



İletken Peptit Nanotüp ve Hidrojel Geliştirilmesi

Program Kodu: 1001

Proje No: 112T882

Proje Yürütücüsü:

Y. Doç. Dr. Salih Özçubukçu

Eylül 2015
ANKARA



ÖNSÖZ

Bu projede iletken peptit hidrojeller ve peptit nanotüplerin sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. İletkenliğin sağlanması için yapay bir amino asit tasarlanarak, katı hal peptit sentezi yöntemi ile bu amino asitin peptit dizilimi içerisine katılması sağlanmıştır. Bu yapay amino asit üzerinde bulunan aromatik gruplar arasındaki π - π etkileşimi ve peptitlerin beta yaprağı yapısında kendiliğinden yapılanması ile iletkenliğin sağlandığı gözlemlenmiştir.

Bu proje 1 Nisan 2013 tarihinde başlayarak 1 Ağustos 2015 tarihinde sonlanmıştır ve 112T882 kodu ile TÜbitak tarafından desteklenmiştir.



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| ÖNSÖZ | 2 |
| İÇİNDEKİLER | 3 |
| ÖZET | 4 |
| ABSTRACT | 5 |
| 1. GİRİŞ | 6 |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ | 10 |
| 3. YÖNTEM | 14 |
| 3.1. Yapay amino asit sentezleri | 14 |
| 3.1.1. Yapay amino asit 1'in sentezi | 14 |
| 3.1.2. Aldehit 5 için yeni sentez yöntemi | 17 |
| 3.1.3. Yapay Amino asit 2'nin sentezi | 19 |
| 3.1.4. Ni ²⁺ -yapay amino asit 1 kompleksi sentezi | 21 |
| 3.2. Peptit Sentezi | 22 |
| 3.2.1. Katı Faz Peptit Sentez yöntemi | 22 |
| 3.2.2. Peptitlerin karakterizasyonu ve saflaştırılması | 25 |
| 3.2.3. FKFE-X-FKFE peptitinin sentezi | 25 |
| 3.2.4. FKFEFKFE-X-FKFEFKFE peptitinin sentezi | 26 |
| 3.2.5. RADARADA-X-RADARADA peptinin sentezi | 27 |
| 3.2.6. RADARADA-Y-RADARADA peptinin sentezi | 28 |
| 3.2.7. RADARADA-K-RADARADA peptitinin sentezi | 29 |
| 3.2.8. Halkalı (QA) ₄ 'ün sentezi | 30 |
| 3.2.9. Halkalı QAQA-X-AQA sentezi | 31 |
| 3.2.10. RADARADA-Z-RADARADA-NH ₂ peptitinin sentezi | 32 |
| 3.2.11. Peptit Hidrojel Hazırlama | 33 |
| 3.2.12. Peptit Nanotüp Hazırlama | 33 |
| 3.2.13. CD ölçümleri için numune hazırlama | 34 |
| 3.2.14. TEM analizi için numune hazırlanması | 34 |
| 3.2.15. FT-IR ATR ölçümleri | 34 |
| 3.2.16. 4-point probe cihazı ile iletkenlik ölçümleri | 34 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA | 35 |
| 4.1. Hidrojel Eldesi ve Karakterizasyonu | 35 |
| 4.1.1. FKFE-X-FKFE peptiti ile hidrojel eldesi | 35 |
| 4.1.2. RADARADA-X-RADARADA peptiti ile hidrojel eldesi | 35 |
| 4.1.3. RADARADA-Y-RADARADA-NH ₂ peptiti ile hidrojel eldesi | 39 |
| 4.1.4. RADARADA-K-RADARADA-NH ₂ peptiti ile hidrojel eldesi | 41 |
| 4.1.5. RADARADA-Z-RADARADA-NH ₂ peptiti ile hidrojel eldesi | 42 |
| 4.2. Peptit Nanotüp Eldesi | 42 |
| 4.2.1. Halkalı (QA) ₄ Nanotüp eldesi | 42 |
| 4.2.2. Halkalı QAQA-X-AQA Nanotüp Eldesi | 45 |
| 4.3. İletkenlik Ölçümleri | 46 |
| 5. SONUÇ | 49 |
| 6. KAYNAKLAR | 51 |



ÖZET

Kendiliğinden yapılanabilen peptitler, son 10 yılın oldukça gözde araştırma konularından biri haline gelmiştir (Zhang vd., 1993; Petka vd., 1998; Qu vd., 2000; Nicodemus ve Bryant, 2008; Buriak ve Ghadiri, 1997). Özellikle seçici ilaç salınımı, doku mühendisliği ve biyomedikal konusunda uygulamaları için yoğun bir araştırmaya sahne olmaktadır. Peptitleri oluşturan aminoasitlerin çeşitliliği, çok farklı fiziksel ve kimyasal özelliğe sahip peptit yapılarının elde edilmesine mükemmel bir olanak sağlamaktadır. 21 tane doğal aminoasitin yanı sıra, doğal olmayan, sentetik amino asitlerin kullanımı ile de farklı özellikler elde etmek mümkündür ve bu sayede de çok daha farklı uygulamalara kayabilmektedir. Peptit kimyasının bu zenginliği nedeniyle, nanotüp (Buriak ve Ghadiri, 1997) ve hidrojel oluşturabilen peptitlere gösterilen ilgi de her geçen yıl artmaktadır. Ancak, peptit bazlı bu tür nanotüp ve hidrojellerden uygulamaya yönelik biyomalzemeler üretimi konusu, bir çok araştırmacı için oldukça zor bir alandır. Bu nedenle mevcut sistemlere ek olarak yeni, kolay, uygulamaya yönelik. daha iyi iletkenlik gösteren peptit nanotüp ve hidrojellerin eldesi çalışmaları hız kazanmaktadır (Löwik vd., 2010; Mart vd., 2006).

Bu çalışmada aromatik halka ve metal iyonları içeren yapay amino asitler kullanarak, iletken peptit nanotüp ve hidrojeller yapılması hedeflenmiştir. Amacımız, kendinden yapılanabilen peptitlerin *beta-yaprak* dizilimi ile belli bir düzene girerek, terpiridin ve piren grupları arasında $\pi-\pi$ etkileşimi ile elektrik iletkenliği sağlamaktır. Bunun için bis-terpiridin ve piren türevi yapay amino asit sentezlenmesi ve ardından 8-17 amino asitlik yapay amino asiti de taşıyan doğrusal ve halkalı peptitler sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen peptitlerin karakterizasyonu ve iletkenlik ölçümleri yapılmıştır. Metal koordinasyonu sonucu iletkenlikteki değişiklik de incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, organik elektronik nanomalzemeler, doku mühendisliği ve biyomedikal uygulama alanlarında bir çok araştırma için öncü olacaktır. Organizmalar için zararlı olmayan kullanışlı elektronik biyosensörler, biyolojik ve iletken nanoyapılar, yeni tedavi yöntemleri için büyük bir açılım olacaktır.



ABSTRACT

Self-assembling peptides are becoming an emerging field especially in last 10 years. For their application in selective drug delivery, neural tissue engineering and biomedical applications, extensive research are being done by many research groups. A large variety of peptides with different physical and chemical properties can be acquired by using different amino acids. Through chemical peptide synthesis, utilizing unnatural synthetic amino acids richness of peptide chemistry, hydrogel forming peptides are getting more attention year after year. Application of these hydrogel forming peptides in biomedical materials, organic electronic devices and tissue engineering is a challenging topic which requires alternative structures to get better and easily applied systems.

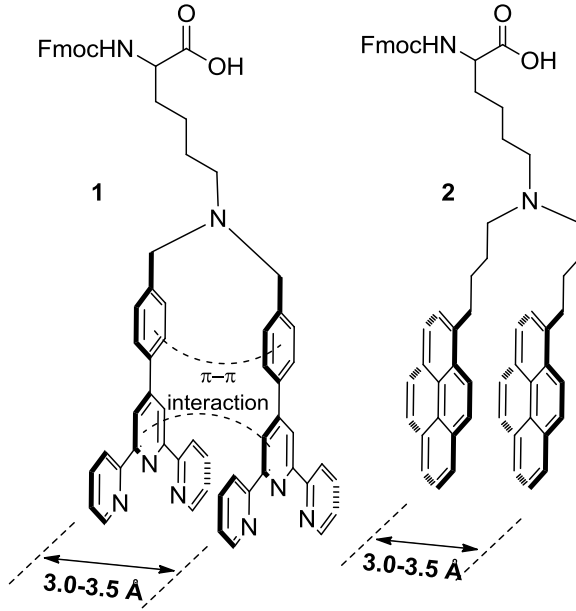
In this project, using two artificial amino acids having terpyridine and pyrene moiety, conductive peptide nanotubes and hydrogels will be synthesized. Our goal is, by the alignment of self-assembling peptides via beta-sheet strand, terpyridine and pyrene groups formed π -stacking, to obtain electrical conductivity through self-assembling peptides was achieved. The objectives of this project are to synthesize bis-terpyridine containing unnatural amino acid that provides conductivity by $\pi - \pi$ conjugation, to synthesize linear and cyclic peptides containing 8-17 number of amino acid including the artificial amino acids and to characterize and evaluate conductivity properties of acquired synthetic biomolecules, respectively. The results of this project will be a gate for many investigations in the area of organic electronic materials, tissue engineering and biomedical applications. Useful electronic biosensors and biological conducting wires that are not detrimental for organisms could be developed which will be a tremendous opening for new treatment methods.



1. GİRİŞ

Bu proje temel olarak iletken peptit nanotüp ve hidrojel geliştirme üzerine bir çalışmadır. Peptitlerde nanotüp ve hidrojel oluşumu kendiliğinden yapılanmayı temel alan bir olgudur. Peptitlerin *alfa-heliks* ve *beta-yaprak* gibi ikincil yapılarıyla ya da peptit uçlarına takılan ampifilik gruplar tarafından hidrojel veya nanotüp oluşturması sağlanmaktadır (Zhang vd., 1993; Löwik vd., 2010; Mart vd., 2006). Bunun yanısıra, peptitlerin düzenli yapıları amino asit dizilimine de bağlıdır. Ne tür peptit dizilimlerinin nanotüp veya hidrojel oluşturduğu genel olarak bilinmektedir. Nanobiyomateryal alanında bu ikincil yapılar kullanılarak yoğun araştırmalar yapılmaktadır. İpek ve amiloid gibi bir çok doğal madde de *beta-yaprak* yapısında biyonomateryal yapılar oluşturmaktadır(Sunde vd., 1997).³

Bu proje iki kısımdan oluşmaktadır. Birincisi, beta-yaprak ikincil yapıları üzerinden kendiliğinden yapılanarak hidrojelleşen iletken peptitler sentezlemek; ikincisi ise D ve L amino asitleri kullanarak sentezlenen halkalı peptitlerden iletken nanotüp elde etmektir. Nanotüp ve hidrojel oluşturacak olan amino asit diziliminin büyük önemi vardır. İlkinde güçlü bir *beta-yaprak* ikincil yapısı için lösin (L), fenilalanin (F), triptofan (W) ve tirozin (Y) amino asitleri peptit sentezinde genel olarak kullanılan amino asitler, ikincisinde de değişen sırada D ve L amino asitlerinin kullanımı söz konusudur (Kim ve Berg, 1993). Peptit nanotüp ve peptit hidrojel yapılması iyi bilinen ve oturmuş bir yöntemdir. Ancak bunların iletkenlik özelliği gösterenler konusunda çok az çalışma mevcuttur. Literatür özeti kısmında bunlar açıklanmıştır. Bu projede de, her iki amaç için kullanılmak üzere (peptit nanotüp ve hidrojel), lizin amino asitine konjuge edilecek terpiridin ve piren türevi moleküllerinden oluşan doğal olmayan amino asitler dizayn edilmiş ve sentezlenmiştir (Şekil 1).



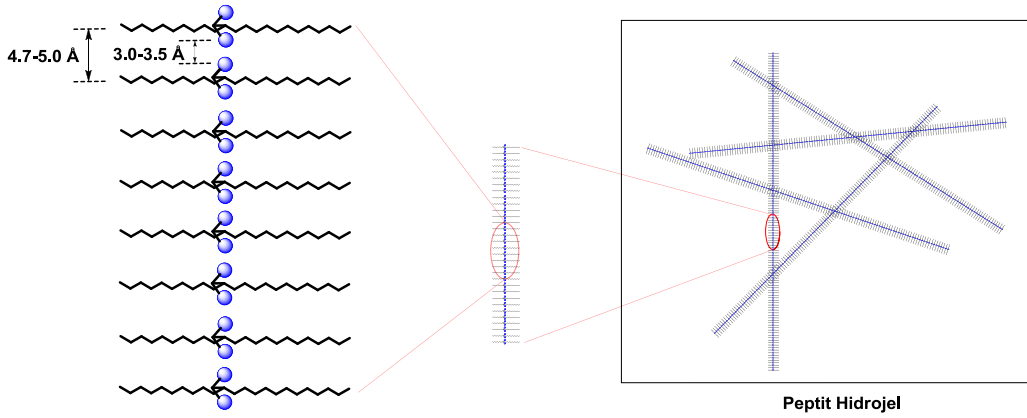
Şekil 1. Bu projede tasarlanan ve sentezlenen yapay amino asitler.

Bu yeni moleküller, kendinden yapılıp nanotüp ve hidrojel oluşturan peptit diziliminin ortasında kullanılarak, bu peptitlere, π -konjuge oligomerlerin tek boyuttaki yapılıpmasıyla terpiridin ve piren grupları arasında π - π etkileşimi sonucu iletken özellik göstermesi hedeflenmiştir. Organik ligand olarak terpiridin ve piren türevleri, tasarlanan *beta-yaprak* yapısında sıralanacak olan aromatik halkalar sayesinde π - π istiflenmesi için uygun bir moleküllerdir (Perrine vd., 2008). Ayrıca, terpiridin içeren peptit yapısı metal iyonlarıyla da koordine edilebilir. Böylelikle metal iyonlarının peptit üzerindeki iletkenliğe etkisi de incelenmiştir (Vairaprakash vd., 2011). Bu amaç için kullanılacak metal iyonlarının ligandlar arası sterik bir itmeye sebep olmaması için kare düzlem biçiminde koordine olması gerekmektedir. Ni^{2+} iyonunun kare düzlem biçiminde koordine olduğu bilinmektedir (Eryazici vd., 2008), bu nedenle Ni^{2+} iyonu bu projede kullanılan metal iyonudur.

Projede, *beta-yaprak* oluşturan peptitler arası uzak mesafe nedeniyle terpiridin türevi yerine bis-terpiridin türevi kullanılması tercih edilmiştir. Bir çok *beta-yaprak* yapısındaki peptitler arası mesafenin 4.7-5.0 Å olduğu bilinmektedir (Xu vd., 2010; Diegelmann vd., 2008). Bu çeşit bir peptit diziliminde bulunan terpiridin moleküllerinin π - π istiflenmesi için aynı mesafe geçerlidir. Ancak, önemli miktarda iletkenlik sağlayan etkili bir π - π istiflenmesi için π sistemleri arası mesafenin 3.0-3.5 Å civarında olması gerekmektedir (Xu vd., 2010; Ding vd., 2008; Yajima vd., 2003). Bu çalışmada da, terpiridin molekülleri arası mesafeyi yarıya indirmek için bir yerine iki terpiridin molekülünden oluşmuş doğal olmayan amino asit türevi tasarlanmıştır. Bu bilgi, neden lizin türevinin gerekli olduğunu da

açıklamaktadır. Lizin amino asiti yan grubunda birincil amin grubu taşıdığından iki terpiridin molekülü ile işlevsel hale getirilebilir.

İki terpiridin molekülü arası mesafe teorik olarak, C-N arası ortalama bağ uzunluğu (1.47 Å) ve sp^3 hibritlenmiş N atomunun bağ açısı ($108-114^\circ$) kullanılarak hesaplanmıştır (Allen vd., 1987). Bu şekilde, beklenen mesafe 2.4-2.5 Å olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, bu mesafe π sistemleri arası itmeye sebep olabilecek kadar yakındır. Ancak, peptit yapılarının esnekliği sayesinde, bis-terpiridin türevi lizin molekülü geometrik olarak ideal mesafeye (3.0-3.5 Å) adapte olması beklenmektedir.



Şekil 2. Yapay amino asitler kullanılarak elde edilmiş olan peptit hidrojel yapıları.

Yapay amino asitler **1** ve **2** ayrı ayrı, kendiliğinden yapılanarak nanotüp veya hidrojel oluşturduğu bilinen peptit diziliminin ortasına yerleştirilmiştir (Şekil 2). Örneğin FKFEFKFE diziliminin güçlü *beta-yaprak* ikincil yapısı oluşturduğu bilinmektedir (Bowerman ve Nilsson, 2010). Bundan dolayı bu dizilim yapay amino asitler **1** ve **2**'nin kullanımında yararlanılmış olan dizilim modellerinden biridir. Sentezlenmiş olan peptidin tek harfli simgelenimi aşağıda gösterildiği gibidir:

FKFE-X-FKFE

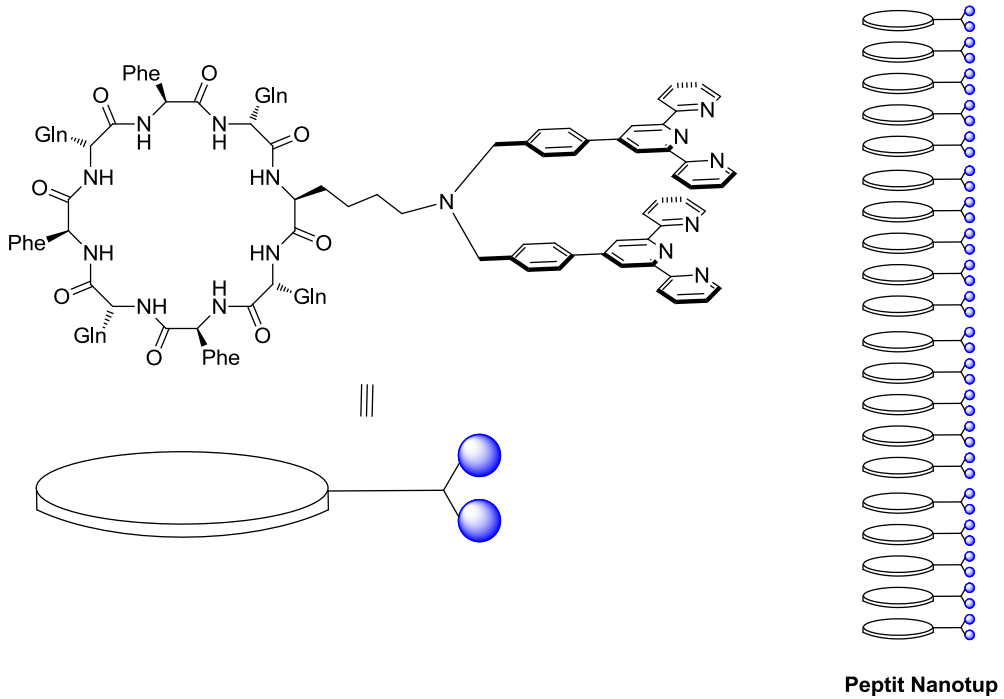
X, dizayn edilmiş yapay amino asitler **1**'i, Y'de **2**'yi simgelemektedir.

