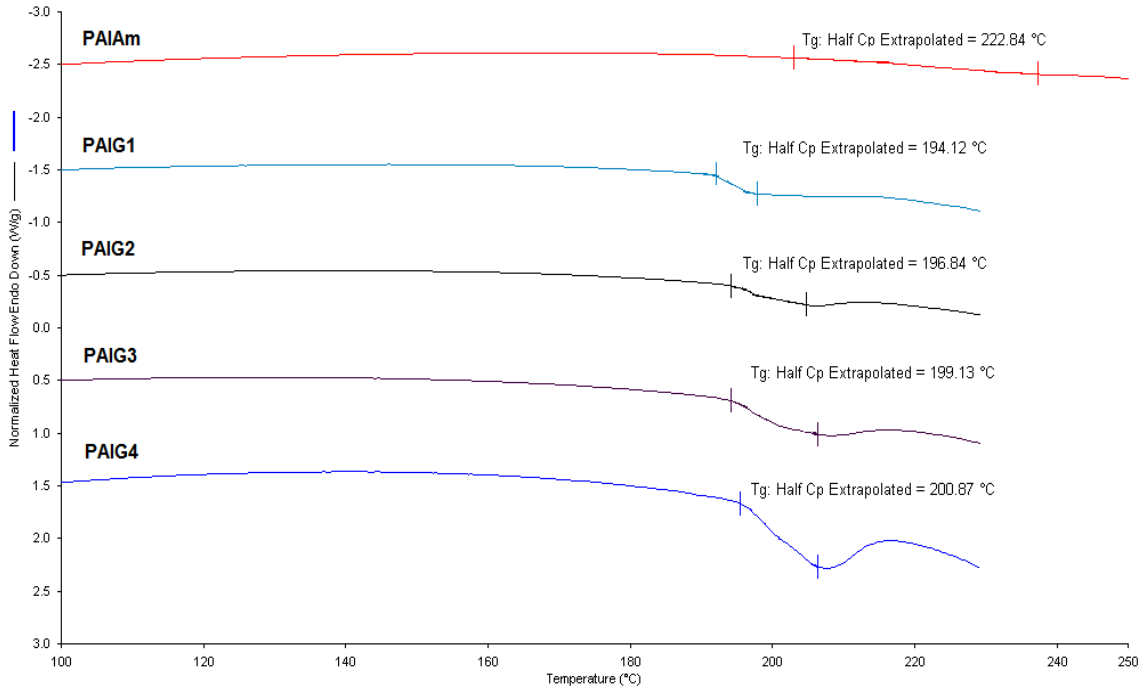


Şekil 8.28: PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için dönüşümle değişen nem yüzdeleri

8.4.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri

PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 polimerlerinin T_g değerleri DSC ile 20 mL/dk akış hızında N_2 atmosferinde ve 20 °C/dk ısıtma hızında belirlenmiştir.

PAIAm için 223 °C olarak belirlenen camsı geçiş sıcaklığı PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için sırasıyla 194, 197, 199 ve 201 °C olarak bulunmuştur (Şekil 8.29).



Şekil 8.29: PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için DSC termogramları

Guanidin dönüşümü olan yapıların T_g değerlerinin PAIAm'den düşük olmasının nedeninin PAIAm zinciri üzerinde düzenli tekrarlayan birimlerden kaynaklanan zincirler arası kuvvetli etkileşimin yapıya gelişigüzel takılan guanidin grupları tarafından bozulması sonucu zincirler arası etkileşimin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Artan guanidin dönüşümü ile zincirler arası etkileşim yeniden artmakta ve bununla birlikte T_g değeri de az da olsa artmaktadır.

8.5. Polimerlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

8.5.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerinin Bulunması

Yapısında; biguanid, kuaterner amonyum, N-alkilpridinium, gibi gruplar bulunan kationik polimerlerin antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır [49,53,57]. Polikasyonların negatif yüklü hücre yüzeylerine ve sitoplazmik zardaki lipopolisakkaritlere bağlanarak etkinlik gösterdiği bilinmektedir [18]. Bu bilgilerden yola çıkılarak PAIAm üzerinden modifikasyonla elde edilen PAIG yapısının antimikrobiyal etkinlik göstereceği düşünülmüştür.

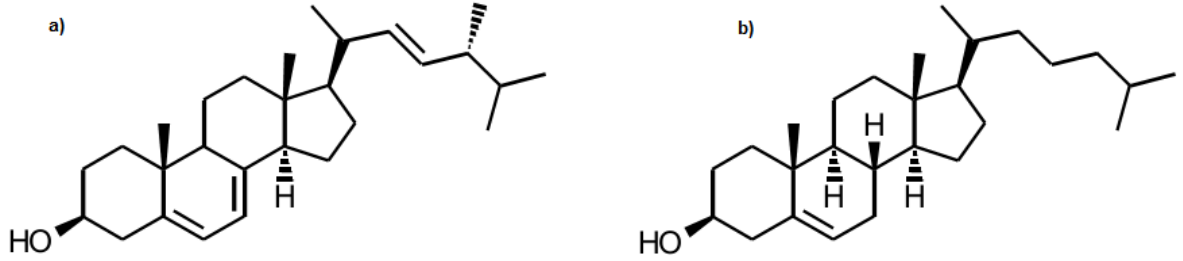
Farklı dönüşüm oranlarındaki PAIG yapısının MİK değerleri PAIAm ve bakteriler için seftazidim, mantarlar için flukonazol ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 8.12'de $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak verilmiştir.

