



**YÜZEYDE IŞIKLA BAŞLATILAN PET-ATRP VE ARAYÜZ ARACILI
RAFT POLİMERLEŞME KOMBİNASYONU İLE SICAKLIK VE IŞIK
DUYARLI KARIŞIK POLİMER FIRÇALARIN SENTEZİ: HÜCRE
TABAKASI HAZIRLAMA VE AYIRMA DURUMU**

Mehtap EVCİ

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2019

Mehtap EVCİ tarafından hazırlanan “YÜZEYDE IŞIKLA BAŞLATILAN PET-ATRP VE ARAYÜZ ARACILI RAFT POLİMERLEŞME KOMBİNASYONU İLE SICAKLIK VE IŞIK DUYARLI KARIŞIK POLİMER FIRÇALARIN SENTEZİ: HÜCRE TABAKASI HAZIRLAMA VE AYIRMA DURUMU” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Bekir SARI

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Murat ŞEN

Polimer Kimyası Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Gökhan DEMİREL

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. İrem EREL GÖKTEPE

Kimya Ana Bilim Dalı, Orta Doğu Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 26/04/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mehtap EVCİ

26/04/2019

YÜZEYDE IŞIKLA BAŞLATILAN PET-ATRP VE ARAYÜZ ARACILI RAFT
POLİMERLEŞME KOMBİNASYONU İLE SICAKLIK VE IŞIK DUYARLI KARIŞIK
POLİMER FIRÇALARIN SENTEZİ: HÜCRE TABAKASI HAZIRLAMA
VE AYIRMA DURUMU

(Doktora Tezi)

Mehtap EVCI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2019

ÖZET

Bu çalışmada, poli(2-(2-metoksietoksi) etil metakrilat) [poli(MEO₂MA)] ve poli(N-[4-[(4-nitrofenil) azo] fenil akrilamit)'ten [poli(NPAPAA)] oluşan bir dizi sıcaklık ve ışık duyarlı karışık polimer fırçalar, yüzeyde ışıkla başlatılan elektron transferli atom transfer radikal polimerleşmesi (PET-ATRP) ve arayüz aracılı tersinir katılma-ayırılma zincir transfer (RAFT) polimerleşmesi kombinasyonu ile silisyum yüzeyine aşıldı. Karışık polimer fırçalar beş ardışık basamakta sentezlendi: (i) daha önce sentezlenmiş (3-aminopropil) trietoksisilan-2-bromoizobütiril bromür (APTES-BIBB) ve (3-aminopropil) trietoksisilan-*t*-bütoksikarbonil (APTES-*t*-BOC) karışımlarının Si-OH yüzeyine kendiliğinden oluşan tek tabakalı koşullarda bağlanması, (ii) poli(MEO₂MA) birimlerinin yüzeyde ışıkla başlatılan PET-ATRP yöntemiyle sentezi, (iii) poli(MEO₂MA) birimlerinin zincir uçlarındaki -Br atomları ile biyoyumlu maleimit molekülünün yer değiştirmesi, (iv) APTES-*t*-BOC moleküllerinden *t*-BOC gruplarının uzaklaştırılması RAFT ajanının APTES moleküllerine bağlanması ve (v) poli(NPAPAA) birimlerinin arayüz aracılı RAFT polimerleşmesi ile sentezidir. Karışık tek tabakaların yüzey bileşimi, çözelti karışımındaki APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC moleküllerinin mol kesirlerinin sistematik olarak değiştirilmesiyle ayarlandı. Bu moleküllerin yüzey mol kesirleri Israelachvili-Gee modeliyle analiz edilen su temas açısı verileri ve ayrıca X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ölçümleri ile belirlendi. Polimerleşme çözeltilerinde oluşan serbest poli(MEO₂MA) ve poli(NPAPAA) homopolimerlerinin mol kütleleri ¹H-nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisiyle belirlendi. Karışık polimer fırçaların yüzey morfolojileri atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile incelendi. Karışık polimer fırçaların aşılama yoğunluğu (σ , zincir nm⁻²) ve zincirler arası uzaklık (D , nm) değerleri yüzey derişimine bağlı olarak sırasıyla 0,49-0,60 zincir nm⁻² ve 1,60-1,46 nm aralığında bulundu. Bu durumun yüzeydeki polimer zincirlerinin bağlanma yoğunluğunun yüksek olduğunu işaret etmektedir. Polimer fırçaların yüzey bileşimine bağlı olarak, alt kritik çözünme sıcaklıkları (LCST), *trans-cis* ve *cis-trans* geçiş süreleri sırasıyla 24,6-29,2 °C, 9-13 dk ve 6-18 dk aralıklarında bulundu. Ayrıca, yüzey bileşimi $X_{BIBB}(Yüz)=0,82$ olan karışık polimer fırça, MC3T3-E1 fare ön osteoblast hücre tabakalarının oluşum ve ayrılma durumunda kullanım için optimum sıcaklık ve ışığa duyarlı özelliklere sahip substrat olarak seçildi. Substrat yüzeyinde oluşan hücreler sıcaklık düşürmeyle %99,05±0,45 ve ışınlamayla 99,5±0,45% oranında geri kazanıldı. Bu deneysel bulgular, hücre tabakası hazırlama ve ayırma durumu için sıcaklığa ve ışığa duyarlı biyoreaktif yüzeylerin hazırlanmasında moleküler seviyede temel bilgiler sağlamıştır.

Bilim Kodu : 20115
Anahtar Kelimeler : Hücre tutma/bırakma, çift duyarlı polimer fırça, PET ATRP, RAFT
Sayfa Adedi : 108
Danışman : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

SYNTHESIS OF THERMO- AND PHOTORESPONSIVE MIXED POLYMER BRUSHES VIA
COMBINATION OF SURFACE INITIATED PET-ATRP AND INTERFACE MEDIATED
RAFT POLYMERIZATION: CELL SHEET PREPARATION AND DETACHMENT STATE

(Ph. D. Thesis)

Mehtap EVCI

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2019

ABSTRACT

In this study, a series of temperature and light sensitive mixed polymer brushes consisting of poly(2-(2-methoxyethoxy) ethyl methacrylate) [poly(MEO₂MA)] and poly(*N*-[4-[(4-nitrophenyl) azo] phenyl] acrylamide) [poly(NPAPAA)] were grafted from silicon wafer via combination of surface-initiated photoinduced electron transfer-atom transfer radical polymerization (PET-ATRP) and interface-mediated reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization. The mixed polymer brushes were synthesized in five consecutive steps: (i) coupling of previously synthesized (3-aminopropyl) triethoxysilane-2-bromoisobutyryl bromide (APTES-BIBB) and (3-aminopropyl) triethoxysilane-*t*-butoxycarbonyl (APTES-*t*-BOC) mixtures to the Si-OH surface under self-assembly monolayer conditions (ii) synthesis of poly(MEO₂MA) units via surface-initiated PET-ATRP (iii) substitution of poly(MEO₂MA) with the terminal -Br atoms with the biocompatible maleimide molecule (iv) removal of the *t*-BOC group from APTES-*t*-BOC and bonding of the RAFT agent to APTES (v) synthesis of poly(NPAPAA) units via interface-mediated RAFT polymerization. The surface compositions of the mixed monolayers were adjusted by systematically varying the mole fraction of APTES-BIBB and APTES-*t*-BOC molecules in the binary deposition solutions. Their surface mole fractions were determined by the water contact angle data analyzed with the Israelachvili-Gee model and also by the X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) measurements. The molecular weights of free poly(MEO₂MA) and poly(NPAPAA) formed in the polymerization solutions were measured using ¹H-nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The surface morphologies of the mixed polymer brushes were investigated by atomic force microscope (AFM). The grafting density (σ , chains nm⁻²) and the average distance between grafting points (D , nm) of the mixed polymer brushes were in the range of 0.49-0.60 chains nm⁻² and 1.60-1.46 nm, respectively, depending on the surface compositions, indicating high grafting densities. The polymer brushes, the lower critical solution temperatures (LCSTs), *trans-cis* transition and *cis-trans* transition times were in the range of 24.6-29.2 °C, 9-13 min and 6-18 min, respectively, depending on the surface composition. Further, the mixed polymer brush with surface composition being $X_{BIBB}(\text{Surf.}) = 0.82$ was selected as the substrate having optimum temperature and light sensitive properties for using on the MC3T3-E1 mouse pre-osteoblast cell sheets formation and detachment state. After sterilization of the substrate surface, MC3T3-E1 mouse pre-osteoblast cell sheets was cultured and cell sheet formation and detachment were examined using both temperature reduction and irradiation methods. The cells on the substrate were recovered as 99.05±0.45% and 83.95 ± 0.58% by temperature reduction and irradiation methods, respectively. These experimental findings provided basic information at the molecular level in the preparation of temperature and light sensitive bioreactive surfaces for cell sheet preparation and detachment state.

Science Code : 20115

Key Words : Cell adhesion/detachment, dual responsive polymer brushes, PET ATRP, RAFT

Page Number : 108

Supervisor : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin şekillenmesindeki destek ve rehberliklerinden dolayı Tez İzleme Komitesi Üyesi saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Bekir SARI ve Prof. Dr. Murat Şen'e sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında ilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen bölümümüz öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Gökhan Demirel, ayrıca Hacettepe Üniversitesi Çevre Mühendisliği öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Halil Murat Aydın ve ekibinde çalışan Dr. Atakan Tevlek'e çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde desteğiyle yanımda olan, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım anneme ve bu zorlu yolculuğa başladığımı gören ancak bu yolculuğu tamamladığımda yanımda olamayan canım babama çok teşekkür ederim.

Bana içtenlikle destek ve yardımcı olan eşim Yavuz EVCİ'ye anlayışı ve sabrı için çok teşekkür ederim. Ayrıca benim için en büyük fedakârlığı yapan oyun zamanlarından çaldığım hayatımını anlamı sevgili oğlum Doruk EVCİ'ye çok teşekkürler.

Çalışmamın tamamlanmasında gerek cihaz operatörlüğü, gerekse deneysel çalışmalarım sırasında gösterdikleri destek ve ilgiden dolayı tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için 2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri için Doktora Burs Programı kapsamında desteğini esirgemeyen, genç bilim insanlarının yetişmesinde önemli katkıları olan başta Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) olmak üzere bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde emeği geçenlere en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER	5
2.1. Akıllı Polimer Fırçalar	5
2.2. Karışık Polimer Fırçalar	5
2.3. Sıcaklık ve Işık Duyarlı Polimer Fırçalar.....	9
2.4. Azobenzen Fotokimyası.....	14
2.5. Azobenzen İçeren Sıcaklık Duyarlı Polimerler.....	16
2.6. Hücre Tutma/Bırakma Halinin Kontrolü	22
2.7. Kontrollü/Yaşayan Serbest Radikal Polimerleşme Teknikleri	23
2.7.1. Nitroksit aracılı polimerleşme (NMP)	25
2.7.2. Atom transfer radikal polimerleşmesi (ATRP).....	28
2.7.3. Tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerleşmesi (RAFT).....	35
3. DENEYSEL KISIM	43
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
3.2. APTES- BIBB Sentezi	43
3.3. APTES- <i>t</i> -BOC Sentezi.....	44
3.4. APTES-BIBB ve APTES- <i>t</i> -BOC Moleküllerinin Silisyum Substrata Bağlanması.....	44

Sayfa

3.5. Işıklıla Başlatılan Metalsiz ATRP ile Sıcaklık Duyarlı Poli(MEO ₂ MA) Birimlerin Sentezi	44
3.6. Si-poli(MEO ₂ MA) Birimlerine 3-Maleimido Propionik Asitin Bağlanması	45
3.7. Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA substratlarda Arayüz Aracılı RAFT Polimerleşmesi ile Işık Duyarlı poli(<i>N</i> -[4-[(4-nitrofenil)azo]fenil]akrilamit) Biriminin Sentezi ile Karışık Polimer Fırçaların Oluşturulması	45
3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	46
3.8.1. Hücre tabakalarının eldesi.....	46
3.8.2. Hücre tabakası hazırlama ve ayrılması çalışması	47
3.8.3. Substratların <i>İn Vitro</i> sitotoksitesi	48
3.9. Ölçümler.....	49
4. BULGULAR, SONUÇ VE TARTIŞMA.....	51
4.1. APTES-BIBB Sentezi	51
4.2. APTES- <i>t</i> -BOC Sentezi.....	54
4.3. APTES-BIBB ve APTES- <i>t</i> -BOC Moleküllerinin Si-OH Yüzeyine Bağlanması.....	55
4.4. Yüzeyde Işıklıla Başlatılan PET-ATRP ile Sıcaklık Duyarlı poli(MEO ₂ MA) Fırça Sentezi	61
4.5. Si-poli(MEO ₂ MA) Birimlerine Maleimit Koruyucu Grup Takılması.....	68
4.6. Si-APTES- <i>t</i> -BOC'deki <i>t</i> -BOC koruyucu grubun kaldırılarak RAFT ajanının bağlaması ve ışık duyarlı poli(NPAPAA)'nın arayüz aracılı RAFT polimerizasyonu ile sentezi.....	68
4.7. Karışık Polimer Fırçaların Sıcaklık ve Işık Duyarlılığı	81
4.8. Hücre Tabakası Hazırlama ve Ayırma Durumu	84
4.8.1. Karışık polimer fırçaların sitotoksitesi	84
4.8.2. Hücre tabakası ayrılmada kullanılan yöntemlerin etkinliği	85
4.8.3. Hücre tabakası tutunma/ayırma durumuyla ilgili mikroskopik bulgular	87
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	93

ÖZGEÇMİŞ	106
----------------	-----



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Si-(APTES-BIBB/-APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylere ait bağlanma enerjileri ve atomik derişimler.....	58
Çizelge 4.2. Si-Poli(MEO ₂ MA) yüzeylere ait bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri.....	65
Çizelge 4.3. Si-poli(MEO ₂ MA)-MA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri	72
Çizelge 4.4. Farklı $\chi t - BOC$ (çöz.)’de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri.....	77
Çizelge 4.5. Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların aşılama parametrelerinin $\chi t - BOC$ (çöz.) ile değişimi.....	79
Çizelge 4.6. Hücre tabakası ayrılmasında kullanılan yöntemlerin hücre geri kazanımı başarıları	87

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Düzlemsel altın yüzey üzerinde V-şekilli PS- <i>b</i> -PEO fırçaların sentezi.....	6
Şekil 2.2. poli(DMAEMA)/poli(PBA) fırçaların sentezi için ardışık serbest radikal teknikleri ve çevresel pH değişimine bağlı olarak bakteri tutunması/ayrılmasının kontrolü.....	7
Şekil 2.3. AGET-ATRP tekniği ile karışık polimer fırça sentezinin şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.4. Altın tabaka üzerine karışık PEO/PAA fırça oluşumunun şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.5. Ardışık SI-ATRP ve SI-IMP yöntemlerinin kombinasyonu ile altın yüzeyinde karışık polimer fırça sentezi.....	9
Şekil 2.6. Akıllı polimerin sıcaklığa karşı verdiği cevap.....	10
Şekil 2.7. En çok kullanılan sıcaklık duyarlı polimerler	10
Şekil 2.8. Basit bir poli(NIPAM- <i>ko</i> -SP) kopolimerinin kolorimetrik termometre davranışı	13
Şekil 2.9. Sulu çözeltide çift-duyarlı “şizofrenik” poli(SPMA)- <i>b</i> -poli(DEGMMA) kopolimerin miselleşme davranışının şematik gösterimi	14
Şekil 2.10. Fonksiyonel gruplarına göre sınıflandırılan azobenzen molekülleri; (a) Azobenzen, (b) Aminoazobenzen ve (c) Yalancı stilben.....	15
Şekil 2.11. Azobenzenin yapısı: <i>trans</i> azobenzen (sol), <i>cis</i> izomer (sağ)	15
Şekil 2.12. Azobenzen molekülünün farklı konformasyonları arasındaki enerji farkı...	16
Şekil 2.13. Sıcaklık ve ışık duyarlı kopolimer varlığında enzim aktivitesi değişiminin şematik gösterimi.....	18
Şekil 2.14. İyi tanımlanmış polimerleri sentezlemek için aktifleştirilmiş ester polimerlerinin bir polimer analog tepkimesinin sentetik tasavvuru (soldaki çizim). Bir örnek olarak, farklı miktarlarda PI-P4 azobenzen kısımları içeren çeşitli sıcaklık ve ışık duyarlı poliakrilamitler, daha önce RAFT polimerizasyonundan elde edilen PPFPA polimerlerinin bir polimer analog tepkimesiyle sentezininin şematik gösterimi.....	19
Şekil 2.15. Hem α -ucunda (P4a, P4b) hem de polimer zincirinin her iki ucunda azobenzen bulunduran sıcaklık duyarlı POEGMA sentezinin şematik gösterimi	20

Şekil	Sayfa
Şekil 2.16. Oda sıcaklığında UV ile etkileşimi sonucunda azobenzen sonlu poli(NIPAM)'ın 1,4-dioksan (% 6 mol) ilavesi ile bulanık bir süspansiyondan berrak bir çözeltiye dönüşümü	21
Şekil 2.17. Poli(AzoMA- <i>r</i> -NIPAm) kopolimerlerinin iyonik sıvıdaki UCST değerlerinin ışık ve AzoMA bileşimi ile değişimi	22
Şekil 2.18. Katı yüzeylerde üç farklı kimyasal aşılama yöntemi ile başlangıç bağlanma basamağı ve zincir büyüme basamağının şematik gösterimi: (a) yüzeye (grafting to) aşılama, (b) yüzeyden (grafting from) aşılama (c) yüzey boyunca (grafting through) aşılama	24
Şekil 2.19. NMP mekanizması	25
Şekil 2.20. Çeşitli nitroksit öncü molekülleri	26
Şekil 2.21. Polistiren türevlerinin sentez mekanizması	27
Şekil 2.22. Unimoleküler başlatıcıların oluşumu	28
Şekil 2.23. ATRP mekanizması.....	28
Şekil 2.24. Muhtemel SARA-ATRP mekanizması	30
Şekil 2.25. Muhtemel SET-LRP mekanizması.....	32
Şekil 2.26. AGET ATRP'nin normal ATRP yöntemi ile karşılaştırma mekanizması ...	34
Şekil 2.27. Metalsiz ortamda katalizör olarak 10-Fenilfenotiazin ile ATRP polimerleşmesi için önerilen mekanizma (P_n = polimer zinciri).....	35
Şekil 2.28. Fotoredoks katalizör 1 ve 2; geleneksel Cu-temelli ATRP katalizör 3 yapıları.....	35
Şekil 2.29. RAFT polimerleşme mekanizması	37
Şekil 2.30. Tiyokarboniltiyo RAFT ajanının yapısal özellikleri ve radikal ilavesi ile ara yapı oluşumu.....	38
Şekil 2.31. RAFT ajanının Z veya R grubu ile yüzeye bağlandığı iki farklı yüzey bağlama yaklaşımı	39
Şekil 2.32. Muhtemel SET-RAFT mekanizması	40
Şekil 2.33. Muhtemel PET RAFT mekanizması	41
Şekil 2.34. SET destekli oluşumun genel mekanizması ve ditioester esaslı RAFT ajanından radikal anyona bozunması.....	42

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Silisyum disk yüzeyinde karışık polimer fırça sentezinin şematik gösterimi	52
Şekil 4.2. APTES-BIBB sentezinin şematik gösterimi	53
Şekil 4.3. APTES-BIBB (a) ve APTES- <i>t</i> -BOC (b) moleküllerinin FTIR spektrumu	53
Şekil 4.4. APTES-BIBB molekülüne ait ¹ H NMR spektrumu	54
Şekil 4.5. APTES- <i>t</i> -BOC sentezinin şematik gösterimi	54
Şekil 4.6. Sentezlenen APTES- <i>t</i> -BOC molekülüne ait ¹ H NMR spektrumu	55
Şekil 4.7. Si-(APTES-BIBB/ -APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylerin GA-FTIR spektrumu.....	56
Şekil 4.8. Si-(APTES-BIBB/-APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylerin O 1s, N 1s, C 1s, Si 2p ve Br 3d bağlanma enerjisi bölgesindeki kısmi tarama XPS spektrumları.....	57
Şekil 4.9. (a) Su temas açısının çözeltideki APTES-BIBB'in mol kesri (χ_{BIBB} (çözelti)) ile değişimi (b), Israelachvili-Gee eşitliğinden su temas açısı kullanılarak hesaplanan yüzeydeki APTES-BIBB'in mol kesrinin (χ_{BIBB} (yüzey)) χ_{BIBB} (çözelti) ile değişimi ve (c) Br/N oranının χ_{BIBB} (çözelti) ile değişimi	59
Şekil 4.10. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-(APTES-BIBB/-APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylere ait 2D AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değerleri resim içinde verildi.)	60
Şekil 4.11. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-(APTES-BIBB/-APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylere ait 3D AFM görüntüleri	61
Şekil 4.12. PET ATRP mekanizması (M; monomer, P_n-P_n/P_n^H ; sonlanmış polimer zincirleri).....	62
Şekil 4.13. Si-(APTES-BIBB/APTES- <i>t</i> -BOC) yüzeylerde oluşan Si-Poli(MEO ₂ MA) fırçaların GA-FTIR spekturumu	62
Şekil 4.14. Si-Poli(MEO ₂ MA) yüzeylerin O 1s, N 1s, C 1s ve Br 3d bağlanma enerjisi bölgesindeki kısmi tarama XPS spektrumları.....	64
Şekil 4.15. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA) yüzeylere ait 2D- AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değerleri resim içlerinde verildi.)	67
Şekil 4.16. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA) yüzeylere ait 3D- AFM görüntüleri	67

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. Si-poli(MEO ₂ MA) (a), Si-poli(MEO ₂ MA)-SH (b) ve Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA'nın (c) GA-FTIR spektrumları.....	68
Şekil 4.18. Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-APTES- <i>t</i> -BOC (a), Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-APTES (b), Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT (c) ve Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-poli(NPAPAA) yüzeylerinin (d) GA-FTIR spektrumları	69
Şekil 4.19. Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin O1s, N1s, C1s ve S2p bağlanma enerjisi bölgelerindeki kısmi tarama XPS spektrumları	71
Şekil 4.20. (a) Si-poli(MEO ₂ MA)-MA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin su temas açısının çözeltideki (χ_t – BOC(Çöz.)) ile değişimi, (b) Israelachvili-Gee eşitliğinden su temas açısı kullanılarak hesaplanan yüzeydeki APTES-DDMAT'in mol kesrinin (χ_{RAFT} (Yüz.) χ_t – BOC(Çöz.) ile değişimi ve (c) S/N oranının χ_t – BOC(Çöz.) ile değişimi	72
Şekil 4.21. Farklı χ_t – BOC(çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)-MA/Si-APTES-DDMAT yüzeylere ait 2D-AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değeri resim içinde verilmiştir.)	74
Şekil 4.22. Farklı χ_t – BOC(çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylere ait 3D-AFM görüntüleri	74
Şekil 4.23. Farklı χ_t – BOC(çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) fırçaların GA-FTIR spektrumları.....	75
Şekil 4.24. Farklı χ_t – BOC(çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların O 1s, N 1s, C 1s ve S 2p bağlanma enerjisi bölgelerindeki kısmi taramalı XPS spektrumları.....	76
Şekil 4.25. Çözeltide oluşan serbest poli(NPAPAA)'nın ¹ H-NMR spektrumu	78
Şekil 4.26. Farklı χ_t – BOC(çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçalara ait 2D-AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri	80
Şekil 4.27. Farklı χ_t – BOC(Çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçalara ait 3D-AFM görüntüleri	81
Şekil 4.28. Farklı χ_{BIBB} (Çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO ₂ MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların sıcaklık ve ışık duyarlılığı	83
Şekil 4.29. Elde edilen yüzeylerin L929 fare fibroblast hücreleri ile gerçekleştirilen doz bağımlı sitotoksikite analizi	85

Şekil	Sayfa
Şekil 4.30. A) sıcaklık düşürme yöntemiyle B) ısınlama yöntemiyle hücre tabakalarının ayrılması	86
Şekil 4.31. Hücre tabakalarının yüzeyden ayrılması ve yeni bir yüzeye transferine ilişkin mikroskopik gözlemler	88
Şekil 4.32. Hücre tabakalarının ayrılma sürecinde elektron mikroskobu bulguları: A-B) sıcaklık düşürme yönteminde 10. dk, C-D) ısınlama yönteminde 8. dk	88



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

σ	Bağlanma yoğunluğu
h	Film kalınlığı
ρ	Yoğunluk
N_A	Avogadro sayısı
D	Zincirler arası uzaklık
$X_{BIBB}(\text{çöz})$	Çözeltideki APTES-BIBB'in mol kesri
$X_{BIBB}(\text{yüz})$	Yüzeydeki APTES-BIBB'nin mol kesri
$X_{t-BOC}(\text{çöz})$	Çözeltideki APTES- <i>t</i> -BOC'nin mol kesri
$X_{t-BOC}(\text{yüz})$	Yüzeydeki APTES- <i>t</i> -BOC'nin mol kesri

Kısaltmalar

Açıklamalar

ACVA	4,4'-azobis (4-siyanovalerik asit)
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AGET ATRP	Elektron Transferi ile Üretilen Aktivatörler ile Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
AIBN	2,2'-azobis (izobütironitril)
AO/PI	Akridin oranj/Propidyum iyodür
APTES-BIBB	(3-aminopropil) trietoksisilan-2-bromoizobütiril bromür
APTES-<i>t</i>-BOC	(3-aminopropil) trietoksisilan- <i>t</i> -bütoksikarbonil
ATRP	Atom Transfer Radikal Polimerleşmesi
BIBB	2-bromoizobütiril bromür
CRP	Kontrollü Radikal Polimerleşmesi
CTA	Zincir transfer ajanı

Kısaltmalar**Açıklamalar**

DCC	Disikloheksilkarbodimit
DDMAT	2-(dodesiltiokarbonotiyazolil)-2-metilpropiyonik asit
DET RAFT	Ayrışmalı Elektron Transferli RAFT Polimerizasyonu
di-<i>t</i>-bdc	di- <i>ter</i> -butil dikarbonat
DMA	<i>N,N</i> -dimetilakrilamit
ECM	Hücre dışı matriks
FBS	Fetal sıgır serumu
LCTS	Alt kritik çözünme sıcaklığı
MEO₂MA	(2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat)
MPA	3-maleimido propionik asit
NHS	<i>N</i> -hidroksisüksinimit
NMP	Nitroksit Aracılı Polimerleşme
NPAPAA	<i>N</i> -[4-[(4-nitrofenil)azo]fenil]akrilamit)
PBS	Gliserol:fosfat tampon salin
PEG	Poli(etilen glikol)
PET-ATRP	Işıkla Başlatılan Elektron Transferli ATRP
PET RAFT	Işıkla Başlatılan Elektron Transferli RAFT Polimerizasyonu
PMMA	Poli(metil metakrilat)
Poli(DMAEMA)	Poli(2-dimetilamino)etil metakrilat)
RAFT	Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer
RGD	Arjinin-Glisin-Aspartat peptitleri
SAM	Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakalar (Self Assembled Monolayers) yöntemi
SARA ATRP	Tamamlayıcı Aktivatör ve İndirgeyici Ajan Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SET LRP	Tek Elektron Transferli Yaşayan Radikal Polimerizasyonu
SET RAFT	Tek Elektron Transferli RAFT Polimerizasyonu
TEA	Trietilamin
TEMPO	2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloksi
XPS	X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi

1. GİRİŞ

İnsan dokuları birçok farklı hücre tipinin bir araya gelmesiyle oluşmuş karmaşık yapılardır. Hücre dışı matriks (ECM) ise dokuların en iyi tanımlanmış birimleridir. ECM'deki biyokimyasal, fizikokimyasal ve mekano-yapısal değişiklikler hücreye özgü davranışları düzenler. Bu karmaşık ortamı *in vitro* olarak taklit etmek, hücre fonksiyonundaki hareket değişikliklerini araştırmak ve yönlendirmek için dinamik polimer esaslı biyomalzemeler güçlü araçlardır. Polimer kimyasının ve yapısal modülasyonun hızlı gelişimi, uyarı-cevap ilişkisi yanında sentetik mikro ortamlar yoluyla doğal dokunun dinamik karmaşıklığının aşılmasına olanak sağlar. Bu platformlar ECM'e moleküler olarak benzerlik gösterecek de tamamıyla sentetiktir (Koichiro, 2017).

Vücudumuzdaki hücreler sadece çevrelerinden sağlanan biyokimyasal sinyaller ile uyarılmaz, aynı zamanda ECM ile fizikokimyasal olarak ya da komşu hücrelerle çeşitli reseptör-ligand etkileşimleri yoluyla da uyarılırlar (Berrier, 2007; Morgan, 2007). Adezyon kuvvetleri, hücreler için fiziksel destek sağlar, hücrenin konumunu düzenler ve mikro çevreyi tanımak için imkân sağlar. Göç, çoğalma, farklılaşma ve ölüm gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar. Bu nedenle, mekanobiyolojinin geliştirilmesi için hücre tutunması, ayrılması ve göç üzerine zamansal/mekânsal kontrol sağlayan dinamik yüzey özelliklerine sahip platformlar geliştirilmektedir. Bu sebeple protein adsorpsiyonu, hücre tutunması gibi biyo-arayüz etkileşimlerini tersinir şekilde düzenleyen sistemler üzerine yapılan araştırmalar oldukça fazla ilgi çekmektedir. İşte bu tür yeni nesil akıllı biyo-arayüzlerin gelişimine yol açan ve protein adsorpsiyonu/desorpsiyonu ve hücre tutunması/ayrılmasını kontrol eden ışık, sıcaklık, elektrik potansiyeli, pH ve iyonik kuvvet gibi uyarıcıları kullanan anahtarlanabilir (açma-kapama) sistemler mevcuttur.

Sıcaklık duyarlı sistemler; hücrelerin tabakalar halinde bozunmadan bir bütün olarak toplanması için kullanılır. Sıcaklık duyarlı sistemlerde en çok çalışılan polimerlerden biri 32 °C'de suda hidrofilik/hidrofobik faz geçişi gösteren poli(*N*-izopropil akrilamit) (poli(NIPAM))'dir (Dimitrov, 2007; Gil, 2004; Turan, 2011). Yüzeye aşılanmış poli(NIPAM) fırçalar ilaç salımı gibi biyomedikal alanda geniş uygulama alanına sahiptir (Lo, 2005; Yang 2007). Sıcaklık duyarlı polimerlerin bir örneği olan poli(NIPAM) fırçaların baskınlığına, kısa poli(etilen glikol) (PEG) zinciri bağlı metakrilat grubu polimerlerin keşfi alternatif bir seçenek olmuştur. Çünkü bu tip polimerler aslı PEG yan zincirinin uzunluğuna

bağlı olarak 90 °C ile 26 °C arasında değişen alt kritik çözünme sıcaklığına (LCST) sahiptirler (Lutz, 2008). PEG'un protein adsorpsiyonu ve hücre adezyonuna karşı mükemmel hassasiyeti yanında, toksik olmaması sebebiyle PEG esaslı polimerler biyolojik uygulamalarda sıklıkla kullanılır (Gao, X., 2009). Akiyama, Matsuyama, Yamato, Takeda ve Okano (2018) hücre tutma-bırakma halini sıcaklık ve mekanik baskı ile kontrol etmek amacıyla poli(NIPAM) aşılı polidimetilsiloksan (PDMS) substratlar hazırlamışlardır. Sudo ve diğerleri (2018) ise çeşitli fonksiyonel gruplara sahip yıldız tipi sıcaklık duyarlı polimerler hazırlayarak hücre mühendisliğinde kullanmışlardır. Bu çalışmada poli(NIPAM) kollarına sahip, çeşitli polar gruplarla fonksiyonelleştirilmiş yıldız tipi dallanmış polistiren kopolimerini (HBPS-aşı-PNIPAM) damlatma yöntemiyle petri kabına immobilize etmişlerdir. Hücre tutunma ve ayrılma davranışını kontrol etmek için karboksilik asit ve dimetilamino gruplar gibi fonksiyonel gruplar ile HBPS-g-PNIPAM modifiye edilmiştir. Anderson, Abecunas, Warrenner, Laschewsky ve Wischerhoff (2017a, 2017b) fibroblast adezyonu ve morfolojisi üzerine metakrilat esaslı sıcaklık duyarlı polimer fırçaların bileşim etkisini çalışmışlardır. Nagase, Watanabe, Kikuchi, Yamato ve Okano (2011) ara-yüz aracılı Atom Transfer Radikal Polimerleşmesi (ATRP) tekniği ile cam substrat yüzeyinde çeşitli aş yoğunluğu ve zincir uzunluğuna sahip poli(NIPAM) fırçaları oluşturmuşlardır. Yüzey pürüzlülüğü, ıslanabilirlik ve poli(NIPAM) zincirlerinin aşılama yoğunluğu gibi parametreleri sentez koşullarının değişimiyle ayarlamışlardır. Fibronektin adsorpsiyonu ve hücre adezyonu azalan fırça yoğunluğu ile artmıştır. Başka bir çalışmada ise altın substrat yüzeyinde oluşturulan poli(glisidil eter) fırçalar hücre tabakası hazırlamada kullanılmıştır (Heinen, 2017).

Uyarıcı olarak ışığın kullanımı istenilen bölgeye kolayca, kesin ve net bir şekilde odaklanılabilmesi ve uzaktan kontrolü sebebiyle oldukça ilgi çekicidir. Işık ile tersinir olarak konformasyon, şekil, faz, ıslanabilirlik, geçirgenlik, çözünürlük gibi özellikleri kontrol edilebilen 'akıllı' polimerik malzemeler biyomedikal, elektronik, nanoteknoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bu tür foto-duyarlı sistemlerin çoğunda ışığı bir dış enerji ve bilgi kaynağı olarak kullanabilen doğadaki karmaşık biyolojik sistemlerden ilham alınmıştır. Örneğin opsin proteinine bağlı retinal molekülünün *cis-trans* izomerizasyonu, proteinin konformasyonel değişimi ve membran geçirgenliğini içeren bir dizi olayı başlatır ve sinirsel bir sinyale dönüştürür (Ercole, 2010).

Fotokromizm, bir kimyasal türün ışığın absorpsiyonuyla başlatılan iki izomerik formunun geri dönüşümlü değişimini içerir ve bu değişim absorpsiyon spektrumlarında gözlenir. Mekanizmalar arasında perisiklik reaksiyonlar, *cis-trans* izomerizasyonları, ayrılma süreçleri, moleküller arası hidrojen aktarımı veya grup ve elektron aktarımları (indirgenme-yükseltgenme) bulunur (Dürr, 1990). Ayrıca ışıkla renk değişimine ek olarak bu dönüşümlere dipol moment, kırılma indisi ve geometrik yapı gibi değişimler de görülür. En önemlisi bu dinamik dönüşümlerde sistemin optik, kimyasal ve elektriksel özelliklerinde tutarlı değişiklikler olmasıdır. Biyomalzemelerin işlevselliğini ve biyomoleküler süreçleri ışık ile kontrol edebilme yeteneği ışık terapileri ve optobiyoelektronik sistemlerin geliştirilmesinde büyük önem taşır.

Hücre tutunmasının fotokimyasal kontrolü Arg-Gly-Asp (RGD) ile foksionelleştirilmiş azobenzen poli(metil metakrilat) (PMMA) kullanılarak sağlanmış ve RGD ligandının yüzeyden uzaklığa bağlı değişimleri ışık kaynaklı izomerizasyon vasıtasıyla sağlanmıştır. Test edilen bütün peptitlerde, azobenzenler *trans* konumdayken PMMA yüzeylere hücrelerin tutunduğu ve UV etkileşimi ile *cis* hale dönüşüm başladığında RGD içeren peptitlerin yüzeyden uzaklaştığı ve bağlanma etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir (Auernheimer, 2005). Başka bir çalışmada yan zincirlerinde spiropiran kısımları olan bir poli(NIPAM) kopolimeri ile hücre tutunmasının fotokontrolünü sağlayan ışık duyarlı bir kültür yüzeyi hazırlanmıştır. Yüzeye hücre tutunması UV ışını ile polar zwitter iyon formuna dönüşüm ile gerçekleşmiştir (Edahiro, 2005). Ming ve diğerleri (2018) Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakalar (Self Assembled Monolayers, SAM) yöntemi ile dopamin içeren ışık duyarlı bir malzeme hazırlamışlardır. Temas açısı ölçümleri ve hücre deneyleri SAM yüzeyin ışık etkileşimi öncesi hidrofobik olduğu ve hücre bağlanmasını sağladığını, ışık etkileşimi sonrası ise yüzeyin hidrofilik özellik kazandığı ve bağlanan hücreyi bıraktığı gözlenmiştir. Bu hidrofobik/hidrofilik dönüşümleri sağlamak için ise görünür bölge ışık ($\lambda = 530$ nm) kullanılmıştır. Vasantha, Junhui, Wenguang, Herk ve Parthiban (2018) amino grubu taşıyan ticari azo boyar maddeleri halkasal anhidritten oluşan zwitter iyonik kopolimerlere aşilayarak sıcaklık ve ışık duyarlı polimerler sentezlemişlerdir.

Jonas, Glinel, Oren, Nysten ve Huck (2007) arayüz aracılı ATRP tekniği ile sıcaklık duyarlı 2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat [MEO₂MA] ve oligo(etilen glikol) metakrilat birimlerinden oluşan kopolimerler sentezlemişlerdir. MEO₂MA'nın sıcaklık duyarlı özelliğe sahip olması nedeniyle çeşitli "kontrollü yaşayan serbest polimerleşme" (CRP) teknikleri

kullanılarak polimerleştirilmesine yönelik çalışmalar mevcuttur. Ancak yapılan literatür araştırması sonucunda katı substrat yüzeyinde farklı iki CRP tekniği kullanılarak sıcaklık ve ışık duyarlı karışık polimer fırçalar içeren sistemler bulunmamaktadır. Ayrıca yapılan kapsamlı literatür araştırması sonucunda hücre destek uygulamaları için hazırlanan ancak sitotoksikite değerlendirmesi sonucu uygun olmayan binlerce çalışmaya rastlanılmıştır. Bu sebeple bu tez çalışması hem çift duyarlı sistem (sıcaklık ve ışık) olması hem de hücre uygulamaları için elverişli olması bakımından oldukça değerlidir. Bu arz ışığında yapılan literatür araştırmasında, silisyum yüzeyinde ışıkla başlatılan ATRP ile sıcaklık duyarlı poli(2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat) [poli(MEO₂MA)] birimlerinin sentezi ve aynı yüzey üzerinde arayüz aracılı Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer Polimerleşmesi (RAFT) ile poli(N-[4-[(4-nitrofenil)azo]fenil]akrilamit) (PNPAPAA) birimlerinin sentezi ve bu karışık fırçaların hücre tutma-bırakma halinin ışık ve sıcaklıkla kontrolüne ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez kapsamında öncelikle (3-aminopropil)trioksilan (APTES) molekülüne 2-bromoizobutiril bromür (BIBB) [APTES-BIBB] ve *t*-bütoksikarbonil (*t*-BOC) grubu [APTES-*t*-BOC] bağlandı. Daha sonra farklı mol kesirlerinde APTES-BIBB ($\chi_{BIBB}(\text{Çözelti}) = 0,00; 0,25; 0,50; 0,75; 0,85$ ve $1,00$) molekülleri toluen içinde çözülerek silisyum substratlara SAM yöntemi ile kovalent olarak bağlandı. Hazırlanan karışık Si-SAM yüzeylerde önce ışıkla başlatılan ATRP tekniği ile poli(MEO₂MA) birimleri sentezlendi. Daha sonra *t*-BOC koruma grubu kaldırılarak RAFT ajanın APTES'e bağlanması ve ardından arayüz aracılı RAFT tekniği ile aynı yüzey üzerinde poli(NPAPAA) birimleride sentezlenerek sıcaklık ve ışık duyarlı sistemler elde edildi. Karışık polimer fırçalar farklı bileşimlerde hazırlanarak hücre uygulamaları için kullanılacak en hızlı cevabı veren optimum polimer bileşimi belirlendi. Hazırlanan karışık Poli(MEO₂MA)/Poli(NPAPAA) fırçaların yüzey bileşimi ve diğer karakteristik özellikleri elipsometre, Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Grazing Angle Aksesuarlı Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (GA-FTIR), su temas açısı ölçüm teknikleri ile karakterize edildi.

2. KURAMSAL BİLGİLER

2.1. Akıllı Polimer Fırçalar

Akıllı polimer fırçalar; pH, sıcaklık, ışık, iyonik şiddet, manyetik alan vb. dış uyarıcılara tepki veren sistemlerdir. Akıllı polimer fırçaların teknoloji alanında sayısız uygulamaları mevcuttur. Akıllı fırçaları oluşturan polimerlerin kimyasal bileşimi, zincir uzunluğu, mimarisi ve topolojisinin değiştirilmesi etki/tepki mekanizmalarında ve sürelerinde değişikliği mümkün kılar.

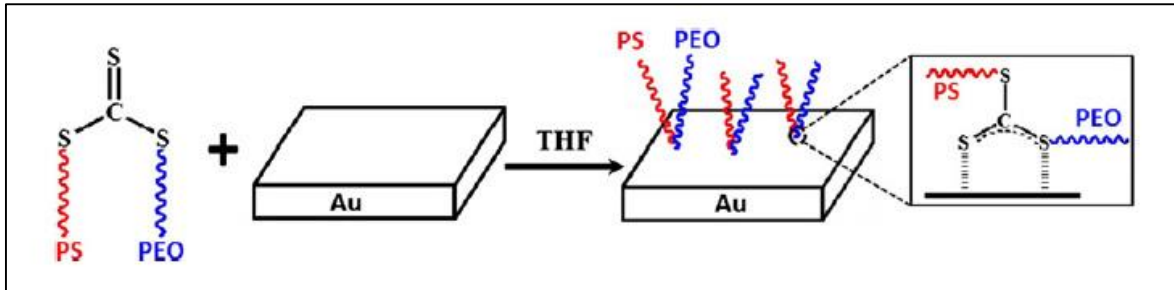
Polimer fırçalar, fonksiyonel uç gruplarıyla substrat yüzeyine bağlanan uzun zincirli makromoleküller veya doğrusal polimerlere asılı fonksiyonel gruplarla bağlanmış aşırı kopolimerleri olarak tanımlanabilir (Penga, 2012). Bunlar substrat yüzeyinde yoğun istiflenmiş zincir toplulukları oluşturur (Zhao, B., 2000). Akıllı polimer fırçalar, çevrelerindeki küçük değişikliklere (pH, sıcaklık, çözücü, tuz derişimi... vb.) tepki olarak hızlı ve tersinir olarak fizikokimyasal veya konformasyonel değişiklikler verir (Stuart, 2010; Urban, 2005). Dış uyarıcılara karşı doğru ve öngörülebilir cevap veren akıllı polimer fırçalar geçtiğimiz birkaç yılda araştırmacıların oldukça fazla ilgisini çekmiştir. Bu tür polimer fırçalar cihaz tasarımı, kontrollü ilaç salımı, sensörler, kas hareketlerini taklit eden kompozit malzemeler ve çok düşük derişimlerdeki safsızlıkları tespit eden ince filmler gibi çok geniş uygulama alanına sahip multidisipliner çalışmaların merkezini oluşturur (Anker, 2008; Hoffman, 2008; Liu, Z.S., 2000).

2.2. Karışık Polimer Fırçalar

Karışık polimer fırçalar iki veya daha çok türde polimer zincirlerinden oluşur. (Motornov, 2010). Karışık polimer fırçalar tek tür polimerden oluşan fırçalardan farklı bazı üstün özelliklere sahiptir. Diblok kopolimerlerde olduğu gibi karışık fırçaları oluşturan polimer zincirinin her iki türünün mol kütlesi yeterince yüksekse, mikrofaz ayırımı olur (Price, 2012). Bununla birlikte, karışık polimer fırçalardaki mikrofaz ayırımı için gerekli kuvvet, serbest diblok kopolimerlerden farklıdır. Karışık polimer fırçalardaki mikrofaz ayırımı yüzeyin ıslanabilirlik, adezyon, sürtünme, yağlanma gibi özelliklerini değiştirir (Yoshimoto, 2008). Ayrıca, karışık polimer fırçalar çözücüye çok duyarlıdır. Çözücü değişimine tepki

olarak polimer zincirlerinin bir türü çözünme davranışı sergilerken diğer türü çökme davranışı gösterebilir (Bittrich, 2010).

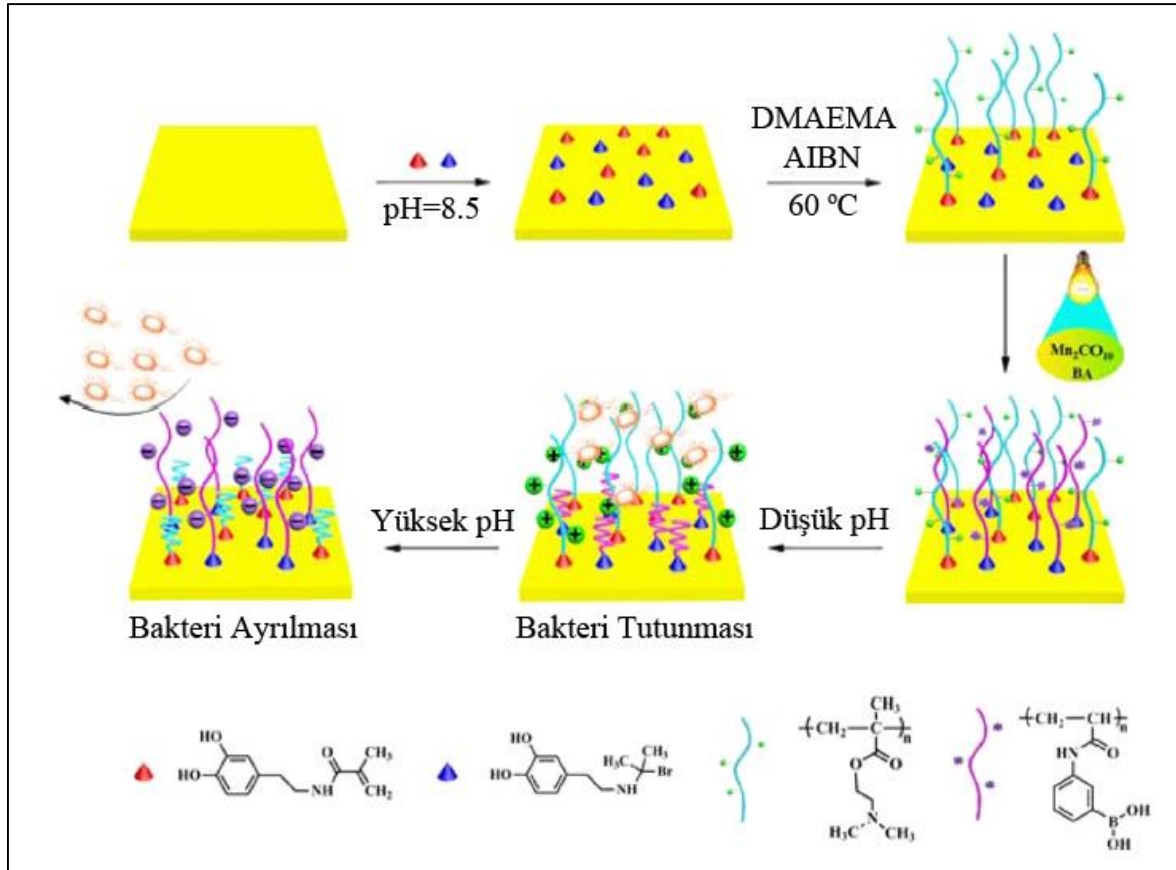
Katı substrat yüzeyinde V- ve Y- şeklinde karışık polimer fırçalar oluşturulabilir (Jiang, X.M., 2010). Julthongpiput, Lin, Teng, Zubarev ve Tsukruk (2003) polistiren ve poli(*tert*-butil akrilat) bloklarındaki bir karboksilat grubuyla silisyum yüzeyine bağlanması ile Y-şeklinde polistiren-*b*-poli(*tert*-butil akrilat) (PS-*b*-PtBA) polimer fırçalarını hazırlamışlardır. Benzer şekilde silisyum yüzeyindeki silanol gruplarının kullanılmasıyla Y-şekilli polistiren-*b*-poli(*N*-vinil prolidon) (PS-*b*-PVP) fırçaları hazırlanmıştır (Wang, Y., 2006). Zubarev, Xu, Sayyad ve Gibson (2006) amfifilik altın nanopartikül (AuNPs) yüzeylerinde V-şeklinde kolları olan polimer fırçaları hazırlamak için iki basamaklı bir metot geliştirmişlerdir. Bunun için önce, her iki grubun bağlayıcısı olarak tritiyokarbonat RAFT ajanı kullanılarak polistiren-*b*-poli(etilen oksit) (PS-*b*-PEO) blok kopolimerlerini sentezlemişler ve daha sonra AuNPs ve tritiyokarbonat arasındaki etkileşim ile V-şekilli PS-*b*-PEO fırçaları elde etmişlerdir (Şekil 2.1). Bu yöntemin basitliği, tritiyokarbonat grubunun, hem yüzeye bağlanan grup içermesi hem de polimer zincirlerin büyümesinde RAFT ajanı olarak davranmasında yatmaktadır.



