

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

IŞIĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ
VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN
OLUŞTURULMASI

ALEYNA TURANLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE
2023

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

IŞIĞA DUYARLI HİDROJELLERİN
SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF
MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI

ALEYNA TURANLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ TUĞÇE NİHAL GEVREK CİVAN

GEBZE
2023

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**SYNTHESIS OF PHOTO-RESPONSIVE
HYDROGELS AND PREPARATION OF
REACTIVE MICROWELLS ON THEIR
SURFACES**

ALEYNA TURANLI

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

THESIS SUPERVISOR
ASSIST. PROF. DR. TUĞÇE NİHAL GEVREK CİVAN

GEBZE

2023



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim 12/01/2023 tarih ve 2023/03 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 23/01/2023 tarihinde tez savunma sınavı yapılan

ALEYNA TURANLI'nın tez çalışması KİMYA Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

:Dr. Öğrt. Üyesi Tuğçe Nihal GEVREK-CİVAN

ÜYE

:Prof. Dr. Hayal BÜLBÜL SÖNMEZ

ÜYE

:Prof. Dr. Amitav SANYAL

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Işığa duyarlı hidrojeller, uygun dalga boyunda ışığa maruz bırakıldıklarında yapılarındaki fonksiyonel grupların ışığa bağlı dönüşümleri nedeniyle fiziksel ve/veya kimyasal değişimlere uğramaktadırlar. Bu hidrojellerde bulunan fotokromik birimler, optik sinyali yakalar ve bunu bir fotoreaksiyon (izomerizasyon, bölünme vb.) yoluyla kimyasal bir sinyale dönüştürür. Böylece hidrojeller ışık etkisiyle genişleyebilir, büzülebilir, bozunabilir veya işlevsellik kazanabilirler. Literatürde yaygın olarak kullanılan ışığa duyarlı gruplardan biri, biyo-uygulamalar için uygun UV dalga boyu gereksinimi (365 nm) ve yüksek duyarlılığı sebebiyle orto-nitrobenzil (ONB) grubudur. ONB grubu UV ışık altında, nitrosobenzaldehit (veya nitrosoketon) ve bir karboksilik asit (veya alkol) oluşturmak üzere parçalanmaktadır.

Bu çalışmada, ışığa duyarlı ONB grubu içeren bisakrilat monomer ve yeni dört kollu tiyol çapraz bağlayıcı sentezlenmiş ve bu bileşenler ile UV ışığı etkisi sonucunda parçalanabilme özelliğine sahip hidrojel filmler hazırlanmıştır. Hidrojel filmler, fotomaske kullanılarak UV (365 nm) ışığa maruz bırakılmış ve fotomaskenin ışık geçiren bölgelerinde hidrojelin çapraz bağlarında parçalanma gerçekleştirilmiştir. Bu parçalanma jel yüzeyinde aşınmaya sebep olmuş ve iç kısımlarında amin reaktivitesine sahip nitrosobenzaldehit bulunan mikrokuyular elde edilmiştir. Bu şekilde aktive edilmiş hidrojel kuyularına, amin grupları taşıyan moleküllerin bağlanarak sabitlenebildiği gösterilmiş ve bu bağlanma FTIR analizi ve floresan mikroskop görüntüleme ile doğrulanmıştır.

Çalışma kapsamındaki bu yaklaşımın, biyosensör ve doku mühendisliği gibi biyomedikal alandaki çalışmalarda uygulama bulacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Işık Duyarlı Polimerler, Reaktif Hidrojeller, Üç Boyutlu Hidrojel Desenleme, Fonksiyonel Hidrojeller, Mikrokuyular, O-Nitrobenzil.

SUMMARY

Photosensitive hydrogels undergo physical or chemical changes due to light-dependent transformations of functional groups in their structures when exposed to light at the appropriate wavelength. Photochromic units in these hydrogels capture the optical signal and convert it into a chemical signal through a photoreaction (isomerization, cleavage, etc.). Thus, photosensitive hydrogels can expand, contract, degrade or gain functionality under the influence of light. The photosensitive group commonly used in the literature is the ortho-nitrobenzyl (ONB) group due to its UV wavelength requirement (365 nm) and high sensitivity for biological applications. The ONB group decomposes under UV light to form nitrosobenzaldehyde (or nitrosoketone) and a carboxylic acid (or alcohol).

In this study, bisacrylate monomer containing photosensitive ortho-nitrobenzyl (ONB) group and a novel four-armed thiol crosslinker were synthesized and hydrogel films with UV degradability were prepared by using those components. Hydrogel films were exposed to UV light (365 nm) through a photomask, and spatially controlled photodegradation took place on the hydrogel surfaces. Photodegradation caused erosion on the gel surface and microwells with amine functionality were obtained. It was demonstrated that biomolecular immobilization can be carried out in these reactive wells. Conjugation of amine-containing molecules, to the reactive microwells was verified by FTIR and fluorescence microscopy.

This approach is expected to be find application in biomedical area such as biosensing and tissue engineering.

Key Words: Light-Sensitive Polymers, Reactive Polymer, Three Dimensional Hydrogel Patterning, Functional Hydrogels, Microwells, O-Nitrobenzyl.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyip, bilgisi ve deneyimi ile bize yol gösteren, anlayışı ve çalışma azmi ile örnek olan değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe Nihal GEVREK CİVAN'a teşekkürlerimi sunmak isterim.

Tez çalışmasındaki bazı organik sentezlere ve karakterizasyonlara katkıda bulunan Nisa DEMİRBİLEK'e, SEM görüntüleri için Demet SEZGİN'e, floresan mikroskop için Prof. Dr. Amitav SANYAL'a teşekkür ederim.

Ek olarak, deneysel çalışmalarım sırasında laboratuvarımda yan yana çalıştığımız arkadaşlarım sevgili Nisa DEMİRBİLEK ve Merve BAT ÖZMATARA'ya yardımları ve arkadaşlıkları için, Beyza HAMUR ve Yasemin ŞAHİN'e pozitif enerjileri ile sağladıkları motivasyon için teşekkür ediyorum.

Ve son olarak, eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda oldukları, bana sundukları destekleri ve anlayışları için değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması TÜBİTAK 120Z187 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Hidrojellerin Sınıflandırılması	2
2.1.2. Kaynağına Göre Hidrojeller	3
2.1.3. Polimerik Bileşimlerine Göre Hidrojeller	4
2.1.4. İyon Yüküne Göre Hidrojeller	5
2.1.5. Çapraz Bağlanma Türüne Göre Hidrojeller	5
2.1.6. Konfigürasyona Göre Hidrojeller	5
2.1.7. Çevresel Uyarana Duyarlı Hidrojeller	6
2.1.7.1. Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller	6
2.1.7.2. pH'a Duyarlı Hidrojeller	7
2.1.7.3. Manyetik Ve Elektriksel Alana Duyarlı Hidrojeller	7
2.1.7.4. Işığa Duyarlı Hidrojeller	8
2.1.7.4.1. Katılma Reaksiyonları	9
2.1.7.4.2. Fotoizomerizasyon	11
2.1.7.4.3. Fotoparçalanma	12
2.2. Reaktif Hidrojeller	14
2.2.1. Işık Etkisi ile Aktifleşebilen Hidrojeller	18
2.3. Mikrokuyular	22
3. TEZİN AMACI, KATKISI ve İÇERİĞİ	24
4. MATERYAL ve METOT	25

4.1. Materyal	25
4.1.1. Tez Kapsamında Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	25
4.2. Yöntem	26
4.3. Sentez Çalışmaları	27
4.3.1. Asetal Korumalı BisMPA Sentezi	27
4.3.2. Asetal Korumalı BisMPA Anhidrid Sentezi	27
4.3.3. Asetal Korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) Sentezi	28
4.3.4. PEG-Tetraol Sentezi	28
4.3.5. PEG-Tetratiyol Sentezi	28
4.3.6. NTPA (Nitrotereftalik Asit) Sentezi	29
4.3.7. NPDM [(2-Nitro-1,4-Fenilen)Dimetanol] Sentezi	29
4.3.8. NPDMA [(2-Nitro-1,4-Fenilen)Diakrilat] Sentezi	30
4.3.9. Hidrojel Sentezi	30
4.3.9.1. Hidrojellerin UV Işık ile Aktifleştirilmesi	31
4.3.9.2. Hidrojinin Şişme Kapasitesinin İncelenmesi	31
4.3.9.3 Hidrojele Molekül/Biyomolekül Bağlanması	31
4.3.9.3.1. Hidrojellere Amin İçeren Moleküllerin Bağlanması	31
4.3.9.3.2. Hidrojellere Biyotin Ve Streptavidin Sabitlenmesi	31
4.3.10. Cam Yüzey Üzerinde Hidrojel Film Hazırlanması	32
4.3.10.1. Hidrojel Filmlere Amin İçeren Moleküllerin Bağlanması	33
4.3.10.2. Hidrojel Film Yüzeyinde Fotomaske ile Mikrokuyular Oluşturulması	33
4.3.10.3. Mikrokuyulara Floresan-Amin Bağlanması	33
4.3.10.4. Mikrokuyulara Streptavidin Sabitlenmesi	33
5. BULGULAR ve TARTIŞMA	35
5.1. Asetal Korumalı Bis-MPA Sentezi	35
5.2. Asetal Korumalı Bis-MPA Anhidrid Sentezi	36
5.3. Asetal Korumalı (PEG-Bismpa Anhidrid) Sentezi	37
5.4. PEG-Tetraol Sentezi	38
5.5. PEG-Tetratiyol Sentezi	40
5.6. NTPA Sentezi	42
5.7. NPDM Sentezi	43
5.8. NPDMA Sentezi	44
5.9. Hidrojel Sentezi	46

5.9.1. Kalıp Jel Sentezi	46
5.9.2. Kalıp Jellerin Fonksiyonelleştirilmesi	50
5.9.3. Hidrojel Filmlerin Hazırlanması	52
6. SONUÇLAR	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	66
EKLER	67



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler ve Açıklamalar Kısaltmalar

DMF	: Dimetilformamid
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
NPDM	: [(2-Nitro-1,4-fenilen)dimetanol]
NPDMA	: [(2-Nitro-1,4-fenilen)diakrilat]
NTPA	: Nitrotereftalik asit
PEG	: Polietilen glikol
PEGTT	: Polietilenglikol tetratiyol
TFBA	: 4-(Trifluoromethyl)benzylamine
THF	: Tetrahidrofuran
ONB	: Orto-nitrobenzil
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>		<u>Sayfa</u>
2.1:	Hidrojellerin sınıflandırılmasına ait şema.	3
2.2:	Işık uygulaması sonucunda gerçekleşebilecek hidrojel davranışları.	8
2.3:	Fotokimyasal katalizli katılma reaksiyonları.	9
2.4:	Işık uygulaması ile başlatılan tiyol-bazlı reaksiyon mekanizması.	10
2.5:	Azobenzen molekülünün ışık etkisi ile gerçekleşen izomerizasyon mekanizması.	11
2.6:	Spiropiran molekülüne ait ışık etkisi ile gerçekleşen izomerizasyon mekanizması.	11
2.7:	O-nitrobenzil molekülüne ait ışık ile parçalanma mekanizması.	12
2.8:	O-nitrobenzil grubu içeren ve ışık ile parçalanan hidrojel.	13
2.9:	Fonksiyonel gruplar barındıran yüzey kaplama ve yüzeyin protein ligandı ile işlevselleştirilmesi.	14
2.10:	NHS-aktifleştirilmiş ester fonksiyonel grubu taşıyan hidrojel sentezi a) Jel sentezi ve fonksiyonelleştirmeye yönelik şematik görünüm b) Jel bileşenleri ve reaksiyon koşulları.	15
2.11:	Tiyol-epoksi reaksiyonu ile hidrojel sentezi ve fonksiyonelleştirilmesi.	16
2.12:	(a) İzosiyanat içeren fonksiyonel hidrojel sentezi ve hidrojin amin/tiyol grupları ile işlevselleştirilmesi (b) Biotin-amin ve Streptavidin moleküllerinin yüzeye sabitlenmelerinin şematik görünümü (c) Streptavidin sabitlemesinin doğrulandığı floresan mikroskop görüntüleri.	17
2.13:	Hidrojin ışık kontrollü enzimatik biyomolekül modellemesi.	18
2.14:	Ortonitrobenzil içeren zwitteriyonik monomer ile hazırlanan hidrojellerin desenli protein bağlaması ve bu bölgelerde hücre büyütülmesi.	19
2.15:	Işığa duyarlı reaktif hidrojel sentezi ve 3B hücre kültürü uygulaması.	21
5. 1:	Asetal korumalı Bis-MPA sentezi.	35
5. 2:	Asetal korumalı Bis-MPA molekülüne ait FTIR spektrumu.	35

5. 3:	Asetal korumalı Bis-MPA molekülüne ait ¹ H-NMR spektrumu.	36
5. 4:	Bis-MPA Anhidrid sentezi.	36
5. 5:	Bis-MPA Anhidrid'e ait FTIR spektrumu.	37
5. 6:	Bis-MPA Anhidrid'e ait ¹ H-NMR spektrumu.	37
5. 7:	Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) sentezi.	38
5. 8:	Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid)'e ait FTIR spektrumu.	38
5. 9:	Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid)'e ait ¹ H-NMR spektrumu.	38
5. 10:	PEG-tetraol sentezi.	39
5. 11:	PEG-tetraol'e ait FTIR spektrumu.	39
5. 12:	PEG-tetraol'e ait ¹ H-NMR spektrumu.	39
5. 13:	PEG-tetratiyol sentezi.	40
5. 14:	PEG-tetratiyol'e ait FTIR spektrumu.	40
5. 15:	PEG-tetratiyol'e ait ¹ H-NMR spektrumu.	41
5. 16:	PEG-tetratiyol yapısındaki tiyol gruplarının konsantrasyonunu ifade eden adsorbans-dalga boyu grafiği.	41
5. 17:	NTPA sentezi.	42
5. 18:	Tereftalik asite (a) ve NTPA molekülüne (b) ait FTIR spektrumları.	42
5. 19:	NTPA molekülüne ait ¹ H-NMR spektrumu.	43
5. 20:	NPDM sentezi.	43
5. 21:	NPDM molekülüne ait FTIR spektrumu.	44
5. 22:	NPDM molekülüne ait ¹ H-NMR spektrumu.	44
5. 23:	NPDMA sentezi.	45
5. 24:	NPDMA molekülüne ait FTIR spektrumu.	45
5. 25:	NPDMA molekülüne ait ¹ H-NMR spektrumu.	46
5. 26:	Jel sentezine ait şematik görsel (a), jelleşme öncesi (b) ve sonrasına (c) ait görseller.	47
5. 27:	a) UV ışık etkisi ile jel yapısında meydana gelen kimyasal dönüşüm b) Farklı sürelerde UV ışığa maruz kalan jellere ait FTIR spektrumu.	48
5. 28:	(a) UV ışık uygulanmayan jel ve (b) 90dk UV ışığa maruz bırakılan jelle ait SEM görüntüleri.	49
5.29:	Hidrojin yüzde şişme değeri eşitliği ve 90 dakika UV ışığa maruz kalan hidrojele ait su tutma kapasitesi-zaman grafiği.	50

5. 30:	a) 90dk UV ışığı uygulanan hidrojele TFBA bağlanması b) TFBA bağlamaya ait FTIR spektrumu.	51
5. 31:	Biyotin-streptavidin immobilizasyonu ve UV uygulanan hidrojele (a) ve kontrol grubuna (b) ait floresan mikroskop görüntüleri.	52
5. 32:	a) Hidrojel film sentezinin şematik gösterimi b) Cam yüzey üzerindeki jel kaplamanın fotoğrafı c) reaksiyon sonrasında bir kısmına UV ışığı uygulanan (sarı bölge) jel kaplamanın fotoğrafı. d) Jel kaplamanın kalınlığını gösteren SEM görüntüsü.	53
5. 33:	a) Hidrojel yüzeyine UV ışığı uygulaması b) NO ₂ dönüşümünü gösteren FTIR spektrumu.	54
5. 34:	a) Hidrojel kaplamaya TFBA bağlanması b) TFBA bağlamaya ait FTIR spektrumu.	55
5. 35:	Fotomaskelme ile jel yüzeyinde mikrokuyular oluşturulması ve farklı sürelerde UV ışığına maruz bırakılarak elde edilen mikrokuyulara ait elektron mikroskobu görüntüleri.	56
5. 36:	a) Hidrojel kaplamaya floresan-amin immobilizasyonu b) Floresan-amin bağlanmış mikrokuyuların floresan mikroskop görüntüsü.	57
5. 37:	a) Mikrokuyulara streptavidin immobilizasyonunun şematik gösterimi. b) 15dk, 30dk, 45dk ve 60dk UV uygulanan hidrojellere streptavidin immobilize edilen jel kaplamaların floresan yoğunlukları. Sırasıyla c)15 dk, d) 30 dk, e) 45 dk ve f) 60 dk UV uygulanan hidrojellere streptavidin sabitlenmesine ait floresan mikroskop görüntüleri.	58
Ek A.1:	60 dk UV uygulanmış yüzeyin 2000 kat yaklaştırılmış SEM görüntüsü.	67
Ek A.2:	5 dk UV uygulanmış yüzeyin profilometre analizine ait ekran görüntüsü.	68
Ek A.3:	60 dk UV uygulanmış yüzeyin profilometre analizine ait ekran görüntüsü.	69
Ek B :	Literatür yayınlarından alınan şekil/tablo/şema'lara ait telif hakları	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No:

Sayfa

4. 1: Tez çalışmasında kullanılan cihazlar.

26



1. GİRİŞ

Hidrojeller ağ yapılı hidrofilik polimerlerdir. Hidrofilik karakterleri, biyouyumlulukları ve canlı dokuya benzerlik göstermeleri sebebiyle biyomalzeme alanında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Hidrojeller, sentezlerinde kullanılan polimerlerin ve/veya monomerlerin özelliklerine bağlı olarak, ışık, sıcaklık gibi çevresel etmenlere duyarlı olacak şekilde ya da sonradan işlevselleştirilmeleri için reaktif gruplar barındıracak şekilde hazırlanabilirler. Işığa duyarlı hidrojellerin hazırlanmasında orto-nitrobenzil grubundan sıkça yararlanılmıştır. Biyomoleküllerde yaygın olarak amin molekülleri bulunduğu için, biyosabitlenme uygulamaları için hazırlanan hidrojeller ya da diğer polimerik malzemelerin yapılarına aminlere karşı reaktif olan gruplar yerleştirilmektedir.

Bu çalışmada, ışığa duyarlı hidrojeller, o-nitrobenzil grubu içeren diakrilat monomer ile dört kollu tiyol içeren çapraz bağlayıcı arasındaki nükleofilik Michael katılma tepkimesi ile sentezlenmiştir. Elde edilen hidrojellerin karakterizasyonu için FTIR ve ESEM'den yararlanılmıştır. Hidrojellerin UV ışığına maruz bırakılması sonucunda çapraz bağlanma bölgelerinde kısmen parçalanma gerçekleştirilerek, amin gruplarına karşı reaktif olan nitrosobenzaldehit birimleri oluşturulmuştur. Amin grubu içeren moleküllerin bu kısmen bozunmuş olan hidrojellere bağlanmaları FTIR analizi ile doğrulanmıştır. Aynı zamanda ligand aracılığı ile hidrojele protein sabitlenebildiği de floresan mikroskop ile gösterilmiştir. İlerleyen çalışmada hidrojeller, cam yüzeyler üzerinde film olarak hazırlanmış ve yüzeydeki jelin ışık ile zaman kontrollü olarak aktifleştirilebilirliği gösterilmiştir. Son olarak, daire şeklindeki fotomaskelerin kullanılmasıyla jel yüzeyinde desenli olarak fotodegradasyon gerçekleştirilmiştir. Böylece hidrojel filmler üzerinde aşınmış reaktif mikrobölgeler oluşturulmuştur. Aşındırma ve mikrokuyu oluşumu ESEM analizi ile doğrulanmıştır. Oluşturulan mikrokuyulara biyoaktif ligandlar bağlanmış, ardından bu bölgelerde protein sabitleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Proteinlerin, hedeflendiği gibi, yalnızca mikrokuyuların iç kısımlarına sabitlendiği, hidrojellerin diğer bölgelerinde ise istenmeyen biyo-bağlanmanın gerçekleşmediği floresan mikroskop ile gösterilmiştir.

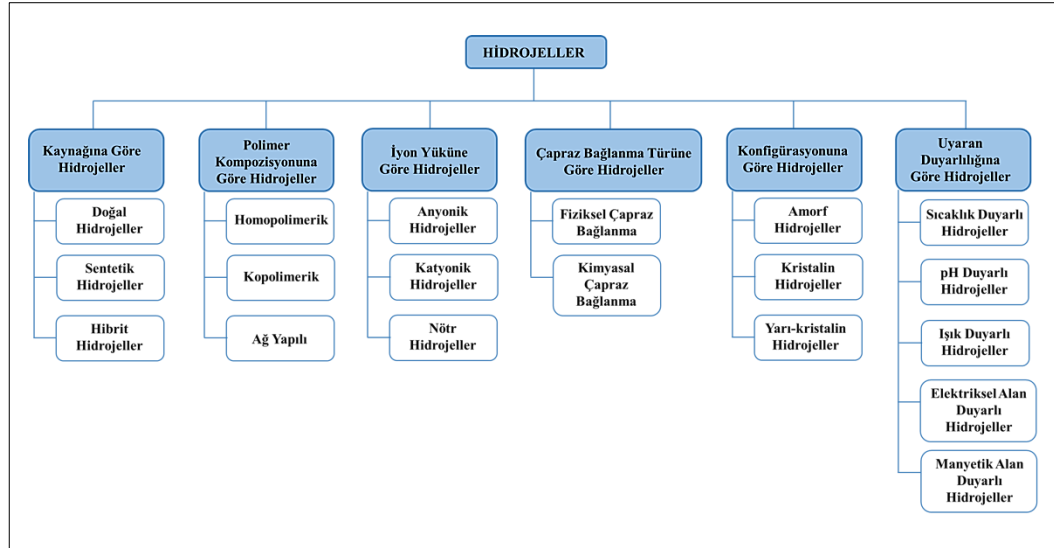
2. GENEL BİLGİLER

Hidrojeller, su içerisinde çözünmeyen, çapraz bağlı, üç boyutlu, ağ yapılı polimerlerdir. Polimerik omurgalarında yer alan hidrofilik gruplar sayesinde yüksek miktarlarda su ve biyolojik sıvıyı yapılarında tutarak sıvı içerisinde şişme özelliği gösterirler. Ağ yapısındaki hidrofilik özellik $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-CONH_2$, $-SO_3H$ gibi hidrofilik gruplardan kaynaklanmaktadır. Ağ zincirleri arasındaki çapraz bağlar ise hidrojinin çözünmeye karşı direnç göstermesine neden olmaktadır [Ahmed,2015]. Bir malzemenin hidrojel olarak tanımlanması için su içeriğinin, malzemenin toplam ağırlığının (veya hacminin) en az %10'u kadar olması gerekmektedir [Bahram M. et al., 2015].

Hidrojeller, su tutabilme kapasiteleri, yumuşak, esnek ve gözenekli yapıları sayesinde canlı doku ile benzerlik göstermektedirler. Hidrojellerin biyomalzeme olarak kullanımına yönelik ilk çalışma Wichterle ve Lim tarafından yapılmıştır [Wichterle and Lím, 1960]. Bu çalışmada çapraz bağlı hidrofilik polimer, kontakt lenslerde kullanılmak üzere HEMA (2-hidroksietil metakrilat) ve EDMA (etilen dimetakrilat)'nın bir kopolimeri olarak sentezlenmiştir. Sonraki yıllarda geliştirilen sentez çalışmaları ile hidrojellerin biyo-uygulamalardaki kullanımı giderek artmıştır.

2.1. Hidrojellerin Sınıflandırılması

Hidrojeller, kullanılan polimer ya da monomerlerin kaynağına, polimer kompozisyonuna, iyon yüküne, çapraz bağlanma türüne, konfigürasyonuna ya da hidrojinin uyaran duyarlılığına bağlı olarak sınıflandırılabilirler [Bahram M. Et al., 2015] (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Hidrojellerin sınıflandırılmasına ait şema.

2.1.2. Kaynağına Göre Hidrojeller

Hidrojeller kaynağına göre doğal, hibrit ve sentetik olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar. Doğal hidrojeller; doğal kaynaklardan elde edilirler. Düşük toksisiteye ve yüksek biyo-uyumluluğa sahip olmaları biyo-uygulamalar için kullanılmalarında avantaj sağlarken mekanik dayanımlarının düşük olması ve patojen içerme olasılıkları dezavantaj oluşturmaktadır [Singh M. et al., 2016]. Hidrojellerin elde edilmesinde hyaluronik asit, jelatin, aljinat, kolajen, kitosan gibi doğal kaynaklar kullanılmaktadır [Kasai et al., 2022]. Aljinat bazlı hidrojel sentezine yönelik yapılan bir çalışmada kolajen ve agarozun sodyum aljinat ile sentezi sonucunda elde edilen hidrojel kıkırdak dokunun 3B baskısı için biyomürekkep olarak kullanılmıştır [Yang X. Et al., 2018]. Benzer şekilde hyaluronik asit ve kitosan sentezi ile elde edilen bir başka çalışmada da hidrojel, doku rejenerasyonunda enjekte edilebilir doğal polimer olarak kullanılmıştır [Deng Y. et al., 2017].

Sentetik hidrojellerin mekanik özellikleri doğal hidrojellere kıyasla daha yüksektir. Hidrojele biyobozunurluk gibi biyolojik fonksiyonların kazandırılması için uygun yapıya sahip olacak şekilde hazırlanabilirler. Hidrojel eldesinde en sık kullanılan sentetik polimerlere PEG (Polietilen glikol), PAA (Poliakrilik asit), PEO (Polietilen oksit), PVA (Polivinil alkol), PCL (Polikaprolakton), PLA (Polilaktik asit), PHEMA (Polihidroksietil metakrilat) vb. örnek verilebilir.

Hibrit hidrojeller ise doğal ve sentetik polimerlerin birlikte kullanılmasıyla elde edilmektedir. Polimer karışımına ek olarak nano parçacıklar kullanılarak da hibrit

hidrojel elde etmek mümkündür. [Lau H. K. and Kiick K. L., 2015]. Nano yapılar, çeşitli fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanmalar ile hidrojel yapısına dahil edilebilirler. Bu sayede hidrojelin mekanik özellikleri geliştirilebilir, çevresel uyarana karşı duyarlı bir yapı elde edilebilir [Palmese et al., 2019]. Nano yapılı hidrojellerin boyutlarının küçük olması özellikle ilaç salım uygulamaları için avantaj sağlamaktadır. Çeşitli biyo-uygulamalar için hibrit hidrojellerin kullanımı yaygındır. Örneğin Liu Y. ve ekibi çalışmalarında doku yapıştırıcısı olarak kullanılmak üzere, sentetik bir nanosilikat olan Laponit ile dopamin işlevli PEG kullanarak bir hibrit hidrojel sentezlemişlerdir. Nano yapının eklenmesiyle elde edilen hidrojelin mekanik ve yapışma özelliğinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir [Liu et al., 2014].

2.1.3. Polimerik Bileşimlerine Göre Hidrojeller

Hidrojeller, sentez yöntemlerine bağlı olarak içerdikleri monomer kompozisyonlarındaki değişime göre homopolimerik, kopolimerik ve iç içe geçmiş ağ yapıları (IPN) polimerik hidrojeller olarak sınıflandırılabilirler. Homopolimerik hidrojeller, tek tür hidrofilik monomerin çapraz bağlanma reaksiyonu sonucunda elde edilirler. Homopolimeri oluşturan monomerik birimin yapısı ve polimerizasyon yöntemi ile bağlantılı olarak çapraz bağlı olmayan hidrojeller de oluşturulabilir [Kumar S. et al., 2017].

Kopolimerik hidrojeller, en az iki farklı monomerden oluşan yapılardır. Bu sayede iki monomerin de kimyasal/mekanik özelliklerini taşıyabilirler. Monomerik birimlerin en az biri hidrofilik yapıda olmalıdır. Monomerlerin dizilişi ve miktarları ayarlanarak kopolimerlere istenen özellikler atanabilir. Kopolimerler, polimerik zincir yapısındaki monomerlerin dizilimlerine bağlı olarak; rastgele, sıralı, blok ve aşı (graft) kopolimerler olarak isimlendirilmektedirler. Rastgele kopolimer yapısında, monomerlerin dizilişlerinde bir düzen söz konusu değilken sıralı kopolimerlerde monomerler birbiri ardına ilerleyen bir düzende sıralanmışlardır. Blok kopolimerler, aynı tür monomer dizilimlerinin bloklar halinde bir araya geldiği yapılardır. Aşı kopolimerlerde ise ikinci monomer, polimer ana zincirine yan dal olarak eklenmiştir.

İç içe geçmiş ağ yapıları hidrojeller, birbirlerinden bağımsız olarak çapraz bağlanmış iki doğal veya sentetik polimerlerden oluşan yapılardır. Polimerlerden birinin doğrusal olduğu ağ yapıları yarı-IPN hidrojeller olarak isimlendirilmektedir. İç

içe geçmiş ağ yapılı hidrojeller, yapıdaki iki polimerin de özelliklerini taşıdığından hidrojinin uyarana duyarlılık ve mekanik dayanımı gibi özellikleri geliştirilmiştir.

2.1.4. İyon Yüküne Göre Hidrojeller

Hidrojeller, polimer zincirindeki iyon yüküne bağlı olarak anyonik, katyonik ve nötr hidrojeller olarak sınıflandırılırlar. Polimerik bağlarında elektrik yüklü gruplar barındırmayan hidrojeller, iyon yüklü olmayan (nötr) polimerlerdir. İyonik yüklü monomerlerin birleşimi ile oluşan hidrojeller ise iyonik hidrojellerdir. Hidrojel yapısındaki yükün değerine bağlı olarak anyonik veya katyonik hidrojeller olarak isimlendirilirler. Hem pozitif hem de negatif yükü bir arada barındıran hidrojeller ise amfoterik yapıdadırlar. Polimerik zincirde yüklü grupların yer alması biyo-uygulamalardaki kullanımlar için çeşitli avantajlar oluşturmaktadır.

2.1.5. Çapraz Bağlanma Türüne Göre Hidrojeller

Hidrojeller, kimyasal veya fiziksel olarak çapraz bağlar oluşturarak 3B ağ yapılarını meydana getirirler. Fiziksel bağlanma; Van der Waals etkileşimleri, hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimler ile meydana gelmektedir. Fiziksel apraz bağlanma, geçici bir bağlanma oluşturur ve bu sentez yöntemi tersinirdir [Parhi, 2017]. Fiziksel apraz bağlanmada çapraz bağlayıcı ajanların kullanılmayışı bu yöntemin avantajı sayılabilir. Kimyasal bağlanmada ise kovalent bağlar kullanılarak polimer zincirleri birbirine bağlanır ve bu bağlanma kalıcı çapraz bağlar oluşturur. Kovalent bağlı hidrojellerde zincir kopmaları görülmediği sürece hidrojel, bir çözücü içerisinde çözünmezken fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojellerde durum farklıdır. Çözücü bileşimi veya ortam koşulları (sıcaklık, pH vb.) değiştiğinde fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojinin yapısında çözünme görülebilmektedir.

