

**POLİ (2-HİDROKSİETİL METAKRİLAT) AŞILANMIŞ
MANYETİK FE_2O_3 NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ
VE KONTROLLÜ DOKSORUBİSİN SALIM
UYGULAMASI**

**SYNTHESIS OF POLY (2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE)
GRAFTED MAGNETIC FE_2O_3 NANOPARTICLES AND
APPLICATION OF CONTROLLED DOXORUBICIN RELEASE**

ÖZLEM GÜLÜM İNCİ

PROF. DR. MURAT BARS BAY

TEZ DANIŞMANI

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2024

Her zaman en büyük destekçilerim olan annem, babam ve eşime...

ÖZET

POLİ (2-HİDROKSİETİL METAKRİLAT) AŞILANMIŞ MANYETİK Fe₂O₃ NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ VE KONTROLLÜ DOKSORUBİSİN SALIM UYGULAMASI

Özlem Gülüm İNCİ

YÜKSEK LİSANS, KİMYA Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat BARSBAY

Nisan 2024, 108 sayfa

İlaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesi, modern tıbbın en kritik ve zorlayıcı alanlarından biridir. Etkili ve hedeflenmiş ilaç dağıtımı, tedavi etkinliğini artırabilir ve istenmeyen yan etkileri azaltabilir. Bu nedenle uygun nanotaşıyıcıların tasarımı ve geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Manyetik nanoparçacıklar, spesifik hedefleme yetenekleri ile kanser tedavisinde etkili bir nanotaşıyıcı rolü üstlenebilmektedir. Nanotaşıyıcıların ilaç taşıma ve salım etkinliğini arttırmak amacıyla yüzeyleri, ihtiyaca yönelik olarak çeşitli polimerlerle modifiye edilebilir.

Bu tez çalışmasında, manyetik Fe₂O₃ nanoparçacıkların poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) ile modifiye edilmesini takiben, anti-kanser ilacı doksorubisin (DOX) yüklü nanotaşıyıcılar sentezlenmiş ve kontrollü salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında, düşük toksisitesi, yüksek su çözünürlüğü ve biyouyumlu olması nedeniyle pHEMA tercih edilmiştir. pHEMA'nın manyetik nanoparçacıklara aşılama süreci, diazonyum tuzlarının vinilik bir monomer ve indirgeyici bir ajan varlığında sergilediği

redoks aktivasyonuna dayanmaktadır. Diazonyum tuzları, indirgeyici ajan ile tetiklenen indirgenme süreçleri neticesinde yüzeyleri polifenilen benzeri ince bir tabaka ile kaplar. Redoks reaksiyonu esnasında oluşan aril radikaller ise, polimer zincirlerinin aşılması için gerekli aktiviteyi oluşturur. “Diazonium-induced anchoring process” (DIAP) -- *Diazonyum ile Tetiklenen Bağlama Süreci*-- veya “GraftFast” olarak adlandırılan bu süreç, tez çalışmasında, yeşil, hızlı ve verimli bir aşılama prosesi geliştirmek amacıyla, ultrases maruziyeti altında gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik polimerizasyon yönteminin DIAP prosesine uyarlanması literatürde oldukça yeni bir yaklaşım olarak dikkat çekicidir.

Bu yöntem ile sentezlenen pHEMA aşılınmış Fe_2O_3 nanoparçacıklar (pHEMA@ Fe_2O_3), FTIR, XPS, XRD, TGA, SEM ve TEM yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Karakterizasyon sonuçları pHEMA'nın, Fe_2O_3 nanoparçacıklara aşıldığını doğrulamıştır. Sentezler için optimum ultrases maruziyet süresinin 10 dakika, optimum monomer/diazonyum tuzu mol oranının ise 10:1 olduğu, FTIR ve TGA sonuçlarıyla belirlenmiştir. Optimum koşullarda sentezlenen pHEMA aşılınmış manyetik nanoparçacıklar, model bir ilaç olarak kullanılan doksorubisin HCl (DOX) ile 0,5 mg/mL başlangıç ilaç derişimindeki çözeltide, ortalama %35,68 yükleme kapasitesi sergilemiştir. Farklı pH değerlerinde gerçekleştirilen ilaç salım çalışmalarında, DOX yüklü pHEMA@ Fe_2O_3 nanoparçacıklarının (DOX@pHEMA@ Fe_2O_3), pH'ye bağlı salım davranışları incelenmiştir. Yüklenen ilacın, pH 3'te %87'sinin, pH 5.5'te %46'sının, fizyolojik pH 7,4'te ise %37'sinin salındığı görülmüştür. Tez kapsamında elde edilen sonuçlar, manyetik nanoparçacıkların polimer ile modifikasyonu ve kontrollü ilaç salımı için yenilikçi bir yöntemin geliştirilmesi ve kanser tedavisinde potansiyel bir strateji olarak sunulması açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Yüzey Modifikasyonu, Kontrollü İlaç Salımı, Diazonyum ile Tetiklenen Bağlama Süreci, Ultrases Başlatıcılı Aşı Polimerizasyonu, Manyetik Nanoparçacıklar

ABSTRACT

SYNTHESIS OF POLY (2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE) GRAFTED MAGNETIC Fe₂O₃ NANOPARTICLES AND APPLICATION OF CONTROLLED DOXORUBICIN RELEASE

Özlem Gülüm İNCİ

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Murat BARSBAY

April 2024, 108 pages

The development of drug delivery systems is one of the most critical and challenging areas in modern medicine. Effective and targeted drug delivery can enhance treatment efficacy and reduce undesirable side effects, making the design and development of appropriate nanocarriers crucial. Magnetic nanoparticles can play an effective role as nanocarriers in cancer therapy due to their specific targeting capabilities. Surface modification of nanocarriers with various polymers tailored to the need may be necessary to enhance drug loading and release efficiency.

In this thesis, after the modification of magnetic Fe₂O₃ nanoparticles with poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (pHEMA), nanocarriers loaded with doxorubicin exhibiting different release profiles depending on pH were synthesized, and controlled release studies were conducted. pHEMA was selected as the grafted polymer due to its low toxicity, high water solubility, and biocompatibility. The grafting of pHEMA onto magnetic nanoparticles relies on the redox activation exhibited by diazonium salts in the presence of a vinyl monomer and a reducing agent. Diazonium salts coat the surfaces with a thin layer similar to polyphenylene as a result of reduction processes triggered by the

reducing agent. Aryl radicals formed during the redox reaction provide the necessary active functionality for polymer chain grafting. This process, termed "Diazonium-induced Anchoring Process" (DIAP) or "GraftFast," was conducted under ultrasound processing to develop a green, rapid, and efficient grafting process in the thesis study. Adapting the ultrasonic polymerization method to the DIAP process is noteworthy as a relatively new approach in the literature.

The synthesized pHEMA-grafted Fe₂O₃ nanoparticles (pHEMA@Fe₂O₃) were characterized using FTIR, XPS, XRD, TGA, SEM, and TEM techniques. Characterization results confirmed the grafting of pHEMA onto Fe₂O₃ nanoparticles. The optimum ultrasound exposure time for synthesis was determined to be 10 minutes, and the optimum monomer/diazonium salt molar ratio was 10:1, as determined by FTIR and TGA results. The pHEMA-grafted magnetic nanoparticles, synthesized under optimal conditions, demonstrated an average loading capacity of 35.68% in a solution containing doxorubicin HCl (DOX) as a model drug, with an initial drug concentration of 0.5 mg/mL. Drug release behavior depending on pH was investigated in drug release studies conducted at different pH values using DOX-loaded pHEMA@Fe₂O₃ nanoparticles (DOX@pHEMA@Fe₂O₃), revealing that 87% of the loaded drug was released at pH 3, 46% at pH 5.5, and 37% at physiological pH 7.4. The results obtained within the scope of the thesis are important in terms of developing an innovative method for the modification of magnetic nanoparticles with polymers and controlled drug release, presenting a potential strategy for cancer treatment.

Keywords: Surface Modification, Controlled Drug Release, Diazonium-Induced Anchoring Process, Ultrasound-Assisted Graft Polymerization, Magnetic Nanoparticles.