Bu dizilime alternatif olarak, RADARADARADARADA-NH₂ peptit dizilimini de kullanarak anında kendinden yapılanan nano ip hidrojeller elde edilebilir. Bunun yanısıra, RATARAEARATARAEA peptit dizilimi pH 7'de stabil ve şeffaf hidrojel oluşturabilmektedir (Zhao vd., 2008). Dolayısıyla alternatif peptit dizilimleri olarak

doğal olmayan amino asit **1** ve **2**'yi içeren aşağıdaki peptit dizilimi de sentezlenmiştir:

RADARADA-X-RADARADA-NH₂
RADARADA-Y-RADARADA-NH₂

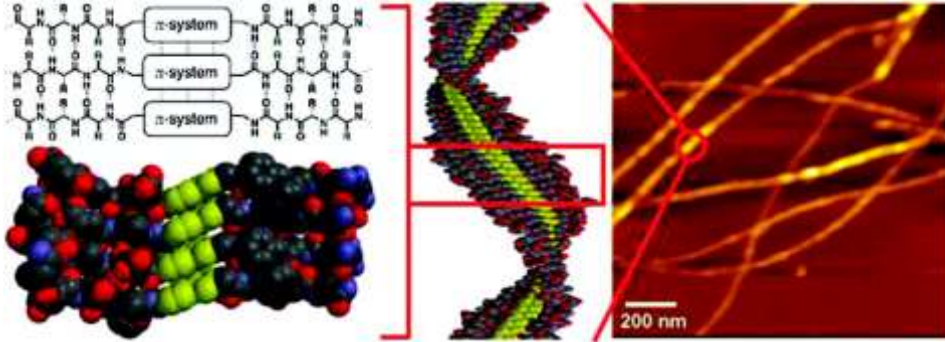
Buriak ve Ghadiri'nin (1997) geliştirdiği, D ve L amino asitlerinin ardışık bir şekilde kullanılarak sentezlendiği 8 amino asitli halkalı peptitlerin nanotüp yapısında kendiliğinden yapılandığı bilinmektedir. Bu 8 amino asit diziliminden biri de siklo (*D*-Ala-*L*-Gln)₄ olup glutaminlerden biri yerine sentezlenmiş olan **1** numaralı yapay amino asit kullanılarak bu halkalı peptitler sentezlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Yapay amino asit **1** türevi kullanılarak sentezlenmiş olan peptit nanotüpler.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

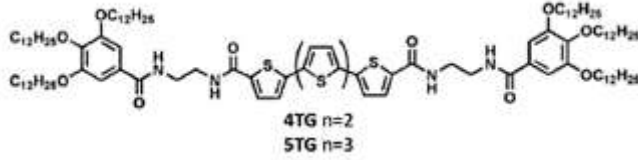
Peptit hidrojeller biyonanokimya alanında yeni ve gelişmekte olan bir konudur. Peptit nanotüpler görece olarak biraz daha eski ve Ghadiri'nin çalışmaları ile 1993 yılında başlamış ve hala gelişmekte olan bir konudur. Bu tür biyonano yapılar nöral doku mühendisliği ve biyomedikal malzeme alanlarında yeni uygulamalar sunmak için bir çok yeni çalışmalar mevcuttur (Zhang vd., 1993; Löwik vd., 2010; Mart vd., 2006). Bu projede de kendinden yapılanan peptitlerin avantajlarından yararlanılarak peptit hidrojeller ve nanotüp bazlı yeni 1-D nano teller oluşturulmuştur. Günümüzde aynı amaç için çalışan az sayıda araştırmacı bulunmaktadır (Xu vd., 2010; Diegelmann vd., 2008; Stone vd., 2009). Fakat bu araştırmacılar, her *beta-yaprak* teli arasındaki uzun mesafeden dolayı (4.7-5.0 Å) henüz ancak çok düşük iletkenlikler elde edebilmişlerdir. Örneğin, Diegelmann vd. (2008) ve Stone vd. (2009) birbirlerinden bağımsız olarak bir peptit diziliminin ortasında bulunan tiyofen grubunun kendiliğinden yapılanarak *beta-yaprak* oluşumuna katkısına değinmişlerdir. Kendinden yapılanma sayesinde π konjuge tiyofen grupları (Şekil 4) arasında elektronik bir iletişim olduğunu spektroskopik yöntemlerle kanıtlamalarına rağmen bu maddelerin direkt olarak iletkenliklerini ölçmemişlerdir.



Şekil 4. Tovar'ın 2008 yılında yayımlandığı tiyofen grubu içeren peptit hidrojeller.

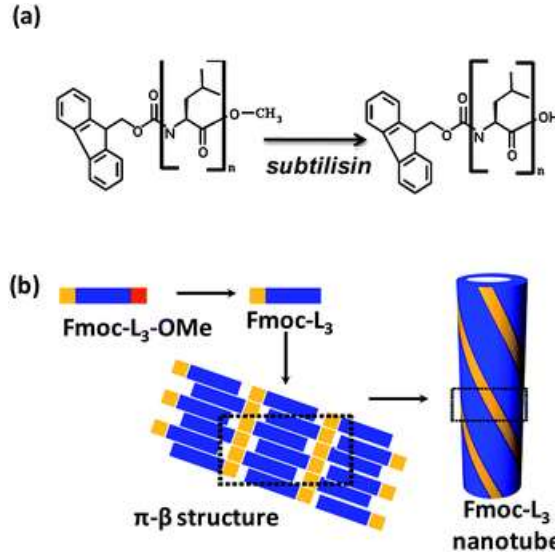
Ancak Stone vd.'nin 2011 yılında yayımladığı benzer çalışmalarından birinde, yine oligotiyofen türevi taşıyan peptitler sentezlenmiş ve hidrojen bağı ile kendiliğinden yapılanan organojeller elde edilmiştir. Kinketiyofen türevinin erime noktasının kuartertiyofene türevine göre 16 °C daha yüksek olduğu, yani ısıl kararlılığının daha yüksek olduğu yapılan ölçümlerde anlaşılmıştır. Bu da konjuge tiyofen gruplarının sayısının artmasının daha iyi bir π - π istiflenmesini sağladığını böylelikle ısıl kararlılığın arttığını göstermektedir. Kuartertiyofen (4TG) ve Kinketiyofen (5TG) türevleri sentezlenip iletkenlik ölçümleri yapılmıştır (Şekil 5).

Kinketiyofen türevinin 4-nokta kontak (*4-point probe*) yöntemi ile yapılan ölçümleri sonucu iletkenlik değeri $9.9 \pm 1.7 \times 10^{-6} \text{ S cm}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Böylelikle aromatik grupların, oluşan π - π istiflenmesi sayesinde yarı-iletken özelliğinde elektrik iletkenliği sağladığı ispatlanmıştır.



Şekil 5. Quartertiyofen (4TG)ve quinetiyofen (5TG) türevleri.

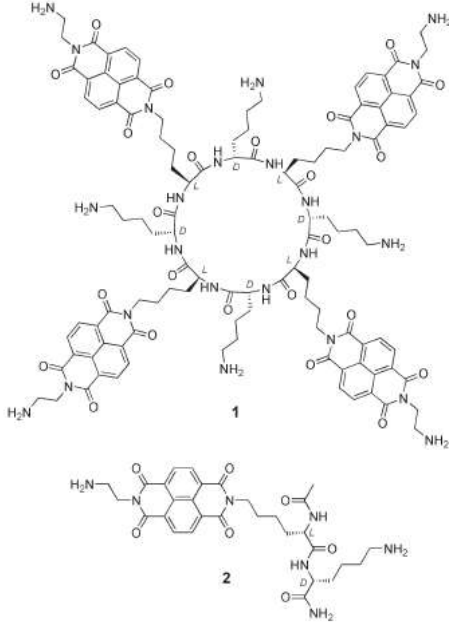
Xu vd. 2010 yılında yayımladığı makalede, Fmoc grubu taşıyan küçük peptitlerin kendinden yapılanarak *beta-yaprak* oluşturduğunu göstermiştir. Bu çalışmada Fmoc grupları arası mesafenin 3.6-3.8 Å olduğu teorik olarak hesaplanmış ve maddenin hava ve vakum içerisindeki direnci sırasıyla 0.1 MΩ/sq ve 500 MΩ/sq olarak ölçülmüştür (Şekil 6).



Şekil 6. Ulijn'in geliştirdiği iletken peptit nanotüp.

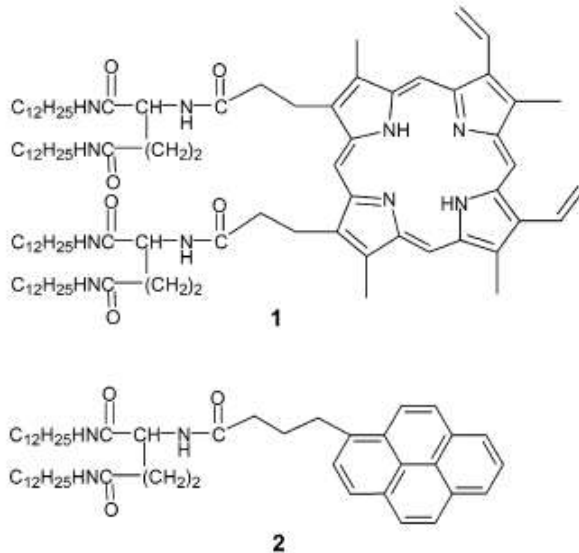
Ashkenasy vd., 2006 yılında yayınladıkları bir çalışmada, 8 amino asitten oluşan halkalı bir D,L- α -peptit yapmışlardır. Sekiz amino asitten dördü π istiflenmesi ile yük transferi sağlayacak olan L-Lizin türevi 1,4,5,8-naftalintetrakarboksilik diimmit (NDI) ve diğer dördü de D-Lizin molekülüdür (Şekil 7). Ayrıca sentezlenen halkalı peptitler arası kendiliğinden yapılanma NDI molekülünün redoks özelliği ile indirgenerek tetiklenmektedir. Yapılan model çalışmasıyla da her bir halkalı peptit birimi arasındaki mesafenin 4.7 Å olduğu, ancak NDI molekülleri arasındaki mesafenin 3.6 Å değerinde olduğu düşünülmüş ve efektif bir yük delokalizasyonu

için bu yakınlığın gerekli olduğu vurgulanmıştır. Ancak iletkenlik ölçümü yapılmamıştır.



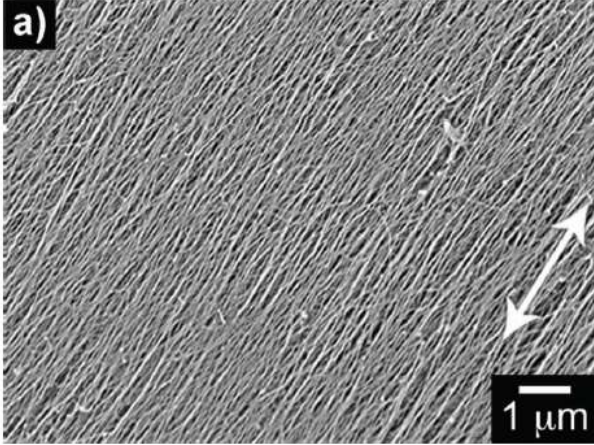
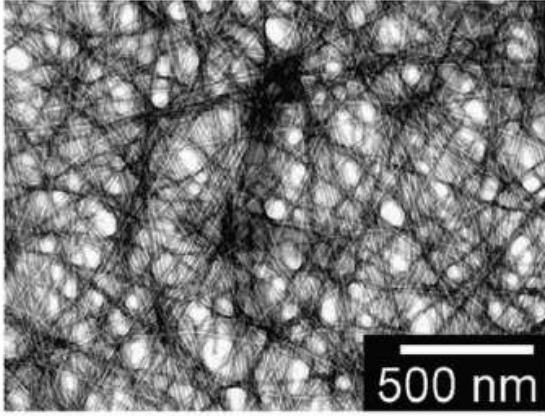
Şekil 7. Yan gruplarında NDI bağlı, nanotüp oluşturabilen halkalı peptit.

2002 yılında Sagawa vd. tarafından yapılan bir çalışmada, L-Glutamik asitin porfirin ve piren türevleri ayrı ayrı sentezlenmiş ve benzen içerisinde kendiliğinde yapılanma sayesinde mikro fibril yapısı oluşturulabilmiştir (Şekil 8). Bu da amino asitlerin porfirin ve piren türevlerinin kolaylıkla sentezlenebileceğini göstermektedir. Porfirin ve piren molekülleri spektroskopik ölçümlerde renk verici özelliklerinden dolayı tercih edilmişlerdir. L-Glutamik asit ise organik çözücülerde amit grubu sayesinde hidrojen bağı ile jel oluşturma özelliğine sahip olduğu için kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, piren türevinden porfirin türevine singlet-singlet enerji akışı gözlemlenmiştir.



Şekil 8. Protoporphyrin IX (1) ve pyrene (2) grupları içeren L-Glutamik asit türevleri.

Wall vd., 2011 yılındaki bir çalışmada ise peptitlerin kendiliğinden yapılanmasının iki boyutlu olarak düzenlenmesi sonucu iletkenliği daha yüksek peptit hidrojeller elde etmeyi başarmıştır. Çapraz ve karmaşık nanofiber yapısından tek bir doğrultuda düzenlenmiş yapılar oluşturulması sayesinde, organik elektronik uygulamalarında kullanılacak peptit hidrojeller elde etmişlerdir (Şekil 9).



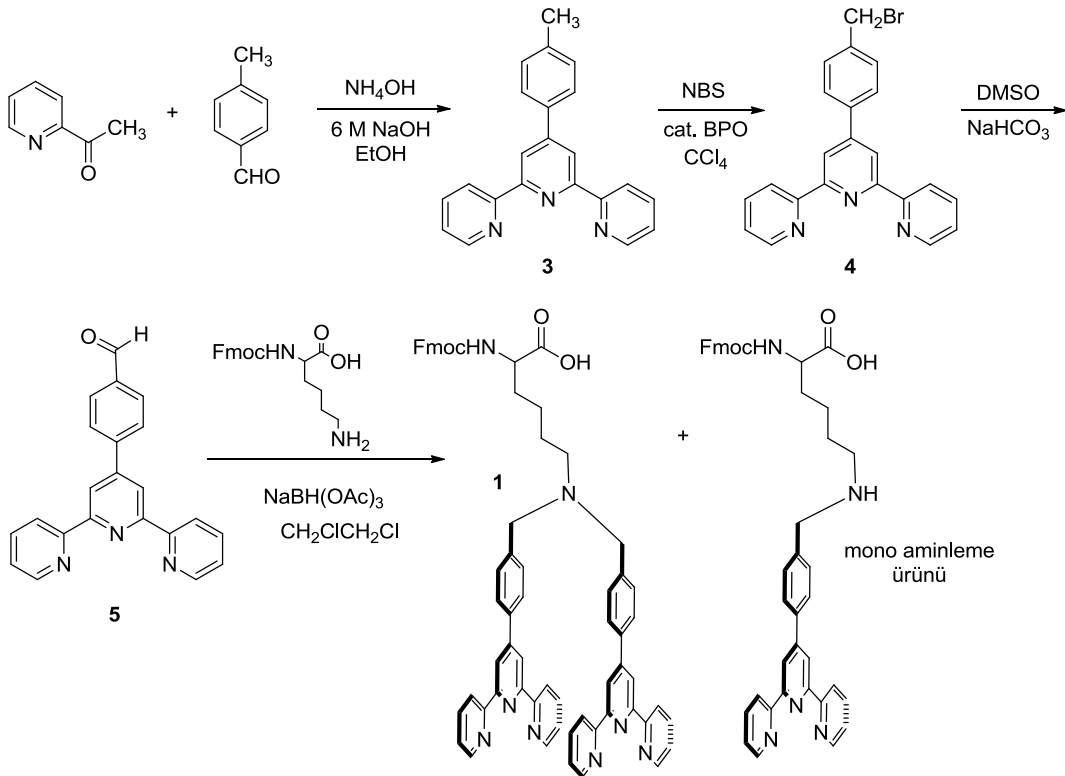
Şekil 9. Normal bir şekilde elde edilmiş peptit hidrojeller ile tek doğrultuda kendiliğinden yapılanmış peptit hidrojellerin TEM görüntüleri.

3. YÖNTEM

3.1. Yapay amino asit sentezleri

3.1.1. Yapay amino asit 1'in sentezi

Proje öneri halinde iken sunulan ön çalışmalarda yapılan terpiridin aldehit türevi **5** ile lizin amino asitinin alfa amini korunmuş halinin indirgeyici aminleme yöntemi ile birleştirilmesi çalışmaları yapılmıştır (Şekil 10). Tahminen terpiridin aldehit türevinin büyük olmasından kaynaklı, bu indirgeyici aminleme tepkimesi tahminimizden çok daha zor gerçekleşmiştir. Literatürde tamamen aynı lizin türevi ve benzaldehit ile yapılan indirgeyici aminleme tepkimesi koşulları birebir aynen uygulandığında ürün elde edilememiştir. Lizinin farklı koruma grupları ile korunmuş halleri ve farklı çözücü ile denemeler de başarısız olmuştur. En sonunda, tepkime koşullarını farklı indirgeyici aminleme tepkimeleri ile düzenleyerek, öncelikle lizin türevi ile aldehitin bir süre ısıtılarak karıştırılması ve ardından indirgeyici maddenin ilavesi ile istenilen ürün elde edilmiştir. Ancak bu yöntemde de istenilen ikili aminleme ürününün yanısıra, tekli aminlenmiş ürünün de tepkime sonunda kaldığı görülmüştür.



Şekil 10. İkili-terpiridin türevi amino asit sentezi.



Deney prosedürü: 0,710 mL p-tolualdehit (6 mmol) ve 1,346 mL 2-asetilpiridin (12 mmol) 25 mL etil alkol içerisinde karıştırıldı. 1,6 mL saf su içerisinde çözünmüş 0,488 gr NaOH ve 1 mL %26 NH₄OH çözelti üzerine damla damla eklenerek renk değişimi gözlemlendi. Tepkime oda sıcaklığında ağzı açık bir şekilde her gün 1 mL %26 NH₄OH eklenerek 6 gün boyunca karıştırıldı. 6. günün sonunda 50 mL saf su ile çöktürülüp filtre kağıdı ile süzülerek sarı renkteki **3** numaralı bileşik katı halde elde edildi.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.73 (m, 4H), 8.68 (m, 1H), 8.66 (m, 1H), 7.88 (dt, *J* = 7.8, 1.80 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.35 (ddd, *J* = 7.5, 4.8, 1.2 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H)

646 mg bileşik **3** (2 mmol) N-bromosüksinamit (NBS) ile bromlanmıştır. Tepkime verimini artırmak amacı ile 712 mg (4 mmol) NBS kullanılmıştır. Kimyasallar 26 mL kuru benzen içerisinde çözülüp, katalitik miktarda (194 mg, 0,8 mmol) benzoyil peroksit (BPO) eklenmiştir. Tepkime gece boyunca 100 °C'da geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Tepkime sonrasında çözelti süzülerek etil asetat ve saf su ile ekstraksiyon yapılmıştır. Toplanan organik faz MgSO₄ ile kurutulup süzüldükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisi kullanılarak bileşik **4** saflaştırılmıştır (mobil faz: 1 THF : 10 Hekzan)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.73 (m, 4H), 8.68 (m, 1H), 8.66 (m, 1H), 7.88 (dt, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.35 (ddd, *J* = 7.5, 4.8, 1.2 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H)

1,147 gr bileşik **4** (2,85 mmol) ve 1,425 gr NaHCO₃ 7,7 mL kuru dimetil formamit (DMSO) içerisinde 100 °C'da geri soğutucu altında gece boyunca ısıtılmıştır. Tepkime sonunda diklorometan (DCM) ve su ile ekstraksiyon yapılmıştır. Toplanan organik faz MgSO₄ ile kurutulup süzüldükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisi kullanılarak bileşik **5** saflaştırılmıştır (mobil faz: 2 EtOAc : 3 Hekzan)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 10.12 (s, 1H), 8.78 (s, 2H), 8.75 (dd, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.74 (dd, 1H), 8.70 (m, 1H), 8.68 (m, 1H), 8.05 (m, 4H), 7.91 (dt, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 2H), 7.38 (ddd, *J* = 7.5, 4.8, 1.2 Hz, 2H)

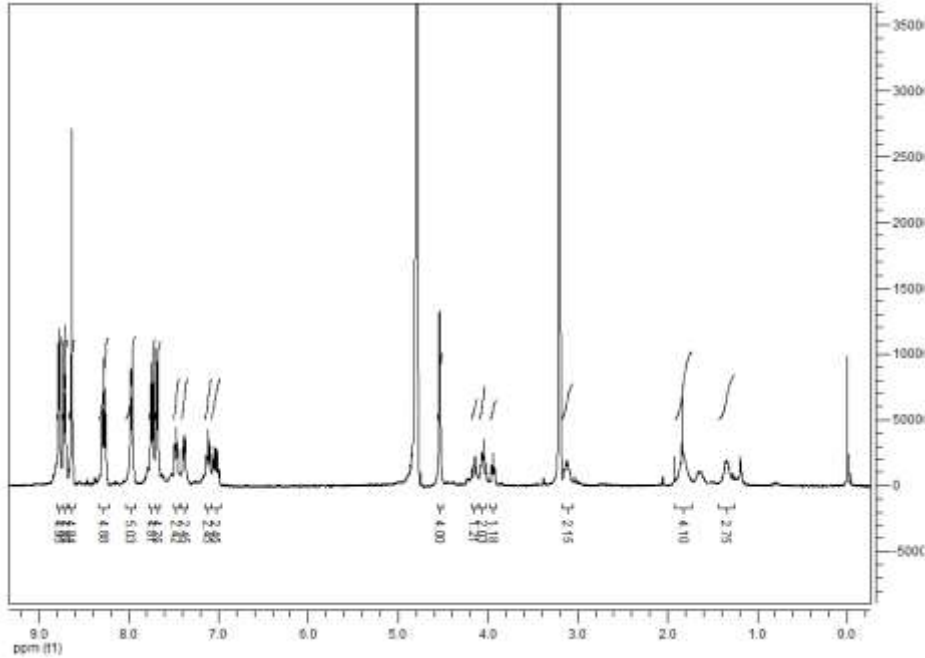


368,4 mg Fmoc-L-Lysine-OH (1 mmol) ve 337 mg bileşik **5** (1 mmol) 18 mL kuru 1,2-dikloroethan (1,2-DCE) içerisinde yarım saat boyunca 80 °C'da geri soğutucu altında ısıtılarak imin oluşumu sağlanmıştır. Tepkime balonu oda sıcaklığına getirildikten sonra 0 °C'lık buz banyosu içerisinde 265 mg NaBH(OAc)₃ eklenmiş ve oda sıcaklığında bir gece karışmaya bırakılmış ve böylelikle mono aminleme ürününün oluşumu sağlanmıştır. Daha sonra ortama tekrardan 0 °C'lık buz banyosu içerisinde 265 mg NaBH(OAc)₃ eklenmiş ve oda sıcaklığında bir gece daha karışmaya bırakılmıştır. Tepkime sonrasında organik faz saf su ile ekstrakte edilmiş, toplanan organik faz doygun NaCl çözeltisi ile de yıkanıp MgSO₄ ile kurutulup süzöldükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Elde edilen bileşik **1** saflaştırma işlemi yapılmaksızın peptit sentezinde kullanılmıştır.