2.1.6. Konfigürasyona Göre Hidrojeller

Hidrojeller, hidrofilik polimeri oluşturan ağların fiziksel yapısına göre amorf, kristal ve yarı-kristal olarak sınıflandırılırlar. Amorf hidrojellerde makromolekül zincirleri rastgele bir düzende, gelişigüzel yerleşmişlerdir [Peppas,1986]. Kristal yapılı hidrojellerde ise zincirler belirli bir düzende bir araya gelmişlerdir. Bu düzen, hidrojel

yapısının sertliğini etkilemektedir. Kristal yapılı hidrojel­ler sert, amorf yapı­lı hidrojel­ler ise elastik formda bulunurlar. Hidrojin kristalinite oranı değiştikçe hidrofilik polimerin mekanik özelliklerinde de doğru orantılı olarak değişim görölmektedir.

2.1.7. Çevresel Uyarana Duyarlı Hidrojeller

Hidrojellerin önemli özelliklerinden biri çevresel uyar­anlara karşı cevap oluşturabilmeleridir. Sıcaklık, ışık, pH, elektriksel/manyetik alan gibi ortam değişikliklerine bağlı olarak hidrojel şişme ve/veya bü­zölme davranışı sergiler ve böylece hidrojel hacmi ve kü­tle­sinde değişimler görölür. Bu sayede ger­çek­leşebilen şişme davranışı sayesinde su ve biyolojik sıvı hidrojel tarafından emilir. Bu tür hidrojel­ler akıllı hidrojel­ler olarak da isimlendirilmektedir [Gümüşderelioğlu, 2010], [Li et al, 2021].

2.1.7.1. Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller

Sıcaklığa duyarlı hidrojel­ler, polimerik ağ yapılarında genellikle etil, metil, propil gibi grupları barındırmaktadırlar [Avila-Salas et al., 2020], [Zhang et al., 2021]. Hidrojel­lerin sıcaklığa bağlı tepkileri en düşük kritik çözelti sıcaklığı (LCST) ve üst kritik çözelti sıcaklığı (UCST) terimleri ile açıklanabilir. Üst kritik çözelti sıcaklık değerinin altında bü­zölme, bu sıcaklığın üstüne çıkıldığında ise şişme davranışı gösteren polimerik yapılar pozitif sıcaklığa duyarlı hidrojel­ler olarak isimlendirilmektedirler. LCST altındaki çözelti­lerde şişme, bu sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklarda ise bü­zölme davranışı gösteren hidrojel­ler negatif sıcaklığa duyarlı hidrojel­ler olarak isimlendirilirler [Balan,2021]. Sık kullanılan sıcaklık duyarlı hidrojel­lere örnek olarak PNIPAAm olarak kısaltılan poli(N-izopropil akrilamid) ve poli(vinilmetileter) (PVME) verilebilir. PNIPAAm'ın LCST değeri yaklaşık olarak 32°C'dir. Hidrojel, bu sıcaklığın altında iken bü­zölme davranışı sergiler. Sıcaklığa bağlı olarak ger­çekleşen şişme/bü­zölme davranışı tersinirdir ve bu hidrojel­ler özellikle kontrollü ilaç salım sistemlerinde sıklıkla kullanılırlar.

2.1.7.2. pH'a Duyarlı Hidrojeller

pH değişimine duyarlı hidrojeller, polimerik yapılarında asidik ve bazik gruplar barındırırlar. Ortamdaki pH değişimi, hidrojin asidik ve bazik bölgelerinden proton transferine sebep olmaktadır. Bu iyonlaşma hidrojel yapısında sabit elektriksel yük oluşturur ve bu elektrostatik kuvvetlerin itme hareketleri sonucunda polimerik ağ yapısına çözücü moleküllerinin girişi gerçekleşerek şişme meydana gelir. Şişme davranışı geri dönüşümlü olarak gerçekleşmektedir ve tekrarlanabilir [Rizwan et al. 2017]. pH'a duyarlı hidrojeller özellikle mide ortamında zararlı olabilecek ilaçların mide yerine bağırsakta çözünmelerini sağlamak amacıyla kullanılmaktadırlar. Mide ortamındaki pH değerinde ($\text{pH} < 2$) büzülen hidrojeller bağırsak pH'ında ($\text{pH} > 7$) şişerek ilacın salımını gerçekleştirirler [Hibbins et al 2017]. Benzer şekilde şeker hastalığının tedavisinde önemli olan insülin salımı için de bu özellikteki polimerik yapılar kullanılmaktadır [Gümüşderelioğlu, 2010].

2.1.7.3. Manyetik ve Elektriksel Alana Duyarlı Hidrojeller

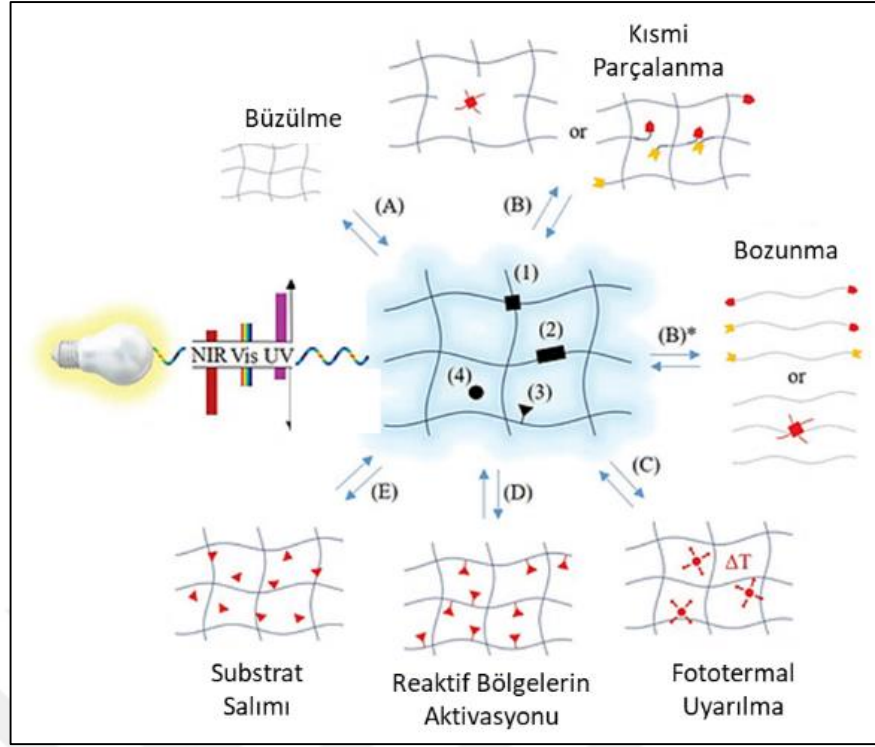
Manyetik alana duyarlı hidrojeller, manyetik parçacıkların jel içerisine yerleştirilmesi ile oluşmaktadır [Li et al., 2013]. Bu jeller manyetik alana maruz bırakıldıklarında ısınabilir, manyetik alan ortadan kaldırıldığında ise soğuyarak ilk hallerine geri dönebilirler. Yapay kas uygulamaları, ilaç salım sistemleri gibi çalışmalar için bu tür hidrojeller kullanılmaktadır.

Elektriksel alana duyarlı hidrojeller ise elektriksel alan altında şişme/büzülme davranışı sergilemektedirler [Carayon et al., 2020]. Bu özellikteki hidrojeller genellikle polielektrolitlerden oluşmaktadır. Elektriksel alan etkisi ile polimerik ağda, hareketli iyonları elektrotlara çeken karşı iyonlar ve hareketsiz yüklü gruplar üzerinde bir kuvvet üretilir. Hidrojel, katot ve anotta bölgesel olarak şişer ve büzülür. Böylece elektrik enerjisi mekanik enerjiye dönüştürülür. Aynı zamanda elektriksel alan tarafından çözelti içerisindeki iyonlar manipüle edilerek hidrojin şişme/büzülme davranışı kontrol edilebilir. Elektriksel alana duyarlı hidrojeller, kontrollü ilaç salım sistemlerinde, doku mühendisliği ve biyo-sensör uygulamalarında kullanılmaktadırlar.

2.1.7.4. Işığa Duyarlı Hidrojeller

Hidrojeller pH, sıcaklık, manyetik ve elektriksel alan dışında ışık etkisine karşı da cevap oluşturmaktadırlar. Işık uygulaması sonucu hidrojel yapısında fiziksel ve/veya kimyasal değişimler görülebileceği gibi hidrojel sentezi de ışık etkisi ile gerçekleşebilmektedir. Işıkla indüklenen fotopolimerizasyon; solvent kullanımına gerek duyulmaması, reaksiyon süresi ve buna bağlı olarak polimerik ağ yapının oluşumunun hızlı gerçekleşmesi, uygulama kolaylığı gibi avantajlar sağladığından pek çok uygulama için ilgi çekici bir sentez yöntemi olmuştur [Samadian et al., 2020].

Çevresel uyaranlar üzerinde gerçekleştirebileceğimiz müdahaleler sonucunda hidrojel davranışlarını kontrol etmek mümkündür. Hidrojel üzerindeki bu kontrol için çevresel uyaranlar arasında en etkili uyaranın ışık olduğu bilinmektedir [Li et al., 2019]. Işık, non-invaziv olduğundan ilave reaktifler gerektirmeden materyal üzerindeki kontrolü kolaylaştırır. Ek olarak ışık yoğunluğu ve ışınlama süresi gibi parametreler üzerinde kolaylıkla değişimler yapılabildiğinden fotokimyasal reaksiyonun kontrol edilmesi de kolaylaşmaktadır [Shen et al., 2020]. Işığa duyarlı hidrojeller, genellikle bir polimerik ağ yapı ve bir foto-reaktif gruptan oluşmaktadırlar. Fotokromik molekül, ışık kaynağı (yakın kızılötesi-NIR, ultraviyole-UV, görünür ışık) ile karşılaştığında optik sinyali yakalar ve foto-reaksiyon mekanizması ile optik sinyali kimyasal sinyale dönüştürür. Bu sayede hidrojeller ışık kaynağı altında Şekil 2.2'deki davranışları sergileyebilirler veya ilgili moleküller aracılığı ile hidrojele işlevsellik kazandırılabilir.



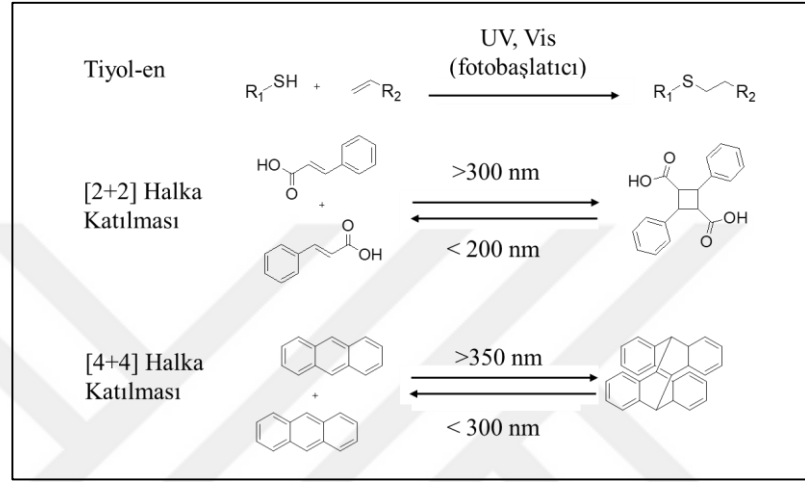
Şekil 2. 2: Işık uygulaması sonucunda gerçekleşebilecek hidrojel davranışları.

Hidrojellere ışığa duyarlılık özelliği genel olarak ışık kaynağı altında değişim gösteren kumarin, o-nitrobenzil esteri, azobenzen, spiropiran gibi gruplar sayesinde kazandırılmaktadır. Bu fonksiyonel gruplar çeşitli reaksiyon mekanizmaları ile etki gösterirler. Genellikle bu reaksiyonlar tersinirdir ve ışık kaynağının ortadan kaldırılması veya değişen dalga boyundaki ışık uygulaması ile sistem geri dönüştürülebilir. Işık etkisi ile gerçekleşen reaksiyonlara; nükleofilik ve bazı halka katılma reaksiyonları, fotoizomerizasyon ve fotoparçalanma reaksiyonları örnek verilebilir [Li et al., 2019].

2.1.7.4.1. Katılma Reaksiyonları

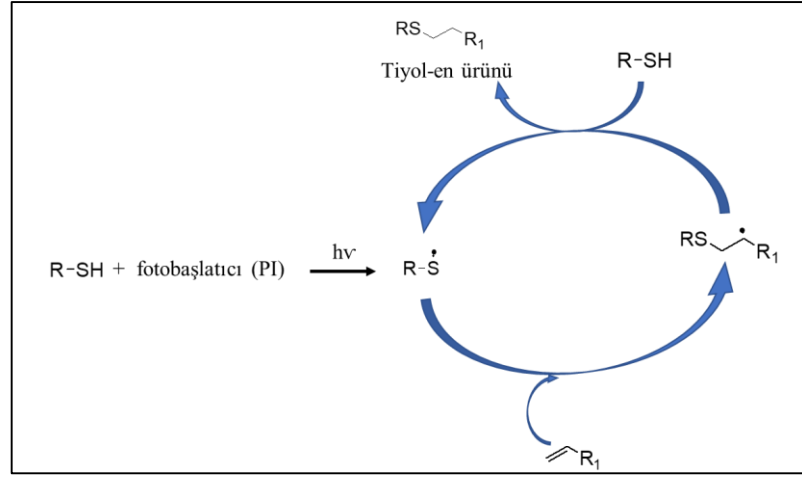
Foto-kimyasal katalizli reaksiyonlardan bazıları Şekil 2.3'te gösterilmiştir. Bu reaksiyonlar arasında halka katılma reaksiyonları yaygın olarak tercih edilen sentez yöntemlerindendir. Halka katılma reaksiyonlarında, iki veya daha fazla sayıda doymamış grup taşıyan molekül, bağ çokluğunun azalması ile halkalı bir yapı oluşturmak için bir araya gelirler. Katılma reaksiyonu, halkayı oluşturan π elektronlarına bağlı olarak [4+4] veya [2+2] halka katılması olarak isimlendirilmektedir. [2+2] halka katılma reaksiyonu, genel tanımı ile bir siklobütan

oluşturmak üzere, molekül içi veya moleküller arası olabilen, uyarılmış durumdaki bir enonun bir alken ile kombinasyonuna dayanmaktadır [Crimmins et al., 2004]. [4+4] halka katılma reaksiyonu ise sekiz üyeli bir halka oluşturmak için iki doymamış molekülün uygun koşullarda bir araya gelmesine dayanmaktadır. Her iki halka katılma reaksiyonu da uygun dalga boyunda ışık uygulaması veya sıcaklık etkisi ile tersine çevrilebilir.



Şekil 2. 3: Fotokimyasal katalizli katılma reaksiyonları.

Tiyol-bazlı reaksiyonlar, bir tiyol ($R-SH$) ve bir alken ($R_2C=CR_2$) veya alkin ($RC\equiv CR$) molekülü arasında gerçekleşen radikalik katılma reaksiyonlarıdır. Sentez sonrasında bir tiyoeter ($R-S-R'$) oluşmaktadır. Şekil 2.4'te yer alan şemada tiyol-bazlı reaksiyon mekanizması gösterilmiştir [Anseth et al., 2015]. Klık kimyası reaksiyonlarından biri olan tiyol-en reaksiyonları, hafif reaksiyon koşullarında ve hızlı ilerlemekle beraber sentez sonrasında da yan ürün oluşmaksızın yüksek verimli ürünlerin elde edilmesini sağlamaktadırlar. Bu özelliklerine ek olarak biyoortogonal olan tiyol-en reaksiyonları biyo-uygulamalar için yaygın bir şekilde kullanılan sentez yöntemlerindendir.

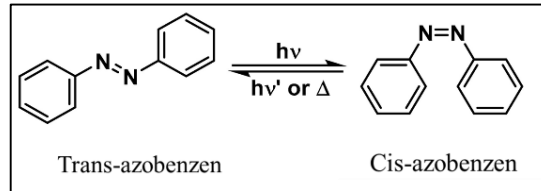


Şekil 2. 4: Işık uygulaması ile başlatılan tiyol-bazlı reaksiyon mekanizması.

2.1.7.4.2. Fotoizomerizasyon

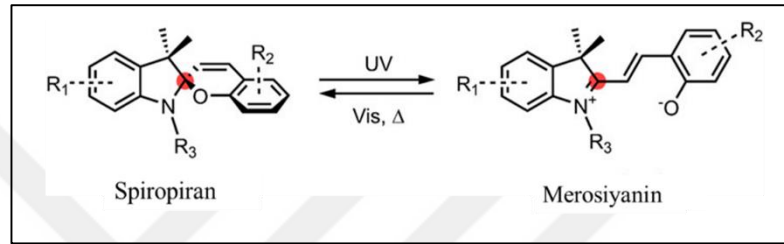
Işık etkisi ile moleküllerin izomerleri arasındaki dönüşüm süreci fotoizomerizasyon olarak adlandırılmaktadır [IUPAC, 1997]. Bu reaksiyonlar genellikle tersinirdir ve yan ürün oluşturmazlar. Cis-trans izomer dönüşümü ve halka açılmasına dayalı kimyasal dönüşümler fotoizomerizasyonda görülen en yaygın dönüşümlerdir. Işık ile uyarılmış izomerizasyon reaksiyonları veren yaygın moleküllere örnek olarak azobenzen, stilben, spiropiran/spiropiransazin, fulgid, ditienilenen molekülleri verilebilir [Balmond et al., 2016].

Azobenzen, Şekil 2.5'te görüldüğü gibi uygun dalga boyundaki ışık uygulaması ile kararlı durumdaki trans konfigürasyonundan cis konfigürasyonuna dönüşebilen bir moleküldür. Reaksiyonun geri dönüşümü ışık veya ısı etkisi ile gerçekleşebilmektedir. Bu izomerizasyon mekanizması, biyo-uygulamalarda özellikle self-healing ve konak-konuk etkileşimlerini incelemek amacıyla kullanılan yaygın bir sentez yoludur.



Şekil 2. 5: Azobenzen molekülünün ışık etkisi ile gerçekleşen izomerizasyon mekanizması.

Spiropiran molekülü, benzer şekilde ışıkla indüklenerek hidrofobik kapalı halka formundan hidrofilik zwitter iyonik açık halka formuna dönüşür (Şekil 2.6). Spiropiran, 200-400 nm dalga boyları arasında UV ışığı uygulaması ile halka açılmasına maruz kalır. Oluşan ara ürün, merosiyanin olarak isimlendirilen renkli ve iyon yüklü yapıyı oluşturmak üzere izomerleşir [Fagan et al., 2021], [Kortekaas et al., 2019]. Merosiyanin formu katyonik metaller ile kompleks oluşturarak stabilize edilebilir [Paramonov et al., 2011]. İzomerizasyon tepkimesi, merosiyanin izomerinin görünür ışık ışınlaması veya sıcaklık uygulaması ile tersine çevrilebilir.



Şekil 2. 6: Spiropiran molekülüne ait ışık etkisi ile gerçekleşen izomerizasyon mekanizması.

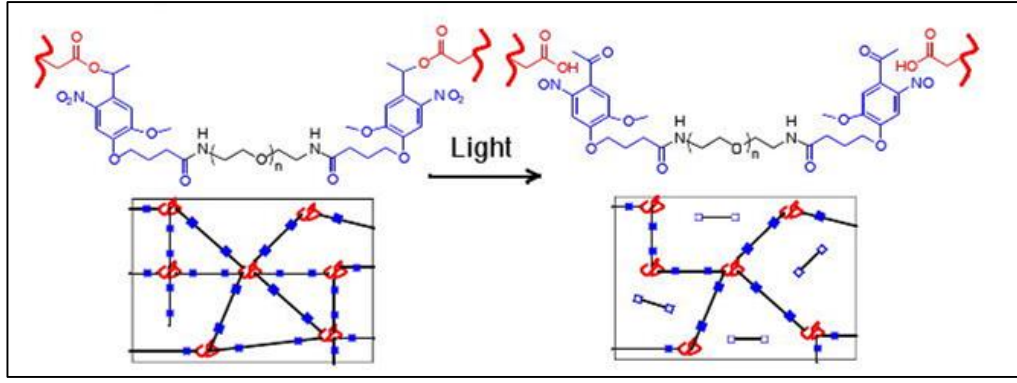
2.1.7.4.3. Fotoparçalanma

Kumarin, nitrobenzil esteri, arilmetil gibi gruplar ışıkla parçalanabilen fotokafesleme grupları (photolabile protecting groups-PPG) olarak bilinirler. Bu gruplar çeşitli biyomolekül veya polimerik yapılara kovalent olarak bağlanarak hedef molekülü maskeleyenlerdir. Uygun dalga boyunda ($\lambda = \sim 220-450\text{nm}$) ışık uygulaması sonucunda ilgili koruma grupları hedef molekülden ayrılırlar [Hansen et al., 2015]. Koruma grupları arasında nitrobenzil grupları, pek çok çalışmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Nitrobenzil gruplarının yüksek duyarlılıkları ve tepkime için gerekli UV dalga boyu aralığının özellikle biyo-uygulamalarda canlı dokulara zarar vermeyen bir aralıkta oluşu tercih edilme sebeplerindendir [Davies, 2007]. Orto-nitrobenzil yapılı koruma grupları 300-365 nm ışık uygulamasına maruz bırakıldıklarında, maksimum adsorpsiyon göstererek, genellikle dakikalar içinde parçalanabilirler. Bu süre ışık kaynağı yoğunluğuna bağlı olarak birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişebilir [Zhao et al., 2012].

Nitrobenzil grubu, ışık ile karşılaştığında birkaç adımda parçalanmaktadır (Şekil 2.7). İlk adımda nitrobenzil, ışınlama ile uyarılır ve asi-nitro ara ürünü oluşmak üzere



Şekil 2. 7: O-nitrobenzil molekülüne ait ışık ile parçalanma mekanizması



Şekil 2. 8: O-nitrobenzil grubu içeren ve ışık ile parçalanabilen hidrojel.

2.2. Reaktif Hidrojeller

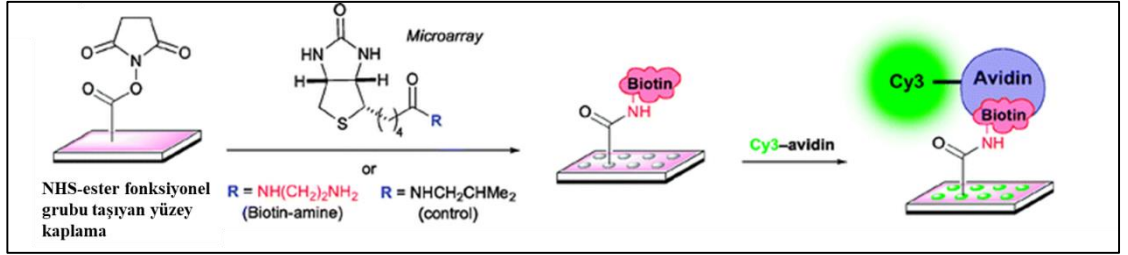
Reaktif grup barındıran hidrojeller, jellerin sentez sonrasında istenen moleküllerle ya da biyomoleküllerle işlevselleştirilmesine olanak sağlar. Polimerleşme sonrası işlevselleştirme için yaygın olarak klik tepkimelerinden yararlanılmaktadır. Bu tepkimeler ılımlı tepkime koşullarında gerçekleştirilebilmeleri, yan ürün oluşturmamaları, fonksiyonel grup çeşitliliğine olanak tanımaları, hızlı gerçekleşen yüksek verimli tepkimeler olmaları gibi avantajlarından dolayı sıklıkla tercih edilmektedirler. Bu reaksiyonlarda kullanılan metal katalizörünün kalıntıları sitotoksikiteye sebep olabileceğinden son yıllarda metal katalist gerektirmeyen klik tepkimelerine olan ilgi artmıştır [Escorihuela et al., 2015], [Zalesskiy et al., 2016].

Biyomoleküllerin doğrudan bağlanması için hazırlanan hidrojellerde genel olarak tiyol ve amin grupları ile tepkime verebilen gruplar bulunmaktadır. Tiyol kimyası, klik reaksiyonları olarak kabul edilenler de dahil olmak üzere çok sayıda reaksiyonu içermektedir [Hoyle et al., 2004]. Tiyol-tabanlı biyosabitlenme çalışmalarında tiyol-in, tiyol-en, Michael katılması, tiyol-disülfid yer değiştirme tepkimeleri sıklıkla kullanılmaktadır [Stenzel, 2013].

Fonksiyonel polimerlerin tasarımında, özellikle amin-reaktif grupların polimerik yapıda var olması biyo-uygulamalar için önem arz etmektedir. Proteinler, enzimler, DNA/RNA gibi biyomoleküller, yapılarında amin gruplarını barındırırlar ve amin-reaktif grupların yer aldığı yüzeylerde bulunduklarında ilgili moleküller ile kimyasal etkileşime girerek yüzey immobilizasyonunu gerçekleştirebilirler.

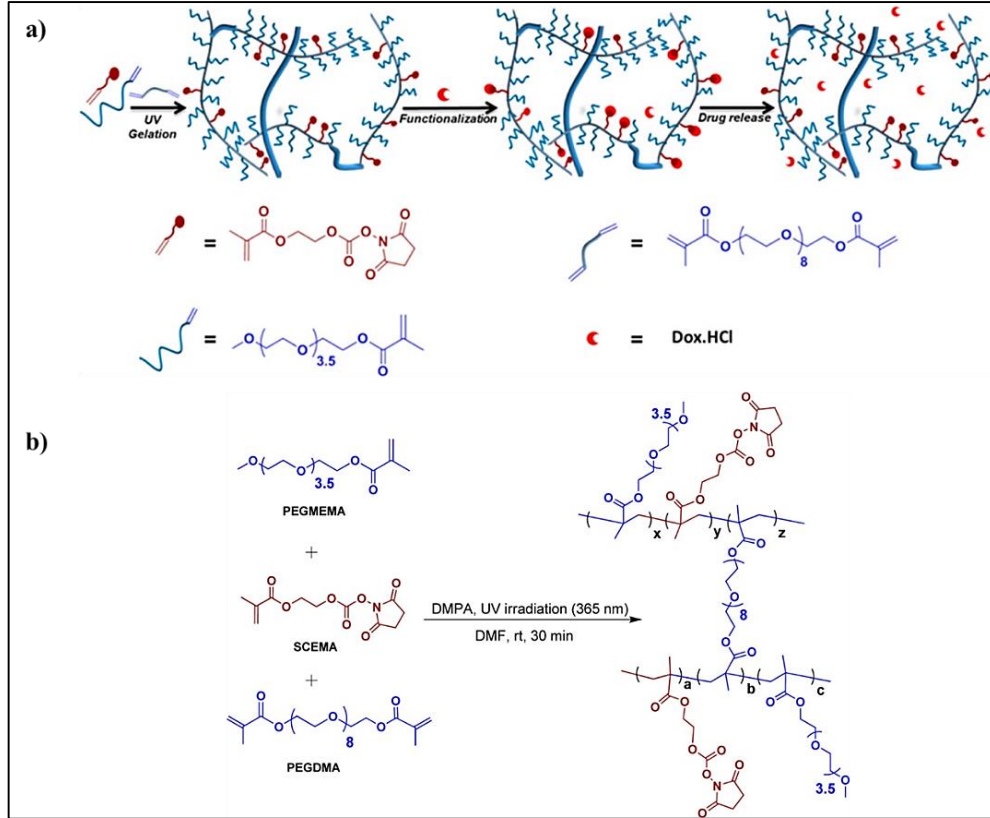
Amin grupları, aktif esterler, epoksiler ve süksinimit karbonatlar aldehit molekülleri ile kolaylıkla reaksiyon verebilirler. Bu moleküller arasında N-hidroksi süksinimit, hem kolaylıkla tepkime verdiği için hem de oluşan amit bağı sulu ortamda

stabil olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, Jon ve ekibi tarafından yapılan çalışmada N-hidroksisüksinimit (NHS) ile aktive edilmiş karboksilik asit esterleri içeren polimerik ince filmler, proteinleri immobilize etmek için kullanılmıştır [Park et al., 2007]. Spring ve ekibi NHS-ester grubu barındıran hidrojelleri cam yüzey kaplaması olarak hazırlamışlar ve bu hidrojel yüzeylerin üzerine protein bağlayıcı ligandları desenli olarak bağlamışlardır. Ardından bu reaktif mikrobölgelere seçici olarak protein sabitlenebildiğini göstermişlerdir (Şekil 2.9) [Spring et al., 2009].



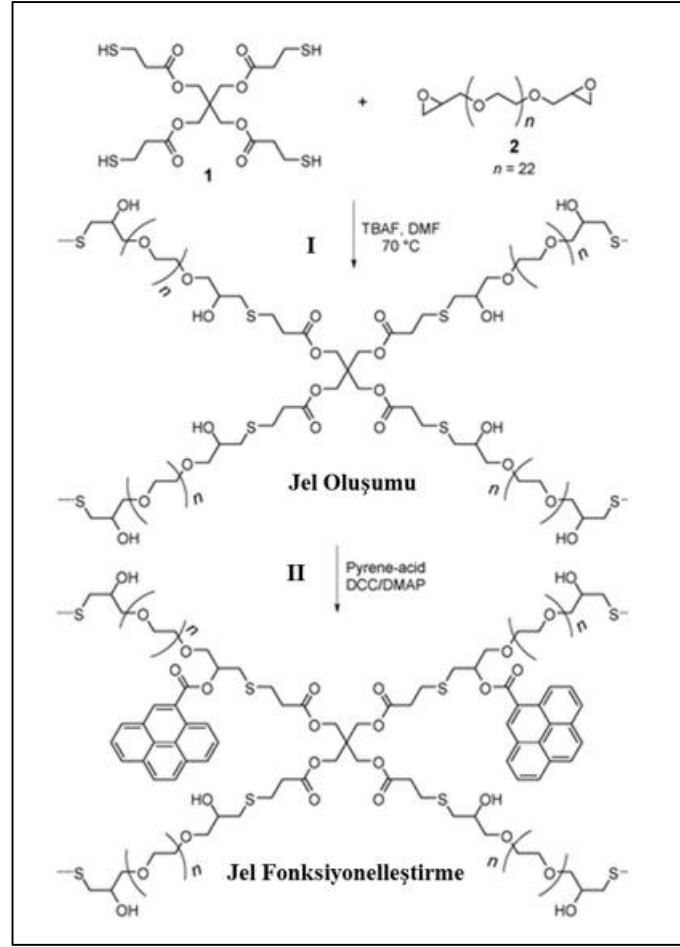
Şekil 2. 9: Fonksiyonel gruplar barındıran yüzey kaplama ve yüzeyin protein ligandı ile işlevselleştirilmesi.