TEŞEKKÜR

Başta, lisans öğrenimimin son dönemlerinde tanışma fırsatı bulduğum, tüm akademik kariyerimde ve bu tez çalışması boyunca bana mentorluk yapan, maddi manevi her konuda destek olan, bilgi birikimi ve tecrübesini benimle paylaşmaktan hiçbir zaman çekinmeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat BARSBAY'a,

Tez çalışmalarımda ihtiyacım oldukça bilgi ve birikimini benimle paylaşan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Semiha Duygu Sütekin ve Öğr. Gör. Dr. Feyza Genç Kıraç'a,

Çalışırken yüksek lisans öğrenimimi tamamlamam konusunda teşvik eden Numaş Ar-Ge Merkezi'ne ve bu süreçte desteğini ve anlayışını esirgemeyen Numaş Teknoloji Üretim Merkezi A.Ş. Genel Müdür'ü Renan Gökyay ve Ar-Ge Yöneticisi Yavuz Tuzcu'ya,

Hayatım boyunca her koşulda bana destek olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, hayatımın bu noktaya gelmesinde en büyük çabayı gösteren annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme,

Bu tez çalışması boyunca hem laboratuvar da hem de hayatımın her alanında bana destek olan, tüm zor günleri birlikte atlattığımız, tüm başarılarımda yanımda yer alan en büyük ilham kaynağım ve destekçim, hayat arkadaşım Yiğit Kızılyar'a,

Çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser Tedavisinde Nanoteknolojinin Rolü	3
2.1.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	4
2.1.2. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Nanoparçacıklar	7
2.1.3. Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklar	10
2.2. İnorganik Nanoparçacıkların Yüzey Modifikasyonu	13
2.2.1. Fiziksel Yüzey Modifikasyon Teknikleri.....	14
2.2.2. Kimyasal Yüzey Modifikasyon Teknikleri	16
2.3. Ultrases Destekli Polimerizasyon (Sonokimyasal Polimerizasyon)	21
2.4. Diazonyum ile Tetiklenen Bağlanma Süreci ve Mekanizması	22
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	29
3.1. Kimyasallar	29
3.2. pHEMA Aşılınmış Manyetik Fe ₂ O ₃ Nanoparçacıkların Sentezi.....	29
3.3. pHEMA Aşılınmış Manyetik Fe ₂ O ₃ Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	31
3.3.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	31

3.3.2. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	31
3.3.3. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS).....	31
3.3.4. Lüminesans Spektroskopisi	31
3.3.5. X-Ray Difraktometresi (XRD)	32
3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM).....	33
3.3.7. Transmisyon Elektron Mikroskopu (TEM)	33
3.4. İlaç Salım Çalışmaları.....	33
3.4.1. İlaç Yükleme.....	33
3.4.2. In-Vitro Salım Çalışmaları	34
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	36
4.1. pHEMA Kaplı Fe ₂ O ₃ Nanoparçacıkların (pHEMA@Fe ₂ O ₃) Sentezi ve Yapısal Karakterizasyonu	37
4.2. pHEMA@Fe ₂ O ₃ Nanoparçacıklara Dokсорubisin Yüklenmesi ve Salım Uygulaması	55
5. TOPLU SONUÇLAR.....	60
6. KAYNAKLAR.....	62
EK 1 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	77
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Zamanın bir fonksiyonu olarak ilacın plazma konsantrasyonu, (--) geleneksel ilaç salım sistemi, (-) kontrollü ilaç salım sistemi, (*) yeni ilaç doz alımı.	5
Şekil 2.2. İlaç salım sistemlerinde kullanılan nanoparçacıkların sınıflandırılması ve bazı seçilmiş örnekler.	8
Şekil 2.3. Bir nanoparçacığın farklı model yapılarla kimyasal modifikasyonunu gösteren temsili resim.	20
Şekil 2.4. Diazonyum ile tetiklenen bağlanma prosesinin basit bir konseptini temsil eden şematik görsel.	26
Şekil 2.5. DIAP mekanizması.	27
Şekil 3.1. pHEMA@Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların sentezinin deneysel akış şeması.	30
Şekil 3.2. Farklı derişimlerdeki ilaç etken madde (DOX) çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.	32
Şekil 3.3. İlaç salım hücresi.	34
Şekil 3.4. DOX@pHEMA@Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların hazırlanması.	35
Şekil 4.1. Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların, polifenilen benzeri tabaka ile kaplanan Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların (PNP@Fe ₂ O ₃), pHEMA kaplanan Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların (pHEMA@Fe ₂ O ₃) ve ticari pHEMA'ya ait FT-IR spektrumları.	38
Şekil 4.2. 1,5,10 ve 15 dakika ultrases maruziyetiyle sentezlenen pHEMA@Fe ₂ O ₃ numunelerine ait FT-IR spektrumları.	40
Şekil 4.3. 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] oranlarıyla sentezlenen pHEMA@Fe ₂ O ₃ numunelerine ait FT-IR spektrumları.	42
Şekil 4.4. Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların, polinitrofenilen benzeri tabaka ile kaplanan Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların (PNP@Fe ₂ O ₃ ve pHEMA ile kaplanan Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların (pHEMA@Fe ₂ O ₃) TGA eğrileri.	45
Şekil 4.5. Farklı US maruziyet süreleriyle sentezlenen pHEMA@Fe ₂ O ₃ örneklerine ait TGA eğrileri.	47

Şekil 4.6. 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] oranlarıyla sentezlenen pHEMA@Fe ₂ O ₃ numunelerine ait TGA eğrileri.	48
Şekil 4.7. γ -Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların ve pHEMA@Fe ₂ O ₃ numunelerine ait XRD desenleri.	49
Şekil 4.8. TEM resimleri: (a) saf Fe ₂ O ₃ , (b) pHEMA@Fe ₂ O ₃	51
Şekil 4.9. XPS geniş yüzey taraması spektrumları, (a) saf Fe ₂ O ₃ , (b) pHEMA@Fe ₂ O ₃ . .	53
Şekil 4.10. C 1s çekirdek seviyesi spektrumları, (a) saf Fe ₂ O ₃ , (b) pHEMA@Fe ₂ O ₃	53
Şekil 4.11. Saf γ -Fe ₂ O ₃ nanoparçacıklarına ait SEM görüntüsü.	54
Şekil 4.12. pHEMA@Fe ₂ O ₃ örneğine ait SEM görüntüsü ve bu görüntüde demir (kırmızı), oksijen (sarı) ve karbon (mavi) elementlerinin EDX dağılım haritası.	55
Şekil 4.13. DOX yüklü pHEMA@Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların (DOX@pHEMA@Fe ₂ O ₃) 3.0, 5.5 ve 7.4 pH değerlerindeki salım davranışları.	57
Şekil 4.14. DOX yüklü pHEMA@Fe ₂ O ₃ nanoparçacıkların farklı pH koşullarında DOX salımı.	59

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 4.1. γ -Fe ₂ O ₃ nanoparçacıklarının modifikasyon öncesi ve sonrası XRD pik analizi.....	50
---	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Derece, Celcius
cm ⁻¹	Dalga sayısı
d	Düzlemler Arası Mesafe
eV	Elektron Volt
Hz	Hertz
kHz	Kilo Hertz
mA	Mili Amper
MHz	Mega Hertz
n	Saçılma Sırası
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
µm	Mikrometre
W	Watt
θ	Theta, açı
λ	Lambda, dalgaboyu
nm	Nanometre
Cu	Bakır

Kısaltmalar

ATRP	Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
BSA	Sığır Serum Albumini
DIAP	Diazonium-Induced Anchoring Process (Diazonium ile Tetiklenen Bağlanma Süreci)
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOX	Doksorubisin
EDX	Enerji Dağılımlı X-Işını Spektrometresi
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	Fourier-Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
JCPDS	Toz Difraksiyon Standartları Ortak Komitesi
LB	Langmuir-Blodgett
MNP	Manyetik Nanoparçacık
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTX	Metotreksat
NBD	4-Nitrobenzediazanyum Tetrafloroborat
NP	Nanoparçacık
p(DMAEMA)	Poli-(N,N-dimetilaminoetil metakrilat)
PAP	Poliaminofenilen
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
pHEMA	Poli(2-hidroksietil metakrilat)
EPR	Elektron Paramanyetik Rezonans

DOX@pHEMA@Fe ₂ O ₃	Doksorubisin Yüklendiş poli(2-hidroksietil metakrilat) Aşılantı Fe ₂ O ₃ nanoparçacık
pHEMA@Fe ₂ O ₃	Poli(2-hidroksietil metakrilat) Aşılantı Fe ₂ O ₃ Nanoparçacık
PNP	Polinitrofenilen
PNP@Fe ₂ O ₃	Polinitrofenilen Kaplantı Fe ₂ O ₃ Nanoparçacık
PTFE	Politetrafloroetilen
RES	Retiküloendotelial Sistem
ROMP	Ring-Opening Metathesis Polymerization (Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu)
SAM	Self-Assembled Monolayer (Kendiliğinden Oluşan Tek Tabaka)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskopu
TEVS	Trietoksi Vinil Silan
TGA	Termogravimetrik Analiz
US	Ultrases
VC	C-Vitamini
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XPS	X-Işını Foton Spektroskopisi
XRD	X-Işınları Difraksiyonu
pHEMA:NBD	Poli(2-hidroksietil metakrilat)'ın 4-Nitrobenzendiaznyum tetrafloroborat'a göre mol oranı