Çizelge 8.16: Polimerlere ait MİK değerleri

	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)	<i>Candida krusei</i> (ATCC 6258)	<i>Candida parapsilosis</i> (ATCC 22019)
PAIG4	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
PAIG3	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
PAIG2	32	256	512	16	16	8
PAIG1	16	64	128	2	4	2
PAIAm	4	32	32	<1	<1	2
Seftazidim	0.5	0.25	1	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	0.5	16	0.5

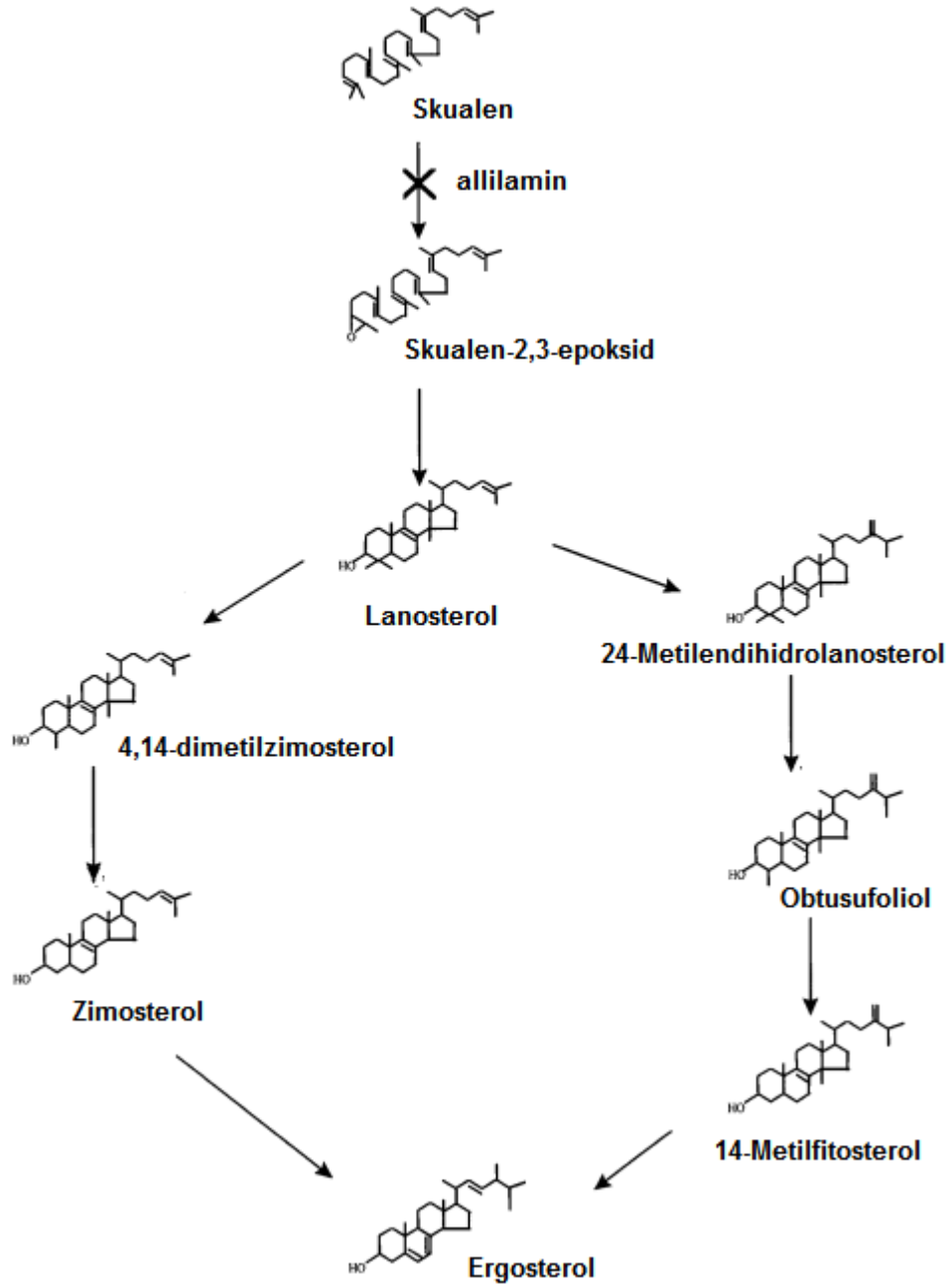
PAIAm'ün polimerik yapılar arasında en yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. PAIG yapılarında ise etkinliğin artan dönüşüm ile azaldığı gözlenmiştir. Antimikrobiyal etkinliği etkileyen faktörler düşünüldüğünde PAIAm ile PAIG yapıları molekül ağırlığı, hidrofobik gruplar ve karşıt iyon açısından özdeştir. Artan dönüşümle zincir üzerinde artan guanidin grupları ile pozitif yük bakımından zenginleşen yapının bakteri zarı ile daha fazla etkileşerek daha yüksek etkinliğe sahip olması beklenirken elde edilen sonuçlar hipotezi doğrulamamıştır ve bu sonuç açıklanamamıştır.

Mantar türleri için alınan sonuçlar incelendiğinde ise PAIAm yapısının kontrol için kullanılan flukonazol kadar etkin olduğu hatta *C. krusei* için kullanılan kontrol ilacından daha etkin olduğu gözlenmiştir. PAIG1 ve PAIG2 yapılarının da *Candida* türleri üzerinde etkin olduğu gözlenmiştir. Katyonik grupların negatif yüklü hücre zarı ile etkileşimi ile olan genel antimikrobiyal mekanizmanın yanında mantarlar için allilamin yapılarına özgü bir diğer mekanizma bu durumu açıklamaktadır. Mantarların hücre zarlarında memeli hücrelerinin zarlarında bulunan kolesterol yapısının aksine ergosterol yapısı bulunmaktadır (Şekil 8.30).