NHS ile aktifleştirilmiş karbonat kimyası ise hidrojellere biyomoleküllerin bağlanmasından sonra biyomolekülün salımına da izin vermesi bakımından bazı uygulamalar için avantajlıdır. Sanyal ve ekibi, NHS ile aktifleştirilmiş karbonat fonksiyonel grubu barındıran PEG bazlı hidrojel ve kriyojel sentezlemişlerdir. Yapıdaki fonksiyonel gruplar aracılığı ile DOX ilacı jellere bağlanmış ve jellerin ilaç salım kinetikleri değerlendirilmiştir (Şekil 2.10) [Aydin, 2017].



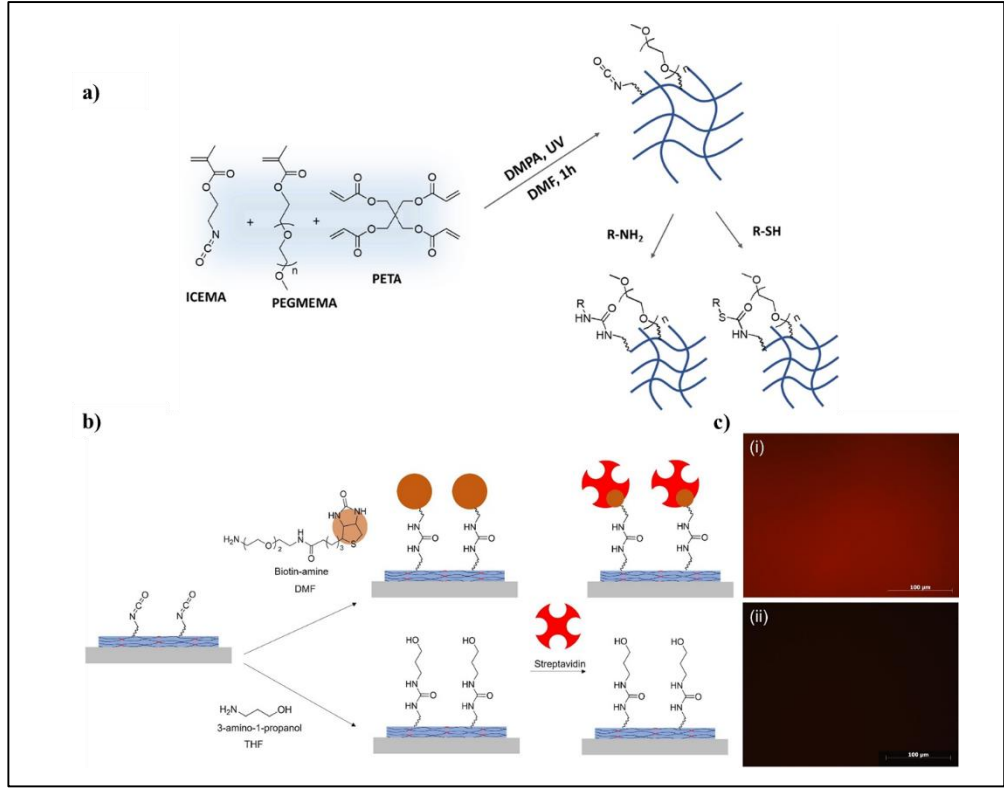
Şekil 2. 10: NHS-aktifleştirilmiş ester fonksiyonel grubu taşıyan hidrojel sentezi a) Jel sentezi ve fonksiyonelleştirmeye yönelik şematik görünüm b) Jel bileşenleri ve reaksiyon koşulları.

NHS dışında epoksit gruplarından da hidrojel sentezi ve biyosabitlenme çalışmalarında sıkça yararlanılmaktadır. Örneğin Sanyal araştırma grubu tarafından yapılan bir çalışmada; tiyol-epoksi kenetlenme (coupling) reaksiyonu ile hidrojel sentezi gerçekleştirilmiş ve jelleşme işleminden sonra yapıda reaktif hidroksil grupları oluşmuştur. Tiyol-epoksi reaksiyonu sonucunda oluşan hidroksil gruplarının, hidrojel üzerinde biyosabitlenme bölgesi olarak kullanılabilir olduğu ifade edilmiştir (Şekil 2.11) [Cengiz, 2013]. Farklı bir çalışmada, epoksi içeren amin reaktif polimerik kaplamalar, istenmeyen biyo-bağlanmayı engelleme (antifouling) özelliğine sahip olacak şekilde hazırlanmış ve amin içeren biyomoleküllerin epoksi-amin tepkimesi ile polimerik kaplamaya bağlanması gerçekleştirilmiştir [Sung et al., 2012].



Şekil 2. 11: Tiyol-epoksi reaksiyonu ile hidrojel sentezi ve fonksiyonelleştirilmesi.

İzosiyanat grupları amin içeren moleküllerin / biyomoleküllerin hızlı bağlanmasına olanak sağlamaktadır [Perzyna et al. 2007], [Hensarling et al., 2011]. Amin-izosiyanat etkileşimine yönelik grubumuz tarafından yapılan çalışmada 2-izosiyanatoetil metakrilat (ICEMA) monomerinin poli(etilen glikol) metil eter metakrilat (PEGMEMA) ve pentaeritritol tetraakrilat (PETA) ile fotopolimerizasyonu sonucunda fonksiyonel hidrojel sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen hidrojel, yapısındaki izosiyanat molekülünün amin reaktivitesi sayesinde amin grupları taşıyan moleküller ile bağlanabilecek fonksiyonalliteye sahiptir. Bu fonksiyonelliğin doğrulanması amacıyla cam yüzey üzerinde hidrojel kaplamalar sentezlenmiş ve Biotin-amin/Streptavidin kompleksinin hidrojel yüzeyine bağlanabilir olduğu incelenmiştir. Beklendiği gibi izosiyanat-amin etkileşimi sonucunda biyotin-amin bağlanmış, bu grupların üzerine de TRITC-streptavidin başarılı bir şekilde sabitlenebilmiştir (Şekil 2.12) [Tarakci ve Gevrek, 2022].



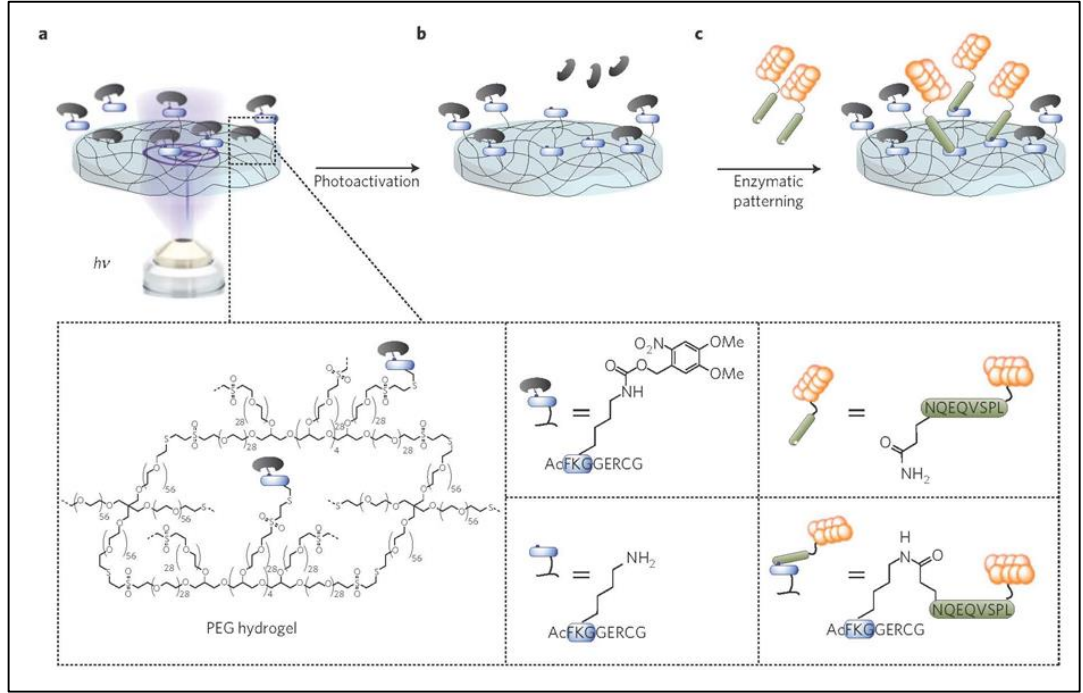
Şekil 2. 12: (a) İzosiyanat içeren fonksiyonel hidrojel sentezi ve hidrojinin amin/tiyol grupları ile işlevselleştirilmesi (b) Biotin-amin ve Streptavidin moleküllerinin yüzeye sabitlenmelerinin şematik görünümü (c) Streptavidin sabitlemesinin doğrulandığı floresan mikroskop görüntüleri.

Aldehit grupları da hidrojelere amin gruplarına karşı reaktiflik özelliği vermek için yaygın olarak kullanılan gruplardandır [Shajpal et al 2022]. Amin grupları, aldehit gruplarına bağlanarak Schiff bazı adı verilen yapıyı oluşturmaktadırlar. Polimerde bulunan hidroksil gruplarının asetik anhidrid ve dimetil sülfoksit (DMSO) varlığında oksitlenmesi ile aldehit grubu elde edilebilir. Klok ve ekibi bu şekilde elde ettikleri aldehit grubu içeren polimer fırçalara amin içeren oligonükleotidlerin bağlanabildiğini göstermişler ve elde ettikleri platformların DNA sensörü olarak kullanılma potansiyelini incelemişlerdir [Bilgic ve Klok, 2015].

2.2.1. Işık Etkisi ile Aktifleşebilen Hidrojeller

Işık etkisi ile aktifleşebilen hidrojel, özellikle jel üzerinde desenli mikrobölgelerin eldesi için tasarlanmaktadır. Mosiewicz ve ekibi tarafından yapılan çalışmada PEG bazlı hidrojel üzerinde hücre büyüme faktörü olarak çalışan bir enzimin peptid substratı bağlanmıştır. Yüzeyde bulunan peptidler, nitrobenzil yapılı

nitroveratriloksikarbonil grubu ile bağlanarak maskelenmiş ve peptidin işlevi bloklanmıştır. Uygun dalga boyunda ışığın desenli olarak bu hidrojellere uygulanması sonucunda nitrobenzil yapılı koruma grubu parçalanarak yüzeyden ayrılmış, ardından bu bölgelerde bulunan peptid substratı aktif duruma geçmiş ve enzim (transglutaminase factor XII) varlığında hedeflenen biyomoleküller ile bağlanabildiği gösterilmiştir. (Şekil 2.13) [Mosiewicz et al., 2013].

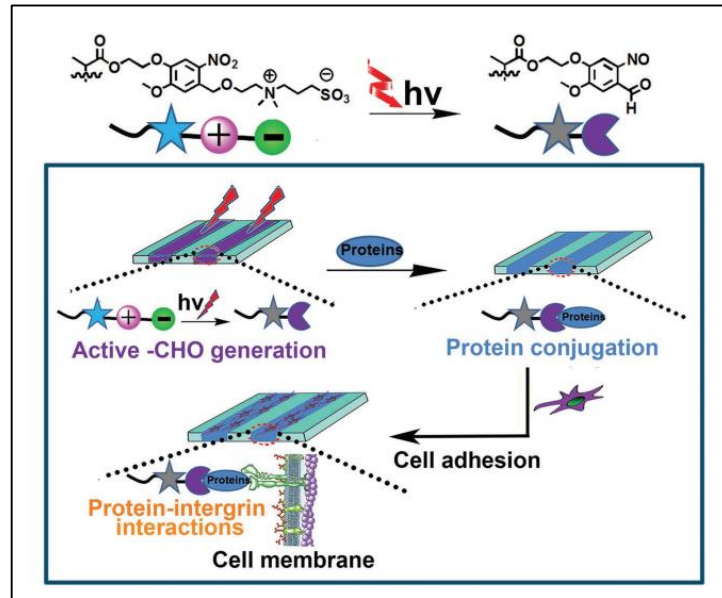


Şekil 2. 13: Hidrojin ışık kontrollü enzimatik biyomolekül modellemesi.

Son yıllarda çeşitli malzemeler üzerinde aldehit grubu oluşturmak için ışığa duyarlı grup olan o-nitrobenzil grubunun kullanımı oldukça yaygındır. Buna yönelik olarak Barner-Cowollik ve ekibi o-nitrobenzil asetal ve trietoksisilan grubu içeren molekül sentezi gerçekleştirmiş ve yüzey kaplaması oluşturmuşlardır. Yüzeyi ışık etkisi ile desenli olarak aktive ettikten sonra oksim ligasyonu ile yüzeye biyomolekül sabitlenebildiğini göstermişlerdir [Pauloehrl et al., 2012]. Daha önceki yıllarda o-nitrobenzil grubu, hidrojellerin 3B desenlendirilmesinde ve peptidlerin ışık etkisi ile salımında kullanılmaktaydı. [Deforest et al., 2011], [Deforest et al., 2012] Ancak o-nitrobenzil grubunun parçalanması sırasında reaktif nitrosobenzaldehit oluşumunu avantaj olarak alan bu yaklaşım daha sonra hidrojellere de uygulanmıştır.

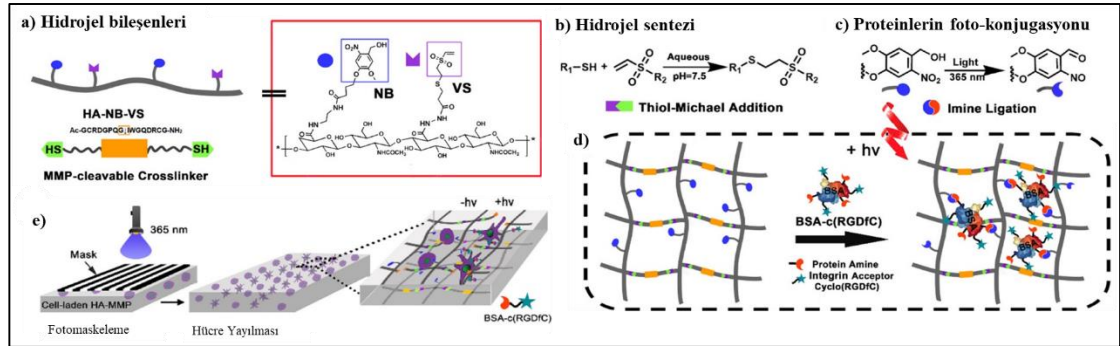
Zhu ve ekibi 2018 yılında yayınladıkları çalışmalarında, o-nitrobenzil grubu içeren zwitteriyonik monomer ile hidrojel sentezi gerçekleştirmiş ve bu hidrojellere

hücre bağlanması ve bağlanan hidrojenlerin yönlendirilmesini göstermişlerdir (Şekil 2. 14) [Ming et. al., 2018]. Çalışmada öncelikle, zwitteriyonik o-nitrobenzil monomer, 2-hidroksietil metakrilat, poli(etilen glikol) metakrilat ve poli(etilen glikol) diakrilat ile fotobaşlatıcı olarak amonyum persülfat kullanılarak hidrojel elde edilmiştir. Hidrojellere UV ışığı uygulaması ile yüzeyler üzerinde nitrosobenzaldehit grupları oluşmuştur. Fotomaske kullanarak bölgesel olarak aktiveleştirilen bu hidrojelere protein sabitlemesi gerçekleştirilmiştir. Benzofenon ve fenil azid içeren monomerler ile de benzer şekilde hidrojenler elde edilmiş ve çeşitli proteinlerin immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hidrojellere önce protein ekleyip sonra ışık uygulanması yaklaşımı ile önce ışık uygulayıp sonra protein ekleme yaklaşımları kıyaslanmıştır. Birinci yaklaşımda benzofenon ve fenil azid içeren jellerde de protein adsorbsiyonu gözlenir, ikinci yaklaşımda sadece o-nitrobenzilamin içeren jellerde protein immobilizasyonu gözlenmiştir. Daha sonra hidrojelere desenli olarak jelatin bağlanmış ve hücrelerin sadece bu bölgelerde büyümesi sağlanmıştır. Hidrojellerin boş kalan yerlerinin de yine UV ışığı ile aktive edilmesi ve jelatin sabitlemesiyle hücrelerin ekilen bölgelerin dışına doğru büyümeye başladıkları dikkat çekmiştir. İkinci sabitleme fibronektin ile yapıldığında ise, hücrelerin bu proteine jelatine nazaran daha çok afinitesi olduğundan bulundukları yeri tamamen terk ederek fibronektin sabitlenen bölgeye göç ettikleri gözlenmiştir.



Şekil 2. 14: Ortonitrobenzil içeren zwitteriyonik monomer ile hazırlanan hidrojenlerin desenli protein bağlaması ve bu bölgelerde hücre büyütülmesi.

Zhu ve ekibi tarafından amin reaktivitesiyle işlevselleştirilen hidrojellerin hücre davranışları üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yapılan bir diğer çalışmada, 3B hücre mikroortamı olarak nitrobenzil grubu barındıran bir hidrojel sentezlenmiştir (Şekil 2.15). Hidrojel sentezi için hyalüronik asit, nitrobenzil ve vinil sülfon grupları ve PEG-bistiyol çapraz bağlayıcısı kullanılarak tiyol-Michael katılması ile hidrojel oluşturulmuştur. Hidrojel yüzeyine amin grubu taşıyan hücresel yapışma peptid kompleksi (BSA-c(RGDfC)) ve fibroblast hücrelerinin ekimi yapılmıştır. Fotomaske kullanılarak, 365 nm dalga boyunda UV ışığı uygulaması yapılmış ve ışık etkisi ile hidrojel yapısındaki nitrobenzil grupları parçalanarak nitrosobenzaldehit molekülünü oluşturmuştur. Oluşan nitrosobenzaldehit grubu, imin ligasyonu ile hidrojel yüzeyindeki amin bazlı yapışma peptidleri ile bağlanarak hidrojel üzerindeki hücrelerin yapışma peptidleri ile etkileşimini sağlamıştır. Fotomaske kullanıldığından, hidrojel yüzeyinde sadece maskenin ışığı geçirdiği bölgelerde amin-reaktivitesi görülmüş ve bu nedenle yüzeydeki hücreler sadece ışığın ulaştığı bölgelerde, yapışma peptidinin etkisi ile, yüzeye yapışma ve yayılma davranışı sergilemişlerdir [Cai et al., 2019].



Şekil 2. 15: Işığa duyarlı reaktif hidrojel sentezi ve 3B hücre kültürü uygulaması a) Hidrojel bileşenleri b) Hidrojel sentez mekanizması c) Işık ile nitrobenzil molekülünün nitrosobenzaldehite dönüşümü ve d) buna bağlı olarak amin grubu taşıyan RGD peptid kompleksinin hidrojel yüzeyine kovalent bağlanması e) Hidrojel yüzeyindeki hücrelerin, fotomaske uygulaması ile sadece ışığa maruz kalan bölgelerde yüzeye yapışmaları.

2.3. Mikrokuyular

Biyo-uygulamalarda hücresel davranışların incelenmesi, düşük konsantrasyonlardaki biyomoleküllerin ölçülmesi gibi çalışmalarda, hücre kültürü ortamını taklit edebilen polimerik yapılar 3B hücre mikroortamı olarak kullanılmaktadırlar. Geleneksel hücre kültürlerinde, hücre popülasyonu üzerinde bir çalışma yapılmakta iken mikrometre ölçekli kültür kuyu dizilerinde (mikrokuyu dizilerinde) daha az sayıdaki hücrelere yönelik bir çalışma yapılabilir. Bu sayede kültürdeki hücre dinamikleri daha spesifik bir şekilde analiz edilebilmektedir [Broderick et al., 2011], [Moeller et al.,2008]. Örneğin, tek bir hücreden salgılanan düşük konsantrasyondaki biyomoleküllerin saptanması kolaylaşabilir. Ayrıca küçük kuyucuklara hapsedilen biyomoleküller, düşük miktardaki hedef proteinlerin, nükleik asitlerin analizine de olanak sağlayabilir [Cohen,2017], [Cohen, 2018].

Mikrokuyu dizileri ile birlikte çeşitli mikro boyutlardaki topografik olarak desenli yüzeylerin elde edilmesinde litografik teknikler kullanılmaktadır. Özellikle yumuşak litografi yöntemi, geleneksel litografiye göre daha düşük maliyetli oluşu, biyo-uygulamalar için uygunluğu, nano yapıyı oluşturmak için foto-reaktif bir yüzeye ihtiyaç duyulmaması gibi avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir [Quake et al., 2000]. Litografi yönteminde genellikle orijinal bir deseni üçüncü bir yüzeye aktarmak için şablon olarak, topografik desenli elastomer damgalar kullanılır. Elastomerik damga olarak PDMS (Polidimetilsiloksan) kullanımı oldukça yaygındır.

PDMS, düşük maliyeti, kimyasal kararlılığı ve mekanik dayanımı gibi özellikleri ile hücrelerin manipüle edilmesi ve kültürlenmesi çalışmalarında avantajlı bir kullanım sunmaktadır [Mata et. al, 2005], [Halldorsson et. al, 2015]. Biyo-uygulamalar için kullanılan substratların ilgili çalışmalar kapsamında mikrokuyulara tutunabilmeleri için sistemin uygun kimyasal düzende olması gerekir. Bu nedenle mikrokuyuların iç kısımları substratların bağlanabileceği şekilde işlevselleştirilir. Lynn ve ekibi tarafından yapılan çalışmada, PDMS damgalar kullanılarak poliüretan tabaka üzerinde mikrokuyular oluşturulmuştur. Poliüretan yüzeyin üzeri polietilenimin ve amin reaktif azlakton içeren poly(2-vinil-4,4-dimetilazlakton) ile tabaka tabaka kaplanmıştır. Bu yüzeylerin üst kısmına amin içeren moleküller bağlanmış ve mikrokuyu bölgeleri amin-reaktif olduğundan amin grubu taşıyan farklı bir molekül ile işlevselleştirilebildiği gösterilmiştir [Broderick et al., 2011]. Benzer bir çalışmada, yan dallarında azlakton grubu bulunduran polimer ve iki ucunda amin grubu bulunduran

Jeffamine kullanılarak PDMS kalıp içerisinde hidrojel yapıda mikrokuyular elde edilmiş, tepkimeye girmeden kalan azlakton amin işlevsel grubu barındıran moleküllerin bağlanabildiği gösterilmiştir [Wancura et al., 2017].

Hidrojeller biyouyumlu malzemeler olduklarından [Slaughter et al., 2023], mikrokuyuların oluşturulmasında, PDMS gibi polimerlere kıyasla hidrojellerin kullanılması biyouyumluluğun artırılması açısından avantajlıdır. Aynı zamanda kullanılan hidrojellerin işlevsel yapılı olmaları önemlidir. Fonksiyonel hidrojeller, enzim, protein, büyüme faktörleri, DNA/RNA oligonükleotidleri, hedef ilaç etken maddeleri gibi moleküllerin kovalent veya non-kovalent etkileşimler ile doğrudan hidrojellerin yapısına dahil edilmesi ile elde edilmektedirler [Li et al. 2017]. Biyosensör uygulamalarında, analitlerin güvenilir şekilde algılanması için spesifik bağlanma önem arz etmektedir. Fonksiyonel yüzeyin yalnızca hedef molekülü algılaması için yüzeyde hedef moleküle karşı reaktif gruplarla birlikte istenmeyen bağlanmaları önleyecek grupların da bulunması tercih edilmektedir [Baggerman et al. 2019].

Hidrojel yapısında kullanılan malzemeler arasında, düşük maliyeti ve ticari olarak kolay bulunabilir olması, yüksek biyouyumluluğu, immünojen olmaması gibi nedenleriyle PEG (Polietilen glikol) yaygın olarak kullanılmaktadır [Zhu, 2010]. PEG, doğrusal veya dallanmış yapıda sentezlenebilir. Temel PEG yapısı, metiloksil, karboksil, amin, tiyol, vinil sülfon, azit, asetilen ve akrilat gibi fonksiyonel gruplara dönüştürülebilen iki hidroksil uç grubuna sahip PEG dioldür [Peppas et al., 1999].

Tüm avantajlı özelliklerine ek olarak hidrojel yapısının fiziksel/kimyasal özelliklerini iyileştirmek veya artırmak amacıyla PEG'in farklı polimerler ile konjuge edilmesi sonucunda da hidrojel sentezi gerçekleştirilebilir.

3. TEZİN AMACI, KATKISI ve İÇERİĞİ

Bu çalışmanın genel amacı, biyo-uygulamalar için kullanılabilir, ışığa duyarlı hidrojeller sentezlemek ve bu hidrojelleri ışık etkisi ile aşındırma yoluyla aktifleştirerek hidrojel yüzeyinde reaktif mikrokuyular oluşturmaktır. Bu amaçla, ilk olarak ışığa karşı duyarlı o-nitrobenzil grupları içeren monomer ve dört kollu PEG-tetratyol çapraz bağlayıcı sentezlerinin gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. Monomer sentezlerinin ardından elde edilen hidrojinin, ışık uygulaması ile o-nitrobenzil gruplarının parçalanarak nitrosobenzaldehite dönüşmeleri sonucunda amin-reaktif özellik kazanması araştırılmıştır.

Literatürde yer alan çalışmalarda genel olarak, ışık uygulamasından sonra o-nitrobenzil grubu içeren jellerin bu grubun parçalanmasıyla oluşan nitrosoketon ya da nitrosobenzaldehit gruplarının jel yapısından ayrıldıkları görülmüştür. Hidrojellerin ışık ile aşındırılarak desenlendirmesi sonrasında nitrosobenzaldehit gruplarının hidrojellerin üzerinde bulunmaya devam ettiği ve ardından amin grupları ile etkileşerek işlevselleştirildiği çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada ise aynı anda o-nitrobenzil grubunun ışık ile parçalanması ve jel üzerinde bulunmaya devam eden grubun amin reaktivitesi incelenmiştir.

Çalışma kapsamında, yüzeyde kaplama olarak hazırlanan hidrojeller üzerinde fotomaske üzerinden UV ışığı uygulaması yapılmıştır. Fotomaske sayesinde jel yüzeyinde belirli bölgeler ışığı geçirerek jel yüzeyini aşındırmış ve mikro-kuyular oluşturmuştur. Oluşan mikro-kuyular, buradaki o-nitrobenzil grubunun nitrosobenzaldehite dönüşümü sayesinde amin-reaktif bölgeler haline gelmiştir. Sonraki aşamalarda, amin grupları barındıran hedef moleküllerin, Schiff bazı etkileşimi ile hidrojel yüzeyindeki mikro-kuyulara bağlanabildiği gösterilmiştir.

Bu yaklaşımla, ileri çalışmalarda biyosensör uygulamalarında hedef moleküllerin/biyomoleküllerin mikrokuyulara hapsedilerek hızlı ve etkili şekilde tanımlanmaları sağlanabilir, hücre kültürü uygulamalarında az sayıdaki hücrenin mikrokuyulara hapsedilmesi ile hücre dinamiklerinin karakterize edilebilmesine olanak sağlanabilir, farklı desenlerde fotomaskenin kullanılmasıyla yüzeylere hücre bağlayıcı ligandlar desenli olarak bağlanabilir ve böylece hücreler yüzeyde istenen şekilde yönlendirilerek büyütülebilir.

4. MATERİYAL ve METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Tez Kapsamında Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasallar arasında; poli(etilen glikol) (PEG2K, Mn: 2000 gmol^{-1} , Sigma Aldrich), 2,2-bis(hidroksimetil)propiyonik asit (Bis-MPA) (Tokyo Chemical Industry), 2,2-dimetoksiopropan (Sigma Aldrich), tereftalik asit (Merck), p-toluensulfonik asit (Tokyo Chemical Industry), 4-(dimetil amino)piridin (Sigma Aldrich), piridin (Merck), 3-merkaptopropiyonik asit (MPA) (Sigma Aldrich), 1,4-ditiyotreitöl (DTT) (Sigma Aldrich), sülfürik asit (H_2SO_4) (Sigma Aldrich), nitrik asit (HNO_3) (Sigma Aldrich), DOWEX (Sigma Aldrich), N,N'-Disikloheksilkarbodiimid (DCC) (Alfa Aesar), sodyum sülfat (Na_2SO_4) (Merck), trietilamin (TEA) (Merck), akrilol klorür (Sigma Aldrich), boran tetrahidrofuran kompleks solüsyonu (THF-boran) (Sigma Aldrich), Ellman reaktifi (5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) (Sigma Aldrich) fosfat tamponu çözeltisi (PBS) (Sigma Aldrich) bulunmaktadır.

Sentezler ve saflaştırma/yıkama işlemlerinde kullanılan çözücüler ise; aseton (ISOLAB Chemicals), diklorometan (DKM) (ISOLAB Chemicals), dietil eter (ISOLAB Chemicals), etanol (ISOLAB Chemicals), metanol (ISOLAB Chemicals), toluen (Merck), tetrahidrofuran (THF) (Sigma Aldrich), dimetilformamid (DMF) (Sigma Aldrich), teknik etil asetat (EMBOY) ve teknik hekzan (EMBOY)'dır. Teknik çözücüler distilasyon ile saflaştırılarak kullanılmıştır. Film kaplama yapılan cam yüzeylerin modifikasyonunda, hekzadesil trimetoksisilan (HDMS) (ChemCruz) ve trimetoksisilil propantiyol (TMST) (Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

Sentezlenen jellerin işlevselleştirilmesi çalışmalarında biyotin-amin (TCI), streptavidin (Invitrogen), floresan-amin (Sigma Aldrich), 4-(Trifluoromethyl)benzylamine (TFBA, TCI) kullanılmıştır. NMR numunelerinin hazırlanması için d-kloroform (CDCl_3 , Sigma Aldrich) ve dimetil sülfoksit (DMSO, Merck) kullanılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi (İTK) analizi için çözelti hazırlığında, potasyum permanganat (KMnO_4 , İzmir Teknik Kimya), sodyum hidroksit (NaOH , ISOLAB Chemicals), potasyum karbonat (K_2CO_3 , Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

Tablo 4. 1: Tez çalışmasında kullanılan cihazlar.