Şekil 2.1. Düzlemsel altın yüzey üzerinde V-şekilli PS-*b*-PEO fırçaların sentezi (Wang, Z.L., 2012)

Xiong ve diğerleri (2015) karışık poli(2-dimetilamino)etil metakrilat (poli(DMAEMA)) ve poli(akrilamidofenilboronik asit) (poli(PBA)) fırçalarını sentezlemek için sıcaklık ve ışık ile ayrı ayrı başlatılan aşılı polimerleşme tekniklerini kullanmışlardır. İlk poli(DMAEMA) biriminin sentezi için ısısal başlatılan aşılı polimerleşmesi seçilirken, ikinci poli(PBA) birimin sentezi için ışık ile başlatılan polimerleşme tekniği seçilmiştir. Düşük pH değerinde poli(DMAEMA)'ın amino grupları protonlanmış, poli(PBA)'nın boronik asit grupları nötral halde bulunduğundan, yüzeyde net pozitif yük oluşur. Yüksek pH değerinde ise, boronik asit grupları negatif yüke, poli(DMAEMA)'ın amino grupları kısmen protonlandığından

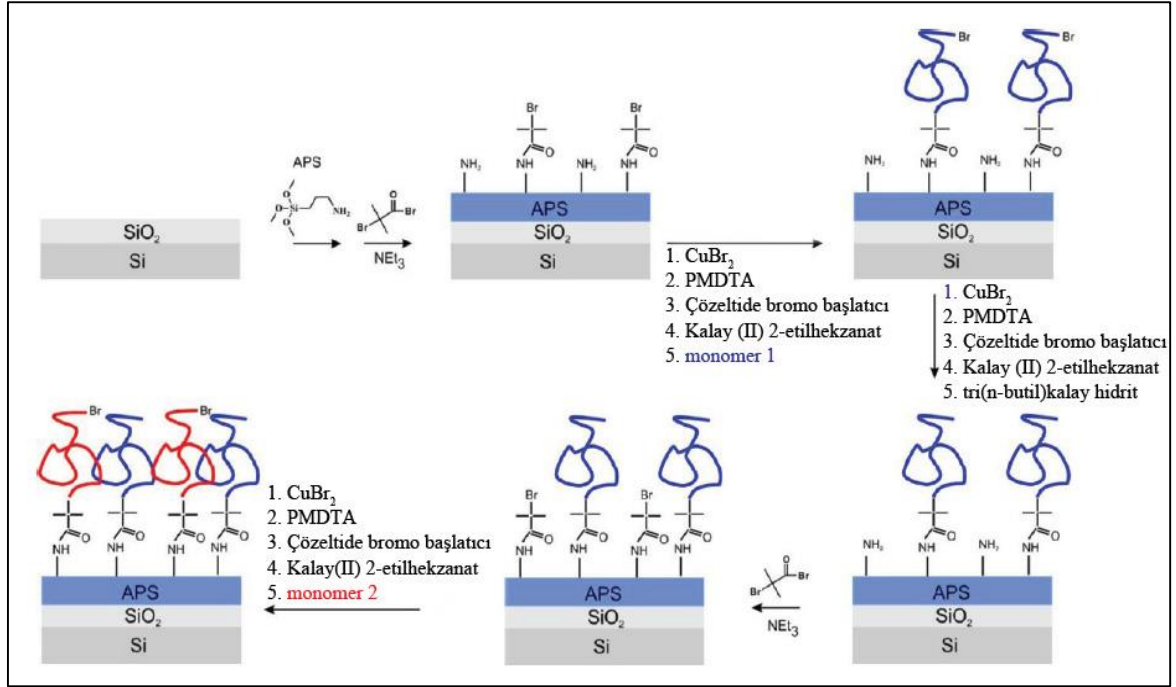
yüzeyde negatif yük hakimdir (Şekil 2.2). Xiong ve diğerleri (2015) bu çalışmada model substrat olarak altın, model bakteri olarak ise *Staphylococcus aureus* kullanmışlardır. Mevcut polimer zincirleri tarafından oluşturulan sterik engelden dolayı ikinci fırça bileşeninin aşılması için foto-başlatıcılı aşı polimerizasyonu tercih edilmiştir (Sui, 2011). Katyonik poli(DMAEMA) elektrostatik etkileşim yoluyla biyomoleküllerin bağlanmasını sağlamaktadır (Jiang, H., 2013).



Şekil 2.2. poli(DMAEMA)/poli(PBA) fırçaların sentezi için ardışık serbest radikal teknikleri ve çevresel pH değişimine bağlı olarak bakteri tutunması/ayrılmasının kontrolü (Xiong, 2015)

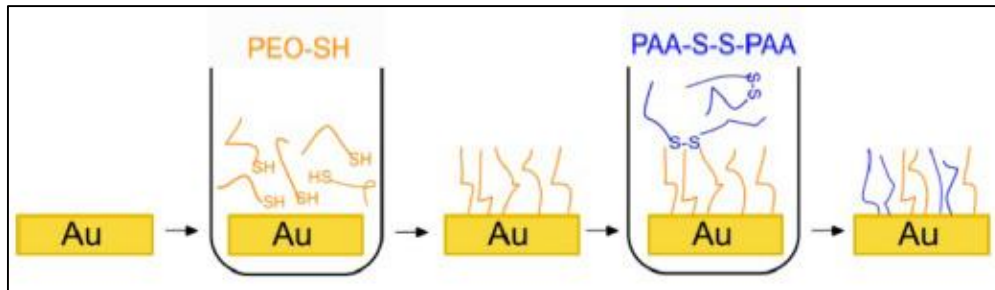
Ionov ve Minko (2012) karışık polimer fırçaların sentezi için iki basamaklı bir “yüzeyde aşılama” yöntemi kullanmışlardır. Önce APTES/APTES-Başlatıcı karışımı silisyum yüzeye immobilize edilmiş ve poli(tert butil akrilat) (poli(tBA)) birimi Elektron Transferi ile Üretilen Aktivatörler ile Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (AGET-ATRP) yöntemi ile sentezlenmiştir. Daha sonra blok kopolimer oluşumunu engellemek amacıyla zincir uçlarında oluşan Br atomu dehalojenasyonla uzaklaştırılmıştır ve APTES birimlerine

başlatıcı bağlanmış yine AGET-ATRP yöntemi ikinci polimer birimi poli(stiren) sentezlenmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. AGET-ATRP tekniği ile karışık polimer fırça sentezinin şematik gösterimi (Ionov ve Minko, 2012)

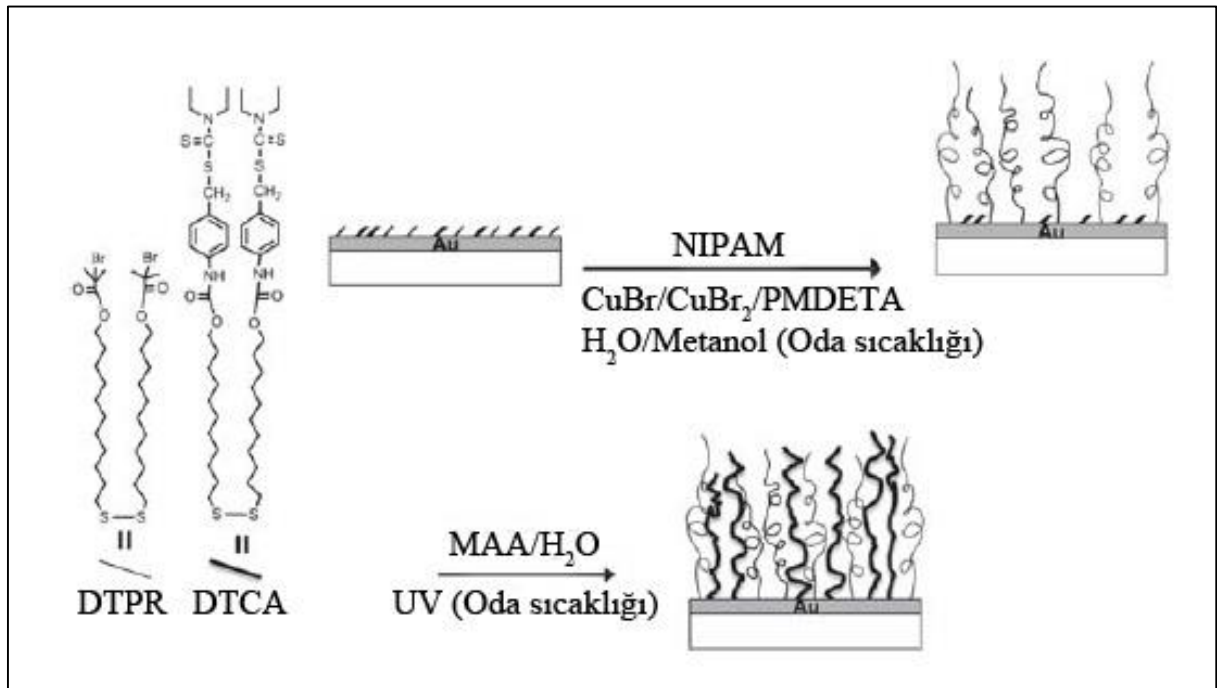
Delcroix ve diğerleri (2013) protein adsorpsiyonunda kullanmak için anahtarlanabilir özellikte karışık poli(etilen oksit)/poli(akrilik asit) (PEO/PAA) fırçalar sentezlemişlerdir (Şekil 2.4). Bu karışık polimer fırçalarda pH ya da iyonik kuvveti değiştirerek protein tutma/bırakma hallerini incelemişlerdir.



Şekil 2.4. Altın tabaka üzerine karışık PEO/PAA fırça oluşumunun şematik gösterimi (Delcroix, 2013)

Sui ve diğerleri (2011) yüzeyde başlatılan ATRP (SI-ATRP) ve ışıkla yüzeyde başlatılan iniferter-aracılı fotopolimerleşme (iniferter-mediated photopolymerization, SI-IMP)

kombinasyonu ile oda sıcaklığında poli(*N*-izopropil akrilamit) ((poli(NIPAM)) ve poli(metakrilik asit) (poli(MAA)) birimleri içeren karışık polimer fırçalar hazırlamışlardır. İki polimer biriminin bağımsız polimerleşmesini sağlamak için altın substratlar yüzeyine karışık IMP ve ATRP başlatıcısı SAM yöntemiyle bağlanmıştır. Önce SI-ATRP yöntemiyle poli(NIPAM) ardından SI-IMP yöntemiyle poli(MAA)'nın polimerleşmesi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.5). Bu polimerizasyonlar ardışık adımlarla gerçekleştirildiğinden, bileşenlerin zincir uzunluğu ve yüksekliği tek tek kontrol edilebilmiştir.

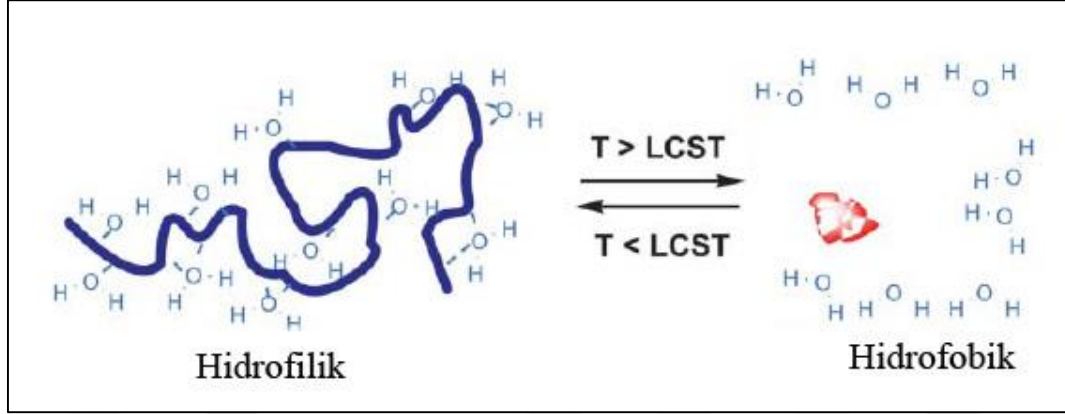


Şekil 2.5. Ardışık SI-ATRP ve SI-IMP yöntemlerinin kombinasyonu ile altın yüzeyinde karışık polimer fırça sentezi (Sui ve diğerleri, 2011)

2.3. Sıcaklık ve Işık Duyarlı Polimer Fırçalar

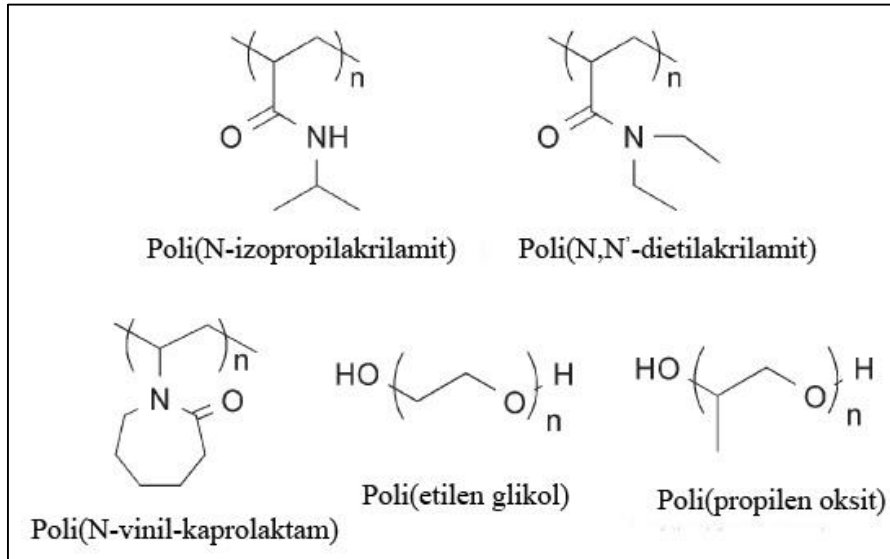
Poli(*N*-izopropil akrilamit) (Poli(NIPAM)) suda 32 °C'da alt kritik çözünme sıcaklığına (LCST) sahip, en fazla çalışılan polimerlerden biridir (Schild, 1992). Şekil 2.6'da şematik olarak gösterildiği gibi faz geçişi ve dolayısıyla "akıllı" davranışın kaynağı; su molekülü ile izopropil asılı grubun etkileştiğinde ortaya çıkan entropik kazanımdır. LCST'nin altındaki sıcaklıklarda su molekülü ile izopropil grubu arasındaki etkileşim polimer zincirlerinin kendi arasındaki etkileşimden baskındır ve polimer çözünme davranışı gösterir. Sıcaklık LCST'nin üstüne yükseltildiğinde su molekülü ile izopropil grubu arasındaki etkileşim

kırılır, polimer zincirlerinin hidrofofik etkileşimi baskın olur ve polimer çökme davranışı sergiler.



Şekil 2.6. Akıllı polimerin sıcaklığa karşı verdiği cevap (Schild, 1992)

Poli(NIPAM) homopolimerinin LCST'sinin vücut sıcaklığına yakın olması, poli(NIPAM) esaslı malzemelerin biyomedikal uygulamalarda kullanımına olanak sağlar (Yamato, 2001; Callow, 2000). Ayrıca *N,N*-dietilakrilamit (DEAAM) birimleri içeren polimerler de 25-32 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında LCST sergilemektedirler. Bu sınıftaki diğer önemli polimerler arasında ise poli(*N*-vinil kaprolaktam) (PVCL), poli(etilen glikol) (PEG), poli(etilen oksit) (PEO) ve poli(propilen oksit) (PPO) yer almaktadır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. En çok kullanılan sıcaklık duyarlı polimerler

PVCL oda sıcaklığında hidrofilik özellik gösterir ve suda çözünür, sıcaklık 25 °C'den 35 °C'a aşamalı olarak artırıldığında hidrofobik karakter ve çözünmeme özelliği baskın hale gelir (Arvidsson, 2001). PEO polimerleri 85 °C'e kadar suda oldukça iyi çözünürler, PPO ise hidrofobik karakterdedir ancak çok geniş aralıkta çözünabilirliğe sahip kopolimerleri hazırlanabilir. Polimerlerin ana zincirine iyonlaşabilir monomer birimlerinin katılımıyla faz geçiş sıcaklıkları ve çözünabilirlikleri pH'ya bağımlı olur. Poli(akrilik asit) (PAA) ve poli(metakrilik asit) (PMA) farklı pH'larda farklı şişme davranışına sahip olduklarından terapik kullanımları araştırılmaktadır (Kyriakides, 2002). Ayrıca akrilik polimerlerinin ucuz olması ve kısmen protonlandığında yüzeye olan adezyonu bu polimerleri farmasötik uygulamalar için ilgi çekici hale getirmektedir (Lehr, 1992).

Diğer yandan ışık duyarlı polimerler asılı gruplarına veya uç gruplarına bağlı kromofora göre tersinir ya da tersinmez davranış gösterirler. Polimerlerin ışık duyarlı özelliği asılı gruplarına veya uç gruplarına fotokromik moleküller bağlanarak sağlanır (Dai, 2009). Işık duyarlı polimerlerin çoğunda tersinir izomerizasyona uğrayan organik boyar maddeler bulunur. İzomerizasyon sürecinde kromoforik birimlerde polarite değişimi ile beraber renk değişimi de olur. Bu değişim azobenzen, spiropiran, salisiliden anilin içeren polimerlerde ve basit kimyasal bileşiklerde gözlenir. Fotokromik grup içeren polimerlerin, ışık ile etkileştiği süreçte çözünürlüğü de tersinir olarak değişebilir. Tersinir veya tersinmez izomerizasyonları sağlamak için 300-400 nm dalga boyunda UV ışını ve $\lambda > 400$ nm'deki görünür bölge ışını kullanılır.

Tersinmez izomerizasyon, genellikle fotokromik birimler yerine ışık etkisiyle parçalanabilen yapılar içeren polimerlerde gözlenir. Polimerlerin ışık duyarlı birimleri ışık ile etkileştiğinde tersinmez olarak daha polar olan türlere dönüşür (Schumers, 2010). O-nitrobenzil ester (ONB) (Zhao, H., 2011; Kumar, 2011) tersinmez ışık duyarlı davranış sergileyen en önemli kromofor gruptur. ONB grubunun parçalanması için belirli şartlar altında yakın infrared ışını (NIR) kullanılabileceği gibi UV ışını da kullanılabilir (Yan, 2011). Polimerik sistemlerdeki tersinir ve tersinmez ışık duyarlı özellik, kumarin içeren sistemlerde çapraz bağlanma tepkimesi ile de gösterilebilir (Schumers, 2010).

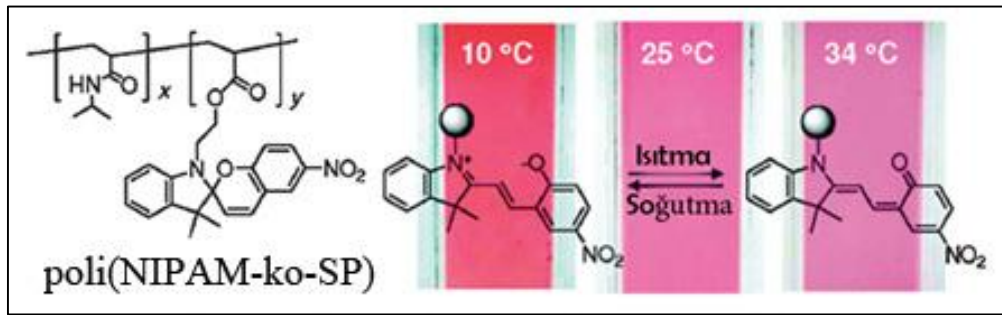
Son yıllarda iki veya daha fazla cevap veren polimer sistemleri hazırlanmaktadır (Wells, 2010). Bu tip sistemlerin çeşitli özellikleri farklı yollarla kontrol edilme imkânı sağladığından oldukça fazla ilgi çekmektedir. Özellikle sıcaklık duyarlı polimerleri aynı

zamanda ışığa da duyarlı hale getirmek için ışık duyarlı kromoforlar polimer zincirlerine aşılanmaktadır.

2009 yılında ışığa duyarlı polimerlere fotokromik birim olarak salisiliden anilin aşıl原因arak sıcaklık ve ışık duyarlı polimerler sentezlenmiştir (Jochum, 2009a, 2009b). Salisiliden anilin keto-enol tautomerisine dayalı olarak, ışık ile etkileştiğinde çözelti fazında hem kristalinite hem de fotokromik özellik sergiler (Mitra, 2003). Bu durum uyarılmış salisiliden anilinin su gibi daha polar bir çözücü içerisindeki kararlılığına ya da kromoforun daha polar bir yapıya bozunması ile açıklanır. Cam, çelik ya da polikarbonat gibi yüzeylere salisiliden anilin gibi kromofor gruplar bağlandığında, modifiye yüzeylerin ıslanabilirlikleri ışık ile kontrol edilebilir (Kessler, 2011). Spiropiran içeren sıcaklık duyarlı polimerinin fotokromizmi de oldukça ilgi çekmiştir. Spiropiran kısmı karanlıkta ya da görünür bölge ışını altında renksiz spiropiran formunda bulunurken, UV ışını ile etkileştiğinde renkli merosiyanin izomerine dönüşür (Crano, 1999). Diğer fotokromik gruplarda olduğu gibi fotoizomerizasyon sürecinde de molekülde güçlü polarite değişimi olur. Spiropiranın kapalı formu apolar iken, açık merosiyanin formu oldukça polar ve elektronca zengin zwitter yapıdadır. Bu sebeple spiropiran, sıcaklık ve ışık duyarlı malzemelerde sıklıkla kullanılan azobenzen molekülüne alternatif bir kromofor olarak değerlendirilir.

Ivanov, Eremeev, Wahlund, Galaev ve Mattiasson (2002) serbest radikal polimerleşme tekniği ile %1,9 mol spiropiran içeren poli(NIPAM) kopolimerlerini sentezlemişlerdir. Böylece, sıcaklık duyarlı poli(NIPAM) ile spiropiran kromoforunu içeren polimerler elde etmişlerdir. Ancak spiropiranın izomerizasyonu 20 günden fazla sürede gerçekleşmiştir. Bu da açık zwitter iyonun merosiyanin halinin su gibi polar bir ortamda daha kararlı olduğunu göstermektedir. Suzuki, Kato ve Shinozaki (2004) spiropiran birimleri içeren poli(NIPAM) kopolimerinde spiropiranın açık halinin çözeltide Pb^{2+} ile ışık etkisiyle kompleksleştiğini belirlemişlerdir. Diğer bir grup ise Kuartz Kristal Mikrobals tekniğini kullanarak spiropiran içeren ışık duyarlı poli(NIPAM) filmlerin şişme davranışını incelemişlerdir. Belirli sıcaklıklarda ışık duyarlı poli(NIPAM) filmlerin UV ışını etkileştiğinde su adsorpsiyonu ve viskoelastisite değişimlerin olduğunu belirlemişlerdir (Edahiro, 2008). Sumaru, Ohi, Takagi, Kanamori ve Shinbo (2006) ve daha sonra Satoh, Sumaru, Takagi ve Kanamori (2011) spiropiran içeren poli(NIPAM) hidrojenlerinin UV ışını altında hacim büzülmesinin yanı sıra proton ayrışmasının da olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, bu gruplar 1,0 mM'lık HCl çözeltisinde ışık-kontrollü sıvı geçirgenliğini sağlayan hidrojel membranlar

da geliştirmişlerdir. Bunlara ilave olarak, spiropiran içeren poli(NIPAM) kopolimerlerinin geniş sıcaklık aralığında absorpsiyon spektrumunda doğrusal ve tersinir batokromik/hipsokromik değişim gösterdiğinden dolayı termometre gibi kullanılmaları da önerilmektedir (Şekil 2.8) (Shiraishi, 2009). Isı ile gerçekleşen batokromik değişim; polimerlerin LCST’de sarmal halden küresel konformasyona geçtiğinde polimer zincirlerinin kümeleşmesi ile oluşan daha az polar haldir. Son zamanlarda bu tür kopolimerler belirli sıcaklıklarda sulu çözeltilerdeki siyanür anyonlarının florometrik tayini için önerilmiştir (Shiraishi, 2011).



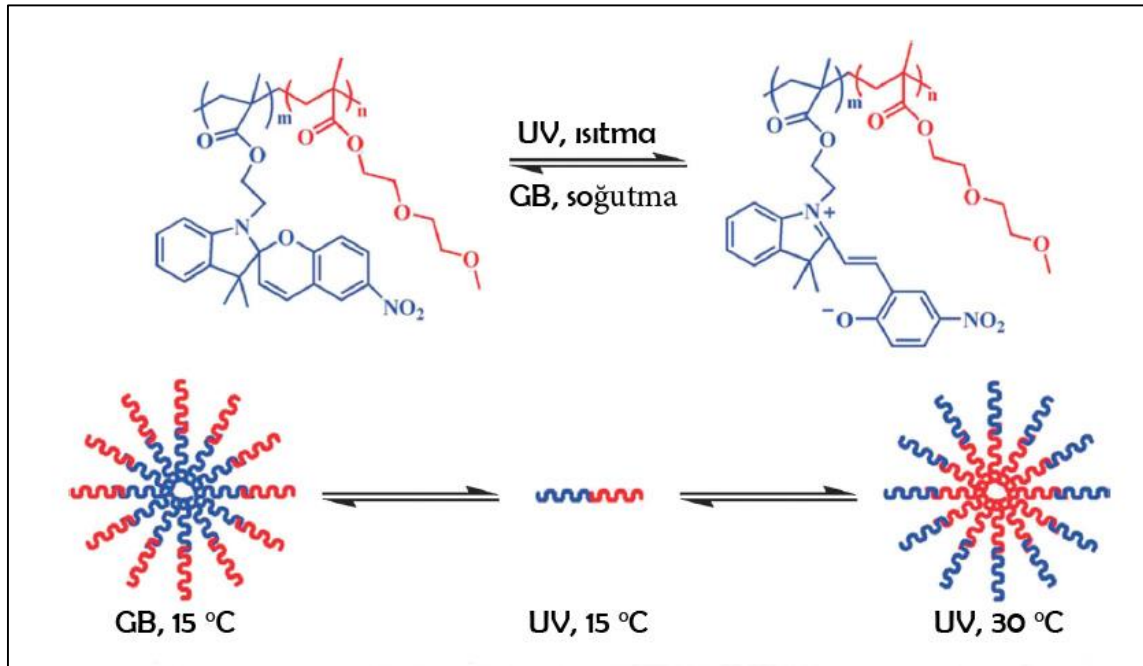
Şekil 2.8. Basit bir poli(NIPAM-ko-SP) kopolimerinin kolorimetrik termometre davranışı (Shiraishi, 2009)

Başka bir çalışmada, spiropiran birimleri içeren poli(NIPAM) kopolimer filmlerinin fotokromik birimlerinin fotoizomerizasyonuna sebep olduğu ışık kontrollü ıslanabilirlik değişimi, su temas açısı ölçümleri ile gözlenmiştir. Bu tür polimerler nanoyapılı bir yüzeye kaplandığında, su temas açısı 5°’den 123°’ye kadar değişlik göstermektedir (Joseph, 2010).

2008 yılında Hirose, Irie ve Matsuda, hekzaetilen glikol yan zincirlere sahip olan amfifilik fotokromik diarileter türevlerinin aynı zamanda sıcaklık duyarlı özellik sergilediğini göstermişlerdir. Diarileten hibrit sisteminin açık ve kapalı izomerlerinin LCST’leri arasında 22 °C’luk bir fark görülmüştür.

Jin, Liu ve Ji (2010) tarafından spiropiran içeren metakrilat (SPMA) ve di(etilen glikol)metil eter metakrilat (DEGMMA) monomerleri kullanılarak çift-duyarlı “şizofrenik” blok kopolimerler sentezlemişlerdir. Poli(SPMA)-*b*-poli(DEGMMA)’nın her bir bloğunu, sıcaklık ve ışık kullanarak seçici bir şekilde incelemek mümkündür. Poli(SPMA)-*b*-poli(DEGMMA) miselleri UV ışını ile etkileştiğinde ışık duyarlı blok apolar spiropiran halinden polar merosiyanin haline dönüşürken, ısısal etkide misel yapılar bozunma

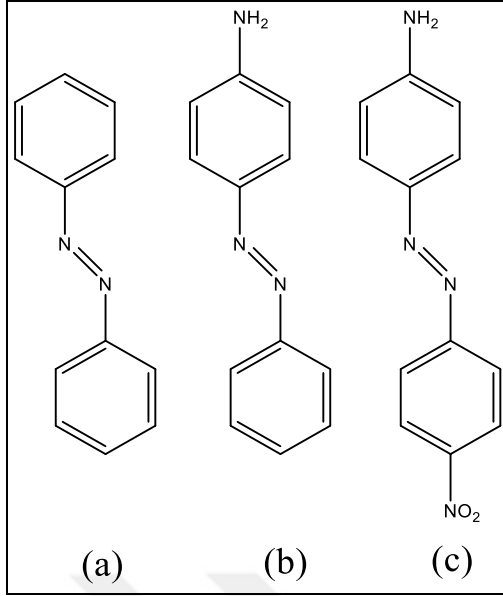
gösterebilirler. 15 °C'de su içinde UV ışığı altında misellerin ortalama hidrodinamik çapları 7 nm'ye düşer ve moleküler çözünme gözlenir. Bu izotermal ışık duyarlı bozunma tamamen tersinirdir. Isıtma ve tekrar bir UV ışını ile ışınlama sonucu 24 nm'lik hidrodinamik çapa sahip ters misellerin oluşumunu sağlanabilir (Şekil 2.9). Bu çalışma ışık ve sıcaklığın ayrı ayrı uygulanmasıyla çözeltideki nano kümelerin morfolojisinin kontrol edilebileceğinin en çarpıcı bir örneğidir.



Şekil 2.9. Sulu çözeltide çift-duyarlı "şizofrenik" poli(SPMA)-b-poli(DEGMMA) kopolimerin miselleşme davranışının şematik gösterimi (Jin, 2010)

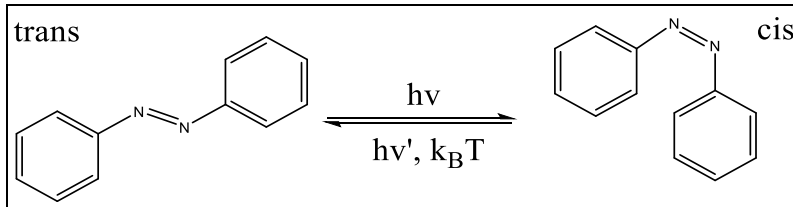
2.4. Azobenzen Fotokimyası

Azo molekülleri taşıdıkları fonksiyonel gruplara ve bunlara bağlı gösterdikleri foto fiziksel özelliklerine göre; i) azobenzen tipi moleküller, ii) aminobenzen tipi moleküller ve iii) yalancı stilbenler olmak üzere üç gruba ayrılırlar (Şekil 2.10) (Rau, 1990).



Şekil 2.10. Fonksiyonel gruplarına göre sınıflandırılan azobenzen molekülleri; (a) Azobenzen, (b) Aminoazobenzen ve (c)Yalancı stilben (Rau, 1990)

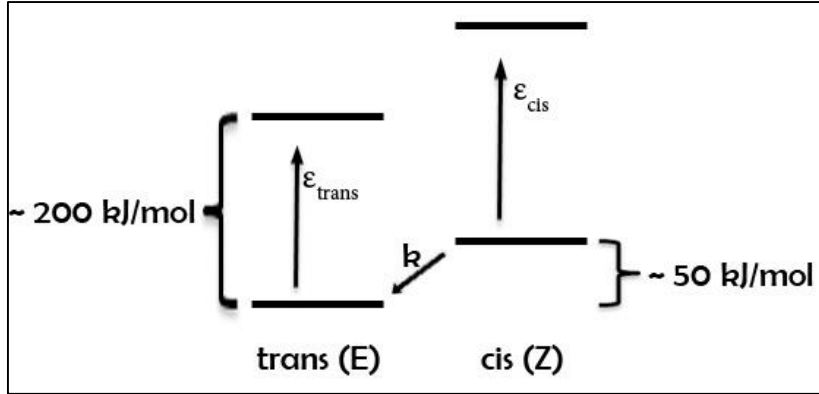
Bu azobenzen tipi moleküllerin en temel ortak özellikleri UV ışını altında verdikleri tepkilerdir. Azobenzenler optik ve termal olarak tersinir izomerizasyona uğrarlar (Şekil 2.11) (Hanssens, 2013). İzomerizasyon değişimini başlatan fotofiziksel özelliklere bakılmaksızın, azobenzen içeren bütün ışık duyarlı bileşiklerin foto anahtar özelliği *cis-trans* konumları arasındaki farklılığa dayanır. Doğal azobenzen molekülünde izomerizasyon $\sim 3,5 \text{ \AA}$ 'luk kısaltmaya ve ~ 3 debyelik dipol momenti değişimine sebep olur. Bu değişim uygulamada önemlidir (Fliegl, 2003; Beharry, 2011). Azobenzen içeren malzemeler fotomekanik araçlardan, bilgi depolama ve tersinir ıslanabilir yüzeylere kadar birçok alanda uygulanmaktadır (Hosono, 2010).



Şekil 2.11. Azobenzenin yapısı: *trans* azobenzen (sol), *cis* izomer (sağ)

Azobenzenler mikro saniye gibi kısa bir zaman aralığında foto anahtar özelliğini kaybetmeden 10^5 - 10^6 defa tersinir şekilde izomerize edilebilir (Mahimwalla, 2012). Fenil halkalarının azot bağları etrafında serbestçe dönmesine bir fotonun absorpsiyonu sebep olur. Bu şekilde molekül *trans* halden *cis* hale geçer. Moleküler boyutta izomerizasyon

konformasyonda ve boyutta ciddi değişikliklere sebep olur. Fotoizomerizasyon en iyi bilinen foto tepkime türüdür. *Trans* izomer *cis* izomerden yaklaşık 50 kJ/mol daha karardır. Uyarma basamağı için bariyer enerjisi 200 kJ/mol'dür (Şekil 2.12) (Mita, 1989; Monti, 1982). Bu da karanlıkta azobenzenlerin baskın olarak *trans* konumunda bulunduklarını gösterir.



Şekil 2.12. Azobenzen molekülünün farklı konformasyonları arasındaki enerji farkı

Uyarma olmaksızın *cis* haldeki azobenzenler ısı etkisiyle de daha karardı oldukları *trans* hale geri dönebilirler. Isı etkisiyle *trans* hale geri dönme işleminde dönüşüm süresi azobenzenlerin yapısındaki fonksiyonel grupların yapısına ve konumuna bağlıdır. Bu süre azobenzenlerde saat, aminoazobenzenlerde dakika veya yalancı-stilbenlerde saniye olarak ifade edilmektedir. Bu termal izomerizasyon için enerji bariyeri ise 90 kJ/mol seviyesindedir (Brown, 1975).

Yalancı stilbenzenlerde termal dönüşümü hızlı bir şekilde gerçekleşir ve uzak bölge kırmızı ışın absorpsiyon bandına kayar. Aminoazobenzenlerin ömürleri orta seviyededir ve *trans* absorpsiyon bandında hafif kırmızıya kayarlar. Klasik azobenzenler UV-mor aralığında absorpsiyon bandındadır ve *cis* formu karanlıkta günlerce karardı kalabilir (Merino, 2011). Azobenzenler özelliklerindeki bu büyük değişiklikler sebebiyle daha önce adı geçen kromoforlara göre çok yönlü avantaj sağlar.

2.5. Azobenzen İçeren Sıcaklık Duyarlı Polimerler

Azobenzen etkileştiği ışının dalga boyuna bağlı olarak *trans* formdan *cis* forma veya tam tersine fotoizomerizasyona uğrayarak muazzam bir özellik sergiler (Yager, 2006). Bu fotoizomerizasyon sürecine fotokromik birimdeki polarite değişimi eşlik eder. Meydana

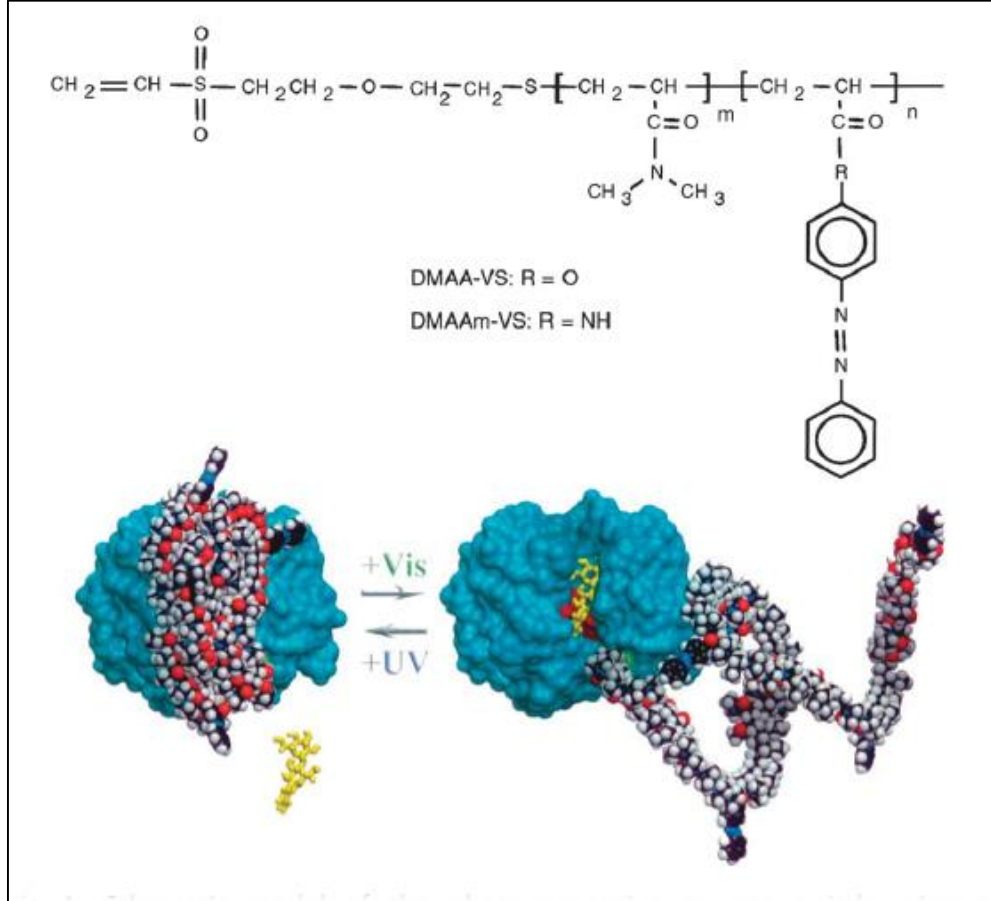
gelen polarite değişimi, *trans* izomerin “0” debyeden “3” debyelik dipol moment değişimi ile *cis* izomere dönüşümünün bir sonucudur (Kumar ne Neckers 1989). Bu sebeple azobenzen kromoforları sıcaklık ve ışık duyarlı polimerler için önemli bir role sahiptir.

Literatürde sıcaklık ve ışık duyarlı polimerin ilk örneği Kungwatchakun ve Irie tarafından 1988 yılında *N*-(4-fenilazofenil)akrilamit ve *N*-izopropil akrilamit (NIPAM) birimlerinden oluşan kopolimerlerin sentezi ile sunulmuştur. Çalışmanın amacı fotokromik azobenzen birimleri ile poli(NIPAM)’ın sulu çözeltideki faz geçiş sıcaklığını ışık ile kontrol etmektir. Sonuç olarak % 2,7 mol azobenzen grubu içeren kopolimerler UV-ışını ile etkileştiğinde LCST değerinin 21 °C’den 27 °C’ye kaydığı gözlenmiştir. Bu sonuç azobenzen birimindeki *trans-cis* izomerizasyon kaynaklı dipol momentte olan değişimle açıklanmıştır. Görünür bölge ışınına maruz bırakıldığında başlangıç faz geçiş sıcaklığı 21 °C yeniden gözlenmiştir. Kungwatchakun ve Irie kopolimere katılan azobenzen miktarı ile faz geçiş sıcaklığının ışık etkisi ile değişimi arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmalarına göre faz geçiş sıcaklığı, polimer zincirlerinin etrafındaki su ile hidrojen bağı yapabilme yeteneğine ve zincirler arası hidrofobik etkileşimlere bağlıdır. Kopolimere katılan azobenzen miktarı arttıça zincirler arasındaki hidrofobik etkileşimlerin azalması faz geçiş sıcaklığı için yeterli değildir. Faz geçiş sıcaklığı kopolimerlerin UV-ışını ile ışınladığında görülür (Irie, 1990).

LCST’nin ışık ile tersinir kontrolü üzerine çalışmalar devam etmiştir. Kroeger, Menzel ve Hallensleben (1994) suda çözünen *N,N*-dimetilakrilamit (DMA) ve 4-fenilazofenil akrilat kopolimerinin sentezi ve bu kopolimerlerin ışık ile etkileşmiş ve etkileşmemiş halleri arasındaki LCST aralığını genişletmek amaçlı çalışmalar yapmışlardır. Bu araştırmacılar ortalama % 7,3 mol oranında azobenzen içeren kopolimerlerin LCST değerinde 14 °C’lik bir değişiklik olduğunu belirlemişlerdir. Sugiyama ve Sono (2001) belirli oranlarda azobenzen akrilat içeren *N*-(2-hidroksipropil) metakrilamit (HPMA) monomer karışımından sentezlenen kopolimerinin LCST değerlerinin karanlık ortamda 2-4 °C daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

LCST’nin ışık ile kontrolüne yönelik ilginç bir çalışma Shimoboji, Larenas, Fowler, Hoffman ve Stayton (2002) tarafından yapılmıştır. Bu grup polimer zincirinin hidratasyonu ve boyutunun ışık etkisi ile değişimi ve endoglukanaz 12A enziminin aktivitesini düzenlemekte kullanılabileceğini göstermişlerdir (şekil 2.13). Bu amaçla enzim-polimer konjugasyonunda kullanmak amacıyla serbest radikalik kopolimerizasyon ile azobenzen

birimlerine sahip DMA esaslı sıcaklık ve ışık duyarlı kopolimerler sentezlemişlerdir. Bu “akıllı” polimerler farklı dalga boylarındaki ışınlar ile etkileştirildiğinde, polimer-enzim aktivitesine cevap veren bir anahtar görevi görmektedir. Ayrıca bu kopolimerlerin UV ve görünür bölge ışını altında LCST değerleri de değişmektedir.

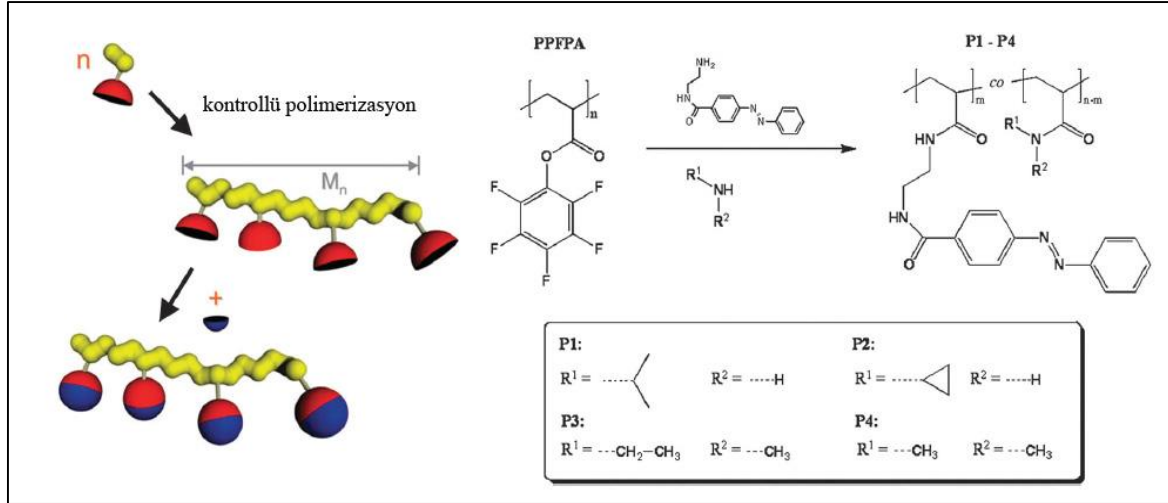


Şekil 2.13. Sıcaklık ve ışık duyarlı kopolimer varlığında enzim aktivitesi değişiminin şematik gösterimi (Shimoboji, 2002)

Akiyama ve Tamaoki (2004) farklı miktarlarda azobenzen içeren akrilamit ile NIPAM karışımını kopolimerleştirmişlerdir. UV ve görünür bölge ışını ile kopolimer zincirlerindeki azobenzenin izomerizasyonu sonucunda LCST'deki değişimi belirlemişlerdir. Ayrıca izomerizasyona bağlı olarak kopolimer filmlerin su temas açılarının değiştiğini de görmüşlerdir.