Şekil 8.30: a) ergosterol b)kolesterol

Allilamin yapıları ergosterolün biyolojik sentezinin (Şekil 8.31) ilk basamağı olan skualen'in epoksidasyon basamağını dolayısıyla ergosterol oluşumunu engelleyerek skualen birikmesine neden olmaktadır [95]. Bu mekanizma ile mantar hücresinin ölümü ergosterol eksikliğinden değil hücre zarında skualen birikmesi ile olmaktadır [96]. Hücre zarında biriken skualen, zar geçirgenliğini arttırarak hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır [97].



Şekil 8.31: Ergosterolün biyolojik sentez basamakları [98]

PAIG yapılarında artan dönüşümle azalan allilamin yüzdesi nedeniyle etkinlik dönüşüm arttıkça azalmaktadır.

8.5.2. Bakteriyel Tutunma Testi

S. aureus'un PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 ile kaplanmış nitroselüloz membran yüzeyinden alındıktan sonra TSA içerisinde oluşturduğu koloni sayıları Çizelge 8.17'de verilmiştir.

Bu çalışmada polimerlerin MİK belirleme çalışmasında alınan sonuçlardan farklı davranış gösterdiği gözlenmiştir. MİK sonuçlarında *S. Aureus*'a karşı PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için alınan sonuçlar sırasıyla 4, 16, 32, >1024, >1024 µg/mL iken nitroselüloz yüzeyine uygulandıklarında oluşan koloni sayıları kontrol grubuna göre logaritmik olarak PAIAm, PAIG3 ve PAIG4 için yaklaşık olarak 2,2 kat PAIG2 için 2,3 kat PAIG1 için ise 5,4 kat azalmıştır. PAIG1'in yüzey üzerindeki etkinliğinin bu kadar artmış olması guanidin grupları nedeniyle nitroselüloz ile PAIAm'e göre daha fazla etkileşerek yapıda dönüşmeden kalan AIAm (allilamin) gruplarının yüzeye daha fazla yayılmasını sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bakteriler üzerinde amin grubunun guanidin grubundan aktif olmasının nedeni açıklanamamıştır.

Çizelge 8.17: Nitroselüloz yüzeyinden alınan bakterilerin TSA'da oluşturduğu koloni sayıları

	Koloni sayısı (cfu/mL)
PAIAm	1,8x 10 ⁵
PAIG1	1,0x10 ²
PAIG2	1,3x10 ⁵
PAIG3	2,0x10 ⁵
PAIG4	1,7x10 ⁵
Kontrol	2,8x 10 ⁷

T. A. Hatton ve grubu tarafından monomeri olmayan bu nedenle poli(N-vinilformamid)'in hidrolizi ile elde edilebilen poli(N-vinilamin)'in guanidinleştirilmesi ile oluşturulan ve bakteri zarının parçalanmasını sağlayacak grup olarak sadece –CH₂ ve –CH gruplarını barındıran Poli(N-vinilguanidin)'in antimikrobiyal açıdan oldukça etkin olduğu görülmüştür [18]. Bu çalışmadan yola çıkılarak, ticari olarak bulunan allil karbonu nedeniyle hidrofobik grup bakımından daha zengin olan poli(allilamin hidroklorür)'ün guanidinleştirilmesi ile elde edilen poli(allilguanidin hidroklorür)'ün antimikrobiyal açıdan etkin olacağı düşünülmüş ve yapılmıştır. PAIAm ve PAIG molekül ağırlığı, karşıt iyon, aktif grubun ana zincire olan uzaklığı ve

hidrofobik grup bakımından özdeş iken, yük yoğunluğu bakımından daha zengin olan guanidin yapısının dönüşüm arttıkça etkinliğinin azalması açıklanamamıştır.

9. SONUÇLAR

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar toplu olarak aşağıda verilmiştir.

- Asidik ortamda siyanamid yapısında bulunan nitril grubu aktif hale getirildikten sonra karbon üzerinden PAIAm'ün amin grubuna katılmasıyla PAIG elde edilmiştir.
- Farklı oranlarda (1:1,2, 1:1,8, 1:2,6, 1:5,2) siyanamid kullanılarak farklı dönüşüm oranlarında PAIG yapıları elde edilmiştir ve sırasıyla PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 olarak adlandırılmıştır.
- Elementel analiz sonuçları TGA termogramlarından elde edilen nem ile ilgili bilgilerle yeniden düzenlenerek yapılan hesaplamalarla PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için dönüşüm oranları sırasıyla %45, 71, 98 ve 121 olarak bulunmuştur.
- FT-IR sonuçlarına göre 1760, 1705, 1150 cm^{-1} de sırasıyla gözlenen – $\text{C}(\text{NH})_2^+\text{Cl}^-$, $\text{C}=\text{N}$, $\text{C}-\text{N}-\text{C}$ bağlarına ait bantlar yapının başarıyla guanidinleştirildiğini göstermiştir.
- Modifikasyonun Raman spektrumu üzerinden görülmesi amacıyla dönüşüm sonrası yapıda oluşan $\text{C}=\text{N}$ bağına ait 1705 cm^{-1} deki pik alanının yapıda dönüşüm öncesi ve sonrası çok sayıda olduğu için iç standart olarak kullanılabilir $\text{C}-\text{H}$ bağına ait 1450 cm^{-1} deki pik alanına oranlanmasıyla $\text{C}=\text{N}$ indeksleri bulunmuştur. PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için elde edilen $\text{C}=\text{N}$ indeksleri sırasıyla 0,21, 0,23, 0,27, 0,34 olarak bulunmuştur. Artan siyanamid oranıyla elde edilen PAIG yapıları için artan $\text{C}=\text{N}$ indeksleri dönüşümün siyanamid miktarıyla arttığını göstermektedir.
- d -DMSO ile yapılan ^1H -NMR analizlerinde guanidin yapısındaki birincil ve ikincil amin ile imin protonlarının dönüşümle değişimi gözlenmiştir. PAIAm yapısındaki birincil amin protonlarının artan dönüşümle azaldığı, PAIG4 spektrumunda tamamen kaybolduğu gözlenmiştir. ^{13}C -NMR spektrumlarında ise guanidin karbonundan kaynaklanan pik 159-162 ppm arasında gözlenmiştir.
- Klor elektrodu ile yapılan çalışmada PAIAm yapısından çözeltiliye geçen klor miktarı 1, 0,5 ve 0,35 mg/mL polimer çözeltileri için sırasıyla %10, 11 ve 12 olarak bulunmuştur. Guanidin dönüşümleri ile bu oranın yaklaşık 3 kat arttığı gözlenmiştir. Bu durum dönüşümün ardından guanidin yapısında protonlanan azot sayısının birden fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca