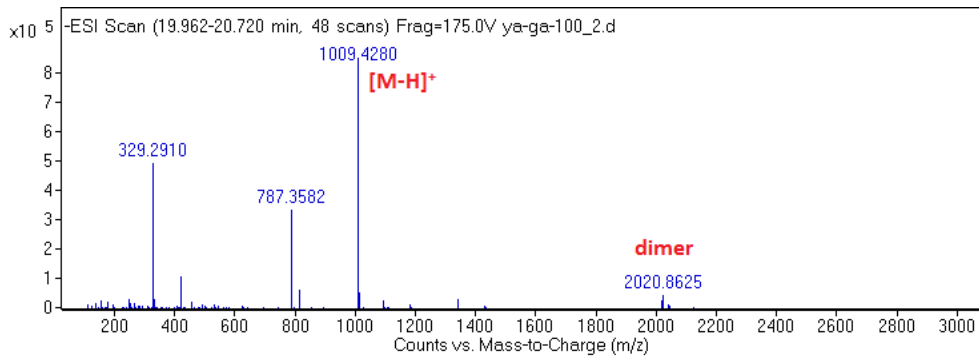
¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 8.72 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H), 8.78 (d, *J* = 5.3 Hz, 4H), 8.64 (s, 4H), 8.33-8.22 (m, 4H), 7.97 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.74 (dd, *J* = 7.0, 5.9 Hz, 5H), 7.69 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.50-7.44 (m, 2H), 7.41-7.34 (m, 2H), 7.12 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.04 (dd, *J* = 14.4, 7.4 Hz, 2H), 4.54 (s, 4H), 4.14 (m, 1H), 4.10-4.03 (m, 2H), 3.94 (s, 1H), 3.17-3.05 (m, 2H), 1.91-1.73 (m, 4H), 1.43-1.25 (m, 3H)

Bu yöntem ile elde edilen ikili- ve tekli-aminleme ürünlerinin birbirinden ayrılması kolon kromatografisi ile oldukça zor gerçekleşmektedir. Elde edilen bileşiğin hem karboksilik gruplarının hem de bazik terpiridin gruplarının oluşu silika bazlı kolon kromatografisinde sıkıntılar yaratmaktadır. Ters faz HPLC ile C-18 gibi kolonlar kullanılarak saflaştırma denenmiştir fakat, ürünün çözünme sorunları nedeniyle de semi-prep kolonlar kullanılmasına rağmen çok az miktarlarda (~10 mg) ürün saflaştırılması söz konusu olmuştur.

Bu ürünün peptit sentezinde ve kristallendirme çalışmalarında kullanılacağından dolayı gram mertebesinde elde edilmesi gerektiğinden, bu sorunu çözmek için basamak basamak indirgemeli aminleme tepkimesi denenmiştir. Yani öncelikle tek terpiridin aldehit türevi takıldıktan sonra ikincisi takılmaya denenmiştir. Bu yöntem ile yan ürün olarak kalan tekli-aminleme ürününden tam olarak kurtulunamasa da, yan ürün oluşumu %10'a düşürülmüştür. Elde edilen ürün 400 MHz ¹H-NMR'ı ve HRMS ile karakterize edilmiştir (Şekil 11 ve Şekil 12):



Şekil 11. Bis-terpidin lizin türevi yapay amino asit 1'e ait ¹H-NMR spektrumu.

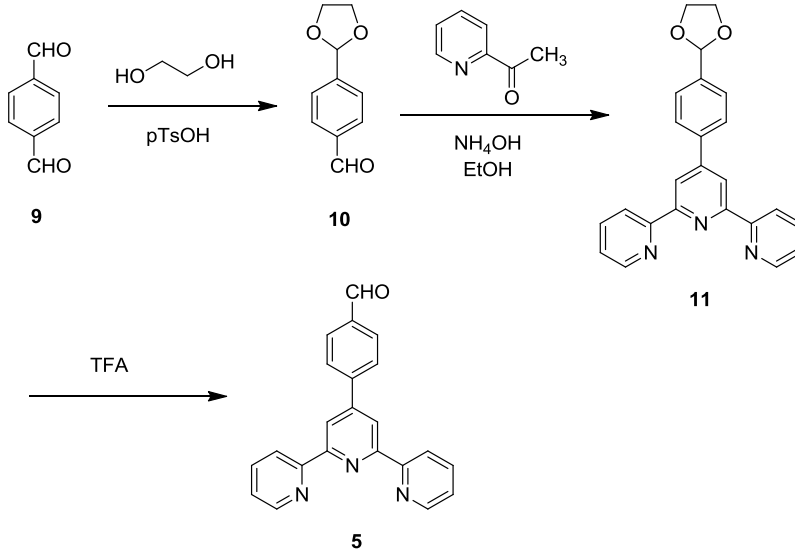


Şekil 12. Bis-terpidin lizin türevi yapay amino asit 1'in HRMS sonuçları (Negatif Modlu). Beklenen kütle değeri = 1010,43.

3.1.2. Aldehit 5 için yeni sentez yöntemi

Bir yandan da, yapay amino asit 1'in sentezi için oldukça önemli olan aldehit 5 molekülünün literatürdeki sentez yöntemi ile elde edilmesinin toplam verimi (3 basamaktan) çok düşük olduğundan (~%10) ve bu aldehitten gram mertebesinde elde edilmesi gerektiğinden bu sentezin iyileştirilmesi için alternatif bir yöntem geliştirilmiştir. Bunun için para-fitalaldehitten (9) başlayarak ve aldehit gruplarından birinin etilen glikol ile korunmasının ardından (yan ürün olarak iki aldehitin korunduğu madde de oluşmuştur ve kolon kromatografisi ile ayrılmıştır), terpidin sentezi, yine aynı yöntemle gerçekleştirilmiş ve ardından aldehitin koruma grubu kaldırılarak 5 numaralı bileşik toplamda (3 basamaktan) daha çok

verimle (%50) elde edilmiştir (Şekil 13). Bu molekülün kolay ve yüksek verimle sentezinin önemli olmasından dolayı bu şekilde bir alternatif sentez yoluna gidilmiştir ve etkili olmuştur.



Şekil 13. Aldehit **5** için geliştirilen daha basit ve yüksek verimli sentez yöntemi.

Deney prosedürü: 10 g bileşik **9** (75 mmol) 4,182 mL etilen glikol (75 mmol) ile 30mL kuru toluen içerisinde, katalitik miktarda (150 mg) p-toluensulfonik asit eklenerek 4 saat boyunca Dean-Stark kullanılarak 110 °C'da kaynatılmıştır. Tepkime sonrasında organik faz doymuş Na₂CO₃ çözeltisi ile iki kere yıkanmış, toplanan organik faz MgSO₄ ile kurutulup süzildükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisi kullanılarak bileşik **10** saf halde elde edilmiştir (mobil faz: 2 EtOAc : 3 Hekzan)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 9.97 (s, 1H), 7.84 (m, 2H), 7.59 (m, 4.82 Hz, 2H), 5.81 (s, 1H), 4.08-3.99 (m, 5H)

Bileşik **11**'in sentezi için bileşik **3**'ün sentezinde kullanılan deneysel yöntem aynı oranlarda uygulanmıştır.

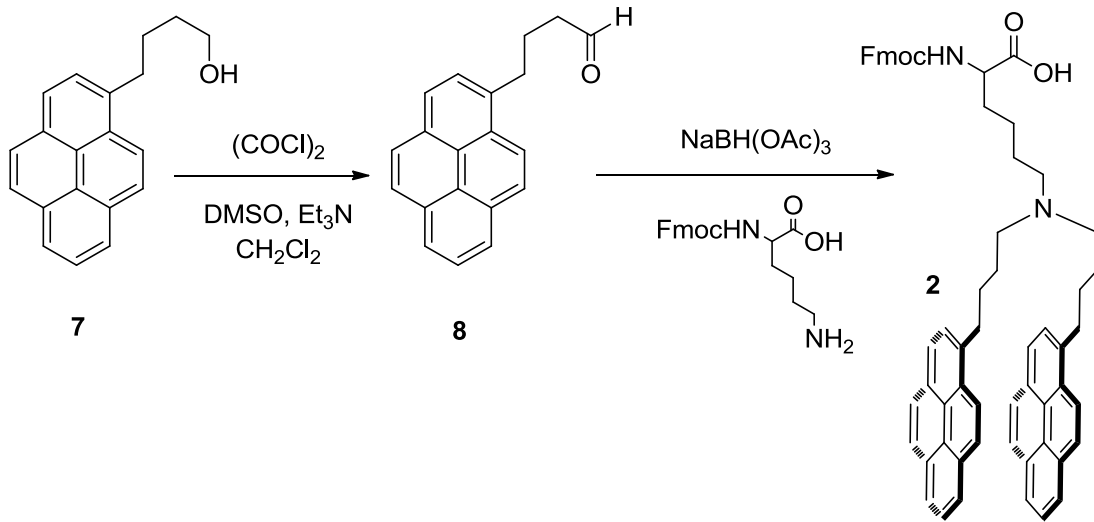
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.71-8.65 (m, 4H), 8.61 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.82 (dt, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.29 (ddd, *J* = 7.4, 4.8, 1.0 Hz, 2H), 5.84 (s, 1H), 4.12-4.00 (m, 4H)

12,8 mmol bileşik **11**, 26 mL kloroform (CHCl₃) içerisinde 5,9 mL TFA ile gece boyunca karıştırılarak aldehit koruma grubu uzaklaştırılmıştır. Tepkime sonrasında organik faz doymuş Na₂CO₃ çözeltisi ile yıkanmış, toplanan organik faz MgSO₄ ile kurutulup süzildükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmış

ve böylelikle bileşik **5**, başka bir saflaştırma işlemine gerek kalmadan yeterince saf bir şekilde elde edilmiştir.

3.1.3. Yapay amino asit 2'nin sentezi

Projede önerilen ikinci yapay amino asit olan ikli-piren türevi için de öncelikle ticari olarak alınan piren alkol türevi **7**, Swern yükseltgenmesi ile aldehit türevine (**8**) dönüştürüldükten sonra indirgeyici aminleme tepkimesine sokulmuştur. İlk olarak denenen klasik yöntem bu türevde de işe yaramamasına karşın, diğer sentez için yapılan önce tekli ve ardından ikili aminleme ürününün eldesi yöntemi bu türev için tamamen başarılı olmuştur ve iki-piren türevi amino asit, tekli aminleme ürünü kalmadan başarı ile sentezlenmiştir (Şekil 14) ve $^1\text{H-NMR}$ ve HRMS ile karakterize edilmiştir (Şekil 15 ve Şekil 16):



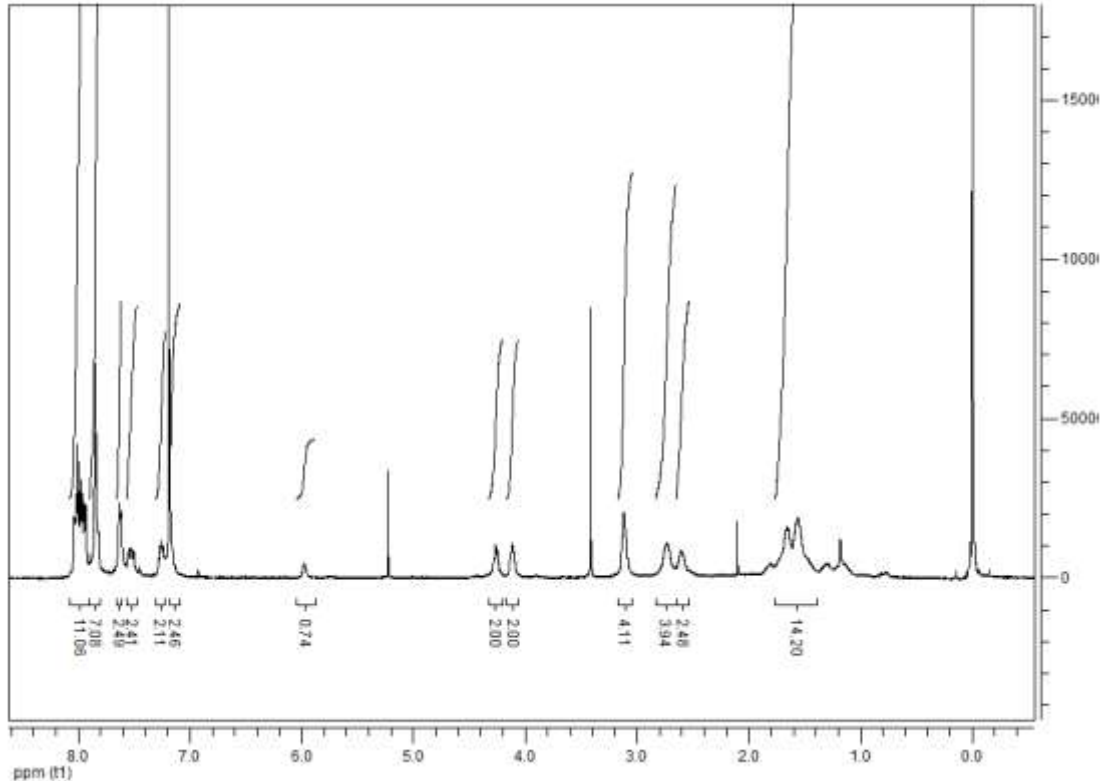
Şekil 14. İkili-piren türevi yapay amino asit sentezi.

Deney prosedürü: 0,452 mL okzalil klorür 9,8 mL kuru DCM içerisinde $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 'a soğutulmuştur. Üzerine 1,0 mL kuru DMSO ve 1,5 mL kuru DCM karışımı eklenerek 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra yukarıda miktarları belirtilen DMSO/DCM karışımı tekrar hazırlanarak içerisinde 1,0 gr bileşik **7** çözülmüştür. Hazırlanan çözelti damla damla $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 'daki karışımın üzerine eklenerek 40 dakika karıştırılmıştır. Sonrasında 2,53 mL trietil amin (Et_3N) eklenerek oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmıştır. Tepkime sonrasında organik faz saf su ile ekstrakte edilip, toplanan organik faz doymuş Na_2CO_3 çözeltisi ile yıkanmış, MgSO_4 ile kurutulup süzildükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisi kullanılarak bileşik **8** saflaştırılmıştır (mobil faz: DCM : Hekzan - 1:1)

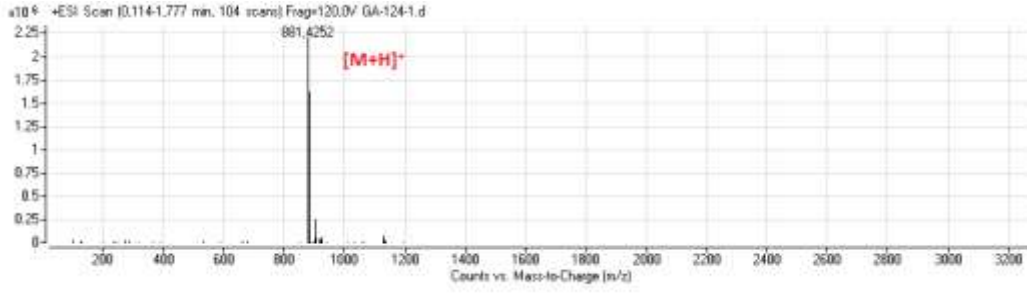
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ppm 9.74 (t, 1H), 8.23 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 8.11 (dd, $J = 7.6, 3.6$ Hz, 2H), 8.06 (dd, $J = 8.5, 3.7$ Hz, 2H), 7.97 (s, 2H), 7.95-7.91 (m, 1H), 7.79 (d, 1H), 3.36-3.30 (t, 2H), 2.52 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.14 (quint., 3H)

68 mg bileşik **8** (0,25 mmol), 92 mg Fmoc-L-Lysine-OH (0,25 mmol) ile 4,5 mL kuru 1,2-DCE içerisinde gece boyunca imin oluşumu için karıştırılmıştır. Daha sonra 0 °C'lık buz banyosu içerisinde 63 mg $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0,31 mmol) eklenmiş ve oda sıcaklığında bir gece karışmaya bırakılmış ve böylelikle tek-aminleme ürününün oluşumu sağlanmıştır. Daha sonra ortama tekrardan 0 °C'lık buz banyosu içerisinde 63 mg $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ eklenmiş ve oda sıcaklığında bir gece daha karışmaya bırakılmıştır. Tepkime sonrasında organik faz saf su ile ekstrakte edilmiş, toplanan organik faz doygun NaCl çözeltisi ile de yıkanıp MgSO_4 ile kurutulup süzöldükten sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Elde edilen bileşik **2** kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılmıştır (mobil faz: MeOH:DCM – 1:12)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.99-7.92 (m,11H), 7.84 (m, 5H), 7.63 (m, 2H), 7.61 (m, 2H), 7.52 (dd, 2H), 7.25 (m, 2H), 7.18 (m, 2H), 6.03-5.93 (bs, 1H), 4.31-4.20 (m, 2H), 4.12 (m, 2H), 3.11 (m, 4H), 2.72 (m, 4H), 2.64-2.53 (m, 2H), 1.89-1.35 (m, 14H)



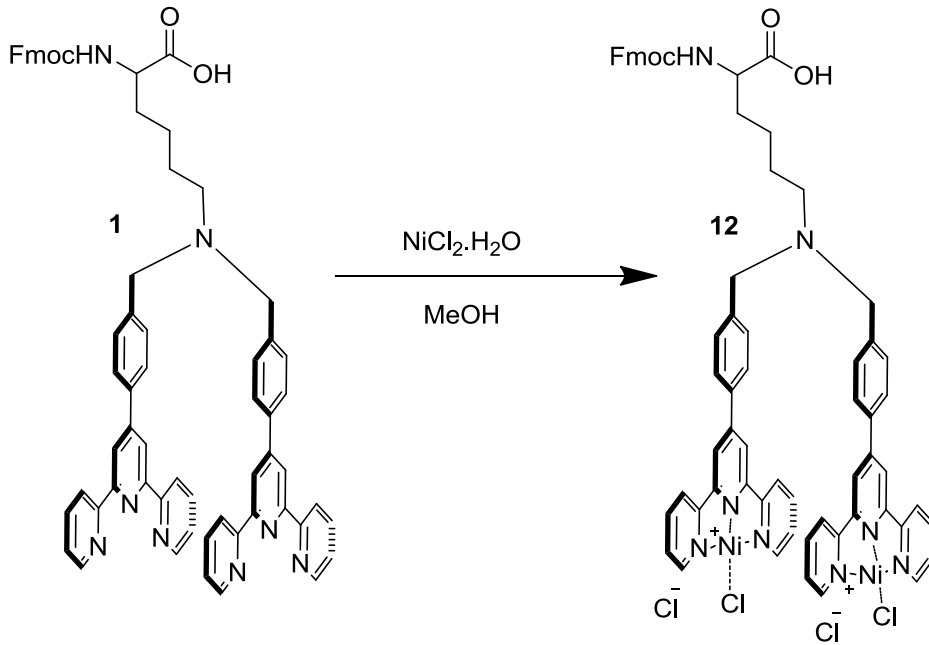
Şekil 15. İkili-piren lizin türevi yapay amino asit 2'e ait ^1H -NMR spektrumu.



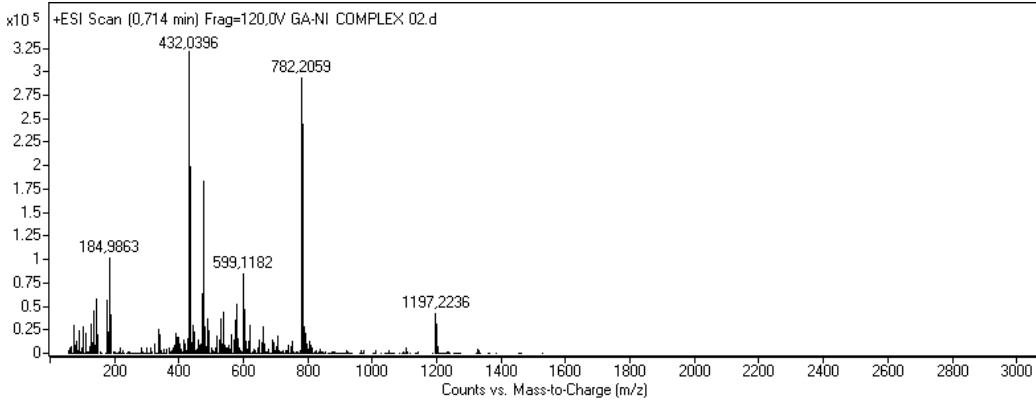
Şekil 16. İkili-piren lizin türevi yapa amino asit 2'in HRMS sonuçları (Negatif Modlu). Beklenen kütle değeri = 880,42.

3.1.4. Ni²⁺-yapay amino asit 1 kompleksi sentezi

Yapay amino asit 1 kullanılarak literatürdeki yöntem⁷ baz alınarak molekülün Ni²⁺ kompleksi (Şekil 17) sentezlenmiştir. Ni²⁺'nin yapay amino asit 1'e koordine olduğu MS-TOF ile ispatlanmıştır (Şekil 18).



Şekil 17. Ni²⁺ ile yapay amino asit 1'in koordinasyonu.



Şekil 18. MS TOF kütle analiz sonucu. Beklenen kütle = 1197. Moleküler iyon pikine ek olarak +2 ve +3 yüklenmiş moleküler pikleri de net bir şekilde görülmektedir.