Sıcaklık ve ışık duyarlı kopolimer sistemler üzerine yapılan araştırmalar, Jochum ve Theato'nun çalışmalarına ilham olmuştur. Jochum ve Theato (2009) farklı miktarlarda azobenzen içeren poli(*N*-siklopropilakrilamit), poli(*N*-etil-*N*-metilakrilamit) ve poli(*N,N*-

dimetilakrilamit) esaslı çeşitli kopolimerleri RAFT polimerleşmesi ile sentezlemişlerdir. Farklı miktarda azobenzen içeren farklı türde sıcaklık duyarlı poliakrilamit kopolimerlerinin LCST değerlerinin ışık etkisiyle değiştiğini göstermişlerdir (Şekil 2.14). En büyük LCST değişimini %8,5 mol azobenzen içeren poli(*N,N*-dimetilakrilamit) kopolimerinde görmüşlerdir.



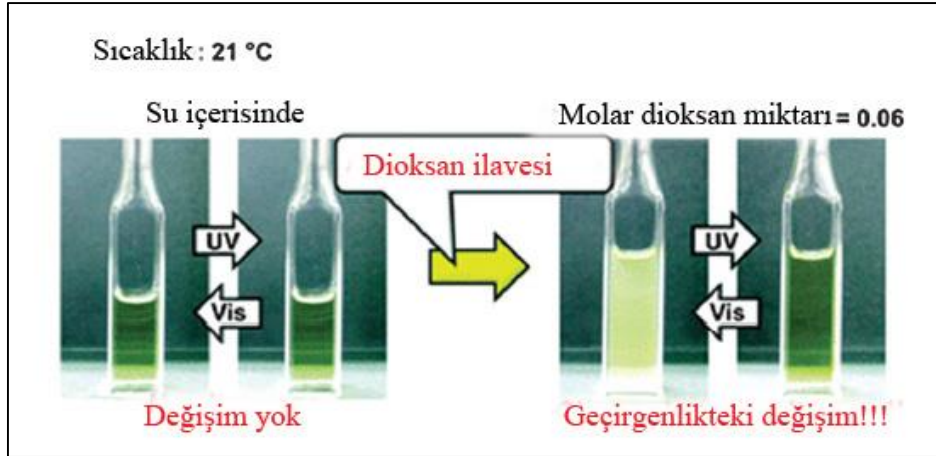
Şekil 2.14. İyi tanımlanmış polimerleri sentezlemek için aktifleştirilmiş ester polimerlerinin bir polimer analog tepkimesinin sentetik tasavvuru (soldaki çizim). Bir örnek olarak, farklı miktarlarda P1-P4 azobenzen kısımları içeren çeşitli sıcaklık ve ışık duyarlı poliakrilamitler, daha önce RAFT polimerizasyonundan elde edilen PPFPA polimerlerinin bir polimer analog tepkimesiyle sentezininin şematik gösterimi (Jochum ve Theato, 2013)

Akiyama ve Tamaoki (2007) azobenzen içeren başlatıcı kullanarak NIPAM'ın ATRP polimerizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Farklı mol kütlesi ve zincir uzunluğuna sahip azobenzen uç gruplu poli(NIPAM) sentezlemişlerdir. Poli(NIPAM)'ın sulu çözeltilerde LCST değerlerinin ışık ile tersinir olarak kontrol edilebildiğini ve azobenzen uç grubu varlığında azalan mol kütlesi ile LCST değerinin 10 °C daha fazla doğrusal olarak arttığını belirlemişlerdir.

Akiyama ve Tamaoki'nin (2007) sonuçlarından etkilenen Theato'nun grubu poli(oligo(etilen glikol) monometileter metakrilat)'ın [poli(OEGMA)] sırasıyla su ve alkoldeki çözeltilerinde LCST ve üst kritik çözünme sıcaklığına (UCTS) farklı uç gruplarının etkisini araştırmışlardır. Öncelikle kısa zincir uzunluğuna sahip sıcaklık duyarlı poli(OEGMA)'nın faz geçiş sıcaklığına azobenzen uç grubunun etkisi incelenmiştir (Jochum, 2009c). Uç grubu azobenzen ile fonksiyonelleştirilmiş aktif ester RAFT ajanı

azobenzen bulunan sıcaklık duyarlı poli(vinileter)'ler sentezlemişlerdir (Yoshida, 2005). Bu örneklerde de LCST'nin ışıkla ile kontrol edildiği gösterilmiştir.

Ishii, Mamiya, Ikeda ve Winnik (2011) azobenzen sonlu poli(NIPAM)'ın sudaki çözeltisine dioksan ilave edip ardından ışık ile etkileştirilmesi sonucunda bulanık bir süspansiyondan berrak bir çözeltiye dönüşüm şeklindeki tersinir faz geçişini gözlemlemişlerdir (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. Oda sıcaklığında UV ile etkileşimi sonucunda azobenzen sonlu poli(NIPAM)'ın 1,4-dioksan (% 6 mol) ilavesi ile bulanık bir süspansiyondan berrak bir çözeltiye dönüşümü (Ishii, 2011)

Ueki ve diğerleri (2009) ise 4-fenilazofenil metakrilat ve benzil metakrilat birimlerinden oluşan kopolimer sentezlemişlerdir. Sentezlenen kopolimerin sulu çözeltisi yerine iyonik sıvıdaki çözeltisinde UV ışını ile etkileşimi sonrasında LCST değerinde değişim incelenmiştir. Ayrıca azobenzen grubu içeren rasgele poli(NIPAM) kopolimerinin iyonik sıvıdaki UCST değeri de araştırılmıştır. Türbidimetre ile belirlenen UCST'nin rasgele kopolimerdeki azobenzenin fotoizomerizasyonu yanında azobenzen bileşimine de bağlı olarak 43 °C kadar azaldığı görülmüştür (Şekil 2.17).

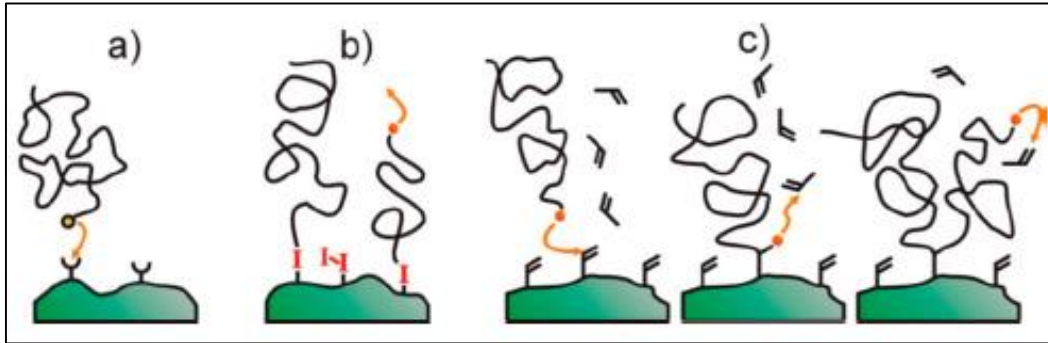
Son zamanlarda, hem adsorbente hem de adsorpsiyona dirençli özelliklere sahip malzemelerin ve arayüzlerin tasarımında kayda değer bir ilerleme sağlanmıştır. Bu ilerleme bir protein, hücre veya DNA katmanının geçici olarak tutunması, ardından belirli bir zamanda yüzeyden serbestleşmesi arzu edilen bir dizi uygulama alanı doğurmuştur. Sentetik arayüzlerdeki protein adsorpsiyonu ve desorpsiyonun kontrolündeki ilerlemelerin biyomalzeme, rejeneratif tıp, biyosensör, kromatografi ve ilaç salımı, aynı zamanda temel biyolojik araştırmalar gibi birçok uygulama alanında kullanılması beklenmektedir (Cole, 2009). Polimer zincirlerine bağlı suyun, moleküller arası hidrojen bağı vasıtasıyla protein ve yüzey arasındaki yakın moleküler teması engelleyerek proteinin uzaklaşmasından sorumlu olduğu kabul edilir. Aynı kabul hücre tutma/bırakma halinin kontrolü için de geçerlidir (Yu, 2010; Li, L., 2005).

2.7. Kontrollü/Yaşayan Serbest Radikal Polimerleşme Teknikleri

Polimer zincirinin bir ucunun bir yüzeye bağlanması ile polimer fırçalar oluşur. Polimer fırçaların yüzeye bağlanması fiziksel adsorpsiyon ya da kovalent bağlanma ile olur. Kovalent bağlanma, sıcaklık veya çözücü etkisi ile yüzeyden ayrılmaya dirençli olduğundan sıklıkla tercih edilir. Polimer zincirleri, kullanılan polimerleşme tekniğine bağlı olarak yüzeyde yaklaşık olarak eşit boyutta ve homojen dağılmış olarak düzenlenir. CRP teknikleri ile istenilen mol kütleinde, dar mol kütle dağılımında ve fonksiyonel uç gruba sahip farklı mimaride polimer fırçalar sentezlenir (Braunecker, 2007; Coessens, 2001; Cunningham, 2008).

Polimer fırçaların kimyasal adsorpsiyonu; yüzeyden (grafting from), yüzey boyunca (grafting through) ve yüzeye (grafting to) aşılama olmak üzere üç farklı yöntemle gerçekleştirilebilir (Gao, H., 2007; Henze, 2014; Ohno, 2006; Vogt, 2006). Yüzeye aşılama yönteminde, önceden sentezlenen fonksiyonel uç gruplu polimer zincirleri substrata kenetlenme, kondenzasyon veya radikalik tepkime ile kovalent bağlanır. Ayrıca fonksiyonel uç gruplu polimer zinciri aktif yüzeye fiziksel adsorpsiyon yöntemiyle de bağlanabilir. Ancak hacimli yan zincirlerin yavaş difüzyonu yüksek yoğunluklu polimer fırçaların hazırlanmasını engeller. Yüzeyden aşılama yönteminde ise makro başlatıcı yüzeye bağlanır ve yüzeyde başlatılan polimerleşme ile yüzeyde polimer zincirleri oluşturulur. ATRP ya da diğer CRP tekniklerinde başlatıcı polimer zincirlerinin büyümesinde anahtar rol oynar. Yaygın olarak kullanılan başlatıcılar genellikle geçiş metali/piridin ligantı ve

α -organik bromürdür (α -bromoketon gibi). Yüzeyde aşılama yönteminde yüksek bağlanma yoğunluklu ve daha kalın polimer fırçalar elde edilir. Yüzey boyunca aşılama yönteminde fonksiyonel asılı gruba sahip monomerler yüzeye bağlanır ve CRP tekniklerinden birisi kullanılarak polimerleşme başlatılır. Bu yöntemle yüzeyde ‘‘Y veya V’’ tipinde yüksek bağlanma yoğunluklu polimer fırçalar sentezlenir (Şekil 2.18). Ancak yan zincirlerin sterik etkisi ve polimerleşen grupların yapısı gereği yüksek polimerleşme derecesi (DP_n) ve düşük polidispersiteye sahip fırçalar sentezlemek oldukça güçtür.



Şekil 2.18. Katı yüzeylerde üç farklı kimyasal aşılama yöntemi ile başlangıç bağlanma basamağı ve zincir büyüme basamağının şematik gösterimi: (a) yüzeye (grafting to) aşılama, (b) yüzeyden (grafting from) aşılama (c) yüzey boyunca (grafting through) aşılama (Henze, 2014)

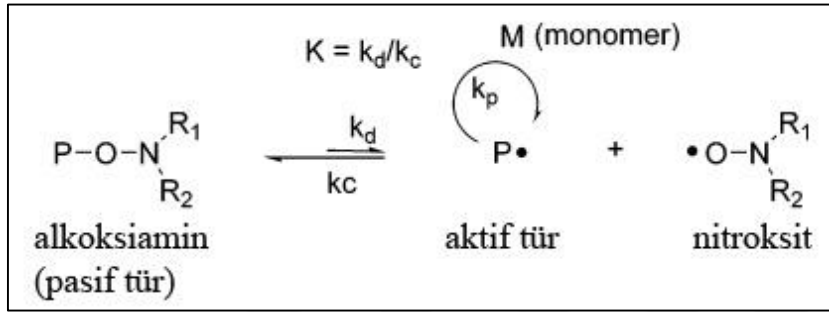
CRP teknikleri, istenilen bileşimde, zincir yapısında, mol kütlelerinde, düşük polidispersitede ve belli bir fonksiyonelliğe sahip polimerlerin sentezlenmesine imkân sağlar. CRP, biyokonjugatlar, organik/inorganik kompozitler ve yüzeye bağlı kopolimer fırçalar içeren malzeme tasarımında benzersiz fırsatlar sunar (Matyjaszewski, 2005). Üç tür CRP yöntemi vardır;

- Nitroksit Aracılı Polimerleşme (NMP),
- Atom Transfer Radikal Polimerleşmesi (ATRP),
- Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer Polimerleşmesi (RAFT).

Bu üç yöntem de polimerin mol kütlelerinin, mol kütle dağılımının ve polimer yapısının kesin olarak kontrol edilmesine olanak sağlar. Ayrıca, bu yöntemler ile nano parçacıklar veya düzlemsel yüzeyler üzerinde yüksek bağlanma yoğunluklu polimer fırçalar sentezlenir (Tsuji, 2006).

2.7.1. Nitroksit aracılı polimerleşme (NMP)

NMP metal içermemesi ve çeşitli fonksiyonelliğe sahip geniş spektrumda monomerlerin polimerleşmesinde etkili olması sebebiyle çok ilgi çekici bir CRP yöntemidir. Bu polimerleşme yöntemi ile ilave saflaştırma gerektirmeyen renksiz ve kokusuz polimerler sentezlenir. NMP işlemi pasif zincirlerin (alkoksiamin) kontrolü ile nitroksit grubundan tersinir büyüyen zincirlerin oluşumuna dayanır (Şekil 2.19). Bu denge pasif yöne doğru kaydığında aktif türlerin derişimi azalır ve tersinmez zincir sonlanması sınırlanır (Sciannamea, 2008).

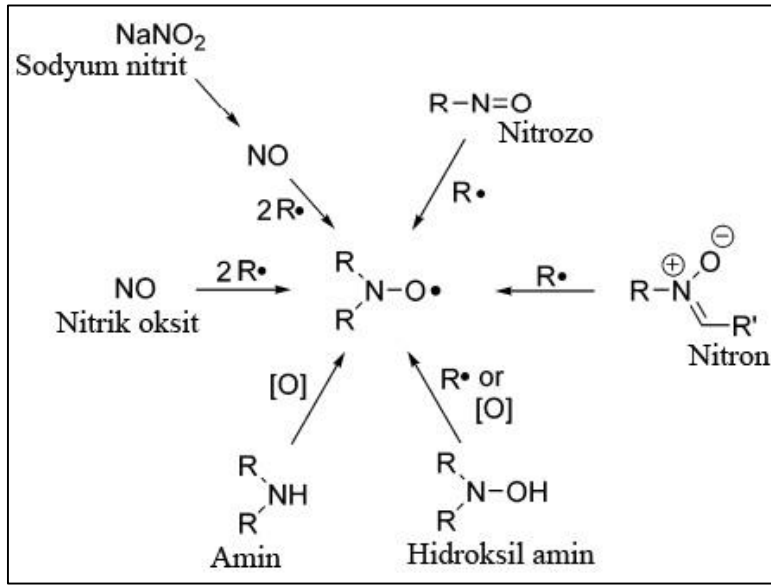


Şekil 2.19. NMP mekanizması (Sciannamea, 2008)

NMP’de bimoleküler veya unimoleküler başlatıcılar kullanılabilir. Bimoleküler başlatma, geleneksel bir serbest radikal başlatıcı (örneğin, benzoil peroksit (BPO) veya 2,2’-azobis (izobütironitril) (AIBN)) ile bir nitroksit (örneğin, 2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloksi) [TEMPO] bulunmasını gerektirir. Bu yöntem zayıf tanımlanmış yapılar ve başlangıç türlerinin derişimi ile sınırlıdır. Buna karşılık, iyi tanımlanmış bir unimoleküler başlatıcının, tipik bir alkilenmiş nitroksit veya alkoksiaminin ısı parçalanması, hem başlangıç radikalini hem de nitroksiti, 1/1 mol oranında serbest bırakır. Bu nedenle, başlatıcı verimi birim değere yakındır. Zincir uçlarının yapısı α -zincir ucunda tutturulmuş olan alkoksiaminin başlatıcı kısmı ve ω -zincir ucundaki nitroksit ile iyi tanımlanmıştır (Miura, 1999).

Başlangıçta TEMPO aracılı NMP, yavaş polimerizasyon (25-70 sa.), yüksek polimerleşme sıcaklığı (125-145 °C) ve sınırlı sayıda monomer türüne özellikle stiren ve türevlerine uygulanabildiğinden kullanım alanı oldukça sınırlıdır. NMP substitute TEMPO’ların keşfi ile akrilatlar da uygulanmıştır. NMP günümüzde çeşitli iyi tanımlanmış (ko)polimerlerin hazırlanması için son derece verimli olsa da, nitroksitlerin veya alkoksaminlerin varlığı ve maliyeti bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Aslında, alkoksiaminler genellikle bir

alkil radikalının, oluşan (genellikle çok aşamalı bir reaksiyon şeması ile) bir nitroksite bağlanmasıyla sentezlenir ve saflaştırılır. Alternatif olarak araştırmacılar polimerleşme ortamında, nitroksitlerin ve alkoksaminlerin ticari olarak temin edilebilir ve ucuz öncüllerden doğrudan oluşumunu tasarlamışlardır (Şekil 2.20). Hem başlangıç radikalleri hem de araçlar, *in-situ* nitroksit aracılı polimerleşme olarak adlandırılan tek işlem tekniğiyle (one-pot technique) üretilmiştir. Bu öncü moleküllerin çoğu, radikal polimerleşme durdurucuları olarak bilinir (Gyongyhalmi, 1994).



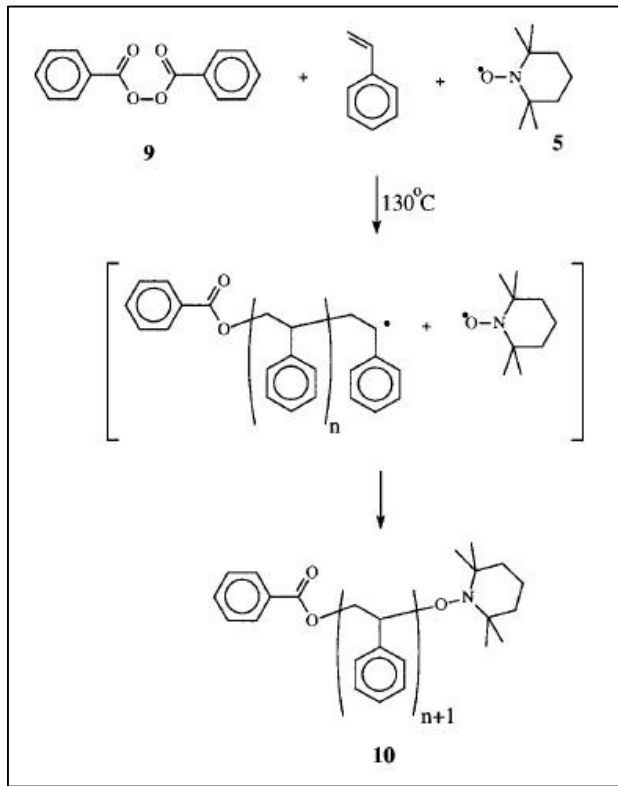
Şekil 2.20. Çeşitli nitroksit öncü molekülleri

Bimoleküler süreç

Yaşayan serbest radikal polimerleşmelerinin uygulanabilir bir sentetik metodoloji olduğunu geniş kitlelere gösteren bir kanıt, Georges grubunun (XEROX) düşük polidispersiteye sahip polistireni sentezlemeleridir (Georges, 1993). Bu çalışmanın temel özelliği, yüksek mol kütleli ve düşük polidispersiteli polimerlerin sentezlenmesidir. 1,3:1 oranında benzoil peroksit ve kararlı bir nitroksit olan TEMPO'dan oluşan bir sistem ile 130 °C'da mol kütlelerinin doğrusal olarak arttığı polistiren türevleri sentezlenmiştir (Şekil 2.21).

Yaşayan serbest radikal polimerleşmelerinin uygulanabilir bir sentetik metodoloji olduğunu geniş kitlelere gösteren ikinci katkı, düşük polidispersiteli polistireninin hazırlanmasını tarif eden XEROX'taki Georges grubunun çalışmasıdır (Georges, 1993). Bu çalışmanın temel özelliği, yüksek mol kütleli ve düşük polidispersiteli polimerlerin sentezidir. 1,3:1 mol

oranında benzoil peroksit ve stabil bir nitroksit, TEMPO içeren bir sistem ile 130 °C'da yaşanan bir süreçle, dönüşüm ile mol kütesinin doğrusal olarak arttığı bir polimerleşme gerçekleşmiştir. Daha da şaşırtıcı olanı; geleneksel serbest radikalik polimerleşme yöntemiyle sentezlenen polistiren türevleri için en düşük teorik polidispersite değeri olan 2,0'den daha da düşük değerler (PDI= 1,2-1,3) elde edilmiş olmasıdır. Yüksek sıcaklıklarda C-ON bağı kararsız hale gelir ve bu durumda düşük sıcaklıktaki polimerleşmelerde oldukları gibi bir radikal süpürücü olarak görev yapan değil, bir polimerizasyon aracısı olarak işlev gören nitroksiti serbest bırakır.

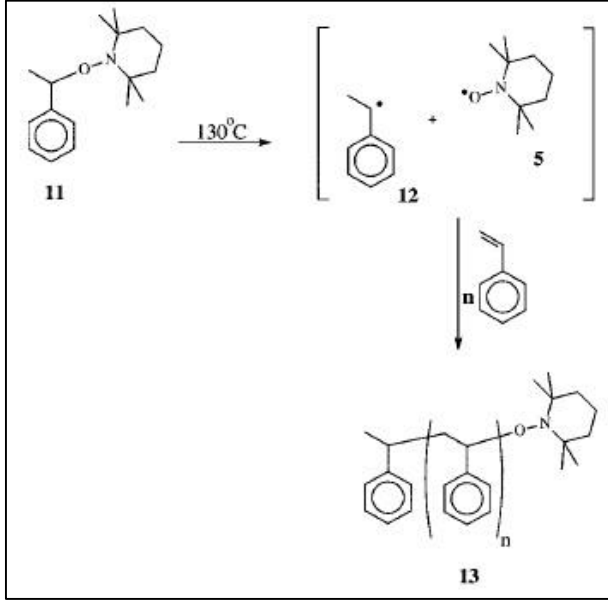


Şekil 2.21. Polistiren türevlerinin sentez mekanizması (Georges, 1993)

Unimoleküler başlatıcılar

Bimoleküler süreci başarılı olmasına rağmen, başlangıç türleri derişiminin bilinmemesi ve zayıf tanımlanmış olması gibi sorunlar içermektedir. Bu sebeple mol kütesi ve mimari gibi özelliklerin kontrollerinin sağlandığı unimoleküler başlatıcı sistemler geliştirilmiştir. Yaşayan anyonik ve katyonik süreçler esas alınarak nitroksit aracılı yaşayan serbest radikal polimerleşmeler için unimoleküler başlatıcılar sentezlenmiştir. Bu başlatıcılar baskın faz sırasında büyüyen zincir ucunda yer alan alkoksiaminin fonksiyonelliğine dayanmaktadır.

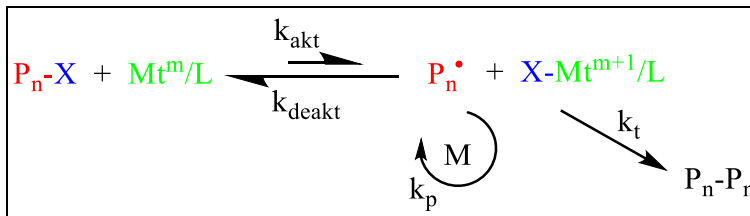
Küçük molekülü alkoksiamin türevinin ısı olarak kararsız olması sebebiyle ısıtmayla R-metil benzil radikali yanında aracı nitroksit radikalini vermek üzere ayrışması beklenir. Polimerleşmenin başlamasının ardından polistiren türevi vermek üzere tepkime daha önce tarif edildiği gibi bimoleküler olarak ilerler (Hawker, 2001).



Şekil 2.22. Unimoleküler başlatıcıların oluşumu (Hawker, 2001)

2.7.2. Atom transfer radikal polimerleşmesi (ATRP)

ATRP, baskın olarak alkil halojenürler/makromoleküller (P_nX) varlığında büyüyen makroradikaller ve sonlandırıcı türler arasındaki denge tarafından kontrol edilir (Matyjaszewski, 2012). ATRP birçok geçiş metal kompleksinin aracılık ettiği katalitik bir süreçtir (Cu^I/L ve $X-Cu^{II}/L$ en çok kullanılan geçiş metalleridir, bunların yanında Ru, Fe, Mo, Os... vb kullanılmaktadır (di Lena, 2010)).



Şekil 2.23. ATRP mekanizması (Matyjaszewski, 2012)

Geçiş metal kompleksi düşük yükseltgenme basamağında (Mt^m/L) aktivatör olarak davranır ve baskın tür ile belirli zaman aralıklarında tepkimeye girerek radikal ($P_n\cdot$) oluşumunu sağlar (Mt^m ; m yükseltgenme halindeki geçiş metal türünü, L ise ligantı simgeler.). Geçiş metalleri yüksek yükseltgenme basamağında deaktivatör olarak davranır ve tepkime baskın tür oluşturmak üzere tersine döner (Şekil 2.23).

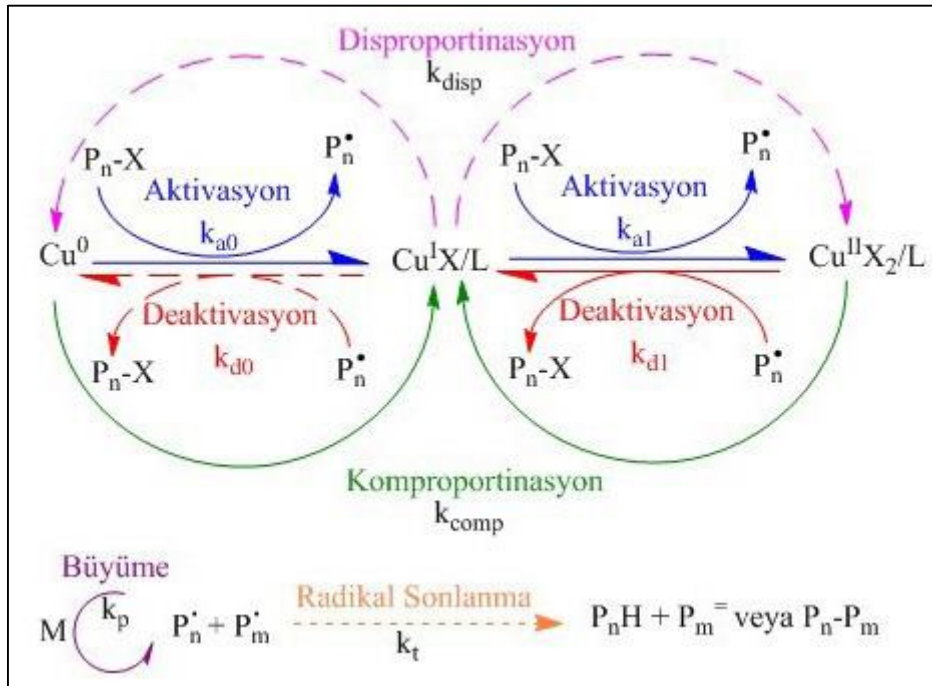
ATRP, radikal temelli bir yöntemdir ve radikallerin oluşma yoluna bağlı olarak çeşitli türleri mevcuttur. Bunlar;

- Tamamlayıcı Aktivatör ve İndirgeyici Ajan Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (SARA-ATRP)
- Tek Elektron Transferli Yaşayan Radikal Polimerizasyonu (SET-LRP)
- Elektron Transferi ile Üretilen Aktivatörler ile Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (AGET-ATRP)
- Işıkla Başlatılan Elektron Transferli-Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (PET-ATRP)

Tamamlayıcı aktivatör ve indirgeyici ajan atom transfer radikal polimerizasyonu (SARA-ATRP)

Cu^0 varlığında Tersinir-Deaktivasyon Radikal Polimerleşmesi (RDRP), karmaşık mimarilere sahip iyi kontrol edilmiş polimerler oluşturmak için kullanılabilecek çok yönlü bir yöntemdir. Yöntem kolay olmasına rağmen tepkime mekanizması literatürde hala tartışma konusudur. Hem tamamlayıcı hem de indirgeyici madde olarak metalik Cu^0 kullanan SARA ATRP, basitliği nedeniyle ilgi çekicidir. SARA ATRP'nin bir avantajı, tepkime hızının Cu^0 teli veya tozunun yüzey alanı değiştirilerek ayarlanabilmesidir. Ayrıca, polimerleşmeden sonra, kullanılmamış Cu^0 geri kazanılabilir ve tekrar kullanılabilir. SARA ATRP'nin bir sınırlaması, çözünür bakır türleri derişimlerinin sürekli artmasıdır. Bununla birlikte, artık metal derişimi tipik olarak 1000 ppm'nin altındadır. Bu yöntem, metakrilatlar, metakrilamitler ve stirenler dahil olmak üzere birçok monomerin polimerleşmesinde kullanılmıştır. İyi kontrol edilebilen polimerler elde etmek için her bir monomer sınıfı için uygun tepkime koşulları seçilmelidir.

SARA ATRP mekanizmasının merkezinde, alkil halojenürlerin ana aktivatörü olarak Cu^{I} ve deaktivatör olarak Cu^{II} 'nin meydana geldiği ATRP dengesi yer alır. Ek olarak, Cu^0 alkil halojenürleri yavaş yavaş aktif hale getirir ve Cu^{I} 'i oluşturmak için Cu^{II} ile birlikte işleme girer. Cu^{I} derişiminin oldukça düşük olduğu yüksek disproporlinasyon denge sabitli çözücülerde bile, disproporlinasyon kinetik olarak ihmal edilir. Bu sebeple, Cu^0 tamamlayıcı aktivatör ve indirgeyici ajan rolüne sahiptir. SARA ATRP'de, alkil halojenürlerin Cu^{I} veya Cu^0 ile aktivasyonu, dış kabuk elektron transferi (OSET) ile değil, iç kabuk elektron transferi (ISET) ile gerçekleşir. Metil metakrilatın DMSO'da SARA ATRP'sinde, görünen Cu^0 aktivasyon oran katsayısının azaldığını görülmüştür (Harrison, 2014). Tepkimenin yüzeyle ilgili olması nedeniyle Cu^0 aktivasyonunun zincir uzunluğu ve viskoziteden etkilenmesi olasıdır. Önerilen bir SARA-ATRP mekanizmasında alkil halojenürün ana aktivatörü Cu^{I} 'dir ve Cu^0 aktivasyon sırasında bir iç kabuk elektron transferi yaparak takviye edici aktivatör olarak davranmaktadır. SARA ATRP'de sonlanma başağında kaybedilen Cu^{I} türleri, orta ile yavaş tepkime hızlarında ortaya çıkan tamamlayıcı aktivatör ve indirgeme ajanı rolü olan Cu^0 yeniden oluşturulur (Şekil 2.24). Alternatif olarak, SET-LRP mekanizmasında ise, Cu^{I} türlerinin alkil halojenürleri aktive etmediği, ancak dış kabuk elektron transfer yoluyla “yeni oluşan” Cu^0 ve alkil halojenür arasında hızlı tepkimeden dolayı nispeten daha hızlı polimerleşmenin gerçekleştiği kabul edilir (Konkolewicz, 2013).



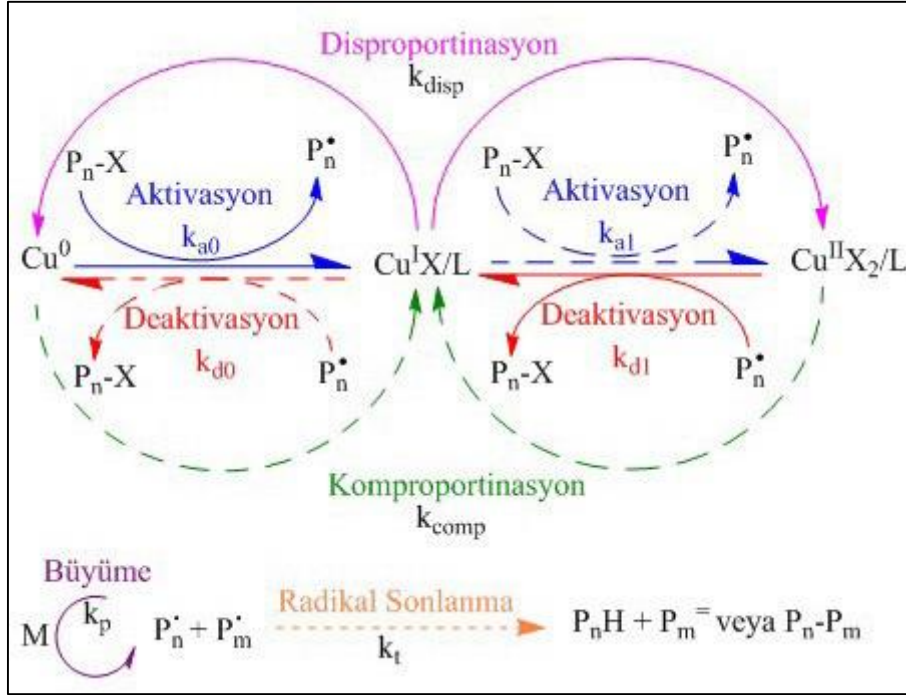
Şekil 2.24. Muhtemel SARA-ATRP mekanizması (Konkolewicz, 2013)

Tek elektron transferli yaşayan radikal polimerleşmesi (SET-LRP)

SET-LRP’de pasif zincirlerin aktivasyonu, Cu^0 varlığında dış kabuk elektron transfer işlemi ile aktif hale getirilen karbon halojenür bağının heterolitik kırılmasıyla olurken, büyüyen makroradikallerin tersinir deaktivasyonu $\text{Cu}^{\text{II}}\text{X}_2/\text{N}$ -ligant kompleksiyle sağlanmaktadır. ATRP mekanizmasında ise pasif zincirlerin aktivasyonu, $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{ligant}$ türünden bir iç küre elektron transferi ile karbon halojenür bağının homolitik kırılmasıyla gerçekleşmektedir (Guliashvili, 2007). Başarılı bir SET-LRP süreci, hem yenilenmiş aktivatör hem de deaktivatörü sağlamak için yerinde üretilen Cu^{I} ’in Cu^0 ve Cu^{II} ’ye disproporportasyonuyla ilgilidir. Bu amaçla DMSO, alkoller, farklı organik çözücüler ve sudan oluşan ikili çözücü karışımları tris(2-(dimetilamino)etil)amin ($\text{Me}_6\text{-TREN}$), tris(2-aminoetil)amin (TREN), pentametildietilentriamin ve poli(etilenimin) gibi N-ligantların kombinasyonunda yaygın olarak kullanılır. SET LRP, çevre dostu “yeşil” çözücülere dayalı bu gelişmiş sistemlerle, iyi tanımlanmış polimerlerin hızlı ve büyük ölçekli sentezi için potansiyel bir yol sunmaktadır.

Çoğu LRP yöntemi için gerekli anaerobik koşullar, endüstriyel uygulamaları sınırlar. Çok karmaşık malzemelerin üretiminde LRP’nin verimli bir şekilde uygulanması için standart deoksijenasyon süreçlerinin optimizasyonu gerekir. Tersinir oksidasyona eğilimli Cu^{I} türleriyle gerçekleştirilen uyuyan zincirlerin aktivasyonu kadar başlamada da oksijenin giderilmesi önemlidir. Bu sebeple, SET LRP’de Cu^{I} aktivatörü bulunmadığından oksijene karşı daha toleranslıdır.

SARA-ATRP ve SET-LRP mekanizmaları arasındaki temel farklar: (a) Alkil halojenürün Cu^0 ve Cu^{I} ile aktivasyonu için bağıl hızları, (b) aktivasyon süreci ile ilişkili elektron transferinin doğası, (c) disproporportasyon ve Cu^{I} ile aktivasyonun bağıl hızı (Cu^{I} ’in rolü), (d) komproporportasyon ve Cu^0 ile aktivasyonun bağıl hızı (Cu^0 ’ın rolü), (e) disproporportasyon-komproporportasyon dengesinin konumu ve dinamiğine dayanmaktadır (Şekil 2.24, 2.25). Homojen ARGET-ATRP yönteminin aksine, SARA-ATRP ve SET-LRP’nin ortak özelliği, sistemin heterojenliğine sebep olan Cu^0 varlığıdır. Heterojenite, Cu^0 ile aktivasyon, komproporportasyon ve hatta disproporportasyon gibi tepkimelerin, sistemin hacmine göre Cu^0 ’ın yüzey alanına bağlı olduğunu belirtir. Bu nedenle, belirli bir tepkimede ölçülen hız katsayıları, yüzey hacminden bağımsız hız katsayıları verecek şekilde Cu^0 (S) yüzeyinin çözeltinin (V) toplam hacmine oranıyla orantılı olmalıdır (Peng, 2013).



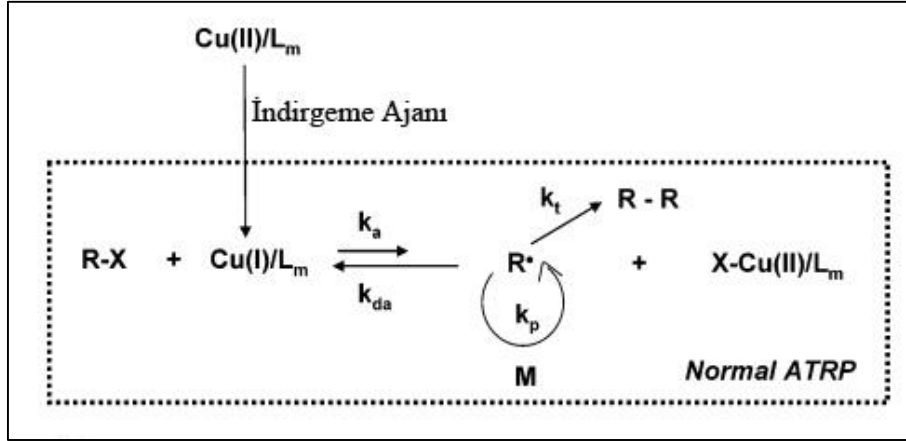
Şekil 2.25. Muhtemel SET-LRP mekanizması (Konkolewicz, 2013)

SARA-ATRP mekanizması temelde sıradan $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-Cu}^{\text{II}}$ katalizli aktivasyon-deaktivasyon süreçlerine sahiptir. Ancak Cu^0 varlığında SARA-ATRP'de ek daha yavaş tepkime basamakları mevcuttur. SARA ATRP'deki bu ek basamaklar, hem alkil halojenürlerin tamamlayıcı bir aktivatörü hem de Cu^{II} 'nin bir indirgeyici ajanı olarak görev yapan Cu^0 'ın ikili rolünden kaynaklanmaktadır. SARA-ATRP'de $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{II}}$ aktivasyon/deaktivasyon işlemleri sistemde baskındır ve en hızlı şekilde gerçekleşir. Diğer ATRP yöntemlerinde olduğu gibi, aktivasyon bir iç kabuk elektron transfer (ISET) mekanizması yoluyla olur. SET-LRP'nin aksine SARA-ATRP'de Cu^{I} 'nin kinetik olarak tercih edilmesinin sebebi disproportinasyon değil, alkil halojenürleri aktive etmesidir. Şekil 2.24 ve 2.25'de aynı kimyasal tepkimeler görülmektedir, ancak katkıları oldukça farklıdır. İki yöntem arasındaki muhtemel mekanizma farklılığına rağmen, bazı benzerlikler de vardır. Başlıca benzerlik ise Cu^{II} 'nin hızlı deaktivasyonuna karşın Cu^{I} 'in oldukça yavaş deaktivasyonudur. Bununla birlikte SET-LRP, mikroskobik tersinirlik ilkesini (PMR) ihlal ettiği için alışılmadık bir mekanizmadır (Matyjaszewski, 2007).

Elektron transferi ile üretilen aktivatörler ile atom transfer radikal polimerizasyonu (AGET-ATRP)

ATRP, çeşitli koşullar altında çok çeşitli monomerlerin polimerleşmesinde kullanılır. ATRP özellikle oksijene karşı oldukça hassastır, çünkü oksijen polimerleşmeyi sadece reaktif olmayan peroksi radikallerinin oluşumu ile değil aynı zamanda geçiş metali katalizörlerinin geri dönüşümsüz oksidasyonu ile de engelleyebilir. Bu sebeple tutarlı kinetik veriler elde etmek için özel deoksijenasyon işlemleri yapılmalıdır. Bununla birlikte, ATRP su içinde veya miniemülsiyonda oksijensiz bir ortam oluşturmak oldukça zordur. Diğer bir durum ise, havada kararlı Cu^{II} türleri ile bir tepkime karışımı hazırlamak, homojenasyon ve deoksijenasyondan sonra polimerizasyonu başlatmak için Cu^{I} formuna indirgemek çok daha kolaydır. Bütün bunlar AGET-ATRP kullanılarak gerçekleştirilir. İlk sınırlama ise Cu^{II} türünün organik başlatıcılardan üretilen (diazo bileşikleri gibi) radikaller ile indirgenmesi ve blok kopolimer sentezinde genellikle küçük miktarda homopolimer oluşmasıyla ilgilidir. AGET süreci bu problemin üstesinden gelir, çünkü indirgeyici ajanlar başlatıcı radikalleri oluşturmaz, sadece Cu^{II} 'yi Cu^{I} aktifleştirici türlere indirgemek için kullanılır. AGET-ATRP, deoksijenasyon gerektirmez ve ayrıca oksijen süpürücü görevi yapan fazla miktarda indirgeyici ajan varlığında gerçekleştirilebilir (Min, 2005, 2006; Hizal, 2006). Aktivatörler sürekli olarak elektron transferi ile yenilenirse yöntem AGET ATRP olarak isimlendirilir ve milyonda bir katalizör başına bile başarılı bir ATRP'ye yol açabilir.

Bu süreçte, normal başlatma için alkil halojenür eklenerek (R-X) oksidatif kararlı bir $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{L}_m$ öncü molekül ile askorbik asit veya kalay (II) 2-etilheksanoat gibi indirgeyici maddelerin tepkimesiyle aktif $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{L}_m$ katalizörü oluşturulur. Bu süreci daha sonra, Cu^{I} kompleksinin, bir deaktivatör $\text{X}-\text{Cu}^{\text{II}}/\text{L}_m$ ve bir aktif radikal ($\text{R}\cdot$) oluşturmak üzere uyuyan türlerle tepkimeye girdiği normal ATRP takip eder (Şekil 2.26). Bu süreç normal ATRP'nin tüm faydalarını ve tepkime karışımına ters ATRP'de olduğu gibi aynı anda ters ve normal başlatma (SR&NI) işlemlerinde olduğu gibi daha kararlı bir katalizör kompleksinin ilave edilebileceği avantajını da sağlar. Ayrıca, hem ters hem de SR&NI süreçlerinin aksine, AGET süreci saf blok kopolimerlerin sentezine izin verir. Bu yeni yöntem, stiren ve polar olmayan metakrilatlar gibi hidrofobik monomerlerin, hem miniemülsiyon hem de mikroemülsiyon polimerleşmesinin yanı sıra, kütle polimerleşmesinde de başarılı olmuştur.



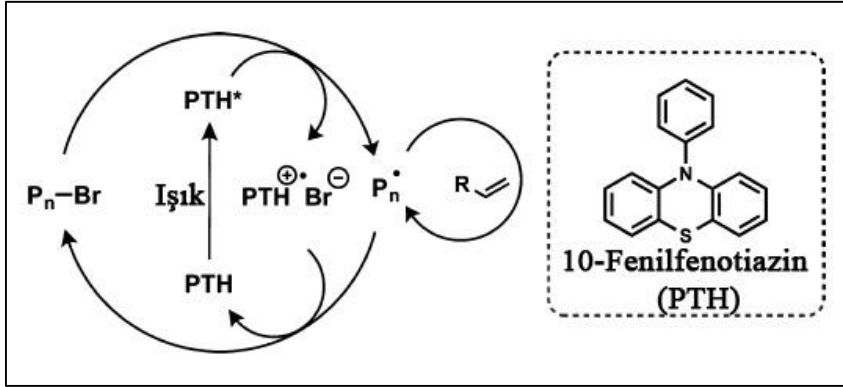
Şekil 2.26. AGET ATRP'nin normal ATRP yöntemi ile karşılaştırma mekanizması (Min, 2005)

Işıklı başlatılan elektron transferli-atom transfer radikal polimerizasyonu (PET-ATRP)

Kontrollü/yaşayan radikal polimerleşme yöntemlerinden ATRP, metal/ligant katalizörünün aracılık ettiği bir redoks denge sistemine dayanan ve en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Mikroelektronik, biyomalzemeler gibi çeşitli uygulamalar için ATRP'nin kullanılmasında kilit sınırlayıcı faktör metal kirliliğidir (Matyjaszewski, 2014). Bu nedenle ilk keşfinden bu yana ATRP için önemli bir odak noktası katalizör yüklemelerini düşürme ve artık metallerin giderilmesi yönünde olmuştur (Munirasu, 2009; Kwak, 2011).

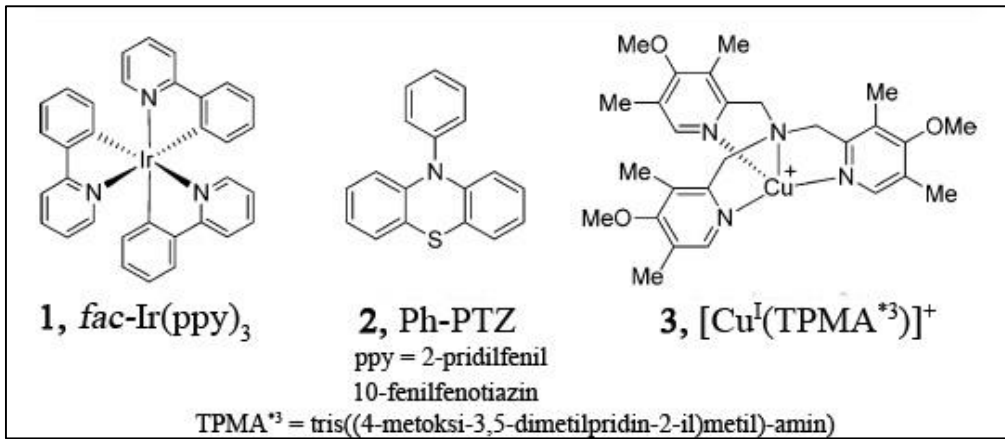
Son yıllarda Treat ve diğerleri (2014a) Ir-bazlı fotoredoks katalizörleri kullanarak metakrilat ve akrilatların ışık etkisi ile ATRP polimerleşmesini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.27). Bu sistem karmaşık 3-boyutlu nanoyapıların tek basamakta mükemmel uzaysal ve zamansal kontrolünü sağlar. Ancak ATRP'de olduğu gibi milyonda bir (ppm) seviyesinde metal katalizörün kullanımı bu sistemi pratik olarak sınırlar. Fotoredoks katalizörleri ile başlangıçta geçiş metalleri (iridyum, rutenyum gibi) kullanılsa da, organik katalizörlerin metal bazlı sistemlerden daha etkili olduğu ve daha fazla ilgi gördüğü ortaya konmuştur. Fenotiazin türevlerinin geleneksel ATRP sistemlerini benzer şekilde katalizleyen fotofiziksel özelliklere sahip olması, ucuz, kolay ulaşılabilir olması, fenotiazin türevlerini organik fotokatalizör sistemleri için uygun bir aday haline getirmiştir (Sun, 2004).