1. GİRİŞ

Kanser, dünya genelinde en ölümcül hastalıklardan biridir. Hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve yayılmasıyla karakterize edilen bu hastalık, yaşamı tehdit eden çeşitli formlarıyla milyonlarca insanı etkilemektedir [1]. Araştırmalar, tedavi yöntemlerindeki ilerlemeler sayesinde kansere bağlı ölümlerin azaldığını gösterse de meme, prostat ve rahim ağzı gibi kanser türlerinin ölüm oranı yoğunluğunun fazla olduğu kanser türlerinde ilerleyen tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır [2], [3]. Türkiye'de de kanser, ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmakta ve bu, erken teşhisten etkili tedaviye kadar kanserle mücadelede kapsamlı stratejilerin geliştirilmesini gerektirmektedir [4].

Geleneksel kanser tedavi yöntemleri arasında cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi bulunmaktadır [5]. Bu yöntemler, uzun yıllardır kanserle mücadelede anahtar rol oynamış olmasına rağmen, çeşitli sınırlılıklara sahiptir. Özellikle, sağlıklı hücrelere zarar verme, yüksek yan etki oranları ve bazı kanser türlerine karşı yetersiz etkinlik gibi dezavantajlar, yeni ve daha etkili tedavi stratejilerine olan ihtiyacı artırmaktadır. Bu bağlamda, nanoteknoloji temelli yaklaşımlar, hedeflenmiş ilaç taşıma sistemleri ve minimal yan etkilerle maksimum tedavi etkinliği sağlama potansiyeli nedeniyle büyük ilgi görmektedir [6]. Özellikle nanoparçacıklar, ihtiyaca yönelik olarak yüzeyleri biyouyumlu polimerlerle modifiye edildiğinde, kanser hücrelerinde daha fazla, sağlıklı hücrede ise daha az etkili olabilen kontrollü ilaç salım sistemleri olarak kullanılabilir [7]. Manyetik demir oksit nanoparçacıklar (Fe_2O_3 NP'ler), biyouyumlu yapıları, yüksek kararlılıkları, yüzey modifikasyonuna elverişli yapısı ve süperparamanyetik özellikleri sayesinde kontrollü ilaç salım sistemleri için ideal bir platform sunarlar [8]. Fe_2O_3 NP'lerin, yüksek yüzey enerjileri ve güçlü manyetik dipol-dipol etkileşimleri nedeniyle agregasyon sorunu yaşadığı bilinmektedir [9]. Fe_2O_3 NP'lerin kullanıldığı bir ilaç salım sisteminin etkinliğini arttırmak için bu sorunun üstesinden gelinmesi ve uygun bir yüzey fonksiyonelliğinin yapılarına kazandırılması gerekir [10]. Bu amaçla Fe_2O_3 NP'lerin yüzeyleri sıklıkla hidrofilik polimerle modifiye edilmektedir [11]. Nanoparçacıkların yüzeylerini modifiye etmek amacıyla birçok yöntem geliştirmiştir [12]. Genel olarak fiziksel ve kimyasal yüzey modifikasyonları

altında kategorize edilebilen bu yöntemler kullanılarak, nanoparçacıkların ilaç salım sistemleri için etkinlikleri artırılabilir. Fiziksel modifikasyon yöntemleri zayıf bağlara dayandığı için, daha güçlü etkileşimleri içeren kimyasal modifikasyon yöntemleri bu amaç doğrultusunda daha uygun seçenekler sunar.

Mevcut tez çalışmasında, kanser tedavisinde sıklıkla uygulanan ve pek çok çalışmada model bir ilaç olarak nitelendirilen doksorubisinin kontrollü salımı için, Fe₂O₃ NP'ler manyetik özellik sergileyen bir platform olarak kullanılmıştır. Agregasyon sorununu çözmek, ilaç tutma ve salım kapasitesini arttırmak ve biyouyumlu hale getirmek amacıyla Fe₂O₃ NP'ler, biyouyumlu ve hidrofilik bir polimer olan poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) ile modifiye edilmiştir. Tez kapsamında gerçekleştirilen bu modifikasyon, "Diazonium-induced anchoring process" (DIAP) --*Diazonyum ile Tetiklenen Bağlama Süreci*-- veya "GraftFast" olarak adlandırılan ve vinilik bir monomerin varlığında diazonyum tuzlarının indirgeyici ajanlar tarafından kimyasal olarak indirgenmesine dayanan modifikasyon tekniği ile gerçekleştirilmiştir [13], [14]. Detayları tez çalışmasının, "2.4. *Diazonyum ile Tetiklenen Bağlanma Süreci*" kısmında aktarılan bu yüzey modifikasyon işlemi neticesinde, Fe₂O₃ NP'lerin yüzeyleri yaklaşık 10 nm kalınlığında pHEMA tabakası ile kaplanmıştır. Bu modifikasyon, yeşil kimya ilkeleri ile uyumlu sentez koşullarını mümkün kılan bir teknik olan ultrases enerjisi kullanılarak yürütülmüştür. Geliştirilen modifikasyon yöntemi, kimyasal başlatıcı kullanımını gerektirmeyen, çözücü olarak suyun kullanıldığı ve minimum enerjiyle gerçekleşen bir aşılama sunmaktadır ve bu sayede yeşil bir proses olarak dikkat çekmektedir. Bu yüzey modifikasyonu yöntemi, farklı nanoparçacıklar için de kullanılabilir etkili bir modifikasyon tekniği olarak örnek alınabilir ve birçok nanoparçacık türünün çeşitli polimerlerle modifikasyonu için bir seçenek oluşturabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser Tedavisinde Nanoteknolojinin Rolü

Kanser, vücudun her organında veya dokusunda anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesiyle, bulunduğu bölgedeki sınırları aşarak bitişik dokuları ve organları işgal etme yeteneğiyle ciddi bir tehlike oluşturan, dünya genelinde tüm ülkelerde karşılaşılan en ciddi sağlık problemlerinden biridir. Her yıl dünya çapında milyonlarca ölümün başlıca nedenidir ve Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu'na (IARC) göre dünya çapında her 5 kişiden biri yaşamı boyunca kansere yakalanmaktadır [15]. Bu sebeple kanserin tedavi yöntemlerinin sürekli gelişmesi gerekmektedir. Kanser tedavisinde en yaygın başvuru terapötik yaklaşımlar cerrahi müdahaleler, radyoterapi ve kemoterapidir. Seçilen tedavi yöntemi, kanserin histolojik türüne ve klinik evresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Cerrahi müdahalede kanserli doku anestezi altında vücuttan çıkartılır. Genellikle bu yöntem sonrası kanser tekrar eder, organ kaybı yaşanma olasılığı yüksektir ve her kanser türünde uygulanabilir olmaması gibi dezavantajlara sahiptir [16]. Bir diğer müdahale radyoterapi, kanser hücrelerini öldürmek ve tümörleri küçültmek için yüksek dozda radyasyon kullanan bir tedavi yöntemidir [17]. Son olarak en yaygın müdahale yöntemi olan kemoterapi ise kimyasal bileşiklerin kullanıldığı bir tedavi yöntemidir ve kanser hücrelerinin yayılmasını engellemeyi hedefler. Ancak, tedavide kullanılan kimyasal bileşiklerin genellikle spesifik olmaması, sağlıklı hücrelere de etki edebilmesi, bu yöntemin ana zorluklarından [18]. Kanser tedavisinde yaygın olarak tercih edilen bu yöntemlerin en büyük dezavantajı belirtildiği gibi, spesifik çözümler sunmamasıdır. Bu geleneksel tedavi yöntemleri tümörlü hücrelere saldırırken sağlıklı hücreler için de olumsuz sonuçlar doğurur. Geleneksel tedavi yöntemlerinin sebep olduğu olumsuz etkileri ortadan kaldıran yeni sistemlere ihtiyaç vardır. Son yıllarda nanoteknoloji, bu alanda devrim yaratabilecek potansiyele sahip bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır [19].