Deney Prosedürü: 505 mg bileşik **1** (0,5 mmol) ve 247,2 mg NiCl₂.6H₂O 25 mL metil alkol içerisinde geri soğutucu altında 12 saat ısıtılmıştır ve çözeltinin yeşil renge döndüğü gözlemlenmiştir. Tepkime sonrasında çözelti filtre kağıdından süzülerek çözünmeyen safsızlıklar uzaklaştırılmış ve çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır.

Yapay amino asitlerin sentezlenmesinin ardından, bu amino asitlerin kullanıldığı ve hidrojel ve nanotüp oluşturan peptitlerin sentezi aşamasına geçilmiştir.

3.2. Peptit Sentezi

3.2.1. Katı Faz Peptit Sentez yöntemi

Peptit sentezi için katı faz peptit sentezi yöntemi kullanılmıştır. Prof. Robert B. Merrifield tarafından geliştirilen bu metod güvenilir ve verimli bir yöntemdir (Merrifield, 1963; Merrifield, 1995; Kent, 2009). Katı faz peptit sentezi polimerik reçineye bağlı amino asitin serbest amin grubunun sırasıyla amino asitlerle tepkimesi sonucunda gerçekleşir. Sentez bittiğinde reçine ve koruyucu gruplar kırılır ve HPLC ile saflaştırılması gerçekleştirilir. Katı faz peptit sentezi iki farklı stratejiyle yapılabilir. Bu yöntemler amino asitin amin grubunun Fmoc veya Boc gruplarıyla korulu olmasına göre değişmektedir. Fmoc kimyası Boc kimyasına göre daha güvenlidir çünkü Boc kimyasında koruyucu grupları kırmak için saf HF kullanmak gerekmektedir. Bunun için de özel ekipmanlara ihtiyaç duyulur. Fakat, Boc kimyasınında Fmoc kimyası üzerinde bazı avantajları vardır. Örneğin, Boc kimyası kullanılarak peptit sentezi 4 kat daha hızlı olmaktadır. Ayrıca Fmoc

kimyasında 20'nin üzerinde amino asit kullanılarak sentezlenen peptitler Boc kimyasında olduğu kadar saf değildir. Ancak, bu projede sentezlenmesi planlanan peptit dizilimleri 20'den daha az amino asit içerdiğinden böyle bir problemle karşılaşılmayacaktır. Kolaylık ve güvenilirliğinden dolayı peptit sentezi için Fmoc kimyası tercih edilmiştir.

Katı faz peptit sentezinde, her bir tepkime, peptit reaktörü adı verilen küçük, kolon benzeri süzme sistemi kullanılarak gerçekleştirilir. Sentez için peptit zincirinin üzerinde oluşabileceği delikli yapıya sahip küçük taneciklerden oluşan polimerik reçine kullanılır. Amino asitlerin fonksiyonel grupları kovalent bağlarla bu taneciklere bağlanır ve bir reagent kullanılarak kırılana kadar da reçineye bağlı kalırlar. Sentez sırasında peptit reçine üzerinde devinimsiz kılınırken, sıvı fazdaki reaktifler ve yan ürünler süzme yöntemiyle kolaylıkla uzaklaştırılırlar. Katı faz peptit sentezi, birbiri arkasına tekrarlanan amino asitlerin birbirine bağlanma ve korunmuş grupları serbest hale getirme işlemlerinden oluşur. İki amino asitin birbirine bağlanma basamağında polimerik maddeye bağlı bulunan peptit zinciri korunmuş amino asit türevidir. Reçineye bağlı peptidin serbest N ucu ile N ucu korunmuş amino asitin C ucu tepkimeye girerek birleşir. Bu basamaktan sonra bir sonraki amino asitin bağlanabilmesi için korunmuş N ucunun kırılma basamağı yer alır. Tüm bu basamaklar ardarda tamamlandıktan sonra trifloro asetik asit kullanılarak yan grupların korumalarıyla birlikte peptit de reçineden kırılarak ham halini alır ve ters-faz HPLC yöntemi ile saflaştırılır (Şekil 19).



Şekil 19. Katı faz peptit sentez döngüsü.

Bu projede de tüm peptitler katı-faz peptit sentezi yöntemi ile Fmoc stratejisi ile elde edilmiştir. C ucu karboksilik asit olarak bulunan peptitler için 2-klorotritil



reçinesi, amit fonksiyonlu olanlar ise Rink amit reçinesi kullanılarak sentezlenmiştir. (Amit fonksiyonlu peptit dizilimlerinin sonunda $-NH_2$ ile belirtilmiştir.)

Genel Peptit Sentez Prosedürü ve Karakterizasyonu: 0,1 mmol peptit sentezinde kenetlenme tepkimelerinin katı fazda gerçekleşmesini sağlayacak polimerik reçine üzerindeki Fmoc koruma grubu öncelikle 10 mL %20 piperidin (DMF içerisinde) çözeltisi içerisinde 10 dakika bekletilir. Bu işlem iki kere gerçekleştirilir. Peptit reaktörünün içerisindeki piperidin çözeltisi vakum yardımıyla uzaklaştırılıp, reçine ~100 mL DMF ile yıkanır. Bu işlemin ardından kenetlenmesi istenilen amino asitten 5,5 kat (0,55 mmol) 20 mL'lik bir cam kap içerisine tartılarak 0,5 mM HBTU (DMF içerisinde) kenetlenme ajanı içerisinde çözülür. Ardından 200 μ L diisopropil etil amin (DIEA) çözelti üzerine eklenerek 30 saniye boyunca aktive edilir. Daha sonra pastör pipet yardımıyla peptit sentezi reaktörü içerisindeki polimerik reçine üzerine eklenir. 40 dakika boyunca kenetlenme tepkimesi gerçekleşir ve daha sonra DMF ile yıkanarak reçine temizlenir. Bir sonraki amino asit kenetlenmesi için reçineye son takılan amino asitin amin grubuna bağlı Fmoc koruması yukarıda bahsedildiği şekilde uzaklaştırılır ve ikinci kenetlenme tepkimesi gerçekleştirilir. Sentezlenen yapay amino asitler için 3 kat kullanılarak 3 saat boyunca kenetlenme tepkimesi gerçekleştirilir. Bu işlemler ardarda gerçekleştirilip istenilen peptit zinciri sentezlendikten sonra reçine DCM ile yıkanıp kurutulur. Sonra %95 TFA, %2,5 triisopropil silan (TIPS) ve %2,5 milli-Q su karışımı reçine üzerine eklenir ve 1 saat boyunca bekletilir. Sıvı kısımda toplanan peptit vakum altında derişik hale getirilip soğuk dietil eter ile çöktürülür.

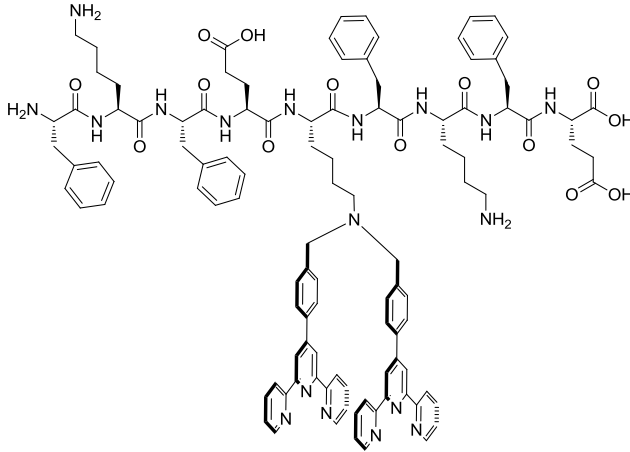
Peptit sentezinde, amino asitler teker teker ilave edildiği ve hangi amino asitlerin bulunduğu bilindiği için, peptit karakterizasyonunda, LC-MS ölçümlerinde peptitin farklı yüklerdeki moleküler iyon pikinin gözlemlenmesi, o peptitin doğru sentezlendiğinin göstergesidir ve peptit ile ilgili yapılan tüm çalışmalarda da yapılan karakterizasyon yöntemi budur. Ters faz HPLC yöntemi ile de saflığı belirlenebilmektedir. LC-MS'in kromatografi kısmında ayrılan piklerin, ayrı ayrı kütle değerleri ölçülebilmekte ve böylece hangi pikin hangi kütleye sahip olduğu anlaşılabilenmekte ve bu sayede hangi pikin izole edilmesi gerektiği görülmektedir.

3.2.2. Peptitlerin karakterizasyonu ve saflaştırılması

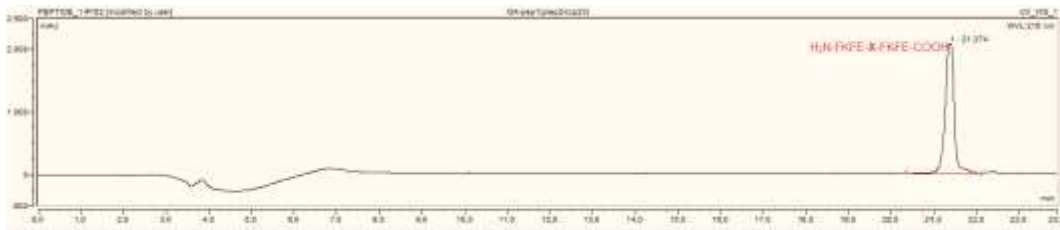
Peptitlerin karakterizasyonu ve saflığı ise ters faz HPLC (Dionex Ultimate 3000) ve LC-MS (Agilent 1200/6210) cihazları ile ölçülmüştür. Akışkan fazda %0,1 TFA içeren H₂O ve %0,08 TFA içeren CH₃CN kullanılarak, ters faz C-18 (Hypersil Gold, 150 x 4.6 mm, 3 µm) ve C-8 (Hypersil Gold, 150 x 2.1 mm, 5 µm) kolonlar ile 40 °C'de 210, 280 ve 330 nm'deki absorbans değerleri takip edilerek ölçülmüştür. Her peptit analizinde kullanılan eğimli akış yöntemi peptitlerin kromatogramlarının altında belirtilmiştir. Kütle ölçümleri ise TOF yöntemi ile ölçüm yapan bir LC-MS cihazında (Agilent 1200/6210) alınmıştır. Saflaştırma işlemlerinde ise C-18 yarı-preperatif HPLC kolonu (Hypersil Gold, 250 x 10 mm, 5 µm) kullanılmıştır.

3.2.3. FKFE-X-FKFE peptidinin sentezi

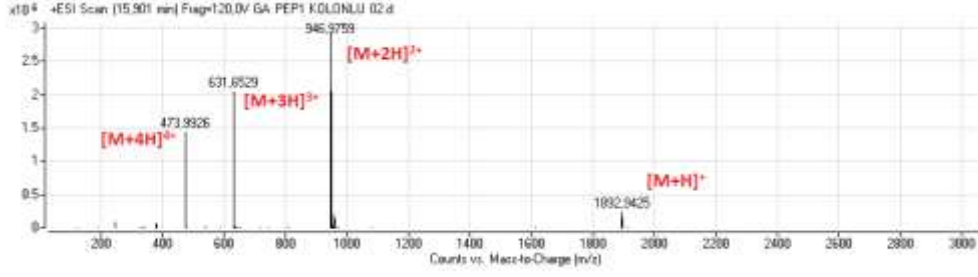
İlk olarak sentezlenmesi hedeflenen FKFE-X-FKFE (X = 1 numaralı yapay amino asit) sentezi başarı ile tamamlanmış (Şekil 20) ve ters faz HPLC ile saflaştırılmıştır (Şekil 21) ve ardından LC-MS TOF ile kütle analizi yapılmıştır (Şekil 22).



Şekil 20. FKFE-X-FKFE peptit diziliminin moleküler yapısı.



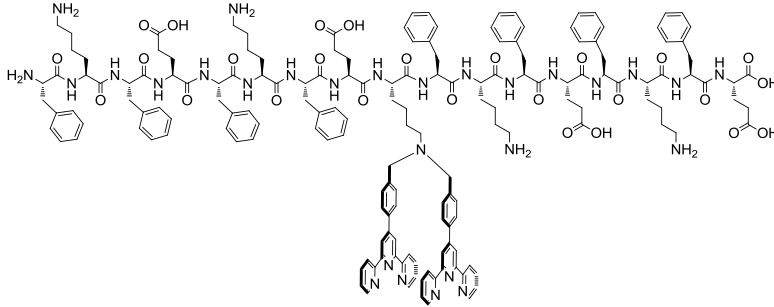
Şekil 21. FKFE-X-FKFE (X=1 numaralı yapay amino asit)'nin sentezlenip saflaştırıldıktan sonraki HPLC kromatogramı (210 nm).



Şekil 22. LC-MS TOF kütle analiz sonucu. Beklenen kütle = 1892. Moleküler iyon pikine ek olarak +2, +3 ve +4 yüklenmiş moleküler pikleri de net bir şekilde görülmektedir.

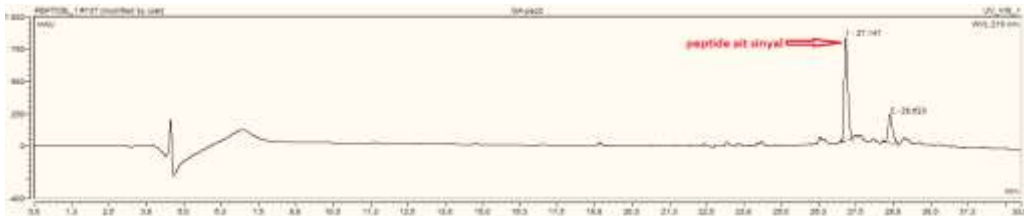
3.2.4. FKFEFKFE-X-FKFEFKFE peptidinin sentezi.

Sentezlenen bir diğer peptit ise FKFEFKFE-X-FKFEFKFE'dir (Şekil 23).

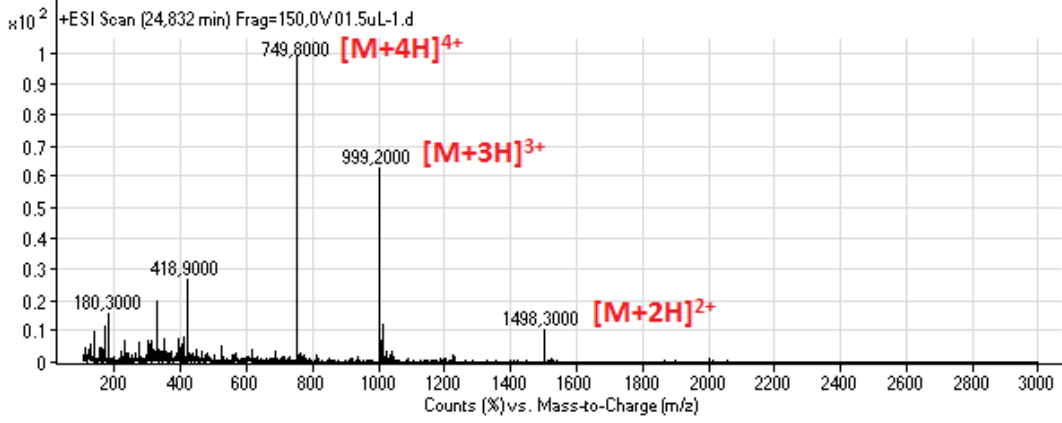


Şekil 23. FKFEFKFE-X-FKFEFKFE peptit dizilimin moleküler yapısı.

Bu peptidin de karakterizasyonu ters faz HPLC ve LC-MS kullanılarak, yukarıda bahsedilen yöntemlerle yapılmıştır (Şekil 24 ve Şekil 25). HPLC'de yaklaşık 27. dakikadaki büyük pikin istenilen peptit olduğu LC-MS ile doğrulanmıştır.

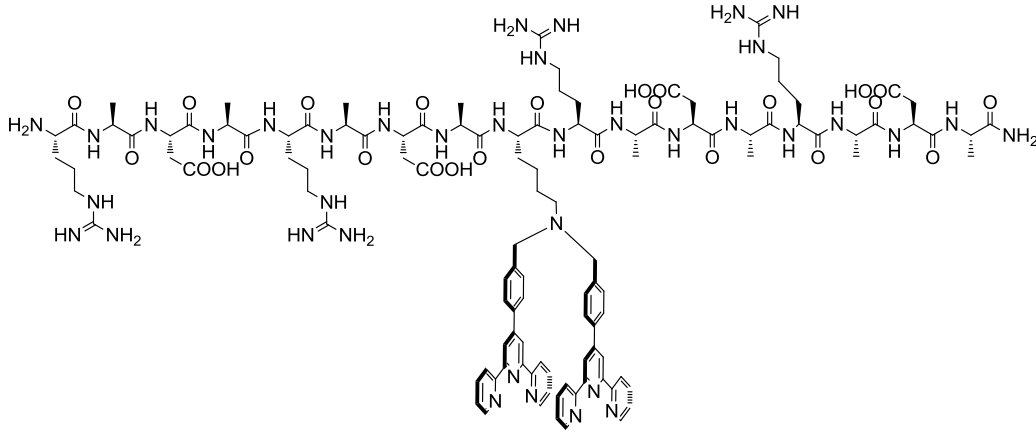


Şekil 24. FKFEFKFE-X-FKFEFKFE (X=1 numaralı yapay amino asit)'nin sentezlenip saflaştırıldıktan sonraki HPLC kromatogramı (210 nm).



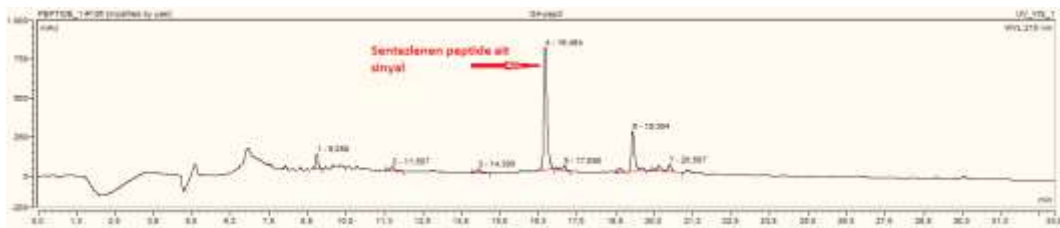
Şekil 25. Ham haldeki FKFEFKFE-X-FKFEFKFE (X = 1 numaralı amino asit) peptidin HPLC kromatogramı (210 nm) ve LC-MS’de karşılık gelen kütle değeri. Beklenen kütle = 2995. Gözlemlenen kütleler +2 ve +3 ve +4 yüklü iyonlara karşılık gelmektedir. Bazen büyük kütlelerin görünmesi daha zor olmaktadır ve bu nedenle farklı yükteki moleküler iyon piklerinin görülmektedir.

3.2.5. RADARADA-X-RADARADA peptinin sentezi

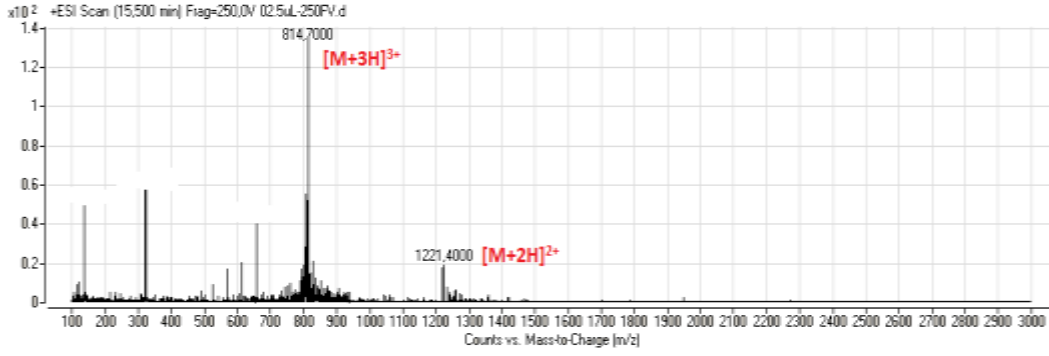


Şekil 26. RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptit diziliminin moleküler yapısı.

Sentezlenen bir diğer peptit olan RADARADA-X-RADARADA-NH₂'ye (Şekil 26) ait ters faz HPLC ve LC-MS sonuçları da aşağıda verilmektedir (Şekil 27 ve Şekil 28). Burada da 16-17 dakika aralığında gelen büyük sinyalin istenilen peptide ait olduğu LC-MS ile doğrulanmıştır.



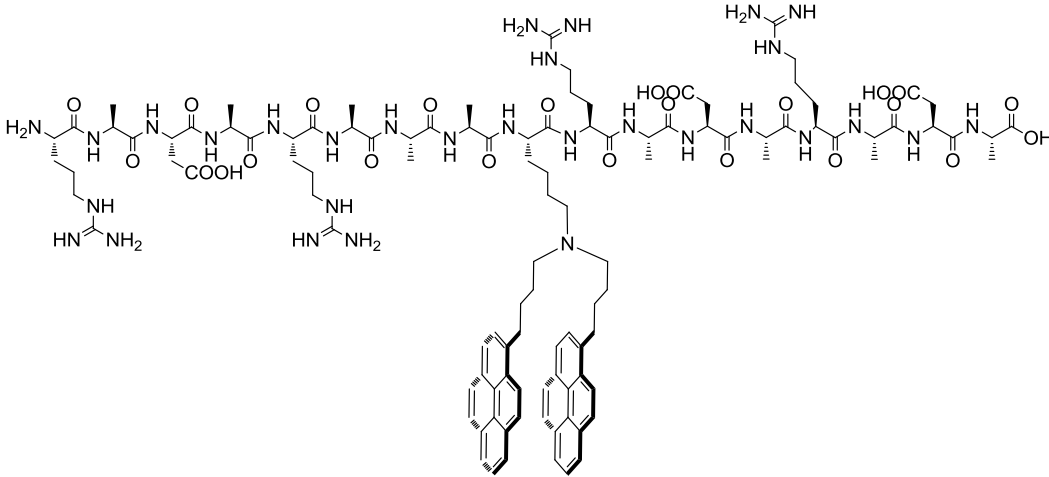
Şekil 27. RADARADA-X-RADARADA-NH₂ (X=1 numaralı yapay amino asit)'nin sentezlendikten sonraki ham halinin HPLC kromatogramı (210 nm).