artan dönüşümün çözeltiliye geçen klor miktarında küçük artışlara neden olduğu gözlenmiştir.

- DLS ile yapılan çalışmada PAIAm için 1 nm civarındaki yumakların degradatif zincir aktarımı nedeniyle ortamda bulunan oligomerler olduğu tahmin edilmektedir.
- PAIG1, PAIG2 ve PAIG3 için yumak boyutlarında meydana gelen artışın guanidin dönüşümü ile artan yan grup hacmi ve hidrofobik etkileşimler nedeniyle olduğu düşünülmektedir.
- PAIG4 örneğinde yumak boyutlarında azalma gözlenmiştir, bu durum polimer zincirinde artan guanidin gruplarının hidrofobik etkileşimi arttırdığını göstermektedir.
- Zeta potansiyeli 1 mg/mL PAIAm çözeltisi için 18,6 mV olarak ölçülmüştür. PAIG1 için yapıya katılan guanidin gruplarının etkisiyle zeta potansiyeli 45,8 mV olarak ölçülmüştür. Bu değer PAIG1 çözeltisinin PAIAm'e göre daha kararlı olduğunu göstermektedir. Yapıda artan yük yoğunluğunun polimer zincirlerinin çözücü içerisinde daha fazla dağılmasını sağladığı düşünülmektedir.
- 1 mg/mL PAIG4 çözeltisi için ölçülen zeta potansiyeli 23,7 mV olarak ölçülmüştür. Yapıda artan iyonik gruplara rağmen bu değer, artan hidrofobik etkileşimler nedeniyle olduğu düşünülmektedir.
- PAIG yapılarına ait TGA termogramları incelendiğinde ilk basamakta hem başlangıç sıcaklığında hem de oluşan kütle kaybında düşmeler gözlenmiştir. Bu durumun yapıda artan guanidin gruplarıyla birlikte yapının hidrofobik karakterinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle yapıdaki nem miktarı azalmakta, olan miktarında uzaklaşması kolay hale gelmektedir.
- Yapılan DSC analizlerinde PAIAm için 222 °C olarak belirlenen camsı geçiş sıcaklığı PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için sırasıyla 194, 196, 199 ve 200 °C olarak bulunmuştur. Guanidin dönüşümü olan yapıların T_g değerlerinin PAIAm'den düşük olmasının nedeninin PAIAm zinciri üzerinde düzenli tekrarlayan birimlerden kaynaklanan zincirler arası kuvvetli etkileşimin yapıya gelişigüzel takılan guanidin grupları tarafından bozulması sonucu zincirler arası etkileşimin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Artan guanidin dönüşümü ile zincirler arası etkileşim yeniden artmakta ve bununla birlikte T_g değeri de az da olsa artmaktadır.

- PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3, PAIG4 için yapılan MİK belirleme çalışmalarında PAIAm'ün polimerik yapılar arasında en yüksek etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. PAIG yapılarında ise etkinliğin artan dönüşüm ile azaldığı gözlenmiştir. Antimikrobiyal etkinliği etkileyen faktörler düşünüldüğünde PAIAm ile PALG yapıları molekül ağırlığı, hidrofobik gruplar ve karşıt iyon açısından özdeştir. Artan dönüşümle zincir üzerinde artan guanidin grupları ile pozitif yük bakımından zenginleşen yapının bakteri zarı ile daha fazla etkileşerek daha yüksek etkinliğe sahip olması beklenirken elde edilen sonuçlar hipotezi doğrulamamıştır ve bu sonuç açıklanamamıştır.
- Mantar türleri için alınan sonuçlar incelendiğinde ise PAIAm yapısının kontrol için kullanılan flukonazol kadar etkin olduğu gözlenmiştir. PAIG1 ve PAIG2 yapılarının da *Candida* türleri üzerinde etkin olduğu gözlenmiştir. Katyonik grupların negatif yüklü hücre zarı ile etkileşimi ile olan genel antimikrobiyal mekanizmanın yanında mantarlar için allilamin yapılarına özgü bir diğer mekanizma bu durumu açıklamaktadır. Allilamin yapıları ergosterolün biyolojik sentezinin ilk basamağı olan skualen'in epoksidasyon basamağını dolayısıyla ergosterol oluşumunu engelleyerek skualen birikmesine neden olmaktadır. Hücre zarında biriken skualen zar geçirgenliğini arttırarak hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. PAIG yapılarında artan dönüşümle azalan allilamin yüzdesi nedeniyle etkinlik dönüşüm arttıkça azalmaktadır.
- Aderans çalışmasında polimerlerin MİK belirleme çalışmasında alınan sonuçlardan farklı davranış gösterdiği gözlenmiştir. MİK sonuçlarında *S. Aureus*'a karşı PAIAm, PAIG1, PAIG2, PAIG3 ve PAIG4 için alınan sonuçlar sırasıyla 4, 16, 32, ≥ 1024 , ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ iken nitroselüloz yüzeyine uygulandıklarında oluşan koloni sayıları kontrol grubuna göre logaritmik olarak PAIAm, PAIG3 ve PAIG4 için yaklaşık olarak 2,2 kat PAIG2 için 2,3 kat PAIG1 için ise 5,4 kat azalmıştır. PAIG1'in yüzey üzerindeki etkinliğinin bu kadar artmış olması guanidin grupları nedeniyle nitroselüloz ile PAIAm'e göre daha fazla etkileşerek yapıda dönüşmeden kalan AIAm (allilamin)

gruplarının yüzeye daha fazla yayılmasını sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