Nanoteknoloji 1925'te Richard Zsigmondy'nin Nobel Kimya ödülünü almasına sebep olan "nanometre" kavramını açıklamasıyla başlatmıştır. Birçok alanda yeni uygulamalara sahip bu kavram, boyutları birkaç yüz nanometreye kadar olan bileşenlerin yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya mühendisliğiyle geliştirilen yapıları ifade eder [20]. Tek

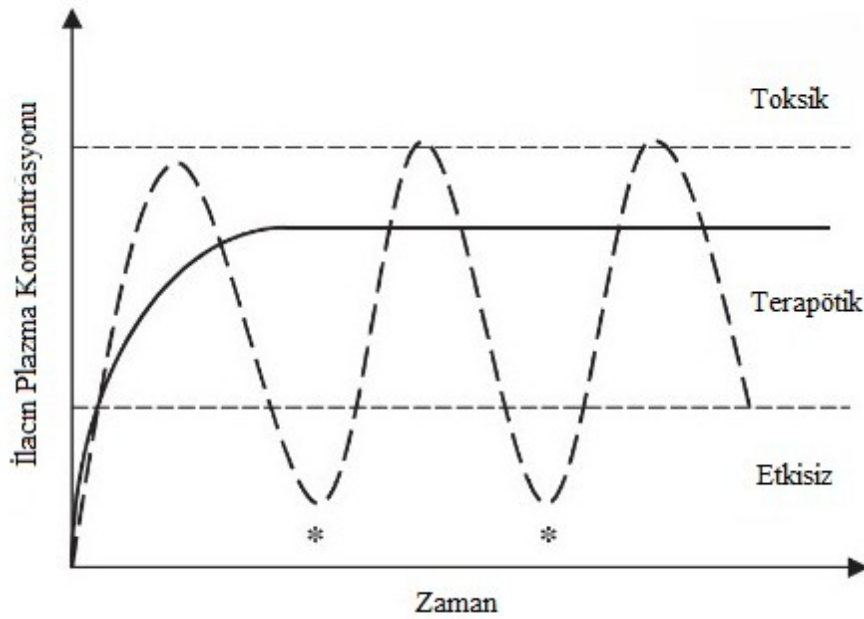
başına bileşenlerin sağlayamadığı işlevsel özellikleri nanomalzemeler tek tek bileşenlerin hassas bir şekilde bir araya getirilmesiyle elde etmektedir. Nanomalzemelerin büyük bir yüzey alanı/hacim oranına sahip olması ve diğer moleküllerle kolay etkileşime girmesi gibi özellikleri, diğer malzemelere göre öne çıkmalarını sağlar [6]. Kanser hücreleriyle normal hücreleri birbirinden ayırt ederek, seçici olarak tümör hücrelerini yok etme yeteneği sergileyebilen yapıların sentezine imkân vermesi, nanoteknolojinin tıba sağladığı en temel avantajlardan biridir. İyi tasarlanmış nanomalzemeler geleneksel kemoterapötik ilaçları hücre içinde iletebilen, biyoyararlanımlarını ve tümör dokuları etrafındaki konsantrasyonlarını arttıran ve salım profilleri geliştiren çok yönlü biyouyumlu kontrollü ilaç salım sistemleri sunar [21]. Kontrollü ilaç salım sistemlerinin geleneksel salım sistemlerine göre birçok avantajı ve potansiyeli bulunmaktadır. Bu avantajlar, ilerleyen bölümde tartışılacaktır.

2.1.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

İlaç salım sistemleri istenen terapötik etkiyi sağlamak amacıyla vücutta ilacın taşınmasında yer alan yöntemleri, teknolojileri ve süreçleri ifade etmekle birlikte terapötik etkiye ulaşmak için tıbbi bileşiklerin insanlara ve hayvanlara uygulanmasına yönelik yaklaşımları kapsar [22]. İlaç salım sistemlerinin temel prensibi, hedeflenen hastalıklı hücreye veya dokuya yüksek konsantrasyonda ilaç verirken, hedeflenmeyen sağlıklı doku veya hücreye etki eden ilaç konsantrasyonunu en aza indirgeyerek hastalardaki olumsuz yan etkileri azaltmaktır [23].

Her ilacın optimum bir plazma seviyesi vardır ve bu seviyenin üzerinde ilaç toksik hale gelirken altındaysa ilaç etkisiz olur [24]. Geleneksel ilaç salım sistemleri, ilacın tüm dozunu serbest bırakır ve bu vücuttaki plazmatik ilaç konsantrasyonunda hızla yükselmeye sebep olup toksik düzeye ulaşabilir ve sonra metabolize edilmesini takiben etkisi hızla azalır. Hasta tekrar ilaca ihtiyaç duyar ve tekrarlanan tedavi hasta için yeni bir toksik döngü yaratarak hastaya zarar verir. İlacın gerekli bölgeye etki etmesi için yüksek dozda ilaç uygulanması gerekir ve bu da hastadaki olumsuz yan etkileri arttırmaktadır. Yani, geleneksel ilaç salım sistemleri, hassaslıkla ayarlanıp beklentileri karşılayamaz ve verimsizdir [25]. Geleneksel ilaç salım sistemlerindeki sorunları ortadan kaldırmak ve terapötik etkiyi arttırmak için son yıllarda kontrollü ilaç salım sistemleri geliştirilmiştir.

Kontrollü salım sistemleri sıfıncı dereceden salım modeli davranışı göstererek ilaç düzeylerini tek bir dozdan sonra istenen terapötik etkiye sabit tutmayı hedefler [26]. Uzun süreli salımda terapötik plazma konsantrasyonunu korur ve ilacı doğru zamanda ve ortamda salar. Bu doğrultuda kontrollü ilaç salım sistemleri yan etki olmaksızın, ya da minimal düzeyde yan etkiyle, azalan dozlarla ilacı ihtiyaç duyulan bölgeye ulaştırmak için tercih edilmektedir [27].



Şekil 2.1. Zamanın bir fonksiyonu olarak ilacın plazma konsantrasyonu, (--) geleneksel ilaç salım sistemi, (-) kontrollü ilaç salım sistemi, (*) yeni ilaç doz alımı [24]

Kontrollü ilaç salım sistemleri içerisinde, pH'ye duyarlı ilaç salımı vücut içerisinde farklı pH değerlerine sahip bölgelere spesifik ilaç salımını mümkün kılar [28]. Vücutta farklı bölgelerde farklı pH değerleri bulunmaktadır [29]. Örneğin, mide asidik bir ortama sahipken ince bağırsakta bu değer daha alkalın bir seviyededir. Bu özelliği kullanarak, ilaçların sadece belirli pH değerlerinde aktif hale gelmesini sağlamak mümkün olabilir. Özellikle kanserli dokular, çevreleyen sağlıklı dokulardan farklı bir pH profiline sahiptir, bu da pH'ye duyarlı ilaç salımının avantajını ortaya koyar [30]. pH-duyarlı kontrollü ilaç salımı, kanser tedavisinde, özellikle tümör mikroçevrelerinin asidik özelliklerini hedef alarak, ileri düzey bir yaklaşım sunar. Kanserli hücrelerin ekstrasellüler çevresi, hipoksi

ve laktik asit birikimi nedeniyle asidiktir. Bu asidite, hücre ölümü ve karmaşık metabolik süreçler sonucu oluşur. pH duyarlı ilaç salım sistemleri, bu asidik mikroçevreleri hedef alarak, ilaçların daha etkin bir şekilde kanser hücrelerine yönlendirilmesini sağlar [31]. Bu özellik, pH'ye duyarlı kontrollü ilaç salım sistemlerinin kanser tedavisinde potansiyel bir uygulama alanı oluşturmasına neden olmaktadır. pH'ye bağlı ilaç salımı, sadece hedeflenen bölgede ilacın serbest bırakılmasına olanak tanır. Bu, ilacın yan etkilerini azaltırken aynı zamanda terapötik etkinliğini artırır.

pH duyarlı kontrollü ilaç salım sistemleri, polimerik matrisler ve nanoteknolojik yaklaşımlar aracılığıyla elde edilebilir. İlaç molekülleri, belirli pH değerlerinde şişme veya çözülme gösteren polimerlere entegre edilir [32]. pH değeri hedeflenen seviyeye ulaştığında, polimerik yapı değişikliğe uğrar ve ilaç molekülünü serbest bırakır. Bazı durumlarda değişen, polimerin çözünme ya da şişme özellikleri değildir. Polimer ile ilaç molekülleri arasındaki etkileşim de pH'a bağlı olarak değişebileceğinden, salım davranışı pH duyarlılığı sergileyebilir. Bu salım mekanizması, ilaç molekülünün vücutta doğru zamanda ve doğru yerde salınmasını sağlar, bu da tedavi etkinliğini artırır. Örnek olarak, Bajbai ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada poli (2-hidroksi etil metakrilat) (pHEMA) nanoparçacıkların anti kanser ilaç doksorubisinin kontrollü salım davranışı incelenmiştir [33]. Bu çalışmada, pHEMA nanoparçacıkları asidik ortamda daha fazla şişme davranışı gösterdiği için düşük pH'ta daha verimli bir salım gerçekleştiği görülmüştür. pH'nin yanı sıra sıcaklığında salım profilinde etkili olduğu görülmüştür. %28 yükleme verimine sahip doksorubisin yüklü pHEMA nanoparçacıkların en etkili salım koşullarının asidik pH 1,2'de ve 37°C'de gözlemlenmiştir.