Treat ve diğerleri (2014b) ilk olarak metil metakrilatın (MMA) 380 nm dalgaboyundaki ışık altında oda sıcaklığında polimerleşmesi için ticari olarak satılan 10-metilfenotiazini (Me-PTH) kullanmışlardır. Teorik ve deneysel mol kütlesi arasında iyi bir uyum olmasına rağmen



Şekil 2.27. Metalsız ortamda katalizör olarak 10-Fenilfenotiazin ile ATRP polimerleşmesi için önerilen mekanizma (P_n = polimer zinciri) (Treat, 2014b)

mol kütlesi dağılımı üzerinde zayıf bir kontrol sağlanmıştır. Bu deneyler metalsız katalizör sistemi ile ATRP polimerleşmesinin gerçekleşebileceğini gösteren ilk kanıtlardır. Polimerleşmeyi kontrol edebilmek amacıyla bir seri deneyler gerçekleştirmişlerdir. Polimerleşme ışık, başlatıcı ya da katalizör yokluğunda tekrar edilerek aslında tepkimenin fotoredoks haline getirilmiş bir süreç olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca diğer organik temelli katalizörler (eosin Y ve metilen mavisi) kullanıldığında tepkime gözlenmemiştir (Şekil 2.28). Bu sonuç zincir ucundaki alkil bromürü indirgeyebilecek güçte bir katalizöre ihtiyaç olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.28. Fotoredoks katalizör 1 ve 2; geleneksel Cu-temelli ATRP katalizör 3 yapıları

2.7.3. Tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerleşmesi (RAFT)

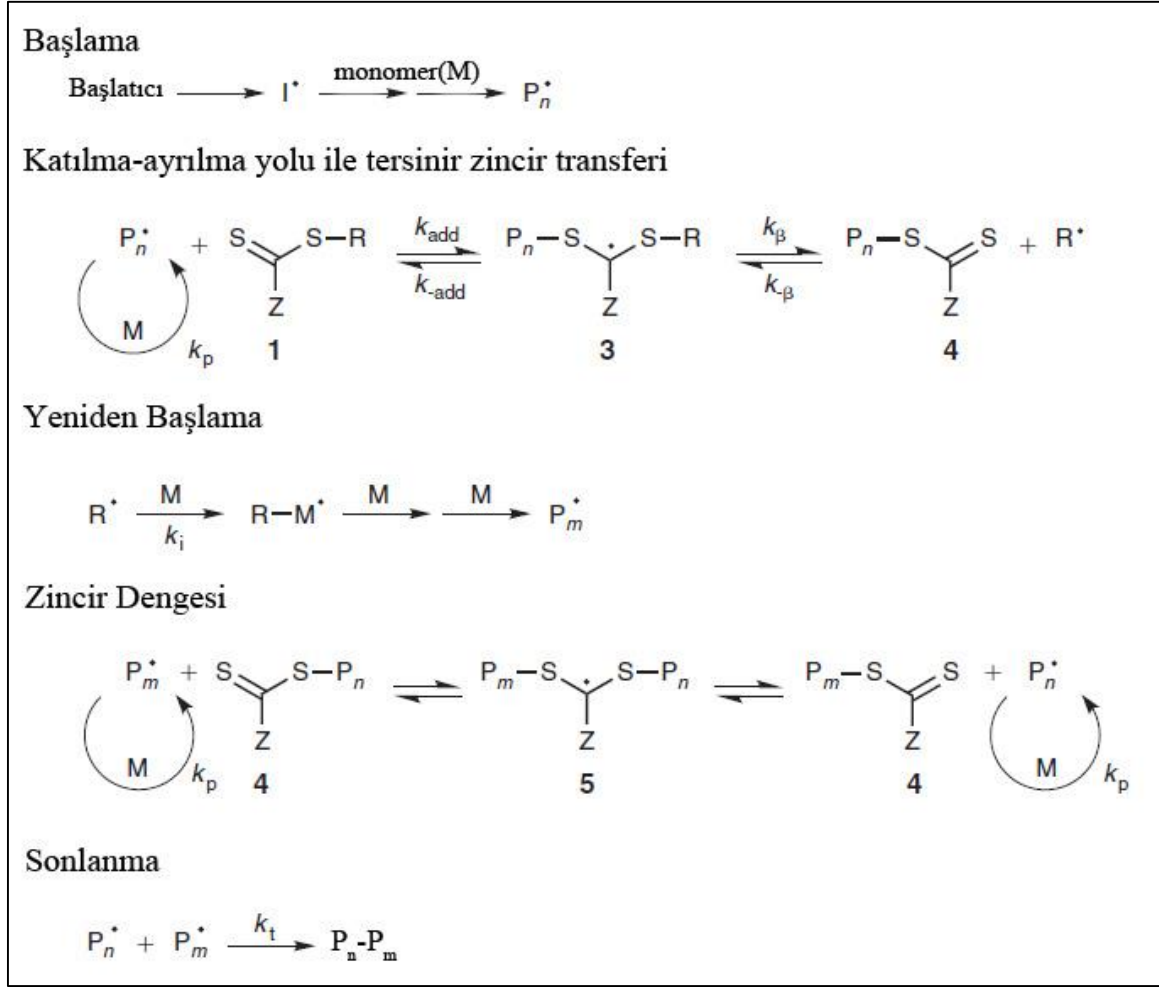
Bilinen serbest radikal polimerleşme ortamlarına uygun miktarda RAFT ajanı ilave edilerek Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer Polimerleşmesi yürütülebilir. Polimerleşmenin

başlangıcından monomerin tamamı tükeninceye kadar zincirlerin büyümesi radikalik süreçle devam eder. Mol kütlesi dönüşümle doğrusal olarak artar. RAFT polimerleşmesinde teorik mol kütlesi Eş. 2.1 ile hesaplanabilir:

$$\bar{M}_{n,th} = \frac{[M]_0}{[RAFT]_0 + [I]_0} \times M_m \times \text{Dönüşüm} \quad (2.1)$$

Bu eşitlikte $[M]_0$, $[RAFT]_0$ and $[I]_0$ sırasıyla monomerin, RAFT ajanın ve başlatıcının derişimleridir. RAFT polimerleşmesi ile elde edilen polimerlerin mol kütlesi dağılımı oldukça dardır ve istenilen mimaride (aşı kopolimer, mikrojel, yıldız vb.) polimerler sentezlenebilir (Moad, 2005).

RAFT kısaltması daha genel anlamda kullanılsa da tersinir katılma ayrılma zincir transferi şeklinde tepkimeye giren tiyokarboniltiyo bileşiklerinin varlığında yürütülen radikal polimerleşme yöntemi olsa da serbest radikal polimerleşme tekniği ile daha yakın ilişkilidir. Tek fark RAFT ajanın kullanılmasıyla olan mekanizma değişikliğidir. Aynı süreç ksantat RAFT ajanı içerdiğinde MADIX (ksantat değişimi ile makromoleküler tasarımı) olarak adlandırılır (Charmot, 2000). Tiyokarboniltiyo RAFT ajanı kullanılarak kontrollü/yaşayan radikal polimerleşmesi ilk kez 1998 yılında yayınlanan bir patentte tanımlanmıştır (Le, 1998). NMP ve ATRP mekanizmalarında polimer zincirinin büyümesi tersinir sonlanma ile kontrol edilirken, RAFT mekanizmasında ise tersinir zincir transferi tepkimesi zincirin büyümesini kontrol eden basamaktır. RAFT polimerleşmesi 5 basamakta yürür (Şekil 2.29).

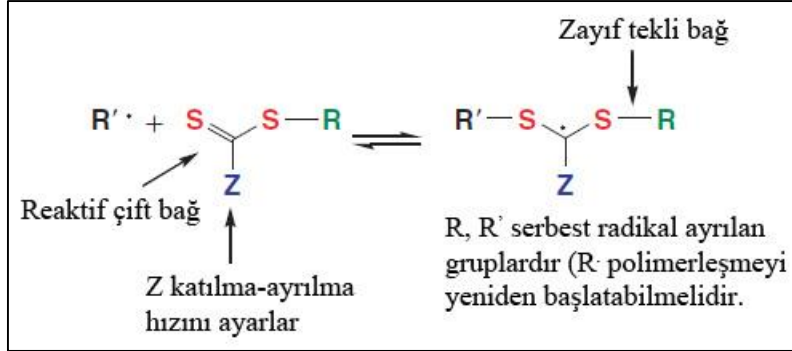


Şekil 2.29. RAFT polimerleşme mekanizması (Moad, 2005)

Başlama ve radikal-radikal sonlanma basamağı sıradan radikal polimerleşme mekanizmaları ile aynıdır. Aktif polimer zincirinin ($\text{P}_n^\bullet$) tiyokarboniltiyo bileşiğine [RSC(Z)=S , **1**] katılmasıyla polimerik tiyokarboniltiyo [$\text{P}_n\text{S(Z)C=S}$, **4**] bileşiği ve yeni bir radikal ($\text{R}^\bullet$) oluşturmak üzere ara-radikallerin parçalanması gerçekleşir. Radikalin ($\text{R}^\bullet$) monomer ile tepkimesi sonucu büyüyen radikalik zincirler ($\text{P}_m^\bullet$) oluşur. Aktif büyüyen zincir ($\text{P}_n^\bullet$ ve $\text{P}_m^\bullet$) ve pasif polimerik tiyokarboniltiyo bileşiği **4** arasındaki hızlı denge, bütün zincirlerin büyümesi için aynı fırsatı sunar ve polimerin dar polidispersiteye sahip olmasını sağlar. Polimerleşme tamamlandığında zincirlerin çoğu tiyokarboniltiyo uç grubuna sahiptir ve kararlı polimerler olarak izole edilebilir. RAFT polimerleşmesinde aktivasyon ve deaktivasyon dengesini zincir transfer tepkimeleri sağlar. Radikaller bu basamaklarda ne oluşur ne de yok olabilir. Serbest radikallerin polimerleşmeyi başlatması ve sürdürmesi için bir dış kaynağa ihtiyacı vardır.

RAFT ajanı seçimi

Çok sayıda tiyokarboniltiyo RAFT ajanı ($ZC(=S)SR$, 1) mevcuttur. RAFT ajanının etkinliği polimerleşen monomere, ayrılan R grubunun serbest radikalik özelliğine ve tiyokarbonil çift bağını aktive ya da deaktive etmek üzere seçilen Z grubuna bağlıdır (Şekil 2.30) (Chong, 2003).

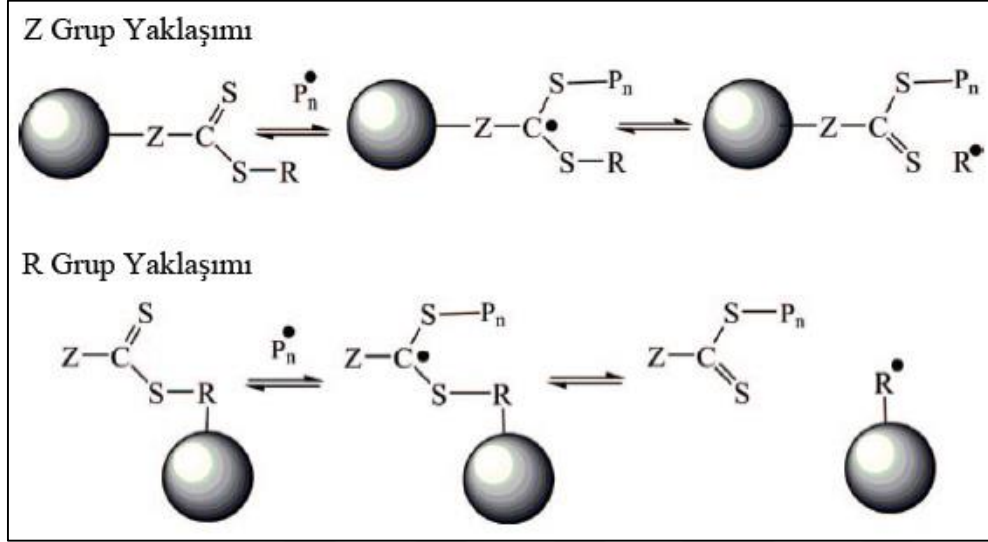


Şekil 2.30. Tiyokarboniltiyo RAFT ajanının yapısal özellikleri ve radikal ilavesi ile ara yapı oluşumu

Tersinir zincir transfer basamağında RAFT ajanının hızla aktif radikallerle tepkimeye girmesi istenir. Bu şekilde ayrılan R grubunun hızlı polimerleşmeyi yeniden başlatması ile polimerleşme hızının düşmesinin önüne geçilir. Ayrıca RAFT polimerleşmesinin en önemli basamağı olan zincir dengesi basamağında polimerik RAFT ajanının aktif radikal zincirleri ile hızlı tepkime vermesi ve zincirlerin eşit büyümesini sağlar. Bu nedenlerden dolayı RAFT ajanının yapısındaki R ve Z gruplarının etkisi incelenerek RAFT ajanı seçimi yapılır (Ganjeh-Anzabi, 2013). Z grubu radikal grupların tiyokarbonil ($C=S$) bağına kolayca bağlanmasını sağlarken, iyi bir homolitik ayrılma grubu olması gereken R grubu sayesinde, S-R bağı arasına yeni monomerler eklenebilir ve yeni polimer zincirlerinin oluşmasını sağlar. Tersinir zincir transferi mekanizması ancak bu iki grubun optimum aktifliği sayesinde ilerleyebilir (Moad, 2000).

R grubu yaklaşımı “yüzeye aşılama” tekniği gibidir; Z grubu yaklaşımı ise “yüzeyde aşılama” yaklaşımına benzer (Şekil 2.31). Z grup yaklaşımında aşılı polimer zincirlerin sayısı daha düşüktür. Bunun sebebi aşılı polimer zincirinin müteakip zincirlerin bağlanmasına engel teşkil etmesidir. Yüzeyde aşılama yönteminde yüzeye bağlı zincirlerin eklenmesiyle polimer zincirlerinin mol kütlesinin ve polidispersitesinin kontrolü daha zordur. Diğer taraftan yüzeye aşılama yaklaşımı monomer moleküllerinin substratın

yüzeyinde kolayca yayılabildiğinden polimer zincirlerinin polidispersitesi ve mol kütlelerinde daha iyi kontrol sağladığı gibi yüksek bağlanma yoğunluğuna izin verir. Z grubu yaklaşımı “yüzeye aşılama” yöntemi değildir, çünkü polimer zincirleri substrat yüzeyinden büyümmez (Roghani-Mamaqani, 2012).



Şekil 2.31. RAFT ajanının Z veya R grubu ile yüzeye bağlandığı iki farklı yüzey bağlama yaklaşımı (Roghani-Mamaqani, 2012)

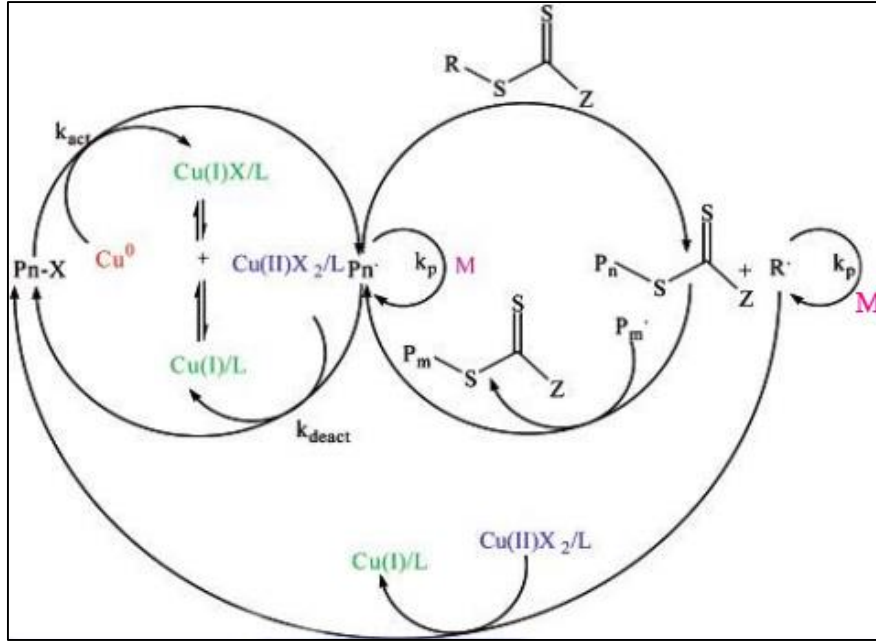
Başlıca RAFT polimerleşme türleri:

- Tek Elektron Transferli RAFT Polimerleşmesi (SET-RAFT)
- Işıklı Başlatılan Elektron Transferli RAFT Polimerleşmesi (PET-RAFT)
- Ayrışmalı Elektron Transferli RAFT Polimerleşmesi (DET-RAFT)

Tek elektron transferli RAFT Polimerleşmesi (SET-RAFT)

Cu^0 'ın RAFT ajanı ile beraber kullanıldığı LRP yöntemi SET-RAFT olarak isimlendirilir. Polimerleşme Cu^0 /ligant katalizörü varlığında bir alkil halojenür ya da yalancı-alkil halojenür (RAFT ajanı) tarafından başlatılır ve polimerleşme RAFT ajanı aracılığı ile yürür (Şekil 2.32). SET-RAFT veya SET-LRP'de Cu^0 (toz veya tel) inert atmosfer altında dikkatlice saklanmalıdır, çünkü oda sıcaklığında aerobik koşullara maruz kalması durumunda kendiliğinden Cu_2O 'e oksitlenebilir (Zhang, Q., 2012). SET-RAFT'ın ilk örneği Subramanian, Babu ve Dhamodharan (2008) tarafından yayınlanmıştır. Stirenin oda sıcaklığında çok yavaş olan polimerleşmesi rapor edilmiştir. Oda sıcaklığı ve daha yüksek

sıcaklıkta farklı bir monomer ilavesi ile blok kopolimerleri sentezlemiştir. Düşük sıcaklıklarda polimerleşme ısı çapraz bağlanma, zincir transferi, kendi kendine başlama ve diğer yan tepkimelerin daha az meydana gelmesi gibi çeşitli nedenlerden dolayı SET-RAFT polimerleşmesi avantajlıdır. SET-RAFT yöntemi oda sıcaklığında, kontrollü, basit ve alternatif bir polimer sentezi yöntemidir (Haridharan, 2010).

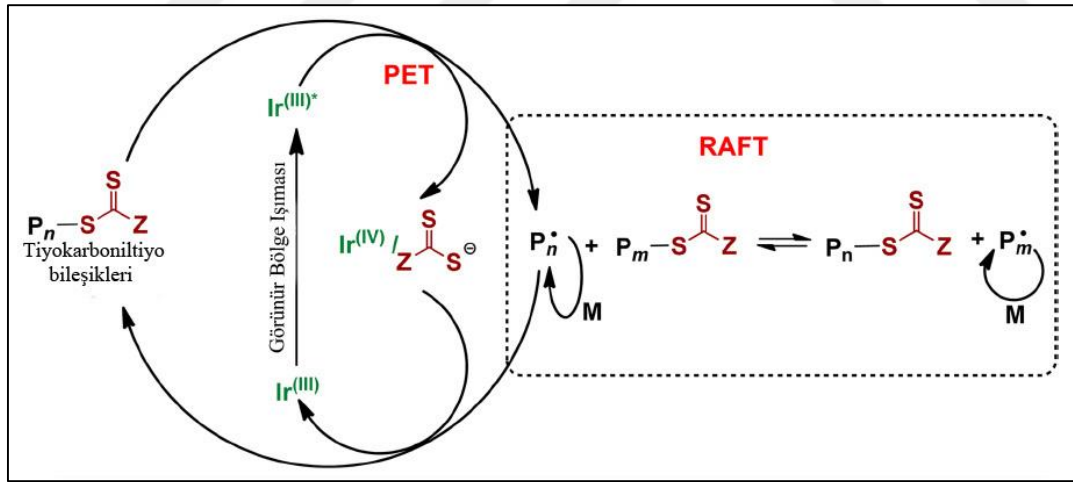


Şekil 2.32. Muhtemel SET-RAFT mekanizması (Subramanian, 2008)

Subramanian ve diğerlerinin (2008) önerdiği mekanizmaya göre RX (başlatıcı), monomer, Cu^0 ve CTA'yı içeren bir sistem içerisinde, başlangıç radikali $Cu^I X$ 'in oluşumuyla sonuçlanan SET başlatıcı kullanılarak $R-X$ 'ten (büyüme basamaklarında P_n-X) üretilir. $Cu^I X/L$ anında $Cu^{II} X_2$ ve Cu^0 'ya disproporportinasyon olur. Oluşan radikal ($R^\bullet$ veya $P_n^\bullet$), monomer ilavesiyle veya ya yeni bir CTA'lı polimer başlatıcı olarak CTA'nın R grubunu bir radikal olarak serbest bırakarak CTA'daki tiyokarbonil grubunu veya $Cu^{II} X_2/L$ 'yi kullanarak büyüyebilir. Bu mekanizmada avantaj, herhangi bir radikalın sonraki polimerleşme için yeni bir radikal ve yeni bir CTA formu için, CTA (RAFT'da kontrol edici ajan) veya $Cu^{II} X_2/L$ (geleneksel ATRP'de kalıcı radikal) ile tepkime yoluyla deaktivasyon olasılığına sahip olmasıdır. Bu, halojen ve ditiyokarbonil uç gruplarının bir karışımı olan polimer oluşumuna da sebep olabilir.

Işıklı başlatılan elektron transferli RAFT polimerleşmesi (PET-RAFT)

Fors ve Hawker (2012) ilk kez iridyum temelli bir foto-redoks katalizör eşliğinde görünür ışık altında atom transfer radikal polimerleşmesini gerçekleştirmişlerdir. Bu tepkimelerde fotoredoks katalizörü dayanıklılık, uygulanabilirlik ve görünür bölge ışınlarına karşı aktiflik açısından önemli bir rol oynar. En popüler katalizörler, güçlü ışık absorpsiyonları, uzun ömürleri ve yüksek kararlılıkları nedeniyle geçiş metal kompleksleridir. Ancak pahalı ve kullanımları toksik olması sebebiyle sınırlıdır. Son zamanlarda, organo-fotokatalizörler düşük maliyet, kolay bulunabilirlik ve düşük toksisite nedeniyle bu metalik katalizörlere bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Farklı absorpsiyon kapasitesine sahip organik boyar maddelerin, sentetik dönüşümler için fotoredoks katalizde oldukça etkili olduğu kanıtlanmıştır (Nicewicz, 2013). PET-RAFT polimerleşmesi inert ortama ihtiyaç olmadan, çok düşük katalizör derişiminde dahi düşük polidispersiteye sahip polimerlerin sentezine olanak sağlamıştır (Xu, 2015). Kullanılan fac-[Ir(ppy)₃] ve Ru(bpy)₃C1₂ gibi bir foto-katalizör ve RAFT ajanı arasındaki bir elektron transferi RAFT polimerleşmesini aktive eder (Şekil 2.33).

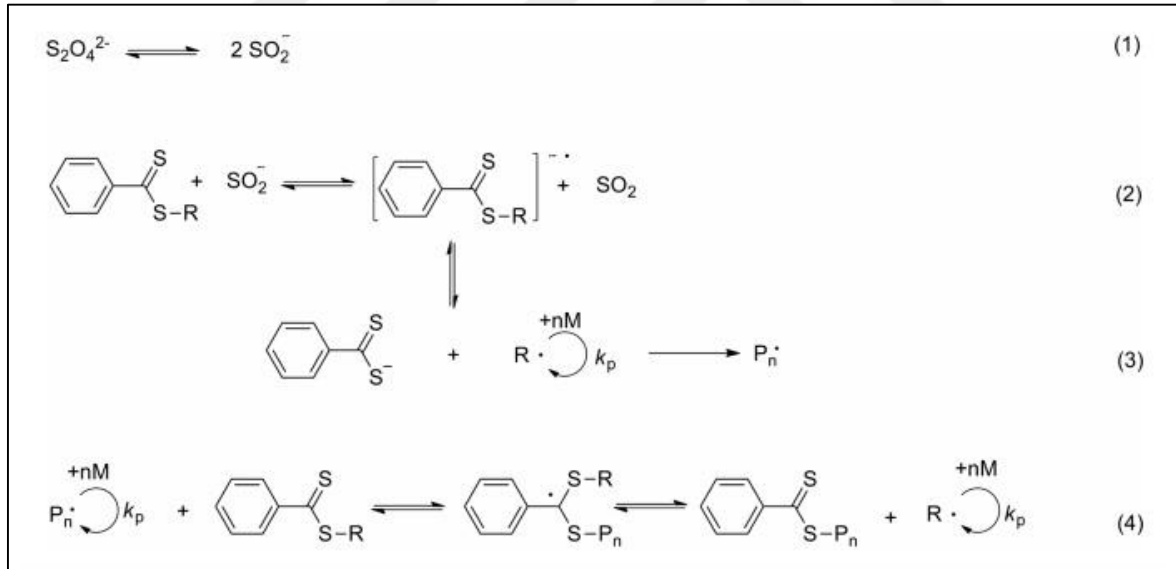


Şekil 2.33. Muhtemel PET RAFT mekanizması (Shanmugam, 2014).

Ayrışmalı elektron transferli RAFT polimerleşmesi (DET-RAFT)

Maximiano ve diğerleri (2016) iyi tanımlanmış polimerleri elde etmek için mevcut SET-RAFT polimerleşmelerinde kullanılan geleneksel katalitik sistemlerin yerine sodyum sülfidlerin kullanıldığı, geçiş metali içermeyen bir SET-RAFT sistemi hazırlamışlardır. Çalışmada üç farklı sodyum sülfidi (sodyum ditiyonit, Na₂S₂O₄; sodyum metabisülfid,

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ve sodyum bisülfid, NaHSO_3) test etmişlerdir. Ayrıca bu yeni sistemin sağlamlığını ve çok yönlülüğünü değerlendirmek için farklı monomerler ve tepkime koşulları kullanmışlardır. Bu yeni yöntemin mekanizmasında, ditiyonitin ayrışarak oluşturduğu 2SO_2^- iyonunun RAFT ajanına elektron transferiyle RAFT ajanından kararlı bir anyon radikali oluşumu ve bunun di (veya tri) tiyokarboksilik asit anyonuna parçalanması ve serbest radikal oluşturduğu düşünülmektedir. Bu işlemi metal katalizli SET-RAFT işleminden ayırmak için DET-RAFT (Ayrışmalı Elektron Transferli RAFT) olarak isimlendirmişlerdir. Maximiano ve diğerleri (2016) RAFT polimerleşmesinde başlama basamağının RAFT ajanının (veya poli-RAFT'ın) indirgeyici bölünmesine dayandığına inanmışlardır (Şekil 2.34). Sülfid elektron vericisinden bir elektron aktarımı, RAFT ajanından kararlı anyon radikali oluşumuna yol açar, bu daha sonra başlatıcı radikale $\text{R}\cdot$ ve Ph-C(S)-S(-) anyonuna parçalanabilir. Ditiyonit anyonunun SO_2^- iyonuna ilk ayrışması fotokimyasal değil, ısı olarak gerçekleştirilebilir. Işığın varlığında veya yokluğunda yapılan polimerleşmelerde benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür.



Şekil 2.34. SET destekli oluşumun genel mekanizması ve dithioester esaslı RAFT ajanından radikal anyona bozunması (Maximiano, 2016)

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Silisyum (100, *n*-tipi) diskler, (yaklaşık 0,5 mm kalınlığa 10-30 Ω cm öz dirence sahip, üst kısmı parlatılmış, alt kısmı ise aşındırılmış) Shin-etsu (Handoutai, Japan) firmasından temin edilmiştir. (3-aminopropil) trietoksisilan (APTES, % 99,0), di-tert-bütül dikarbonat (di-*t*-BOC, % 99,0), 2-bromobutiril bromür (BIBB, % 98,0), *N,N*-dimetilasetamit ($\geq$ % 99,0), fenil fenotiazin ($\geq$ % 99,0), 3-maleimido propiyonik asit ($\geq$ % 98,0), *N,N*-dimetilasetamit ($\geq$ % 99,0), *N*-hidroksisüksinimit (NHS, % 98,0), 2-(dodesiltiokarbonotiyazolil)-2-metilpropiyonik asit (DDMAT, % 98,0), disikloheksilkarbodiimit (DCC, % 99,0), (*N*-[4-[(4-nitrofenil) azo] fenil] akrilamit (NPAPAA), ve 4,4'-azobis (4-siyanovalerik asit) (ACVA, $\geq$ % 98,0), dietil eter (% 99,0), kloroform (% 99,0), sodyum bikarbonat ($\geq$ % 99,7), sodyum klorür ($\geq$ % 99,0), magnezyum sülfat ($\geq$ % 98,0), dimetilformamit (DMA, $\geq$ % 99,5), potasyum etil ksantogenat (% 96,0), metanol (% 99,9), 1,2-etanditiol ($\geq$ % 98,0), 1,4-dioksan (susuz, % 98), trietilamin (TEA, $\geq$ % 99,5), kloroform (% 99,0), tolüen (% 99,8), aseton ($\geq$ 99,8), trifloroasetik asit (% 99,0), diklorometan (susuz, $\geq$ % 99,8) ve amonyum hidroksit (NH₄OH, % 25) 2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT, % 98,0) Aldrich firmasından satın alındı. 2-(2-metoksietoksi) etil metakrilat (MEO₂MA, % 95,0) kullanımdan önce bir aktif bazık alümina kolonundan geçirildi. *N,N*-dimetilformamit (DMF, susuz, % 99,8, Aldrich) CuSO₄ üzerinde damıtıldı.

Sitotoksosite deneyi ISO 10993-5 standardında belirtildiği şekilde yapıldı. Bu kapsamda standart olarak önerilen bir hücre tipi olan L929 fare fibroblast hücre dizisi (pasaj 30), % 10 fetal sığır serumu (FBS) (Gibco, USA) ve % 1 antibiyotik-antimikotik (ThermoFisher, Almanya) ile katkılanmış Dulbecco'nun modifiye Eagle's ortamında (Biochrom, Almanya) kültüre edildi. 3-(4,5-dimetiltiyazolil-2)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) (Sigma Aldrich, Almanya) alındığı gibi kullanıldı.

3.2. APTES- BIBB Sentezi

2,25 mL trietilamin içeren 20 mL tolüen çözeltisine 0,81 mL APTES ilave edilerek bir balon içerisinde karıştırıldı. Karışım buz banyosuna alınarak, 3,6 mL 2-bromoizobütiril bromür (BIBB) içeren 10 mL tolüen çözeltisi yavaşça ilave edildi. Elde edilen karışım oda

sıcaklığında 12 saat karıştırıldı. Oluşan partiküller santrifüj ile ayrıldı, aseton ile yıkandı ve vakum etüvünde 24 saat kurutuldu (Wang, 2011).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,4 (s, 9H, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$); 1,9 (s, 2H, $-\text{CH}_2$); 3,2 (m, 7H, $-(\text{CH}_2)$, $-\text{CH}_3$) ; 4,6 (s, 1H, $-\text{NH}$).

3.3. APTES- *t*-BOC Sentezi

2,64 mL APTES'in 30 mL kloroformdaki çözeltisine 1,5 g NaHCO_3 çözeltisi yavaşça eklendi. Ardından 3,2 g NaCl ve 3,6 g di-*ter*-butil dikarbonat (di-*t*-bdc) kloroform (5 mL) çözeltisi ilave edildi ve 90°C 'de 3 saat karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına soğutulup 24 saat karıştırıldı. Karışım kloroform ile ekstrakte edilip susuz MgSO_4 ile kurutuldu (Zhang, X., 2008).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,6 (d, 2H, $-\text{CH}_2-$); 1,3-1,7 (m, 16H, CH_2 , $-\text{CH}_3$); 3,1 (s, 2H, $-(\text{CH}_2)$); 4,6 (s, 1H, $-\text{NH}$).

3.4. APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC Moleküllerinin Silisyum Substrata Bağlanması

Silisyum disk yüzeyler UV-ozon Cleaner (Model 42, ABD) sisteminde 3,0 dakika bekletilerek organik kirliliklerden temizlendi. Daha sonra piranha çözeltisinde ($V_{\text{H}_2\text{SO}_4 (\text{mL})} : V_{\text{H}_2\text{O}_2 (\text{mL})} = 7 : 3$) 1,0 dakika oda sıcaklığında bekletilerek hidroksil sonlu (Si-OH) yüzey elde edildi.

Toluen (99 mL) içerisinde hazırlanan APTES-*t*-BOC ve APTES-BIBB karışımı ($X_{\text{BIBB}} (\text{çöz.}) = 0,85$) kendiliğinden düzenlenme yöntemi (SAM) ile Si-OH substrat yüzeyine bağlandı. Substrat önce toluen, daha sonra diklormetan ile yıkandı ve azot gazı ile kurutuldu.

3.5. Işıklı Başlatılan PET-ATRP ile Sıcaklık Duyarlı Poli(MEO_2MA) Birimlerin Sentezi

2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat (MEO_2MA) monomeri inhibitörün uzaklaştırılması için alümina kolondan geçirildi. MEO_2MA monomer (3,0 mL; 14,0 mmol), BIBB serbest başlatıcı (1,7 mL; 0,14 mmol), *N,N*-dimetilasetamit (DMA, 1,0 mL), fenil fenotiazin fotokatalizör (PTH, 5,0 mg; 0,0037 mmol), Si-APTES-*t*-BOC/-APTES-BIBB bağlı substrat

($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})=0,85$) bu çözeltiye atılarak sistemden 5 dakika azot gazı geçirildi. Manyetik balık silisyum yüzeye çarpmayacak şekilde cam balona yerleştirildi. Cam balonun altına yaklaşık 1,0 cm uzaklığına 405 nm'lik ışın kullanılarak 8 saatte oda sıcaklığında polimerizasyon gerçekleştirildi. Si-poli(MEO₂MA) substrat dimetilformamit (DMF) ile yıkanarak azot gazı ile kurutuldu. Çözeltide oluşan ‘serbest’ poli(MEO₂MA) ise DMF de çözöldü ve soğuk dietil eter ile çöktüröldü.

3.6. Si-poli(MEO₂MA) Birimlerine 3-Maleimido Propionik Asitin Bağlanması

Si-poli(MEO₂MA) substrat ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})=0,85$), potasyum etil ksantogenat (0,30 g) ve DMF'nin (8,0 mL) bulunduğu 50 mL'lik balondan 5 dakika azot gazı geçirildi. Reaksiyon çözeltisi oda sıcaklığında 12 saat karıştırıldı. Çözeltiye 1,2-etanditiyol (1,0 mL) şırınga ile ilave edildi. Çözelti pembeye dönüştü. Çözelti 2 saat karıştırıldıktan sonra substrat alınarak metanol ile yıkandı (Iskin, 2011).

Si-poli(MEO₂MA)-SH sonlu substrat, 1,4-dioksan (5,0 mL) ve trietilamin (TEA, 50 µL) ve 3-maleimido propionik asitin (MPA) (9,0 mg) bulunduğu 50 mL'lik bir balona yerleştirilerek çözeltiden 5 dakika azot gazı geçirildi. Reaksiyon oda sıcaklığında 24 saatte gerçekleştirildi. Elde edilen Si-poli(MEO₂MA)-MPA substrat eter ile yıkanarak, azot gazıyla kurutuldu (Li, M., 2008).

3.7. Si-poli(MEO₂MA)-MPA substratlarda Arayüz Aracılı RAFT Polimerleşmesi ile Işık Duyarlı poli(N-[4-[(4-nitrofenil)azo]fenil]akrilamit) Biriminin Sentezi ile Karışık Polimer Fırçaların Oluşturulması

Silisyum substrat yüzeyinde -poli(MEO₂MA)-MPA birimleri yanında bulunan -APTES-*t*-BOC birimlerindeki *t*-BOC koruyucu grubun uzaklaştırılması için substrat önce trifloroasetik asit:diklorometan (50 mL) çözeltisi içerisinde 1 saat, daha sonra %10'luk NH₄OH (v/v) çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletildi. Koruyucu grup uzaklaştırıldıktan sonra substrat, *N*-hidroksisüksinimit (NHS, 1,88 mmol), DDMAT RAFT ajanı (CTA, 1,25 mmol) ve disikloheksilkarbodimit (DCC, 1,88 mmol) içeren susuz diklorometan (DCM, 50 mL) çözeltisine konup karanlıkta 24 saat 25°C'de reaksiyona sokuldu. Daha sonra RAFT ajanı bağlı substrat DCM ve aseton ile yıkandı, vakum etüvünde kurutuldu.

-poli(MEO₂MA)-MPA ve -APTES-CTA karışık birimleri içeren silisyum substrat, NPAPAA monomeri (40 mmol) ve serbest CTA (0,5 mmol) içeren toluen (12 mL) çözeltisine kondu. Çözeltiden yaklaşık 5 dakika azot gazı geçirildikten sonra 1,0 mL toluende çözünmüş ACVA (0,5 mmol) çözeltisi enjekte edildi ve polimerleşme 8 saat 80°C’de yürütüldü. Polimerleşmeden sonra silisyum substrat yüzeyinde -poli(MEO₂MA)-MPA/-poli(NPAPAA) karışık fırçalar oluştu. Karışık polimer fırça içeren silisyum substrat asetonla yıkandı ve vakumda kurutuldu. Aynı işlemler yukarıdaki süreçler için farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan yüzeyler (χ_{BIBB} (çöz.)= 0,00; 0,25; 0,50; 0,75; 0,85 ve 1,00) için de yapıldı.

3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

MC3T3-E1 fare pre-osteoblast hücre dizisi Alt klon 4 (ATCCVR CRL-2593TM, Manassas, VA), % 10 FBS (v / v), 2 mM L-glutamin, % 1 (v/v) antibiyotik-antimikotik (10,000 ünite/mL penisilin, 10,000 µg/mL streptomisin ve 25 µg/mL Gibco Amphotericin B içeren Alfa Minimum Besin Ortam (MEM-α) içinde kültürlendi. Poli(MEO₂MA/Poli(NPAPAA) karışık fırça içeren silisyum substrat ((χ_{BIBB} (çöz.)=0,85), 1,5x2,0 cm²) 2 saat %70 (v/v) etanol kullanılarak steril edildi. Daha sonra 80 µL kültür ortamında substrat yüzeyine 12x10⁴ hücre ekildi. 24 saat sonra 10 mM b-gliserol fosfat ve 50 mg/mL L-askorbik asit içeren farklılaştırma ortamı, hücre tabakasının elde edilmesi için her bir kuyucuğa ilave edildi ve hücreler 10 gün süreyle kültürlendi (Tevlek, 2018). Kültür ortamının yarısı, kültür dönemi boyunca her 2 günde bir yeniden değiştirildi.

3.8.1. Hücre tabakalarının eldesi

Hücre tabakalarının elde edilmesi hem sıcaklık değişimi hem de UV ışını etkisi ile ayrı ayrı incelendi. Bu bağlamda, sırasıyla hücrelerin ayrılma ve bağlanma süreçleri gözlemlendi. Sıcaklık değişimi yöntemi için, 10 günlük inkübasyonun sonunda kuyucuklardan kültür ortamı uzaklaştırıldı. Daha sonra hücre ölümünü engellemek için substrat yüzeyine oda sıcaklığında 50 µL kültür ortamı ilave edildi ve substrat daha önce sıcaklığı 20°C’ye ayarlanmış inkübatöre yerleştirildi. Hücre tabakalarının substrat yüzeyinden geri kazanımı 10 dakika boyunca izlendi ve sıcaklığın 20°C’a düşürülmesi ile hücre tabakalarının elde edilmesi için 10 dakikanın yeterli olduğu gözlemlendi. Hücre tabakalarının yüzeyden ayrılmasını takiben, substrat kuyucuklardan uzaklaştırıldı ve daha sonra elde edilen hücre

tabakaları, katlanma ve kıvrılmaları önlemek için pipetleme işlemi ile kültür kabı yüzeyine hafifçe yayıldı. Daha sonra, 200 μL kültür ortamı kuyucuklara ilave edildi ve hücre tabakalarının kültür tabakasına yapışması için inkübatörün sıcaklığı 37°C 'ye ayarlanarak 1 saat boyunca inkübe edildi.

UV ışınlama yöntemi için de kültür ortamı uzaklaştırıldıktan sonra 37°C 'ye önceden ısıtılmış 50 μL kültür ortamı substrat yüzeyine eklendi. Daha sonra substrat, sıcaklık düşüşünü önlemek için 10 cm'lik bir kültür tabağında 37°C 'a ayarlanmış bir sıcak plaka üzerine yerleştirildi. 366 nm dalga boyuna sahip UV ışık kaynağı (Camag, ABD) substrat yüzeyinin 2 cm üzerine yerleştirildi. Hücre tabakalarının substrat yüzeyinden geri kazanımı, her 5 dakikada bir 30 dakika boyunca izlendi ve UV ışınması ile hücre tabakalarının elde edilmesi için 30 dakikanın yeterli olduğuna karar verildi. Sonunda, geri kazanılmış hücre tabakaları, yukarıda tarif edildiği gibi tekrar kültür kabının yüzeyine yapıştırılması işlemine tabi tutuldu.

3.8.2. Hücre tabakası hazırlama ve ayrılması çalışması

Hücre tabakalarının substrattan ayrılması ve yeniden bir substrata tutunmasının etkinliği, floresan özelliği olan (Leica, Wetzlar, Almanya) bir mikroskop ile araştırıldı. Substrat yüzeyindeki hem ayrılmış hücre tabakalarının hem de kalan hücrelerin canlılığını değerlendirmek için, akridin oranj (AO)/propidyum iyodür (PI) ikili boyama yöntemi kullanıldı. Önceden hazırlanmış 25 $\mu\text{g/mL}$ AO ve 25 $\mu\text{g/mL}$ PI stok çözeltileri bir falkon tüp içinde 1:1 (v/v) oranında karıştırıldı. Daha sonra, malzemeler 30 saniye boyunca 500 μL boya karışımına tabi tutuldu. Ardından, boya çözeltileri kuyucuklardan atıldı ve boyanmış hücreler 20 saniye boyunca 1 mL PBS ile yıkandı.

Son olarak, FITC ve Rodamine filtreli (Leica DM IL Led, Hollanda) faz kontrast mikroskobu altında gözlemlenecek substratlara gliserol:fosfat tampon salin (PBS) (1:1 v/v oranında) içeren gömme ortamı uygulandı. Tüm görüntüler 10X büyütme altında kaydedildi. Ayrılan hücrelerin % başarısını hesaplamak için, 10 farklı rastgele seçilmiş alandan görüntüler elde edildi. Elde edilen hücre tabakalarının görüntülerindeki toplam hücre sayısı ve malzeme yüzeyinden geri alınamayan hücrelerin sayısı bir görüntü işleme programı (ImageJ 1.44 yazılımı) kullanılarak sayıldı. Malzeme yüzeyinden ayrılan hücrelerin yüzdesi Eş. 3.1 kullanılarak hesaplandı ve veriler ortalama $\pm$ SD'li olarak rapor edildi:

$$\% \text{ Hücre ayrılma} = 100 - \left(\frac{\text{ayrılmayan hücreler}}{\text{toplam hücre sayısı}} \times 100 \right) \quad (3.1)$$

3.8.3. Substratların *İn Vitro* sitotoksitesitesi

Substrat yüzeyine aşılarmış karışık polimer fırçaların olası toksik etkilerini değerlendirmek için sitotoksitesite deneyi ISO 10993-5 standardında belirtildiği şekilde yapıldı. Bu kapsamda standart olarak önerilen bir hücre tipi olan L929 fare fibroblast hücre dizisi (pasaj 30), % 10 fetal sığır serumu (FBS) (Gibco, USA) ve % 1 antibiyotik-antimikotik (ThermoFisher, Almanya) ile katkılanmış Dulbecco'nun modifiye Eagle's ortamında (Biochrom, Almanya) kültüre edildi. Hücreler, % 5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir atmosfer altında 37 °C'de inkübe edildi. Kültür ortamı haftada üç kez yenilendi. Sitotoksitesite testi için örnek hazırlama da ISO 10993-12'ye göre yapıldı. Kısaca, 15 cm² test malzemesi 5 mL Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle's ortamına yerleştirildi ve 37 °C'de 72 saat boyunca inkübe edildi. Son olarak, elde edilen ekstraksiyon besiyeri 0,45 µm gözenek boyutuna sahip olan fitre ile filtrelendirildi ve % 10 fetal bovin serum (FBS) (Gibco, ABD) ve % 1 antibiyotik-antimikotik (Thermo Fisher, Almanya) ile katkılındı. Paralel olarak, hücreler 20x10³ hücre/kuyucuk yoğunluğunda 24 kuyucuklu kültür kaplarına ekildi ve 24 saat süreyle nemlendirilmiş % 5 CO₂ atmosferinde 37 °C'de inkübe edildi. 24 saat sonra, her bir kuyucuktan kültür ortamı atıldı ve hücreler farklı konsantrasyonlarda 1 mL ekstraksiyon ortamına tabi tutuldu. Kontrol grubu ortamı 1,0 mL taze besi ortamı ile değiştirildi ve hücreler 24 saat daha inkübe edildi.

24 saatlik inkübasyondan sonra, kültür ortamı her bir kuyucuktan uzaklaştırıldı. Daha sonra, herhangi bir katkı maddesi içermeyen 600 µL besiyeri ve daha önce 5 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış 60 µL 3-(4,5-dimetiltiyazolil-2)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) (Aldrich, Almanya) kültür kabının her bir kuyucuğuna eklendi ve aynı şartlar altında ek 4 saatlik inkübasyona tabi tutuldu. Son olarak, reaksiyona girmemiş MTT içeren ortam dikkatli bir şekilde kuyucuklardan uzaklaştırıldı ve oluşan formazanların çözülmesi için her kuyucuğa 400 µL izopropil alkol eklendi. Her bir kuyucuktan 200 µL örnekler alınarak 96 kuyucuklu kültür kabı içerisinde ve bir mikropilaka okuyucusu (BioTek, ABD) yardımıyla 690 nm referans 570 nm'de absorbans değerinde okundu.