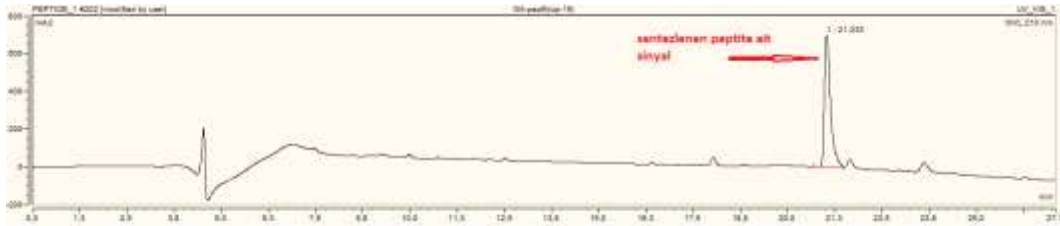
Şekil 28. LC-MS TOF kütle analiz sonucu. Beklenen kütle = 2441. Gözlemlenen kütleler +2 ve +3 yüklü moleküler iyonlara karışıklık gelmektedir.

3.2.6. RADARADA-Y-RADARADA peptinin sentezi

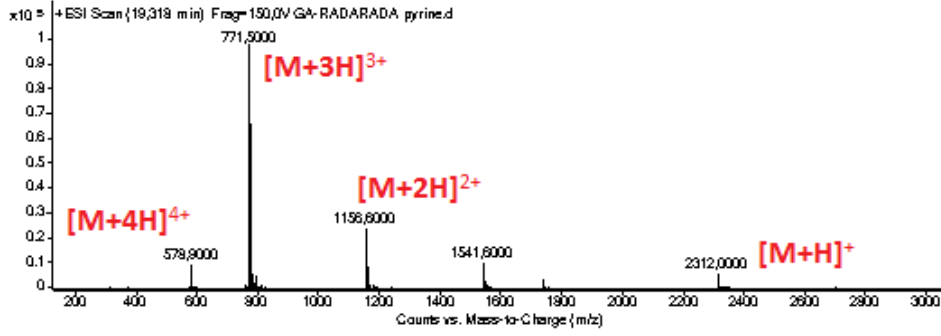
Ayrıca, 2 numaralı yapay amino asit ile de RADARADA-Y-RADARADA peptit sentezlenmiştir (Şekil 29) ve saflaştırılması ve karakterizasyonu ters faz HPLC ve LC-MS ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 30 ve Şekil 31). Ters faz HPLC’de 21. dakikada gelen ana sinyalin istenilen peptit olduğu LC-MS ile doğrulanmaktadır.



Şekil 29. RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ (Y=2 numaralı yapay amino asit) peptit diziliminin moleküler yapısı.



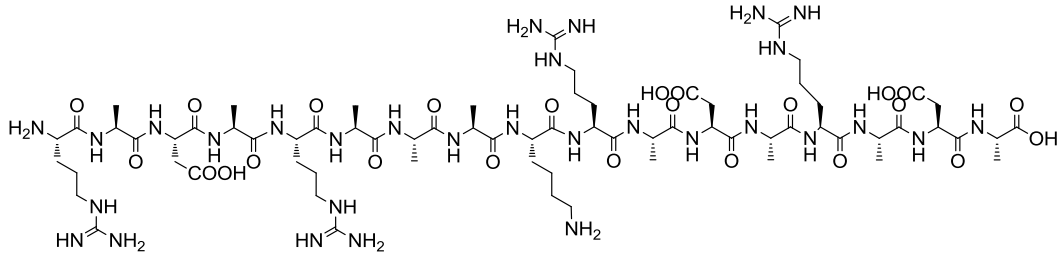
Şekil 30. RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ (Y=2 numaralı yapay amino asit)'nin sentezlenip saflaştırıldıktan sonraki HPLC kromatogramı (210 nm).



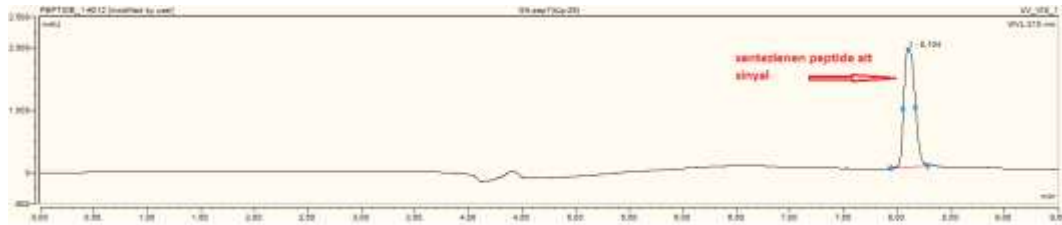
Şekil 31. Sentezlenen RADARADA-Y-RADARADA peptidinin kütle spektrumu. Beklenen kütle = 2311. Moleküler iyon pikine ek olarak +2, +3 ve +4 yüklü moleküler iyon pikler de gözlemlenmiştir.

3.2.7. RADARADA-K-RADARADA peptidinin sentezi

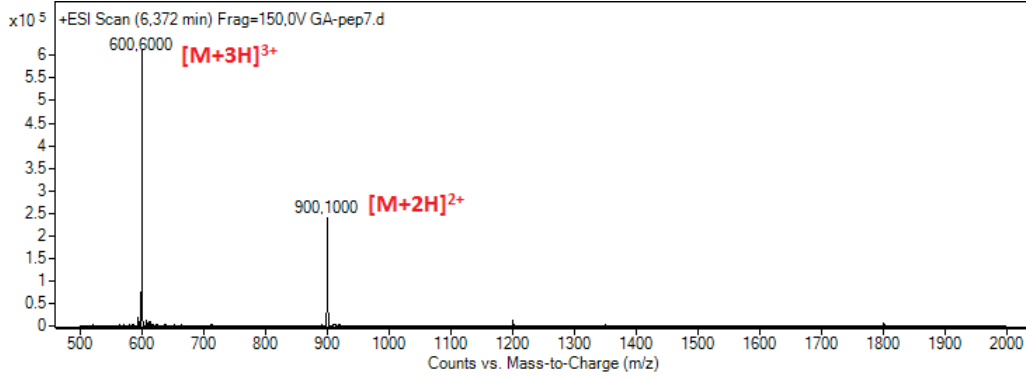
İlk ara rapor değerlendirilmesinde hakem hocamızın önerisi üzere yapay olan amino asitlerin doğala göre etkisinin analiz edilebilmesi için dizilim olarak aynı olan fakat sadece üzerinde yapay amino asit bulunmayan RADARADA-K-RADARADA peptidinin (Şekil 32) sentezi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Ters-faz HPLC ile de saflaştırılıp, LC-MS ile analiz edilmiştir. (Şekil 33 ve Şekil 34).



Şekil 32. RADARADA-K-RADARADA-NH₂ peptid diziliminin moleküler yapısı.



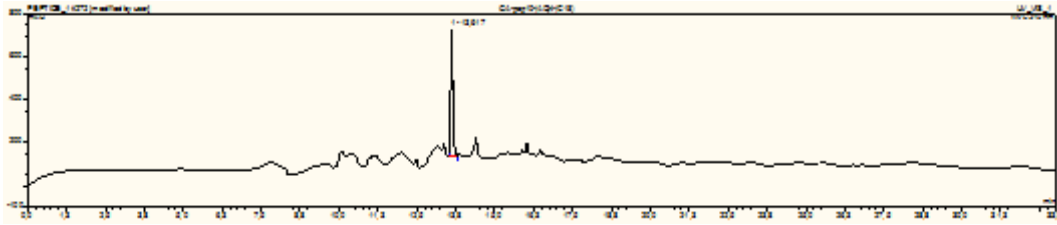
Şekil 33. RADARADA-K-RADARADA-NH₂'nin sentezlenip saflaştırıldıktan sonraki HPLC kromatogramı (210 nm).



Şekil 34. RADARADA-K-RADARADA peptidinin kütle spektrumu. Beklenen kütle= 1799 g/mol. Gözlemlenen +2 ve +3 yüklü moleküler iyon pikleridir.

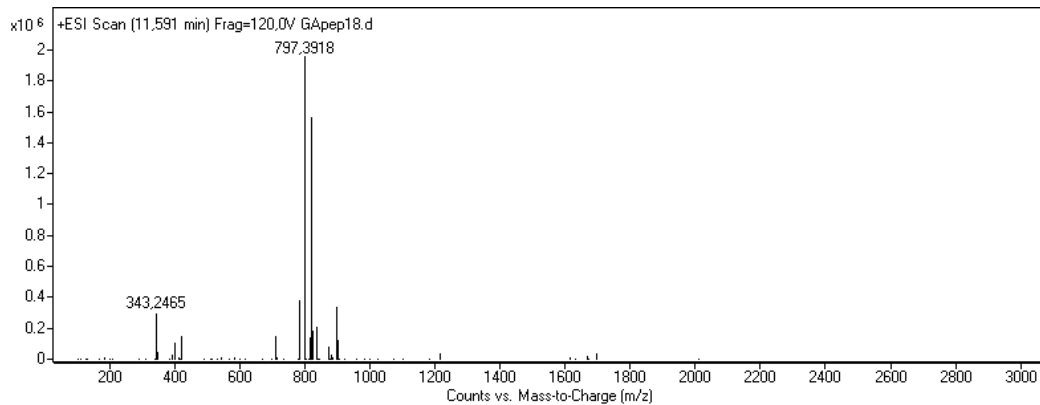
3.2.8. Halkalı (QA)₄'ün sentezi

Öncelikle yukarıda olan peptitlerde olduğu gibi katı faz peptit sentezi yöntemi kullanılarak düz (QA)₄ sentezi gerçekleştirilmiştir. Peptide ait HPLC kromatogramı (Şekil 35) aşağıdaki gibidir.



Şekil 35. Düz (QA)₄'ün sentezlendikten sonraki HPLC kromatogramı (210 nm).

Sonrasında ise peptit literatürde bilinen yöntem (Hartgerink vd., 1996) kullanılarak sıvı fazda halkalaştırılmış ve soğuk dietil eter kullanılarak çöktürülüp saflaşması sağlanmıştır. Peptidin halkalaştığını doğrulayan LC-MS analizi (Şekil 36) aşağıdaki gibidir.

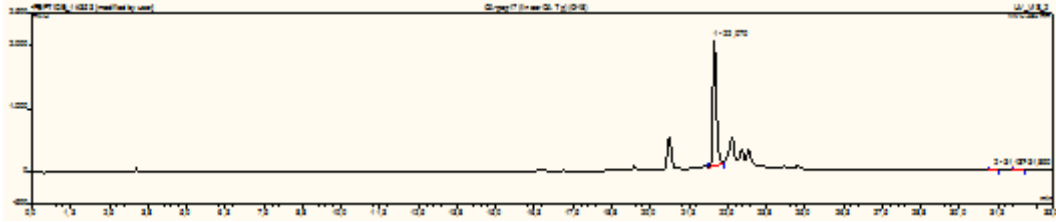


Şekil 36. Halkalı (QA)₄ peptidinin kütle spektrumu. Beklenen kütle= 797 g/mol. Gözlemlenen +2 ve +Na moleküler iyon pikleridir.

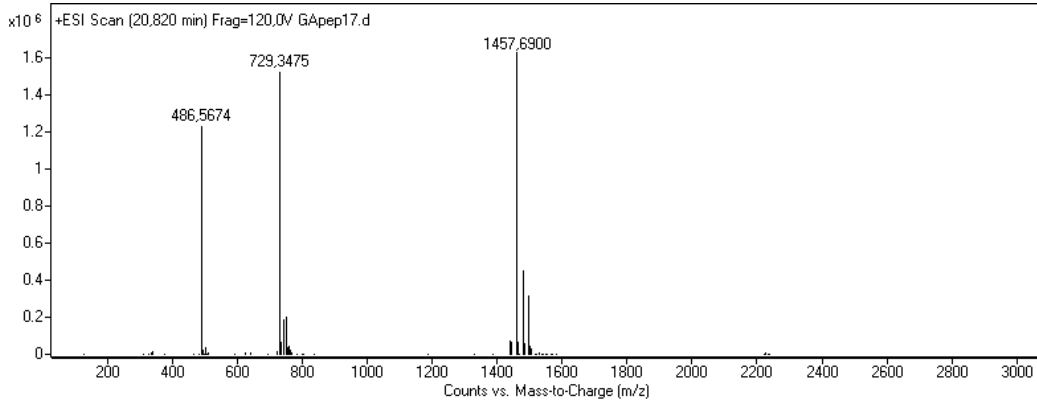
Deney Prosedürü: 43,9 mg düz (QA)₄ (47,2 µmol) 65 mL DMF içerisinde çözülür. 74,2 mg pyAOP kenetlenme ajanı (143,3 µmol) ve 50,6 µL Et₃N (286,6 µmol) sırasıyla eklenir. Tepkime sonrasında DMF vakum altında uzaklaştırılır ve peptit soğuk dietil eter ile iyice yıkanır.

3.2.9. Halkalı QAQA-X-AQA sentezi

Yukarıda bahsedilmiş olan yöntem kullanılarak öncelikle düz zincir QAQA-X-AQA sentezi gerçekleştirilmiştir. Peptide ait HPLC kromatogramı (Şekil 37) ve LC-MS analizi (Şekil 38) aşağıdaki gibidir.

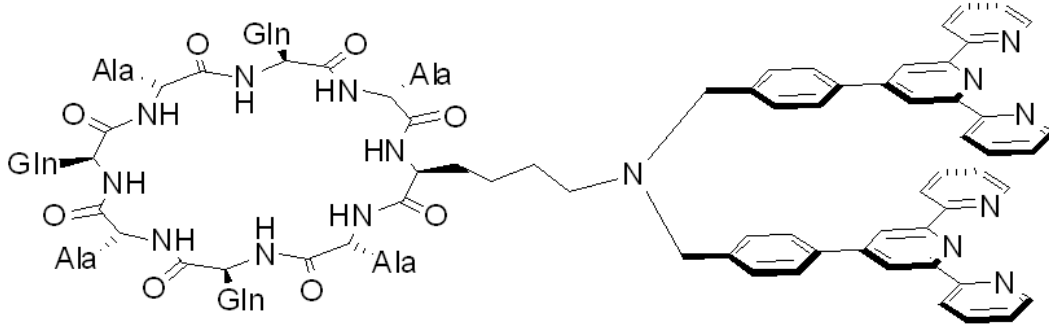


Şekil 37. Düz QAQA-X-AQA'ün sentezlendikten sonraki HPLC kromatogramı (280 nm).

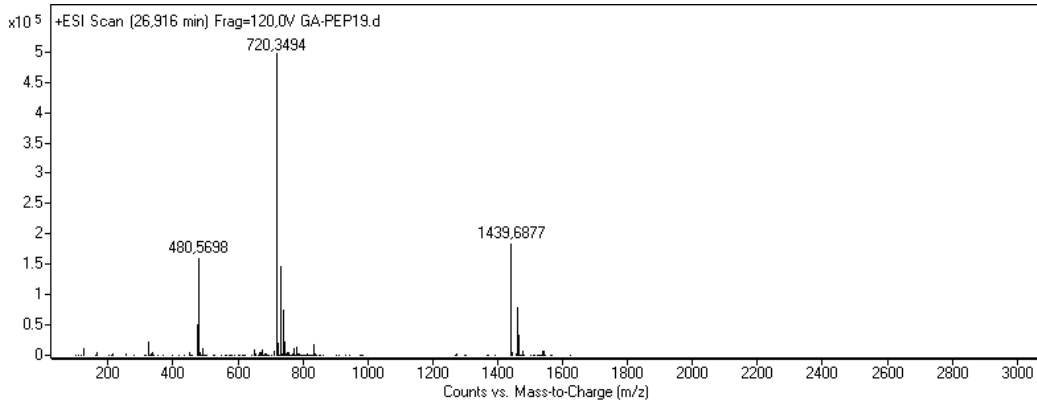


Şekil 38. Düz QAQA-X-AQA peptidinin kütle spektrumu. Beklenen kütle= 1457 g/mol. Gözlemlenen +2, +3 ve moleküler iyon pikleridir.

Yine yukarıda bahsedildiği üzere halkalı QAQA-X-AQA peptidi (Şekil 39) sentezlenmiştir. Peptidin halkalaştığını doğrulayan LC-MS analizi (Şekil 40) aşağıdaki gibidir.



Şekil 39. Halkalı QAQA-X-AQA peptitinin moleküler yapısı.



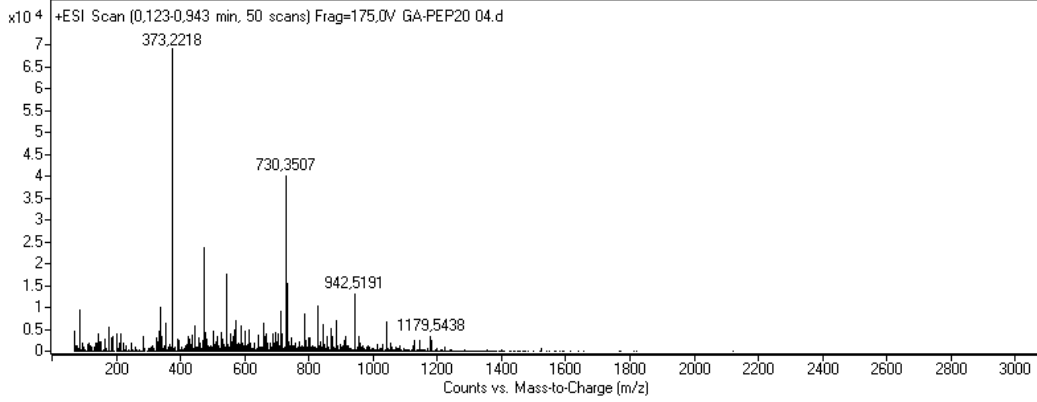
Şekil 40. Halkalı QAQA-X-AQA peptitinin kütle spektrumu. Beklenen kütle= 1439 g/mol. Gözlemlenen +2, +3 ve moleküler iyon pikleridir.

Deney Prosedürü: 30 mg düz (QA)₄ (13,2 µmol) 18,2 mL DMF içerisinde çözülür. 20,7 mg pyAOP kenetlenme reagenti (40 µmol) ve 14,2 µL NEt₃ (80,2 µmol) sırasıyla eklenir. Tepkime sonrasında DMF vakum altında uzaklaştırılır ve peptit soğuk dietil eter ile iyice yıkanır.

3.2.10. RADARADA-Z-RADARADA-NH₂ peptitinin sentezi

Projede sentezlenmesi planlanan bir diğer peptit dizilimi ise ortasında Ni²⁺ kompleksi bis-terpiridin lizin türevi yapay amino asit içeren RADARADA-Z-RADARADA-NH₂ (Z= 12 numaralı yapay amino asit) dizilimiydi. Bu dizilimin sentezinde diğer tüm peptitlerde kullanılan standard katı faz peptit sentezi yöntemi ile sentezlenmeye çabalanmıştır. Fakat, Ni²⁺ ile koordine edilmiş yapay amino asitin DMF içerisindeki çok düşük çözünürlüğü kenetlenme tepkimesinin tam gerçekleşmemesine sebep olmuştur. Ayrıca sentez sonrasında polimerik reçineden kırma işlemi esnasında kullanılması gereken %95 TFA içeren kırma

kokteylinin yapay amino asit takılsa dahi bu işlem esnasında terpiridin gruplarına koordine olan Ni^{2+} iyonlarının molekülden ayrılıp terpiridin üzerindeki azot gruplarının protonlanacağı farkedilmiştir. Literatürdeki sentez yöntemi de bunu doğrulamaktadır (Vairaprakash vd., 2011). Sentezlenmeye çalışılan peptidin olmadığını gösteren LC-MS analizi (Şekil 41) aşağıdaki gibidir.



Şekil 41. Elde edilen peptitin kütle spektrumu. Beklenen kütle= 2628 g/mol, görülmemiştir.

Bu sebeplerden dolayı alternatif bir yöntem izlenerek Ni^{2+} daha önceden sentezlenen RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptiti ile jelleşme esnasında koordine edilmeye karar verilmiştir.

3.2.11. Peptit Hidrojel Hazırlama

Hazırlanması istenilen derişimlerde peptitler 1,5 mL'lik cam tüpler içerisinde milli-Q su veya 20 mM pH 7,5 Tris.HCl tampon çözeltisinde çözülmüştür. Tüp ultrasonik banyo içerisinde 15 dakika tutulduktan sonra oda sıcaklığında 1 saat bekletildiğinde hidrojel oluşumu gözlemlenmiştir.