Kontrollü ilaç salım sistemleri oluşturmada yaygın olarak nanoparçacıklar kullanılmaktadır. Nanoparçacıklar, nano ölçekli boyutlarıyla onları bu sistemler için ideal aday haline getiren benzersiz özellikler sunar. Küçük boyutları, tümör dokularında daha fazla nüfuz ve tutulma olanağı verir ve geniş yüzey alanları, ilaç yüklemesi için uygun alanı sağlar. Ek olarak nanoparçacıklar, pH, sıcaklık veya enzimler gibi spesifik uyaranlara yanıt verecek şekilde tasarlanabilir, böylece belirli fizyolojik koşullara yanıt verecek kontrollü ilaç salımına olanak sağlar. Nanoparçacıklar istenilen özellikleri karşılamak amacıyla biyoyumlu polimerlerle modifiye edilerek kanser hücrelerine

doğrudan ulaşarak onları yok etme potansiyeli gösterebilir ve kanser hücresinin büyümesini veya yayılmasını önleyebilirler. Ayrıca kanser hücrelerinin daha fazla ilaç alımını sağlayarak etkili bir salım profili oluşturma potansiyeline de sahiptirler [34].

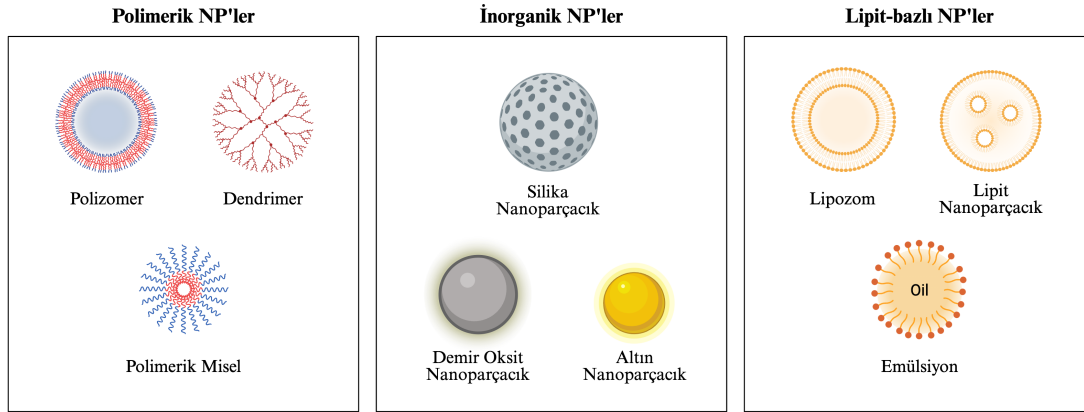
2.1.2. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Nanoparçacıklar

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin geleneksel ilaç dağıtım sistemlerine kıyasla sağladığı avantajlar bir önceki bölümde tartışılmıştır. Geleneksel ilaç salım sistemlerinde, ilaçların spesifik olmayan dağılımı, sudaki çözünürlüğünün düşük olması, terapötik etkilerinin düşük olması gibi birçok sorun bulunmaktadır. Kontrollü salım sistemlerinde ilaç hücreye özgü etki alanına taşınır, sağlıklı dokulara etkisi ve istenmeyen yan etkiler en aza indirgenir. Terapötik bileşiklerin hedef bölgede birikimi artar ve sonuç olarak ihtiyaç duyulan ilaç dozu azalır. İlaçların özel olarak tasarlanmış taşıyıcılara bağlanmasıyla hücreye özgü hedefleme gerçekleştirilebilir. Kanser ilaçlarının biyodağılımını iyileştirmek için, nanoparçacıklar kan dolaşımında daha uzun süre kalacak şekilde optimal boyut ve yüzey özellikleriyle tasarlanabilmektedir. Bu sebeple nanoparçacıkların kontrollü ilaç salım sistemleri oluşturmada kilit rol oynadığı bilinmektedir.

Genel olarak nanoparçacıklar 1 ila 100 nm arasında değişen boyutlara sahip yapılar olarak tanımlanır. İlaç salım sistemlerinde, taşıyıcı parçacıkların boyutu kritik bir öneme sahiptir. Optimal etkinlik ve vücutta daha uzun süreli kalış için, bu parçacıkların boyutunun 200 nanometreden (nm) küçük olması gerekmektedir. Bu boyut sınırı, partiküllerin opsonizasyonunu ve retiküloendotelial sistem (RES) tarafından hızla tanınip elimine edilmesini önlemeye yardımcı olur [35]. Nanoparçacıkların küçük boyutları, yüksek yüzey alanı ile birleştiğinde, ilaçların daha etkin bir şekilde emilmesini ve ilaçların hedef dokuya daha etkili bir şekilde ulaşmasını sağlar. Bu özellikle zor erişilebilen hücre ve dokulara ilaç tesliminde büyük bir avantaj elde edilir. Nanoparçacıkların ilaç salımında sağladığı bir diğer avantaj ise ilaçları çevresel faktörlere karşı koruyarak ilaçların stabilitesini artırma özellikleridir. Bu, ilaçların daha uzun süre etkili kalmasını ve daha az sıklıkta uygulanmasını sağlar. Nanoparçacık tabanlı ilaç salım sistemleri ilaçları genellikle kendilerinde bir depo gibi saklarlar ve ilacı doğru yerde ve zamanda salarlar. Böylelikle vücuttaki ilaç salım süreçlerini ve farmokokinetiğini etkileyerek terapötik ilaçların verimliliklerini arttırmış olurlar [7].

İlaç salım sistemlerinde yaygın olarak araştırılan nanoparçacıkların başlıcaları, lipit bazlı nanoparçacıklar, polimerik nanoparçacıklar ve inorganik nanoparçacıklardır.

Nanoparçacıkların Sınıflandırılması



Şekil 2.2. İlaç salım sistemlerinde kullanılan nanoparçacıkların sınıflandırılması ve bazı seçilmiş örnekler [36].

Lipit bazlı nanoparçacıklar ilaç salım sistemleri oluşturmada yaygın olarak kullanılan, en az bir lipit çift katmanı içeren ve en az bir su içeren bölme barındıran küresel yapılardır. Bu özellikleri sayesinde, ilaç moleküllerini etkili bir şekilde hapseder ve hedeflenen dokuya taşırlar. Lipit bazlı nanoparçacıkların ilaç salım sistemleri oluşturmada birçok avantajı vardır. Bunlar arasında, formülasyonun basitliği, biyolojik sistemlerle uyumluluk, yüksek biyoyararlanım ve büyük yük taşıma kapasitesi yer alır. Ayrıca, bu nanoparçacıkların fizikokimyasal özellikleri, biyolojik karakteristiklerini modüle etmek için kolayca ayarlanabilir [37]. Bu özellikleri sayesinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (*Food and Drug Administration - FDA*) onaylı nanoparçacık tabanlı ilaçların çoğu lipit bazlı nanoparçacıklardır [38]. İlaçları kapsülleyerek hedef bölgede ilacın bozunmadan salınmasına olanak sağladığı için ilaç salım uygulamalarında dikkat çekmektedirler. Ayrıca ihtiyaca yönelik olarak boyutları, yüzey yükleri ve diğer özellikleri yüzey modifikasyon yöntemleriyle ayarlanabilmektedir [39]. Bu da ihtiyaca yönelik ilaç salım sistemleri oluşturmada önemlidir.