3.9. Ölçümler

Su temas açısı ölçümleri flaş kamera aksesuarlı Krüss DSA-100 marka otomatik goniometre ile yapıldı. Substrat üzerine 5 μ L hacminde saf su damlatılıp, hızlıca fotoğrafları çekilerek DSA3 program yardımıyla su temas açıları belirlendi. Her bir yüzeyde üç ayrı damla kullanılıp, bu damlaların temas açılarının ortalaması alındı. Substratların yüzey bileşimi bir Mg K α X-ışını kaynaklı SPECS XPS spektrometre ile belirlendi. C 1s spektrumu fit edildikten sonra bütün spektrumlar 285,0 eV bağlanma enerjisindeki alifatik C 1s bileşiği referans alınarak kalibre edildi. Polimer fırçaların yapısal karakterizasyonunda Grazing Angle aksesuarlı Fourier transform infrared (GA-FTIR) spektroskopisi kullanıldı. Spektrumlar Thermo Nicolet 6700 marka FTIR spektrofotometresi ile alındı. Örnekler 4 cm^{-1} ayıricılıkta 64 kez tarama yaptırılarak 400-4000 cm^{-1} arasında spektrumları elde edildi. Polimer fırçaların kalınlıkları Jobin Yvon-Horiba, model DRE, EL X20C Elipsometre ile belirlendi. Tüm ölçümler 632,8 nm dalga boyunda ve 75°'lik açıda gerçekleştirildi. Karışık polimer fırçaların yüzey morfolojilerinin ve yüzey pürüzlülüğünün belirlenmesinde Park Systems XE100 SPM Controller LSF-100 HS AFM kullanıldı. Ölçümler, non-kontakt modda Si₃N₄ cantilever kullanılarak gerçekleştirildi.

Karışık polimer fırçaların ışık duyarlılığı çalışmasında iki UV ışın kaynağına (1 X UV 254 nm ve 1 X 366 nm, her biri 8 W'lık) sahip CAMAG marka UV spot lambası kullanıldı. Çözelti ortamında sentezlenen serbest polimerlerin fırçaların yapısal analizinde Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı ¹H- NMR spektroskopisi kullanıldı. Çözücü ve iç standart olarak sırasıyla CDCl₃ ve tetrametilsilan kullanıldı.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ölçümleri hücrelerin ayrıldığı yüzeydeki kalıntıları ve elde edilen hücre tabakalarındaki hücre-hücre etkileşimlerini ve hücre bütünlüğünü göstermek için gerçekleştirildi. Bu amaç için; malzemeler, 30 dakika +4°C'de % 2,5'lik soğuk glutaraldehit çözeltisi (Aldrich, Almanya) ile sabitlendi. Sabitleme işleminin ardından malzemeler artan derişimde alkol çözeltileriyle (% 30, 50, 70, 100 etanol) ile yıkandı ve heksametildisilazan (Aldrich) kullanılarak tamamen kurutuldu. Son olarak, örnekler SEM görüntüleme için Au/Pd ile kaplandı. Görüntüler QUANTA 400F Field Emission SEM (ThermoFisher) kullanılarak aynı büyütme altında elde edildi.



4. BULGULAR, SONUÇ VE TARTIŞMA

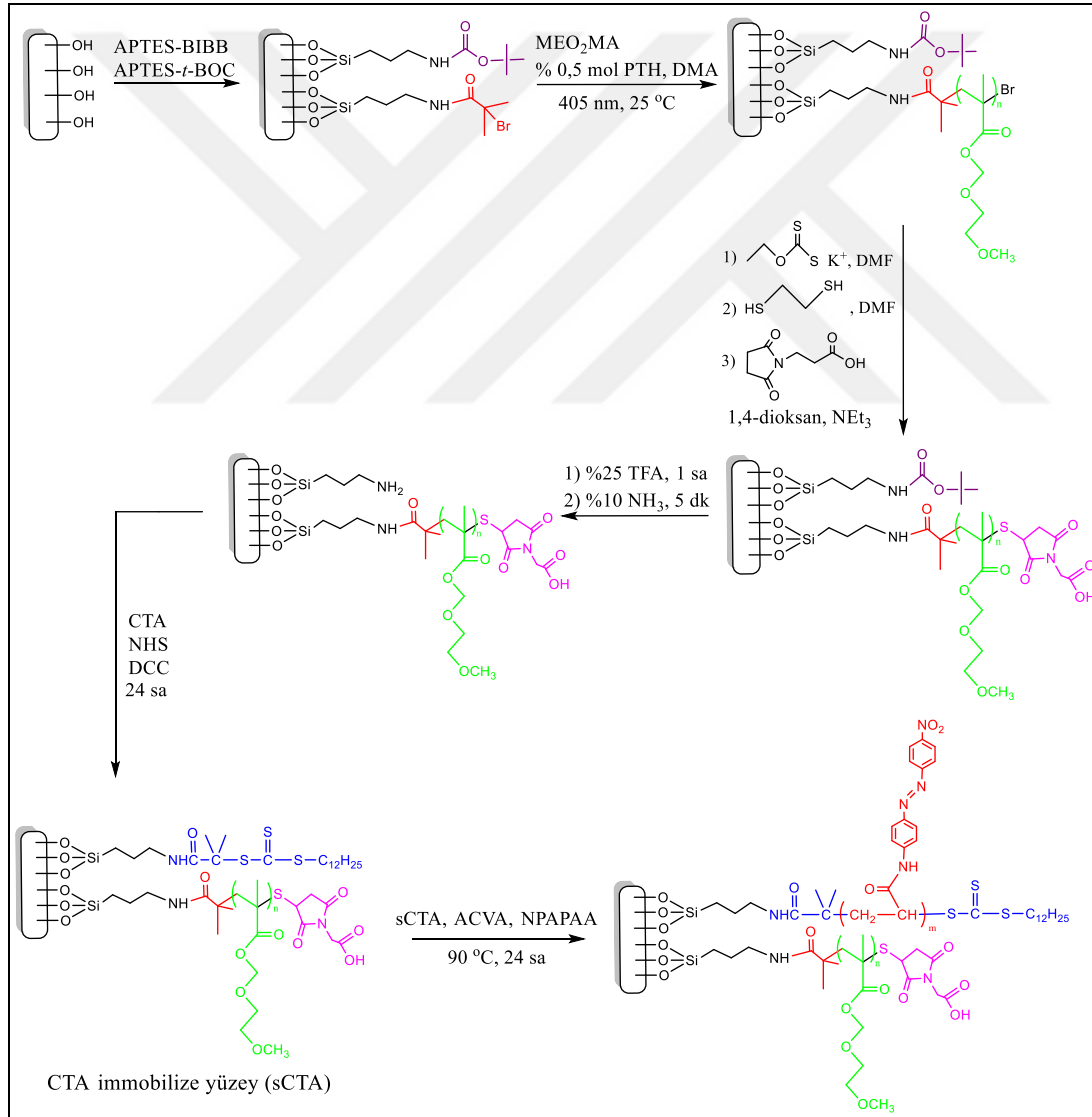
Dokuların en iyi tanımlanmış birimleri hücre dışı matrikstir (ECM). ECM'deki biyokimyasal ve yapısal değişiklikler hücreye özgü davranışları düzenler. Bu karmaşık ortamı *in vitro* olarak taklit etmek için dinamik polimer esaslı biyomalzemeler kullanılır. Biyomalzemeler uyarı-cevap ilişkisi yoluyla doğal dokunun dinamik karmaşıklığının aşılmasına olanak sağlar. Mekanobiyolojinin geliştirilmesinde hücre tutunması, ayrılması ve göçü üzerine zamansal/mekânsal kontrol sağlayan dinamik yüzey özelliklerine sahip malzemeler önemli rol oynar. Bu sebeple protein adsorpsiyonu, hücre tutunması/ayrılması gibi biyo-arayüz etkileşimlerini tersinir düzenleyen sistemler üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Protein adsorpsiyon/desorpsiyonu ve hücre tutma/bırakma halini kontrol etmek için ı ışık, sıcaklık, pH, iyonik kuvvet ve elektrik potansiyeli gibi uyarıcıları kullanan anahtarlanabilir (açma-kapama) sistemler yeni nesil akıllı biyo-arayüzlerin geliştirilmesinde önem kazanmıştır.

Bu tez kapsamında hücre tabakası hazırlama ve ayırmada kullanmak amacıyla silisyum yüzeyinde sıcaklık ve ışık duyarlı poli(MEO₂MA) ve poli(NPAPAA) birimlerinden oluşan karışık fırçalar sentezlenmiştir. Karışık polimer fırçaların sentezi dört basamakta gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1): i) APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC moleküllerinin sentezi, ii) farklı bileşimde APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC moleküllerinin SAM yöntemiyle Si-OH yüzeyine bağlanması, iii) yüzeyde ı ışıkla başlatılan PET-ATRP yöntemiyle sıcaklık duyarlı poli(MEO₂MA) biriminin sentezi ve iv) arayüz aracılı RAFT polimerleşmesi ile ışık duyarlı poli(NPAPAA) biriminin senteziyle karışık polimer fırçaların oluşturulmasıdır.

4.1. APTES-BIBB Sentezi

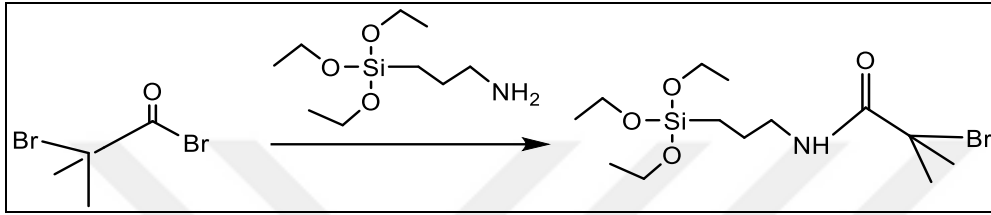
Alkoksilanlar cam veya silisyum substratlara bağlanarak fonksiyonel yüzeyler oluşturulur. Alkoksilan seçimi, bağlanma yoğunluğu ve molekül oryantasyonu gibi özellikler bakımından önemlidir. APTES bağlanma yoğunluğu yüksek kendiliğinden düzenlenen tek tabaka (SAM) oluşturduğu ve fonksiyonel amin grubu sebebiyle arabağlayıcı molekül olarak çok tercih edilmektedir. Silisyum disk yüzeyinde silanol grubu oluşturulduktan sonra APTES, SAM yöntemiyle bağlanır. Çözücü türü, sıcaklık, derişim ve bekletme süresi APTES'in bağlanma yoğunluğunu ve konformasyonunu etkiler. APTES ile homojen tek tabakalı bağlanma sağlamak için susuz çözücü kullanılır. Çünkü APTES su içinde bir iç zwitter iyon oluşturur. Ayrıca ortamdaki suyun varlığı sebebiyle etoksi grupları kolaylıkla

hidrolize uğrar ve oluşan silanol grupları daha sonra siloksan bağları oluşumuyla kondenzasyon tepkimesine girebilirler (Vandenberg, 1991). Bu istenmeyen oluşumlara rağmen silisyum yüzeyin modifikasyonunda APTES sıklıkla kullanılmaktadır. Bu sebeple bu tez çalışmasında önce BIBB ve *t*-BOC molekülleri bağlı APTES molekülleri sentezlendi. Daha sonra Si-OH yüzeyine SAM yöntemi ile bu moleküller kovalent bağlandı ve karışık molekül silisyum yüzeyler oluşturuldu. Silisyum yüzeyindeki Si-APTES-BIBB/Si-APTES-*t*-BOC birimleri ışıkla yüzeyde başlatılan PET-ATRP'de kullanıldı. Si-APTES-*t*-BOC birimleri ise sonraki aşamada *t*-BOC koruyucu grubun uzaklaştırılması ve ardından RAFT ajanı bağlanması ile arayüz aracılı RAFT polimerleşmesinde kullanıldı.

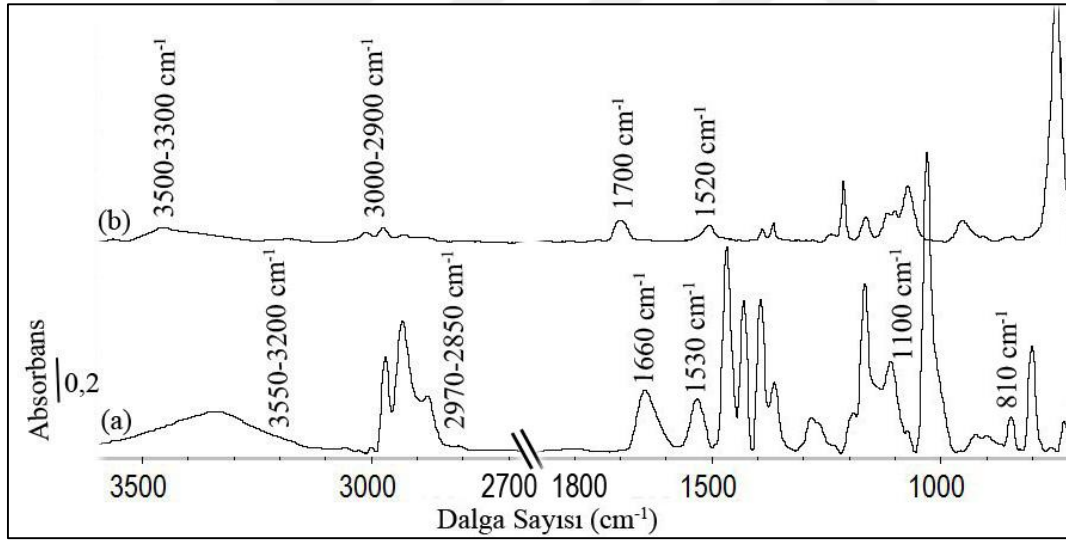


Şekil 4.1. Silisyum disk yüzeyinde karışık polimer fırça sentezinin şematik gösterimi

APTES'nin susuz trietilaminin-toluen karışımı çözeltisi ile BIBB'in susuz toluendeki çözeltisi buz banyosunda karıştırılarak APTES-BIBB molekülleri sentezlendi (Şekil 4.2). FTIR ve ^1H -Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektrumları alındı. FTIR spektrumunda -N-H gerilmesine ait $3550\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ 'de, alifatik -C-H gerilmelerine ait $2970\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ 'de, amit I bandına ait 1660 cm^{-1} 'de, amit II bandına ait 1530 cm^{-1} 'de ve C-Br gerilmelerine ait 810 cm^{-1} 'de bandların görülmesi APTES-BIBB molekülünün sentezlendiğine işaret etmektedir (Şekil 4.3a).



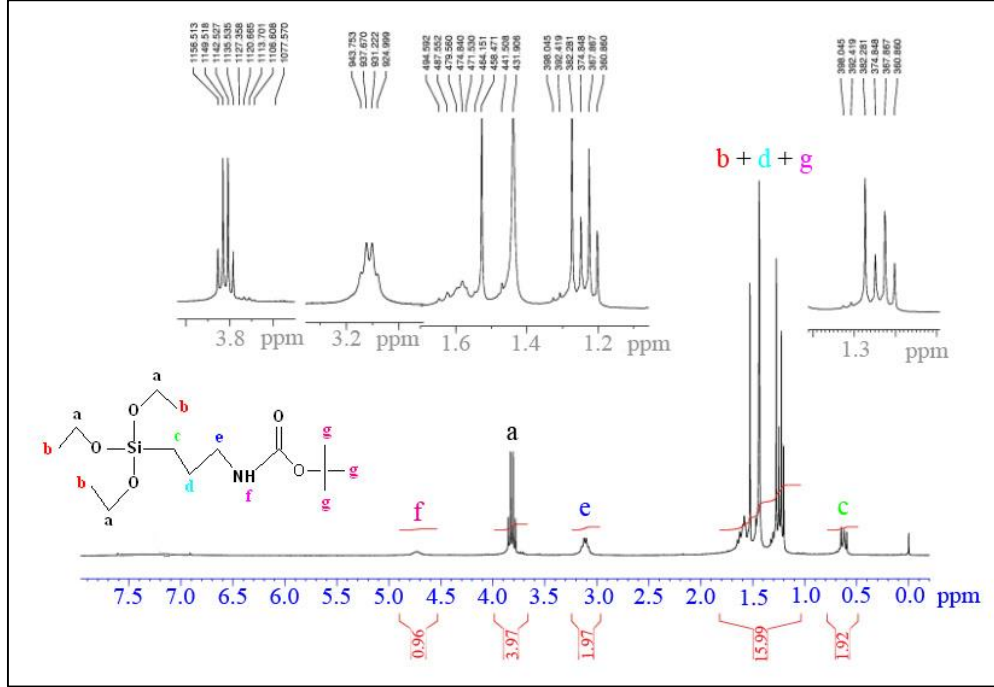
Şekil 4.2. APTES-BIBB sentezinin şematik gösterimi



Şekil 4.3. APTES-BIBB (a) ve APTES-t-BOC (b) moleküllerinin FTIR spektrumu

Ayrıca ^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.4) amit grubuna ait proton $\delta = 10,8 - 11,0\text{ ppm}$ aralığında, azot atomuna bağlı -CH₂ grubuna ait alifatik protonlar $\delta = 4,6\text{ ppm}$ 'de civarında, bromu bağlı -CH₃ grubuna ait protonlar ve silan grubuna bağlı -Si-O-CH₂-CH₃ grubunun -CH₂ protonları $\delta = 3,2\text{ ppm}$ 'de, -Si-CH₂-CH₂-NH- grubunun -CH₂ protonları $\delta = 1,9\text{ ppm}$ 'de ve silisyuma bağlı -CH₂ ve -CH₃ $\delta = 1,4\text{ ppm}$ 'de görülmesi de APTES-BIBB molekülünün sentezlendiğini göstermektedir.

amit II bandını karakterize etmektedir. 1100 cm^{-1} 'de Si-O gerilmelerine karşılık gelen band görülmektedir (Şekil 4.3b).

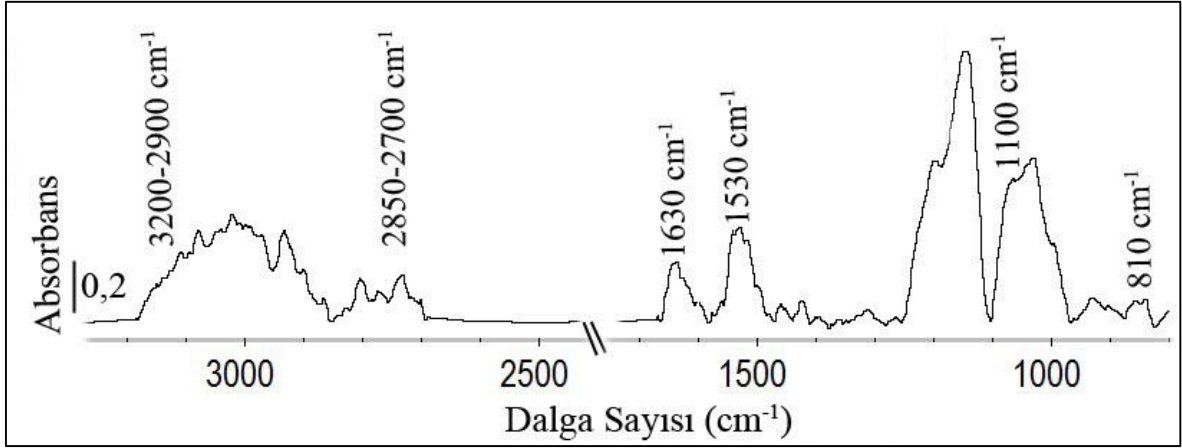


Şekil 4.6. Sentezlenen APTES-*t*-BOC molekülüne ait ^1H NMR spektrumu

APTES-*t*-BOC'nin CDCl_3 içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.6) $\delta = 4,6$ ppm civarında -NH'a ait proton, $\delta = 3,1$ ppm civarında azota bağlı -CH₂ grubuna ait alifatik protonlar, $\delta = 1,3-1,7$ ppm civarında oksijene bağlı *ter*-bütil grubunun -(CH₃)₃ protonları ve CH₃-CH₂-O-Si-CH₂-CH₂- grubuna ait -CH₃ ve -CH₂- protonlarının pikleri gözlenmektedir. İntegrasyonda yaklaşık 16 protona karşılık pik görülmektedir. 0,6 ppm civarında ise -Si-CH₂- grubundaki -CH₂ protonlarına ait pik bulunmaktadır.

4.3. APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC Moleküllerinin Si-OH Yüzeyine Bağlanması

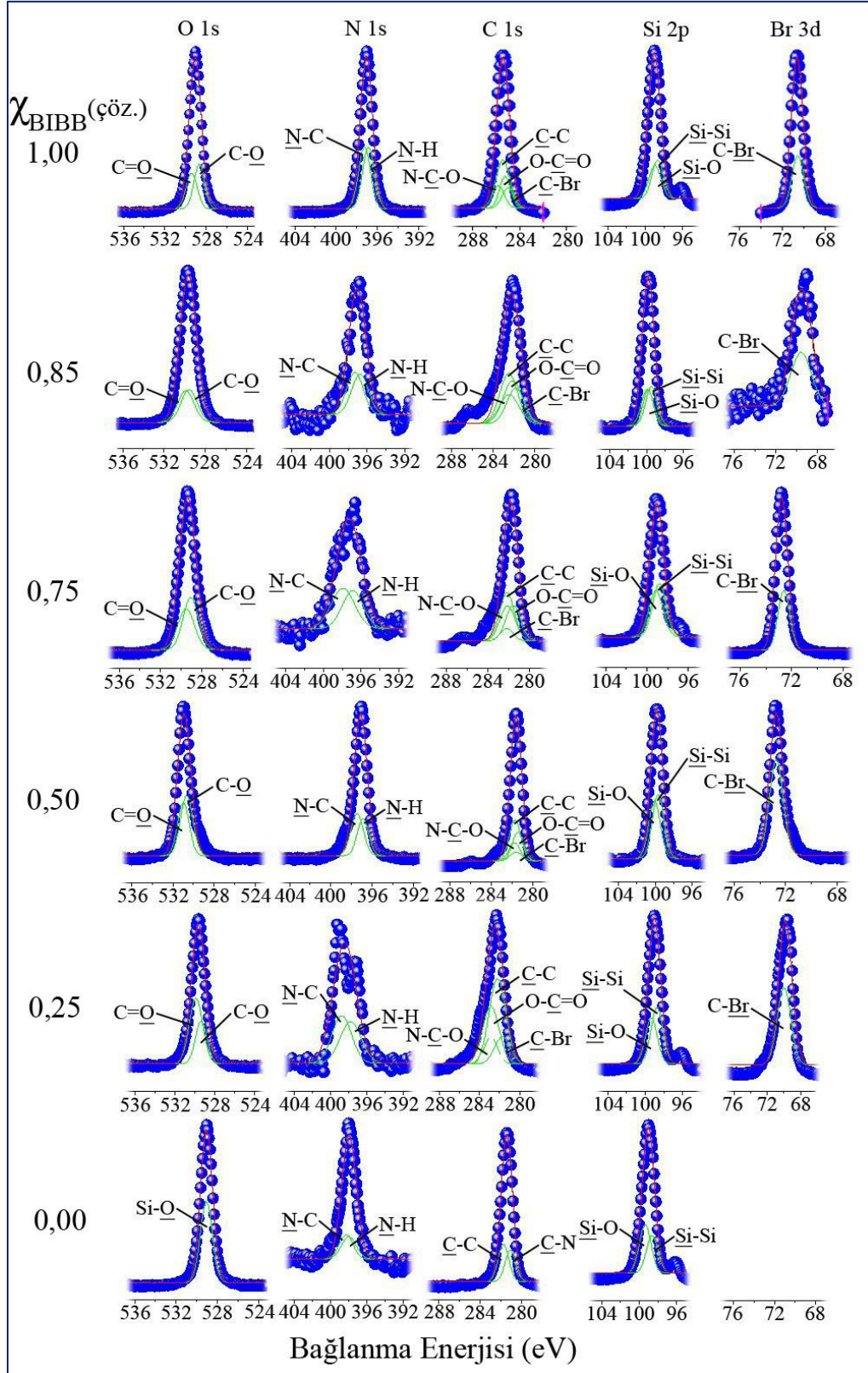
Silisyum disk UV-ozon işlemiyle organik kirliliklerden arındırıldıktan sonra pirana çözeltisinde bekletilerek hidroksil sonlu (Si-OH) yüzey elde edildi. Toluen içerisinde farklı mol kesirlerinde (χ_{BIBB} (çöz.): 0,00; 0,25; 0,50; 0,75; 0,85 ve 1,00) APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC'den oluşan karışımlarda bekletilen Si-OH substratlara SAM yöntemi ile molekül karışımı bağlandı (Şekil 4.1). Elde edilen karışık molekül bağlı silisyum yüzeylerin karakterizasyonu ise GA-FTIR, XPS, AFM, su temas açısı ve elipsometrik ölçümler ile gerçekleştirildi.



Şekil 4.7. Si-(APTES-BIBB/ -APTES- *t*-BOC) yüzeylerin GA-FTIR spektrumu

GA-FTIR spektrumunda (Şekil 4.7) *t*-BOC koruma grubuna ait $3200\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ civarında -N-H gerilme bandı, $2850\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ civarında alifatik -C-H gerilme bandları bulunmaktadır. 1630 cm^{-1} 'deki keskin band amit I bandını ve 1530 cm^{-1} 'de gözlenen band ise amit II bandını göstermektedir. 1100 cm^{-1} 'de Si-O gerilme bandı ve 810 cm^{-1} 'de ise C-Br gerilme bandı görülmüştür.

Karışık molekül bağlı silisyum yüzeylerin kısmi taramalı XPS spektrumlarında (Şekil 4.8) $529,9\text{ eV}$ (C=O) ve $529,2\text{ eV}$ (C-O) bağlanma enerjilerinde iki farklı kimyasal çevreye sahip O 1s piki, $396,6\text{ eV}$ (N-H) ve $397,4\text{ eV}$ (C-N) bağlanma enerjilerinde iki farklı kimyasal çevreye sahip N 1s piki, $282,3\text{ eV}$ (O-C=O), $282,8\text{ eV}$ (N-C-O), $281,9\text{ eV}$ (C-Br) ve $282,2\text{ eV}$ (C-C) bağlanma enerjilerinde dört farklı kimyasal çevreye sahip C 1s piki, $99,1\text{ eV}$ (Si-O) ve $98,9\text{ eV}$ (Si-Si) bağlanma enerjilerinde iki farklı kimyasal çevreye sahip Si 2p piki ve $70,4\text{ eV}$ (C-Br) bağlanma enerjisine sahip Br 3d piki gözlenmiştir. Çözeltide APTES-BIBB'nin mol kesri ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$) 0,25'den 0,85'e arttıkça silisyum substrat yüzeyindeki bromun atomik yüzdesinin % 6,2'den % 8,6'ya artması yüzeye bağlanan moleküllerin çözelti bileşimi ile orantılı olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.1).



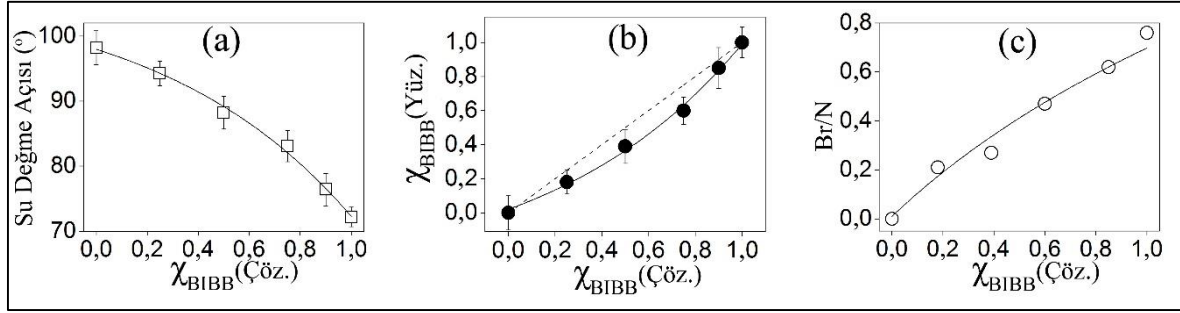
Şekil 4.8. Si-(APTES-BIBB/-APTES-*t*-BOC) yüzeylerin O 1s, N 1s, C 1s, Si 2p ve Br 3d bağlanma enerjisi bölgesindeki kısmi tarama XPS spektrumları

Çizelge 4.1. Si-(APTES-BIBB/-APTES-*t*-BOC) yüzeylere ait bağlanma enerjileri ve atomik derişimler

χ_{BIBB} (çöz.)		O 1s		N 1s		C 1s			Si 2p		Br 3d	
		C=O	C-O	N-C	N-H	N-C-O	C-C	O-C=O	C-Br	Si-Si	Si-O	C-Br
1,00	Enerji (eV)	529,9	529,2	397,4	396,6	282,8	282,2	282,3	281,9	98,9	99,1	70,4
	Atomik (%)	10,3		6,3		64,4			10,4		8,6	
0,85	Enerji (eV)	530,6	529,3	399,6	396,5	281,8	281,2	282,1	281,5	99,6	99,9	70,3
	Atomik (%)	16,2		5,2		58,8			10,5		7,5	
0,75	Enerji (eV)	530,4	529,5	398,6	396,8	281,9	282,7	281,6	281,2	99,8	99,1	72,1
	Atomik (%)	19,0		5,5		58,5			9,4		7,6	
0,50	Enerji (eV)	530,6	529,2	398,1	396,2	282,0	282,2	281,6	281,9	99,9	100,3	72,3
	Atomik (%)	17,4		5,8		58,8			10,5		7,5	
0,25	Enerji (eV)	530,5	529,3	399,3	397,9	282,9	282,3	283,7	281,7	98,7	99,4	70,1
	Atomik (%)	18,7		4,7		60,8			9,7		6,2	
0,00	Enerji (eV)	-	-	398,4	397,8	-	282,2	-	-	98,6	100,1	-
	Atomik (%)	16,6		4,3		64,6			14,5		0,0	

Bununla birlikte, bir mol APTES-BIBB ile bir mol APTES-*t*-BOC karışımıyla hazırlanan yüzeyler için kuramsal Br/N oranının 0,5 olması gerekirken tüm bileşimlerde nispeten daha düşük değerler bulunmuştur. Ayrıca, Şekil 4.9c'daki grafikte görüldüğü gibi çözeltideki APTES-BIBB'in mol kesri (χ_{BIBB} (çöz.)) ile brom ve azot piklerinin alanından bulunan Br/N oranının değişimi doğrusal değildir. Bu durum APTES-BIBB molekülerinin Si-OH yüzeyine bağlanma reaktifliğinin APTES-*t*-BOC moleküllerinden kısmen daha düşük olduğunu göstermektedir.

Su temas açısı ölçümleri yüzey özelliklerine (fonksiyonel grubun yüzey yoğunluğu ve dağılımı) çok duyarlıdır ve organik tek tabakaları incelemede alternatif bir yöntemdir (Liu, Y.J., 2004). Saf APTES-BIBB ($\chi_{BIBB} = 1,00$) ile hazırlanan yüzeyin su temas açısı $72,2 \pm 1,5^0$ ve saf APTES-*t*-BOC ($\chi_{BIBB} = 0,00$) ile hazırlanan yüzeyin su temas açısı $98,2 \pm 2,6^0$ olarak ölçüldü. Bu durumda, Si-APTES-*t*-BOC yüzeyi *t*-BOC grupları sebebiyle Si-APTES-BIBB yüzeyinden kısmen daha hidrofobiktir. Su temas açısı ile çözeltideki APTES-BIBB'in mol kesri arasındaki korelasyon farklıdır: χ_{BIBB} (çöz.) artıka su temas açısının azalışıyla işaret edildiği gibi yüzey daha hidrofilik hale geliyor (Şekil 4.9a).



Şekil 4.9. (a) Su temas açısının çözeltideki APTES-BIBB'in mol kesri ($\chi_{BIBB}(\text{çözelti})$) ile değişimi (b), Israelachvili-Gee eşitliğinden su temas açısı kullanılarak hesaplanan yüzeydeki APTES-BIBB'in mol kesrinin ($\chi_{BIBB}(\text{yüzey})$) $\chi_{BIBB}(\text{çözelti})$ ile değişimi ve (c) Br/N oranının $\chi_{BIBB}(\text{çözelti})$ ile değişimi

Karışık molekül karışımı ile modifiye edilmiş silisyum yüzeyinin iki tür molekülden oluştuğu düşünülürse (yani BIBB ve *t*-BOC grupları), su temas açıları θ_{BIBB} ve θ_{t-BOC} 'dir. BIBB'nin yüzey mol kesri ($\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$) Israelachvili-Gee eşitliğinden bulunabilir (Israelachvili ve Gee, 1989).

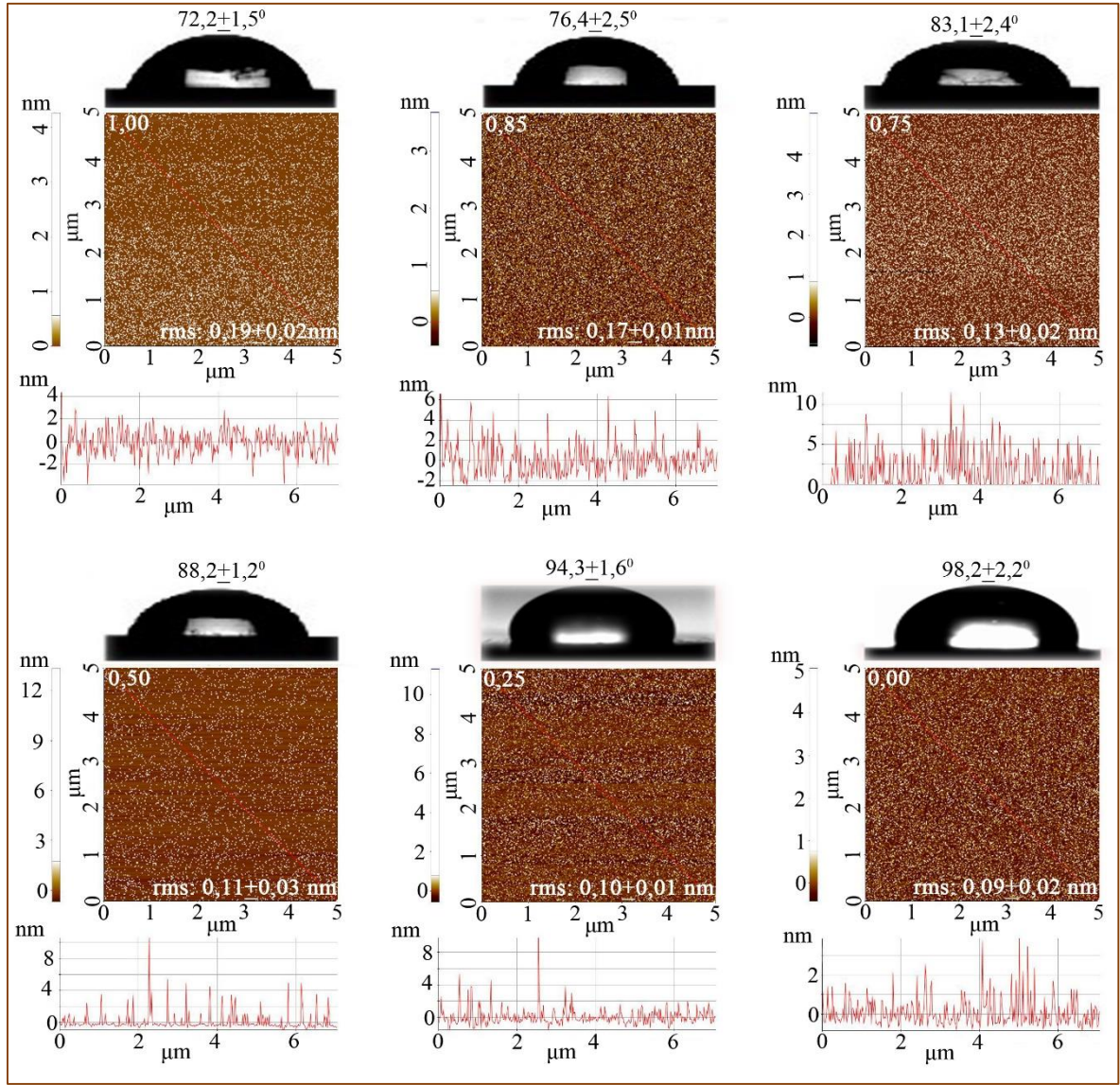
$$\chi_{BIBB}(\text{Yüz.}) = \frac{(1 + \cos \theta)^2 - (1 + \cos \theta_{BOC})^2}{(1 + \cos \theta_{BIBB})^2 - (1 + \cos \theta_{BOC})^2} \quad (4.1)$$

Şekil 4.9b, eşitlik 4.1'den hesaplanan $\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$ 'nin çözelti içindeki APTES-BIBB'nin mol kesrine bağlılığını göstermektedir. $\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$ artan $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ ile makul şekilde artmasına rağmen, su temas açısı ölçümlerine dayanan yüzey ve çözelti bileşimi arasındaki korelasyon, XPS verilerinden bulunan eğilimden oldukça farklıdır (Şekil 4.9c). XPS ölçümlerinin su temas açısı ölçümlerinden daha güvenilir bilgi sağladığına inanıyoruz.

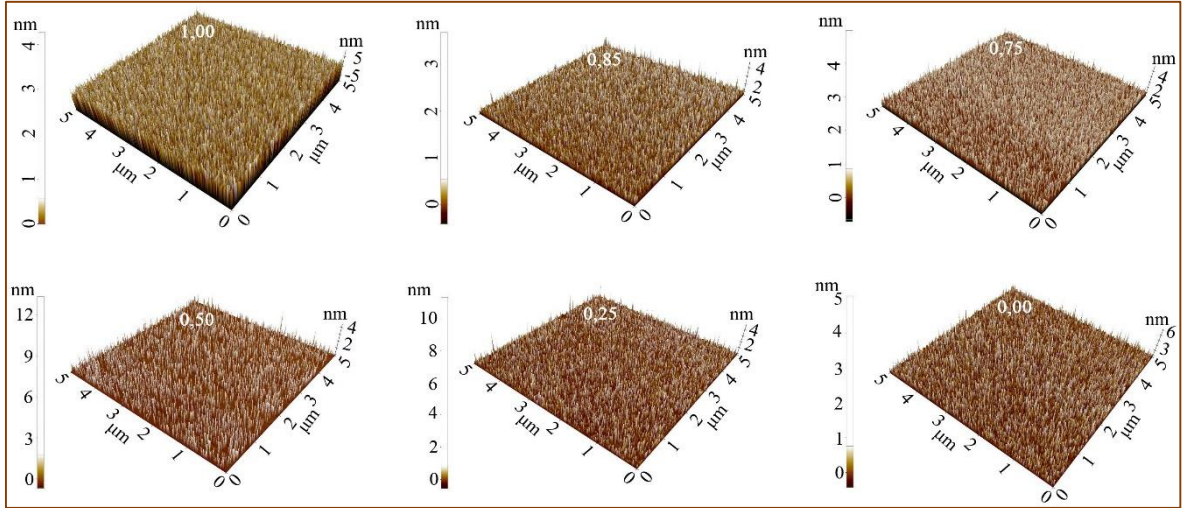
Israelachvili-Gee eşitliğiyle kimyasal olarak homojen bir yüzey yorumlanır. Bu özellikle yüzeyde anlamlı domain yapılar yerine tamamen homojen yapılar içerdiği kabul edilir. Israelachvili-Gee kuralı, moleküller arası kuvvetlerle başlatılan yeniden yapılanma, altın üzerinde alkanetiolat tek tabakaların oluşumundan farklı istatistik olarak rasgele olan *n*-alkenler ve Si-H arasındaki radikalik tepkimede nihai tek tabaka yapısını ve bileşimini belirlemede önemli bir rol oynar. Bu durumda karışık molekül çözeltisi ile benzer bileşime sahip karışık moleküllü önemli domain yapı içermeyen tek tabaka oluşturması beklenir. Song, Zhou ve Schönherr (2016) ultradüzgün altın yüzeyinde karışık 16-merkaptotetradekanonik asit/1-oktadekanetiol tek tabaka bileşiminin doğrusal

olmadığını, çözelti bileşimi ile yüzey bileşiminin birbirinden farklı olduğunu belirtmişlerdir (Song, 2016).

Ayrıca Si-(APTES-BIBB/-APTES-*t*-BOC) yüzeylerin morfolojisi AFM kullanılarak incelendi (Şekil 4.10,11). 2D- ve 3D-AFM görüntülerinden χ_{BIBB} (çöz.) oranı 0,00'dan 1,00'a doğru arttıkça $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ bir alan içinde yüzey pürüzlülüğünün ifadesi olan rms değerlerinin $0,09 \pm 0,02\ \text{nm}$ 'den $0,19 \pm 0,02\ \text{nm}$ 'ye kısmen arttığı görüldü. Bu durum karışık moleküllerle oluşturulan SAM yüzeylerin oldukça düzgün olduğunu ve mikrodomain yapıların oluşmadığını göstermektedir.



Şekil 4.10. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-(APTES-BIBB/-APTES-*t*-BOC) yüzeylere ait 2D AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değerleri resim içinde verildi.)

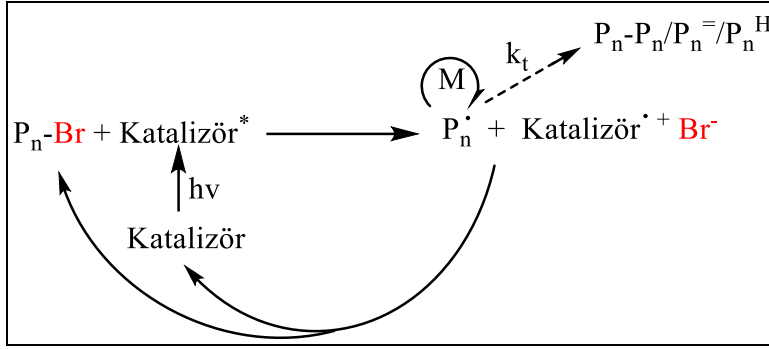


Şekil 4.11. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-(APTES-BIBB/-APTES-t-BOC) yüzeylere ait 3D AFM görüntüleri

4.4. Yüzeyde Işıkla Başlatılan PET-ATRP ile Sıcaklık Duyarlı poli(MEO₂MA) Fırça Sentezi

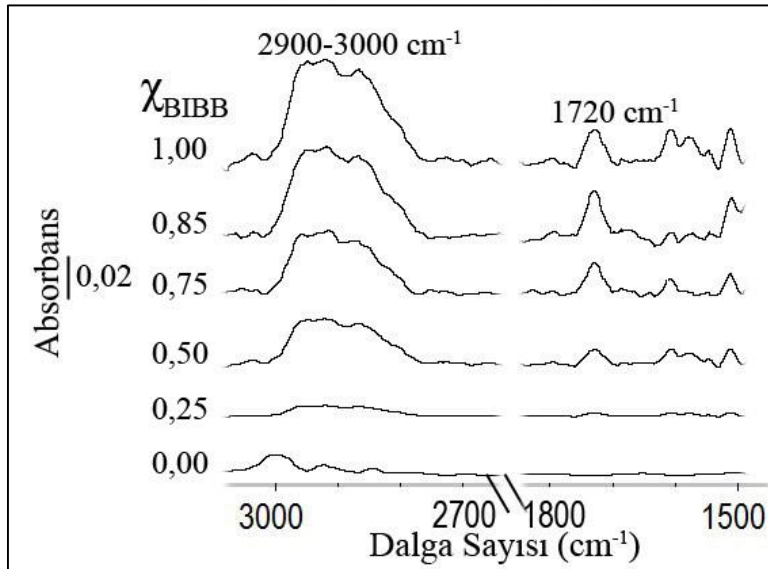
pH, sıcaklık, çözücü, ışık, manyetik alan vb gibi geniş kontrollü uyarıcılar yelpazesinde, ışıkla ile başlatılan tepkimeler, basit deneysel kurulum, ılımlı tepkime koşulları, en az yan tepkime, zamansal kontrol gibi birçok avantajlara sahiptir. Nispeten yüksek enerjili (~6 eV) UV ışını ile karşılaştırıldığında, görünür bölge ışını (400–700 nm, ~2 eV) sentetik uygulamalarda daha çekicidir (Treat, 2014a). Görünür ışığın kullanıldığı polimerleşmenin çevre dostu ve yeşil bir teknoloji olduğu da düşünülür. İridyum temelli fotokatalizörler, tek bir adımda karmaşık 3 boyutlu nano yapıların oluşumunda, zincir büyüme süreci üzerinde mükemmel mekânsal ve zamansal kontrol sağlasa da, ATRP'de olduğu gibi ppm seviyelerinde metal katalizör kullanımı bu sistemin uygulanabilirliğini sınırlar. Ortaya çıkan fotoredoks kataliz alanı esas olarak geçiş metal türlerini (iridyum ve rutenyum gibi) sunsa da, organik katalizörlerin bazı durumlarda metal katalizli sistemlerden daha verimli olduğu görülmüştür.

Treat ve diğerleri (2014b), 10-fenilfenotiyazin (Ph-PTZ) organik fotokatalizör varlığında PET-ATRP ile poli(metil metakrilat) sentezlemişlerdir. Işıkla başlatılan metal içermeyen PET-ATRP mekanizmasında üç basamaklı bir fotoredoks döngüsü ile polimerleşme gerçekleşir. PTZ* bir alkil halojenürü aktive eder ve radikalleri oluşturur, PTZ⁺Br⁻ türleri radikalleri deaktif eder ve PTZ temel hale yeniden döner (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. PET ATRP mekanizması (M; monomer, $P_n\text{-}P_n/P_n\text{-}/P_n^H$; sonlanmış polimer zincirleri)

Çözeltideki farklı APTES-BIBB mol kesirlerinde ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$) hazırlanan silisyum yüzeylerde sıcaklık duyarlı 2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat (MEO_2MA) monomerinin yüzeyde ışıkla başlatılan PET-ATRP polimerleştirilmesi gerçekleştirildi (Şekil 4.1). Oluşan Si-Poli(MEO_2MA) fırçaların GA-FTIR spektrumlarında karbonil grubunun asimetrik gerilimine ait bandı $\sim 1720\text{ cm}^{-1}$ ve alifatik $-\text{CH}_2$ gerinim titreşimlerine ait band $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ gözlemlendi (Şekil 4.13). $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ 0,25’den 1,00’a artmasıyla oluşan poli(MEO_2MA) zincirlerinin derişimi artışı için bu bandların şiddetleri de arttı.