10. KAYNAKLAR

- [1] Kenawy, E. –R., Worley S. D., Broughton R., The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State of the Art Review, *Biomacromolecules*, 8(5), 1359-1384, **2007**.
- [2] Kenawy, E. –R., Biologically active polymers. Synthesis and Antimicrobial Activity of Polymers Containing 8-hydroxyquinoline Moiety, *Journal of Applied Polymer Science*, 82, 1364-1374, **2001**.
- [3] Nicholas, P. Mor, A., Peptides as Weapons Against Microorganisms in the Chemical Defence System of Vertebrates, *The Annual Review of Microbiology*, 49, 277-304, **1995**.
- [4] Lode, H. M., Clinical Impacy of Antibiotic Resistant Gram-Positive Pathogens, *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 212-217, **2009**.
- [5] Gonzales, F. P., Maisch, T., XF Drugs: A New Family of Antibacterials, *Drug News & Perspectives*, 23, 167-174, **2010**.
- [6] Ehrlich, P., Hata, S., *Die Experimentelle Chemotherapie der Spiriloson*, Julius Springer, Berlin, **1910**.
- [7] Fleming, A., On the Bacterial Action of Penicillium, with Special Reference to Their Use in Isolationof B. Influenza, *British Journal of Experimental Pathology* 10 (3), **1929**.
- [8] Chain, E., Florey, H. W., Gardner, A. D., Heatley, N. D., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J., Sanders, A. G., The Classic: Penicillin as a Chemotherapeutic Agent, *The Lancet*, 236 (6104). 226-228, **1940**.
- [9] Chopra, I., Hesse, L., O'Neill, A., Discovery and Developmentof New Anti-Bacterial Drugs, *Pharmacochemistry Library, Trands in Drug Research III*, 32, 213-225, **2002**.
- [10] Tan, S., Li, G., Shen, J., Liu, Y., Zong, M., Study of Modified Polypropylene Nonwoven Cloth, *Journal of Applied Polymer Science*, 77 (9), 1869-1876, **2000**.
- [11] Li, G., Shen, J., A study of pyridinium-type functional polymers. Behavioral Features of the Antibacterial Activity of Insoluble Pyridinium-type Polymers, *Journal of Applied Polymer Science*, 78 (3), 676-684, **2000**.
- [12] Kamal, G. D., Pfaller, M. A., Rempe, L. E., Jebson, P. J. R., Reduced Intravascular Catheter Infection by Antibiotic Bonding, *Journal of the American Medical Association*

- [13] Woo, G. L. Y., Yang, M. L., Yin, H. Q., Jaffer, F., Biological Characterization of a Novel Biodegradable Antimicrobial Polymer Synthesized with Fluoroquinolones, *Journal of Biomedical Materials Research*, 59, 35-45, **2002**.
- [14] Ancharya, V., Prabha, C. R., Narayanamurthy, C., Synthesis of Metal Incorporated Low Molecular Weight Polyurethanes from Novel Aromatic Diols, Their Characterization and Bactericidal Properties, *Biomaterials*, 25, 4555-4562, **2004**.
- [15] Jiang, H., Manolache, S., Lee Wong, A. C., Denes, F. S., Plasma-enhanced Deposition of Silver Nanoparticles onto Polymer and Metal Surfaces for the Generation of Antimicrobial Characteristics, *Journal of Applied Polymer Science*, 93(3), 1411-1422, **2004**.
- [16] Hume, E. B. H., Baveja, J., Muir, B., Schubert, T. L., Kumar, N., Kjelleberg, S., Griesser, H. J., Thissen H., Read, R., Poole-Warren, L. A., Schindhelm, K., Willcoxy, M. D. P., The Control of *Staphylococcus Epidermidis* Biofilm Formation and in vivo Infection Rates by Covalently Bound Furanones, *Biomaterials*, 25, 5023-5030, **2004**.
- [17] Bajeva, J. K., Li, G., Nordon, R. E., Hume, E. B. H., Kumar, N., Willcoxy, M. D. P., Poole-Warren, L. A., Biological Performance of a Novel Synthetic Furanone-based Antimicrobial, *Biomaterials*, 25, 5013-5021, **2004**.
- [18] Bromberg, L., Hatton, T. A., Poly(N-vinylguanidine): Characterization, and Catalytic and Bactericidal Properties, *Polymer*, 48, 7490-7498, **2007**.
- [19] Osama E. S. Bshena, *Synthesis of Permanent Non-Leaching Antimicrobial Polymer Nanofibers*, PhD Thesis, Polymer Science at the University of Stellenbosch, Stellenbosch, **2012**.
- [20] Berger, T. J., Spadora, J. A., Bierman, R., Chapin S. E., Becker, R. O., Antifungal Properties of Electrically Generated Metallic Ions, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 10, 856-860, **1976**.
- [21] Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Köllner, M.; Epple, M., Toxicity of Silver Nanoparticles Increases During Storage Because of Slow Dissolution Under Release of Silver Ions, *Chemistry of Materials*, 22 (16), 4548-4554, **2010**.
- [22] Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N., Kim, J. O., A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Ions on *Escherichia*