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
Döner Buharlaştırıcı	Heidolph	Gebze Teknik Üniversitesi
FTIR	Perkin Elmer 100	Gebze Teknik Üniversitesi
NMR	Varian INOVA 500 MHz	Gebze Teknik Üniversitesi
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Thermo Fisher Scientific	Boğaziçi Üniversitesi
Liyofilizatör	Christ ALPHA 1-4 Ldplus	Gebze Teknik Üniversitesi
UV Işık Kaynağı	Blak-Ray UV Lamp (365nm, 100 watt)	Gebze Teknik Üniversitesi
Profilometre	Veeco Dektak 8 Profilometer	Gebze Teknik Üniversitesi
UV-Vis Spektroskopisi	Shimadzu 2101 UV-Vis Spectrophotometer	Gebze Teknik Üniversitesi
Floresan Mikroskop	Zeiss Observer Z1	Boğaziçi Üniversitesi

4.2. Yöntem

Sentez aşamalarında tüm reaksiyonlar, kullanılan maddelerin havadaki oksijen ve nemden etkilenmemeleri amacıyla kuru argon (inert ortam) altında gerçekleştirilmiştir. Sentez için kullanılan çözücüler moleküler elek ile kurutma yapılarak hazırlanmış ve bu şekilde kullanılmışlardır. Hidrojel, NPDMA monomeri ve PEG-tetratiyol çapraz bağlayıcısı kullanılarak Michael katılma reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerde ürün saflığının tayini; ince tabaka kromatografisi, ¹H-NMR ve FTIR ölçümleri ile takip edilmiştir. Elde edilen hidrojel üzerinde UV ışığı uygulaması yapılmış ve hidrojel çapraz bağ yapısındaki azalma, SEM analizi ve hidrojelin şişme testi (saf su ile) ile incelenmiştir. Son aşamada hidrojele biyomolekül sabitleme çalışmaları gerçekleştirilmiş ve floresan mikroskop ile doğrulanmıştır.

4.3. Sentez Çalışmaları

4.3.1. Asetal Korumalı BisMPA Sentezi

2,2-dimetoksiopropan ve BisMPA'nın tepkimesi ile asetal korumalı BisMPA literatür örneğinden yararlanarak sentezlenmiştir (Ihre vd. 1998). 100 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde argon atmosferi altında, p-toluensulfonik asit (0.35 g, 1.86 mmol) ve Bis-MPA (5 g, 37.27 mmol) 25 mL kuru-aseton ile çözülmüştür. 10 dk argon akışında bekletildikten sonra 6.9 mL 2,2-dimetoksiopropan (55.91 mmol) yavaşça karışıma eklenmiş ve oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışıma 0.3 mL trietilamin eklenmiş ve ardından çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Katı madde, 30 mL DKM ile çözülmüş ve 10 mL distile su kullanılarak ekstraksiyon yapılmıştır. Ayrılan organik faz Na_2SO_4 ile kurutulup çözücü uzaklaştırılmıştır. Hedeflenen ürün %54 verim ile beyaz toz olarak elde edilmiştir.

4.3.2. Asetal Korumalı BisMPA Anhidrid Sentezi

Asetal korumalı BisMPA anhidrid sentezi literatür örneğinden yararlanılarak gerçekleştirilmiştir [Malkoch et al., 2002]. Asetal korumalı Bis-MPA (3 g, 0.0172 mmol), 100 mL'lik reaksiyon balonu içerisine alınmış ve argon akışı altında 5 dakika bekletilmiştir. Benzer şekilde DCC (1.778 g, 0.0086 mmol) de 50 mL'lik reaksiyon balonuna alınmış ve argon gazı altında 5 dakika bekletilmiştir. Bis-MPA ve DCC sırasıyla 15 mL ve 3 mL kuru-DKM ile çözülmüştür. Ardından çözünen DCC şırınga yardımıyla Bis-MPA bulunan balona aktarılmış ve oda sıcaklığında 4 saat karıştırılmıştır. Elde edilen ürün sinterlenmiş cam filtreye alınmış ve balon içerisindeki çöken madde ile solventi ayırmak amacıyla filtre edilmiştir. Reaksiyon sırasında oluşan DCU çökeltisi filtrede kalırken reaksiyon ürünü süzölmüştür. Süzüntü fazından solvent uzaklaştırılmıştır. Kalan DCU kalıntılarından kurtulmak için ürün 25 mL soğuk etil asetat ile çözülüp tekrar filtre edilmiştir. Süzüntü fazından solvent uzaklaştırılmış ve vakum ile kurutulmuştur. Hedeflenen ürün % 98 verim ile sıvı olarak elde edilmiştir.

4.3.3. Asetal Korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) Sentezi

Asetal korumalı (PEG-BisMPA anhidrid) sentezi için PEG600 kullanılarak gerçekleştirilen sentezin yer aldığı doktora tezinden yararlanılmıştır [Farbod, 2010]. Polietilen glikol (PEG2000, 2 g), 100 mL'lik reaksiyon balonuna alınmış ve üzerine 40 mL toluen eklenerek azeotropik distilasyon ile kurutulmuştur. PEG üzerine DMAP (48 mg, 0.4mmol) eklenmiş ve argon atmosferi altında 5 dakika karıştırılmıştır. Karışıma piridin (80,5 µL, 1 mmol) eklenmiştir. Bis-MPA anhidrid (2) 16 mL kuru-DKM ile çözülerek şırınga yardımıyla PEG bulunan balon içerisine aktarılmıştır. Reaksiyon oda sıcaklığında, gece boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon ürünü 100 mL dietil eter içerisine alınmış ve gece boyunca 0 °C'de bekletilmiştir. Oluşan çökelti sinterlenmiş cam filtre yardımı ile ayrılmış ve vakum ile kurutulmuştur. Ürün % 94.1 verim ile elde edilmiştir.

4.3.4. PEG-tetraol Sentezi

PEG-tetraol (4) sentezi için PEG600 kullanılarak gerçekleştirilen sentezin yer aldığı doktora tezinden yararlanılmıştır [Farbod, 2010]. Üçüncü adımda sentezlenen koruma gruplu (PEG-BisMPA anhidrid) molekülü (1g, 0.43mmol) 20 mL metanol ile çözülmüştür. Karışıma DOWEX (0.029 g) eklenmiştir. Reaksiyon 45°C'deki yağ banyosunda 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra solvent döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon ürünü, 100 mL dietil eter içerisinde çöktürülmüş ve ardından çökelti sinterlenmiş cam filtreye aktararak filtre edilmiştir. Filtrede kalan reaksiyon ürünü cam viallere aktararak vakumda kurutulmuştur. Ürün %85.5 verim ile elde edilmiştir.

4.3.5. PEG-tetratiyol Sentezi

Nie T. tarafından PEG-bistiyol sentezi için gösterilen metod PEG-tetratiyol sentezi için uyarlanmış [Nie at al., 2007] olup ilk kez bu çalışma kapsamında sentezlenmiştir. 1.2 g (0.59mmol) PEG-tetraol örneği, 0.182 g (1.18mmol) DTT ve 0.081g (0.47mmol) p-toluensulfonik asit ile birlikte 70 ml toluen içerisinde çözülmüştür. Homojen bir karışım elde edildikten sonra karışıma 4.1 ml (47.23mmol) MPA eklenmiş ve ardından reaksiyon balonu, Dean-Stark aparatı altında 90°C'deki

yağ banyosuna alınmış ve 24 saat reaksiyonda bırakılmıştır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra toluen, döner buharlaştırıcı cihazında uzaklaştırılmıştır. Ürün 100 mL dietil eter içerisinde çöktürülmüş ve sonrasında filtre edilmiştir. Elde edilen ürünün saflaştırılması amacıyla; ürün, DKM ile çözülmüş ve 250 mL'lik reaksiyon balonuna alınmış ve sonrasında DKM çözücüsü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Bu işlem ile çözücünden uzaklaştırılan ürün reaksiyon balonunun etrafına sıvanmıştır. Ardından balon içerisindeki madde yaklaşık 20 mL dietil eter ile yıkanmış ve eter fazı dökülmüştür. Bu sayede ürün içerisindeki safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Maddenin saflığı İTK analizi ile kontrol edilmiştir ve İTK kağıdında tek spot görünece dek aynı işlemler tekrar edilmiştir. Ürün % 46 verim ile elde edilmiştir. [¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 4.30 (t, J = 11 Hz, 12H), 4.29 – 4.24 (m, 8 H), 3.78-3.68 (m 182 H) 2.77 – 2.73 (q, 8H), 2.65 (t, J =6.6, 8H), 1.63 (t, J=8, 4H), 1.27 (s, 6H)]

4.3.6. NTPA (Nitrotereftalik asit) Sentezi

NTPA, literatür örneğinden yararlanılarak sentezlenmiştir (Eckardt, vd. 2019). 250 mL'lik reaksiyon balonu içerisinde, argon atmosferi altında ve 0°C'de, tereftalik asit (20 g, 0.12 mol) 55 mL H₂SO₄ ile karıştırılmıştır. Tereftalik asit çözüldükten sonra karışım 70°C'deki yağ banyosuna alınmış ve 16 mL HNO₃ yavaşça karışıma eklenmiştir. Reaksiyon karışımı geri soğutucu altında 1 saat boyunca 70°C'de karıştırılmış ve ardından sıcaklık 90 °C'ye çıkarılarak karışım 5 saat boyunca reaksiyonda bırakılmıştır. Reaksiyon sonunda oluşan ürün sinterlenmiş cam filtreye alınarak filtre edilmiştir. Filtrede kalan katı faz 5 kez distile su ile ve ardından 100 mL sıcak etanol (70 °C) ile yıkanarak tekrar filtre edilmiştir. (Bu aşamada tereftalik asit etanolde çözünmezken reaksiyon ürünü olan nitrotereftalik asit etanolde çözünmektedir.) Süzüntü fazı Na₂SO₄ ile kurutulmuş ve solvent uzaklaştırılmıştır. Ürün % 42 verim ile elde edilmiştir. [¹H NMR (DMSO-d₆): δ = 8.39 (d, 1H, J = 1.7 Hz), 8.29 (dd, 1H, J = 8 Hz; 1.5 Hz), 7.96 (d, 1H, J = 8 Hz)]

4.3.7. NPDM [(2-Nitro-1,4-fenilen)dimetanol] Sentezi

NPDM bileşiği literatür örneğinden yararlanılarak sentezlenmiştir (Eckardt, vd. 2019). NTPA (1.175 g, 5.5 mmol), argon atmosferi altında kuru THF ile çözülmüştür. Karışım 0°C'ye soğutularak 25 mL (1M) THF-boran yavaşça karışıma eklenmiştir.

THF-boran ilavesinin ardından karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Sonrasında reaksiyon karışımı 50°C'deki yağ banyosuna alınmış ve 18 saat boyunca reaksiyonda bırakılmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra solvent uzaklaştırılmış ve ardından 200 mL etilasetat ve 20 mL distile su ile ekstraksiyon yapılmıştır. Ayrılan organik faz Na₂SO₄ ile kurutulmuş ve solvent uzaklaştırılmıştır. Ürün açık sarı toz halinde % 90.1 verim ile elde edilmiştir. [¹H NMR (DMSO-d₆) δ = 7.98 (s, 1H), 7.78 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 4.60 (d, J = 5.7 Hz, 2H)]

4.3.8. NPDMA [(2-Nitro-1,4-fenilen)diakrilat] Sentezi

NPDMA sentezi literatürde yer alan çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir (Eckardt, vd. 2019). Buna göre, 1 g (5 mmol) NPDM, 4 mL (26.5 mmol) TEA ile birlikte 40 mL kuru THF içinde çözülmüştür. Karışım buz banyosu içinde soğutulduktan sonra 1.4 mL (16 mmol) akrilolil klorür yavaşça eklenmiştir. Sonrasında karışım oda sıcaklığına getirilmiş ve 24 saat boyunca, karanlıkta reaksiyonda bırakılmıştır. Reaksiyon süresi sonunda solvent uzaklaştırılmış ve kolon kromatografisi ile (etil asetat /hekzan = 1:4) saflaştırılmıştır. Sarı sıvı görünümdeki ürün %43 verim ile elde edilmiştir. [¹H NMR (DMSO-d₆): δ = 8.16 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.73 (d, J = 8 Hz, 1 H), 6.41 (m, 2H), 6.27 (m, 2H), 6.03 (m, 2H), 5.51 (s, 2H), 5.31 (s, 2H)]

4.3.9. Hidrojel Sentezi

50 mg PEGTT örneği 1.5 mL'lik vialle alınmış ve 50 µL DMF içerisinde homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırılmıştır. Karışıma 12 mg NPDMA monomeri eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. TEA stok solüsyonu olarak hazırlanan karışımdan (1 mL DMF + 114.96 µL TEA) 10 µL alınarak jel karışımına eklenmiş ve karışım 1 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Elde edilen hidrojel, DMF (20 mL) ve THF (20 mL) ile yıkanmış ve vakum altında kurutulmuştur. Hidrojel %76.9 verim ile elde edilmiştir.

4.3.9.1. Hidrojellerin UV Işık ile Aktifleştirilmesi

Sentezlenen hidrojel 365 nm dalgaboyundaki ultraviyole ışık (100 watt) altında 14 cm mesafede belirlenen sürelerde (5 dk-90 dk) bekletilmiş, sonrasında DMF ve THF ile yıkanmıştır.

4.3.9.2. Hidrojin Şişme Kapasitesinin İncelenmesi

Hidrojin şişme kapasitesinin zamanla değişimi, oda sıcaklığında 120 dk süre ile incelenmiştir. Kuru haldeki hidrojellerin ilk tartımları alındıktan sonra 50 mL distile su içeren behere alınmıştır. Belirli zaman aralıklarında distile su içerisinden alınan hidrojellerin yüzeyleri bir kâğıt üzerinde hafifçe kurutularak tartımları alınmış ve tekrar distile su içerisine bırakılmıştır. Aynı işleme hidrojeller denge şişme seviyesine ulaşana kadar devam edilmiştir. Hidrojellerin kütlelerindeki değişimler kaydedilmiş ve yüzde şişme değerleri hesaplanmıştır.

4.3.9.3 Hidrojele Molekül/Biyomolekül Bağlanması

4.3.9.3.1. Hidrojellere Amin İçeren Moleküllerin Bağlanması

Amin içeren model molekül olarak çalışmada TFBA kullanılmıştır. 40 µL THF ve 1.5 µL TFBA eppendorf tüp içerisine alınmış ve bu karışıma daha önce UV altında 90 dk boyunca bekletilmiş olan 4.6 mg jel parçası eklenmiştir. Hazırlanan karışım reaksiyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında bir gece boyunca bekletilmiştir. Kontrol grubu olarak, UV ışığı uygulanmamış jel parçası aynı oranlarda TFBA ve THF karışımı ile karıştırılmış ve benzer koşullarda reaksiyonda bırakılmıştır. Reaksiyon süresi sonunda jeller, THF ile yıkanmış ve vakumda kurutulmuştur. TFBA molekülünün hidrojele bağlanma durumu, FTIR ile kimyasal yapı analizi yapılarak kontrol edilmiştir.

4.3.9.3.2. Hidrojellere Biotin ve Streptavidin Sabitlenmesi

Sentezlenen hidrojel, ince bir tabaka şeklinde kesilmiş (5.6 mg) ve 365 nm dalgaboyundaki ultraviyole ışık altında 90 dk boyunca bekletilmiştir. Kontrol grubu olarak ise UV ışığına maruz kalmamış jel (7.7 mg) kullanılmıştır. Kontrol ve deney

grubu olarak kullanılacak jellerin kütlelerine karşılık gelen solvent ve biyotin-amin miktarı için orantı hesaplaması yapılmış ve buna bağlı olarak 66.7 µL kuru-DMF içerisine 3.32 mg biyotin-amin eklenerek ana stok karışımı hazırlanmıştır. Bu karışımdan 38.9 µL alınarak kontrol grubundaki (UV ışığı uygulanmamış) jel üzerine ve karışımda kalan 27.8 µL ise UV ışığına maruz bırakılan jel üzerine eklenmiştir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için karışımlar gece boyunca oda sıcaklığında bırakılmıştır. Reaksiyon süresi sonunda jel örnekleri DMF (20 mL) ile yıkanmıştır.

Biyotinlenmiş jeller üzerine streptavidin sabitlenmesi için; PBS ile 5 kat seyreltilmiş floresan etiketli streptavidin çözeltisinden 84 µL alınarak kontrol grubu örneği (UV'ye maruz bırakılmamış ancak biyotin içinde bekletilmiş olan jel) üzerine, 60 µL ise UV'ye maruz bırakıldıktan sonra biyotin içinde bekletilmiş jel örneği üzerine eklenmiş ve 30 dakika boyunca karanlık ortamda bekletilmiştir. Reaksiyon süresi sonunda jel örnekleri PBS (20 mL) ve distile su (20 mL) ile üçer kez yıkanmış ve vakumda kurutulmuştur.

4.3.10. Cam Yüzey Üzerinde Hidrojel Film Hazırlanması

Hidrojel film kaplamalar, tiyol ile modifiye edilmiş cam yüzeyler üzerinde hazırlanmıştır. Bunun için; 5.5 g NaOH, 200 mL distile su içerisinde çözülmüştür. 15 adet (25x25 mm) cam lamel bu çözelti içinde gece boyunca bekletilerek temizlenmiştir. Ardından cam yüzeyler distile su ve aseton ile yıkanmış ve 80 °C'deki etüvde kurutulmuşlardır. 100 mL'lik dibidüz cam balonda 0.8 mL (Trimetoksisilil)propantiyol 80 mL tolüen ile çözülmüştür. Cam yüzeyler hazırlanan karışım içerisinde gece boyunca bekletilmiştir. Yüzeyler, tolüen ve metanol ile yıkanıp argon gazı altında kurutulmuşlardır. Benzer şekilde 15 adet (18x18 mm) lamel de NaOH çözeltisi içerisinde temizlendikten sonra 20 mL tolüen ve 0.4 mL heksadesil trimetoksisilan karışımında gece boyunca bekletilmiştir. Ardından yüzeyler tolüen ve metanol ile yıkanıp argon gazı altında kurutulmuşlardır.

50 mg PEGTT örneği eppendorf tüpe alınmış ve 50 µL DMF içerisinde homojen bir karışım elde edilene kadar sonikatörde karıştırılmıştır. Karışıma 12 mg NPDMA monomeri eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. TEA stok solüsyonu olarak hazırlanan karışımdan (1 mL DMF + 114.96 µL TEA) 10 µL alınarak eppendorf tüpe eklenmiştir. TEA ilavesinden sonra jel karışımının renginin pembeleştiği gözlenmiştir. Jel karışımından 20 µL alınarak daha önce hazırlanan tiyol kaplı cam yüzeye

damlatılmıştır. Ardından cam yüzey hidrofobik lamel ile kapatılmıştır. Jelleşmenin gerçekleşmesi için yüzey gece boyunca karanlık ortamda, oda sıcaklığında bırakılmıştır. Reaksiyon süresi sonunda cam yüzey üzerindeki lamel alınmış ve elde edilen jel kaplama DMF ile yıkandıktan sonra argon gazı ile kurutulmuştur.

4.3.10.1. Hidrojel Filmlere Amin İçeren Moleküllerin Bağlanması

Hazırlanan (18x18 mm) hidrojel film yüzeyinin yarısı alüminyum folyo ile kapatılarak 90 dakika boyunca 365 nm dalga boyunda UV ışığı uygulanmıştır. TFBA'nın DMF içindeki çözeltisi (5 µL:200 µL) mikrosiringa yardımı ile yüzey üzerine damlatılmıştır. Molekülün bağlanmasının gerçekleşmesi için hazırlanan karışım gece boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Reaksiyon süresi sonunda jel yüzeyi DMF ile yıkanmış ve argon gazı altında kurutulmuştur.

4.3.10.2. Hidrojel Film Yüzeyinde Fotomaske ile Mikrokuyular Oluşturulması

Fotomaskeler hidrojel filmlerin üzerine yerleştirilerek 5, 15, 30, 45, 60 ve 90 dakika sürelerinde 14 cm mesafeden UV ışığına maruz bırakılmıştır. İşlem sonrasında yüzeyler THF ile yıkanmış ve vakum altında kurutulmuştur.

4.3.10.3. Mikrokuyulara Floresan-amin Bağlanması

2 mg floresan-amin 2.4 mL DMF ile çözülmüştür. 15 dakika UV uygulanan jel yüzeyler floresan-amin karışımının bulunduğu beher içerisine yerleştirilmiştir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için jel yüzeyler gece boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bırakılmışlardır. Reaksiyon süresinin sonunda jel yüzeyleri DMF (20mL) ile yıkanmış ve argon gazı altında kurutulmuşlardır.

4.3.10.4. Mikrokuyulara Streptavidin Sabitlenmesi

Bir vial içerisinde 130 µL DMF ile 6.5 mg biyotin-amin karıştırılmıştır. Bu karışımdan 30 µL alınmış ve yüzeyinde mikrokuyular oluşturulmuş olan hidrojel yüzeylerin üzerine damlatılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için jel yüzeyleri, gece boyunca oda sıcaklığında bırakılmış, sonrasında DMF ile yıkanmıştır.

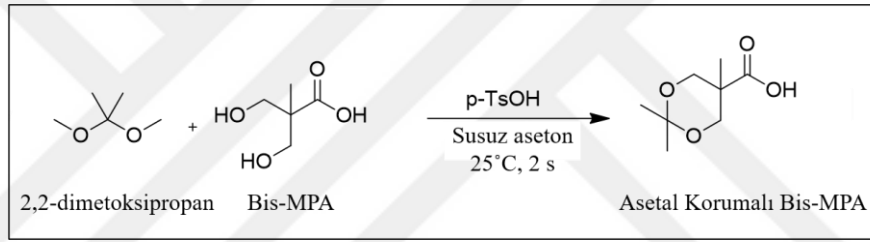
PBS ile beş kat seyreltilmiş floresan etiketli streptavidin çözeltisinden 10 µL alınmış ve her bir jel yüzeyi üzerine eklenmiş, ardından yüzeyler bir lamel ile kapatılmıştır. Hazırlanan jel yüzeyleri 30 dakika boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Reaksiyon süresi sonunda jel yüzeyleri PBS (20 mL) ve distile su (20 mL) ile üçer kez yıkanmış ve vakumda kurutulmuştur.



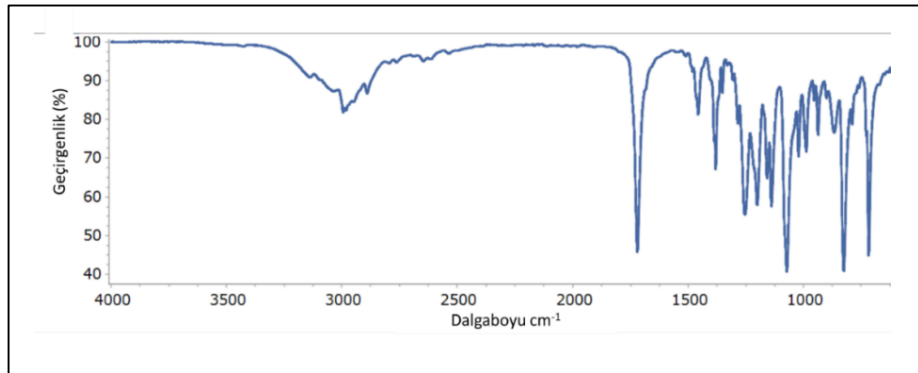
5. BULGULAR ve TARTIŞMA

5.1. Asetal Korumalı BisMPA Sentezi

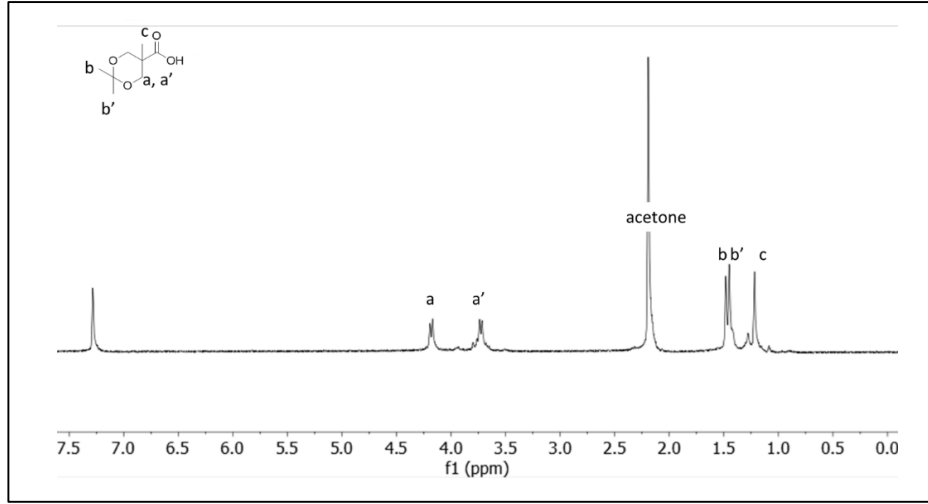
2,2-dimetoksipropan ve BisMPA'nın tepkimesi sonunda asetal korumalı Bis-MPA sentezi gerçekleştirilmiş (Şekil 5.1), FTIR ve ^1H -NMR analizleri ile molekülün kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. FTIR ve ^1H -NMR spektrumları Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'de gösterilmiştir. FTIR'da 3500 cm^{-1} civarında hidroksil piki görülmeyişi ile birlikte 2995 cm^{-1} 'deki alifatik gerilmeleri ve 1721 cm^{-1} 'de karboksilik asite ait $\text{C}=\text{O}$ gerilmesi asetal korumalı Bis-MPA yapısını desteklemektedir. ^1H NMR spektrumu da benzer şekilde literatür ile uyumlu olup beklenen yapıyı desteklemektedir [Ihre vd. 1998].



Şekil 5. 1: Asetal korumalı Bis-MPA sentezi.



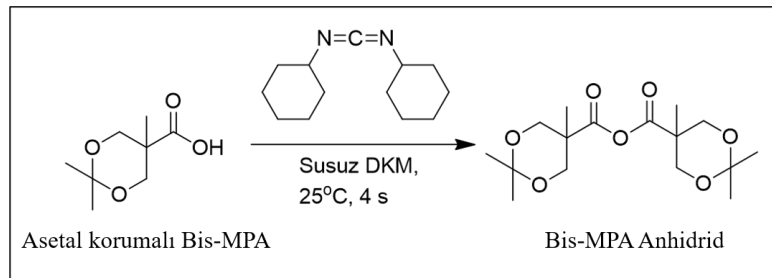
Şekil 5. 2: Asetal korumalı Bis-MPA molekülüne ait FTIR spektrumu.



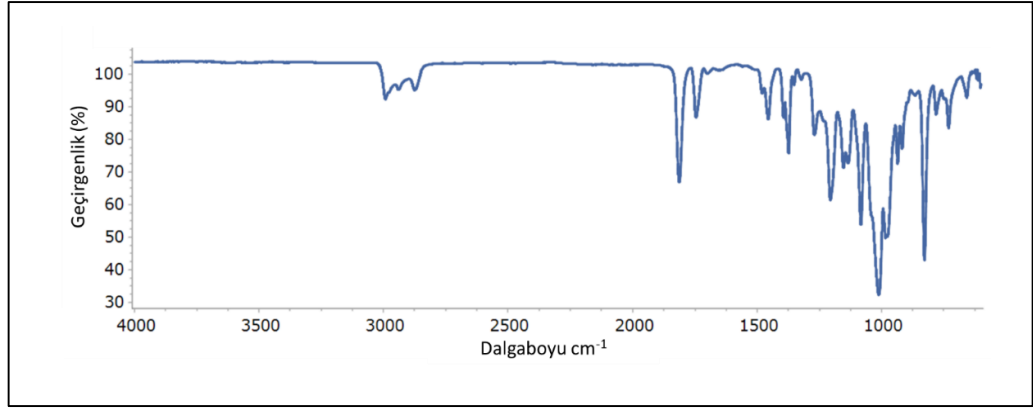
Şekil 5. 3:Asetal korumalı Bis-MPA molekülüne ait ^1H -NMR spektrumu.

5.2. Asetal Korumalı Bis-MPA Anhidrid Sentezi

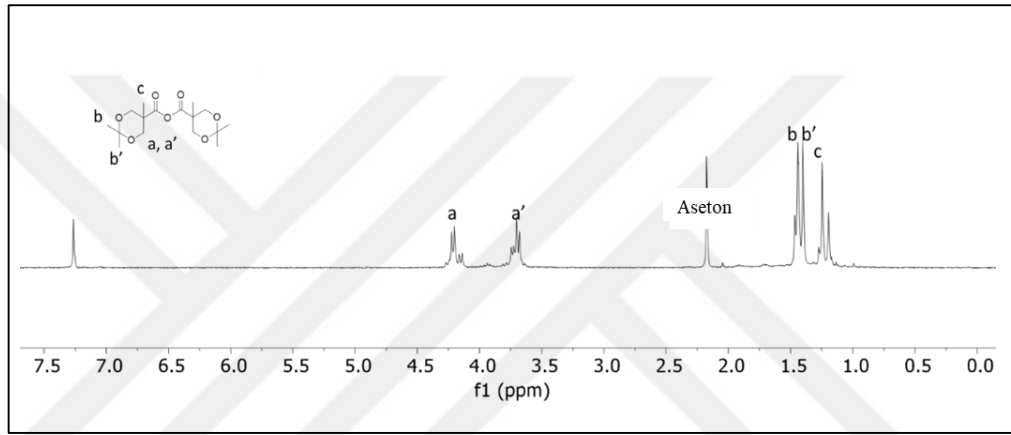
Bis-MPA anhidrid bileşiği, asetal korumalı Bis-MPA ve N,N'-Disikloheksilkarbodiimid kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleşen tepkime sonucunda elde edilmiştir (Şekil 5.4). FTIR ve H-NMR analizleri ile bileşiğin kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Şekil 5.5'de gösterilen FTIR spektrumunda, 1814 cm^{-1} 'de simetrik faz içi C=O gerilmesi, 1748 cm^{-1} 'de asimetrik faz dışı C=O gerilmesi ve 1008 cm^{-1} 'de C-O gerilmesi beklenen yapıyı desteklemektedir. Şekil 5.6'da ise ^1H -NMR spektrumu görülmektedir ve beklendiği gibi $\delta=4.19\text{ ppm}$, 3.7 ppm , 1.45 ppm , 1.4 ppm ve 1.25 ppm bölgelerinde görülen pikler molekül yapısı ile uyumludur.



Şekil 5. 4: Bis-MPA Anhidrid sentezi.



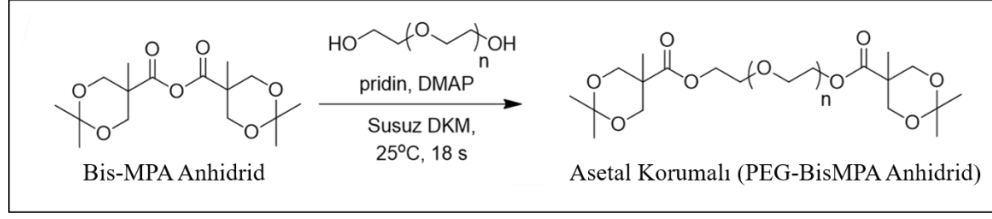
Şekil 5. 5: Bis-MPA Anhidrid'e ait FTIR spektrumu.