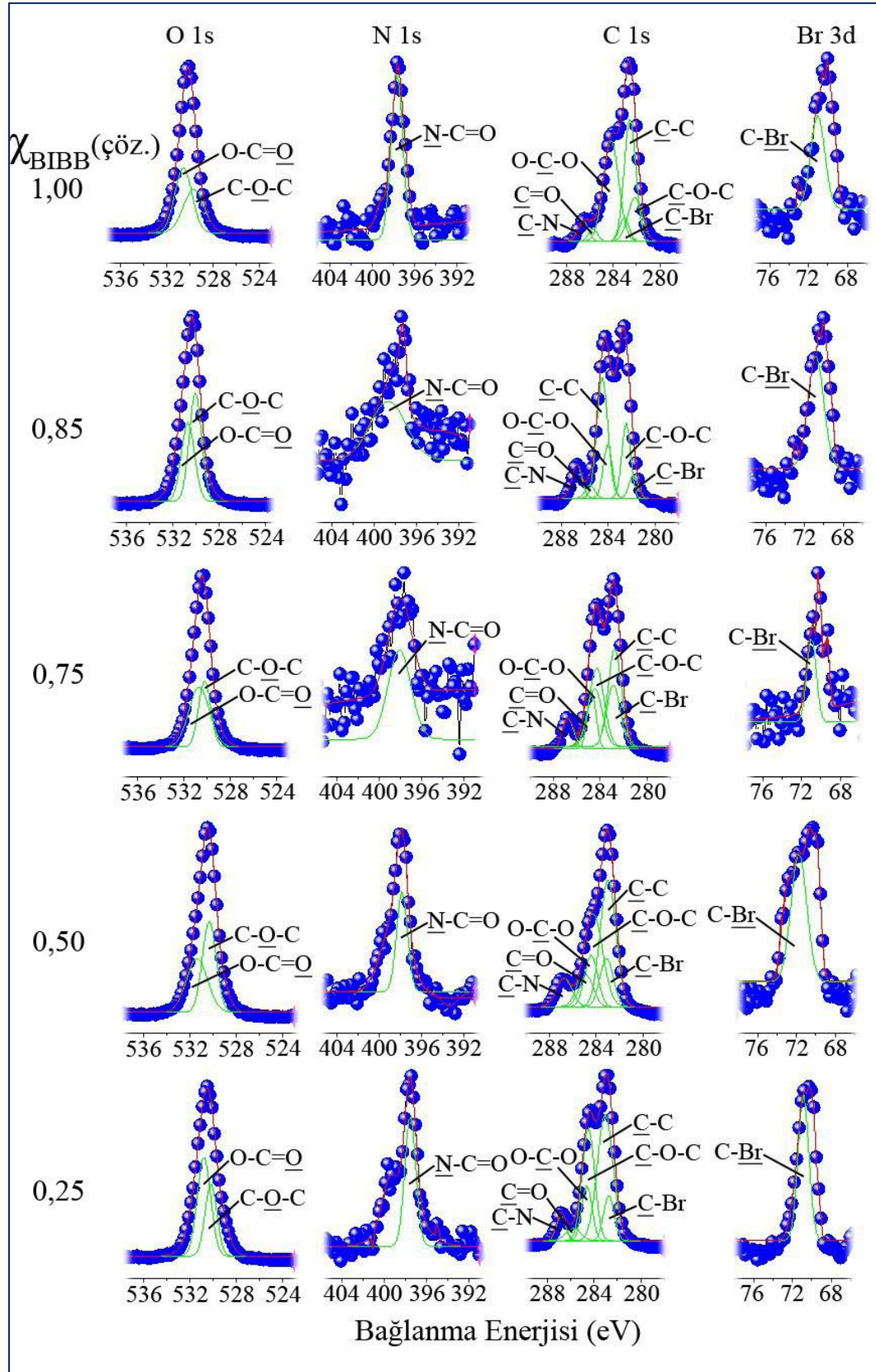


Şekil 4.13. Si-(APTES-BIBB/APTES-*t*-BOC) yüzeylerde oluşan Si-Poli(MEO_2MA) fırçaların GA-FTIR spekturumu

Si-Poli(MEO_2MA) yüzeylerin ($\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$) kısmi taramalı XPS spektrumlarında $531,7\text{ eV}$ (O-C=O) ve $529,6\text{ eV}$ (C-O-C) bağlanma enerjilerinde iki farklı kimyasal çevreye sahip $\text{O}1s$ piki, $398,3\text{ eV}$ (N-C=O) bağlanma enerjisinde $\text{N}1s$ piki, $287,6\text{ eV}$ (C-N), $286,6\text{ eV}$ (C=O),

285,7 eV (O-C-O), 283,3 eV (C-C), 282,8 eV (C-O-C) ve 283,7 eV (C-Br) bağlanma enerjilerinde altı farklı kimyasal çevreye sahip C1s piki ve 71,9 eV (C-Br) bağlanma enerjisinde Br 3d piki gözlemlendi (Şekil 4.12). Karışık molekül bağlı silisyum yüzeylerde oluşan poli(MEO₂MA)'nın XPS spektrumları şekil 4.14'de verildi. Yüzeyde APTES-BIBB'nin mol kesri ($\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$) 0,25'den 1,00'a arttıkça oluşan poli(MEO₂MA) zincirinin ucunda PET-ATRP'nin kullanımından kaynaklı bromun atomik yüzdesi de <%0,1'den %0,5'e artmıştır (Çizelge 4.2).





Şekil 4.14. Si-Poli(MEO₂MA) yüzeylerin O 1s, N 1s, C 1s ve Br 3d bağlanma enerjisi bölgesindeki kısmi tarama XPS spektrumları

Çizelge 4.2. Si-Poli(MEO₂MA) yüzeylere ait bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri

χ_{BIBB} (çöz.)		O 1s		N 1s		C 1s				Br 3d	
	Yüzey	O-C=O	C-O-C	N-C=O	C-N	C=O	O-C-O	C-C	C-O-C	C-Br	C-Br
1,00	Enerji (eV)	531,7	529,6	398,3	287,6	286,6	285,7	283,3	282,8	283,7	71,9
	Atomik (%)		34,2	4,1				61,3			0,5
0,85	Enerji (eV)	531,1	529,9	399,9	287,8	285,9	284,2	284,5	282,4	281,9	70,3
	Atomik (%)		35,3	3,1				61,3			0,3
0,75	Enerji (eV)	531,9	530,1	398,5	287,5	285,5	284,2	282,9	284,9	285,1	71,8
	Atomik (%)		41,2	2,9				55,7			0,2
0,50	Enerji (eV)	532,2	530,8	398,6	287,6	285,5	284,3	283,5	284,1	283,9	72,2
	Atomik (%)		46,3	2,5				51,2			0,1
0,00	Enerji (eV)	531,8	530,1	398,0	287,8	286,2	285,3	283,5	284,6	282,6	71,5
	Atomik (%)		45,5	1,5				52,9			<0,1

Poli(MEO₂MA)'nın teorik mol kütlesi ($\bar{M}_{n,th}$) aşağıdaki eşitlikten 18800 g mol⁻¹ olarak belirlendi.

$$\bar{M}_{n,th} = \frac{[M]_0}{[I]_0} \times M_m \times \text{Dönüşüm} \quad (4.3)$$

$[M]_0$ ve $[I]_0$ sırasıyla başlangıçta çözeltide bulunan monomer ve başlatıcının derişimleridir.

1,0x1,5 cm² gibi küçük bir silisyum yüzeyinde oluşan polimer fırçaların miktarı çok küçüktür. Bu polimerin yüzeyden bir şekilde alınması ve mol kütlesinin belirlenmesinde kullanılması için yeterli miktarda değildir. Bu sebeple çözeltide oluşan serbest polimerin (χ_{BIBB} (çöz.)=1,00) soğuk dietil eter ile çöktürölüp alınması ve ¹H-NMR spektrumunun aşağıdaki eşitlikte değerlendirilmesiyle Poli(MEO₂MA)'ın mutlak mol kütlesi 20900 g mol⁻¹ olarak belirlenmiştir.

$$\bar{M}_{n,NMR} = \frac{I^{1,9}/3}{I^{1,3}/6} \times M_m + M_{BIBB} \quad (4.3)$$

Bu eşitlikte δ 1,9 ppm'deki pik sinyali poli(MEO₂MA)'nın -OCH₃ pik şiddetine ve δ 1,3 ppm'deki pik sinyali ise BIBB'nin -(CH₃)₂'deki pik şiddetine aittir.

χ_{BIBB} (çöz.)=1,00 olan çözeltide hazırlanan polimerin aşılama parametreleri aşağıdaki eşitlikler kullanılarak bağlanma yoğunluğu $\sigma = 0,50$ zincir/nm², bağlanma noktaları arası uzaklık $D = 1,60$ nm ve jirasyon yarıçapı, $R_g = 2,58$ nm olarak belirlendi.

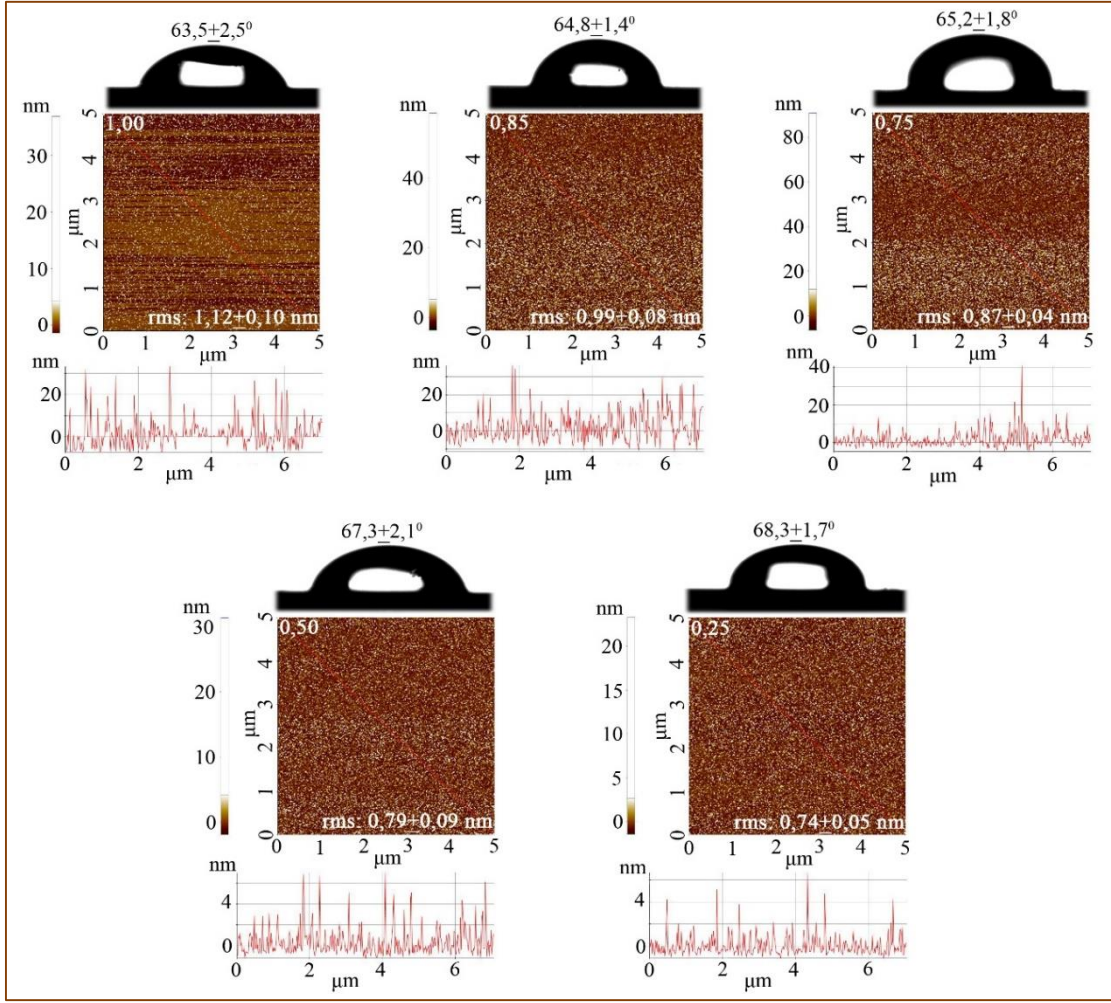
$$\sigma = \frac{h\rho N_A 10^{-21}}{\bar{M}_n} \quad (4.4)$$

$$D = \left(\frac{4}{\pi\sigma}\right)^{1/2} \quad (4.5)$$

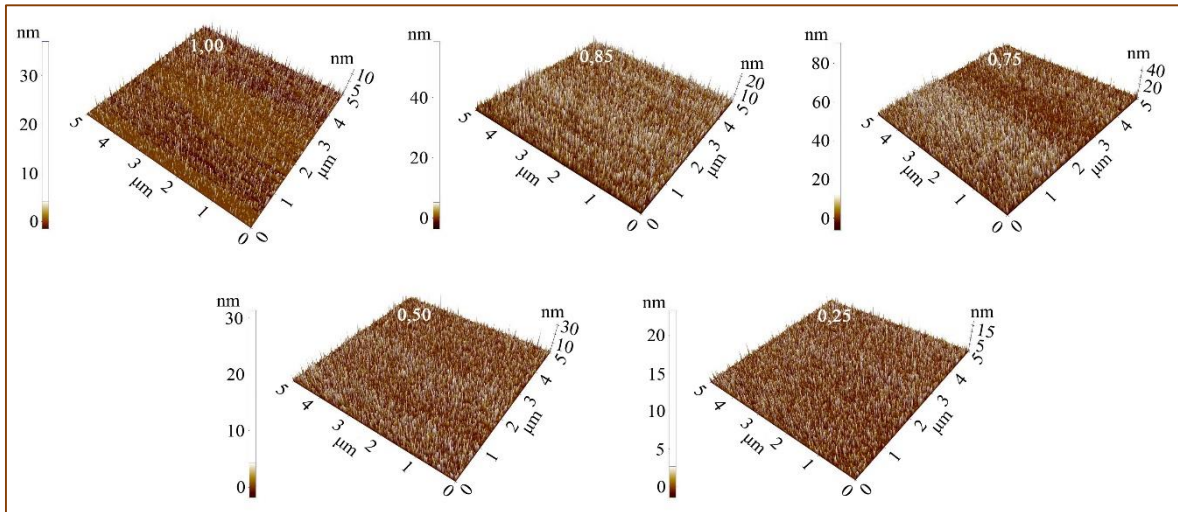
$$R_g = \alpha\left(\frac{\bar{DP}_n}{6}\right)^{1/2} \quad (4.6)$$

Bu eşitliklerde h elipsometik kalınlık ($h = 16,90 \pm 1,5$ nm), ρ polimerin yoğunluğu $\rho = 1.02$ g/cm³, N_A Avogadro sayısı, α ; istatistiksel segment uzunluğunu ($\alpha = 0,6$ nm) ve $\bar{DP}_n$ sayıca ortalama polimerleşme derecesidir. Polimerin D niceliği, R_g 'nin iki katından küçük olduğundan yüzeydeki polimerlerin fırça konformasyonunda düzenlendiği söylenebilir (Heuberger, 2005).

Ayrıca farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA) yüzeylerin 2D- ve 3D-AFM görüntüleri alındı (Şekil 4.15,16). χ_{BIBB} (çöz.) oranı 0,25'den 1,00'a artıkça $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ bir alan içinde rms değerlerinin $0,74 \pm 0,05$ nm'den $1,12 \pm 0,10$ nm'ye arttığı görüldü. Si-poli(MEO₂MA) yüzeylerin karışık moleküllerle oluşturulan SAM yüzeylerle karşılaştırıldığında, polimer oluşumuyla yüzeylerin kısmen pürüzlülük kazandığı ancak yine de mikrodomain yapıların oluşmadığı söylenebilir. χ_{BIBB} (çöz.) oranı 0,25'den 1,00'a artıkça su temas açıları ise poli(MEO₂MA)'nın hidrofilik karakteri sebebiyle $68,3 \pm 1,7^\circ$ 'den $63,5 \pm 2,5^\circ$ 'ye azalmıştır. Karışık moleküllerle oluşturulan SAM yüzeylerle karşılaştırıldığında polimer oluşumuyla yüzeyin daha hidrofiliklik kazandığı düşünülebilir.



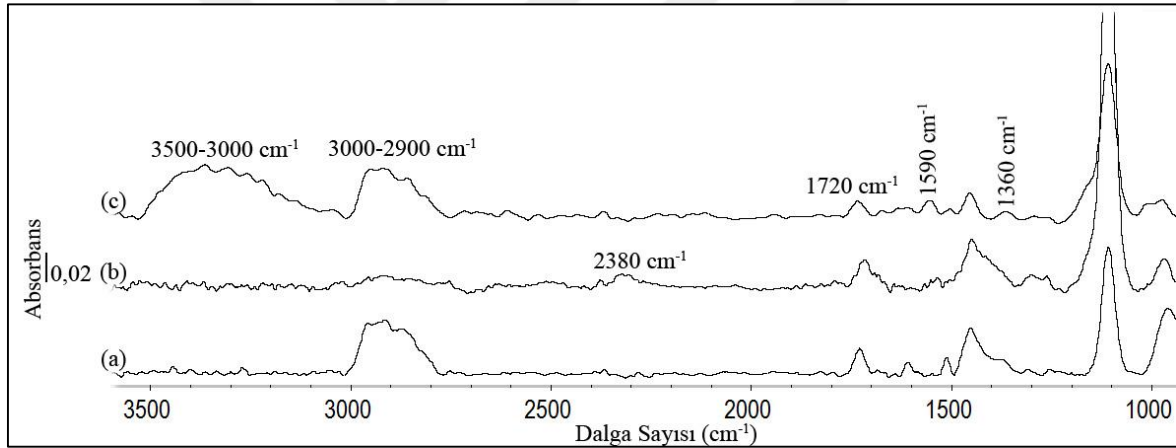
Şekil 4.15. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA) yüzeylere ait 2D-AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değerleri resim içlerinde verildi.)



Şekil 4.16. Farklı χ_{BIBB} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA) yüzeylere ait 3D-AFM görüntüleri

4.5. Si-poli(MEO₂MA) Birimlerine Maleimit Koruyucu Grup Takılması

Yüzeyde ışıkla başlatılan PET-ATRP ile Si-poli(MEO₂MA) birimlerinin sentezinde polimerleşme mekanizması gereği zincir uçlarında -Br atomu bulunur. Arayüz aracılı RAFT polimerleşmesi ile Si-poli(NPAPAA) sentezi sırasında poli(MEO₂MA) zincirinde blok kopolimer oluşmaması için bu zincir uçlarının korunması gerekir. Bu sebeple poli(MEO₂MA)'nın zincir uçundaki -Br atomu ile biyoyumlu maleimit molekülü ile yer değiştirildi (Şekil 4.1). Si-poli(MEO₂MA) birimlerinin GA-FTIR spektrumuyla Si-poli(MEO₂MA)-MPA spektrumu karşılaştırıldığında -COOH grubuna ait bandın 3000-3500 cm⁻¹'de, -SH grubuna ait zayıf bandın 2380 cm⁻¹'de ve C-N-C gerinim titreşimlerine ait bandın 1360 cm⁻¹'de varlığı maleimit molekülünün zincir uçlarına bağlandığını işaret etmektedir (Şekil 4.17).

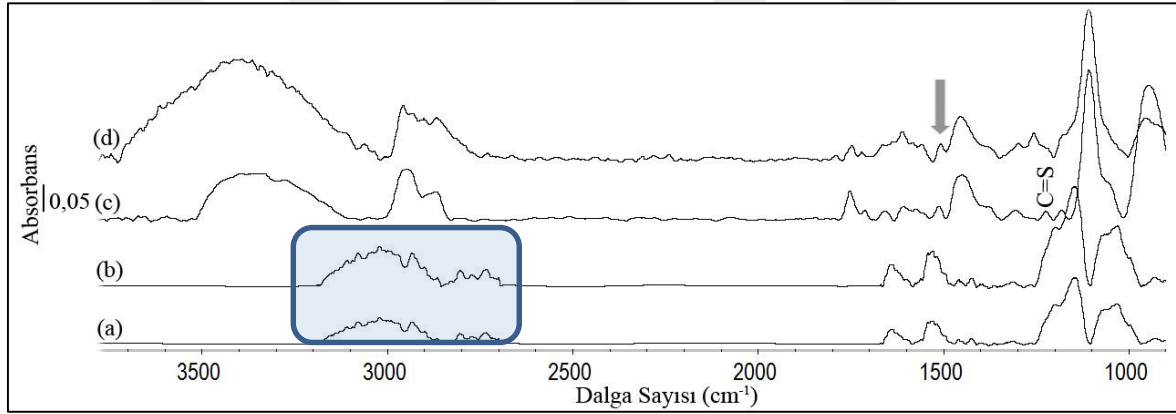


Şekil 4.17. Si-poli(MEO₂MA) (a), Si-poli(MEO₂MA)-SH (b) ve Si-poli(MEO₂MA)-MPA'nın (c) GA-FTIR spektrumları

4.6. Si-APTES-*t*-BOC'deki *t*-BOC koruyucu grubun kaldırılarak RAFT ajanının bağlanması ve ışık duyarlı poli(NPAPAA)'nın arayüz aracılı RAFT polimerizasyonu ile sentezi

Silisyum substrat yüzeyinde -poli(MEO₂MA)-MPA zincirleri ve -APTES-*t*-BOC birimlerinden oluşturulan karışık polimer/basit molekül karışımında koruyucu -*t*-BOC molekülünün uzaklaştırılması ve serbest amino grubunun oluşturulmasıyla RAFT ajanının bağlanması gereklidir. Yüzeye zarar vermeden koruma grubunun kaldırılması amacıyla kullanılan literatürde pek çok yöntem bulunmaktadır. % 7 potasyum karbonat çözeltisi (metanol:su karışımı 2:4, v/v) ile -*t*-BOC grubunun kaldırılması en yüksek verimle gerçekleşmektedir (Newman, 1965). Ancak bu yöntemle gerçekleştirilen tepkime,

istenmeyen yüzey korozyonuna sebep olmaktadır. Bu nedenle yüzey hasarı diğer yöntemlere göre daha az olan trifloroasetik asit ile *-t*-BOC koruma grubunun kaldırılması tercih edilmiştir. Bu çalışmada Si-APTES-*t*-BOC yüzeylerde önce trifloroasetik asitle *-t*-BOC koruma grubu kaldırılmış ardından NH_4OH çözeltisi ile aşırı protonlanma giderilmiştir. Sonuç olarak RAFT ajanının bağlanabileceği amino sonlu fonksiyonel gruplu yüzeyler (Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES) elde edilmiştir (Şekil 4.1). GA-FTIR spektrumlarında Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-*t*-BOC yüzeyinin spektrumu (4.18a) ile *t*-BOC grubunun kaldırılmasından sonraki Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES (4.18b) yüzeyinin spektrumu karşılaştırıldığında 3110-3580 cm^{-1} civarında gözlenen $-\text{NH}_2$ gerilmesine ait banddaki genişleme ve 2820-3000 cm^{-1} civarında alifatik $-\text{C}-\text{H}$ gerilmelerine ait bandlardaki azalma *t*-BOC koruma grubunun uzaklaştığını işaret etmektedir.

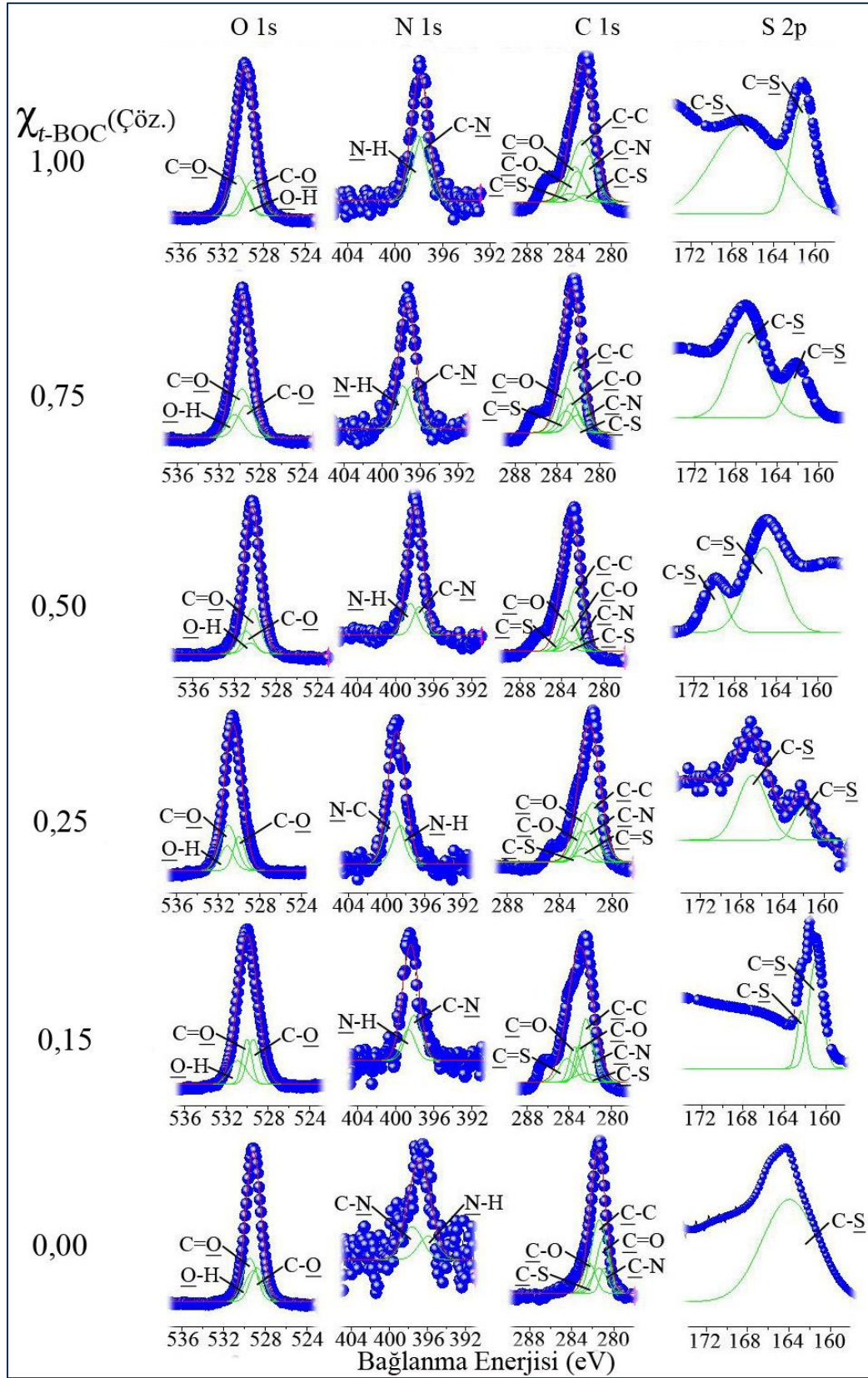


Şekil 4.18. Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-*t*-BOC (a), Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES (b), Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT (c) ve Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-poli(NPAPAA) yüzeylerinin (d) GA-FTIR spektrumları

Koruyucu grup kaldırıldıktan sonra RAFT ajanı DDMAT amit reaksiyonu ile Si-APTES birimlerine bağlandı. GA-FTIR spektrumunda 1220 cm^{-1} 'de C=S gerilme bandının varlığı DDMAT'ın bağlandığını göstermektedir (Şekil 4.18c). Ayrıca farklı χ_{BIBB} (çöz.) veya başka bir ifadeyle farklı χ_{t-BOC} (çöz.) oranlarında hazırlanan yüzeylerin kısmi taramalı XPS spektrumlarında 531,8 eV (C=O), 531,6 eV (C-O), 529,9 eV (O-H) bağlanma enerjilerinde O 1s, 399,7 eV (N-C), 398,2 eV (N-H) bağlanma enerjilerinde N 1s, 282,1 eV (C=O), 282,4 eV (C-O), 282,3 eV (C=S), 283,1 eV (C-S), 281,7 eV (C-C), 281,3 eV (C-N) bağlanma enerjilerinde C 1s pikleri gözlenmiştir (Şekil 4.19). 169,7 eV (C-S), 164,6 eV (C=S) bağlanma enerjilerinde S 2p pikinin varlığı RAFT ajanının bağlandığını kanıtlamaktadır. χ_{t-BOC} (çöz.) oranları 0,00'dan 1,00'a arttıkça kükürt atomunun derişimi %2,3'den %7,9'a

artmıştır (Çizelge 4.3). Bununla birlikte, bir mol APTES-BIBB ile bir mol APTES-*t*-BOC karışımıyla hazırlan Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeyler için kuramsal S/N oranının 1,33 olması gerekirken tüm bileşimlerde nispeten daha düşük değerler bulunmuştur (Şekil 4.20c). Bu durum yüzeydeki poli(MEO₂MA) zincirlerinin yüzeydeki bazı APTES birimlerini bloke etmesi sebebiyle DDMAT moleküllerin APTES'e bağlanmasını kısmen engellemiş olabilir.

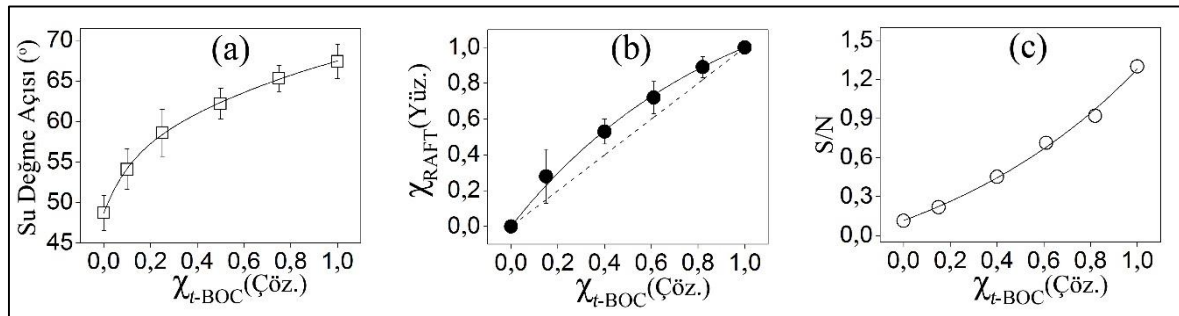




Şekil 4.19. Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin O1s, N1s, C1s ve S2p bağlanma enerjisi bölgelerindeki kısmi tarama XPS spektrumları

Çizelge 4.3. Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri

χ_{t-BOC} (Çöz.)		O 1s			N 1s		C 1s				S 2p			
		C=O	C-O	O-H	N-C	N-H	C=O	C-O	C=S	C-S	C-C	C-N	C-S	C=S
1,00	Enerji (eV)	530,0	-	-	397,9	-	283,8	-	284,0	281,9	282,2	283,1	169,9	164,6
	Atomik (%)		26,7		7,1				58,3				7,9	
0,75	Enerji (eV)	530,1	529,0	531,1	398,1	396,5	283,9	282,6	281,9	283,8	282,2	281,7	169,0	164,3
	Atomik (%)		27,2		3,1				62,5				7,2	
0,50	Enerji (eV)	530,9	528,3	530,0	397,9	398,3	283,9	283,4	284,2	282,0	283,0	282,2	166,0	165,7
	Atomik (%)		27,8		3,6				62,8				5,8	
0,25	Enerji (eV)	530,0	529,2	531,3	398,0	398,7	283,9	283,0	284,3	282,2	282,1	281,7	166,1	164,7
	Atomik (%)		25,6		5,9				64,4				4,1	
0,15	Enerji (eV)	531,8	531,6	529,9	399,7	398,2	282,1	282,4	282,3	283,1	281,7	281,3	169,7	164,6
	Atomik (%)		28,1		2,9				66,1				2,9	
0,00	Enerji (eV)	530,2	528,1	529,1	398,4	396,1	281,1	282,7	281,9	282,1	282,0	280,3	166,5	-
	Atomik (%)		27,8		2,6				67,3				2,3	



Şekil 4.20. (a) Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin su temas açısının çözeltideki (χ_{t-BOC} (Çöz.)) ile değişimi, (b) Israelachvili-Gee eşitliğinden su temas açısı kullanılarak hesaplanan yüzeydeki APTES-DDMAT'ın mol kesrinin (χ_{RAFT} (Yüz.) χ_{t-BOC} (Çöz.) ile değişimi ve (c) S/N oranının χ_{t-BOC} (Çöz.) ile değişimi

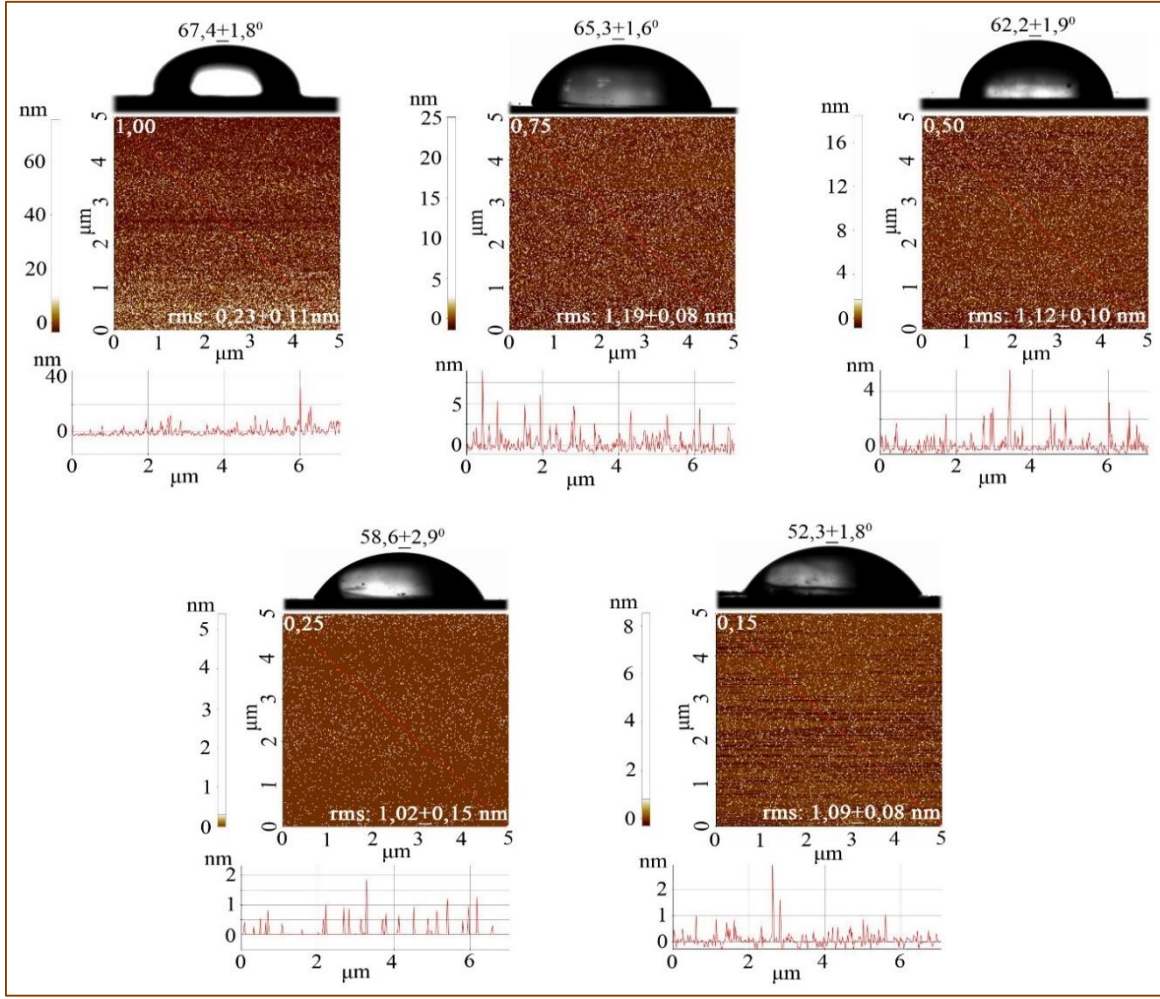
Si-Poli(MEO₂MA) yüzeyin (χ_{t-BOC} (çöz) = 0,00) su temas açısı $48,7 \pm 2,2^\circ$ iken, χ_{t-BOC} (çöz) = 1,00 ile hazırlanan Si-APTES-DDMAT yüzeyin su temas açısı $67,4 \pm 1,8^\circ$ olarak ölçüldü. Bu durumda, Si-APTES-DDMAT yüzeyi alifatik dodesil grupları sebebiyle

Si-Poli(MEO₂MA) yüzeyinden kısmen daha hidrofobiktir. Su temas açısı ile $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ arasındaki korelasyon farklıdır: $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ arttıkça yüzeye bağlı APTES-DDMAT derişimi arttığından su temas açısının da artmasıyla işaret edildiği gibi yüzey daha hidrofobik hale geliyor (Şekil 4.20a). Silisyum yüzeyinde poli(MEO₂MA) ile APTES-DDMAT'ın bulunduğu düşünülürse su temas açıları θ_{polm} ve θ_{RAFT} 'dir. RAFT ajanın yüzeydeki mol kesri ($\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$) Israelachvili-Gee eşitliğinden bulunabilir (Israelachvili ve Gee, 1989).

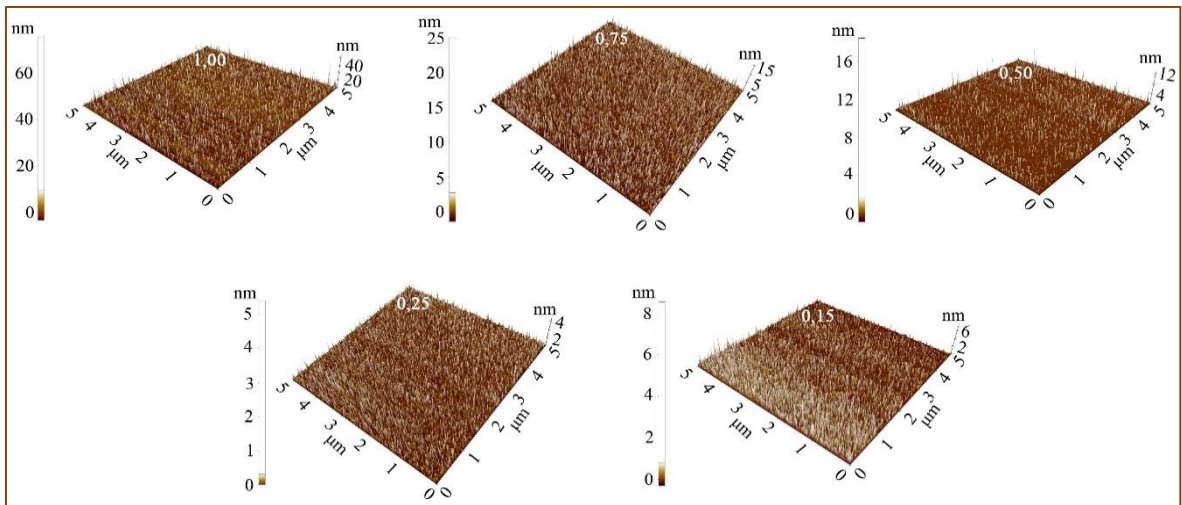
$$\chi_{RAFT(\text{yüzey})} = \frac{(1+\cos \theta)^2 - (1+\cos \theta_{polm})^2}{(1+\cos \theta_{RAFT})^2 - (1+\cos \theta_{polm})^2} \quad (4.7)$$

Şekil 4.20b, eşitlik 4.7'den hesaplanan $\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$ 'nin çözelti içindeki APTES-t-BOC'nin mol kesrine bağlılığını göstermektedir. $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ arttıkça $\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$ artmaktadır. $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ artması $\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$ 'in artmasına ve dolayısıyla yüzeydeki poli(MEO₂MA) derişiminin azalmasına yol açar. Burada artan $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ ile artan $\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$ arasındaki korelasyon, XPS verilerinden bulunan değerlerden kısmen farklıdır (Şekil 4.20b). Daha önce belirtildiği gibi XPS ölçümleri su temas açısı ölçümlerinden daha güvenilir bilgi verdiği kabul edilir. Ancak, Israelachvili-Gee eşitliğinden su temas açısı kullanılarak hesaplanan yüzeydeki APTES-RAFT'ın mol kesrinin birim değerlerden (Şekil 4.9b, kesikli çizgi) yüksek olması dolaylı olarak APTES-t-BOC molekülün reaktifliğinin APTES-BIBB'ten kısmen yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 4.20b).

Farklı $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin 2D- ve 3D-AFM görüntüleri alındı (Şekil 4.21, 22). $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ oranı 0,15'den 0,75'e arttıkça 5 $\mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ bir alan içinde rms değerlerinin $1,08 \pm 0,09 \text{ nm}$ 'den $1,19 \pm 0,11 \text{ nm}$ 'ye arttığı görüldü. Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylerin Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-t-BOC yüzeylerle karşılaştırıldığında, t-BOC grubunun yerine RAFT ajanı DDMAT bağlanınca yüzeylerin kısmen pürüzlülük kazandığı ancak homojen görünümde olduğu belirlenmiştir. $\chi_{t-BOC}(\text{çöz})$ oranı 1,00 olan fonksiyonel yüzeyde sadece –APTES-DDMAT birimi mevcut olduğundan rms değeri $0,23 \pm 0,11 \text{ nm}$ olarak ölçülmüştür.

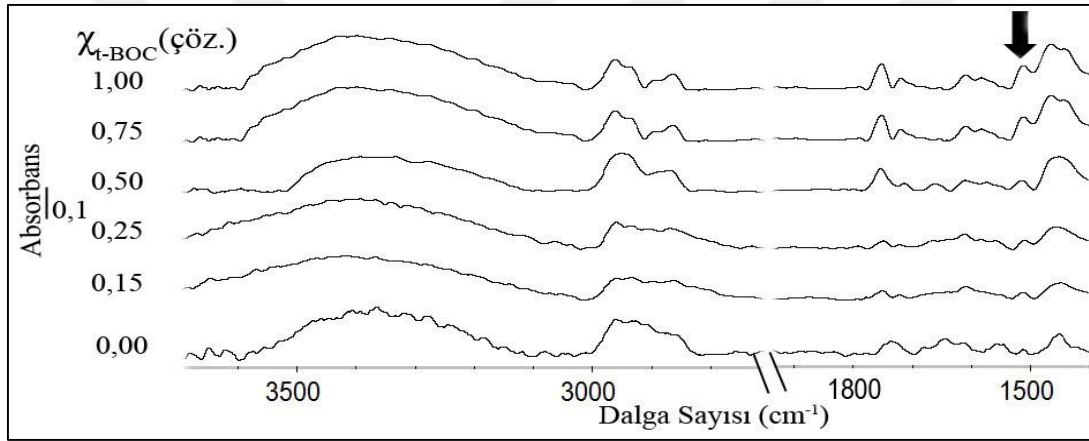


Şekil 4.21. Farklı χ_{t-BOC} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylere ait 2D-AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri (rms değeri resim içinde verilmiştir.)