Polimerik nanoparçacıklar ise monomerlerden ya da önceden oluşturulmuş polimerlerden sentezlenerek, ihtiyaca yönelik çeşitli yapılar ve özellikler oluşturma imkânı sunarak ilaç salım sistemleri oluşturmada yaygın olarak kullanılan bir diğer nanoparçacık türüdür [40]. Polimerik nanoparçacıklar farklı boyut, şekil ve yüzey özellikleri gibi çoklu özelliklerinin hassas bir şekilde kontrol edilebilmesi için formüle edilebilirler. Biyouyumlu ve basit formülasyonları sayesinde hem hidrofobik hem de hidrofilik bileşiklerin yanı sıra küçük moleküllerden biyolojik makromoleküllere kadar geniş bir yelpazede ilaç taşıma kapasitesine sahiptirler [41]. Polimerik nanoparçacıklar bu özellikleri sayesinde ilaçların hedef dokuya doğru ve kontrollü bir şekilde salımını sağlayarak, tedavi etkinliğini artırabilirler.

Son olarak altın, demir ve silika gibi inorganik malzemelerin nano yapılandırılmış türleri ilaç salım sistemlerinde yaygın olarak incelenmektedir. Bu inorganik nanoparçacıklar çok çeşitli boyutlara, yapılar ve geometrilere sahip olacak şekilde hassasiyetle tasarlanabilir. Temel malzemenin özelliklerine bağlı olarak inorganik nanoparçacıklar benzersiz fiziksel, elektriksel, manyetik ve optik özellikler sergileyebilir. Polimerik nanoparçacıklara kıyasla, inorganik nanoparçacıkları ilaç salım sistemleri için kullanmanın avantajları, teslim edilen tedavinin etkisini artırmanın yanı sıra tedavinin etkinliğini görüntüleme ve izleme olanağı sağlamalarıdır [42]. Örneğin altın nanoparçacıklar emilen ışığı yerel ısıya dönüştürme (fototermal etki) kabiliyeti ve sahip olduğu benzersiz optik özellikleriyle ilaç salım sistemlerinde kullanılmaktadır. Biyouyumlulukları, fonksiyonelleşme esneklikleri ve belirli dokulara veya hücrelere yönlendirilebilme yetenekleri, özellikle kanser tedavisinde terapötik stratejiler oluşturmada altın nanoparçacıklar gibi inorganik nanomalzemeleri, çok yönlü bir taşıyıcı araç haline getirir [43].

Bir diğer inorganik nanoparçacık türü olan manyetik demir oksit nanoparçacıklar ise FDA onaylı inorganik nanoparçacık tabanlı ilaçların çoğunluğunu oluştururlar [44]. Mevcut tez çalışmasında ilaç salım sisteminde nanotaşıyıcı olarak seçilen manyetik demir oksit nanoparçacıklar, tezin aşağıdaki bölümünde ayrıca detaylı olarak incelenecektir.

2.1.3. Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklar

Manyetik demir oksit nanoparçacıklar, biyouyumlu yapıları, yüksek kararlılıkları, yüzey modifikasyonuna elverişli yapısı ve süperparamanyetik özellikleri sayesinde biyomedikal uygulamalar için ideal bir platform sunar. Biyomedikal alanda ilk olarak Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) kontrast ajanı olarak kullanılmışlardır [45]. Küçük boyutlarının hücre içine kolay nüfus edebilmesi, yüksek yüzey/hacim oranı sayesinde daha fazla ilaçla etkileşime girebilmesi ve süperparamanyetik özelliğinin sağladığı hedefleme avantajı, kanser tedavisinde ve ilaç salım uygulamalarında da ilgi çekmesini sağlamıştır [46]. Süperparamanyetik özellikleri, nanoparçacıkların harici bir manyetik alan varlığında hızla manyetize olmalarını, bu alan kaldırıldığında ise anında demanyetize olmalarını sağlamaktadır. Bu dinamik, ilaçların hedef dokulara doğrudan ve etkin bir şekilde yönlendirilmesini mümkün kılar, bu da tedavi etkinliğini artırırken yan etkileri minimize eder. 1970'lerde Senyei ve arkadaşları ile Widder ve arkadaşlarının öncülük ettiği bu ilaç salım teknolojisi, o zamandan beri sürekli olarak geliştirilmekte ve test edilmektedir [47], [48].

Manyetik nanoparçacıklar (MNP'ler) yaygın olarak Fe_3O_4 (magnetit), $\gamma-Fe_2O_3$ (maghemit) veya $\alpha-Fe_2O_3$ (hematit) olarak bilinen demir oksitlerden oluşmaktadırlar. Bu demir oksitler, özellikle Fe_3O_4 ve $\gamma-Fe_2O_3$, süperparamanyetik özelliklere sahip olmaları nedeniyle biyomedikal araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır [49]. Magnetit kimyasal yapısı gereği demirin iki farklı oksidasyon durumunu, Fe(II) ve Fe (III), içerir. Bu durum ona diğer demir oksitlere göre daha güçlü manyetizma özelliği kazandırsa da bir dezavantajı bulunmaktadır; Fe(II) iyonlarından kaynaklı meydana gelen metal sızıntısı vücutta olumsuz yan etkilere yol açabilir. Buna karşılık $\gamma-Fe_2O_3$ ise zaten vücutta yaygın olarak bulunan Fe(III) iyonlarını salar, bu durum olumsuz bir durum oluşturmadığından ilaç salım uygulamalarında daha sağlıklı bir platform sunar [50]. Bu sebeple tez çalışmasında da maghemit demir oksit ($\gamma-Fe_2O_3$) nanoparçacıklar tercih edilmiştir.

MNP'lerin yüksek yüzey/hacim oranı, onları birçok uygulama için cazip kılarken bazı zorlukları da beraberinde getirir. Yüksek yüzey/hacim oranı, MNP'lerin yüksek yüzey enerjisine sahip olmasına yol açar. Yüksek kimyasal aktiviteleri nedeniyle, MNP'ler atmosferik koşullarda kolaylıkla oksitlenebilir. Ayrıca MNP'ler güçlü manyetik dipol-

dipol etkileşimleri yüzünden agregasyona (parçacıkların bir araya gelmesi) meyillidirler. Oksidasyon ve agregasyon, MNP'lerin manyetik ve dispersiyon özelliklerini olumsuz etkileyebilir [10]. Bu zorlukların üstesinden gelebilmek için, MNP'lerin yüzeyleri hidrofilik polimerlerle çeşitli yöntemlerle modifiye edilebilir [11]. Yüzey modifikasyonları, nanoparçacıkların kimyasal ve fiziksel bütünlüğünü koruyarak oksidasyonu önler, hidrofobik yüzeylerini değiştirerek sulu ortamlarda daha iyi dağılmalarını sağlar [51]. Ek olarak yüzey modifikasyonları ile, MNP'lerin ilaç salımı gibi uygulamalarda pH veya sıcaklık gibi dış uyaranlara yanıt verecek şekilde tasarlanması mümkün olur [8]. Ayrıca yüzeye eklenen polimerik malzeme, yüksek bir ilaç taşıma kapasitesi de sağlar. Böylece, yüzey modifikasyonları MNP'leri çeşitli ihtiyaçlara göre fonksiyonelleştirir ve ilaç salım uygulamalarında etkinliklerini artırır.

Literatürde MNP'lerin modifiye edilerek ilaç salım çalışmalarında kullanıldığı birçok örnek mevcuttur. Örneğin, Zhou ve arkadaşları pH duyarlı kontrollü ilaç salım sistemi oluşturmak amacıyla MNP'leri pH duyarlı polimer poli(dimetil amino etil metakrilat) (pDMAEMA) ile modifiye etmişlerdir. İlaç salım kinetiğini incelediklerinde polimer içerisine yüklenen ilaçların salımının, pDMAEMA'nın pH duyarlılığı sayesinde ortamın pH değerlerindeki değişikliklerle, etkili bir şekilde kontrol edilebildiğini göstermişlerdir [52].

Koppolu ve arkadaşları ise ilerlemiş tiroid kanserinin tedavisi için olası hedefe yönelik bir ilaç salım sistemini, MNP'lere poli(N-izopropilakrilamid-akrilamid-allilamin) (TPMNP) modifiye ederek geliştirmiştir. Doksorubisin kullanılarak yapılan ilaç yükleme ve salım çalışmaları, ilaçların TPMNP'lerden sıcaklığa duyarlı olarak salındığını göstermiştir [53].