- Coli* and *Staphylococcus Aureus*, *Journal of Biomedical Materials Research*, 52 (4), 662-668, **2000**.
- [23] Borick, P. M., Bratt, M., Antimicrobial Activity of Some Higher Amine Salts of Carboxylic Acids, *Applied Microbiology*, 9 (6), 475-477, **1961**.
- [24] Ricke, S. C., Perspectives on the Use of Organic Acids and Short Chain Fatty Acids as Antimicrobials, *Poultry Science*, 82 (4), 632-639, **2003**.
- [25] Reddy, K. V. R. , Yedery, R. D., Aranha, C., Antimicrobial Peptides: Premises and Promises, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24 (6), 536-547, **2004**.
- [26] Al-Badry, Z. M., Som, A., Lyon, S., Nelson, C. F., Nußslein, K., Tew, G. N., Investigating the Effect of Increasing Charge Density on the Hemolytic Activity of Synthetic Antimicrobial Polymers, *Biomacromolecules*, 9 (10), 2805-2810, **2008**.
- [27] Song, A., Walker, S. G., Parker K. A., Sampson, N. S., Antibacterial Studies of Cationic Polymers with Alternating, Random, and Uniform Backbones, *ACS Chemical Biology*, 6 (6), 590-599, **2011**.
- [28] Brand, A. M., De Kwaadsteinet, M., Dicks, L. M. T., The Ability of Nisin F to Control *Staphylococcus Aureus* Infection in the Peritoneal Cavity, as Studied in Mice, *Letters in Applied Microbiology*, 51 (6), 645-649, **2010**.
- [29] Rinaudo, M., Chitin and Chitosan: Properties and Applications, *Progress in Polymer Science*, 31 (7), 603-632, **2006**.
- [30] Lim, S. H., Hudson, S. M., Review of Chitosan and Its Derivatives as Antimicrobial Agents and Their Uses as Textile Chemicals, *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 43 (2), 223-269, **2003**.
- [31] Nicholas, D., *Biocides in Plastics*, Rapra Review Reports, 15, Report 12, **2004**.
- [32] Kenawy, E. R., Abdel-Hay, F. I., Abou El-Magd, Mahmoud, Y., Biologically Active Polymers: VII. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Crosslinked Copolymers with Quaternary Ammonium and Phosphonium Groups, *Reactive and Functional Polymers*, 66, 419-429, **2006**.
- [33] Patel, J. S., Patel, S. V., Talpada, N. P., Patel, H. A., Bioactive Polymers: Synthesis, Release Study and Antimicrobial Properties of Polymer Bound Ampicillin, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 271, 24-27, **1999**.

- [34] Grunlan, J. C., Choi, J. K., Lin, A., Antimicrobial Behavior of Polyelectrolyte Multilayer Films Containing Cetrinide and Silver, *Biomacromolecules*, 6, 1149-1153, **2005**.
- [35] Witte, W., Medical Consequences of Antibiotic Use in Agriculture, *Science*, 279 (5353), 996-997, **1998**.
- [36] Klibanov, A. M., Permanently Microbicidal Materials Coatings, *Journal of Materials Chemistry*, 17 (24), 2479-2482, **2007**.
- [37] Madkour, A. E., Tew, G. N., Towards Self-sterilizing Medical Devices: Controlling Infection, *Polymer International*, 57 (1), 6-10, **2008**.
- [38] Thamizharasi, S., Vasantha, J., Reddy, B. S. R., Synthesis, Characterization and Pharmacologically Active Sulfamethoxazole Polymers, *European Polymer Journal*, 38 (3), 551-559, **2002**.
- [39] Moon, W. S., Chul Kim, J., Chung, K. -H., Park, E. -S., Kim, M. -N., Yoon, J. -S., Antimicrobial Activity of a Monomer and Its Polymer Based on Quinolone, *Journal of Applied Polymer Science*, 90 (7), 1797-1801, **2003**.
- [40] Dizman, B., Elasri, M. O., Mathias, L. J., Synthesis and Antimicrobial Activities of New Water-soluble bis-Quaternary Ammonium Methacrylate Polymers, *Journal of Applied Polymer Science*, 94 (2), 635-642, **2004**.
- [41] Singer, S. J., Nicholson, G. I., The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes, *Science*, 175, 720-731, **1972**.
- [42] McDonnel, G., Russel, A. D., Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (1), 147-179, **1999**.
- [43] Maillard, J. Y., Bacterial Target Sites for Biocide Action, *Journal of Applied Microbiology*, 92, 16S-27S, **2002**.
- [44] Franklin, T. J., Snow, G. A., *Biochemistry and molecular Biology of Antimicrobial Drug Action*, Springer, New York, **2005**.
- [45] Gilbert, P., Moore, L. E., Cationic Antiseptics: Diversity of Action Under A Common Epithet, *Journal of Applied Microbiology*, 99, 703-715, **2005**.
- [46] Denyer, S. P., Stewart, G. S. A. B., Mechanism of Action of Disinfectants, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 261-268, **1998**.
- [47] Hugo, W. B., *Principles and Practice of Disinfections, Preservation and Sterilization*, Blackwell Science, Oxford, **1999**.
- [48] Merianos, J. J., *Disinfections, Sterilization and Preservations*, Lippincott Williams & Wilkins, New York, **2001**.