3.2.12. Peptit Nanotüp Hazırlama

Elde edilen halkalı peptitlerden 1,5 mL ependorf tüplere 10'ar mg alınıp 1 mL TFA içerisinde çözülmüştür. İçerisinde peptit çözeltisi bulunan ependorf tüpler ağzı açık bir şekilde içi milli-Q su dolu 40 mL'lik beherlerde yüzdürülmüştür. Oda sıcaklığında 72 saat bekletilen tüplerin içerisinde nanokristal oluşumu gözlemlenmiştir.



3.2.13. CD ölçümleri için numune hazırlama

Bu çalışmada yapılan CD ölçümlerinde hazırlanmış bulunan peptit hidrojeller her birini ~0.2 mM olacak şekilde milli-Q su ile seyreltilmiştir. Işık yolu 1 mm olan 300 µL'lik küvetler kullanılmıştır.

3.2.14. TEM analizi için numune hazırlanması

TEM analizleri için tampon çözelti içerisindeki %4'lük peptit hidrojeller 1:50 oranında milli-Q su ile seyreltilmişlerdir. Seyreltilen örnekler bakır TEM gridler (400 mesh karbon film kaplı bakır grid) üzerine damlatılıp 5 dakika bekletilmiştir. Ardından yüzeydeki fazla çözelti bir filtre kağıdı yardımı ile uzaklaştırılıp, yüzey %2'lik uranil asetat çözeltisi ile boyanmıştır. Bu işlemin ardından 2 dakika daha bekletilmiş ve boyanın fazlası yine filtre kağıdı yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Boya kalıntılarının mikroskop altında görüntü almamızı engelleme olasılığından dolayı grid iki kez milli-Q su ile yıkanmıştır ve bir gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Ölçümler FEI marka Tecnai G² Spirit Biotwin model cihaz kullanılarak yapılmıştır.

3.2.15. FT-IR ATR ölçümleri

FT-IR ölçümleri Thermo Scientific Nicolet iS10 ile yapılmıştır. Hidrojel ölçümlerinde peptit yüzeye damlatılarak kurumaya bırakılmıştır ve ölçüm yapılmıştır. Peptit nanotüpler de ise kristallerin su içerisinde süspansiyonu yapılip yüzeye damlatılmış, 1 kaç dakika bekledikten sonra suyun fazlası filtre kağıdı yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Yüzeyin iyice kristallerle kaplanabilmesi için bu işlem bir kaç kez üst üste tekrarlanarak ardından IR ölçümü alınmıştır.

3.2.16. 4-nokta kontak cihazı ile iletkenlik ölçümleri

4-nokta kontak cihazı ile yapılan ölçümler cam bir yüzey üzerine damlatılan 1 mm kalınlığındaki jel ve çözeltilerle yapılmıştır. Hesaplamalarda

$$\rho = R \times A/l$$

formülü kullanılmıştır. Bu formülde, ρ : direnç, R: cihazdan okunan direnç değeri, A: kesit alanı, l: elektrotlar arası mesafe olarak verilmektedir.



Kesit alanı ise küresel olarak hazırlanan örneklerin çapları ile kalınlığının çarpılması ile hesaplanabilmektedir ve bu şekilde formül şu hale gelmektedir:

$$\rho = R \times d \times t / l$$

Burada d, örneğin çapı, t ise kalınlığıdır. Kullanılan cihazdaki elektrotlar arası mesafe 0,127 cm'dir. Örnekler de yaklaşık 0,1 cm kalınlığında ve 0,7 cm çapında hazırlanmıştır.

Buradan elde edilen direnç değerleri ise iletkenlik ile direnç ters orantılı olduğu için şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\text{İletkenlik} = 1 / \rho$$

Ölçü birimleri cm cinsinden kullanıldığında iletkenlikle S/cm cinsinden bulunmaktadır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Hidrojel Eldesi ve Karakterizasyonu

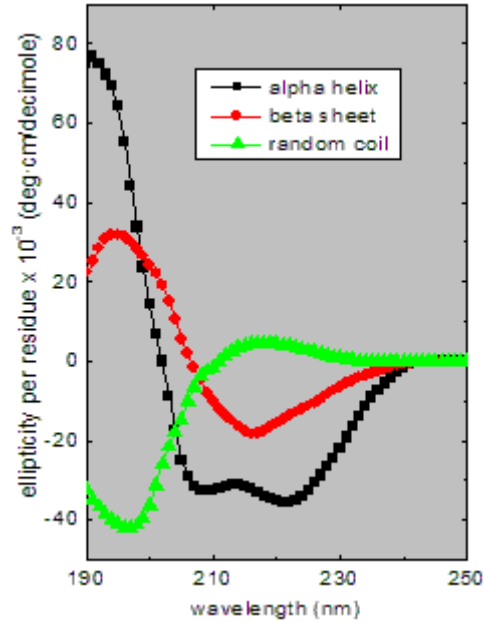
4.1.1. FKFE-X-FKFE peptiti ile hidrojel eldesi

Peptitlerinde saflaştırılıp, liyofilize edildikten sonra beyaz katı olarak elde edilen peptitlerle hidrojel eldesi çalışmaları yapılmıştır. Öncelikle ilk olarak sentezlenen peptit olan FKFE-X-FKFE'nin %1 (3,3 mM), %2 (6,6 mM) ve %3'lük (9,9 mM) çözeltileri hazırlanmıştır. Bunun için 1, 2 ve 3 mg peptitler 1,5 mL'lik cam tüp içerisine tartılıp, üzerlerine 100 µL milli-Q su ilave edilip çözülmüştür. 50 mM NaCl derişimine sahip olacak şekilde 4 M NaCl çözeltisinden ilave edilmiştir. İlave edilen hacmin çok küçük olmasından dolayı, peptitlerin son derişimlerinin değişmediği varsayılmıştır. Bu şekilde elde edilen çözeltilerin zayıf jel özellik gösterdiği gözlemlenmiştir.. Sadece %3'lük olan peptit çözeltisi görsel olarak jel kıvamına yaklaşmış olmasına rağmen yine de oldukça çözeltiliye yakın bir görünüme sahiptir. Ayrıca %3'lük (9,9 mM) derişim, hidrojel oluşturmak için derişik bir çözeltilidir. Halbuki literatürde FKFEFKFE diziliminin bu prosedür ile hazırlanan 10 mM çözeltilerinin güçlü hidrojel oluşturabildiği bilinmektedir. Ancak, araya yerleştirilen yapay amino asit 1 nedeni ile bu peptit diziliminin beta-yaprak yapısı ile güçlü hidrojel oluşturamadığı düşünülmektedir. Bu nedenle kısa peptit olan FKFE-X-FKFE yerine uzun peptit olan RADARADA-X-RADARADA

sentezlenerek bununla hidrojel eldesi çalışmaları devam edilmesine karar verilmiştir.

4.1.2. RADARADA-X-RADARADA peptiti ile hidrojel eldesi

RADARADA-X-RADARADA peptitinden alınan 1 mg'ın 200 μ L milli-Q su içerisinde çözülüp, 5 dakika ultrasonik banyoda beklettikten sonra 45 dakika oda sıcaklığında bekletildiğinde, çözeltinin jel kıvamına geldiği gözlemlenmiştir. Bu şekilde %0,5'lik (1,3 mM) bir hidrojel elde edilmiştir. Bu jel çok güçlü bir jel görüntüsüne sahip olmamasına rağmen, jelin beta-yaprak üzerinden kendiliğinden yapılandığını göstermek için Circular Dichroism (CD) spektrumu alınmıştır. Proteinlerin ve peptitlerin beta-yaprak ve alfa heliks gibi ikincil yapılarının tayini için oldukça sık kullanılan bu spektrumlardan CD'de beklenen alfa-heliks ve beta-yaprak katlanmalarının sonucu olan spektrum aşağıdaki gibidir (Şekil 42):



Şekil 42. Protein ve peptitlerin katlanmalarına göre elde edilen CD spektrumları. http://www.ap-lab.com/circular_dichroism.htm adresinden alınmıştır.

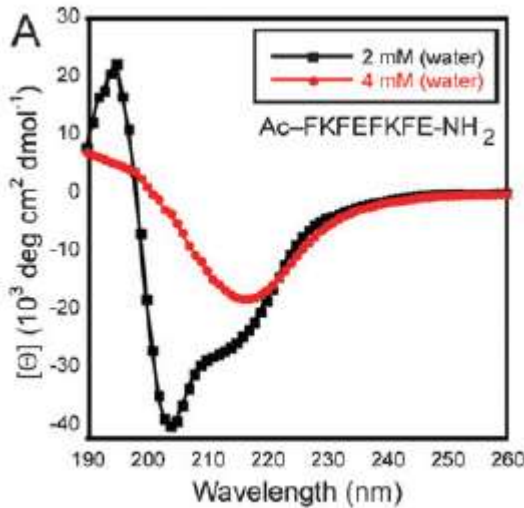
Ancak literatürde bilinen ve beta-yaprak katlanması yaparken aynı zamanda pi-pi istiflenmesi de gerçekleştiren peptitlerin beklenen beta-yaprak spektrumunda düşük dalga boyuna doğru bir kayma gözlemlenmektedir (Tovar, 2013). Bunun pi-pi etkileşmesinden kaynaklı olduğu bilinmektedir (Tovar, 2013). Bu nedenle RADARADA-X-RADARADA peptitin CD spektrumunda (Şekil 43) klasik beta-yaprak spektrumu elde edilirken bir yandan da 220 nm civarı olması beklenen

minimum, 200 nm civarına kaymıştır. Bu da hem beta-yaprak hem de pi-pi etkileşiminin olduğunu göstermiştir.



Şekil 43. Elde edilen RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptidinin CD spektrumu.

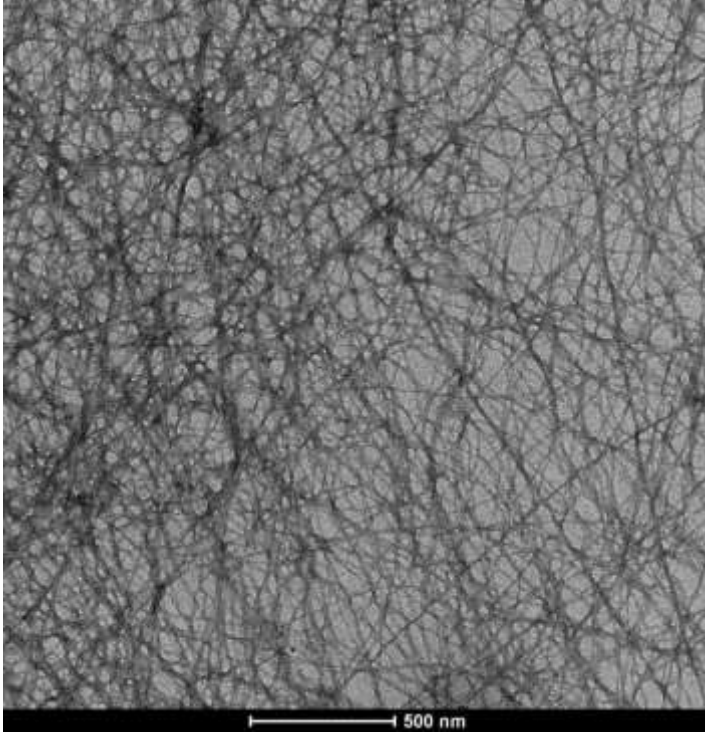
Bunu doğrulamak için Bowerman vd.'nin 2009 yılında yayınladıkları makalede beta yaprağı yapısına geçtiği iyi bilinen FKFEFKFE dizilimindeki peptidin CD spektrumundaki, ikinci bir pikin (204 nm) varlığının pi-pi etkileşimi nedeni ile gerçekleştiği, 215 nm'deki küçük pikin de beta-yaprağı nedeni ile olduğu aynı makalede ifade edilmektedir ve bu peptidin CD spektrumu ile bizim elde ettiğimiz RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptidinin CD spektrumlarını karşılaştırdığımızda, 2 mM derişimindeki peptit ile elde edilen CD spektrum ile oldukça benzer olduğu, bizim elde ettiğimiz peptidin 224 nm'de küçük bir pik yaparken, 199 nm'de büyük bir minimum pik yapıp, 192 nm'de de bir maksimum pik yaptığı görülmektedir (Şekil 44).



Şekil 44. Beta yaprağı yapısında bulunduğu iyi bilinen FKFEFKFE peptidinin literatürdeki CD spektrumu.

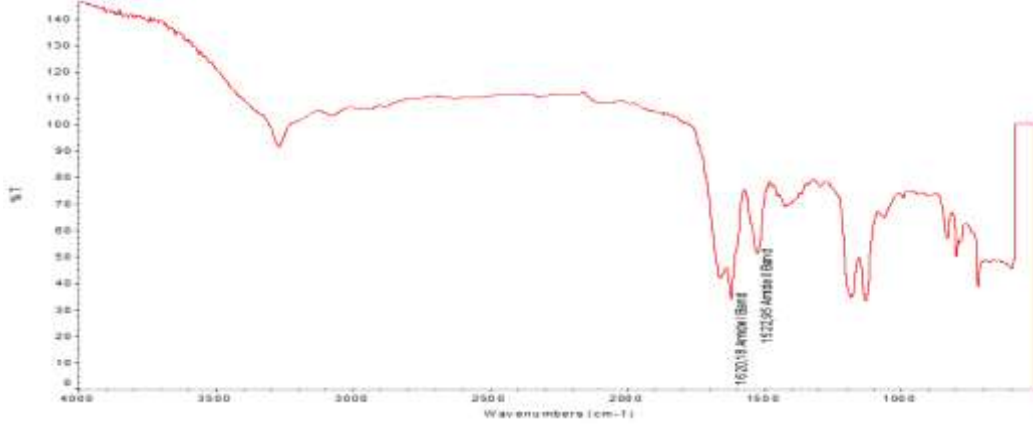
Daha da güçlü peptit hidrojel elde etmek için çözeltilerin pH'larının değiştirilmesine karar verilmiştir. Şimdiye kadar hazırlanan hidrojeller tamponsuz olarak sadece milli-Q su içerisinde çözünerek hazırlanmıştır ve peptitlerin HPLC ardından liyofilize edilmiş hallerinin TFA tuzu halinde olduklarından, bu çözeltiler nisbeten asidiktir ve yaklaşık pH değerleri 2,5-3,0 civarındadır. Ancak literatürde (RADA)₄ peptitlerinin daha yüksek pH'larda daha iyi hidrojel oluşturduğu bilinmektedir.

Bu sebeple RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptidinin %4'lik (10,5 mM), çözeltisi 20 mM pH 7,5'lik TRIS.HCl tamponu içerisinde hazırlanmıştır. Bu çözelti oldukça güçlü bir hidrojel oluşturmuştur. Bu hidrojelden hazırlanan örneklerin TEM görüntüsü (Şekil 45) alınarak, jel yapının kendiliğinden yapılanarak oluşan nano fiberlerden kaynaklı olduğu görülmüştür.



Şekil 45. Tampon çözelti içerisinde hazırlanan %4'lük RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptidinin *beta-yaprak* yapısını kanıtlayan TEM görüntüsü.

Ayrıca *beta-yaprak* yapısını doğrulamak için IR ölçümü FT-IR ATR cihazı ile alınmıştır ve şekil 46'daki spektrum elde edilmiştir.

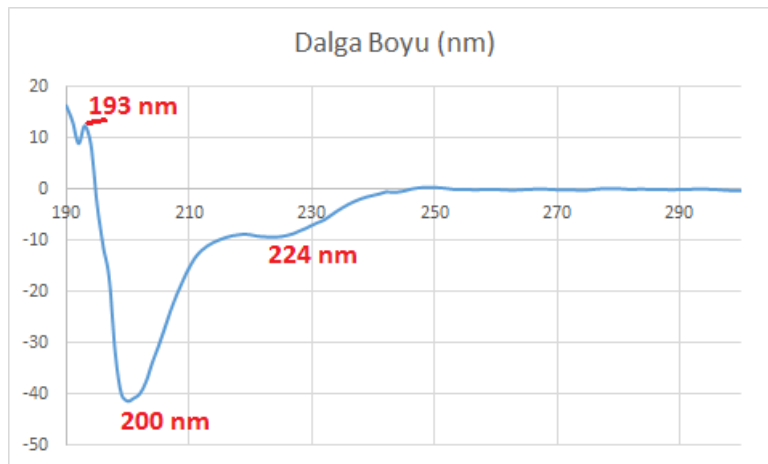


Şekil 46. Tampon çözelti içerisinde hazırlanan %4'lük RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptidinin *beta*-yaprak yapısını kanıtlayan FT-IR görüntüsü.

Ayrıca yapılan IR analizinde de normalde 1650-1690 cm⁻¹ civarında gelmesi beklenen amit karbonil sinyali, yine literatürde bilindiği üzere 1620-1630 cm⁻¹'e kaydığı gözlemlenmiştir (Arosia vd., 2012). Elde edilen spektrumda da amit I bandı 1620 cm⁻¹'de amit II bandı ise 1522 cm⁻¹'de gözlenmektedir. Bu da *beta*-yaprak yapısını doğrulayan ikinci bir analizdir.

4.1.3. RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ peptiti ile hidrojel eldesi

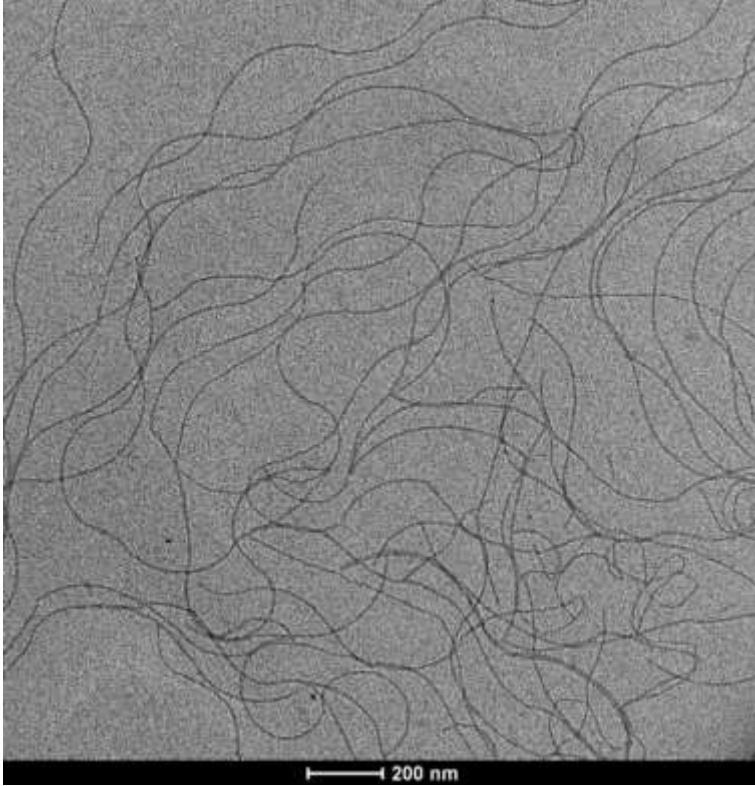
RADARADA-Y-RADARADA peptidinin %0,5 (1,7 mM) ve %1'lik (3,3 mM) çözeltileri milli-Q su içerisinde tamponsuz bir şekilde çözerek hazırlanmıştır. Elde edilen hidrojellerden %1'lik derişimde olanın CD spektrumu (Şekil 47) alınmıştır:



Şekil 47. Elde edilen RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ peptidinin CD spektrumu.

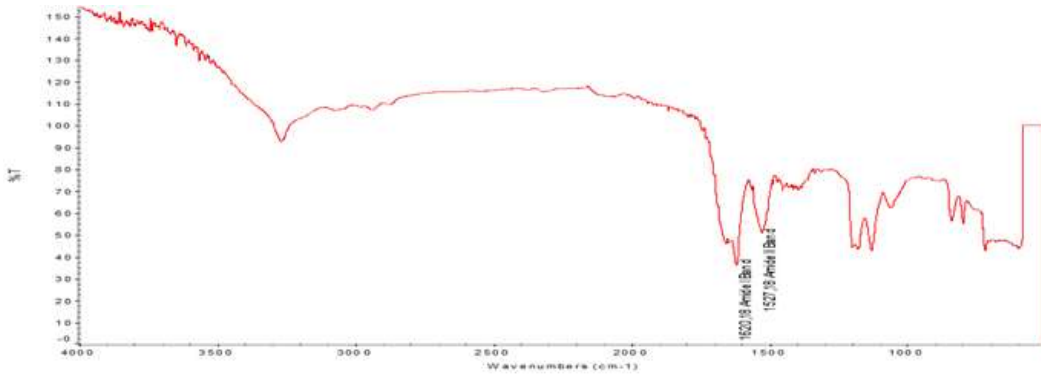
Yukarıdaki spektrumda da görüldüğü gibi RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptiti ile hemen hemen aynı bir spektrum elde edilmiştir ve *beta*-yaprak yapısı ile pi-pi etkileşiminin varlığı doğrulanmıştır.

Ayrıca RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ peptidinin %4'lük (13,2 mM) derişimde pH 7,5 20 mM TRIS.HCl tamponu içerisinde çözeltisi hazırlanmıştır ve güçlü bir hidrojel elde edilmiştir. Bu hidrojelden hazırlanan örneklerin TEM görüntüsü (Şekil 48) alınarak, jel yapının kendiliğinden yapılanarak oluşan nano fiberlerden kaynaklı olduğu görülmüştür.