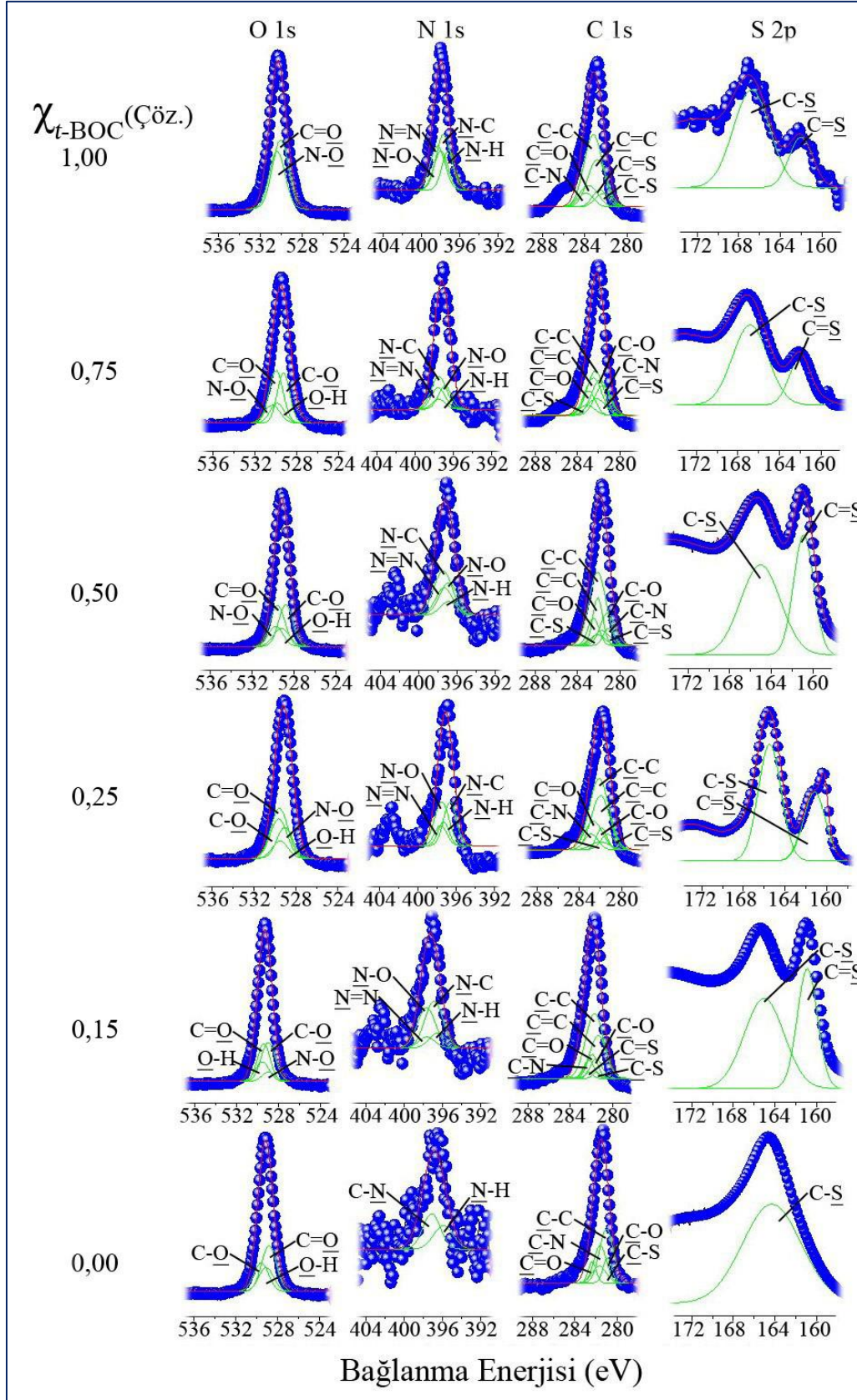
Şekil 4.22. Farklı χ_{t-BOC} (çöz.) oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)-MPA/Si-APTES-DDMAT yüzeylere ait 3D-AFM görüntüleri

Farklı derişimlerde Si-APTES-DDMAT içeren yüzeyler ve NPAPAA monomeri kullanılarak arayüz aracılı RAFT polimerizasyonu ile poli(NPAPAA) biriminin de sentezlenmesiyle silisyum yüzeyinde poli(NPAPAA) ve poli(MEO₂MA) birimlerinden oluşan karışık fırçalar oluşturuldu. GA-FTIR spektrumunda 1447 cm⁻¹'de N=N gerilmesine, 1490 cm⁻¹'de N-O gerilimine, 2880 cm⁻¹'de Ar-H gerilmesine ait bandlar poli(NPAPAA) birimine aittir (Şekil 4.23). Poli(MEO₂MA) birimine ait bandlar ise karbonil grubunun asimetrik gerilimine ait bandı ~1720 cm⁻¹ ve alifatik -CH₂ gerinim titreşimlerine ait band 2900-3000 cm⁻¹'de gözlenmiştir. χ_{t-BOC} (çöz.) 0,00'dan 1,00'a artmasıyla oluşan yüzeydeki polimer karışımında poli(NPAPAA) birimi derişimi de arttığından 1447 cm⁻¹'de N=N gerilmesine ait band şiddeti de artmıştır (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Farklı χ_{t-BOC} (çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) fırçaların GA-FTIR spektrumları

Farklı χ_{t-BOC} (çöz.)=0,89'da hazırlanan karışık polimer fırçaların kısmi taramalı XPS spektrumlarında 530,8 eV (C=O), 529,2 eV (C-O), 529,5 eV (O-H), 530,6 eV (N-O) bağlanma enerjilerinde O 1s, 397,8 eV (N-C), 396,7 eV (N-H), 397,9 eV (N=N), 396,4 eV (N-O) bağlanma enerjilerinde N 1s, 282,6 eV (C=O), 281,8 eV (C-O), 281,9 eV (C=S), 283,2 eV (C-S), 282,0 eV (C-C), 282,4 eV (C=C), 281,6 eV (C-N) bağlanma enerjilerinde C 1s pikleri gözlenmiştir (Şekil 4.24). 168,5 eV (C-S) ve 164,0 eV (C=S) bağlanma enerjilerinde S 2p piki de görülmüştür. χ_{t-BOC} (çöz.)=0,00 olan yüzeyde 166,8 eV (C-S) bağlanma enerjisinde tek S2p piki gözlenirken χ_{t-BOC} (çöz.) >0,00 olan yüzeylerde RAFT ajanına ait 166,8 eV bağlanma enerjisinde C-S ve 161,1 eV bağlanma enerjisinde C=S'ye ait kimyasal çevresi farklı iki S 2p piki gözlenmiştir. Bununla birlikte χ_{t-BOC} (çöz.) oranları 0,00'dan 1,00'a arttıkça kükürt atomunun derişimi % 0,4'den % 10,8'e artması arayüz aracılı RAFT polimerleşmesinin kontrollü/yaşayan karakterde olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.24. Farklı $\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})$ 'de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların O 1s, N 1s, C 1s ve S 2p bağlanma enerjisi bölgelerindeki kısmi taramalı XPS spektrumları

Çizelge 4.4. Farklı χ_{t-BOC} (çöz.)’de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların bağlanma enerjileri ve atomik derişimleri

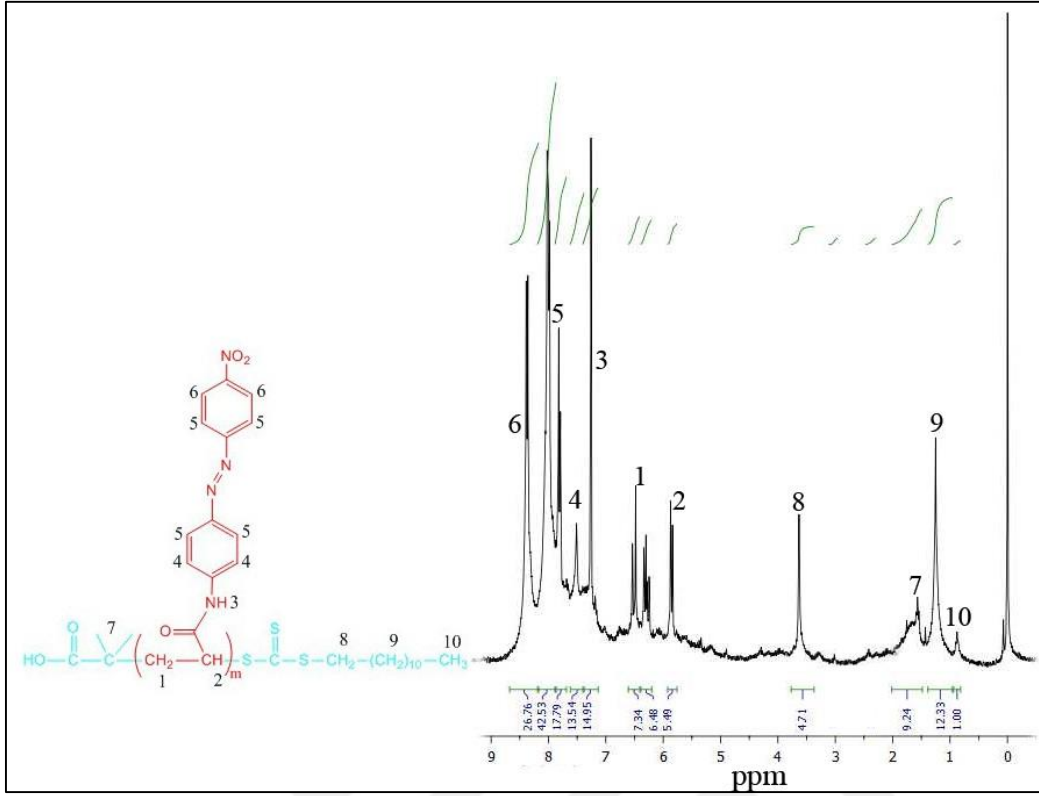
$\chi_{t-BOC}(\text{çö})$		O 1s				N 1s				C 1s				S 2p				
		C=O	C-O	O-H	N-O	N-C	N-H	N=N	N-O	C=O	C-O	C=S	C-S	C-C	C=C	C-N	C-S	C=S
1,00	Enerji (eV)	530,0	-	-	530,9	397,9	397,5	398,3	398,0	283,4	-	282,4	282,1	283,0	282,6	284,0	169,8	164,5
	Atomik (%)		21,8				10,2						57,2				10,8	
0,75	Enerji (eV)	530,8	529,2	529,5	530,6	397,8	396,7	397,9	396,4	282,6	281,8	281,9	283,2	282,0	282,4	281,6	168,5	164,0
	Atomik (%)		23,0				10,1						56,9				10,0	
0,50	Enerji (eV)	530,4	528,7	529,1	530,4	398,1	396,8	397,9	397,3	282,2	280,8	281,6	281,8	282,0	281,9	281,7	162,1	161,8
	Atomik (%)		25,7				9,9						55,2				9,2	
0,25	Enerji (eV)	530,2	530,1	529,9	528,8	396,4	397,3	398,1	398,8	282,8	281,6	281,2	281,9	282,4	282,0	283,1	166,8	165,1
	Atomik (%)		22,1				9,5						61,8				6,6	
0,15	Enerji (eV)	529,9	528,6	529,3	528,6	396,3	396,1	398,0	398,2	282,0	281,8	282,4	281,5	281,7	281,9	282,3	162,4	161,1
	Atomik (%)		21,4				9,1						65,1				4,4	
0,00	Enerji (eV)	528,5	530,2	529,4	-	397,9	396,1	-	-	282,8	281,1	-	282,0	280,2	-	281,9	166,8	-
	Atomik (%)		34,2				8,6						56,8				0,4	

Poli(NPAPAA)’nın teorik mol kütlesi ($\bar{M}_{n,th}$) aşağıdaki eşitlikten 11800 g mol⁻¹ olarak belirlendi.

$$\bar{M}_{n,th} = \frac{[M]_0}{[I]_0 + [RAFT]_0} \times M_m \times \text{Dönüşüm} \quad (4.8)$$

$[M]_0$, $[I]_0$ ve $[RAFT]_0$ sırasıyla başlangıçta çözeltide bulunan monomer, başlatıcı ve RAFT ajanının derişimleri, M_m ise monomerin (NPAPAA’nın) mol kütlesidir.

ATRP polimerizasyonunda olduğu gibi küçük bir silisyum yüzeyinde (1,0x1,5 cm²) oluşan polimer fırçaların miktarı çok küçüktür. Bu polimerin yüzeyden bir şekilde alınması ve mol kütlesinin belirlenmesinde kullanılması için miktarı yeterli değildir. Bu sebeple çözeltide oluşan serbest polimerin (χ_{t-BOC} (çöz.)=1,00) soğuk hekzan ile çöktürölüp alınması ve ¹H-NMR spektrumunun aşağıdaki eşitlikte değeriendirilmesiyle Poli(NPAPAA)’ın mutlak mol kütlesi 13700 g mol⁻¹ olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.25. Çözeltide oluşan serbest poli(NPAPAA)’nın ^1H -NMR spektrumu

$$\bar{M}_{n,NMR} = \frac{(I^{7,9} + I^{8,1})/4}{I^{0,9}/3} \times M_m + M_{RAFT} \quad (4.9)$$

Bu eşitlikte δ 7,9 ve 8,1 ppm’deki pik sinyali poli(NPAPAA)’nın aromatik -CH pik şiddetine ve δ 0,9 ppm’deki pik sinyali ise RAFT ajanı DDMAT’nin $-\text{CH}_3$ ’deki pik şiddetine aittir. M_{RAFT} DDMAT’nin mol kütlesidir.

$\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})=1,00$ olan çözeltide hazırlanan polimerin aşılama parametreleri Eş. 4.4, 4.5 ve 4.6 kullanılarak bağlanma yoğunluğu $\sigma = 0,57$ zincir/ nm^2 , bağlanma noktaları arası uzaklık $D = 1,50$ nm ve jirasyon yarıçapı $R_g = 1,39$ nm olarak belirlendi. Bu eşitliklerde h elipsometik kalınlık ($h = 10,30 \pm 1,1$ nm), ρ polimerin yoğunluğu $\rho = 1,27$ g/ cm^3 , N_A Avogadro sayısı, α ; istatistiksel segment uzunluğunu ($\alpha = 0,5$ nm) ve $\overline{DP}_n$ sayıca ortalama polimerleşme derecesidir. Polimerin D niceliği, R_g ’nin iki katından küçük olduğundan yüzeydeki polimerlerin fırça konformasyonunda düzenlendiği söylenebilir (Heuberger, 2005).

Karışık polimer fırçalarda iki farklı polimer olduğu için homopolimerlerin aşılama parametrelerinin hesaplanması için kullanılan eşitlikler X_{BIBB} (yüz.) = $X_{poli(MEO_2MA)}$ (yüz.) ve X_{t-BOC} (yüz.) = X_{RAFT} (yüz.) = $X_{poli(NPAPAA)}$ (yüz.) kabulleri yapılarak, mol kesirleri oranlarında ortalama mol kütlesi ve ortalama bağlanma yoğunluğuna katkısı olduğu düşünülerek aşağıdaki önerilen modifiye eşitlikler kullanılarak karışık polimer fırçaların aşılama parametreleri belirlendi. Elde edilen veriler çizelge 4.5'te verildi.

$$\langle \bar{M}_n \rangle_{kar.} = (1 - X_{poli(NPAPAA)}) \cdot \bar{M}_{NMR(poli(MEO_2MA))} + X_{poli(NPAPAA)} \cdot \bar{M}_{NMR(poli(NPAPAA))} \quad (4.11)$$

$$\langle \rho \rangle_{kar.} = (1 - X_{poli(NPAPAA)}) \cdot \rho_{(poli(MEO_2MA))} + X_{poli(NPAPAA)} \cdot \rho_{NMR(poli(NPAPAA))} \quad (4.12)$$

$$\sigma_{kar.} = \frac{h_{kar.} \cdot \langle \rho \rangle_{kar.} \cdot N_A \cdot 10^{-21}}{\langle \bar{M}_{NMR} \rangle_{kar.}} \quad (4.13)$$

$$\langle M \rangle_{kar.} = (1 - X_{poli(NPAPAA)}) \cdot M_{MEO_2MA} + X_{poli(NPAPAA)} \cdot M_{NPAPAA} \quad (4.14)$$

$$\langle \overline{DP}_n \rangle_{kar.} = \frac{\langle \bar{M}_{NMR} \rangle_{kar.}}{\langle M_{mono} \rangle_{kar.}} \quad (4.15)$$

$$\langle D \rangle_{kar.} = \left(\frac{4}{\pi \sigma_{kar.}} \right)^{1/2} \quad (4.16)$$

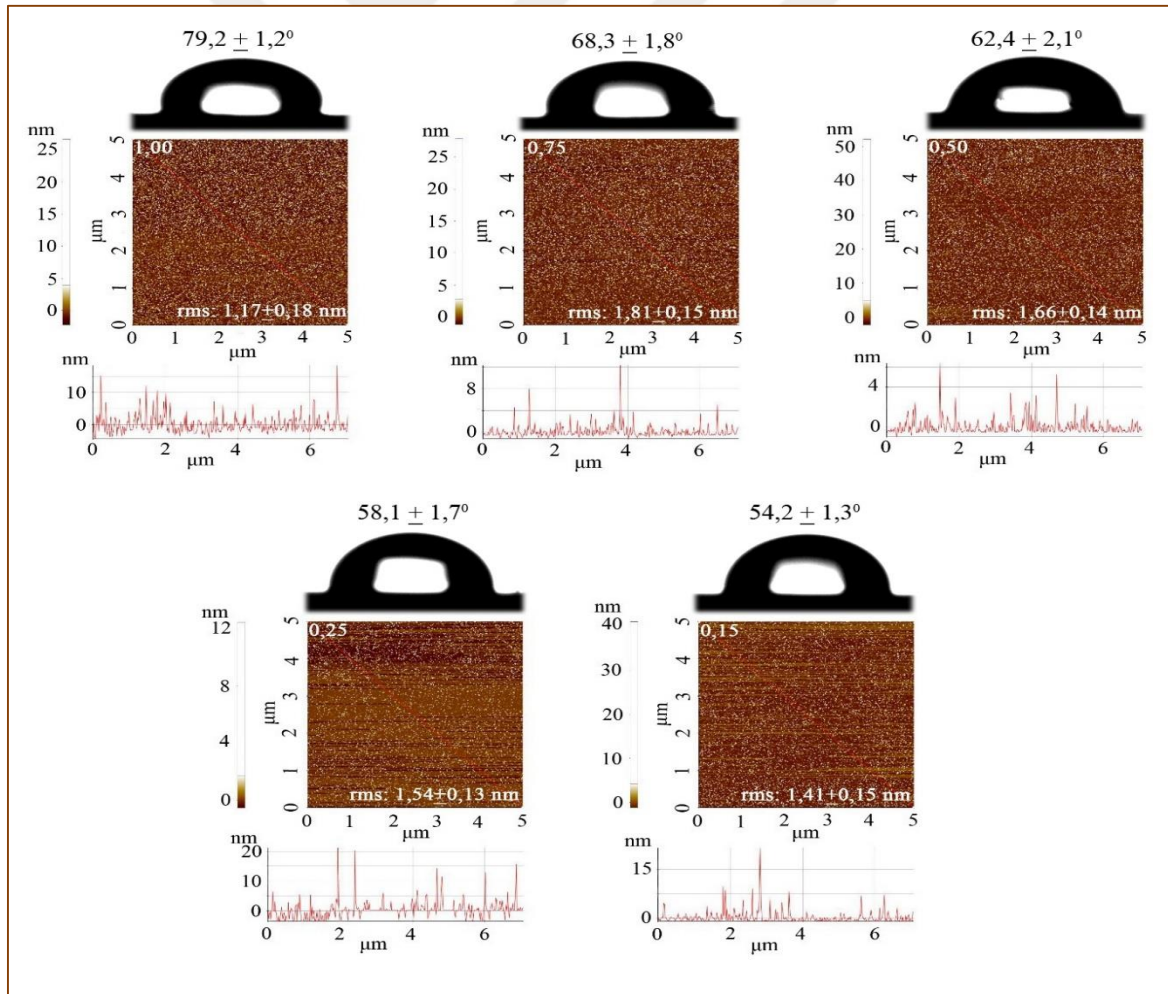
$$\langle R_g \rangle_{kar.} = \alpha \left(\frac{\langle \overline{DP}_n \rangle_{kar.}}{6} \right)^{1/2} \quad (4.17)$$

Çizelge 4.5. Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların aşılama parametrelerinin χ_{t-BOC} (çöz.) ile değişimi

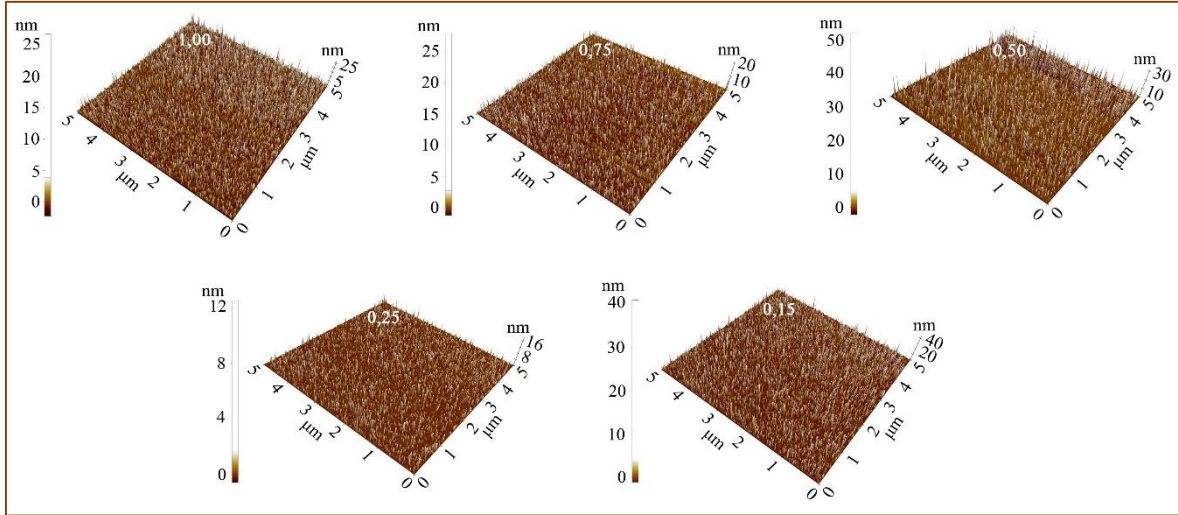
X_{t-BOC} (yüz.)	$h_{kar.}$ (nm)	$\langle \bar{M}_{NMR} \rangle_{kar.}$ (g/mol)	$\langle \rho \rangle_{kar.}$ (g/cm ³)	$\sigma_{kar.}$ (zincir/nm ²)	$\langle D \rangle_{kar.}$ (nm)	$\langle R_g \rangle_{kar.}$ (nm)	$D/2R_g$
1,00	10,30±1,10	13700	1,27	0,57	1,50	1,39	0,54
0,89	11,60±1,25	14490	1,24	0,60	1,46	1,46	0,50
0,72	12,77±1,89	15700	1,20	0,59	1,47	1,57	0,47
0,53	13,53±1,58	17000	1,15	0,55	1,52	1,70	0,45
0,19	14,71±2,02	19500	1,07	0,49	1,61	1,97	0,41
0,00	16,90±1,50	20900	1,02	0,50	1,60	2,58	0,31

$X_{t-BOC}(\text{yüz.})$ 1,00 olan yüzey Si-poli(NPAPAA), $X_{t-BOC}(\text{yüz.})$ 0,00 olan yüzey ise Si-poli(MEO₂MA) homopolimer sistemini simgelemektedir. $X_{t-BOC}(\text{yüz.})$ değeri 0,19'dan 0,89'a artmasıyla σ_{Kar} değeri 0,49 zincir/nm²'den 0,60 zincir/nm²'ye artarken D değeri 1,61 nm'den 1,46 nm'ye düşmüştür. $D/2R_g < 2,0$ olması polimer zincirlerinin fırça konformasyonunda olduğunu göstermektedir. Tüm yüzeylerde $\sigma_{Kar} \geq 0,50$ zincir/nm² olduğundan bağlanma yoğunluğu yüksek polimer fırçalar oluşmuştur.

Farklı $\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})$ oranlarında hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların 2D- ve 3D-AFM görüntüleri alındı (Şekil 4.26,27). $\chi_{t-BOC}(\text{Çöz.})=1,00$ iken poli(NPAPAA) fırçanın rms değeri $1,17 \pm 0,18$ nm'dir. $\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})$ oranı 0,15'dan 0,75'e artıkça $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ bir alan içinde rms değerlerinin $1,41 \pm 0,15$ nm'den $1,81 \pm 0,15$ nm'ye arttığı ancak, homojen görünümde olduğu ve mikrodomanlerin oluşmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.26. Farklı $\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})$ 'de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçalara ait 2D-AFM ve yükseklik dağılım görüntüleri, su temas açısı sonuçları ve oluşan su damlacığının görüntüleri



Şekil 4.27. Farklı χ_{t-BOC} (Çöz.)’de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçalara ait 3D-AFM görüntüleri

χ_{t-BOC} (Çöz.)=1,00 iken poli(NPAPAA) fırçanın baskın *trans* azo benzen varlığı sebebiyle hidrofobik karakterinden kaynaklanan su temas açısı $79,2 \pm 1,2^\circ$ ’dır. Karışık polimer fırçalarda χ_{t-BOC} (Çöz.) oranı 0,15’den 0,75’a artıkça, yüzeyde hidrofilik karakterli poli(NIPAM) birimlerinin azalması ve hidrofobik karakterli *trans* azobenzen içeren poli(NPAPAA) birimlerinin artması sebebiyle su temas açıları $54,2 \pm 1,3^\circ$ ’den $68,3 \pm 1,8^\circ$ ’ye artmıştır.

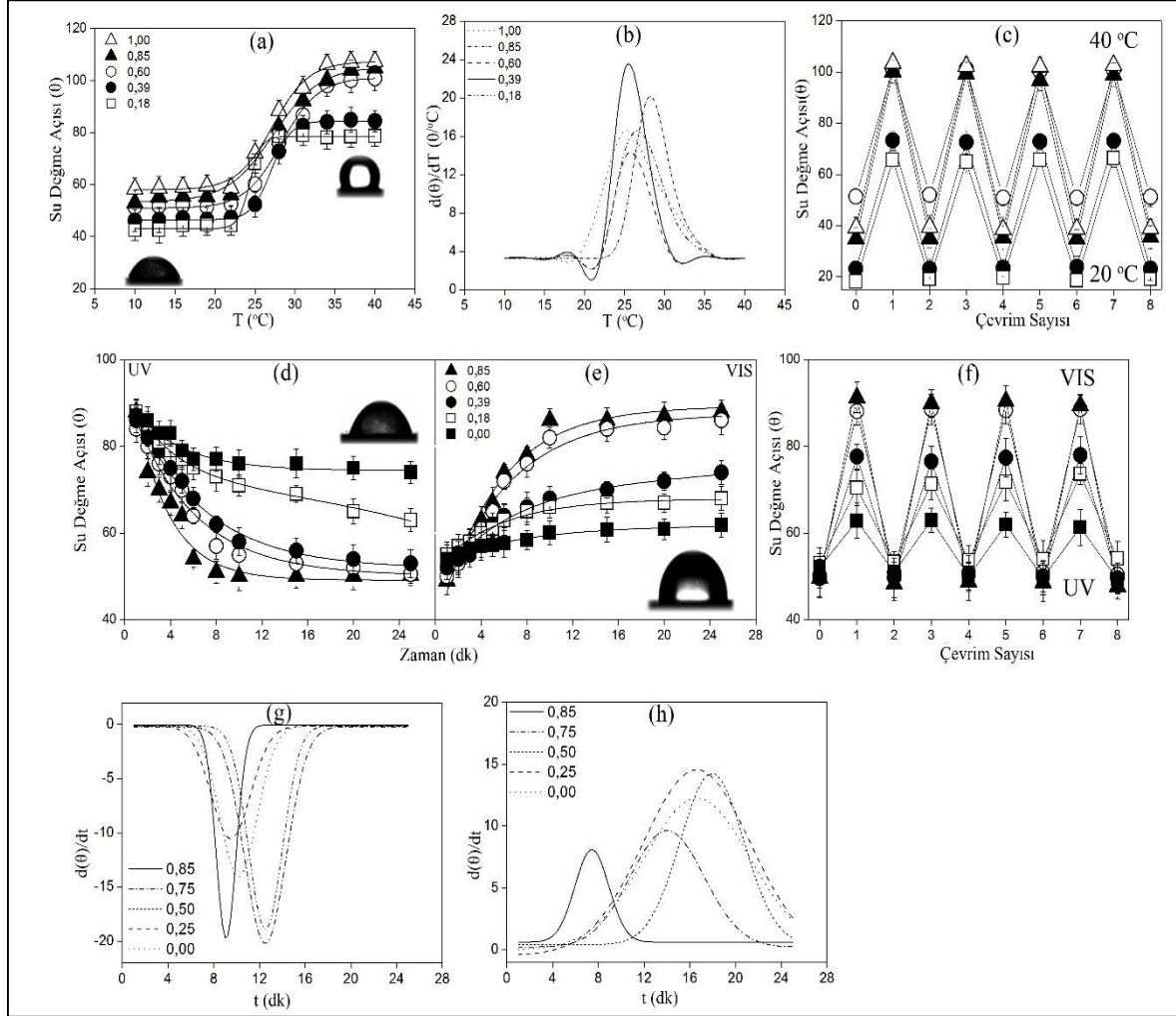
4.7. Karışık Polimer Fırçaların Sıcaklık ve Işık Duyarlılığı

Sıcaklık duyarlı polimerler, hidrofobik/hidrofilik değişime bağlı olarak çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu tür polimerlerde alt kritik çözünme sıcaklığın (LCST) altında polimer-çözücü etkileşimi baskındır, polimer hidrofilik özellik gösterir ve çözünme olur, LCST’nin üzerinde polimer zincirleri arası etkileşimler polimer-su etkileşimlerine baskın gelir, hidrofobik özellik gösterir ve polimer çöker. Katı substratlar üzerine immobilize edilen sıcaklık duyarlı polimerler LCST’ye bağlı sergilediği çökme/çözünme konformasyon değişimi ile protein adsorpsiyonu ve hücre bağlanmasına olanak sağladığından hücre kültürü uygulamalarında sıklıkla tercih edilir. Bu tür polimerler, LCST’nin altına soğutulduğunda, hidrofobik-hidrofilik faz değişimi mekanik olarak kültürlenmiş hücreleri bırakır. Ayrıca sıcaklık duyarlı polimerler, geleneksel proteaz aracılı hücre ayrılması sırasında parçalanabilen hücre dışı matriks (ECM) ve hücre yüzey proteinlerini korur. Sonuç olarak, sıcaklık duyarlı polimerlere tutunan hücrelerin mekanik

salımı ve hücre fenotipinin kültürde korunması uygulamaları doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanında kullanılmaktadır (Anderson, 2017). Sıcaklık duyarlı polimerlerin kullanıldığı alanlarda ışık duyarlı polimerlerde kullanılabilir. İzomerizasyon değişimini uyaran fotofiziksel özelliklere bakılmaksızın, azobenzen içeren tüm ışık duyarlı polimerlerin temeli *cis* ve *trans* formları arasındaki boyut değişimine dayanır. İzomerizasyon uçtan uca mesafenin $\sim 3,5$ Å kısalmasına neden olur, azobenzen molekülünün izomerizasyonu ile oluşan ~ 3 Debye'lik dipol moment değişimi iyi tasarlandığında biyomedikal alanlarda kullanım potansiyeli bulur (Beharry, 2011). Her iki duyarlılığa (sıcaklık ve ışık) sahip polimerik malzemeler ise bu alanlarda kullanım kolaylığı sağlar.

Bu çalışmada sentezlenen Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçalar hem sıcaklık hem de ışık duyarlılığına sahiptir. Farklı χ_{BIBB} (çöz.)'de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların sıcaklık duyarlılığını belirlemek için farklı sıcaklıklarda üç farklı noktada su temas açıları ölçüldü ve sonuçların ortalaması alındı. Her bir veri için su temas açısı ölçümünden önce substratın ısı dengeye gelmesi için ölçülecek sıcaklıkta 10 dakika bekletildi. Şekil 4.21 A(a)'da karışık polimer fırçaların su temas açısının sıcaklıkla değişimi gösterildi. Bu şekilde gösterildiği gibi, su temas açısı eğrileri düşük ve yüksek sıcaklıklarda iki tanımlanmış bölgeye ve aralarında bir geçişe sahiptirler. 20 °C'da silisyum yüzeyindeki poli(MEO₂MA) biriminin (2-metoksietoksi)etil asılı grubu ile su molekülleri arasındaki H-bağı türü etkileşimler polimer zincirlerinin kendi aralarındaki etkileşimlerden baskın olduğundan hidrofilik özellik sergiler ve çözünme olur, su temas açısı $\sim 60^\circ$ dir. Sıcaklık 40 °C'a yükseldiğinde poli(MEO₂MA)'nın kendi zincirleri ve poli(NPAPAA) zincirleriyle olan hidrofobik etkileşimleri suyla olan H- bağı türü etkileşimlerden daha baskın hale gelir hidrofobik özellik sergiler ve polimer çökme eğilimi gösterir, su temas açısı $\sim 108^\circ$ 'ye artar. Ancak, bu polimer fırçalar geçiş sıcaklık aralığında keskin bir değişiklik göstermedi. Bu sebeple, farklı χ_{BIBB} (çöz.)'de hazırlanan karışık polimer fırçaların su temas açılarının sıcaklığa karşı türevi ($d\theta/dT$) alındı ve faz geçiş sıcaklıkları (LCST) belirlendi (Şekil 4.21b). Bu türev eğrisinden karışık polimer fırçaların faz geçiş sıcaklığı χ_{BIBB} (çöz.) 0,25'den 0,85'e arttıkça faz geçiş sıcaklıkları da 24,6 °C'dan 29,2 °C'a arttı. χ_{BIBB} (çöz.) = 1,00'da hazırlanan saf Si-poli(MEO₂MA) fırçanın faz geçiş sıcaklığı ise 28,3 °C olarak belirlendi. Bu değer çözeltideki serbest poli(MEO₂MA)'nın faz geçiş sıcaklığına çok yakındır (Han, 2003). Polimer fırçalar LCST'nin altında 20 °C'da ve üstünde 40 °C'da bekletilerek su temas açıları ölçülerek faz geçişinin tersinir olup olmadığı

belirlendi (Şekil 4.21c). Buna göre 8 çevrim sonunda faz geçişinin tersinir nitelikte olduğu görüldü.



Şekil 4.28. Farklı $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ 'de hazırlanan Si-poli(MEO₂MA)/Si-poli(NPAPAA) karışık fırçaların sıcaklık ve ışık duyarlılığı; (a) Artan sıcaklıkla su temas açısı değişimi, (b) $d(\theta)/dT$ 'nin sıcaklıkla değişimi, (c) Su temas açısının çevrimsel değişimi, (d) *trans-cis* azobenzen dönüşümünün süre ile değişimi, (e) *cis-trans* azobenzen dönüşümünün süre ile değişimi, (f) *cis-trans* değişimindeki su temas açılarının çevrimsel değişimi, (g) *trans-cis* geçişinde $d(\theta)/dt$ 'nin süre ile değişimi ve (h) *cis-trans* geçişinde $d(\theta)/dt$ 'nin süre ile değişimi

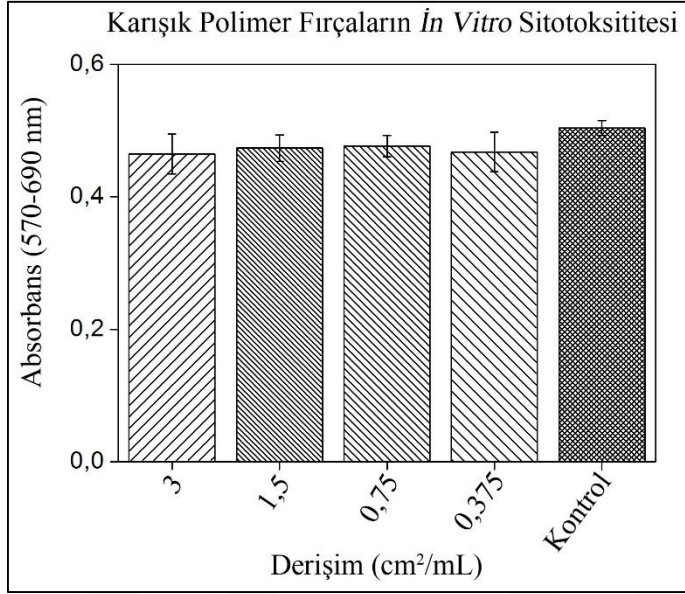
Farklı $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ 'de hazırlanan karışık polimer fırçaların poli(MEO₂MA) birimi sıcaklık duyarlı özellik taşıırken poli(NPAPAA) birimi ışık duyarlı özellik taşımaktadır. Hazırlanan karışık polimer fırçalar farklı dalga boylarındaki ışınlarla ışınlandıklarında poli(NPAPAA) birimleri *trans-cis* konformasyon değişimine bağlı olarak hidrofobik/hidrofilik karakter gösterdiler. Karışık polimer fırçaların farklı sürelerde ultraviyole (UV, $\lambda=365$ nm) ve görünür bölge (GB, $\lambda=450$ nm) ışını altında gösterdikleri izomerizasyon değişimleri su

temas açısı ölçümleri ile izlendi. Karışık polimer fırçaların poli(NPAPAA) birimi normal koşullarda *trans* konformasyonundadır. *Trans* konformasyonunda poli(NPAPAA)'nın kısmi hidrofobik nitrobenzen grubu (-O-NO₂) yüzeyde zengindir ve su temas açısı ~89° olarak ölçüldü. Ancak, bu polimer fırçalar *trans-cis* ve *cis trans* geçiş süreleri aralığında keskin bir değişiklik göstermedi (Şekil 4.28d ve e) Bu sebeple, farklı χ_{BIBB} (çöz.)'de hazırlanan karışık polimer fırçaların su temas açılarının zamana göre türevleri (d θ /dt) alındı ve minumum pik sürelerinden *trans-cis* geçiş süreleri (TC-Tt) ve maksimum pik sürelerinden ise *cis trans* geçiş süreleri (CT-Tt) belirlendi (Şekil 4.28g ve h). Bu türev eğrilerinden karışık polimer fırçaların faz geçiş sıcaklığı χ_{BIBB} (çöz.) 0,25'den 0,85'e arttıkça TC-Tt değerleri 9 dk'dan 13 dk'ya artarken (Şekil 4.28d). CT-Tt değeri ise 6 dk'dan 18'dk'ya arttı. *Trans* formdaki polimer fırçalar UV ile ışınlандığında *cis* formuna geçtiği için poli(NPAPAA)'nın hidrofilik azo grupları (-N=N-) yüzeyde zenginleştiğinden su temas açısı ~51°'ye düştü. Daha sonra bu yüzeyler GB ışını ile ışınlандığında *cis* konformasyondan tekrar *trans* konformasyona geçiş oldu. Karışık polimer fırçalar sırasıyla UV ve GB ışınlarıyla ışınlanarak *trans-cis* ve *cis-trans* izomerizasyonları iki farklı geçiş süresinde (*trans/cis*= 8 dakika, *cis/trans*: 10 dakika) bu izomerizasyonların tersinir olup olmadığı araştırıldı ve 8 çevrim yapıldığında tersinirliğin tekrarlanabilir olduğu görüldü (4.28f).

4.8. Hücre Tabakası Hazırlama ve Ayırma Durumu

4.8.1. Karışık polimer fırçaların sitotoksitesitesi

PET-ATRP ve arayüz aracılı RAFT polimerleşme yöntemlerinin kombinasyonu ile hazırlanan karışık polimer fırçaların (χ_{BIBB} (çöz.)=0,85) toksisitesinin olup olmadığı, *in vitro* MTT analizi ile test edilmiştir ve bulgular Şekil 4.29'de verilmiştir. Tüm toksisite ve hücre tabası hazırlama-ayırma çalışmalarında kısa sürede fotoizomerizasyon gösteren χ_{BIBB} (çöz.)=0,85'de hazırlanan karışık polimer fırçalı silisyum substrat kullanılmıştır. Doz bağımlı sitotoksitesite analizi sonucunda kontrol grubu referans olarak alındığında %100 ekstraksiyon besi ortamı içeren grupta % 93,47 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Doz bağımlı sitotoksitesite testinde elde edilen veriler neticesinde, herhangi bir derişimde sitotoksik bir etki görülmemiştir. Elde edilen yapıların sitotoksik olmadığı kanaatine varılmıştır.



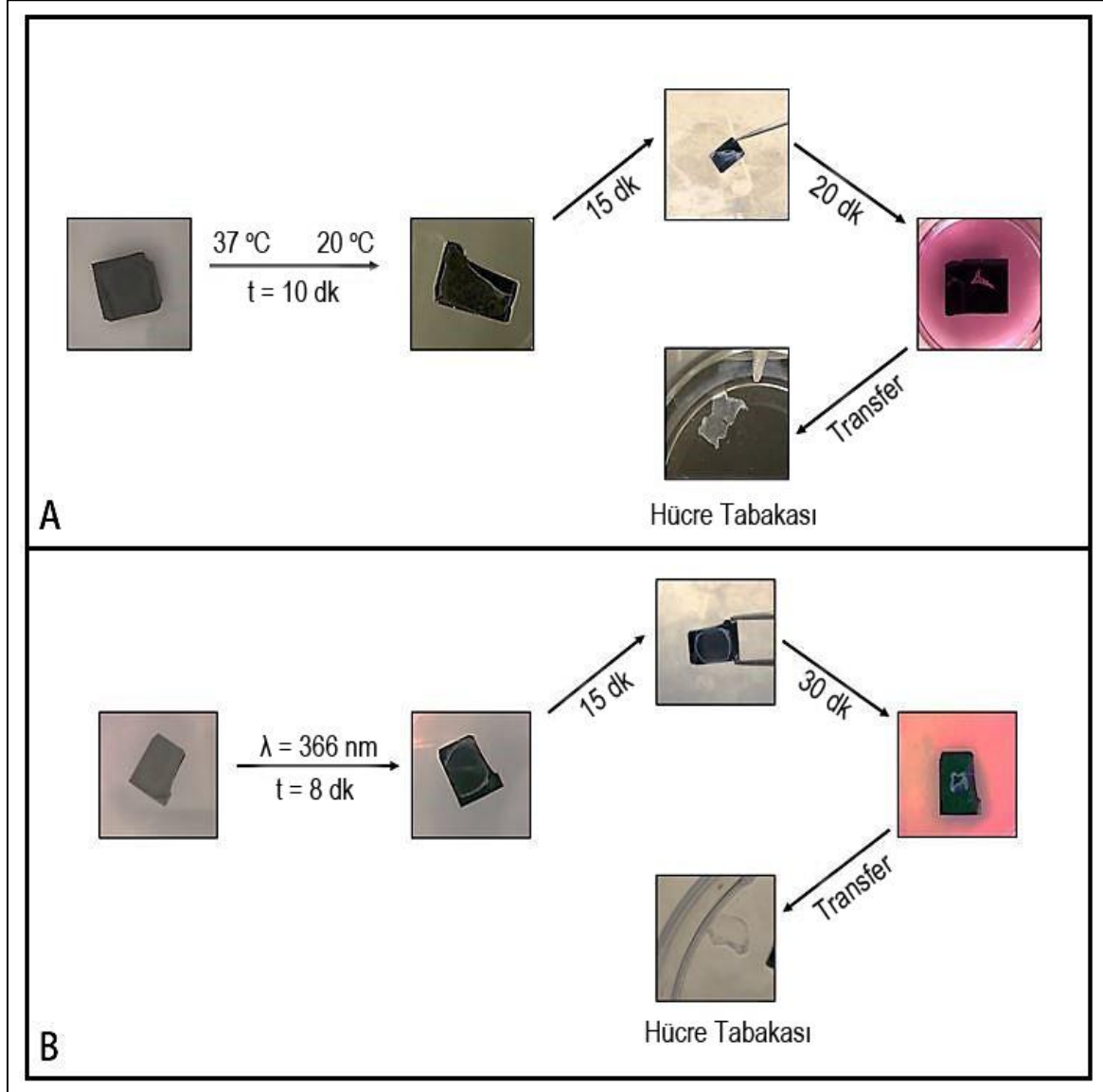
Şekil 4.29. Elde edilen yüzeylerin L929 fare fibroblast hücreleri ile gerçekleştirilen doz bağımlı sitotoksiste analizi

4.8.2. Hücre tabakası ayrılma yöntemi kullanılarak yöntemlerin etkinliği

Çalışma kapsamında hücre tabakalarının karışık polimer fırçalardan oluşan substratta geri kazanımı sadece **sıcaklık düşürme yöntemi** ($T=20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T<\text{LCST}$) ile değil aynı zamanda **ışınlama yöntemi** (UV, $\lambda=365\text{nm}$, $t=30\text{ dk}$, $t>\text{TC}-\text{Tt}$) ile de araştırılmıştır ve her iki yöntemin etkinliğine ilişkin veriler Şekil 4.30'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. İlk olarak sıcaklık düşürme yöntemi incelendiğinde, hücrelerin yüzeye bağlantılarını 10. dakikada kaybetmeye başladıkları kaydedilmiştir. Sıcaklık indirgeme işleminin 15. dakikasında, hücre tabakasının yüzey üzerinde toparlanmasının hızlandığı tespit edilmiştir. 20. dakika sonunda ise hücre tabakalarının yüzeyden tamamen ayrıldığı görülmüştür.

UV ışının hücre tabakası ayrılmasına etkinliği makroskobik olarak değerlendirildiğinde, 8 dakikalık ışınlanma süresinde hücre tabakalarının sadece kenar bölgelerinin kıvrılmaya başladığı görülmüştür ve bu durum hücre tabakasının yüzeye olan bağımlılığını yavaş yavaş yitirdiği şeklinde yorumlanmıştır. Ardından, tüm hücrelerin yüzeyden bir tabaka halinde ayrılmasının toplam 30 dk ışınlama ile gerçekleştiği görülmüştür. Ayrıca 15. dakikada hücre tabakasının yüzeyden ayrılma durumu, Şekil 4.30B'de sunulmuştur. Elde edilen bu makroskobik gözlemlere dayanarak, ışınlama yönteminin sıcaklık düşürme yöntemi gibi hücre tabakası ayrılmasında başarılı bir şekilde kullanılabileceği öngörülmüştür. Ancak,

ışınlama yöntemi ile hücre tabakası ayrılmasının beklenenden daha uzun sürmesi UV ışını etkisinin sorgulanmasına sebep olmuştur.



Şekil 4.30. A) sıcaklık düşürme yöntemiyle B) ışınlama yöntemiyle hücre tabakalarının ayrılması

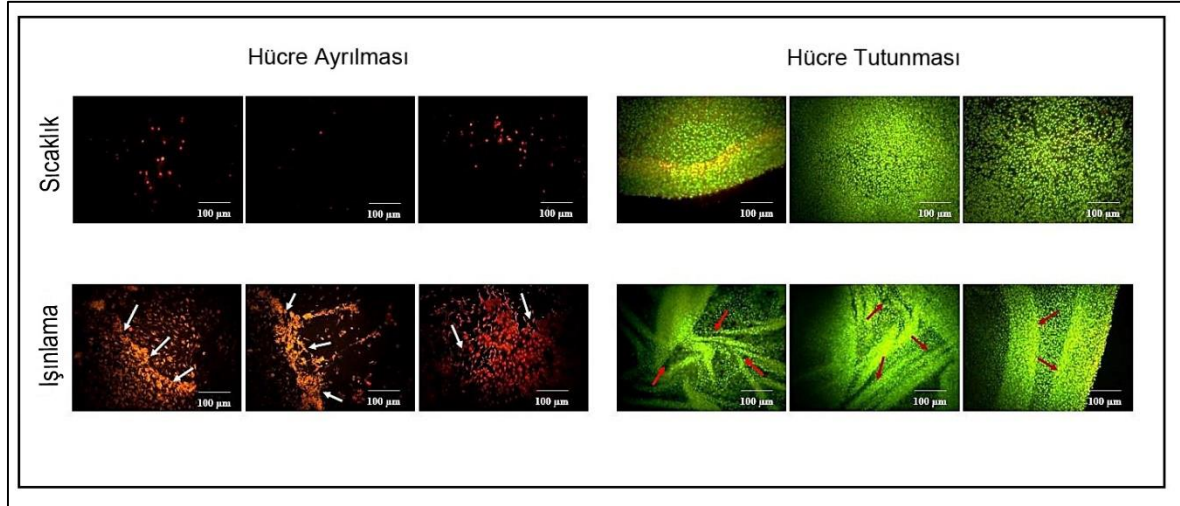
Her iki yöntemin hücre tabakası ayrılmasına etkinliği, aynı zamanda deneysel kısmında anlatıldığı üzere kantitatif olarak da ortaya konulmuştur ve ilgili veriler Çizelge 4.6'de verilmiştir. Sıcaklık düşürme yöntemiyle $\%99,05 \pm 0,45$ oranında, ışınlama yöntemi ile ise $\%83,95 \pm 0,58$ oranında hücre tabakası ayrılması gerçekleşmiştir. Bu bulguların mikroskobik değerlendirmelerin sonuçları ile uyumlu olduğu düşünülmüştür.

Çizelge 4.6. Hücre tabakası ayrılmasında kullanılan yöntemlerin hücre geri kazanımı başarıları

	Sıcaklık düşürme	Işınlama
Toplam Hücre Sayısı	2335±64	2347±85
Ayrılamayan Hücreler	22±9	376±47
% Hücre Ayrılma	99,05±0,45	83,95±2,51

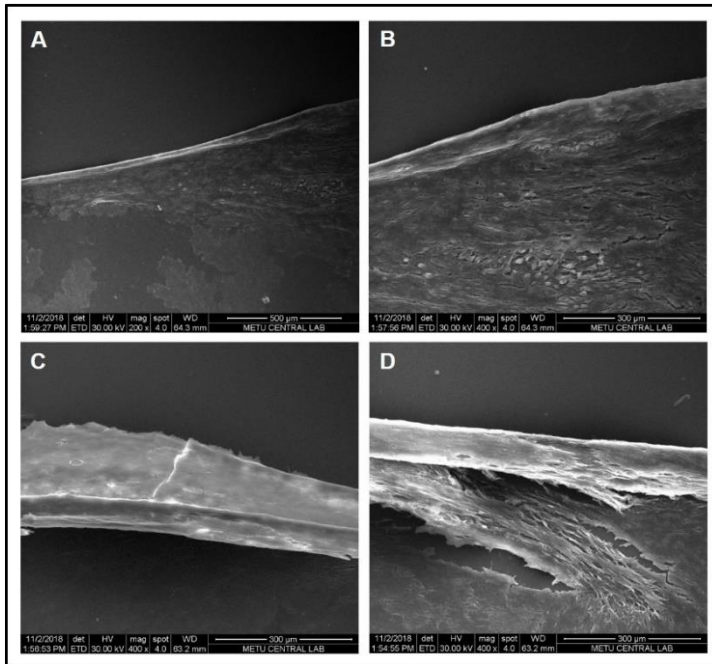
4.8.3. Hücre tabakası tutunma/ayrılma durumuyla ilgili mikroskopik bulgular

Her iki yöntemde hücre tabakalarının yüzeyden ayrılmasını takiben, hem substrat yüzeyi hem de elde edilen hücre tabakaları AO/PI ile boyanmıştır ve ilgili görüntüler karşılaştırmalı olarak Şekil 4.31'de sunulmuştur. Sıcaklık düşürme yönteminde, substrat yüzeyinde oldukça az miktarda yüzeyden ayrılmadan kalmış, kırmızıya boyanmış, metabolik olarak inaktif olduğu düşünülen hücrelerin varlığı gözlenmiştir. Aynı yöntemle elde edilen hücre tabakalarının, yüksek hücre sel canlılığa işaret eden yeşil renge boyandığı gözlenmiştir. Öte yandan, mikroskopik görüntülerde hücre tabakalarının bütünlüğü dikkat çekici bulunmuştur. Sağlam, transfer edilebilir ve uygulanabilirliği kolay hücre tabakası eldesi yönteminin sıcaklık düşürme yöntemiyle pratik bir şekilde sağlanabildiği düşünülmüştür. Işınlama yöntemine gelince, hücre geri kazanımında bir takım güçlükler, bu güçlüklerle dayalı uzayan işlem süresi ve buna bağlı gözlenen hücre ölümü ve zayıf hücre tabakası bütünlüğü gibi bazı dezavantajlar gözlemlenmiştir. Hücre tabakasının yüzeyden ayrılmasını takiben, malzeme yüzeyinde kayda değer miktarda kırmızıya boyanmış hücre tespit edilmiş ve bu hücreler ölü veya apoptotik olarak yorumlanmıştır. Bu yöntemle elde edilen hücre tabakalarının mikroskopik bulguları, yüzeyden hücre geri kazanımının etkinliğini desteklemiştir, ancak yine de, elde edilen hücre tabakaları, çeşitli kıvrım ve katlanmaların varlığı ile karakterize zayıf tabaka bütünlüğü sergilemiştir.