- [49] Tashiro T., Antibacterial and Bacterium Adsorbing Macromolecules, *Macromolecular Materials and Engineering*, 286 (2), 63-87, **2001**.
- [50] Gabriel, G., J., Som, A., Madkour, A. E., Eren, T., Tew, G. N., Infectious Disease: Connecting Innate Immunity to Biocidal Polymers, *Materials Science & Engineering R: Reports*, 57 (1-6), 28-64, **2007**.
- [51] Qian, L., Guan, Y., He, B., Xiao, H., Modified Guanidine Polymers: Synthesis and Antimicrobial Mechanism Revealed by AFM, *Polymer*, 49, 2471-2475, **2008**.
- [52] Ikeda, T., Hirayama, H., Suzuki, K., Yamaguchi, H., Tazuke, S., Biologically Active Polycations, Polymeric Pyridinium Salts with well-defined Main Chain Structure, *Die Makromolekulare Chemie*, 187 (2), 333-340, **1986**.
- [53] Ikeda, T., Tazuke, S., Biologically Active Polycations, Synthesis and Antimicrobial Activity of Poly(trialkylvinylbenzylammonium chloride)s, *Die Makromolekulare Chemie*, 185 (5), 869-876, **1984**.
- [54] Ikeda, T., Tazuke, S., Biocidal Polycations, *Polymer Preprint*, 26, 226-227, **1985**.
- [55] Kanazawa, A., Ikeda, T., Endo, T., Polymeric Phosphonium Salts as a Novel Class of Cationic Biocides. Effects of Counter Anion and Molecular Weight on Antibacterial Activity of Polymeric Phosphonium Salts, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31, 335-343, **1993**.
- [56] Kanazawa, A., Ikeda, T., Endo, T., Antibacterial Activity of Polymeric Sulfonium Salts, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31 (11), 2873-2876, **1993**.
- [57] Ikeda, T., Yamaguchi, H., Tazuke, S., New Polymeric Biocides: Synthesis and Antibacterial Activities of Polycations with Pendant Biguanide Groups, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 26 (2), 139-144, **1984**.
- [58] Kanazawa, A., Ikeda, T., Endo, T., Polymeric Phosphonium Salts as a Novel Class of Cationic Biocides. Immobilization of Phosphonium Salts by Surface Photografting and Antibacterial Activity of the Surface-treated Polymer Films, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31 (6), 1467-1472, **1993**.
- [59] Chen, C. Z., Back-Tan, N. C., Dhurjati, P., Van Dyk, T. K., LaRossa, R. A., Cooper, S. L., Quaternary Ammonium Functionalized Poly(propylene imine)

- Dendrimers as Effective Antimicrobials: Structure–Activity Studies, *Biomacromolecules*, 1 (3), 473-480, **2000**.
- [60] Panarin, E. F., Solovaskii, M. V., Zaikina, N. A., Afinogenov, G. E., Biological Activity of Cationic Polyelectrolytes, *Die Makromolekulare Chemie Supplement: Polymers in Medicine and Biology*, 9, 25-33, **1985**.
- [61] Sawada, H., Umedo, M., Kawase, T., Tomita, T., Baba, M., Synthesis and properties of Fluoroalkylated end-capped Betaine Polymers, *European Polymer Journal*, 35 (9), 1611-1617, **1999**.
- [62] Jorgensen, J. H., Ferraro, M. J., Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices, *Medical Microbiology*, 49, 1749-1755, **2009**.
- [63] Ericsson, J. M., Sherris, J. C., Antibiotic Sensitivity Testing: Report of an International Collaborative Study, *Acta Pathologica Microbiologica Scand B Microbiol Immunol*, 217 (suppl), 1-90, **1971**.
- [64] Jorgensen, J. H., Turnidge, J. D., *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., **2007**.
- [65] Balows, A., *Current Techniques for Antibiotic Susceptibility Testing*, Springfield, IL, **1972**.
- [66] Wayne, P. A., *Clinical and Laboratory Standards Institute; Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing for Bacteria that Grew Aerobically*, **2009**.
- [67] Huang, M. B., Baker, C. N., Banerjee, S., Tenover, F. C., Accuracy of the E test for Determining Antimicrobial Susceptibilities of Staphylococci, Enterococci, Campylobacter Jejuni and Gram-Negative Bacteria Resistant to Antimicrobial Agents, *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 3243-3248, **1992**.
- [68] Jorgensen, J. H., Ferraro, M. J., McElmeel, M. L., Spargo, J., Swenson, J. M., Tenover, F. C., Detection of Penicillin and Extended-Spectrum Cephalosporin Resistance Among Streptococcus Pneumoniae Clinical Isolates by Use of the E Test, *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 159-163, **1994**.
- [69] Citron, C. M., Ostovari, M. I., Karlsson, A., Goldstein, E. J. C., Evaluation of The E Test for Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 2197-2203, **1991**.