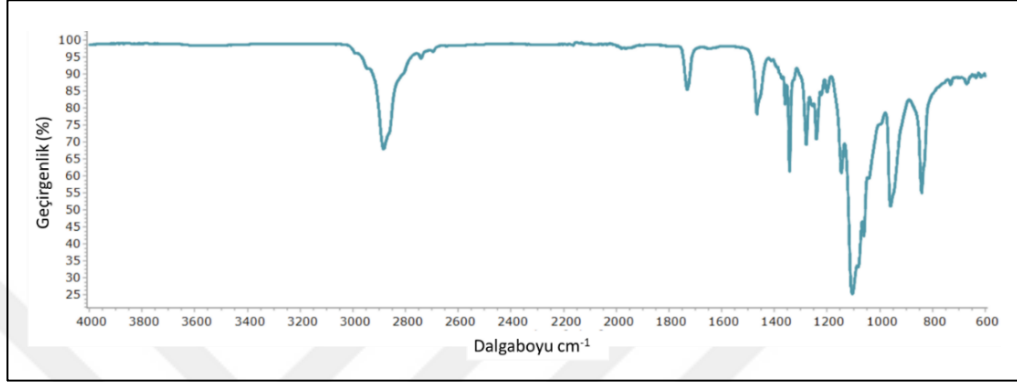
Şekil 5. 6: Bis-MPA Anhidrid'e ait ¹H-NMR spektrumu.

5.3. Asetal Korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) Sentezi

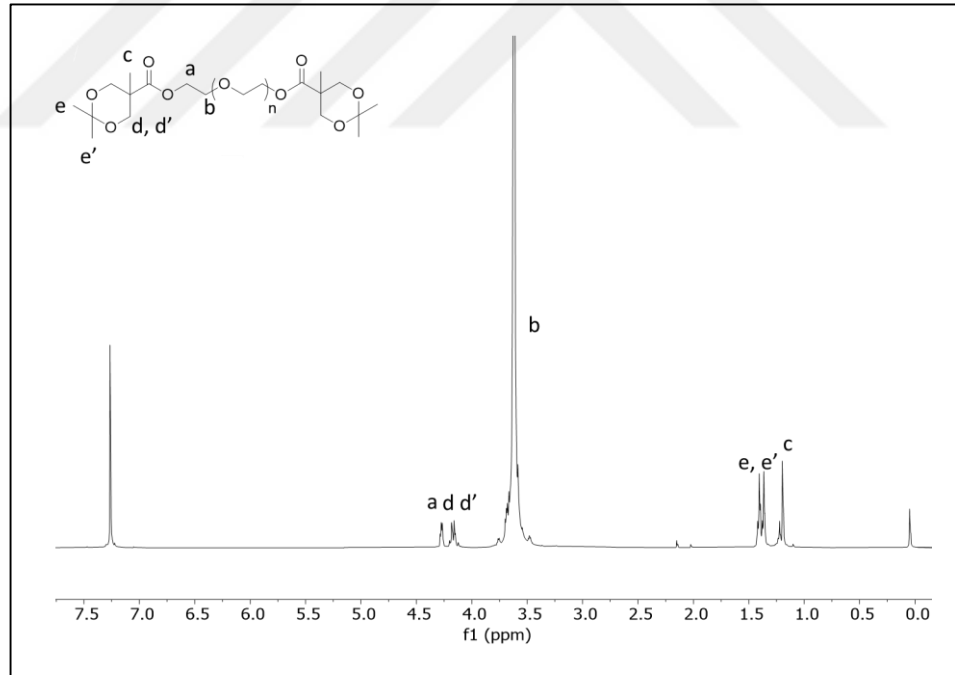
Polietilen glikol (PEG2000)'ün Bis-MPA anhidrid ile oda sıcaklığında ve 18 saat sürede gerçekleşen reaksiyonu sonunda asetal korumalı (PEG-BisMPA anhidrid) bileşiği elde edilmiştir (Şekil 5.7). Şekil 5.8 ve 5.9'da spektrumları gösterilen FTIR ve ¹H-NMR analizleri ile yapı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.8'deki FTIR spektrumunda 1734 cm⁻¹'de estere ait C=O gerilmesi ile Şekil 5.9'daki ¹H-NMR spektrumunda ise asetal ile korunmuş BisMPA'ya ait ve PEG'e ait protonların varlığı ile bağlanma sonucu oluşan esterin komşuluğundaki karbona ait protonların varlığı hedeflenen sentezin gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 5. 7: Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) sentezi.



Şekil 5. 8: Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid)'e ait FTIR spektrumu.

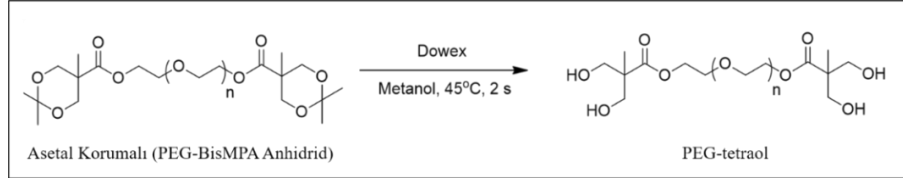


Şekil 5. 9: Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid)'e ait ¹H-NMR spektrumu.

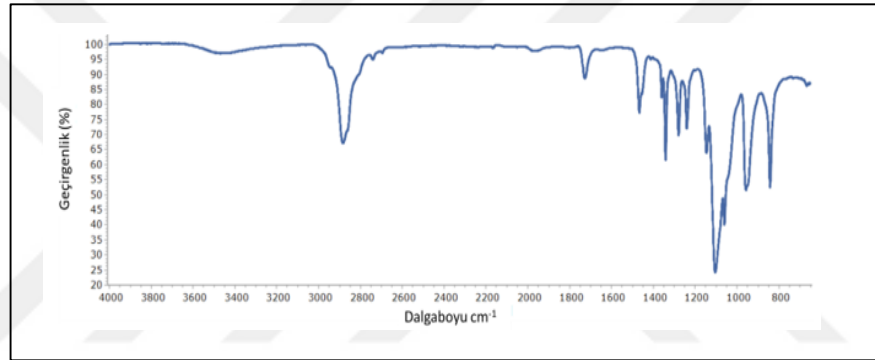
5.4. PEG-tetraol Sentezi

Asetal korumalı (PEG-BisMPA Anhidrid) bileşiğinin Dowex ile ve metanol varlığında, 45°C'de gerçekleşen reaksiyonu sonunda PEG-tetraol sentezlenmiştir

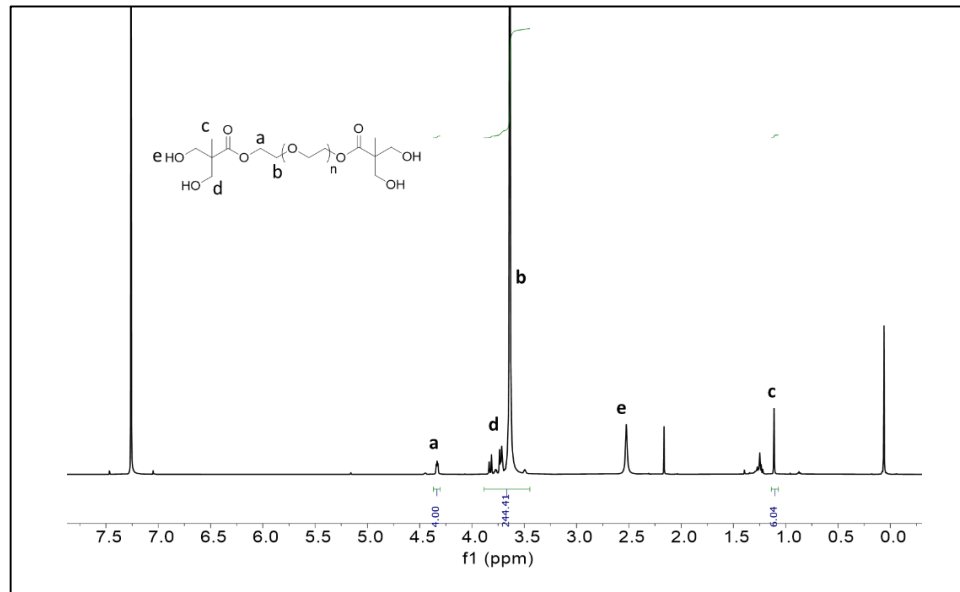
(Şekil 5.10). FTIR ve ^1H -NMR analizleri ile yapının kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.11'deki FTIR spektrumunda 3500 cm^{-1} 'de görülen OH gerilme titreşimleri ve Şekil 5.12'de gösterilen ^1H -NMR analizinde asetal gruplarında bulunan protonlara ait piklerin (Şekil 5.9'daki e ve e') kaybolması, hedeflenen yapıya ulaşıldığını göstermektedir.



Şekil 5. 10: PEG-tetraol sentezi.



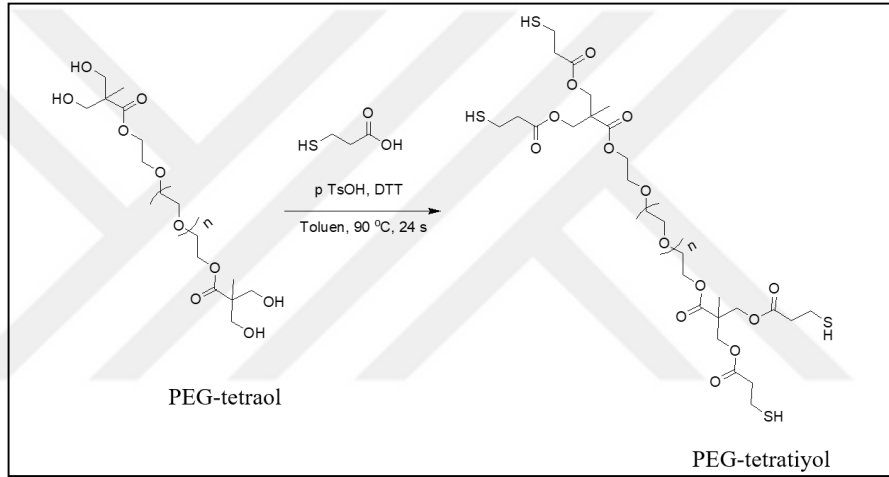
Şekil 5. 11: PEG-tetraol'e ait FTIR spektrumu.



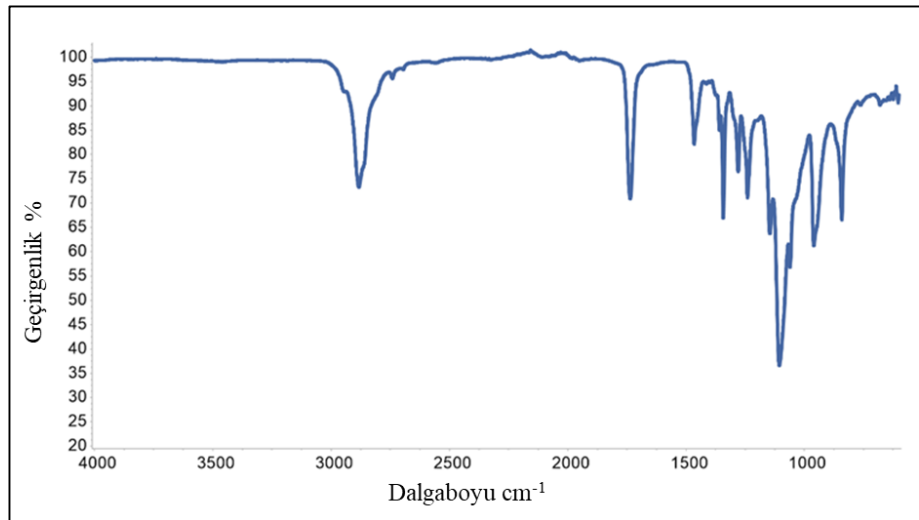
Şekil 5. 12: PEG-tetraol'e ait ^1H -NMR spektrumu.

5.5. PEG-tetratiyol Sentezi

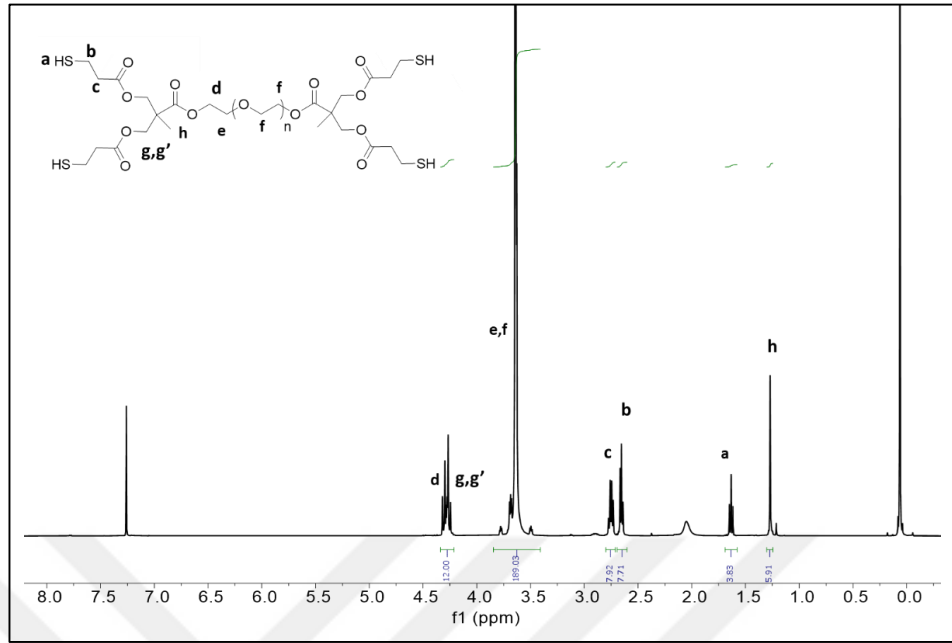
PEG-tetratiyol, 3-merkaptopropiyonik asit ve PEG-tetraol'ün 90°C'deki yağ banyosunda 24 saat süre ile gerçekleşen tekimesi sonunda elde edilmiştir (Şekil 5.13). FTIR, $^1\text{H-NMR}$ ve Ellman metodu analizleri ile yapının karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.14'deki FTIR spektrumunda 2550 cm^{-1} bölgesinde beklenen karakteristik tiyol pikinin varlığı ile birlikte 3500 cm^{-1} 'de PEG-tetraol'den gelen -OH pikinin kaybolduğu gözlenmiştir. Şekil 5.15'de yer alan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda ise $\delta=2.5$ 'te beklenen $\text{SH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C=O}$ ve $\delta=1.6$ 'da beklenen SH piklerinin varlığı sentezin gerçekleştirildiğini doğrulamaktadır.



Şekil 5. 13: PEG-tetratiyol sentezi.

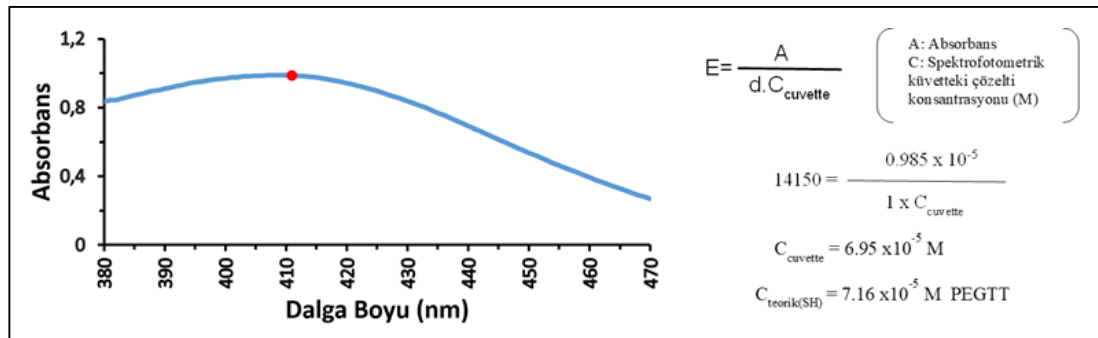


Şekil 5. 14: PEG-tetratiyol'e ait FTIR spektrumu.



Şekil 5. 15: PEG-tetratiyol'e ait ^1H -NMR spektrumu.

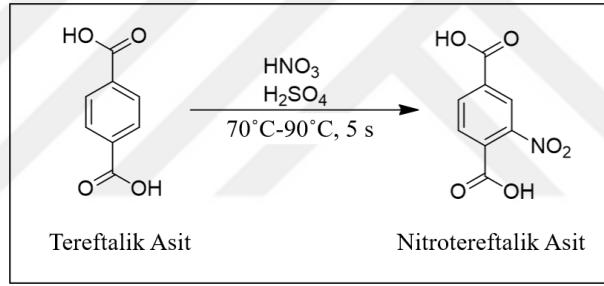
Şekil 5.16'da Ellman's analizine ait grafikte, 412 nm dalgaboyuna karşılık gelen adsorbans değerinin 0.985 noktasında olduğu görülmektedir. Literatürden alınan formül kullanılarak tiyol gruplarının konsantrasyonu hesaplanmış ve sentezlenen üründe mol başına 3.9 mol SH grubu bulunduğu hesaplanmıştır [Encapsula NanoScience, Ellman's Essay Protocol].



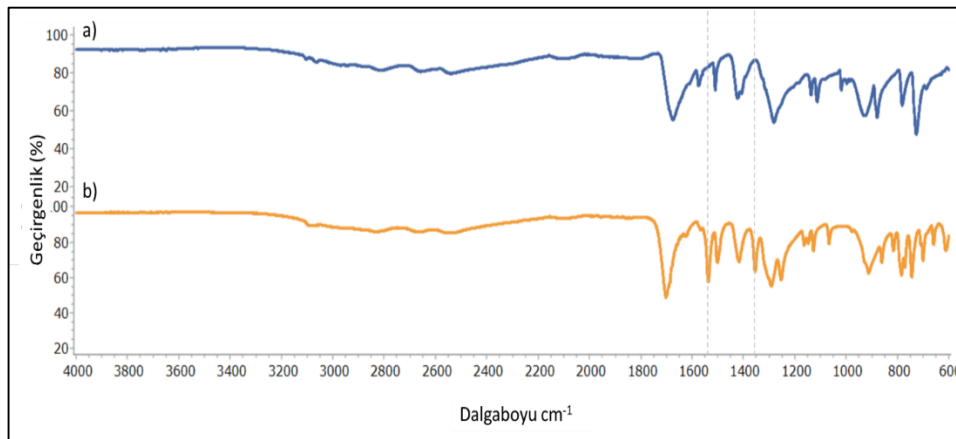
Şekil 5. 16: PEG-tetratiyol yapısındaki tiyol gruplarının konsantrasyonunu ifade eden adsorbans-dalga boyu grafiği ve 1 mol PEGTT'ye karşılık gelen tiyol grubu miktarını ifade eden formül.

5.6. NTPA Sentezi

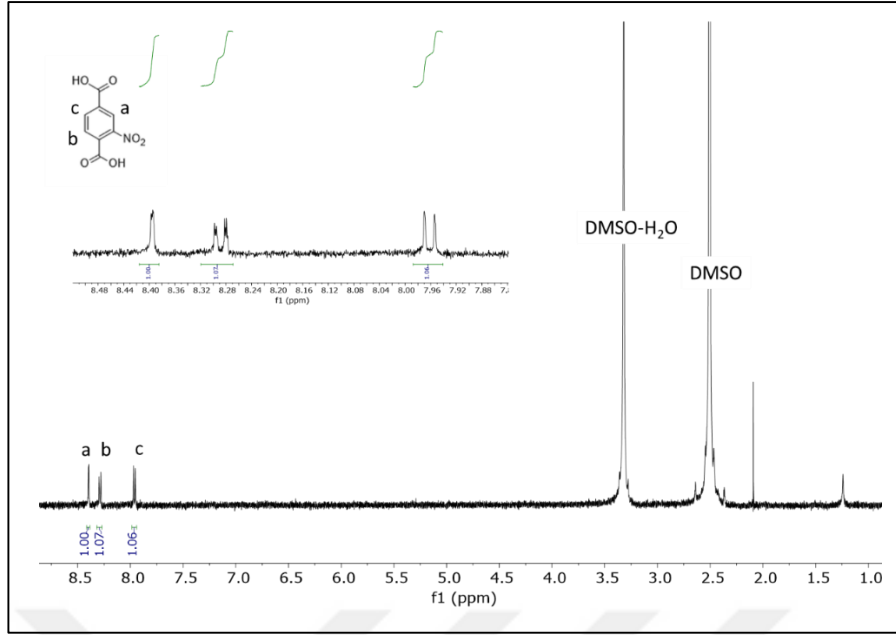
Literatür örneği referans alınarak tereftalik asit, sülfürik asit ve nitrik asit kullanılarak gerçekleşen tepkime sonunda nitrotereftalik asit elde edilmiştir (Şekil 5.17) [Eckardt et al., 2019]. Nitrotereftalik asit sentezinin ardından FTIR ve $^1\text{H-NMR}$ analizleri ile yapı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.18'deki NTPA'ya ait FTIR spektrumunun başlangıç maddesi olan ftalik asit ile kıyaslamasında nitro grubu için karakteristik olan asimetrik gerilme ve simetrik gerilme pikleri sırasıyla 1537 cm^{-1} ve 1355 cm^{-1} bölgelerinde izlenmiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda 7.96-8.44 ppm aralığında üç pik görülmesi mononitrotereftalik asit yapısını desteklemektedir. Olası dinitroftalik asit yapısı 8.02 ppm civarında bir singlet vermektedir [Ghaemy et al., 2009]. Bu pikin gözlenmemesi mononitrotereftalik yapısının saf olarak elde edilebildiğini doğrulamaktadır.



Şekil 5. 17: NTPA sentezi.



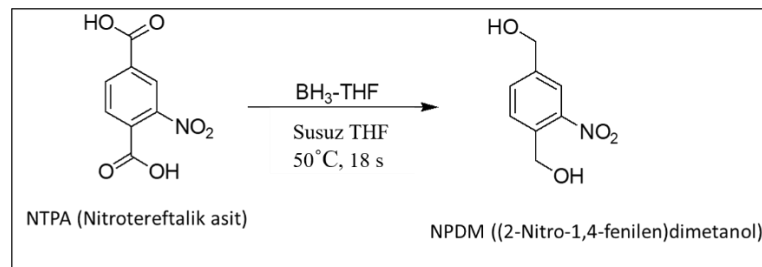
Şekil 5. 18: Tereftalik asite (a) ve NTPA molekülüne (b) ait FTIR spektrumları.



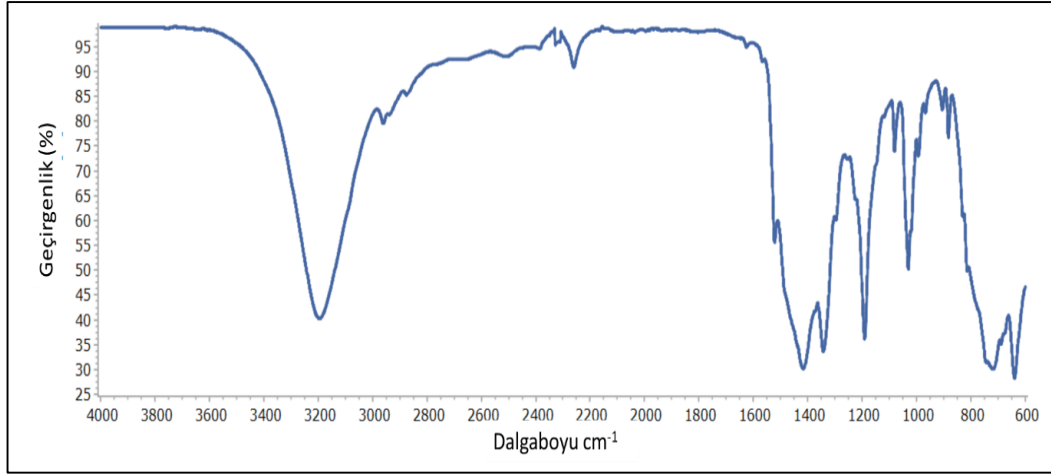
Şekil 5. 19: NTPA molekülüne ait ^1H -NMR spektrumu.

5.7. NPDM Sentezi

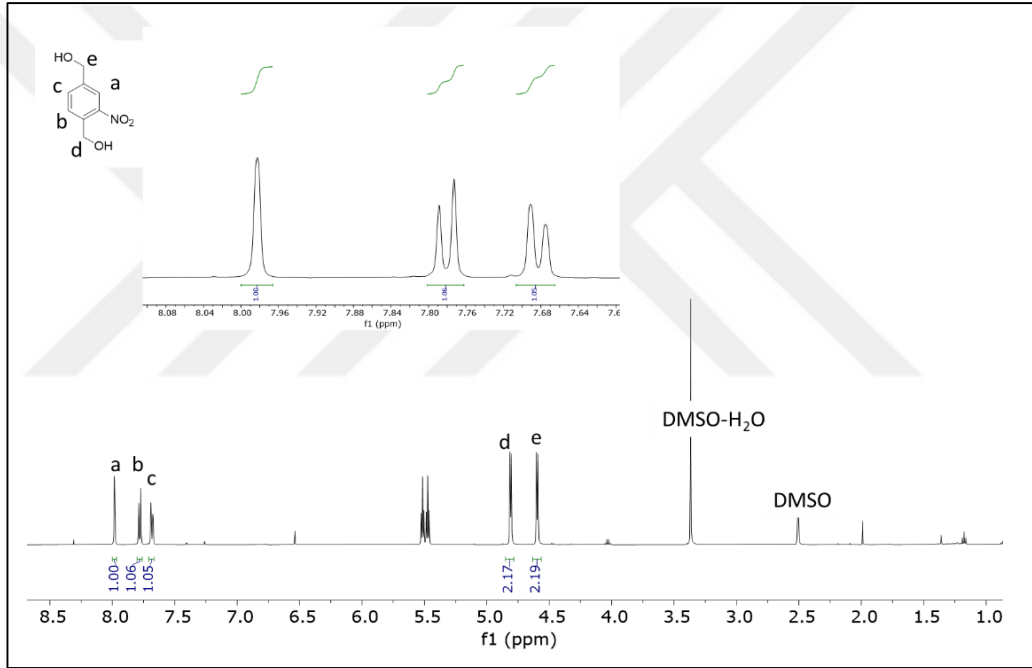
Literatür örneğinden yararlanarak [Eckardt et al., 2019], NTPA ve THF-boran varlığında 50°C 'deki yağ banyosunda 18 saat süre ile gerçekleşen reaksiyon sonunda NPDM sentezlenmiş (Şekil 5.20), FTIR ve H-NMR ile yapı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumunda 1704 cm^{-1} 'deki karboksilik asit grubuna ait pikin kaybolması ve 3300 cm^{-1} 'de -OH gerilmesine ait pikin belirmesi hedeflenen yapıyı desteklemektedir (Şekil 5.21). ^1H -NMR analizinde ise aromatik protonlara ek olarak hidroksil komşuluğundaki karbona bağlı hidrojenlerin belirmesi ürünün elde edildiğini göstermektedir (Şekil 5.22).



Şekil 5. 20: NPDM sentezi.



Şekil 5. 21: NPDM molekülüne ait FTIR spektrumu.

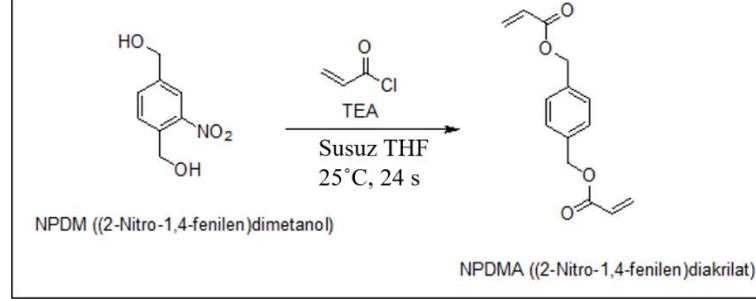


Şekil 5. 22: NPDM molekülüne ait ¹H-NMR spektrumu.

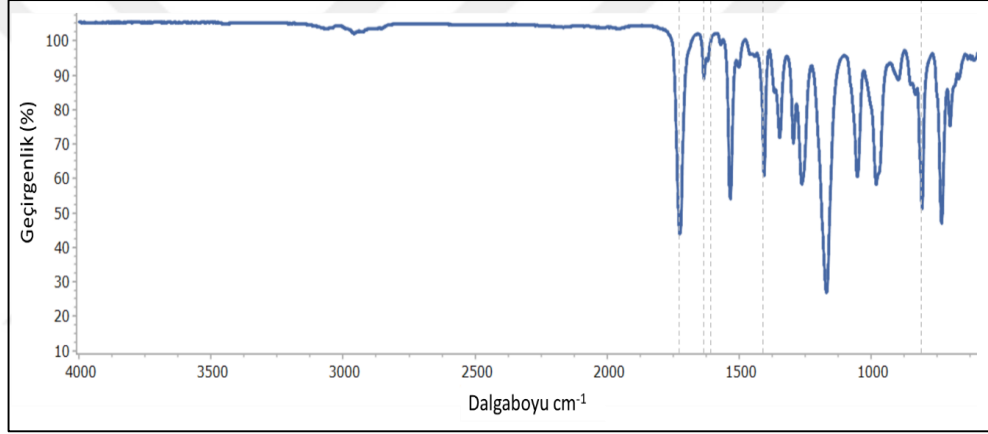
5.8. NPDMA Sentezi

Bir önceki adımda sentezlenen NPDM molekülünün, TEA ve akriloil klorür varlığında oda sıcaklığında ve 24 saat sürede gerçekleşen reaksiyonu sonucunda NPDMA elde edilmiştir [Eckardt et al., 2019]. NPDMA sentezinin ardından FTIR ve ¹H-NMR analizleri ile yapı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.24’de yer alan FTIR spektrumunda 1727 cm⁻¹’de ester gruplarına ait C=O gerilmesi ve 1606-1616, 1405 ve 810 cm⁻¹’de sırasıyla CH₂=CH-R gerilme, CH₂=CH-R makaslama,

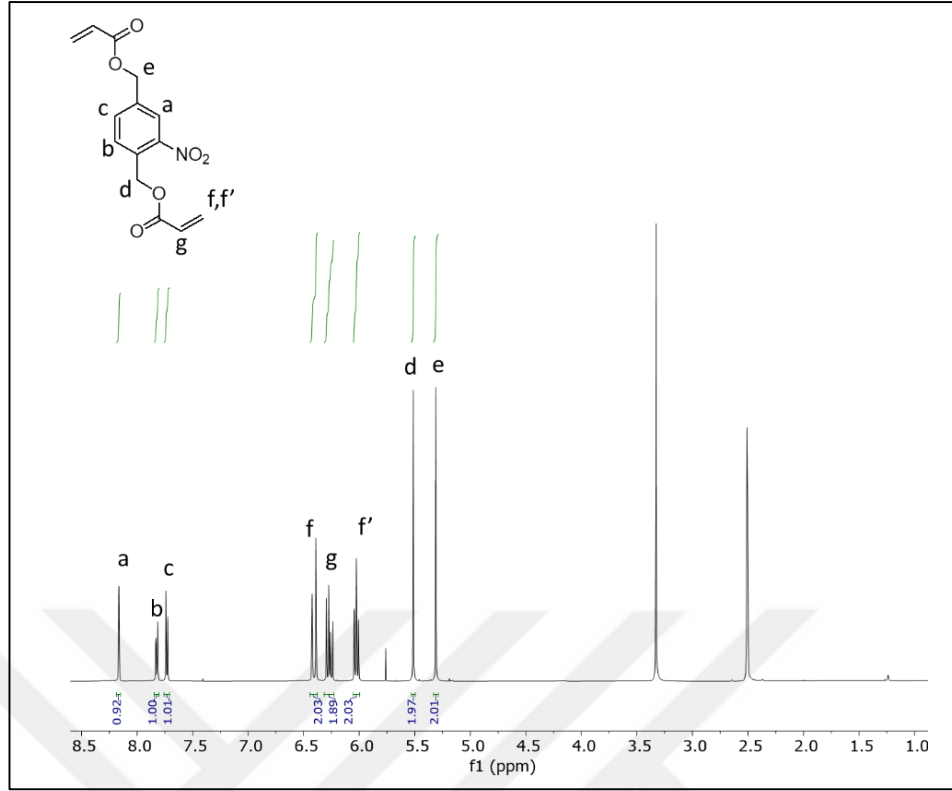
CH₂=C-H düzlem dışı eğilme titreşimleri beklenen yapıyı desteklemektedir. ¹H-NMR spektrumunda aromatik piklerin yanı sıra akrilat grubuna ait pikler de gözlenmektedir. Literatürdeki örnek ile uyumludur [Eckardt et al.,2019].