Şekil 48. Tampon çözelti içerisinde hazırlanan %4'lük RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ peptidinin *beta-yaprak* yapısını kanıtlayan TEM görüntüsü.

Ayrıca *beta-yaprak* yapısını doğrulamak için IR ölçümü FT-IR ATR cihazı ile alınmıştır ve şekil 49'deki spektrum elde edilmiştir.

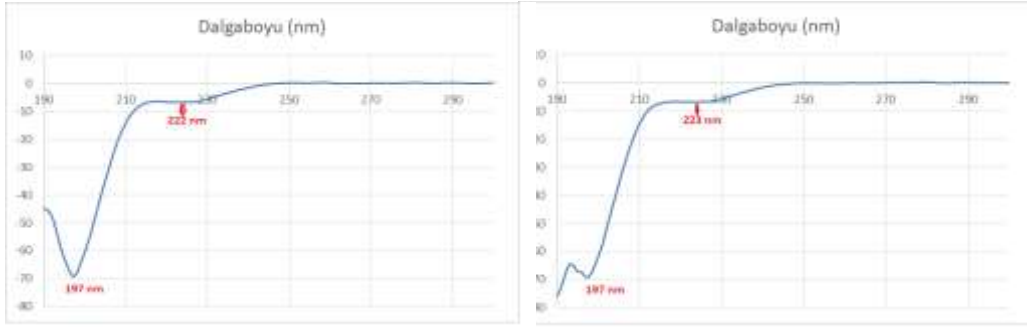


Şekil 49. Tampon çözelti içerisinde hazırlanan %4'lük RADARADA-Y-RADARADA-NH₂ peptidinin *beta-yaprak* yapısını kanıtlayan FT-IR görüntüsü.

Elde edilen spektrumda da amit I bandı 1620 cm^{-1} 'de amit II bandı ise 1527 cm^{-1} 'de gözlenmektedir. Bu da beta-sheet yapısını doğrulayan ikinci bir analizdir.

4.1.4. RADARADA-K-RADARADA-NH₂ peptiti ile hidrojel eldesi

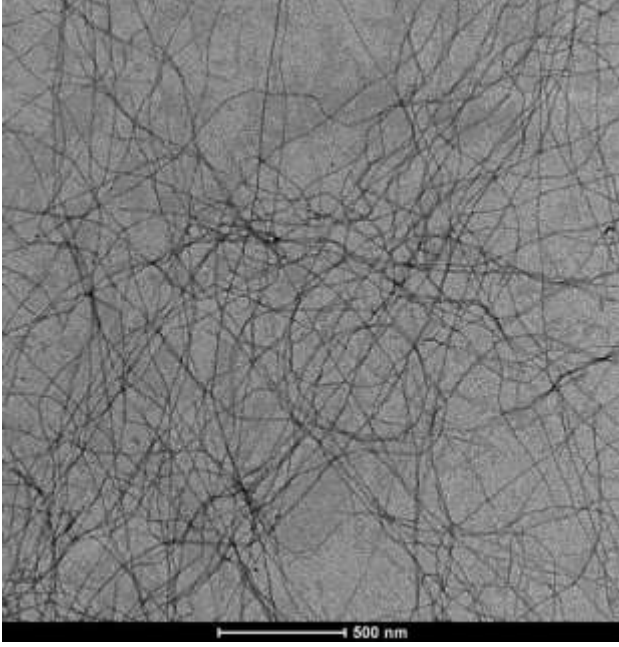
RADARADA-K-RADARADA-NH₂ peptitinin %0,5 (2,0 mM) ve %1'lik (4.0 mM) çözeltileri milli-Q su içerisinde tamponsuz bir şekilde çözerek hazırlanmıştır. Elde edilen hidrojellerin ikisinin de CD spektrumu (Şekil 50) alınmıştır:



Şekil 50. Sırasıyla %1 ve %0.5'lik RADARADA-K-RADARADA peptit hidrojellerin CD spektrumları.

Her iki CD spektrumunda da görüldüğü üzere aslında beta-yaprak yapısının yanısıra düzensiz sargı (*random coil*) yapısında olduğu görülmektedir. Şekil 42'deki referans CD spektrumu ile karşılaştırıldığında, düşük dalga boyunda pozitif maksimum yapmıyor oluşu düzensiz sargı yapısını göstermektedir. Ancak, 230 nm civarındaki negatif pik nedeni ile beta-yaprak yapısında da bulunduğunu göstermektedir. Zaten CD spektrumlarında %100 tek bir ikincil yapı değil, birden fazla ikincil yapıların karışık bir şekilde bulunması oldukça bilinen ve rastlanılan bir durumdur.

Ayrıca RADARADA-K-RADARADA-NH₂ peptitinin %4'lük (16 mM) derişimde pH 7,5 20 mM TRIS.HCl tamponu içerisinde çözeltisi hazırlanmıştır ve güçlü bir hidrojel elde edilmiştir. Bu hidrojelden hazırlanan örneklerin TEM görüntüsü (Şekil 47) alınarak, jel yapının kendiliğinden yapılanarak oluşan nano fiberlerden kaynaklı olduğu görülmüştür.



Şekil 51. Tampon çözelti içerisinde hazırlanan %4'lük RADARADA-K-RADARADA-NH₂ peptidinin *beta-yaprak* yapısını kanıtlayan TEM görüntüsü.

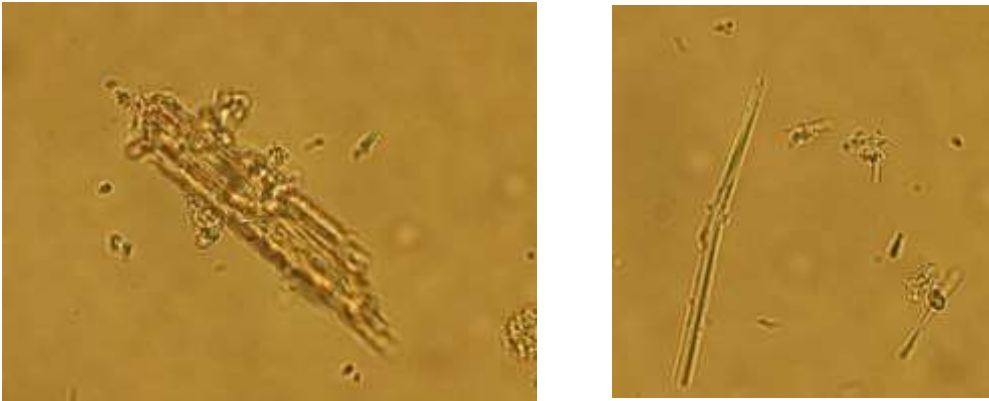
4.1.5. RADARADA-Z-RADARADA-NH₂ peptiti ile hidrojel eldesi

RADARADA-X-RADARADA-NH₂ peptitinden 2,4 mg alınarak, 21 mM NiCl₂'lü 20 mM TRIS.HCl pH 7.5 tamponu içerisinde çözünerek %4'lük (10,5 mM) hidrojel hazırlanmıştır. Oluşan bu hidrojel doğrudan iletkenlik ölçümlerinde kullanılmıştır.

4.2. Peptit Nanotüp Eldesi

4.2.1. Halkalı (QA)₄ Nanotüp eldesi

Halkalı (QA)₄ peptidinin 3.2.8'de verilen prosedür ile nanokristal yapısına dönüştürülmüştür. Bu elde edilen nano kristallerin, mikroskop görüntüleri (Şekil 52) alınarak peptitlerin kristal iğne görüntüsünde olduğu saptanmıştır.

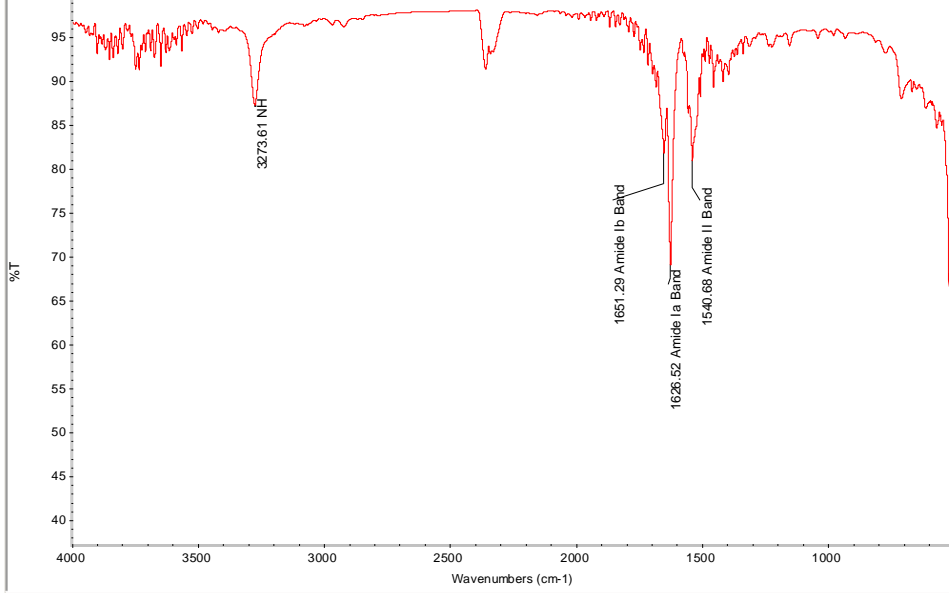


Şekil 52. Halkalı (QA)₄'ün optik mikroskop görüntüsü.

Bu görüntüler, literatürdeki halkalı (QA)₄ peptitinden elde edilen iğne şeklindeki nanotüp kristaller ile benzerlik taşımaktadır. Elde edilen nanotüp kristallerinin IR ölçümleri de alınabilmıştır ve aşağıdaki spektrum elde edilmiştir. Amit-1 ve 2 bantlarının ve NH bantlarının dalga sayıları literatür değerleri ile örtüşmektedir.

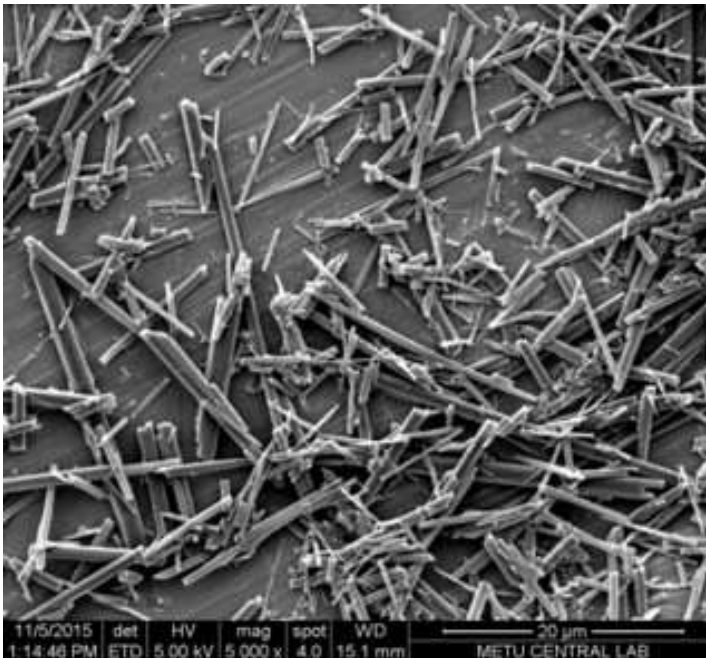
Halkalı (QA)₄ için literatürdeki ve ölçtüğümüz IR değerleri şu şekildedir:

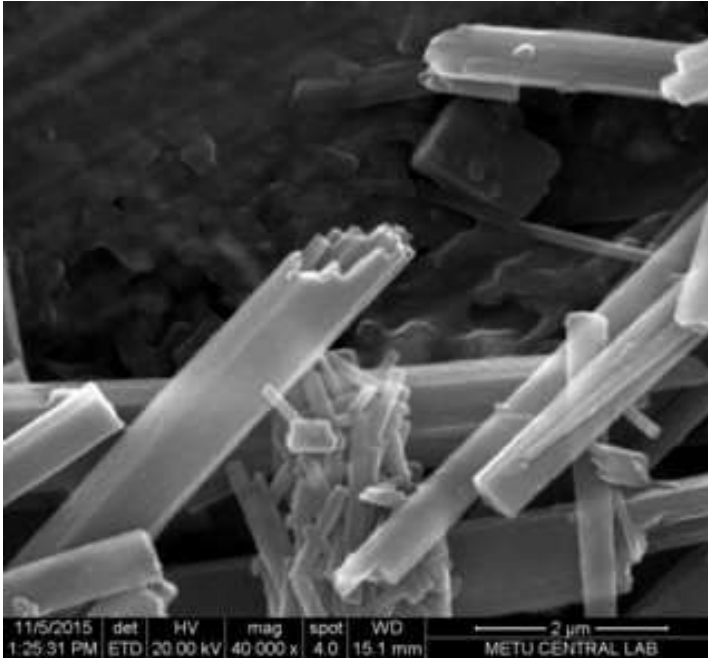
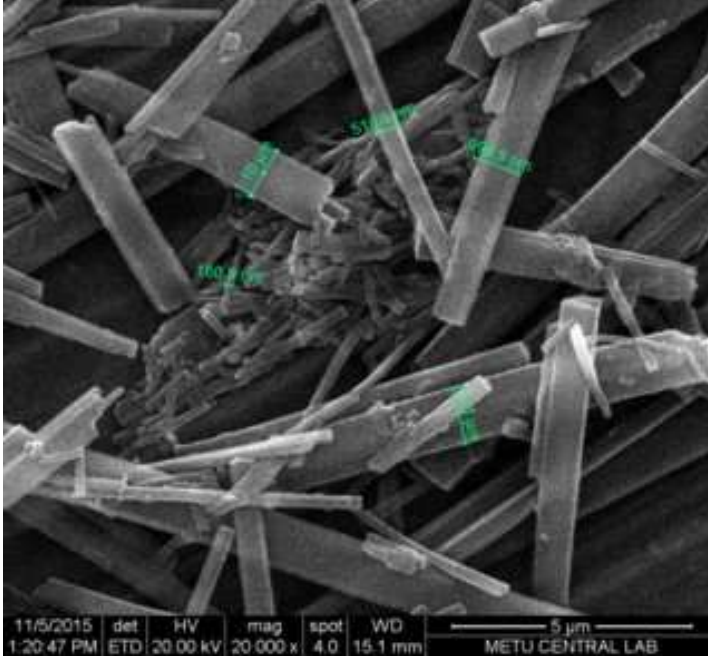
| | Amit-Ia | Amit -Ib | Amit-II | N-H |
|---------------------------|---------|----------|---------|------|
| Halkalı(QA) ₄ | 1630 | 1672 | 1549 | 3282 |
| Halkalı (QA) ₄ | 1627 | 1651 | 1541 | 3274 |



Şekil 53. Halkalı (QA)₄ 'ün FT-IR görüntüsü.

Ayrıca yapılan Taramalı Elektron Mikroskop (Scanning Electron Microscopy, SEM) ölçümleri ile nanotüplerin morfolojisi ve boyutları tesbit edilmiştir.





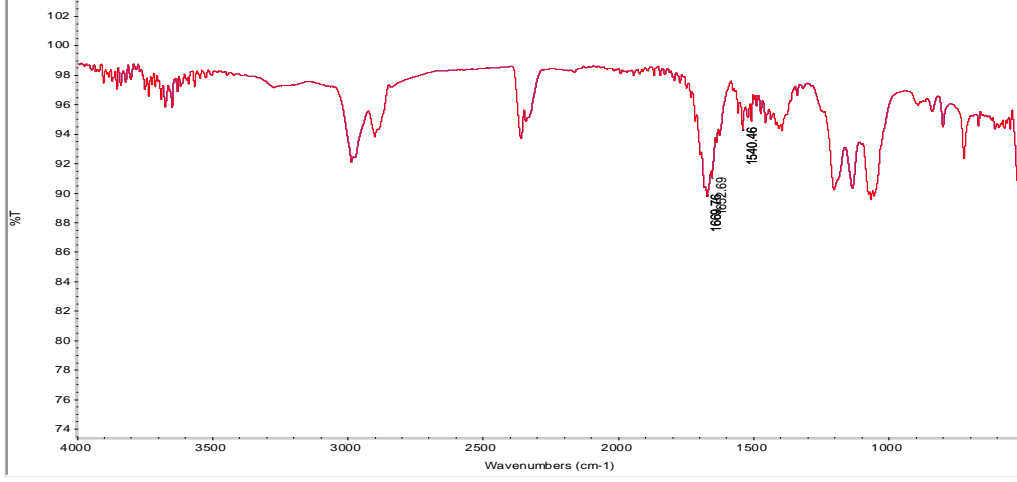
Şekil 54. Halkalı (QA)₄ peptidinin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.

Elde edilen bu SEM görüntülerinde (Şekil 54) kristallerin hem mikro hem de nanoboyutlarda olduğu görülmektedir. Mikrokristallerin kesik yerlerine detaylı olarak bakıldığında da (Şekil 54-3), daha küçük yapıdaki kristallerin bir araya gelmesinden oluştuğu, küçük parçaların 150-200 nm genişliğinde olduğu görülmektedir. Uzunluklarının da 1 ila 100 µm oldukları gözlemlenmiştir.

4.2.2. Halkalı QAQA-X-AQA Nanotüp Eldesi

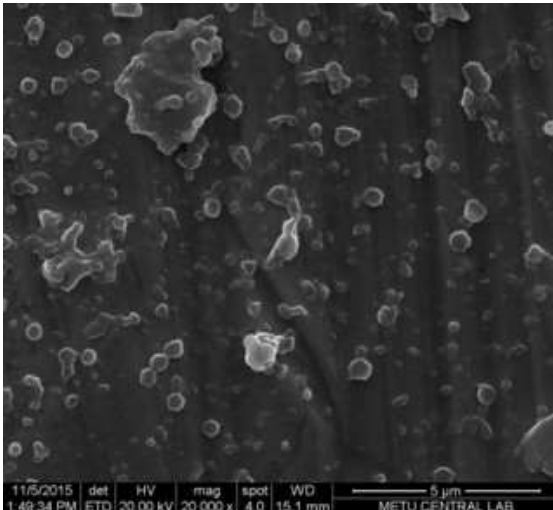
Halkalı QAQA-X-AQA peptiti, verilen prosedür ile nanotüp Kristal yapısına dönüştürülmüştür. Ancak elde edilen kristallerin çok çok az olması nedeni ile sadece IR ve iletkenlik ölçümleri alınabilmıştır.

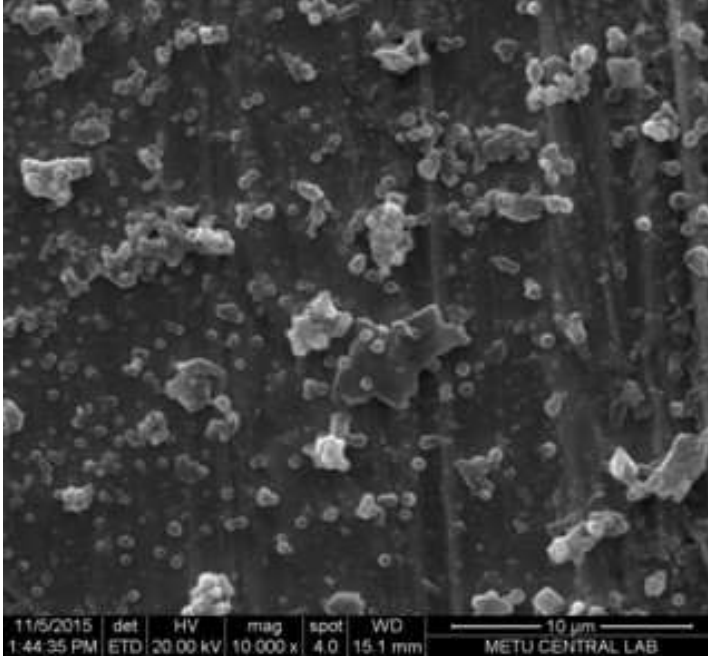
Elde edilen IR sonuçlarında net bir şekilde amit ve NH bantları gözlemlenememiştir. Kristal miktarının çok çok az olmasından kaynaklı olduğunu düşündüğümüz bu IR spektrumundan net bir sonuç alınamamıştır (Şekil 55).



Şekil 55. Halkalı QAQA-X-AQA peptitinin IR spektrumu.

Sonrasında aldığımız SEM görüntülerinde ise (Şekil 56) peptit nanotüplerin istenildiği boyutta ince uzun kristaller haline gelmediği, sadece küçük noktacıklar halinde kendiliğinden yapılandığı görülmüştür. Alınan uzman görüşlerine göre, bu durum, peptitlerin bir araya gelmeye başladığı fakat bir şekilde ortamda az bulduklarından dolayı, yeterince uzun şekilde kendiliğinden yapılanamadığı olarak bu görüntüler yorumlanabilir. Elde edilen peptit nanotüpün, görece olarak halkalı (QA)₄'e göre çok daha az olmasından dolayı, kristallerin uzun bir şekilde nanotüp oluşturacak şekilde oluşamadığı düşünülmektedir.





Şekil 56. Halkalı QAQA-X-AQA peptitinden elde edilen katıların SEM görüntüleri.