Şekil 4.31. Hücre tabakalarının yüzeyden ayrılması ve yeni bir yüzeye transferine ilişkin mikroskopik gözlemler

Ayrıca, yüzeyden hücre tabakası ayrılması sürecini mikroskopik olarak araştırmak için elektron mikroskobu gözlemleri yapılmıştır. Sıcaklık düşürme yönteminde, hücre tabakalarının zamanla bütünlüğünü koruyarak yüzeyden daha düzgün bir şekilde ayrıldığı gözlenmiştir ve bulgular Şekil 4.32 (A-B)'de sunulmuştur. UV ışıma yönteminde ise hücre tabakalarının sergilediği zayıf tabaka bütünlüğüne işaret eden yırtılmalar, kıvrımlar ve katlanmalar Şekil 4.32 (C-D)'de verilmiştir.



Şekil 4.32. Hücre tabakalarının ayrılma sürecinde elektron mikroskobu bulguları: A-B) sıcaklık düşürme yönteminde 10. dk, C-D) ışınlama yönteminde 8. dk

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- BIBB ve *t*-BOC molekülleri bağlı APTES molekülleri sentezlendi. Toluene içerisinde farklı mol kesirlerinde ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.}):0,00; 0,25; 0,50; 0,75; 0,85$ ve $1,00$) APTES-BIBB ve APTES-*t*-BOC'den oluşan karışımlar Si-OH yüzeyine SAM yöntemi ile bağlandı. Si-(APTES-BIBB/-APTES-*t*-BOC) yüzeylerindeki BIBB'nin yüzey mol kesri ($\chi_{BIBB}(\text{yüz.})$) Israelachvili-Gee eşitliğinden $0,82; 0,54; 0,34; 0,12$ olarak belirlendi.
- Si-(APTES-BIBB/-APTES- *t*-BOC) yüzeylerin Israelachvili-Gee eşitliğinden bulunan değerlerin ve XPS spektrumlarından elde edilen brom ve azot piklerinin alanından bulunan Br/N oranının teorik oranlardan düşük olması APTES-BIBB moleküllerinin Si-OH yüzeyine bağlanma reaktivliğinin APTES-*t*-BOC moleküllerinden kısmen daha düşük olmasının sonucudur.
- Saf APTES-BIBB ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})=1,00$) ile hazırlanan yüzeyin su temas açısı $72,2 \pm 1,50^\circ$ ve saf APTES-*t*-BOC ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})=0,00$) ile hazırlanan yüzeyin su temas açısı $98,2 \pm 2,60^\circ$ olarak ölçüldü.
- Çözeltideki farklı APTES-BIBB mol kesirlerinde ($\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$) hazırlanan silisyum yüzeylerde sıcaklık duyarlı poli(MEO₂MA) birimi ışıkla başlatılan PET-ATRP polimerleşmesiyle sentezlendi. Si-Poli(MEO₂MA) fırçaların GA-FTIR spektrumlarında $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ $0,25$ 'den $1,00$ 'a artmasıyla oluşan poli(MEO₂MA) zincirlerinin derişimi artığından karbonil grubunun asimetric gerilimine ait $\sim 1720 \text{ cm}^{-1}$ 'deki band ve alifatik -CH₂ gerinim titreşimlerine ait $2900-3000 \text{ cm}^{-1}$ 'deki band şiddetleri de arttı.
- Çözeltide oluşan serbest Poli(MEO₂MA)'nın teorik mol kütlesi ($\bar{M}_{n,th}$) 18800 g mol^{-1} , ¹H-NMR spektrumunun değerlendirilmesiyle mutlak mol kütlesi 20900 g mol^{-1} olarak bulundu. $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})=1,00$ olan çözeltide hazırlanan polimerin mutlak mol kütlesi ve elipsometrik kalınlık değerleri kullanılarak bağlanma yoğunluğu $\sigma = 0,50$ zincir/nm², bağlanma noktaları arası uzaklık $D = 1,60 \text{ nm}$ ve jirasyon yarıçapı, $R_g = 2,59 \text{ nm}$ olarak belirlendi.
- Arayüz aracılı RAFT polimerleşmesi ile Si-poli(NPAPAA) sentezi sırasında poli(MEO₂MA) zincirinde blok kopolimer oluşmaması için poli(MEO₂MA)'nın zincir uçundaki -Br atomu ile biyoyumlu maleimit molekülü ile yer değiştirildi.
- Silisyum substrat yüzeyinde -poli(MEO₂MA)-MPA zincirleri ve -APTES-*t*-BOC birimlerinden oluşturulan karışık polimer/basit molekül karışımından koruyucu -*t*-BOC molekülünün uzaklaştırıldıktan sonra RAFT ajanı DDMAT amit reaksiyonu ile Si-

APTES birimlerine bağlandı. RAFT ajanın yüzeydeki mol kesri ($\chi_{RAFT}(\text{yüz.})$) Israelachvili-Gee eşitliğinden 0,89; 0,72; 0,53; 0,19 olarak hesaplandı. RAFT ajanı bağlı fonksiyonel yüzeylere ait XPS spektrumundan elde edilen S/N oranının teorik değerden daha düşük olması yüzeydeki poli(MEO₂MA) zincirlerinin bazı APTES birimlerini bloke etmesi sebebiyle DDMAT moleküllerin APTES'e bağlanmasını kısmen engellediği şeklinde yorumlandı.

- Farklı derişimlerde Si-APTES-DDMAT içeren yüzeyler ve NPAPAA monomeri kullanılarak arayüz aracılı RAFT polimerizasyonu ile poli(NPAPAA) biriminin de sentezlenmesiyle silisyum yüzeyinde poli(NPAPAA) ve poli(MEO₂MA) birimlerinden oluşan karışık fırçalar oluşturuldu. Poli(NPAPAA)'nın teorik mol kütlesi ($\bar{M}_{n,th}$) 11800 g mol⁻¹, mutlak mol kütlesi 13700 g mol⁻¹ olarak hesaplandı. $\chi_{t-BOC}(\text{çöz.})=1,00$ olan çözeltide hazırlanan polimerin mutlak mol kütlesi ve elipsometrik kalınlık değerleri kullanılarak bağlanma yoğunluğu $\sigma = 0,57$ zincir/nm², bağlanma noktaları arası uzaklık $D = 1,50$ nm ve jirasyon yarıçapı, $R_g = 1,39$ nm olarak belirlendi. $X_{t-BOC}(\text{yüz.})$ değeri 0,19'dan 0,89'a artmasıyla σ_{Kar} değeri 0,49 zincir/nm²'den 0,60 zincir/nm²'ye artarken D değeri 1.61 nm'den 1,46 nm'ye düşmüştür. $D/2R_g < 2,0$ olması polimer zincirlerinin fırça konformasyonunda olduğunu göstermektedir. Tüm yüzeylerde $\sigma_{Kar} \geq 0,50$ zincir/nm² olduğundan bağlanma yoğunluğu yüksek polimer fırçalar oluşmuştur.
- Karışık polimer fırçaların sıcaklık ve ışık duyarlılığı çalışmaları sonucunda $\chi_{BIBB}(\text{çöz.})$ 0,85 ile hazırlanan karışık polimer fırçanın LCST değeri 24,6 °C ve *trans-cis* ve *cis-trans* izomerizasyonları geçiş süreleri de sırasıyla 8 dk ve 10 dk olarak belirlendi. Hücre tutunma ve ayrılma çalışmalarında bu karışık polimer fırçalı yüzey kullanıldı.
- Karışık polimer fırçaların doz bağımlı sitotoksikite testinde herhangi bir derişimde sitotoksik etki görülmedi. Hücre tabakası ayrılmasında sıcaklık düşürme yöntemi kullanıldığında %99,05±0,45 oranında, ışınlama yöntemi kullanıldığında ise %83,95±0,58 oranında başarı sergilediği görüldü.
- Yapılan bu tez çalışmasında hazırlanan karışık polimer fırçaların hem sıcaklık hem de ışık duyarlı olması yanında sitotoksik etki göstermemesi sebebiyle hücre tutma/ayrılma çalışmalarında kullanılma potansiyeli vardır, dolayısıyla bu özellikleriyle literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.
- Ayrıca çalışmayı çeşitlendirmek ve kalitesini artırmak adına silisyum yüzeyindeki poli(MEO₂MA) ve poli(NPAPAA) birimlerinden birinin mol kütlesini sabit tutup diğerini

kontrollü olarak değiştirerek pürüzlü yüzeyler hazırlanabilir ve bu yüzeylerin pürüzlülüğüne bağlı olarak hücre tutma/bırakma halinin değişim süresi incelenebilir.

- Sıcaklık ve ışık duyarlı polimer fırçalara farklı türdeki hücrelerin tutunma ve bırakma halinin zamanla değişimi incelenebilir.
- Karışık polimer fırçalara sahip substrat yüzeyinde tutunan MC3T3-E1 fare ön osteoblast hücre dizisinin 20 °C'de ve farklı UV ışınlama sürelerinde hücre bırakma süresinin değişimi belirlenebilir.





KAYNAKLAR

- Akiyama, H., Tamaoki, N. (2004). Polymers derived from N-isopropylacrylamide and azobenzene-containing acrylamides: Photoresponsive affinity to water. *Journal Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42, 5200–5214.
- Akiyama, H., Tamaoki, N. (2007). Synthesis and Photoinduced Phase Transitions of Poly(N-isopropylacrylamide) Derivative Functionalized with Terminal Azobenzene Units. *Macromolecules*, 40, 5129–5132.
- Akiyama, Y., Matsuyama, M., Yamato, M., Takeda, N., Okano, T. (2018). Poly(N-isopropylacrylamide)-Grafted Polydimethylsiloxane Substrate for Controlling Cell Adhesion and Detachment by Dual Stimulation of Temperature and Mechanical Stress. *Biomacromolecules*, 19, 4014–4022.
- Alexander, C., Shakesheff, K.M. (2006). Responsive polymers at the biology/materials science interface. *Advanced Materials*, 18(24), 3321–8.
- Allen, L.T., Tosetto, M., Miller, I.S., O'Connor, D.P., Penney, S.C., Lynch, I., Gallagher, W.M. (2006). Surface-induced changes in protein adsorption and implications for cellular phenotypic responses to surface interaction. *Biomaterials*, 27(16), 3096–108.
- Anderson, C.R., Abecunas, C., Warrenner, M., Laschewsky, A., Wischerhoff, E. (2017a). Effects of Methacrylate-Based Thermoresponsive Polymer Brush Composition on Fibroblast Adhesion and Morphology. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 10 (1).
- Anderson, C.R., Gambinossi, F., DiLillo, K.M., Laschewsky, A., Wischerhoff, E., Ferri, J.K., Sefcik, L.S. (2017b). Tuning reversible cell adhesion to methacrylate-based thermoresponsive polymers: Effects of composition on substrate hydrophobicity and cellular responses. *Journal of Biomedical Materials Research A*, 105, 2416–2428.
- Anker, J.N., Hall, W.P., Lyandres, O., Shah, N.C., Zhao, J., van Duyn, R.P. (2008). Biosensing with plasmonic nanosensors. *Nature Materials*, 7, 442–453.
- Arvidsson, P., Ivanov, A.E., Galaev, I.Y., Mattiasson, B. (2001). Polymer versus monomer as displacer in immobilized metal affinity chromatography. *Journal Chromatography B: Biomedical Applications*, 753, 279–285.
- Auernheimer, J., Dahmen, C., Hersel, U., Bausch A., Kessler, H. (2005). Photoswitched cell adhesion on surfaces with RGD peptides. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 16107.
- Beharry, A.A., Woolley, G.A. (2011). Azobenzene photoswitches for biomolecules. *Chemical Society Reviews*, 40, 4422–4437.
- Berrier, A.L., Yamada, K.M. (2007). Cell–matrix adhesion. *Journal of Cellular Physiology*, 213, 565–73.
- Bittrich, E., Kuntzsch, M., Eichhorn, K.J., Uhlmann, P. (2010). Complex pH-and temperature-sensitive swelling behavior of mixed polymer brushes. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 48, 1606–1615.

- Braunecker, W.A., Matyjaszewski, K. (2007). Controlled/living radical polymerization: features, developments, and perspectives. *Progress in Polymer Science*, 32, 93–146.
- Brown, E.V., Granneman, G.R. (1975). Cis-trans isomerism in the pyridyl analogs of azobenzene. Kinetic and molecular orbital analysis. *Journal of the American Chemical Society*, 97, 621–627.
- Callow, M.E., Callow, J.A., Ista, L.K., Coleman, S.E., Nolasco, A.C., Lopez, G.P. (2000). Use of Self-Assembled Monolayers of Different Wettabilities To Study Surface Selection and Primary Adhesion Processes of Green Algal (*Enteromorpha*) Zoospores. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3249–3254.
- Charmot, D., Corpart, P., Adam, H., Zard, S.Z., Biadatti, T., Bouhadir, G. (2000). Controlled radical polymerization in dispersed media. *Macromolecular Symposia*, 150, 23–32.
- Chong, Y.K., Krstina, J., Le, T.P.T., Moad, G., Postma, A., Rizzardo, E., Thang, S.H. (2003). Thiocarbonylthio compounds [SC (Ph) S– R] in free radical polymerization with reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT Polymerization). Role of the free-radical leaving group (R). *Macromolecules*, 36, 2256–2272.
- Coessens, V., Pintauer, T., Matyjaszewski, K. (2001). Functional polymers by atom transfer radical polymerization. *Progress in Polymer Science*, 26, 337–377.
- Cole, M.A., Voelcker, N.H., Thissen, H., Griesser, H.J. (2009). Stimuli-responsive interfaces and systems for the control of protein–surface and cell–surface interactions. *Biomaterials*, 30, 1827–1850.
- Crano, J.C., Guglielmetti, R.J. (Eds.). (1999). *Organic Photochromic and Thermochromic Compounds: Volume 2: Physicochemical Studies, Biological Applications, and Thermochromism* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Cunningham, M.F. (2008). Controlled/living radical polymerization in aqueous dispersed systems. *Progress in Polymer Science*, 33, 365–398.
- Dai, S., Ravi, P., Tam, K.C. (2009). Thermo- and photo-responsive polymeric systems. *Soft Matter*, 5, 2513–2533.
- Delcroix, M.F., Huet, G.L., Conard, T., Demoustier-Champagne, S., Du Prez, F.E., Landoulsi J., Dupont-Gillain, C.C. (2013). Design of Mixed PEO/PAA Brushes with Switchable Properties Toward Protein Adsorption. *Biomacromolecules*, 14, 215–225.
- Di Lena, F., Matyjaszewski, K. (2010). Transition metal catalysts for controlled radical polymerization. *Progress in Polymer Science*, 35, 959–1021.
- Dimitrov, I., Trzebicka, B., Muller, A.H.E., Dworak, A., Tsvetanov, C.B. (2007). Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. *Progress in Polymer Science*, 32, 1275–1343.
- Dürr, H. (1990). General Introduction, in *Photochromism: Molecules and Systems*, ed. H. Dürr and H. Bouas-Laurent, Elsevier Science Publishing House, Amsterdam, p. 1.

- Eda Hiro, J.I., Sumaru, K., Tada, Y., Ohi, K., Takagi, T., Kameda, M., Shinbo, T., Kanamori, T., Yoshimi, Y. (2005). In situ control of cell adhesion using photoresponsive culture surface. *Biomacromolecules*, 6, 970.
- Eda Hiro, J.I., Sumaru, K., Takagi, T., Shinbo, T., Kanamori T., Sudoh, M. (2008). Analysis of photo-induced hydration of a photochromic poly (Nisopropylacrylamide)–Spiropyran copolymer thin layer by quartz crystal microbalance. *European Polymer Journal*, 44, 300–307.
- Ercole, F., Davis T.P., Evans, R.A. (2010). Photo-responsive systems and biomaterials: photochromic polymers, light-triggered self-assembly, surface modification, fluorescence modulation and beyond. *Polymer Chemistry*, 1, 37–54.
- Fliegl, H., Köohn, A., Hattig, C., Ahlrichs, R. (2003). Ab Initio Calculation of the Vibrational and Electronic Spectra of trans- and cis-Azobenzene. *Journal of the American Chemical Society*, 125, 9821–9827.
- Fors, B.P., Hawker, C.J. (2012). Control of a living radical polymerization of methacrylates by light. *Angewandte Chemie*, 124(35), 8980–8983.
- Ganjeh-Anzabi, P., Haddadi-Asl, V., Salami-Kalajahi, M., Abdollahi, M. (2013). Kinetic investigation of the reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization of 1,3-butadiene. *Journal of Polymer Research*, 20, 248.
- Gao, H., Matyjaszewski, K. (2007). Synthesis of molecular brushes by “grafting onto” method: combination of ATRP and click reactions. *Journal of the American Chemical Society*, 129, 6633–6639.
- Gao, X., Kucerka, N., Nich, M.P., Katsaras, J., Zhu, S., Brash, J.L., Sheardown, H. (2009). Chain Conformation of a New Class of PEG-Based Thermoresponsive Polymer Brushes Grafted on Silicon as Determined by Neutron Reflectometry. *Langmuir*, 25, 10271–10278.
- Georges, V., Kazmeier, H. (1993). Free Radical Polymerization. *Macromolecules*, 26, 5316.
- Gil, E.S., Hudson, S.M. (2004). Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Progress in Polymer Science*, 29, 1173–222.
- Guliashvili, T., Percec, V. (2007). A comparative computational study of the homolytic and heterolytic bond dissociation energies involved in the activation step of ATRP and SET-LRP of vinyl monomers *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 45, 1607–1618.
- Gyongyhalmi, I., Foldes-Berezsnich, T., Tudos, F. (1994). Kinetics of radical polymerization, LVI. Investigation of the effect of molecular inhibitors on the radical polymerization of p-methyl-styrene. c-nitroso compounds. *European Polymer Journal*, 30 (12), 1457.
- Han, S., Hagiware, M., Ishizone, T. (2003). Synthesis of Thermally Sensitive Water-Soluble Polymethacrylates by Living Anionic Polymerizations of Oligo(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylates. *Macromolecules*, 36, 8312–8319.

- Hanssens, A.G., Barrett, J.C. (2013). Photo-control of biological systems with azobenzene polymers. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 51, 3058–3070.
- Haridharan, N., Ponnusamy, K., Dhamodharan, R. (2010). Controlled Polymerization of Methacrylates at Ambient Temperature Using Trithiocarbonate Chain Transfer Agents via SET-RAFT–Cyclohexyl Methacrylate: A Model Study. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 48, 5329–5338.
- Harrison, S., Nicolas, J. (2014) In the (Very) Long Run We Are All Dead: Activation and Termination in SET-LRP/SARA-ATRP. *ACS Macro Letters*, 3, 643–647.
- Hawker, C.J., Bosman, A.W., Harth, E. (2001). New Polymer Synthesis by Nitroxide Mediated Living Radical Polymerizations. *Chemical Reviews*, 101, 3661–3688.
- Heinen, S., Cuéllar-Camacho, J.L., Weinhart, M. (2017). Thermoresponsive poly(glycidyl ether) brushes on gold: Surface engineering parameters and their implication for cell sheet fabrication. *Acta Biomaterialia*, 59, 117–128.
- Henze, M., Mädge, D., Prucker, O., Rühle, J. (2014). “Grafting Through”: Mechanistic Aspects of Radical Polymerization Reactions with Surface-Attached Monomers. *Macromolecules*, 47, 2929–2937.
- Heuberger, M., Drobek, T., Spencer, N.D. (2005). Interaction forces and morphology of a protein-resistant poly(ethylene glycol) layer. *Biophysical Journal*, 88, 495–504.
- Hirose, T., Irie M., Matsuda, K. (2008). Temperature-Light Dual Control of Clouding Behavior of an Oligo (ethylene glycol)-Diarylethene Hybrid System. *Advanced Materials*, 20, 2137–2141.
- Hizal, G., Tunca, U., Aras, S., Mert H. (2006). Air-stable and recoverable catalyst for copper-catalyzed controlled/living radical polymerization of styrene; In situ generation of Cu (I) species via electron transfer reaction. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44.1, 77–87.
- Hoffman, A.S. (2008). The origins and evolution of ‘controlled’ drug delivery systems. *J. Controlled Release*, 132, 153–163.
- Hosono, N., Kajitani, T., Fukushima, T., Ito, K., Sasaki, S., Takata, M., Aida, T. (2010). Large-Area Three-Dimensional Molecular Ordering of a Polymer Brush by One-Step Processing. *Science*, 330, 808–811.
- Ionov, L., Minko, S. (2012). Mixed Polymer Brushes with Locking Switching. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4, 483–489.
- Irie, M. (1990). Properties and applications of photoresponsive polymers. *Pure and Applied Chemistry*, 62, 1495–1502.
- Ishii, N., Mamiya, J.-i., Ikeda, T., Winnik, F.M. (2011). Solvent induced amplification of the photoresponsive properties of α,ω -di-[4-cyanophenyl-4'-(6-hexyloxy)-azobenzene]-poly(N-isopropylacrylamide) in aqueous media. *Chemical Communications*, 47, 1267–1269.

- Iskin, B. Yilmaz, G., Yagci, Y. (2011). ABC type miktoarm star copolymers through combination of controlled polymerization techniques with thiol-ene and azide-alkyne click reactions. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 49, 2417–2422.
- Israelachvili, J.N., Gee, M.L. (1989). Contact angles on chemically heterogeneous surfaces. *Langmuir*, 5, 288–289.
- Ivanov, A.E., Ereemeev, N.L., Wahlund, P.O., Galaev I.Y., Mattiasson, B. (2002). Photosensitive copolymer of N-isopropylacrylamide and methacryloyl derivative of spirobenzopyran. *Polymer*, 43, 3819–3823.
- Jiang, H., Xu, F. (2013). Biomolecule-functionalized polymer brushes. *Chemical Society Reviews*, 42, 3394–3426.
- Jiang, X.M., Zhong, G.J., Horton, J.M., Jin, N.X., Zhu, L., Zhao, B. (2010). Evolution of phase morphology of mixed poly (tert-butyl acrylate)/polystyrene brushes grafted on silica particles with the change of chain length disparity. *Macromolecules*, 43, 5387–5395.
- Jin, Q., Liu, G., Ji, J. (2010). Micelles and reverse micelles with a photo and thermo double-responsive block copolymer. *Journal of Polymer Science A: Polymer Chemistry*, 48, 2855–2861.
- Jochum, F.D., Borg, L. Zur, Roth, P.J., Theato, P. (2009a). Thermo- and Light-Responsive Polymers Containing Photoswitchable Azobenzene End Groups. *Macromolecules*, 42, 7854–7862.
- Jochum, F.D., Roth, P.J., Kessler, D., Theato, P. (2010). Double Thermoresponsive Block Copolymers Featuring a Biotin End Group. *Biomacromolecules*, 11, 2432–2439.
- Jochum, F.D., Theato, P. (2009b). Temperature and light sensitive copolymers containing azobenzene moieties prepared via a polymer analogous reaction. *Polymer*, 50, 3079–3085.
- Jochum, F.D., Theato, P. (2009c). Temperature-and light-responsive polyacrylamides prepared by a double polymer analogous reaction of activated ester polymers. *Macromolecules*, 42, 5941–5945.
- Jochum, F.D., Theato, P. (2013). Temperature- and light-responsive smart polymer materials. *Chemical Society Reviews*, 42, 7468.
- Jonas, A.M., Glinel, K., Oren, R., Nysten, B., Huck, W.T.S. (2007). Thermo-Responsive Polymer Brushes with Tunable Collapse Temperatures in the Physiological Range. *Macromolecules*, 40, 4403–4405.
- Joseph, G., Pichardo J., Chen, G. (2010). Reversible photo-/thermoresponsive structured polymer surfaces modified with a spirobenzopyran-containing copolymer for tunable wettability. *Analyst*, 135, 2303–2308.
- Julthongpiput, D., Lin, Y.H., Teng, J., Zubarev, E.R., Tsukruk, V.V. (2003). Y-shaped polymer brushes: nanoscale switchable surfaces. *Langmuir*, 19, 7832–7836.

- Kessler, D., Jochum, F.D., Choi, J., Char K., Theato, P. (2011). Reactive surface coatings based on polysilsesquioxanes: universal method toward light-responsive surfaces. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 3, 124–128.
- Koichiro, U., Jonathan, H.T., Cole, A.D., Deok-Ho, K. (2017). Dynamically tunable cell culture platforms for tissue engineering and mechanobiology. *Progress in Polymer Science*, 65, 53–82.
- Konkolewicz, D., Wang, Y., Zhong, M., Krys, P., Isse, A.A., Gennaro, A., Matyjaszewski, K. (2013). Reversible-Deactivation Radical Polymerization in the Presence of Metallic Copper. A Critical Assessment of the SARA ATRP and SET-LRP Mechanisms. *Macromolecules*, 46, 8749 – 8772.
- Kroeger, R. Menzel, H., Hallensleben, M.L. (1994). Light controlled solubility change of polymers: Copolymers of N,N-dimethylacrylamide and 4-phenylazophenyl acrylate. *Macromolecular. Chemistry and Physics*, 195, 2291–2298.
- Kumar, G.S., Neckers, D.C. (1989). Photochemistry of azobenzene-containing polymers. *Chemical Reviews*, 89, 1915–1925.
- Kumar, S., Dory, Y.L., Lepage, M., Zhao, Y. (2011). Surface-Grafted Stimuli-Responsive Block Copolymer Brushes for the Thermo-, Photo- and pH-Sensitive Release of Dye Molecules. *Macromolecules*, 44, 7385–7393.
- Kungwatchakun, D., Irie, M. (1988). Photoresponsive polymers. Photocontrol of the phase separation temperature of aqueous solutions of poly-[N-isopropylacrylamide-co-N-(4-phenylazophenyl)acrylamide]. *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications*, 9, 243–246.
- Kwak, Y., Magenau, A.J.D., Matyjaszewski, K. (2011). ARGET ATRP of methyl acrylate with inexpensive ligands and ppm concentrations of catalyst. *Macromolecules*, 44, 811-819.
- Kyriakides, T.R., Cheung, C.Y., Murthy, N., Bornstein, P., Stayton, P.S., Hoffman, A.S. (2002). pH-Sensitive polymers that enhance intracellular drug delivery in vivo. *Journal of Controlled Release*, 78, 295–303.
- Le, T.P., Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H. (1998). Int. Pat. 9801478. *Chem. Abstr.*, 128, 115390.
- Lee, H., Pietrasik, J. and Matyjaszewski, K. (2006). Phototunable Temperature-Responsive Molecular Brushes Prepared by ATRP. *Macromolecules*, 39, 3914–3920.
- Lehr, C.M., Bouwstra, J.A., Bodde, H.E., Junginger, H.E. (1992). A Surface Energy Analysis of Mucoadhesion: Contact Angle Measurements on Polycarbophil and Pig Intestinal Mucosa in Physiologically Relevant Fluids. *Pharmaceutical Research*, 9, 70–75.

- Li, L., Chen, S., Zheng, J., Ratner, B.D., Jiang, S. (2005). Protein Adsorption on Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiolate Self-Assembled Monolayers: The Molecular Basis for Nonfouling Behavior. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109, 2934-2941.
- Li, M., De, P., Gondi, S.R., Sumerlin, B.S. (2008). End group transformations of RAFT-generated polymers with bismaleimides: Functional telechelics and modular block copolymers. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 46, 5093-5100.
- Liu, Z.S., Calvert, P. (2000). Multilayer hydrogels as muscle-like actuators. *Advanced Materials*, 12, 288-291.
- Liu, Y.J., Navasero, N.M., Yu, H.Z. (2004). Structure and Reactivity of Mixed ω -Carboxyalkyl/Alkyl Monolayers on Silicon: ATR-FTIR Spectroscopy and Contact Angle Titration. *Langmuir*, 20, 4039-4050.
- Lo, C.L., Lin, K.M., Hsiue, G.H. (2005). Preparation and characterization of intelligent core-shell nanoparticles based on poly(D, L-lactide)-g-poly(N-isopropyl acrylamide-co-methacrylic acid). *Journal of Controlled Release*, 104, 477-488.
- Lutz, J.F. (2008). Polymerization of oligo (ethylene glycol)(meth) acrylates: toward new generations of smart biocompatible materials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 46, 3459-3470.
- Mahimwalla, Z., Yager, K.G., Mamiya, J., Shishido, A., Priimagi, A., Barrett, C.J. (2012). Azobenzene photomechanics: prospects and potential applications. *Polymer Bulletin*, 69, 967-1006.
- Matyjaszewski, K. (2012). Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP): Current Status and Future Perspectives. *Macromolecules*, 45, 4015-4039.
- Matyjaszewski, K., Spanswick, J. (2005). Controlled/living radical polymerization. *Materials Today*, 8 (3), 26-33.
- Matyjaszewski, K., Tsarevsky, N.V. (2014). Macromolecular engineering by atom transfer radical polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, 136, 6513.
- Matyjaszewski, K., Tsarevsky, N.V., Braunecker, W.A., Dong, H., Huang, J., Jakubowski, W., Kwak, Y., Nicolay, R., Tang, W., Yoon, J.A. (2007). Role of Cu0 in controlled/"living" radical polymerization. *Macromolecules*, 40, 7795-7806.
- Maximiano, P., Mendonça, P.V., Costa, R.C., Haworth, N.L., Serra, A.C., Guliashvili, T., Coote, M.L., Coelho, J.F. (2016). Ambient Temperature Transition-Metal Free Dissociative Electron Transfer Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization (DET-RAFT) of Methacrylates, Acrylates, and Styrene. *Macromolecules*, 49, 1597-1604.
- Merino, E. (2011). Synthesis of azobenzenes: the coloured pieces of molecular materials. *Chemical Society Reviews*, 40, 3835-3853.

- Min, K., Gao, H., Matyjaszewski, K. (2005). Preparation of homopolymers and block copolymers in miniemulsion by ATRP using activators generated by electron transfer (AGET). *Journal of the American Chemical Society*, 127, 3825.
- Min, K., Jakubowski, W., Matyjaszewski, K. (2006). AGET ATRP in the Presence of Air in Miniemulsion and in Bulk. *Macromolecular Rapid Communications*, 27, 594–598.
- Ming, Z., Hua, X., Xue, Y., Lin, Q., Bao, C., Zhu, L. (2018). Visible light controls cell adhesion on a photoswitchable biointerface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 169, 41–48.
- Mita, I., Horie, K., Hirao, K. (1989). Photochemistry in polymer solids. 9. Photoisomerization of azobenzene in a polycarbonate film. *Macromolecules*, 22, 558–563.
- Mitra, S., Tamai, N. (2003). Dynamics of photochromism in salicylideneaniline: A femtosecond spectroscopic study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 5, 4647–4652.
- Miura, Y., Hirota, K., Moto, H., Yamada, B. (1999). High-yield synthesis of functionalized alkoxyamine initiators and approach to well-controlled block copolymers using them. *Macromolecules*, 32, 8356.
- Moad, G., Chiefari, J., Chong, Y.K., Krstina, J., Mayadunne, R.T.A., Postma, A., Rizzardo, E., Thang, S. H. (2000). Living free radical polymerization with reversible addition-fragmentation chain transfer (the life of RAFT). *Polymer International*, 49(9), 993–1001.
- Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H. (2005). Living Radical Polymerization by the RAFT Process. *Australian Journal of Chemistry*, 58, 379–410.
- Monti, S., Orlandi, G., Palmieri, P. (1982). Features of the photochemically active state surfaces of azobenzene. *Chemical Physics*, 71, 87–99.
- Morgan, M.R., Humphries, M.J., Bass, M.D. (2007). Synergistic control of cell adhesion by integrins and syndecans. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8, 957–69.
- Motornov, M., Roiter, Y., Tokarev, I., Minko, S. (2010). Stimuli-responsive nanoparticles, nanogels and capsules for integrated multifunctional intelligent systems. *Progress in Polymer Science*, 35, 174.
- Munirasu, S., Aggarwal, R., Baskaran, D. (2009). Highly efficient recyclable hydrated-clay supported catalytic system for atom transfer radical polymerization. *Chemical Communications*, 30, 4518–4520.
- Nagase, K., Watanabe, M., Kikuchi, A., Yamato, M., Okano, T. (2011). Thermo-Responsive Polymer Brushes as Intelligent Biointerfaces: Preparation via ATRP and Characterization. *Macromolecular Bioscience*, 11, 400–409.
- Newman, H. (1965). Trifluoroacetyl as a Protecting Group for 1-Halo Sugars. *The Journal of Organic Chemistry*, 30, 1287–1288.

- Nicewicz, D.A., Nguyen, T.M. (2013). Recent applications of organic dyes as photoredox catalysts in organic synthesis. *ACS Catalysis*, 4, 355–360.
- Ohno, S., Matyjaszewski, K. (2006). Controlling grafting density and side chain length in poly(n-butyl acrylate) by ATRP copolymerization of macromonomers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44, 5454–5467.
- Peng, C.H., Zhong, M., Wang, Y., Kwak, Y., Zhang, Y., Zhu, W., Tonge, M., Buback, J., Park, S., Krys, P., Konkolewicz, D., Gennaro, A., Matyjaszewski, K. (2013). Reversible-deactivation radical polymerization in the presence of metallic copper. Activation of alkyl halides by Cu⁰. *Macromolecules*, 46, 3803–3815.
- Penga, S., Bhushan, B. (2012). Smart polymer brushes and their emerging applications. *RSC Advances*, 2, 8557–8578.
- Price, A.D., Hur, S.M., Fredrickson, G.H., Frischknecht, A.L., Huber, D.L. (2012). Exploring lateral microphase separation in mixed polymer brushes by experiment and self-consistent field theory simulations. *Macromolecules*, 45, 510–524.
- Rau, H. (1990). Photochemistry and photophysics, Rebek, J. (Ed.). Boca Raton: CRC Press, 110–119.
- Roghani-Mamaqani, H., Haddadi-Asl V., Salami-Kalajahi, M. (2012). In Situ Controlled Radical Polymerization: A Review on Synthesis of Well-defined Nanocomposites. *Polymer Reviews*, 52, 142–188.
- Roth, P.J., Jochum, F.D., Zentel, R., Theato, P. (2010). Synthesis of Hetero-Telechelic α,ω Bio-Functionalized Polymers. *Biomacromolecules*, 11, 238–244.
- Roth, P.J., Kim, K.S., Bae, S.H., Sohn, B.H., Theato, P., Zentel, R. (2009). Hetero-Telechelic Dye-Labeled Polymer for Nanoparticle Decoration. *Macromolecular Rapid Communications*, 30, 1274–1278.
- Satoh, T., Sumaru, K., Takagi T., Kanamori, T. (2011). Fast-reversible light-driven hydrogels consisting of spirobenzopyran-functionalized poly (N-isopropylacrylamide). *Soft Matter*, 7, 8030–8034.
- Schild, H.G. (1992). Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application. *Progress in Polymer Science*, 17, 163–249.
- Schumers, J.M., Fustin, C.A., Gohy, J.F. (2010). Light-Responsive Block Copolymers. *Macromolecular Rapid Communications*, 31, 1588–1607.
- Sciannamea, V., Jerome, R., Detrembleur, C. (2008). In-Situ Nitroxide-Mediated Radical Polymerization (NMP) Processes: Their Understanding and Optimization. *Chemical Reviews*, 108, 1104–1126.
- Shanmugam, S., Xu J., Boyer, C. (2014). Photoinduced Electron Transfer Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (PET-RAFT) Polymerization of Vinyl Acetate and N-Vinylpyrrolidinone: Kinetic and Oxygen Tolerance Study. *Macromolecules*, 47, 4930–4942.

- Shimoboji, T., Larenas, E., Fowler, T., Hoffman, A.S., Stayton, P.S. (2002) Photoresponsive polymer–enzyme switches. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 16592–16596.
- Shiraishi, Y., Miyamoto, R., Hirai, T. (2009). Spiropyran-conjugated thermoresponsive copolymer as a colorimetric thermometer with linear and reversible color change. *Organic Letters*, 11, 1571–1574.
- Shiraishi, Y., Sumiya, S., Manabe K., Hirai, T. (2011). Thermoresponsive copolymer containing a coumarin–spiropyran conjugate: reusable fluorescent sensor for cyanide anion detection in water. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 3, 4649–4656.
- Song, B., Zhou, Y., Schönherr, H. (2016). Optimized Model Surfaces for Advanced Atomic Force Microscopy Studies of Surface Nanobubbles. *Langmuir*, 32, 11179–11187.
- Stuart, M.A.C., Huck, W.T.S., Genzer, J., Müller, M., Ober, C. K., Stamm, M., Sukhorukov, G.B., Szleifer, I., Tsukruk, V.V., Urban, M., Winnik, F., Zauscher, S., Luzinov, I., Minko, S. (2010). Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials. *Nature Materials*, 9, 101–113.
- Subramanian, S.H., Babu, R.P., Dhamodharan, R. (2008). Ambient Temperature Polymerization of Styrene by Single Electron Transfer Initiation, Followed by Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Control. *Macromolecules*, 41, 262–265.
- Sudo, Y., Kawai, R., Sakai, H., Kikuchi, R., Nabae, Y., Hayakawa, T., Kakimoto, M. (2018). Star-Shaped Thermoresponsive Polymers with Various Functional Groups for Cell Sheet Engineering. *Langmuir*, 34, 653–662.
- Sugiyama, K., Sono, K. (2001). Characterization of photo- and thermoresponsible amphiphilic copolymers having azobenzene moieties as side groups. *Journal of Applied Polymer Science*, 81, 3056–3063.
- Sui, X., Zapotoczny, S., Benetti, E.M., Memesa, M., Hempeniusa M.A., Vancso, G.J. (2011). Grafting mixed responsive brushes of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(methacrylic acid) from gold by selective initiation. *Polymer Chemistry*, 2, 879–884.
- Sumaru, K., Ohi, K., Takagi, T., Kanamori T., Shinbo, T. (2006). Photoresponsive properties of poly (N-isopropylacrylamide) hydrogel partly modified with spirobenzopyran. *Langmuir*, 22, 4353–4256.
- Sun, D., Rosokha, S.V., Kochi, J.K. (2004). Donor– Acceptor (Electronic) Coupling in the Precursor Complex to Organic Electron Transfer: Intermolecular and Intramolecular Self-Exchange between Phenothiazine Redox Centers. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 1388–1401.
- Suzuki, T., Kato, T., Shinozaki, H. (2004). Photo-reversible Pb 2+-complexation of thermosensitive poly (N-isopropyl acrylamide-co-spiropyran acrylate) in water. *Chemical Communications*, 18, 2036–2037.

- Tevlek, A., Odabas, S., Çelik, E., Aydın, H.M. (2018). Preparation of MC3T3-E1 cell sheets through shortterm osteogenic medium application. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 1-9.
- Treat, N.J., Fors, B.P., Kramer, J.W., Christianson, M., Chiu, C.Y., Read de Alaniz, J., Hawker, C.J. (2014a). Controlled radical polymerization of acrylates regulated by visible light. *ACS Macro Letters*, 3, 580-584.
- Treat, N.J., Sprafke, H., Kramer, J.W., Clark, P.G., Barton, B.E., Read de Alaniz, J., Fors, B.P., Hawker, C.J. (2014b) Metal-Free Atom Transfer Radical Polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, 136, 16096–16101.
- Tsujii, Y., Ohno, K., Fukuda, T., Yamamoto, S., Goto, A. (2006). Structure and properties of high-density polymer brushes prepared by surface-initiated living radical polymerization. *Advances of Polymer Science*, 197,1-45.
- Turan, E., Zengin, A., Caykara, T. (2011). Synthesis of poly(N-isopropylacrylamide) with a low molecular weight and a low polydispersity index by single-electron transfer living radical polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 49, 5116–5123.
- Ueki, T., Nakamura, Y., Yamaguchi, A., Niitsuma, K., Lodge, T.P., Watanabe, M. (2011). UCST Phase Transition of Azobenzene-Containing Random Copolymer in an Ionic Liquid. *Macromolecules*, 44, 6908–6914.
- Ueki, T., Yamaguchi, A., Ito, N., Kodama, K., Sakamoto, J., Ueno, K., Kokubo, H., Watanabe, M. (2009). Photoisomerization-Induced Tunable LCST Phase Separation of Azobenzene-Containing Polymers in an Ionic Liquid. *Langmuir*, 25, 8845–8848.
- Urban, A.M., Urban, M.W. (2005). *Stimuli-Responsive Macromolecules and Polymeric Coatings*. Oxford University Press and American Chemical Society, Washington, DC.
- Vandenberg, E.T., Bertilsson, L., Liedberg, B., Uvdal, K., Erlandsson, R., Elwing, H., Lundström, I. (1991). Structure of 3-aminopropyl triethoxy silane on silicon oxide. *Journal of colloid and interface science*, 147(1), 103-118.
- Vasanth, V.A., Junhui, C., Wenguan, Z., Herk, A.M., Parthiban, A. (2018). Reversible Photo- and Thermoresponsive, Self-Assembling Azobenzene Containing Zwitterionic Polymers. *Langmuir*. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b01820
- Vogt, A.P., Sumerlin, B.S. (2006). An efficient route to macromonomers via ATRP and click chemistry. *Macromolecules*, 39, 5286–5292.
- Wang, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, Y., Lang, M. (2011). Surface modification of hydroxyapatite with poly(methyl methacrylate) via surface-initiated ATRP. *Applied Surface Science*, 257, 6233–6238.
- Wang, Y., Zheng, J.X., Brittain, W.J., Cheng, S.Z.D. (2006). Switchable thin-film surface prepared via a simple grafting-to method using a polystyrene-b-poly (2-vinylpyridine) copolymer. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44, 5608-5617.

- Wang, Z.L., Xu, J.T., Du, B.Y., Fan, Z.Q. (2012). Preparation and characterization of V-shaped PS-b-PEO brushes anchored on planar gold substrate through the trithiocarbonate junction group. *Journal of Colloid and Interface Science*, 384, 29–37.
- Wells, L.A., Lasowski, F., Fitzpatrick, S.D., Sheardown, H. (2010). Responding to Change: Thermo- and Photoresponsive Polymers as Unique Biomaterials. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 38, 487–509.
- Xiong, X., Wu, Z., Yu, Q., Xue, L., Du, J., Chen, H. (2015). Reversible Bacterial Adhesion on Mixed Poly(dimethylaminoethylmethacrylate) /Poly(acrylamidophenyl boronic acid) Brush Surfaces. *Langmuir*, 31, 12054–12060.
- Xu, J., Shanmugam, S., Duong H.T., Boyer, C. (2015). Organo-photocatalysts for photoinduced electron transfer-reversible addition–fragmentation chain transfer (PET-RAFT) polymerization. *Polymer Chemistry*, 6, 5615–5624.
- Yager, K.G., Barrett, C.J. (2006). Novel photo-switching using azobenzene functional materials. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 182, 250–261.
- Yamato, M., Utsumi, M., Kushida, A., Konno, C., Kikuchi, A., Okano, T. (2001). Thermo-Responsive Culture Dishes Allow the Intact Harvest of Multilayered Keratinocyte Sheets without Disperse by Reducing Temperature. *Tissue Engineering*, 7, 473–480.
- Yan, B., Boyer, J.C., Branda, N.R., Zhao, Y. (2011). Near-Infrared Light-Triggered Dissociation of Block Copolymer Micelles Using Upconverting Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 133, 19714–19717.
- Yang, J.M., Yang, S.J., Lin, H.T., Chen, J.K. (2007). Modification of HTPB-based polyurethane with temperature-sensitive poly(N-isopropyl acrylamide) for biomaterial usage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 80B, 43–51.
- Yoshida, T., Kanaoka, S., Aoshima, S. (2005). Photo-responsive copolymers with azobenzene side groups synthesized by living cationic polymerization: Efficient amplification of photosensitivity in aqueous photo-switching system. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 43, 5337–5342.
- Yoshimoto, K., Hirase, T., Nemoto, S., Hatta, T., Nagasaki, Y. (2008). Facile construction of sulfanyl-terminated poly (ethylene glycol)-brushed layer on a gold surface for protein immobilization by the combined use of sulfanyl-ended telechelic and semitelechelic poly (ethylene glycol)s. *Langmuir*, 24, 9623–9629.
- Yu, Q., Zhang, Y., Chen, H., Zhou, F., Wu, Z., Huang, He., Brash, J.L. (2010). Protein Adsorption and Cell Adhesion/Detachment Behavior on Dual-Responsive Silicon Surfaces Modified with Poly(N-isopropylacrylamide)-block-polystyrene Copolymer. *Langmuir*, 26(11), 8582–8588.
- Zhang, Q., Zhang, Z., Wang, W., Zhu, J., Cheng, Z., Zhou, N., Zhang, W., Zhu, X. (2012). SET-RAFT of MMA mediated by ascorbic acid-activated copper oxide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 50.7, 1424–1433.
- Zhang, X., Telpyakov, V.A. (2008). Adsorption of C₆₀ buckminster fullerenes on an 11-amino-1-undecene-covered Si(111) substrate. *Langmuir*, 24, 810–820.

- Zhao, B., Brittain, W.J. (2000). Polymer brushes: surface-immobilized macromolecules. *Progress in Polymer Science*, 25, 677–710.
- Zhao, H., Gu, W., Sterner, E., Russel, T.P., Coughlin, E.B., Theato, P. (2011). Highly Ordered Nanoporous Thin Films from Photocleavable Block Copolymers. *Macromolecules*, 44, 6433–6440.
- Zubarev, E.R., Xu, J., Sayyad, A., Gibson, J.D. (2006). Amphiphilicity-driven organization of nanoparticles into discrete assemblies. *Journal of the American Chemical Society*, 128, 15098-15099.





ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : EVCI, Mehtap
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 30.11.1986, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (544) 743 41 92
 Faks : 0 (364) 227 70 05
 e-mail : mehtaptemizkan@hitit.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Kimya	2019
Yüksek lisans	Anadolu Üniversitesi / Kimya	2013
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi / Kimya	2008
Lise	Gaziosmanpaşa Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-	Hitit Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2013-2017	Gazi Üniversitesi (35. Madde)	Araştırma Görevlisi
2011-2013	Anadolu Üniversitesi (35. Madde)	Araştırma Görevlisi
2010-2011	Afyon Alkaloidleri Fabrikası	Kalite Kontrol Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Evci, M. and Caykara, T. Photo-control of poly (N-[4-[(4-Nitrophenyl) azo] phenyl] acrylamide) brushes on graphene oxide coated silicon surface, *Chemical Papers*, 1-9.

Hobiler

Seyahat etmek, yüzme, bisiklet sürmek





GAZİ GELECEKTİR...