Cai ve arkadaşları, manyetik alanla aktifleşebilen ve pH'a duyarlı kontrollü ilaç salım sistemi olan karboksil ile modifiye edilmiş $Fe_3O_4@SiO_2$ nanoparçacıkları ($Fe_3O_4@SiO_2-Glu$) yeşil bir yöntemle sentezlemişlerdir [54]. Model ilaç olarak seçtikleri doksorubisin ilacının $Fe_3O_4@SiO_2-Glu$ nanoparçacıkların yüzeyine 34 mg/g yüklenme kapasitesine sahip olduğunu ve $Fe_3O_4@SiO_2-Glu$ nanoparçacıkların farklı pH değerlerindeki salım çalışmalarında 72 saat sonunda en çok salımın, pH 3,5'ta ilacın %60,8'inin salındığını

gözlemlenmişlerdir. Bu durumun $Fe_3O_4@SiO_2$ -Glu nanoparçacıklarının yapısındaki negatif yüklü -COOH gruplarının oldukça pozitif yüklü DOX ile elektrostatik etkileşim oluşturmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Bu tez çalışmasında, kontrollü bir ilaç salım sistemi oluşturmak için manyetik Fe_2O_3 nanoparçacıklar kullanılacaktır. Yukarıda açıklandığı üzere, bu nanoparçacıkların ilaç salımlarını optimize etmek, oksidasyon ve agregasyonlarını önlemek ve yapılarına yüksek oranda ilaç taşıma kapasitesi kazandırmak için, bir polimerle modifiye edilmeleri gerekmektedir. Bu doğrultuda, tez çalışması kapsamında biyouyumlu ve hidrofilik bir polimer olan poli(2-hidroksi etil metakrilat) (pHEMA), bu amaca uygun bir polimer olarak belirlenmiştir. Tez kapsamında kullanılacak model ilaç olan doksorubisin HCl (DOX) kanser tedavilerinde sıklıkla kullanılmaktadır ve pek çok kanser tedavisi için model bir tedavi ajanı niteliğindedir [55], [56]. Ayrıca DOX ile pHEMA arasındaki etkileşimin pH duyarlı olduğu bilinmekte olup, bu durum salım profilinin pH'ye duyarlı gerçekleşme potansiyelini sağlar [57].

2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve bu monomerin modifikasyonu ile elde edilen HEMA-bazlı polimerler, yüksek su çözünürlükleri, toksik olmamaları ve doku uyumluluğu sergilemeleri gibi benzersiz özellikleri nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır [58]. Yapısında, benzersiz özelliklerine katkıda bulunan hidrofobik metakrilat gruplarını ve hidrofilik hidroksietil gruplarını bir arada bulunur. Suda sahip olduğu yüksek şişme kapasitesi nedeniyle pHEMA hidrojelleri de pek çok biyomedikal uygulamada kullanım potansiyeline sahiptir [59]. pHEMA'nın pH'ye duyarlılık gösteren türevleri, hedef pH değerlerine ulaşıldığında ilacın salımını tetikleyebilir. Bu özellik, pHEMA'nın ilaç salım sistemlerinde etkili bir materyal olarak kullanılmasını mümkün kılar.

Farzanfar ve arkadaşları, anti-kanser ilacı metotreksatin (MTX) pH duyarlı salımın gerçekleştirilmesi amacıyla nanohidrojel olarak tersinir katılma-ayrılma zincir transferi (RAFT) polimerizasyonu ile pHEMA nanohidrojel sentezlemişlerdir [60]. Nanohidrojel yapının ilaç yüklenme ve salım davranışını incelediklerinde %65 yükleme kapasitesi olduğunu ve asidik ortamda daha fazla miktarda salım yaptığını göstermişlerdir. Asidik

ortamda daha fazla salım gerçekleşmesini MTX molekülleri ile HEMA'nın hidroksil grupları arasındaki ester bağlarının asidik pH'deki hidrolizinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

2.2. İnorganik Nanoparçacıkların Yüzey Modifikasyonu

MNP'lerin biyomedikal uygulamalardaki başarısının temel taşlarından biri olarak, yapıların yüzey modifikasyonları, bu ileri teknoloji materyallerin biyolojik ortamlarla etkileşimini ve işlevselliğini önemli ölçüde artırır. Gelişmiş ilaç salım sistemlerinin tasarımında, MNP'lerin yüzey özelliklerinin kontrol altına alınması ve istenilen biyoyumluluğa ulaşılması bu sürecin vazgeçilmez bir parçasıdır. İşte bu kritik noktada, yüzey modifikasyon teknikleri devreye girer. Bu teknikler, MNP'lerin yüzeyini, ilaç salım uygulamalarında karşılaşılan oksidasyon ve agregasyon gibi zorlukların üstesinden gelebilecek şekilde optimize eder. Ayrıca bu modifikasyonlar, çeşitli dış uyaranlara yanıt verebilme yeteneği gibi yeni işlevler kazandırarak, MNP'leri ilaç salım sürecinde daha dinamik ve hedef odaklı hale getirir. Bu bölümde, nanoparçacıklar için yüzey modifikasyon teknikleri, modifikasyon süreçlerinin detayları ve mevcut tez çalışması kapsamında geliştirilen yüzey modifikasyon yöntemi ele alınacaktır. Bu sayede, manyetik demir oksit nanoparçacıkların potansiyeli maksimum seviyede kullanılarak, hedeflenen tedavi alanlarına doğrudan ulaşabilen yenilikçi ilaç salım sistemleri geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Yüzey modifikasyonu, malzemelerin yüzey özelliklerini optimize etmek için kullanılan karmaşık bir dizi işlem ve teknolojiyi ifade eder. Bu işlemler, genellikle substrat ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimi düzenlemek amacıyla, malzemenin kimyasal kompozisyonu, topografik yapısı, morfolojik özellikleri, ıslanabilirlik kapasitesi ve mekanik dayanıklılığı gibi özelliklerini hedef alır [13]. Yüzey modifikasyonunun endüstriyel önemi biyomedikal cihazlar, otomotiv bileşenleri, elektronik ürünler ve nanoteknolojik uygulamalar gibi çeşitli alanlarda kendini göstermektedir. Bu işlemler malzemelerin belirli uygulamalara uygunluğunu artırmak için tasarlanmıştır. Yukarıda da vurgulandığı gibi, kontrollü ilaç salım sistemleri oluşturmak amacıyla manyetik nanoparçacıkların kullanılabilmesi için ilaç taşıma kapasitelerinin, biyoyumluluklarının ve ıslanabilirliklerinin artırılarak, agregasyon gibi engellerin ortadan kaldırılması

amacıyla yüzey modifikasyon işlemleri uygulanmalıdır. Bu bağlamda literatürde birçok yüzey modifikasyon tekniği raporlanmıştır. Aşağıdaki kısımda, bu teknikler fiziksel ve kimyasal modifikasyon teknikleri olmak üzere iki ayrı kategoride incelenecektir.

2.2.1. Fiziksel Yüzey Modifikasyon Teknikleri

Fiziksel yüzey modifikasyon teknikleri, atom veya moleküllerin bir yüzey ile oluşturduğu fiziksel bağlanma süreçlerini içerir. Bu bağlar tipik olarak zayıf Van der Waals kuvvetleri ya da hidrojen bağları aracılığıyla kurulur ve genellikle düşük enerjili bağlar olarak tanımlanır. Bu yöntemler, yüzeyin kimyasal kompozisyonunda önemli değişiklikler yapmaksızın, yüzey enerjisi, su tutma kapasitesi ve diğer fiziksel özelliklerde düzenlemeler yapabilir.

Yüzey karakteristiklerini modifiye etmek için kullanılan en temel fiziksel modifikasyon tekniği daldırma-kaplama yöntemidir. Daldırma-kaplama yöntemi, bir yüzeye ince bir film veya kaplama uygulamak için kullanılan bir süreçtir [61]. Bu yöntem, yüzeyi istenilen kaplama malzemesini içeren bir sıvı çözeltisine daldırmayı ve ardından kontrollü bir hızla çıkarmayı içerir. Yüzey çözeltiden çıkarılırken, üzerinde ince bir sıvı filmi kalır. Zorjonovic ve arkadaşları süpermanyetik özellikte poliester malzemeler geliştirmek amacıyla kumaşları demir oksit nanoparçacıklar ile daldırma-kaplama yöntemiyle modifiye etmişlerdir. İlk olarak, poliester malzeme dodesilamin ile işlenerek amino grupları ile fonksiyonelleştirilmiştir [62]. Daha sonra, bu fonksiyonelleştirilmiş malzeme, demir oksit partikülleri içeren bir çözeltiye daldırılarak kaplanmıştır. Son adımda, kaplanan malzeme 130°C'de 3 saat boyunca ısıtılarak süpermanyetik özellikler kazanmıştır.