4.3. İletkenlik Ölçümleri

3.2.16'da detayları verilen yöntemle yapılan 4-nokta kontak iletkenlik ölçümleri sonucu aşağıdaki tabloda yer alan sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo1. 4-nokta kontak cihazı ile yapılan iletkenlik ölçümleri.

| | Hidrojel derişimi | Direnç (ohm.cm) | İletkenlik (S/cm) |
|--------------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| Milli-Q su | -- | $1,0 \times 10^6$ | $1,0 \times 10^{-6}$ |
| 20 mM pH 7,5 TRIS.HCl tamponu | -- | $0,5 \times 10^6$ | 2×10^{-6} |
| RADARADA-X-RADARADA | %1 (2,6 mM) | $0,013 \times 10^6$ | 77×10^{-6} |
| RADARADA-X-RADARADA | %2 (5,2 mM) | $0,012 \times 10^6$ | 83×10^{-6} |
| RADARADA-X-RADARADA | %3 (7,8 mM) | $0,0085 \times 10^6$ | 120×10^{-6} |
| RADARADA-X-RADARADA | %4(10,4 mM) | $0,003 \times 10^6$ | 330×10^{-6} |
| RADARADA-Y-RADARADA | %4 (13,2 mM) | $0,015 \times 10^6$ | 67×10^{-6} |

| | | | |
|---|--------------|--------------------|----------------------|
| RADARADA-K- RADARADA | %4 (16 mM) | $0,03 \times 10^6$ | 33×10^{-6} |
| 20 mM pH 7,5 TRIS.HCl tamponu + 21 mM NiCl₂ | -- | $0,3 \times 10^6$ | $3,3 \times 10^{-6}$ |
| RADARADA-Z- RADARADA | %4 (10,4 mM) | $0,01 \times 10^6$ | 100×10^{-6} |
| Halkalı (QA)₄ | -- | $0,7 \times 10^6$ | $1,4 \times 10^{-6}$ |
| Halkalı QAQA-X- AQA | -- | $0,03 \times 10^6$ | 33×10^{-6} |

Tabloda görüldüğü üzere, derişim arttıkça iletkenliğin de arttığı farklı yüzde derişimli terpiridinli peptit ölçümlerinde görülmektedir. Terpiridinli (RADARADA-X-RADARADA) peptit hidrojel, aynı yüzde derişimde bulunan terpiridin grubu içermeyen kontrol peptidine göre (RADARADA-K-RADARADA) 16 kat kadar daha iletken (derişim düzeltilmesi yapıldıktan sonra) olduğu görülmektedir. Bu da iletkenliğin terpiridin grupları arasındaki pi-pi etkileşiminden kaynaklı olduğunun bir göstergesi olmaktadır. Benzer durumda piren içeren peptit (RADARADA-Y-RADARADA) için de geçerli olmakla birlikte, iki peptit arasındaki iletkenlik farkı terpiridinli olana göre oldukça düşük olup, derişim düzeltilmesi yapıldıktan sonra yaklaşık 2,5 kattır. Bu iletkenlik farkının azlığı, pirenli peptitten elde edilen hidrojin, terpiridinli olana göre daha zayıf bir jel özellikle olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun da her iki peptitin de aynı pH değerlerinde hazırlanmış olmasından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Terpiridinli peptit üzerinde, pirenliye göre daha fazla azot atomu içermesi nedeni ile farklı pH'larda farklı jelleşme özelliği göstermesi beklenir. Yani, terpiridinli peptit üzerindeki piridin halkaları nedeni ile pirenliye göre daha baziktir.

Literatürde benzer şekilde iletkenliği ölçülen tek peptit olan şekil 5'de yapısı verilen kinketiyofen türevinin 4-nokta kontak yöntemi ile yapılan iletkenlik ölçümü yaklaşık $1,0 \times 10^{-5}$ S/cm'dir. Bu sonuçların hangi derişimle alındığı bilinmemekle birlikte, bizim sentezlediğimiz ikili-terpiridin içeren peptitlerden derişimine göre değişmek üzere 8 ila 33 kat daha düşük bir iletkenliktir. 4-nokta kontak yöntemindeki hassasiyetin düşük olması ve benzer şartlarda ölçülüp ölçülmediği bilinmediğinden tam sağlıklı bir karşılaştırma yapmak güç olmakla birlikte, sadece bu sonuçlar üzerinden düşünecek olursak en azından literatürde tiyofen türevleri ile elde edilen hidrojellerden daha iletken oldukları söylenebilir.



Metal iyonu varlığının iletkenliğe olan etkisine bakıldığında ise nikel iyonlarının varlığı iletkenliğin 3 kat kadar düşmesine neden olmaktadır. Bunun sebebinin, nikel iyonlarının peptitlerin kendiliğinden yapılanmayı olumsuz etkilemesi olduğu düşünülmektedir. Zira aynı derişimdeki nikel iyonsuz peptit hidrojellere göre, nikel iyonlu peptit hidrojellerin daha zayıf jel oluşturdukları görülmüştür.

Peptit nanotüp kristallerin iletkenlik ölçümlerine bakıldığında ise terpiridinli peptit nanotüplerin, kontrol peptidine göre yaklaşık 20 kat daha iletken olduğu görülmüştür. Bu zaten beklenen ve olumlu bir sonuçtur. Ancak sonrasında elde edilen peptit nanotüplerin morfolojisi ve boyutları ile ilgili sonuçlarda peptit nanotüplerin büyük miktarlarda kendiliğinden yapılanamayıp, uzun nanotüpler oluşturamadığı anlaşılmıştır. Daha sağlıklı bir karşılaştırma için daha çok miktarda peptit nanotüp sentezleyerek deneylerin tekrarlanması gerekmektedir.



5. SONUÇ

Bu projede amaçlandığı gibi iki adet terpiridin ve piren grubu içeren yapay amino asitin sentezi başarı ile tamamlanmıştır. Ayrıca, terpiridinli amino asitin sentezinde kullanılan aldehit 5 türevinin literatürdeki sentez yöntemine alternatif olarak daha yüksek verimli aynı basamak sayısına sahip bir sentez geliştirilmiştir. Terpiridin içeren yapay amino asitin nikel kompleksinin 3 boyutlu yapısının elde edilmesi için kristallendirme çalışmaları yapılmıştır fakat herhangi bir kristal elde edilememiştir. Ancak, biraz şans da eseri, piren içeren amino asitin NMR için hazırlanmış çözeltisinden, bir kaç hafta NMR tüpünde $CDCl_3$ içerisinde beklediğinde, tüpün çeperlerinde kristaller oluştuğu görülmüştür. Bu kristallerin X-ışını kırınım analizi için Bilkent Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Y. Doç. Dr. Ferdi Karadaş'tan yardım alınmıştır ve kristeller hocamıza ölçülmek üzere yollanmıştır. Maalesef raporun son günlerine yetişmeyip, sonucu alabilmiş değiliz.

Başarı ile sentezlenen iki yapay amino asit, farklı peptit dizilimleri içerisine yerleştirilerek 4 farklı peptit sentezlenmiştir. Bu peptitlerden farklı derişimlerde hidrojeller elde edilerek bunların karakterizasyonları, CD ve IR spektrumları ile yapılmıştır ve Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM) görüntüleri ile nanofiber yapısında oldukları gösterilmiştir.

4-nokta kontak iletkenlik ölçümü yöntemi ile de bu elde edilen hidrojelleri jel halindeki iletkenlikleri ölçülmüş olup, bu ölçümler sonucunda, projede öngörülen, terpiridin gruplarının pi-pi etkileşimi ile daha yüksek iletkenliğe sebep olması düşüncesi doğrulanmıştır.

Ancak 4-nokta kontak ile elde edilen iletkenlik değerlerinin hassasiyeti nisbeten düşüktür. Bu nedenle aslında bu hidrojeller ile transistör yaparak bu jellerin tüm elektriksel özelliklerinin (dielektrik sabiti, alan iletkenliği, vs.) incelenmesi çok daha hassas ve doğru sonuçlar vereceğini düşünüyoruz. Yani 4-nokta kontak ölçümleri, bize prensip doğrulaması açısından fikir vermektedir, ancak bu hidrojellerin organik elektronik uygulamaları için uygunluğu konusunda net bir sonuç verememektedir. Dolayısıyla ilerleyen zamanlarda bu hidrojeller ile organik alan etkili transistörler yaparak, bu alandaki uygulamalarının da incelenmesi düşünülmektedir. Zaten projenin amaçları kısmında da hidrojellerin, organik elektronik konusundaki uygulamaları için yapıyor oluşu belirtilmektedir.



Terpiridinli peptit üzerindeki metale bağlanan gruplara takılması düşünülen Ni^{2+} iyonlarının, iletkenliğe olumlu etki yapması beklenmekte iken bu durum tam tersi bir sonuç vermiştir. Bu durum nikel iyonlarının kendiliğinden yapılanmayı olumsuz etkilemesinden dolayı gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Metal iyonlarının terpiridine olan afinitesinin yüksek olduğu bilinmekte olduğu için metal iyonu koordinasyonunda bir sorun olduğunu sanmıyoruz. Terpiridinli amino asit ile nikel iyonlarının kompleksinin hazırlanmasının ardından, bu kompleksin peptit sentezinde kullanılabileceği düşünülmüştür. Ancak bu durumun, pratikte pek mümkün olmadığı anlaşılmıştır. Zira peptit sentezi sonunda, amino asitlerin yan gruplarını kırmak için kullanılan %95'lik TFA, nikel iyonlarının terpiridin üzerinden kopmasına neden olmaktadır.

Bu projenin peptit nanotüp kristalleri kısmında ise terpiridinli hidrojellerin daha iyi iletkenlik göstermesinden dolayı, peptit nanotüp kristallerinde öncelikli olarak sadece terpiridin türevli olanları yapılmıştır. Ve bu türevden elde edilen nanotüplerin çok az olması nedeni ile terpiridinli peptit nanotüplerin mikroskop görüntüleri alınamamakla birlikte, elde edilen iletkenlik sonuçları, bize en azından prensip doğrulaması konusunda olumlu sonuç vermektedir ve terpiridinli peptit nanotüplerin, kontrol peptitine göre daha iletken olduklarını göstermiştir. Burada da sonrasında madde miktarının çoğaltılarak, hidrojeller için planlanan organik alan etkili transistör çalışmalarının yapılması hedeflenmektedir.

Ayrıca proje önerisinde bulunmamakla birlikte, proje sırasında daha iyi bir karşılaştırma yapabilmek için tek-terpiridinli yapay amino asit içeren peptit hidrojellerin de sentezlenmesi gerektiği düşünülmüştür. Bu sayede proje önerisinde iddia edildiği gibi terpiridin halkaları arasındaki mesafenin iletkenliğe olan etkisi, çok daha iyi bir şekilde anlaşılacaktır. Sonuç olarak projenin sonrasında bu peptitin de sentezi yapılarak çalışmanın bu kısmı devam ettirilecektir.

Özetlemek gerekirse, proje genel anlamda sentez ve karakterizasyon açısından ve iletkenlik ölçümleri bakımından başarı ile sonuçlanmıştır. Hem literatür sonuçları ile daha iyi karşılaştırabilmek için hem de uygulama alanları için transistör yapımı ile elektriksel özelliklerinin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

Allen, F. H., Kennard, O., Watson, D. G., Brammer, L., Orpen, A. G. 1987. "Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds", Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 1-19.

Arosio, P., Owczarz, M., Wu, H., Butté, A., Morbidelli, M. 2012. "End-to-End Self-Assembly of RADA 16-I Nanofibrils in Aqueous Solutions", Biophysical journal, 102, 1617-1626.

Ashkenasy, N., Horne, W. S., Ghadiri, M. R. 2006. "Design of self-assembling peptide nanotubes with delocalized electronic states", Small, 2, 99-102.

Bowerman, C. J., Nilsson, B. L. 2010. "A reductive trigger for peptide self-assembly and hydrogelation", Journal of American Chemical Society, 132, 9526-9527.

Bowerman, C. J., Ryan, D. M., Nissan, D. A., Nilsson, B. L. "The effect of increasing hydrophobicity on the self-assembly of amphipathic β -sheetpeptides", Molecular Biosystems, 2009, 5, 1058-1069.

Buriak, j. M., Ghadiri, M. R. 1997. "Self-assembly of peptide based nanotubes", Materials Science and Engineering, 4, 207-212.

Diegelmann, S. R., Gorham J. M., Tovar, J. D. 2008. "One-Dimensional Optoelectronic Nanostructures Derived from the Aqueous Self-Assembly of π -Conjugated Oligopeptides", Journal of American Chemical Society. 130, 13840-13841.

Ding, Y., Mei, Y., Zhang, J. Z., Tao, F-M. 2008. "Efficient bond function basis set for π - π interaction energies", Journal of Computational Chemistry, 29, 275-279.

Eryazici, I., Moorefield, C. N., Newkome, G. R. 2008. "Square-planar Pd(II), Pt(II), and Au(III) terpyridine complexes: their syntheses, physical properties, supramolecular constructs, and biomedical activities", Chemical Reviews, 108, 1834-1895.

Hartgerink, J. D., Granja, J. R., Milligan, R. A., Ghadiri, M. R. 1996. "Self-Assembling Peptide Nanotubes", Journal of American Chemical Society, 118, 43-50.

Kent, S. B. H. 2009. "Total chemical synthesis of proteins", Chemical Society Reviews, 38, 338-51.

Kim, C. A., Berg, J. M. 1993. "Thermodynamic β -sheet propensities measured using a zinc-finger host peptide", Nature, 362, 267-270.



Löwik, D. W. P. M., Leunissen, E. H. P., van den Heuvel, M., Hansen, M. B., van Hest, J. C. M. 2010. "Stimulus responsive peptide based materials", *Chemical Society Reviews*, 39, 3394-3412.

Mart, R. J., Osborne, R. D., Stevens, M. M., Ulijn, R. V. 2006. "Peptide-based stimuli-responsive biomaterials", *Soft Matter*, 2, 822-835.

Merrifield, R. B. 1963. "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide", *Journal of American Chemical Society*, 85, 2149-54

Merrifield, R. B. 1995. 93-169. *Solid phase peptide synthesis, Peptides: Synthesis, Structures and Applications*. Editör: Gutte, B. Zurich: Academic Press.

Nicodemus, G. D., Bryant, S. J. 2008. "Cell Encapsulation in Biodegradable Hydrogels for Tissue Engineering Applications", *Tissue Engineering Part B: Review*, 14, 149-165.

Perrine, T. M., Berto, T., Dunitz, B. D. 2008. "Enhanced Conductance via Induced π -Stacking Interactions in Cobalt(II) Terpyridine Bridged Complexes" *Journal of Physical Chemistry B*, 112, 16070-16075.

Petka, W. A., Harden, J. L., McGrath, K. P., Wirtz, D., Tirrell, D. A.. 1998. "Reversible hydrogels from self-assembling artificial proteins", *Science*, 281, 389-392.

Qu, Y., Payne, S. C., Apkarian, R. P., Conticello, V. P. 2000. "Self-assembly of a polypeptide multi-block copolymer modeled on dragline silk proteins", *Journal of American Chemical Society*, 122, 5014-5.

Sagawa, T., Fukugawa, S., Yamada, T., Ihara, H. 2002. "Self-Assembled Fibrillar Networks through Highly Oriented Aggregates of Porphyrin and Pyrene Substituted by Dialkyl L-Glutamine in Organic Media", *Langmuir*, 18, 7223-7228.

Sunde, M., Serpell, L.C., Bartlam, M., Fraser, P.E., Pepys, M.B., Blake, C. C. 1997. "Common core structure of amyloid fibrils by synchrotron X-ray diffraction", *Journal of Molecular Biology*, 273, 729-39.

Stone, D. A., Hsu, L., Stupp, S. I. 2009. "Self-assembling quinquethiophene-oligopeptide hydrogelators", *Soft Matter*, 5, 1990-1993.

Stone, D. A., Tayi, A. S., Goldberger, J. E., Palmer, L. C., Stupp, S. I. 2011. "Self-assembly and conductivity of hydrogen-bonded oligothiophene nanofiber networks", *Chemical Communications*, 47, 5702-5704.

Tovar, J.D. 2013. "Supramolecular Construction of Optoelectronic Biomaterials", *Accounts of Chemical Research*, 46, 1527-37.

Vairaprakash, P., Ueki, H., Tashiro, K., Yaghi, O. M. 2011. "Synthesis of Metal-Organic Complex Arrays", *Journal of American Chemical Society*, 133, 759-76.



Wall, B. D., Diegelmann, S. R., Zhang, S., Dawidczyk, T. J., Wilson, W. L., Katz, H. E., Tovar, J. D. 2011. "Aligned Macroscopic Domains of Optoelectronic Nanostructures Prepared via Shear-Flow Assembly of Peptide Hydrogels", *Advanced Materials*, 23, 5009-5014.

Xu, H., Das, A.K., Horie, M., Shaik, M. S., Smith, A. M., Luo, Y., Lu, X., Collins, R., Liem, S. M., Song, A., Popelier, P. L. A., Turner, M. L., Xiao, P., Kinloch, I. A., Ulijn, R. V. 2010. "An investigation of the conductivity of peptide nanotube networks prepared by enzyme-triggered self-assembly", *Nanoscale*, 2, 960-966.

Yajima, T., Maccarrone, G., Takani, M., Contino, A., Arena, G., Takamido, R., Hanaki, M., Funahashi, Y., Odani, A., Yamauchi O. 2003. "Combined Effects of Electrostatic and π - π Stacking Interactions: Selective Binding of Nucleotides and Aromatic Carboxylates by Platinum(II)-Aromatic Ligand Complexes", *Chemistry a European Journal*, 9, 3341-3352.

Zhang, S., Holmes, T., Lockshin, C., Rich, A. 1993. "Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America USA*, 90, 3334-8.

Zhao, Y., Yokoi, H., Tanaka, M., Kinoshita, H., Tan, T. 2008. "Self-assembled pH-responsive hydrogels composed of the RATEA16 peptide", *Biomacromolecules*, 9, 1511-1518.

**TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

| | |
|---|--|
| Proje Yürütücüsü: | Yrd. Doç. Dr. SALİH ÖZÇUBUKÇU |
| Proje No: | 112T882 |
| Proje Başlığı: | İletken Peptit Nanotüp ve Hidrojel Geliştirilmesi |
| Proje Türü: | 1001 - Araştırma |
| Proje Süresi: | 24 |
| Araştırmacılar: | |
| Danışmanlar: | |
| Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: | ORTA DOĞU TEKNİK Ü. FEN-EDEBİYAT F. KİMYA B. |
| Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: | 01/04/2013 - 01/08/2015 |
| Onaylanan Bütçe: | 270210.0 |
| Harcanan Bütçe: | 252944.79 |
| Öz: | <p>Kendiliğinden yapılanabilen peptitler, son 10 yılın oldukça gözde araştırma konularından biri haline gelmiştir¹. Özellikle seçici ilaç salınımı, doku mühendisliği ve biyomedikal konusunda uygulamaları için yoğun bir araştırmaya sahne olmaktadır. Peptitleri oluşturan aminoasitlerin çeşitliliği, çok farklı fiziksel ve kimyasal özelliğe sahip peptit yapılarının elde edilmesine mükemmel bir olanak sağlamaktadır. 21 tane doğal aminoasitin yanı sıra, doğal olmayan, sentetik amino asitlerin kullanımı ile de farklı özellikler elde etmek mümkündür ve bu sayede de çok daha farklı uygulamalara kayabilmektedir. Peptit kimyasının bu zenginliği nedeniyle, nanotüp^{1e} ve hidrojel oluşturabilen peptitlere gösterilen ilgi de her geçen yıl artmaktadır. Ancak, peptit bazlı bu tür nanotüp ve hidrojellerden uygulamaya yönelik biyomalzemeler üretimi konusu, bir çok araştırmacı için oldukça zor bir alandır. Bu nedenle mevcut sistemlere ek olarak yeni, kolay, uygulamaya yönelik, daha iyi iletkenlik gösteren peptit nanotüp ve hidrojellerin eldesi çalışmaları hız kazanmaktadır².</p> <p>Bu çalışmada aromatik halka ve metal iyonları içeren yapay amino asitler kullanarak, iletken peptit nanotüp ve hidrojeller yapılması hedeflenmiştir. Amacımız, kendinden yapılanabilen peptitlerin beta-yaprak dizilimi ile belli bir düzene girerek, terpiridin ve piren grupları arasında ??? etkileşimi ile elektrik iletkenliği sağlamaktır. Bunun için bis-terpiridin ve piren türevi yapay amino asit sentezlenmesi ve ardından 8-17 amino asitlik yapay amino asiti de taşıyan doğrusal ve halkalı peptitler sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen peptitlerin karakterizasyonu ve iletkenlik ölçümleri yapılmıştır. Metal koordinasyonu sonucu iletkenlikteki değişiklik de incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, organik elektronik nanomateryaller, doku mühendisliği ve biyomedikal uygulama alanlarında bir çok araştırma için öncü olacaktır. Organizmalar için zararlı olmayan kullanışlı elektronik biyosensörler, biyolojik ve iletken nanoyapılar, yeni tedavi yöntemleri için büyük bir açılım olacaktır.</p> |
| Anahtar Kelimeler: | peptit, kendiliğinden yapılanma, beta-yaprak, hidrojel, iletkenlik, nanotüp, |
| Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?: | Hayır |