Şekil 5. 23: NPDMA sentezi.



Şekil 5. 24: NPDMA molekülüne ait FTIR spektrumu.

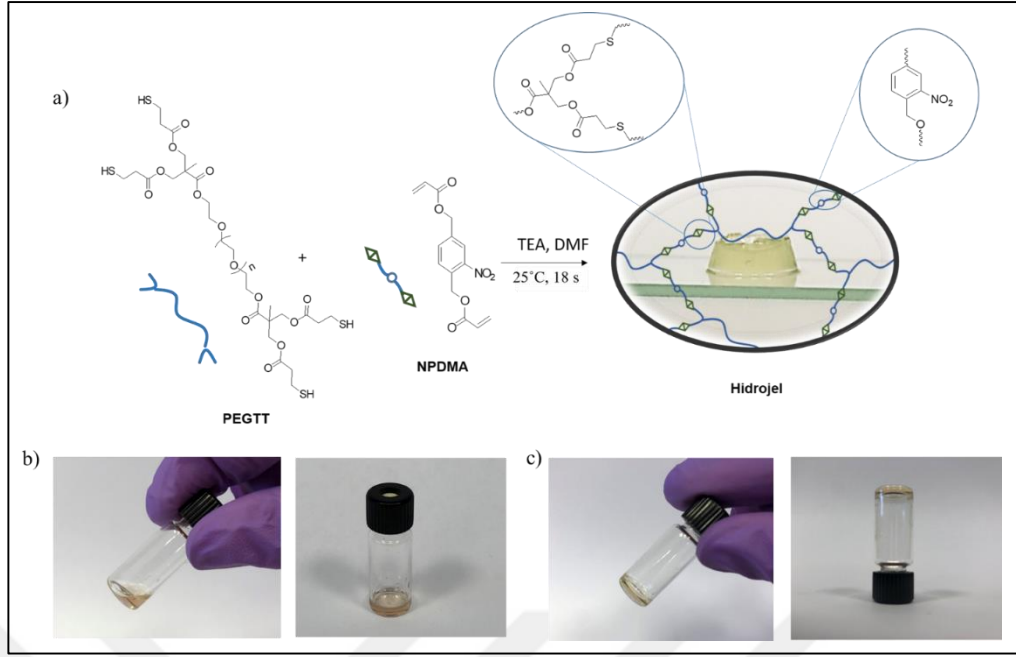


Şekil 5. 25: NPDMA molekülüne ait ^1H -NMR spektrumu.

5.9. Hidrojel Sentezi

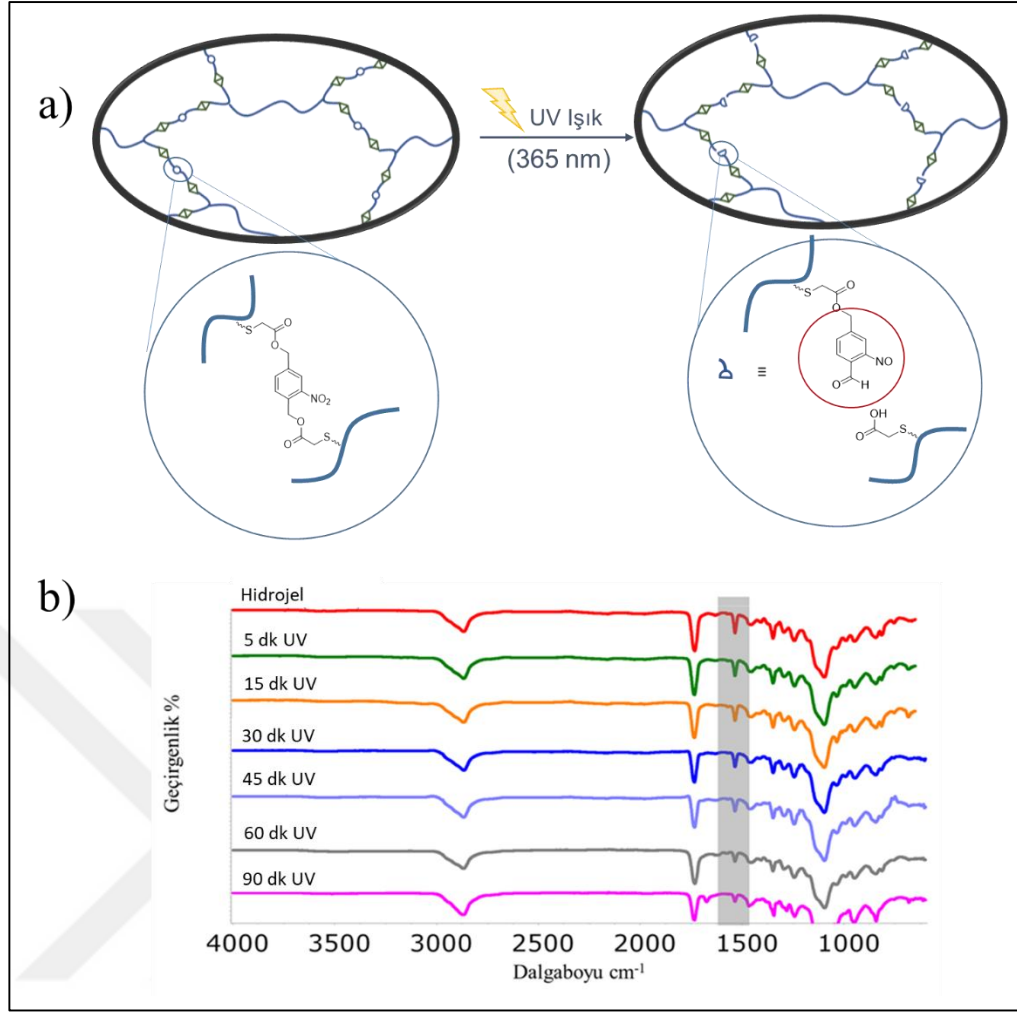
5.9.1. Kalıp Jel Sentezi

Sentezlenen PEGTT ve NPDMA kullanılarak, TEA varlığında gerçekleşen reaksiyon sonunda jel elde edilmiştir (Şekil 5.26a). 50 mg PEGTT örneği bir vial alınmış ve 50 μL DMF içerisinde çözülmüştür. Karışıma NPDMA eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. TEA ilavesinden sonra jel karışımının renginin pembeleştiği görülmüştür. Jelleşmenin gerçekleşmesi için karışım gece boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bırakılmıştır. Reaksiyon süresi sonunda oluşan hidrojin renginin pembeden sarıya döndüğü görülmüştür. Elde edilen hidrojel DMF ve THF ile yıkanarak çözünür fraksiyondan uzaklaştırılmış ve vakumda kurutulmuştur. Jelleşme verimi %76.9 olarak hesaplanmıştır. Jel sentezi rutin olarak eppendorf tüplerin kapağında gerçekleştirilmiş olup, görsel amaçlı 1.5 mL'lik cam vial içinde gerçekleştirilen jel sentezine ait görüntüler Şekil 5.26'daki gibidir.



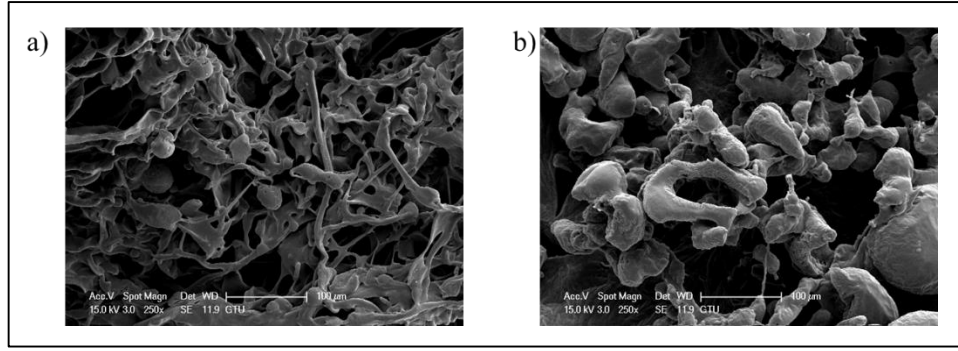
Şekil 5. 26: Jel sentezine ait şematik görsel (a), jelleşme öncesi (b) ve sonrasına (c) ait görseller.

Hidrojeller 365 nm dalgaboyundaki ultraviyole ışık altında 5, 15, 30, 45, 60, 90 dakika süreleri boyunca bekletilmiştir. UV ışığı uygulaması ile birlikte jelin renginin koyu sarıya döndüğü ve fiziksel olarak yapısında yumuşama gerçekleştiği gözlenmiştir. Işık etkisi ile o-nitrobenzil gruplarının nitrosobenzaldehyt grubuna kimyasal dönüşümü, FTIR spektrumundaki NO₂'ye ait gerilme piklerinin azalışı takip edilerek doğrulanmıştır. 1536 cm⁻¹'deki NO₂ grubuna ait olan pikin, UV ışığa maruz kalma süresinin artışıyla birlikte küçülme göstermesi ışık etkisiyle gerçekleşen dönüşümü desteklemektedir (Şekil 5.27).



Şekil 5. 27: a) UV ışık etkisi ile jel yapısında meydana gelen kimyasal dönüşüm b) Farklı sürelerde UV ışığa maruz kalan jellere ait FTIR spektrumu.

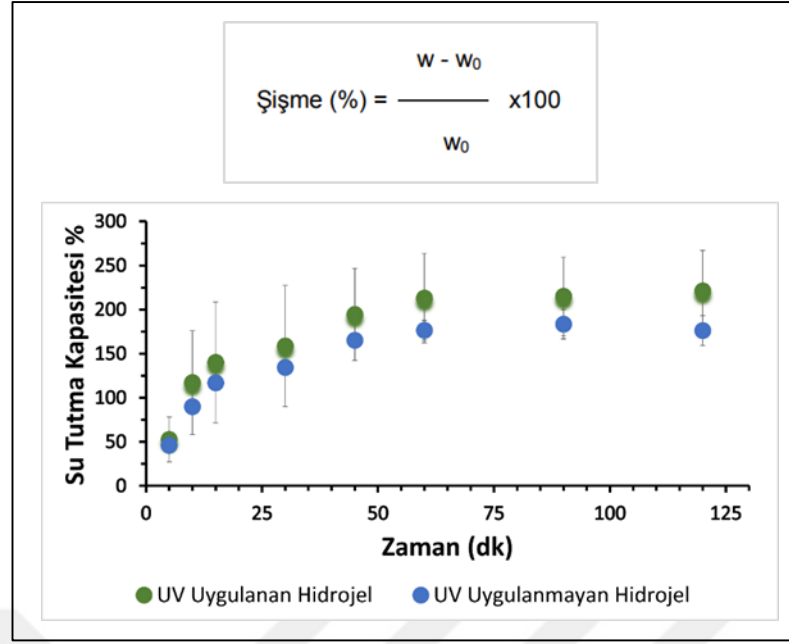
UV ışığa maruz kalan jelde, jelin yapısında bulunan o-nitrobenzil gruplarının ışık etkisi ile nitrosobenzaldehide dönüşmeleri suretiyle çapraz bağlarda kısmi olarak parçalanma meydana gelmesi beklenmektedir. Jelde görülen yumuşama da bu kısmi parçalanmanın bir sonucudur. Jel yapısındaki çapraz bağlanmanın azalması SEM analizi yapılarak doğrulanmıştır. Şekil 5.28'deki SEM görüntülerinde açıkça görülebileceği gibi UV ışığa maruz kalmayan kalıp jelin yapısındaki çapraz bağlanma miktarı UV ışığa maruz bırakılan jele göre daha fazladır.



Şekil 5. 28: (a) UV ışık uygulanmayan jel ve (b) 90dk UV ışığa maruz bırakılan jele ait SEM görüntüleri.

Hidrojellerin sahip olduğu karakteristik özelliklerden biri yapılarında suyu tutabilme kapasiteleridir. Bu özellikleri içerdikleri yoğun çapraz bağlar sayesinde gerçekleşmektedir. Çapraz bağlar, su moleküllerini yapılarına hapsederek jelin şişmesine neden olmaktadır. UV ışığı uygulaması sonucunda çapraz bağlarda kısmi azalma söz konusu olduğunda ise jelin, ilk haline göre daha fazla miktarda su tutabilmesi beklenmektedir. Bu durum, jel içerisindeki bağların azalmasıyla su moleküllerine daha fazla yer açıldığı ve jelin daha fazla miktarda suyu yapısına alabileceği şeklinde açıklanabilir.

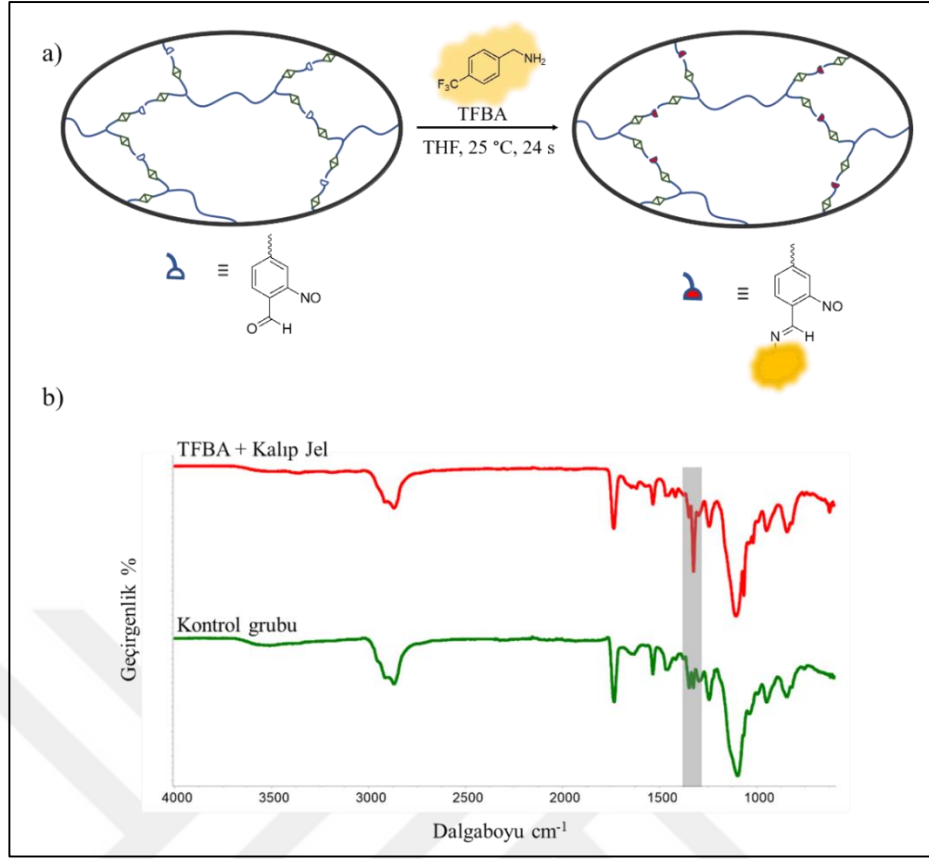
Hidrojelin şişme kapasitesinin zamanla değişimi, oda sıcaklığında 120 dk süre ile incelenmiştir. Kuru haldeki hidrojellerin ilk tartımları (w_0) alındıktan sonra jeller 50 mL distile su içeren behere alınmıştır. Belirli zaman aralıklarında distile su içerisinden alınan hidrojeller, yüzeylerindeki suyun fazlası bir kâğıt üzerinde alındıktan sonra tartılmış (w) ve tekrar distile su içerisine bırakılmıştır. Aynı işleme hidrojeller denge şişme seviyesine ulaşana kadar devam edilmiştir. Hidrojellerin kütlelerindeki değişimler kaydedilmiş ve Şekil 5.29'daki eşitlik kullanılarak hidrojellerin yüzde şişme değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan yüzde şişme değerleri ile Şekil 5.29'daki grafik oluşturulmuştur. Grafik verilerine göre 90 dk UV ışığı uygulanan hidrojelin, UV ışığı uygulanmayan hidrojele göre yapısında daha fazla miktarda su tutabildiği doğrulanmıştır. UV uygulanmamış jele ait dengedeki su tutma kapasitesi %176 iken, 90 dk UV uygulamasının sonunda su tutma kapasitesinin % 221'e yükselmiş olması jellerdeki kısmi parçalanmanın gerçekleştiğini desteklemektedir.



Şekil 5. 29: Hidrojinin yüzde şişme değeri eşitliği ve 90 dakika UV ışığa maruz kalan hidrojele ait su tutma kapasitesi-zaman grafiği.

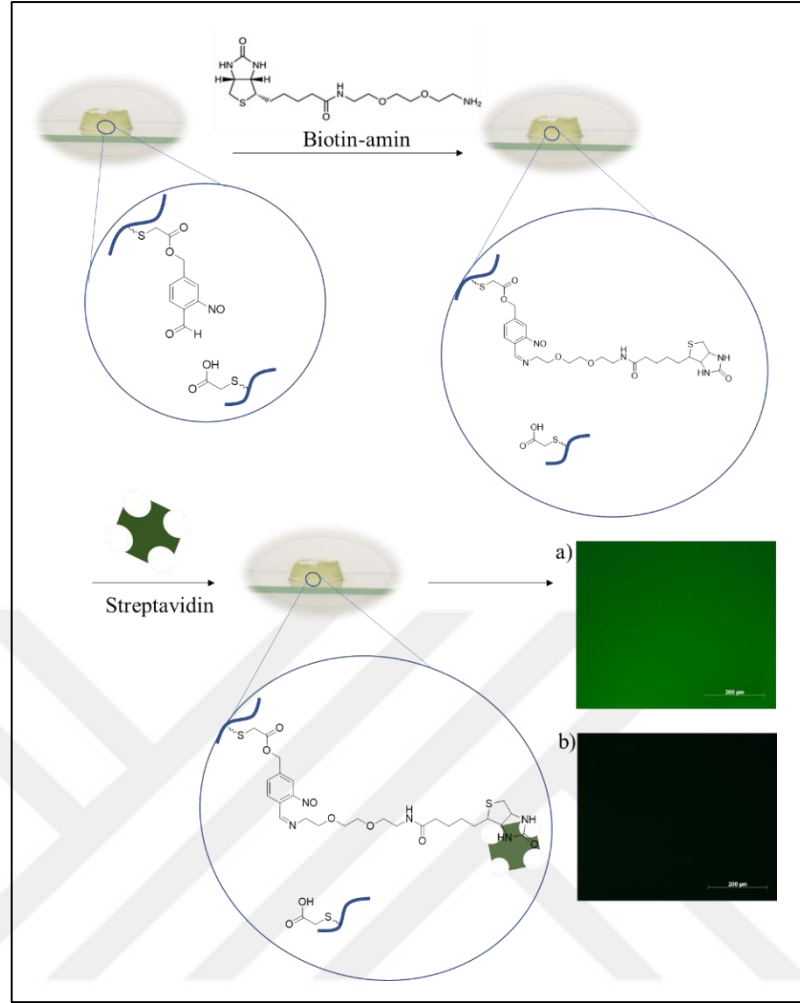
5.9.2. Kalıp Jellerin Fonksiyonelleştirilmesi

Işık etkisi ile gerçekleşen o-nitrobenzil grubunun nitrosobenzaldehit dönüşümü, çapraz bağları kısmi olarak parçalamanın dışında hidrojele amin-reaktiflik özelliği de kazandırmaktadır. Burada, hidrojel yapısında oluşan nitrosobenzaldehit grubunun, aldehit-amin etkileşimi üzerinden gerçekleşecek olan reaksiyon ile amin grubu taşıyan ilgili molekülleri jel yapısına bağlayabilmek için kullanılabilirliği araştırılmıştır. Jelin amin gruplarına karşı reaktivitesinin doğrulanması amacıyla amin grubu içere model molekül olarak TFBA molekülünün jele bağlanması gerçekleştirilmiş ve bağlanma FTIR analizi ile doğrulanmıştır. Şekil 5.30'da, 90 dakika UV uygulanmış olan jel ve UV uygulanmamış jelin TFBA çözeltisinde bekletilip yıkanmasının ve kurutulmasının ardından alınan FTIR spektrumları gösterilmektedir. UV uygulanmış jele ait spektrumdaki 1326 cm^{-1} bölgesindeki C-F gerilmesinin şiddetinin, UV uygulanmamış jel ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek gözlenmiş olması molekülün UV uygulamasından sonra jele bağlandığını göstermektedir.



Şekil 5.30: a) 90dk UV ışığı uygulanan hidrojele TFBA bağlanması b) TFBA bağlamaya ait FTIR spektrumu.

Hidrojinin amin gruplarına karşı reaktivitesi, TFBA molekülüne ek olarak biyotin amin ligandı ve sonrasında bu liganda yüksek afinitesi olan streptavidin sabitlenmesi ile de doğrulanmıştır. 90 dk UV ışığa maruz kalmış jel ve kontrol grubu olarak UV ışığı uygulanmamış olan jel, amin grubu taşıyan biyotinamin-streptavidin kompleksi ile konjuge edilmiş ve bağlanmanın gerçekleşmiş olduğu floresan mikroskop ile doğrulanmıştır. Biyomolekül sabitlemesi için kullanılan biyotin molekülü streptavidinin malzemelere bağlanmasına aracılık eden bir moleküldür. Streptavidin, biyotine karşı yüksek afinite göstermektedir. Bu sayede streptavidin ancak biyotin varlığında yüzeye sabitlenebilecektir. Biyotin-amin molekülü, taşıdığı amin fonksiyonallitesi sayesinde aldehit grupları içeren reaktif hidrojele bağlanmıştır. Ardından floresan etiketli streptavidin molekülü de biyotin molekülüne bağlanarak hidrojel yüzeyine sabitlenmiştir. Şekil 5.31’de yer alan floresan mikroskop görüntüsü incelendiğinde, UV uygulanan hidrojel görüntüsünde streptavidinin bağlandığını ifade eden floresan renk görülürken kontrol grubunda floresan renk görülmemektedir.

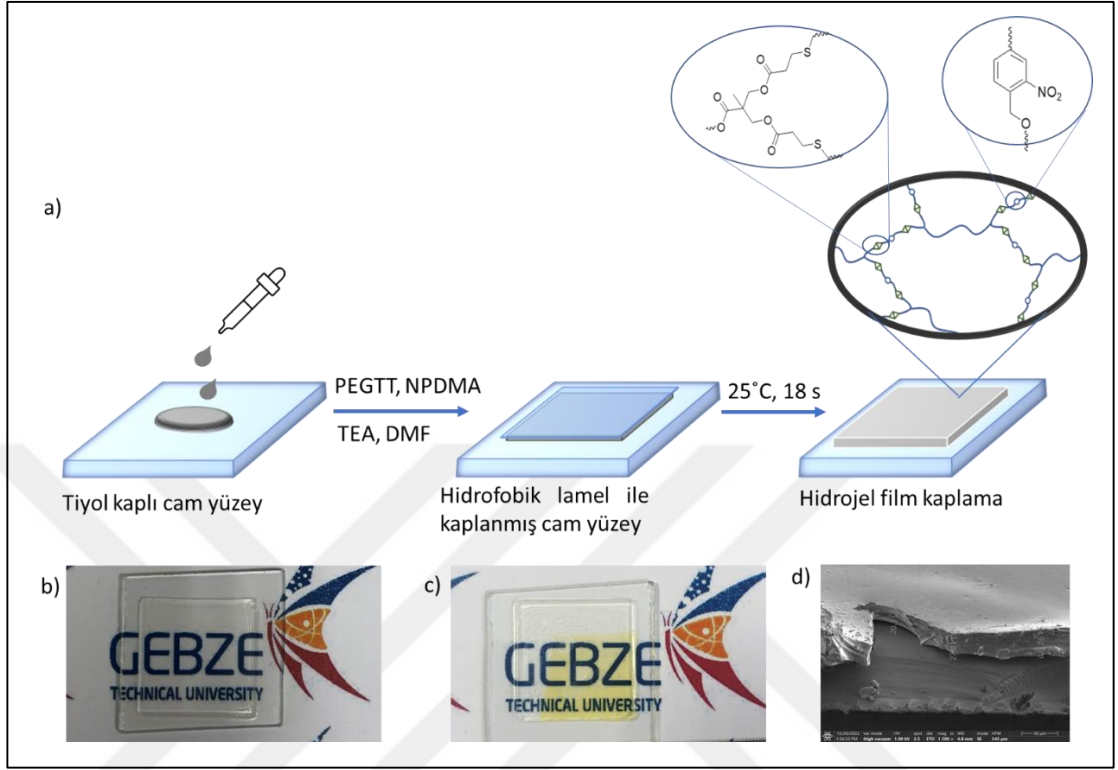


Şekil 5.31: Biotin-streptavidin immobilizasyonu ve UV uygulanan hidrojele (a) ve kontrol grubuna (b) ait floresan mikroskop görüntüleri.

5.9.3. Hidrojel Filmlerin Hazırlanması

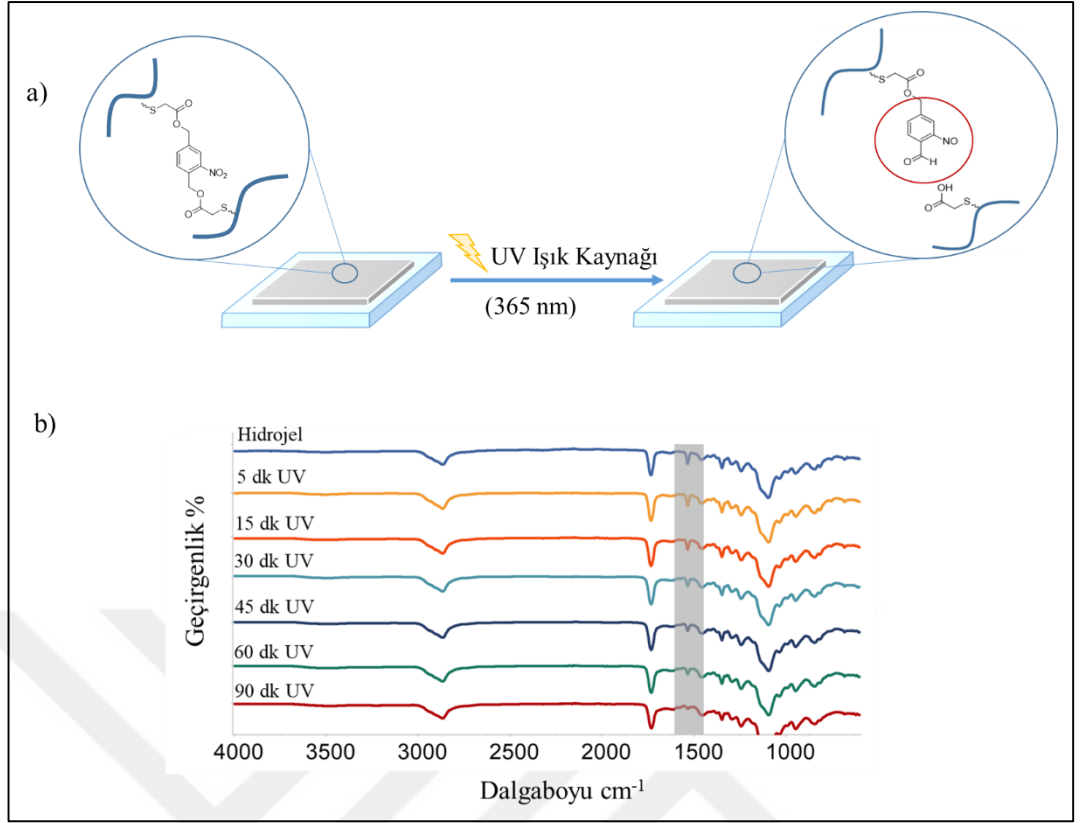
Hidrojellerin sentezlenebildiği ve ışık ile etkileşim sonucunda reaktif özellik kazanabildiği kalıp jeller üzerinde incelendikten sonra hidrojeller cam yüzeyler üzerinde film olarak da hazırlanmıştır. 50 mg PEGTT örneği eppendorf tüpe alınmış ve 50 μ L DMF ile çözülmüştür. Karışıma 12 mg NPDMA monomeri eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. Son olarak karışıma TEA stok solüsyonundan (1 mL DMF + 114.96 μ L TEA) 10 μ L eklenmiştir. Elde edilen jel karışımından 20 μ L alınarak tiyol kaplı cam lamel üzerine damlatılmıştır. Ardından jel karışımının üzerine hidrofobik lamel yerleştirilmiştir. Bu şekilde jelleşme cam yüzey üzerinde, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.32-a). Cam üzerinde hidrojel filmler şeffaf olarak elde edilmiştir (Şekil 5.32-b). Hidrojel yüzeyi alüminyum folyo ile kısmen kapatılıp bir kısmı UV ışığa maruz bırakıldığında, ışık ile etkileşen kısmın sarı

renk aldığı gözlenmiştir (Şekil 5.32-c). Hidrojel kaplamaların kalınlığı ise elektron mikroskop incelemesinde 27 mikrometre olarak görüntülenmiştir (Şekil 5.32-d).