- [70] Wayn, P. A., *Clinical and Laboratory Standards Institute; Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, **2009**.
- [71] Richter, S. S., Ferraro, M. J., *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., **2007**.
- [72] Wayn, P. A., *Clinical and Laboratory Standards Institute; Development of in-vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*, **2008**.
- [73] Nonaka, T., Uemura, Y., Ohse, K., Jyono, K., Kurihara, S., Preparation of resins containing phenol derivatives from chloromethylstyrene-tetraethyleneglycol dimethacrylate copolymer beads and antibacterial activity of resins, *Journal of Applied Polymer Science*, 66 (8), 1621-1630, **1997**.
- [74] Eknoian, M. W., Worley, S. D., New N-Halamine Biocidal Polymers, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 13 (4), 303-314, **1998**.
- [75] Tyag, M., Singh, H., Iodinated P(MMA-NVP): An Efficient Matrix for Disinfection of Water, *Journal of Applied Polymer Science*, 76 (7), 1109-1116, **2000**.
- [76] Pant, H. R., Pandeya, D. R., Nam, K. T., Baek, W. -I., Hong, S.T., Kim, H. Y., Photocatalytic and Antimicrobial Properties of TiO₂/nylon-6 Electrospun Nanocomposite Mat Containing Silver Nanoparticles, *The Journal of Hazardous Materials*, 189, 465-471, **2011**.
- [77] Duncan, R., Kopeck, J., Soluble Synthetic Polymers as Potential Drug Carriers, *Advances in Polymer Science*, 57, 51-101, **1984**.
- [78] Kulkarni, P. V., Rajur, S. B., Antich, P. P., Aminabhvi, T. M., Aralaguppi, M. I., Transport Studies on Macromolecules. Used as Drug Carriers, *Journal of Macromolecular Science - Reviews in Macromolecular Chemistry & Physics*, 30, 441-490, **1990**.
- [79] Appendini, P., Hotckiss, J. H., Review of Antimicrobial Food Packaging, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3 (2), 113-126, **2002**.
- [80] Quintavalla, S., Vicini, L., Antimicrobial Food Packaging in Meat Industry, *Meat Science*, 62 (3), 373-380, **2002**.
- [81] Plascencia-Jatomca, M., Viniestra, G., Olaya, R., Castillo-Ortega, M. M., Shirai, K., Effect of Chitosan and Temperature on Spore Germination of *Aspergillus niger*, *Macromolecular Bioscience*, 3 (10), 582-586, **2003**.

- [82] Hotchkiss, J., Food-packaging Interactions Influencing Quality and Safety, *Food Additives and Contaminants*, 14, 601-607, **1997**.
- [83] Prombutara, P., Kulwatthanasal, Y., Supaka, N., Sramala, I., Chareonpornwattana, S., Production of Nisin Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Sustained Antimicrobial Activity, *Food Control*, 24, 184-190, **2012**.
- [84] Shin, Y., Yoo, D. I., Jang, J., Molecular Weight Effect on Antimicrobial Activity of Chitosan Treated Cotton Fabrics, *Journal of Applied Polymer Science*, 80 (13), 2495-2501, **2001**.
- [85] Son, Y. -A., Sun, G., Durable Antimicrobial Nylon 66 Fabrics: Ionic Interactions with Quaternary Ammonium Salts, *Journal of Applied Polymer Science*, 90 (8), 2194-2199, **2003**.
- [86] Han, J. H., *Novel Food Packaging Techniques*, CRC Press LLC, Boca Raton, FL, **2003**
- [87] Cutter, C., The Effectiveness of Triclosan-incorporated Plastic Against Bacteria on Beef Surfaces, *Journal of Food Protection*, 62, 474-479, **1999**.
- [88] Buchenska, J., Polyamide Fibers (PA6) with Antibacterial Properties, *Journal of Applied Polymer Science*, 61 (3), 567-576, **1996**.
- [89] Sepehrianazar, A., Allil Amin *Homo ve Kopolimerlerinin Sentezi ve Polielektrolit Davranışlarının İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya, Ankara, **2008**.
- [90] Tohati, H. -M., Botka, B., Nemeth, K., Pekker, A., Hackl, R., Kamaras, K., Infrared and Raman Investigation of Carbon Nanotube-Polyallylamine Hybrid Systems, *Physica Status Solidi B*, 247, 2884-2886, **2010**.
- [91] Hu, Y., Du, Y., Yang, J., Kennedy, F. J., Wang, X., Wang, L., Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Guanidinylated Chitosan, *Carbohydrate Polymers*, 67, 66-72, **2007**.
- [92] Gottlieb, H. E., Kotlyar, V., Nudelman, A., NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities, *The journal of Organic Chemistry*, 62, 7512-7515, **1997**.
- [93] Yu, J. -H, Huang, J., Jiang, H. -L., Quan, J. -S., Cho, M. -H., Cho, C. -S, Guanidinylated, Poly(allyl amine) as a Gene Carrier, *Journal of Applied Polymer Science*, 112, 926-933, **2009**.

- [94] Zhang, Y., Jiang, J., Chen, Y., Synthesis and Antimicrobial Activity of Polymeric Guanidine and Guanidine Salts, *Polymer*, 40, 6189-6198, **1999**.
- [95] Kerridge, D., *The Eukaryotic Microbial Cell*, Cambridge University Press, Cambridge, **1980**.
- [96] Ryder, N., and Favre B., Antifungal Activity and Mechanism of Action of Terbinafine, *Reviews in Contemporary Pharmacotherapy*, 8, 275-287, **1997**.
- [97] Lanyi, J., Plachy, W. Z., M. Kates, Lipid Interactions in Membranes of Extremely Halophilic Bacteria. Modification of the Bilayer Structure by Squalene, *Biochemistry*, 13, 4914-4920, **1974**.
- [98] Ghannoum, M. A., Rice, L. B., Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanism of Resistance and Correlation of These Mechanism with Bacterial Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 501-517, **1999**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Ufuk YILDIZ
Doğum Yeri : Ankara
Medeni Hali : Bekâr
E-posta : ufuk.yildz@gmail.com
Adresi : Pınarbaşı M. Nurtekin S. 9/8 Sincan/ANKARA

Eğitim

Lise : Sincan Lisesi (1998-2001)
Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü (2001-2009)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi Polimer Kimyası Anabilim Dalı (2010-)

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce-İyi

İş Deneyimi

04/2011-08/2011 Proje Personeli, Poleks Ambalaj Ltd. Şti., Ankara
08/2011-04/2012 Ürün Müdürü, TR Polimer AŞ., Ankara
05/2012- Proje Yürütücüsü, T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı
TGSD, Ankara

Deneyim Alanları

Prooksidant maddeler

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

2012 Eylül- Antibakteriyel poli(allilguanidin.HCl)'ün sentezi ve karakterizasyonu,
4. Ulusal Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi, Çanakkale, Türkiye.