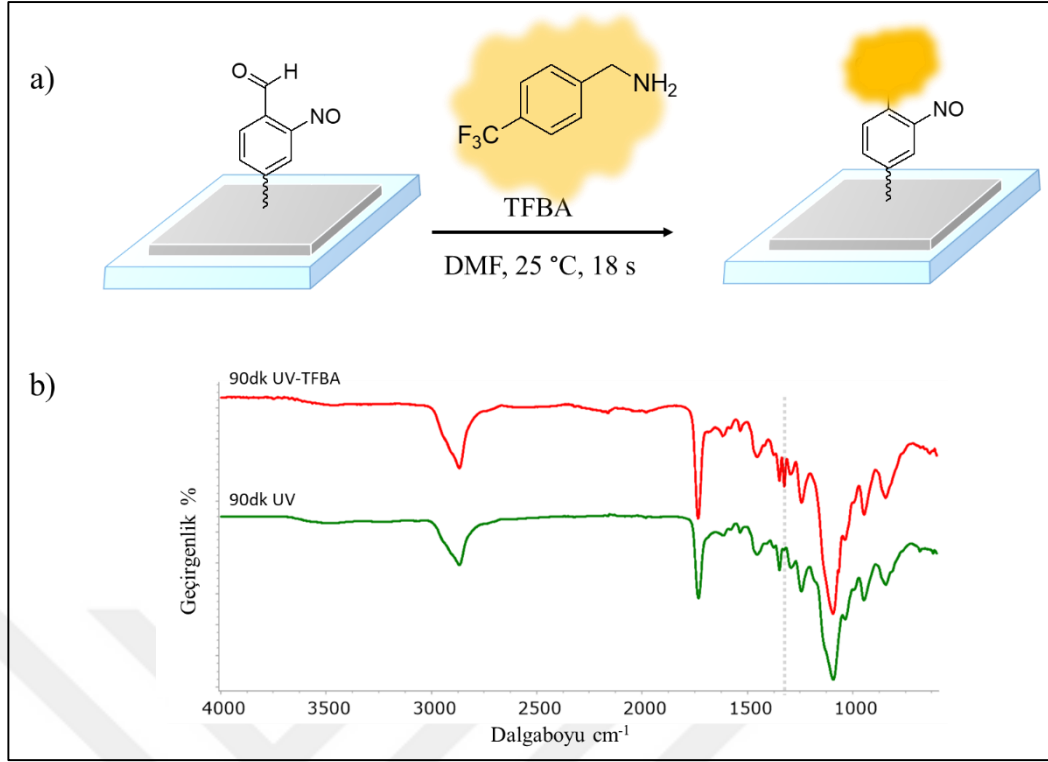
Şekil 5.32: a) Hidrojel film sentezinin şematik gösterimi b) Cam yüzey üzerindeki jel kaplamanın fotoğrafı c) reaksiyon sonrasında bir kısmına UV ışığı uygulanan (sarı bölge) jel kaplamanın fotoğrafı. d) Jel kaplamanın kalınlığını gösteren SEM görüntüsü.

Elde edilen jel kaplamalar, 5, 15, 30, 45, 60, 90 dakika süreleri boyunca UV ışığa (365nm, 100 watt) maruz bırakılmışlardır. UV ışığı uygulaması ile birlikte jelin renginin koyu sarıya döndüğü görülmüştür (Şekil 5.32.c). Aynı zamanda UV ışığı etkisi ile hidrojel yapısındaki o-nitrobenzil gruplarının nitrosobenzaldehite dönüşümleri FTIR spektrumundaki NO₂ piklerinin azalışı takip edilerek doğrulanmıştır (Şekil 5.33). 1536 cm⁻¹'deki NO₂ grubuna ait olan gerilme piki, UV ışığa maruz kalma süresinin artışıyla birlikte küçülme göstermektedir.



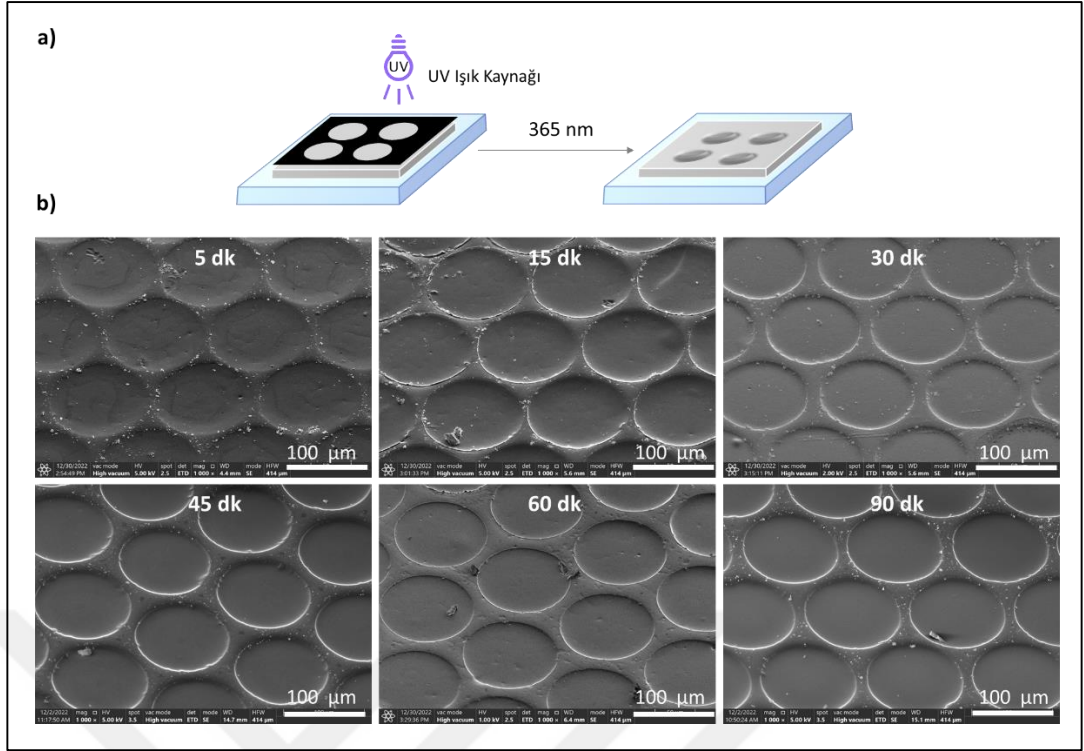
Şekil 5.33: a) Hidrojel yüzeyine UV ışığı uygulaması b) NO₂ dönüşümünü gösteren FTIR spektrumu.

Hidrojel yapısındaki o-nitrobenzil gruplarının kimyasal dönüşümü ile jel, amin gruplarına karşı reaktivite kazanmaktadır. Jel yapısında bulunan aldehit grupları sayesinde amin grupları taşıyan moleküller, aldehit-amin etkileşimi ile jel yüzeyine bağlanabilirler. Bu amaçla hidrojel filmin amin reaktivitesini doğrulamak için TFBA molekülü hidrojel film ile konjuge edilmiştir. 90dk boyunca UV ışığa maruz bırakılan jele TFBA bağlanmış ve bu bağlanma FTIR analizi ile doğrulanmıştır. Şekil 5.34’de yer alan FTIR spektrumunda 1326 cm⁻¹ bölgesinde spesifik TFBA gerilme piki gözlenmiştir.



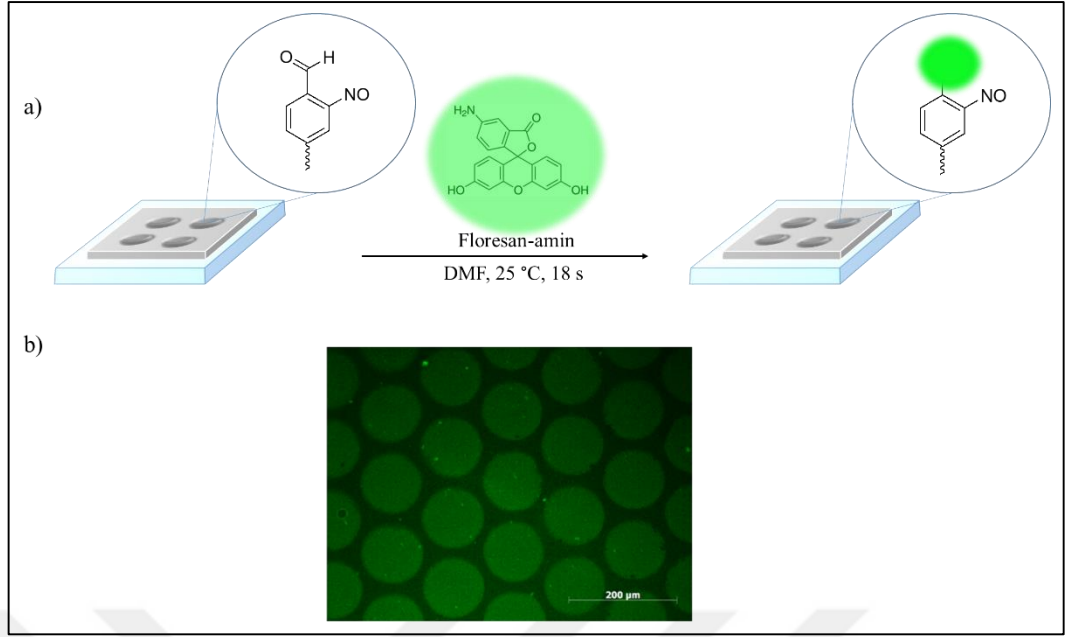
Şekil 5.34: a) Hidrojel kaplamaya TFBA bağlanması b) TFBA bağlamaya ait FTIR spektrumu.

Yüzeyler üzerinde kısmen parçalanma ile aktifleşme ve aktive edilen bu hidrojel filmlere aminli bileşiklerin bağlandığı gösterildikten sonra, hidrojel filmlere mikrodeseanlı fotomaske yerleştirilmiş ve 5-90 dakika arasında farklı sürelerde UV ışık uygulanmıştır. Böylece hidrojel filmlerin yüzeyleri aşındırılarak aktifleştirilmiş mikrokuyular elde edilmiştir. Şekil 5.35a'da gösterildiği gibi fotomaske üzerindeki transparan bölgeler UV ışığını geçirirken opak bölgelerin altında kalan alanlar ışıktan etkilenmemiştir. Bu sayede sadece ışığı geçiren bölgelerdeki çapraz bağlanma birimlerinde parçalanma gerçekleşmiş ve yüzey üzerinde bu bölgelerde mikrokuyular oluşturulmuştur (Figür 5.35b). Desenleme 5 dakika itibariyle görülmekte olup, sürenin artması ile mikrokuyuların daha net olarak elde edildiği gözlenmiştir. 60 dakika sonundaki kalınlık açılı olarak çekilen SEM fotoğraflarından yaklaşık 2.5 µm olarak ölçülmüş olup (Şekil Ek A.1) 5 dakika UV uygulanan yüzeylerin kuyuların çevre kısımları yeterince net görülmediğinden SEM'de kalınlık ölçülememiştir. Profilometre analizinde ise 5 dakika ve 60 dakika UV uygulanan hidrojellerde kalınlık sırasıyla 2.1 ve 3.2 µm olarak alınmıştır (Şekil Ek A.2 ve Şekil Ek A.3).



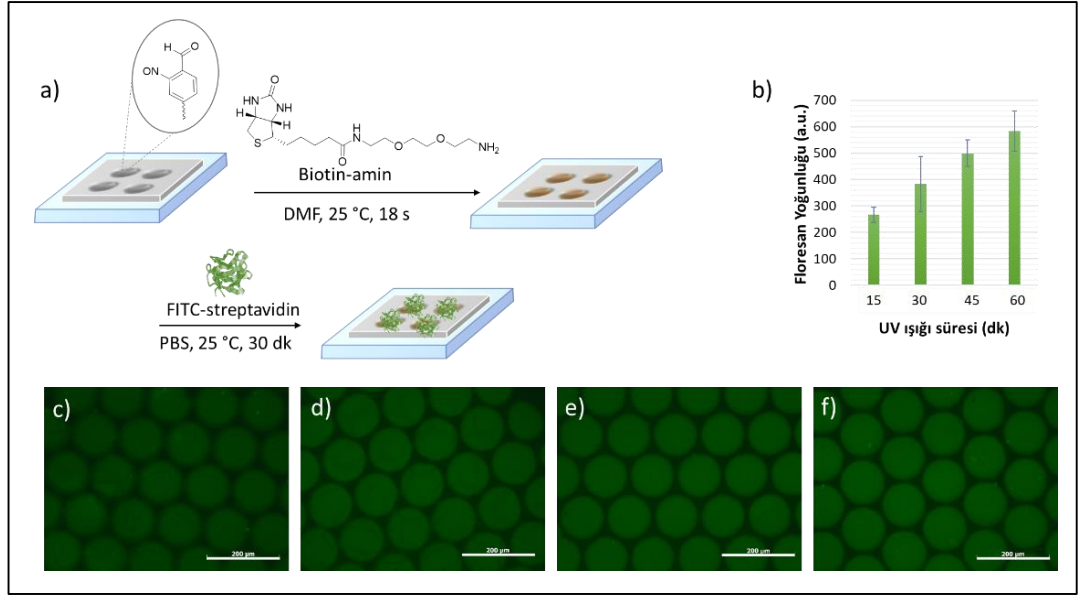
Şekil 5. 35: Fotomaskleme ile jel yüzeyinde mikrokuyular oluşturulması ve farklı sürelerde UV ışığına maruz bırakılarak elde edilen mikrokuyulara ait elektron mikroskobu görüntüleri.

Hidrojel filmlerin yüzeyindeki mikrokuyular, UV ışık etkisi ile o-nitrobenzil grubunun nitrosobenzaldehide dönüşümü sonucunda amin-reaktif birimler içermektedir. Jelin amin reaktivitesi kazanması floresan-amin boyama ile doğrulanmıştır. Amin grubu taşıyan floresan boya, fotomaske ile 15 dakika UV uygulanmış olan jel yüzeyine damlatılmış ve bir gün bekletilmiştir. Yıkama işleminden sonra bağlanmanın gerçekleşmesi floresan mikroskop görüntüleme ile kontrol edilmiştir. Şekil 5.36'daki mikroskop görüntülerinde olduğu gibi, hidrojel film üzerinde sadece mikrokuyularda floresan boyaya ait renk gözlenmiş, kuyucukların dışında kalan bölgede ise dikkate alınabilecek bir sinyal görünmemiştir. Bu da jel yüzeyinde elde edilen mikrokuyuların reaktif olduğunu, sadece bu bölgelere amin içeren moleküllerin bağlanabildiğini, UV ışığa maruz kalmamış bölgelerin ise reaktif olmadığını doğrulamaktadır.



Şekil 5. 36: a) Hidrojel kaplamaya floresan-amin immobilizasyonu b) Floresan-amin bağlanmış mikrokuyuların floresan mikroskop görüntüsü.

Jel yüzeyindeki mikrokuyulara floresan-amin bağlanması ile jelin amin-reaktifliğinin doğrulanmasının ardından bu bölgelere streptavidin sabitlenmiştir (Şekil 5.37). Öncelikle farklı sürelerde desenli olarak UV ışığı uygulanan jel filmlere, sadece mikrokuyuların içine bağlanacağı ön görülerek biyotin amin bağlanmış, daha sonrasında bu bölgelere floresan etiketli streptavidin sabitlenmiştir. Şekil 5.37'deki floresan mikroskop görüntülerinde, streptavidinin bağlandığını doğrulayan floresan boyaya ait renk sadece mikrokuyularda gözlenmiştir. Bu da mikrokuyuların sadece iç kısımlarının reaktif olduğunu, dış bölgelerinin ise spesifik olmayan biyobağlamaya karşı dirençli olduğunu desteklemektedir. Aynı zamanda UV ışık uygulama süresinin artışı ile orantılı olarak o-nitrobenzil'in nitrosobenzaldehite dönüşümü de arttığından streptavidin makromolekülünün bağlanma miktarı da artmıştır ve floresan mikroskop görüntülerinde kuyuların UV ışık uygulama süresi ile orantılı olarak netleştiğinin ve floresan yoğunluğunun artışının gözlenmesine neden olmuştur.



Şekil 5.37: a) Mikrokuyulara streptavidin immobilizasyonunun şematik gösterimi. b) 15dk, 30dk, 45dk ve 60dk UV uygulanan hidrojellere streptavidin immobilize edilen jel kaplamaların floresan yoğunlukları. Sırasıyla c) 15 dk, d) 30 dk, e) 45 dk ve f) 60 dk UV uygulanan hidrojellere streptavidin sabitlenmesine ait floresan mikroskop görüntüleri.

6. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında, o-nitrobenzil grubunun ışığa karşı duyarlılığından faydalanarak ışık aracılığıyla kısmi olarak parçalanarak aktifleşebilen bir hidrojel sentezlenmiştir. Hidrojel sentezi, o-nitrobenzil grubunu taşıyan NPDMA monomeri ve tiyol grupları barındıran PEG-tetratiyol çapraz bağlayıcısı arasında meydana gelen tiyol-en Michael katılması sonucunda gerçekleştirilmiştir. O-nitrobenzil grupları 365 nm dalgaboyunda UV ışık uygulamasının ardından parçalanarak nitrosobenzaldehit grubunu oluşturmaktadır ve oluşan bu grup, aminlere karşı reaktivite göstermektedir.

Cam yüzeylerde kaplama olarak sentezlenen hidrojeller üzerinde aminlere karşı reaktif bölgeler oluşturmak amacıyla fotomaske uygulaması yapılmıştır. Hidrojel yüzeyine yerleştirilen fotomaskenin üzerinden UV ışık uygulandığında, maskenin sadece saydam bölgelerinden ışık geçerek hidrojel yüzeyine ulaşmaktadır. Işık etkisi ile o-nitrobenzil moleküllerinin parçalanması sonucunda jel yüzeyinde kısmi olarak aşınma meydana gelmiş ve mikro boyutlarda kuyular oluşmuştur. Elde edilen mikro-kuyular aynı zamanda reaktif bölgelerdir.

Hidrojel yüzeyinde, ışık etkisi ile oluşturulan mikro-kuyuların reaktifliğini incelemek amacıyla TFBA, floresan-amin moleküllerinin bağlanması ve biyotin-amin/streptavidin kompleksinin immobilizasyon uygulaması yapılmıştır. Molekül immobilizasyon işlemleri, FTIR analizi ve floresan mikroskop görüntüleme ile doğrulanmıştır. Elde edilen sonuçlarda, beklendiği gibi amin grupları taşıyan hedef moleküllerin, hidrojel yüzeyindeki kuyularda bulunan nitrosobenzaldehit molekülü sayesinde Schiff bazı etkileşimi ile jel yüzeyine bağlanarak sabitlendikleri görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışma amacında hedeflendiği gibi amin gruplarına karşı reaktif mikrokuyular bulunduran hidrojeller elde edilmiş ve hidrojel yüzeyine amin grupları taşıyan moleküllerin immobilize edilebildiği gösterilmiştir. Uygulanan sentez yolu ve hidrojellerin aşındırılarak reaktif mikro desenleme oluşturma yaklaşımının, biyosensör ve doku mühendisliği çalışmalarında uygulama bulabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmed, E. M., (2015), "Hydrogel: preparation, characterization, and applications: a review." *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105-121.

Avila-Salas, F. and Duran-Lara, E., (2020), "An overview, of injectable thermo-responsive hydrogens and advances in their biomedical applications.", *Current Medicinal Chemistry*, 27, 5773–5789.

Aydin, D., Arslan, M., Sanyal, A., Sanyal, R., (2017), "Hooked on cryogels: a carbamate linker based depot for slow drug release." *Bioconjugate Chemistry*, 28(5), 1443-1451.

Baggerman, J. Smulders, M. M. J.; Zuilhof, H., (2019), "Romantic surfaces: a systematic overview of stable, biospecific, and antifouling zwitterionic surfaces." *Langmuir* 35 (5) 1072–1084.

Bahram M., Mohseni N., Moghtader M., (2015), "An introduction to hydrogels and some recent applications", *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*, Edited by Sutapa Majee, IntechOpen, <https://doi.org/10.5772/64301>.

Balan K. E., (2021), "Uyariya Duyarlı Hidrojellerin Sentezlenmesi ve İlaç Salım Davranışlarının İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi.

Balmond E. I., Tautges B. K., Faulkner A. L., Or V. W., Hodur B. M., Shaw J. T., Louie A.Y., (2016), "Comparative evaluation of substituent effect on the photochromic properties of spiropyrans and spirooxazines.", *The Journal of Organic Chemistry*, 81(19), 8744-8758.

Bilgic T. and Klok H. A., (2015), "Oligonucleotide immobilization and hybridization on aldehyde-functionalized poly (2-hydroxyethyl methacrylate) brushes.", *Biomacromolecules*, 16(11), 3657-3665.

Broderick A. H., Azarin S. M., Buck M. E., Palecek S. P., Lynn D. M., (2011), "Fabrication and selective functionalization of amine-reactive polymer multilayers on topographically patterned microwell cell culture arrays." *Biomacromolecules*, 12(6), 1998-2007.

Cai Z., Huang K., Bao C., Wang X., Sun X., Xia, H., Lin Q., Yang Y., Zhu, L. (2019), "Precise construction of cell-instructive 3d microenvironments by photopatterning a biodegradable hydrogel." *Chemistry of Materials*, 31(13), 4710-4719.

Carayon, I., Gaubert, A., Mousli, Y., Philippe, B., (2020), "Electro-responsive hydrogels: macromolecular and supramolecular approaches in the biomedical field." *Biomaterials Science*, 8, 5589–5600.

Cengiz, N., Rao, J., Sanyal, A., Khan, A., (2013), "Designing functionalizable hydrogels through thiol–epoxy coupling chemistry.", *Chemical Communications*, 49(95), 11191-11193.

Cohen, L., Walt, D. R., (2017), "Single-molecule arrays for protein and nucleic acid analysis.", *Annual Review of Analytical Chemistry*, 10, 345-363.

Cohen, L., Walt, D. R., (2018), "Highly sensitive and multiplexed protein measurements.", *Chemical Reviews*, 119(1), 293-321.

Crimmins, M. T. and Reinhold, T. L., (2004), "Enone olefin [2+ 2] photochemical cycloadditions.", *Organic Reactions*, 44, 297-588.

DeForest, C. A., Anseth, K. S., (2011), "Cytocompatible click-based hydrogels with dynamically tunable properties through orthogonal photoconjugation and photocleavage reactions.", *Nature Chemistry*, 3(12), 925-931.

DeForest, C. A., Anseth, K. S., (2012), "Photoreversible patterning of biomolecules within click-based hydrogels.", *Angewandte Chemie International Edition*, 51(8), 1816-1819.

Deng Y., Ren J., Chen, G., Li G., Wu X., Wang G., Gu G., Li, J., (2017), "Injectable in situ cross-linking chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for abdominal tissue regeneration.", *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.

Duan J. J., Zhang L. N., (2017), "Robust and smart hydrogels based on natural polymers.", *Chinese Journal of Polymer Science*, 35(10), 1165-1180.

Eckardt, O., Seupel, S., Festag, G., Gottschaldt, M., Schacher, F.H., (2019), "Synthesis and degradation of branched, photo-labile poly(acrylic acid) and polystyrene", *Polymer Chemistry*, 10, 593.

Ellis-Davies, G. C., (2007), "Caged compounds: photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology.", *Nature methods*, 4(8), 619-628.

Encapsula Nano Science, (2022), <https://encapsula.com/ellmans-assay-protocol-2/> (Erişim Tarihi: 14 Haziran 2022).

Escorihuela, J., Marcelis, A. T., Zuilhof, H., (2015), "Metal-free click chemistry reactions on surfaces.", *Advanced Materials Interfaces*, 2(13), 1500135.

Fagan, A., Bartkowski, M., Giordani, S., (2021), "Spiropyran-based drug delivery systems.", *Frontiers in Chemistry*, 9, 720087.

Farbod, K., (2010), "UV and Spontaneously Cured Polyethylene Glycol-Based Hydrogels for Soft And Hard Tissue Scaffolds", Doctoral Dissertation, Royal Institute of Technology. <http://kth.diva-portal.org/smash/get/diva2:412996/FULLTEXT01.pdf>

Ghaemy, M., & Mighani, H., (2009), "Synthesis and identification of dinitro-and diamino-terephthalic acid.", *Chinese Chemical Letters*, 20(7), 800-804.

Grim, J. C., Marozas, I. A., Anseth, K. S., (2015), "Thiol-ene and photo-cleavage chemistry for controlled presentation of biomolecules in hydrogels", *Journal of Controlled Release*, 219, 95-106.

Gümüşderelioğlu M., Şubat 2010, "Yumuşak ve Akıllı Polimerler", *Bilim ve Teknik Dergisi*, TÜBİTAK, sf. 44-49.

Halldorsson, S., Lucumi, E., Gómez-Sjöberg, R., Fleming, R. M. T., (2015), "Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices.", *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 218–231. doi:10.1016/j.bios.2014.07.029.

Hansen, M. J., Velema, W. A., Lerch, M. M., Szymanski, W., Feringa, B. L., (2015), "Wavelength-selective cleavage of photoprotecting groups: strategies and applications in dynamic systems.", *Chemical Society Reviews*, 44(11), 3358-3377.

Hensarling, R.M., S.B. Rahane, A.P. LeBlanc, B.J. Sparks, E.M. White, J. Locklin and D.L. Patton, (2011), "Thiol–isocyanate ‘click’ reactions: rapid development of functional polymeric surfaces.", *Polymer Chemistry*, Vol. 2, pp. 88-90.

Hibbins, Angus R., Pradeep Kumar, Yahya E. Choonara, Pierre P. D. Kondiah, Thashree Marimuthu, Lisa C. Du Toit, and Viness Pillay., (2017), "Design of a versatile pH-responsive hydrogel for potential oral delivery of gastric-sensitive bioactives", *POLYMERS*, 9(10),474. <https://doi.org/10.3390/polym9100474>.

Hoyle, C. E., Lee, T. Y., Roper, T., (2004), "Thiol–enes: Chemistry of the past with promise for the future.", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42(21), 5301-5338.

Ihre, H., Hult, A., Fréchet, J. M. J., Gitsov, I., (1998), "Double-stage convergent approach for the synthesis of functionalized dendritic aliphatic polyesters based on 2,2-bis(hydroxymethyl)propionic acid", *Macromolecules*, 31 (13), 4061-4068.

IUPAC, *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

Karaca N, (2007), "Fotobaşlatılmış Polimerizasyon Yöntemiyle Hidrojellerin Hazırlanması Ve Mekanik Özelliklerinin Saptanması", Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi

Kasai, R. D., Radhika, D., Archana, S., Shanavaz, H., Koutavarapu, R., Lee, D. Y., Shim, J., (2022), "A review on hydrogels classification and recent developments in biomedical applications.", *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1-11.

Kloxin, A. M., Kasko, A. M., Salinas, C. N., Anseth, K. S., (2009), "Photodegradable hydrogels for dynamic tuning of physical and chemical properties.", *Science*, 324(5923), 59-63.

Kortekaas, L., Browne, W. R., (2019), "The evolution of spiropyran: fundamentals and progress of an extraordinarily versatile photochrome.", *Chemical Society Reviews*, 48(12), 3406- 3424.

Kumar Singh, S., Dhyani, A., Juyal, D., (2017), "Hydrogel: preparation, characterization and applications.", *Pharma Innovation Journal*, 6, 25–32.

Lau H. K. and Kiick K. L. (2015), "Opportunities for multicomponent hybrid hydrogels in biomedical applications.", *Biomacromolecules*, 16(1), 28-42.

- Li, J., Mo, L., Lu, C. -H., Fu, -T., Yang, H.-H., Tan, W., (2017), “Functional nucleic acid-based hydrogels for bioanalytical and biomedical applications.”, *Chemical Society Reviews*, 45(5), 1410–1431.
- Li, Y., Huang, G., Zhang, X., Li, B., Chen, Y., Lu, T., Lu, T.J., Xu, F., (2013), “Magnetic hydrogels and their potential biomedical applications.”, *Advanced Functional Materials*, 23, 660–672.
- Li, Z., Zhou, Y., Li, T., Zhang, J., Tian, H., (2021), “Stimuli-responsive hydrogels: Fabrication and biomedical applications.”, *VIEW*, 20200112.
- Li, L., Scheiger, J. M., Levkin, P. A., (2019), “Design and applications of photoresponsive hydrogels.”, *Advanced Materials*, 31(26), 1807333.
- Liu, Y., Meng, H., Konst, S., Sarmiento, R., Rajachar, R., Lee, B. P., (2014), “Injectable dopamine-modified poly (ethylene glycol) nanocomposite hydrogel with enhanced adhesive property and bioactivity.”, *ACS Applied Materials Interfaces*, 6(19), 16982-16992.
- Malkoch, M., Malmström, E., Hult, A., (2002), “Rapid and efficient synthesis of aliphatic ester dendrons and dendrimers”, *Macromolecules*, 35 (22), 8307-8314.
- Marsden, D. M., Nicholson, R. L., Ladlow, M., Spring, D. R., (2009), “3D small-molecule microarrays.”, *Chemical Communications*, (46), 7107-7109.
- Mata, A., Fleischman, A. J. Roy, S., (2005), “Characterization of polydimethylsiloxane (PDMS) properties for biomedical micro/nanosystems”, *Biomedical Microdevices* 7, 281–293.
- Ming, Z., Fan, J., Bao, C., Xue, Y., Lin, Q., Zhu, L., (2018), “Photogenerated aldehydes for protein patterns on hydrogels and guidance of cell behavior.”, *Advanced Functional Materials*, 28(14), 1706918.
- Moeller, H. C., Mian, M. K., Shrivastava, S., Chung, B. G., Khademhosseini, A. (2008), “A microwell array system for stem cell culture.”, *Biomaterials*, 29(6), 752-763.
- Mosiewicz, K. A., Kolb, L., Van Der Vlies, A. J., Martino, M. M., Lienemann, P. S., Hubbell, J. A., Ehrbar M., Lutolf, M. P., (2013), “In situ cell manipulation through enzymatic hydrogel photopatterning.”, *Nature Materials*, 12(11), 1072-1078.
- Nie, T., Baldwin, A., Yamaguchi, N. ve Kiick, K. L., (2007), “Production of heparin-functionalized hydrogels for the development of responsive and controlled growth factor delivery systems”, *Journal of Controlled Release*, 122, 287-296.
- Palmese, L. L., Thapa, R. K., Sullivan, M. O., Kiick, K. L., (2019), “Hybrid hydrogels for biomedical applications.”, *Current Opinion in Chemical Engineering*, 24, 143-157.
- Paramonov, S. V., Lokshin, V., Fedorova, O. A., (2011), “Spiropyran, chromene or spirooxazine ligands: Insights into mutual relations between complexing and photochromic properties.”, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 12(3), 209-236.

Parhi, R., (2017), "Cross-linked hydrogel for pharmaceutical applications: a review.", *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(4), 515- 530.

Park, S., Lee, K. B., Choi, I. S., Langer, R., Jon, S., (2007), "Dual functional, polymeric self-assembled monolayers as a facile platform for construction of patterns of biomolecules.", *Langmuir*, 23(22), 10902-10905.

Pauloehrl, T., Delaittre, G., Bruns, M., Meißler, M., Börner, H. G., Bastmeyer, M., Barner-Kowollik, C., (2012), "(Bio) molecular surface patterning by phototriggered oxime ligation.", *Angewandte Chemie International Edition*, 51(36), 9181-9184.

Peppas N.A., Mikos A.G., (1986), "Preparation methods and structure of hydrogels", *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, Vol. 1, pp. 1-27, CRC Press, Boca Raton, FL.

Peppas, N. A., Keys, K. B., Torres-Lugo, M., Lowman, A. M., (1999), "Poly (ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery.", *Journal of Controlled Release*, 62(1-2), 81-87.

Perzyna, A., Zotto, C.D., Durand, J.O., Granier, M., Smietana, M., Melnyk, O., Stará, I.G., Starý, I., Klepetářová, B. and Šaman, D., (2007), "Reaction of isocyanate-functionalised silicon wafers with complex amino compounds.", *European Journal of Organic Chemistry*, 4032-4037.

Rizwan, M., Yahya R, Hassan A, Yar M, Azzahari AD, Selvanathan V, Sonsudin F, Abouloula CN., (2017), "pH sensitive hydrogels in drug delivery: brief history, properties, swelling, and release mechanism, material selection and applications.", *Polymers (Basel)*, Apr 12;9(4):137, doi: 10.3390/polym9040137.

Quake, S. R., Scherer, A., (2000), "From micro-to nanofabrication with soft materials.", *Science*, 290(5496), 1536-1540.

Samadian, H., Maleki, H., Allahyari, Z., Jaymand, M., (2020), "Natural polymers based light-induced hydrogels: Promising biomaterials for biomedical applications.", *Coordination Chemistry Reviews*, 420, 213432.

Sahajpal, K., Sharma, S., Shekhar, S., Kumar, A., Meena, M. K., Bhagi, A. K., Sharma, B., (2022), "Dynamic protein and polypeptide hydrogels based on Schiff base co-assembly for biomedicine.", *Journal of Materials Chemistry B*, 10, 3173-3198.

Shen, W., Zheng, J., Zhou, Z., Zhang, D., (2020), "Approaches for the synthesis of onitrobenzyl and coumarin linkers for use in photocleavable biomaterials and bioconjugates and their biomedical applications.", *Acta Biomaterialia*, 115, 75-91.

Singh, M. R., Patel, S., Singh, D., (2016), "Natural polymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering", *Nanobiomaterials in Soft Tissue Engineering*, (pp. 231-260), William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42865-1.00009-X>.

Slaughter B.V., Khurshid S.S., Fisher O.Z., Khademhosseini A., Peppas N.A., (2009), "Hydrogels in regenerative medicine.", *Advanced Materials*, 21, 3307–3329.

Šolomek, T., Mercier, S., Bally, T., Bochet, C. G., (2012), "Photolysis of ortho-nitrobenzylic derivatives: the importance of the leaving group.", *Photochemical and Photobiological Sciences*, 11(3), 548-555.

Stenzel, M. H., (2013), "Bioconjugation using thiols: old chemistry rediscovered to connect polymers with nature's building blocks.", ACS Macro Letters, 2 (1), 14-18, DOI: 10.1021/mz3005814.

Sung, D., S. Park, and S. Jon, "Facile immobilization of biomolecules onto various surfaces using epoxide-containing antibiofouling polymers.", Langmuir, Vol. 28, pp. 4507–4514, 2012.

Tarakci, E. C., and Gevrek, T. N., (2022), "Isocyanate Group Containing Reactive Hydrogels: Facile Synthesis And Efficient Biofunctionalization.", European Polymer Journal, 175, 111338.

Wancura, M. M., Anex-Ries, Q., Carroll, A. L., Paola Garcia, A., Hindocha, P., Buck, M. E., (2017), "Fabrication, chemical modification, and topographical patterning of reactive gels assembled from azlactone-functionalized polymers and a diamine", Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 55(19), 3185–3194.

Wang, P., (2013)., "Photolabile protecting groups: structure and reactivity.", Asian Journal of Organic Chemistry, 2(6), 452-464.

Wichterle, O. and Lim, D., (1960), "Hydrophilic gels for biological use.", Nature, 185(4706), 117-118.

Yang, X., Lu, Z., Wu, H., Li, W., Zheng, L., Zhao, J., (2018), "Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering.", Materials Science and Engineering: C, 83, 195-201.

Xue, L., Pan, Y., Zhang, S., Chen, Y., Yu, H., Yang, Y., Yang, H., (2021), "Fluorescent azobenzene-containing compounds: from structure to mechanism." Crystals, 11(7), 840.

Zalesskiy S. S., Shlapakov N. S., Ananikov V. P., (2016), "Visible light mediated metal-free thiol-yne click reaction", Chemical Science, 7(11), 6740-6745.

Zhang, K., Xue, K., Loh, X.J., (2021), "Thermo-responsive hydrogels: from recent progress to biomedical applications.", Gels, 7, 77.

Zhao, H., Sterner, E. S., Coughlin, E. B., Theato, P., (2012), "o-Nitrobenzyl alcohol derivatives: Opportunities in polymer and materials science.", Macromolecules, 45(4), 1723-1736.

Zhu, J., (2010), "Bioactive modification of poly (ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering.", Biomaterials, 31(17), 4639-4656.

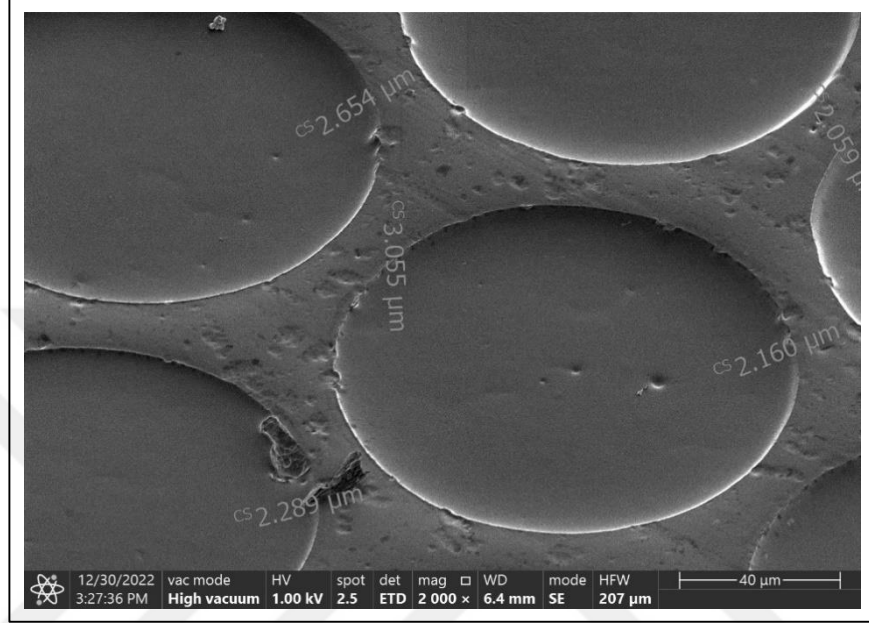
ÖZGEÇMİŞ

Aleyna TURANLI, 2016 yılında başladığı Trakya Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümünü başarı ile tamamlayarak mezuniyetini takip eden 2020 yılında, Gebze Teknik Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe N. GEVREK CİVAN danışmanlığında, TÜBİTAK projesi (120Z187) kapsamında tez çalışmalarını yürütmüştür. 2022 yılında İzel Kimya San. Tic. A.Ş. Ar-Ge departmanında Araştırmacı olarak çalışmaya başlamış ve halen burada çalışmaya devam etmektedir.



EKLER

Ek A: UV Işığı Uygulanan Yüzeylerin Profilometre ve SEM Görüntüleri



Şekil A.1: 60 dk UV uygulanmış yüzeyin 2000 kat yaklaştırlmış SEM görüntüsü.

Ek B: Literatür Yayınlarından Alınan Şekil/Tablo/Şema'lara ait Telif Hakları

[Home](#) [Help](#) [Live Chat](#) [Aleyna TURANLI](#)

Design and Applications of Photoresponsive Hydrogels
Author: Pavel A. Levkin, Johannes M. Scheiger, Lei Li
Publication: Advanced Materials
Publisher: John Wiley and Sons
Date: Mar 8, 2019
© 2019 The Authors. Published by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number 5482351165481 [Printable Details](#)

License date Feb 05, 2023

Licensed Content	Order Details
Licensed Content Publisher John Wiley and Sons	Type of use Dissertation/Thesis
Licensed Content Publication Advanced Materials	Requestor type University/Academic
Licensed Content Title Design and Applications of Photoresponsive Hydrogels	Format Print
Licensed Content Author Pavel A. Levkin, Johannes M. Scheiger, Lei Li	Portion Figure/table
Licensed Content Date Mar 8, 2019	Number of figures/tables 3
Licensed Content Volume 31	Will you be translating? No
Licensed Content Issue 26	
Licensed Content Pages 17	

About Your Work	Additional Data
Title İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI	Şekil2.2: Işık uygulaması sonucunda gerçekleşebilecek hidrojel davranışları Şekil2.3: Fotokimyasal katalizli katılma reaksiyonları Şekil2.5: Azobenzen molekülünün ışık etkisi ile gerçekleşen izomerizasyon mekanizması
Institution name Gebze Teknik Üniversitesi	Portions
Expected presentation date May 2023	

Requestor Location	Tax Details
Requestor Location Miss. Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye	Publisher Tax ID EU826007151
Kocaeli, 90 Turkey Attn: Miss. Aleyna TURANLI	

Price
Total 0.00 USD

Would you like to purchase the full text of this article? If so, please continue on to the content ordering system located here: [Purchase PDF](#)
If you click on the buttons below or close this window, you will not be able to return to the content ordering system.

Total: 0.00 USD

[CLOSE WINDOW](#) [ORDER MORE](#)

Şekil B.1: 'Design And Applications Of Photoresponsive Hydrogels' adlı makaleye ait telif hakkı.



 Home
  Help
  Live Chat
  Aleyna TURANLI



Thiol-ene and photo-cleavage chemistry for controlled presentation of biomolecules in hydrogels

Author: Joseph C. Grim, Ian A. Marozas, Kristi S. Anseth

Publication: Journal of Controlled Release

Publisher: Elsevier

Date: 10 December 2015

Copyright © 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number: 5482360778522 [Printable Details](#)

License date: Feb 05, 2023

Licensed Content		Order Details	
Licensed Content Publisher	Elsevier	Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Licensed Content Publication	Journal of Controlled Release	Portion	figures/tables/illustrations
Licensed Content Title	Thiol-ene and photo-cleavage chemistry for controlled presentation of biomolecules in hydrogels	Number of figures/tables/illustrations	1
Licensed Content Author	Joseph C. Grim, Ian A. Marozas, Kristi S. Anseth	Format	print
Licensed Content Date	Dec 10, 2015	Are you the author of this Elsevier article?	No
Licensed Content Volume	219	Will you be translating?	No
Licensed Content Issue	n/a		
Licensed Content Pages	12		

About Your Work		Additional Data	
Title	İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI	Portions	Şekil 2. 4: Işık uygulaması ile bağlatılan tiyol-bazlı reaksiyon mekanizması
Institution name	Gebze Teknik Üniversitesi		

Requestor Location		Tax Details	
Requestor Location	Miss. Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye	Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
	Kocaeli, 90 Turkey Attn: Miss. Aleyna TURANLI		

\$ Price

Total: 0.00 USD

Total: 0.00 USD

[CLOSE WINDOW](#)

[ORDER MORE](#)

Şekil B.2: 'Thiol-Ene And Photo-Cleavage Chemistry For Controlled Presentation Of Biomolecules in Hydrogels' adlı makaleye ait telif hakkı.

30.01.2023 10:18 Rightslink® by Copyright Clearance Center

CCC
RightsLink

Home Help Live Chat Sign in Create Account

o-Nitrobenzyl Alcohol Derivatives: Opportunities in Polymer and Materials Science

ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.

Author: Hui Zhao, Elizabeth S. Sterner, E. Bryan Coughlin, et al
Publication: Macromolecules
Publisher: American Chemical Society
Date: Feb 1, 2012
Copyright © 2012, American Chemical Society

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms and Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from (COMPLETE REFERENCE CITATION). Copyright (YEAR) American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your RightsLink request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any uses, please submit a new request.

If credit is given to another source for the material you requested from RightsLink, permission must be obtained from that source.

BACK CLOSE WINDOW

© 2023 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Data Security and Privacy
| For California Residents | Terms and Conditions Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com

Şekil B.3: ‘o-Nitrobenzyl Alcohol Derivatives: Opportunities in Polymer and Materials Science’ adlı makaleye ait telif hakkı.

5.02.2023 09:27

RightsLink Printable License

THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Feb 05, 2023

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and The American Association for the Advancement of Science ("The American Association for the Advancement of Science") consists of your license details and the terms and conditions provided by The American Association for the Advancement of Science and Copyright Clearance Center.

License Number	5482320052453	Requestor type	Scientist/individual at a research institution
License date	Feb 05, 2023	Format	Print
Licensed Content Publisher	The American Association for the Advancement of Science	Portion	Text Excerpt
Licensed Content Publication	Science	Number of pages requested	1
Licensed Content Title	Photodegradable Hydrogels for Dynamic Tuning of Physical and Chemical Properties	Title	IŞIĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI
Licensed Content Author	April M. Kloxin, Andrea M. Kasko, Chelsea N. Salinas, Kristi S. Anseth	Institution name	Gebze Teknik Üniversitesi
Licensed Content Date	Apr 3, 2009	Expected presentation date	Feb 2023
Licensed Content Volume	324	Portions	Şekil 2. 8: O-nitrobenzil grubu içeren ve ışık ile parçalanabilir hidrojel (Kloxin, 2009)
Licensed Content Issue	5923	Requestor Location	Miss. Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye
Volume number	324	Total	Kocaeli, 90 Turkey Attn: Miss. Aleyna TURANLI
Issue number	5923	Terms and Conditions	0.00 USD
Type of Use	Thesis / Dissertation		American Association for the Advancement of Science TERMS AND CONDITIONS

Şekil B.4: 'Photodegradable Hydrogels For Dynamic Tuning Of Physical And Chemical Properties' adlı makaleye ait telif hakkı.

5.02.2023 09:44 <https://marketplace.copyright.com/cs-ui-web/html/checkout/confirmation-details/0405db4-5d73-4b86-8d7a-71202936634e>

CCC Marketplace

Order Confirmation

Thank you, your order has been placed. An email confirmation has been sent to you. Your order license details and printable licenses will be available within 24 hours. Please access Manage Account for final order details.

This is not an invoice. Please go to manage account to access your order history and invoices.

CUSTOMER INFORMATION

Payment by invoice: You can cancel your order until the invoice is generated by contacting customer service.

Billing Address	Customer Location
Miss Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye Kocaeli, 90 Turkey +90 (539)8470427 aleynaturanli@outlook.com	Miss Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye Kocaeli, 90 Turkey
PO Number (optional)	Payment options
N/A	Invoice

PENDING ORDER CONFIRMATION

Confirmation Number: Pending
Order Date: 05-Feb-2023

1. Chemical communications	0,00 EUR
-----------------------------------	-----------------

Article: 3D small-molecule microarrays.

Order License ID	Pending	Publisher	ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY
ISSN	1364-548X	Portion	Image/photo/illustration
Type of Use	Republish in a thesis/dissertation		

LICENSED CONTENT

Publication Title	Chemical communications	Rightsholder	Royal Society of Chemistry
Article Title	3D small-molecule microarrays.	Publication Type	e-journal
		Start Page	7107

Author/Editor	Royal Society of Chemistry (Great Britain)	End Page	7109
Date	01/01/1996	Issue	46
Language	English	Volume	0
Country	United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland		

REQUEST DETAILS

Portion Type	Image/photo/illustration	Distribution	Worldwide
Number of Images / Photos / Illustrations	1	Translation	Original language plus all other translations
Format (select all that apply)	Print	Copies for the Disabled?	No
Who Will Republish the Content?	Not-for-profit entity	Minor Editing Privileges?	No
Duration of Use	Life of current edition	Incidental Promotional Use?	No
Lifetime Unit Quantity	Up to 499	Currency	EUR
Rights Requested	Main product		

NEW WORK DETAILS

Title	İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI	Institution Name	Gebze Teknik Üniversitesi
Instructor Name	Aleyna Turanlı, Tuğçe N. Gevrek Civan	Expected Presentation Date	2023-05-28

ADDITIONAL DETAILS

Order Reference Number	N/A	The Requesting Person/Organization to Appear on the License	Gebze Teknik Üniversitesi
-------------------------------	-----	--	---------------------------

REUSE CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)	fig.2A	Title of the Article/Chapter the Portion is From	3D small-molecule microarrays.
Editor of Portion(s)	Marsden, David M.; Nicholson, Rebecca L.; Ladlow, Mark; Spring, David R.	Author of Portion(s)	Marsden, David M.; Nicholson, Rebecca L.; Ladlow, Mark; Spring, David R.
Volume of Serial or Monograph	0	Issue, if Republishing an Article From a Serial	46
Page or Page Range of Portion	7107-7109	Publication Date of Portion	2009-12-14

Total Items: 1 **Total Due: 0,00 EUR**

Şekil B.5: ‘3D Small-Molecule Microarrays’ adlı makaleye ait telif hakkı.



RightsLink



Home



Help ▾



Live Chat



Aleya TURANLI ▾

ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.**Hooked on Cryogels: A Carbamate Linker Based Depot for Slow Drug Release**

Author: Duygu Aydin, Mehmet Arslan, Amitav Sanyal, et al

Publication: Bioconjugate Chemistry

Publisher: American Chemical Society

Date: May 1, 2017

Copyright © 2017, American Chemical Society

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms and Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from {COMPLETE REFERENCE CITATION}. Copyright (YEAR) American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your RightsLink request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any uses, please submit a new request.

If credit is given to another source for the material you requested from RightsLink, permission must be obtained from that source.

BACK

CLOSE WINDOW

Şekil B.6: 'Hooked On Cryogels: A Carbamate Linker Based Depot For Slow Drug Release' adlı makaleye ait telif hakkı.

5.02.2023 09:55

https://marketplace.copyright.com/rs-ai-web/imp/checkout/confirmation-details/a687eab-2694-48f7-4be5-d7c9bfbcd6

CCC

Marketplace

Order Confirmation

Thank you, your order has been placed. An email confirmation has been sent to you. Your order license details and printable licenses will be available within 24 hours. Please access Manage Account for final order details.

This is not an invoice. Please go to manage account to access your order history and invoices.

CUSTOMER INFORMATION

Payment by invoice: You can cancel your order until the invoice is generated by contacting customer service.

Billing Address

Miss Aleyana TURANLI

Kocaeli / Türkiye

Kocaeli, 90

Türkiye

+90 (539)8470427

aleynaturanli@outlook.com

Customer Location

Miss Aleyana TURANLI

Kocaeli / Türkiye

Kocaeli, 90

Türkiye

PO Number (optional)

N/A

Payment options

Invoice

PENDING ORDER CONFIRMATION

Confirmation Number: Pending

Order Date: 05-Feb-2023

1. Chemical communications

0.00 USD

Article: Designing functionalizable hydrogels through thiol-epoxy coupling chemistry.

Order License ID

Pending

Publisher

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

ISSN

1364-548X

Portion

Image/photo/illustration

Type of Use

Republish in a thesis/dissertation

LICENSED CONTENT

Publication Title

Chemical communications

Rightsholder

Royal Society of Chemistry

Publication Type

eJournal

Start Page

11191

Article Title

Designing functionalizable hydrogels through thiol-epoxy coupling chemistry.

End Page

11193

Author/Editor

Royal Society of Chemistry (Great Britain)

Issue

95

Date

01/01/1996

Volume

49

Language

English

Country

United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

REQUEST DETAILS

Portion Type

Image/photo/illustration

Distribution

Worldwide

Number of Images / Photos / Illustrations

1

Translation

Original language of publication

Format (select all that apply)

Print

Copies for the Disabled?

No

Who Will Republish the Content?

Not-for-profit entity

Minor Editing Privileges?

No

Duration of Use

Life of current edition

Incidental Promotional Use?

No

Lifetime Unit Quantity

Up to 499

Currency

USD

Rights Requested

Main product

NEW WORK DETAILS

Title

İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKÜVÜLARİN OLUŞTURULMASI

Institution Name

Gezce Teknik Üniversitesi

Instructor Name

Aleyana Turanlı, Tuğçe N. Gevrek Çıvan

Expected Presentation Date

2023-05-28

ADDITIONAL DETAILS

Order Reference Number

N/A

The Requesting Person/Organization to Appear on the License

Gezce Teknik Üniversitesi

REUSE CONTENT DETAILS

Title, Description or Numeric Reference of the Portion(s)

Scheme 1 Schematic illustration of hydrogel synthesis and functionalization.

Title of the Article/Chapter the Portion is From

Designing functionalizable hydrogels through thiol-epoxy coupling chemistry.

Editor of Portion(s)

Cengiz, Nergiz; Rao, Jingyi; Sanyal, Amitav; Khan, Anzar

Author of Portion(s)

Cengiz, Nergiz; Rao, Jingyi; Sanyal, Amitav; Khan, Anzar

Volume of Serial or Monograph

49

Issue, if Republishing an Article From a Serial

95

Page or Page Range of Portion

11191-11193

Publication Date of Portion

2013-12-11

Total Items: 1

Total Due: 0.00 USD

Accepted Marketplace Order General Terms and Conditions and any applicable Publisher Terms and Conditions

Şekil B.7: ‘Designing Functionalizable Hydrogel Through Thiol-Epoxy Coupling Chemistry’ adlı makaleye ait telif hakkı.

76

[Home](#)
[Help](#)
[Email Support](#)
[Aleyna TURANLI](#)

Isocyanate group containing reactive hydrogels: Facile synthesis and efficient biofunctionalization
 Author: Emine Cansu Tarakci, Tugce Nihal Gevrek
 Publication: European Polymer Journal
 Publisher: Elsevier
 Date: 15 July 2022
© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number: 548233115717 [Printable Details](#)

License date: Feb 05, 2023

Licensed Content		Order Details	
Licensed Content Publisher	Elsevier	Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Licensed Content Publication	European Polymer Journal	Portion	figures/tables/illustrations
Licensed Content Title	Isocyanate group containing reactive hydrogels: Facile synthesis and efficient biofunctionalization	Number of figures/tables/illustrations	2
Licensed Content Author	Emine Cansu Tarakci, Tugce Nihal Gevrek	Format	print
Licensed Content Date	Jul 15, 2022	Are you the author of this Elsevier article?	No
Licensed Content Volume	175	Will you be translating?	No
Licensed Content Issue	n/a		
Licensed Content Pages	1		

About Your Work		Additional Data	
Title	İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI	Portions	Şekil 2. 12: İzosiyanat içeren fonksiyonel hidrojel sentezi ve hidrojin amin/tiyol grupları ile işlevselleştirilmesi
Institution name	Gebze Teknik Üniversitesi		
Expected presentation date	May 2023		

Requestor Location		Tax Details	
Requestor Location	Miss. Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye	Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
	Kocaeli, 90 Turkey Attn: Miss. Aleyna TURANLI		

\$ Price

Total: 0.00 USD

Total: 0.00 USD

[CLOSE WINDOW](#)
[ORDER MORE](#)

© 2023 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Data Security and Privacy
 | For California Residents | Terms and Conditions Comments? We would like to hear from you. E-mail us at
customer@copyright.com

Şekil B.8: ‘Isocyanate Group Containing Reactive Hydrogels: Facile Synthesis And Efficient Biofunctionalization’ adlı makaleye ait telif hakkı.



 Home
  Help
  Email Support
  Aleyna TURANLI



In situ cell manipulation through enzymatic hydrogel photopatterning

Author: Katarzyna A. Mosiewicz et al

Publication: Nature Materials

Publisher: Springer Nature

Date: Oct 13, 2013

Copyright © 2013, Nature Publishing Group

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number

5482340040635

License date

Feb 05, 2023

[Printable Details](#)

Licensed Content

Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Materials
Licensed Content Title	In situ cell manipulation through enzymatic hydrogel photopatterning
Licensed Content Author	Katarzyna A. Mosiewicz et al
Licensed Content Date	Oct 13, 2013

Order Details

Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	non-commercial (non-profit)
Format	print
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
High-res required	no
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	1 - 29
Author of this Springer Nature content	no

About Your Work

Title	IŞIĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI
Institution name	Gebze Teknik Üniversitesi
Expected presentation date	May 2023

Additional Data

Portions	Şekil 2. 13: Hidrojelin ışık kontrollü enzimatik biyomolekül modellemesi
----------	--

Requestor Location

Miss. Aleyna TURANLI
Kocaeli / Türkiye

Requestor Location

Kocaeli, 90
Turkey
Attn: Miss. Aleyna TURANLI

Tax Details

Total: 0.00 USD

CLOSE WINDOW ORDER MORE

Şekil B.9: 'In Situ Cell Manipulation Through Enzymatic Hydrogel Photopatterning' adlı makaleye ait telif hakkı.

78



[Home](#)
[Help](#)
[Email Support](#)
[Aleyna TURANLI](#)



Photogenerated Aldehydes for Protein Patterns on Hydrogels and Guidance of Cell Behavior

Author: Linyong Zhu, Qiuning Lin, Yuan Xue, et al
Publication: Advanced Functional Materials
Publisher: John Wiley and Sons
Date: Feb 2, 2018

© 2018 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Order Completed

Thank you for your order.

This Agreement between Miss. Aleyna TURANLI ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

Your confirmation email will contain your order number for future reference.

License Number: 5482340396710 [Printable Details](#)

License date: Feb 05, 2023

Licensed Content	Order Details
Licensed Content Publisher: John Wiley and Sons	Type of use: Dissertation/Thesis
Licensed Content Publication: Advanced Functional Materials	Requestor type: University/Academic
Licensed Content Title: Photogenerated Aldehydes for Protein Patterns on Hydrogels and Guidance of Cell Behavior	Format: Print
Licensed Content Author: Linyong Zhu, Qiuning Lin, Yuan Xue, et al	Portion: Figure/table
Licensed Content Date: Feb 2, 2018	Number of figures/tables: 1
Licensed Content Volume: 28	Will you be translating?: No
Licensed Content Issue: 14	
Licensed Content Pages: 9	

About Your Work	Additional Data
Title: İŞİĞA DUYARLI HİDROJELLERİN SENTEZİ VE YÜZEYLERİNDE REAKTİF MİKROKUYULARIN OLUŞTURULMASI	Portions: Şekil 2. 14: Ortonitrobenzil içeren zwitteriyonik monomer ile hazırlanan hidrojenlerin desenli protein bağlaması ve bu bölgelerde hücre büyütülmesi
Institution name: Gebze Teknik Üniversitesi	
Expected presentation date: May 2023	

Requestor Location	Tax Details
Requestor Location: Miss. Aleyna TURANLI Kocaeli / Türkiye	Publisher Tax ID: EU826007151
Requestor Location: Kocaeli, 90 Turkey Attn: Miss. Aleyna TURANLI	

Price
Total: 0.00 USD

Şekil B.10: ‘Photogenerated Aldehydes for Protein Patterns on Hydrogels and Guidance of Cell Behavior’ adlı makaleye ait telif hakkı.



Home



Help ▾



Email Support



Aleyna TURANLI ▾



Precise Construction of Cell-Instructive 3D Microenvironments by Photopatterning a Biodegradable Hydrogel

Author: Zhengwei Cai, Kaiping Huang, Chunyan Bao, et al

Publication: Chemistry of Materials

Publisher: American Chemical Society

Date: Jul 1, 2019

Copyright © 2019, American Chemical Society

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms and Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from {COMPLETE REFERENCE CITATION}. Copyright {YEAR} American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your RightsLink request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any uses, please submit a new request.

If credit is given to another source for the material you requested from RightsLink, permission must be obtained from that source.

[BACK](#)
[CLOSE WINDOW](#)

Şekil B.11: 'Precise Construction of Cell-Instructive 3D Microenvironments by Photopatterning a Biodegradable Hydrogel' adlı makaleye ait telif hakkı.

Review

Fluorescent Azobenzene-Containing Compounds: From Structure to Mechanism

Lulu Xue ^{1,†}, Ying Pan ^{1,†}, Shaohai Zhang ¹, Yinjie Chen ^{1,*}, Haifeng Yu ^{2,*}, Yonggang Yang ¹, Lixin Mo ¹, Zhicheng Sun ¹, Luhai Li ¹ and Huai Yang ²

¹ Beijing Engineering Research Center of Printed Electronics, Beijing Institute of Graphic Communication, Beijing 102600, China; 1379633143@qq.com (L.X.); 478129714@qq.com (Y.P.); 2602878592@qq.com (S.Z.); yangyonggang@bigc.edu.cn (Y.Y.); molixin@bigc.edu.cn (L.M.); sunzhicheng@bigc.edu.cn (Z.S.); liluhai@bigc.edu.cn (L.L.)

² College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China; yanghuai@pku.edu.cn

* Correspondence: chenyingjie@bigc.edu.cn (Y.C.); yuhaifeng@pku.edu.cn (H.Y.)

† Joint first authors, these authors contributed equally.

© 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

This is a human-readable summary of (and not a substitute for) the [license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). [Disclaimer.](#)

You are free to:

Share — copy and redistribute the material in any medium or format

Adapt — remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

The licensor cannot revoke these freedoms as long as you follow the license terms.



Şekil B.12: ‘Fluorescent Azobenzene-Containing Compounds: From Structure to Mechanism’ adlı makaleye ait telif hakkı.

Spiropyran-Based Drug Delivery Systems

[Andrew Fagan](#), [Michał Bartkowski](#), and [Silvia Giordani](#)*

▼ Author information ▼ Article notes ▼ Copyright and License information [Disclaimer](#)

School of Chemical Sciences, Dublin City University (DCU), Dublin, Ireland

Edited by: [Jennifer Hiscock](#), University of Kent, United Kingdom

Reviewed by: [Robert Elmes](#), Maynooth University, Ireland

[Ali Reza Mahdavian](#), Iran Polymer and Petrochemical Institute, Iran

*Correspondence: Silvia Giordani, silvia.giordani@dcu.ie

This article was submitted to Supramolecular Chemistry, a section of the journal Frontiers in Chemistry

Received 2021 Jun 3; Accepted 2021 Jul 19.

[Copyright](#) © 2021 Fagan, Bartkowski and Giordani.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

This is a human-readable summary of (and not a substitute for) the [license](#). [Disclaimer](#).

You are free to:

Share — copy and redistribute the material in any medium or format

Adapt — remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

The licensor cannot revoke these freedoms as long as you follow the license terms.



Şekil B.13: ‘Spiropyran-Based Drug Delivery Systems’ adlı makaleye ait telif hakkı.