Bir diğer fiziksel modifikasyon yöntemi ise Langmuir-Blodgett (LB) tekniğidir. LB moleküllerin veya nanoparçacıkların bir sıvı yüzey üzerine katmanlar halinde eklenerek yüzey işlevselliğinin artırılmasını sağlar. Zhen Gu ve ekibi, antibakteriyel nanoparçacıkların mikroıgneler üzerinde modifikasyonu için Langmuir-Blodgett tekniğini kullanmışlardır [63]. Bu strateji, geleneksel daldırma ve kaplama yöntemlerine nazaran, mikroıgnelere hızlı, etkili ve uzun süreli antibakteriyel özellikler kazandırma

avantajları sunmuştur. Araştırmacılar, basit bir Langmuir-Blodgett tekniği kullanarak gerçekleştirilen modifikasyonların, mikroïğnelerin uzun vadeli transdermal ilaç salımı fonksiyonlarının genişletilmesine imkan tanıyan bir platform sunduğuna inanmaktadırlar [63].

Ancak, başarılı uygulamalara rağmen fiziksel modifikasyon teknikleri birtakım dezavantajlara sahiptir. Örneğin, LB tekniğinin moleküler düzeyde film kalınlığı kontrolü gibi önemli avantajları olmasına rağmen, mekanik dayanıklılık eksikliği ve yüksek maliyet gibi dezavantajlara sahiptir. Daldırma-kaplama yöntemi ise, geniş malzeme yelpazesıyla uyumlu ve kullanım kolaylığı sunar, ancak film kalınlığının hassas kontrolünün eksikliği ve düzensiz yüzey oluşumu riski gibi dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlar, yöntemlerin bazı uygulamalarda kararsız ve kısa ömürlü modifikasyonlara yol açabileceğini ve dolayısıyla yetersiz olabileceğini göstermektedir. Bu sınırlamalar, daha kararlı ve uzun ömürlü yüzey modifikasyonlarına olan ihtiyacı vurgulamaktadır ve bu noktada kimyasal modifikasyon yöntemleri devreye girmektedir.

Nanoparçacıkların yüzeylerinin modifikasyonunda da fiziksel bağlanma süreçleri yüzey modifikasyonu amacıyla uygulanabilir. Örneğin, bovine serum albümin (BSA) gibi protein yapıları fiziksel etkileşimlerle çeşitli nanoparçacıkların yüzeylerini kaplayıp nanoparçacık-protein konjugatları oluşturabilir. Bu nanoparçacık-protein konjugatları, biyolojik teşhisler ya da ilaç taşıma sistemleri gibi uygulamalarda potansiyel sergilemelerinin yanı sıra, çeşitli nanoyapıların sentezlenmesi için de çok yönlü ve etkin bir yöntem sunarlar. Örneğin, Zhong ve arkadaşları BSA'nın özel amfifilik özelliklerine bağlı olarak fiziksel adsorpsiyon ve elektroforetik izolasyon yoluyla altın nanoparçacıkların yüzeyine bağlanabildiğini göstermişlerdir [64]. NP'lerin yüzey özellikleri, örneğin ne kadar hidrofilik oldukları ya da yüzeydeki fonksiyonel grup varlığı ve miktarı, bu tür fiziksel etkileşimlerin kurulmasında önem taşımaktadır. Bir başka çalışmada Guo ve arkadaşları, gümüş nanoparçacıkların yüzeyinin amfifilik sentetik polimerlerle ve BSA ile fiziksel etkileşimler yoluyla kaplandığını göstermiştir [65]. Bu çalışmada, amfifilik polimerlerin, metal, yarı iletken ve manyetik nanoparçacıklar gibi yüzeylere fiziksel adsorpsiyon yöntemiyle bağlanmasıyla elde edilen konjugatların, kimyasal bağlanma yöntemlerine kıyasla kolay ve geri döndürülebilir bir alternatif yol

sunduğu vurgulanmıştır. Literatür incelendiğinde, özellikle altın nanoparçacık yüzeylerinin fiziksel etkileşimler yoluyla sıklıkla protein yapılarıyla modifiye edildiği görülebilir. Bunun temel nedeni, altın nanoparçacıkların protein yapılarında bulunan tiyol türevlerine kemisorpsiyon yoluyla bağlanabilmesidir. Ancak yine de bu bağlanma sürecinde üç fiziksel etkileşim türünün de etkili olduğu rapor edilmiştir. Bunlar; (a) negatif yüklü altın ile pozitif yüklü protein arasındaki iyonik çekim; (b) protein ile altın yüzeyi arasındaki hidrofobik çekim; (c) altının serbest elektronları ile proteinin amino asit sülfür atomları arasındaki koordine bağlanma [12], [66]. Benzer etkileşimler farklı nanoparçacıkların fiziksel yollarla gerçekleştirilen yüzey modifikasyonunda da etkilidir.

Fiziksel etkileşimler yoluyla nanoparçacıkların yüzeylerinin modifiye edilmesi basit bir alternatif olarak karşımıza çıksa da bu bağlanmalar oldukça zayıf olabilmektedir. Bu da modifikasyonun çevresel koşullara bağlı olarak zamanla değişkenlik gösterebileceği anlamına gelir. Fiziksel etkileşimler genellikle belirli bir spesiflik düzeyine sahip değildir, bu nedenle modifikasyonun belirli bir hedefe yönlendirilmesi neredeyse imkansızdır. Ayrıca, fiziksel modifikasyonlar çoğunlukla belirli fonksiyonel grupları eklemeye izin verdiğinden sınırlıdır, ki bu nanoparçacıkların belirli uygulamalara uyum sağlama yeteneklerini kısıtlayabilir. Bu nedenle fiziksel yöntemlere alternatif olarak kimyasal modifikasyon yöntemleri, nanoparçacıkların yüzey özelliklerinin ayarlanması amacıyla literatürde sıklıkla uygulanmaktadır. Aşağıdaki bölümde bu yöntemler tartışılmaktadır.

2.2.2. Kimyasal Yüzey Modifikasyon Teknikleri

Kimyasal modifikasyon, yüzeye kovalent bağlar aracılığıyla yeni kimyasal gruplar eklemeyi içeren bir süreçtir. Bu işlem, yüzeyin reaktif gruplarının aktivasyonunu ve ardından istenen fonksiyonel grupların bağlanmasını kapsar ve genellikle kalıcı bir yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmeye olanak tanır. Kimyasal modifikasyon, yüzey özelliklerini hedeflenen uygulamalara uygun olarak özelleştirmeyi sağlar ve bu sayede malzemelerin performansını ve işlevselliğini artırır. Bu bölümde sıklıkla başvurulan kimyasal modifikasyon yöntemleri ele alınacaktır.

Son yıllarda, kendiliğinden oluşan tek tabaka (*Self-assembled monolayer* – SAM) yöntemi, özellikle metal elektrot yüzeylerin modifikasyonu için sıklıkla başvurulan bir kimyasal modifikasyon yöntemidir. SAM, moleküllerin spontane olarak düzenli ve sıkıca paketlenmiş tek bir tabaka oluşturmak üzere bir yüzeye adsorbe olmasıyla karakterize edilir [67], [68]. Bu moleküller genellikle bir baş, bir kuyruk ve bir bağlayıcı gruptan oluşur [69]. Baş grubu yüzeye adsorbe olurken, kuyruk grubu dışa doğru uzanır. Bu yapısal düzenleme, yüzey özelliklerinin değiştirilmesi amacıyla kullanılır. SAM yüzey modifikasyon teknolojisi protein adezyonu, hücre adezyonu ve antibakteriyal özellikler, ıslanabilirlik, kimyasal reaktivite ve biyouyumluluk gibi çeşitli özelliklerin değiştirilmesinde etkilidir ancak metal ve hidroksil sonlandırılmış yüzeyler gibi sınırlı yüzey seçeneklerine sahiptir. Park ve arkadaşları, altın nanoparçacıklar ve SAM ile modifiye edilmiş altın elektrot yüzeylerine enzimlerin immobilize edilmesini araştırmıştır [70]. Hardal otu peroksidazı, altın elektrot üzerindeki modifiye yüzeye immobilize edilerek bir biyosensör matrisi oluşturmuşlardır. Altın nanoparçacık ve SAM'lara dayalı enzim biyosensörleri, stabilite, basitlik, yanıt süresi ve enzim miktarı açısından birçok avantaj sunduğunu göstermişlerdir.

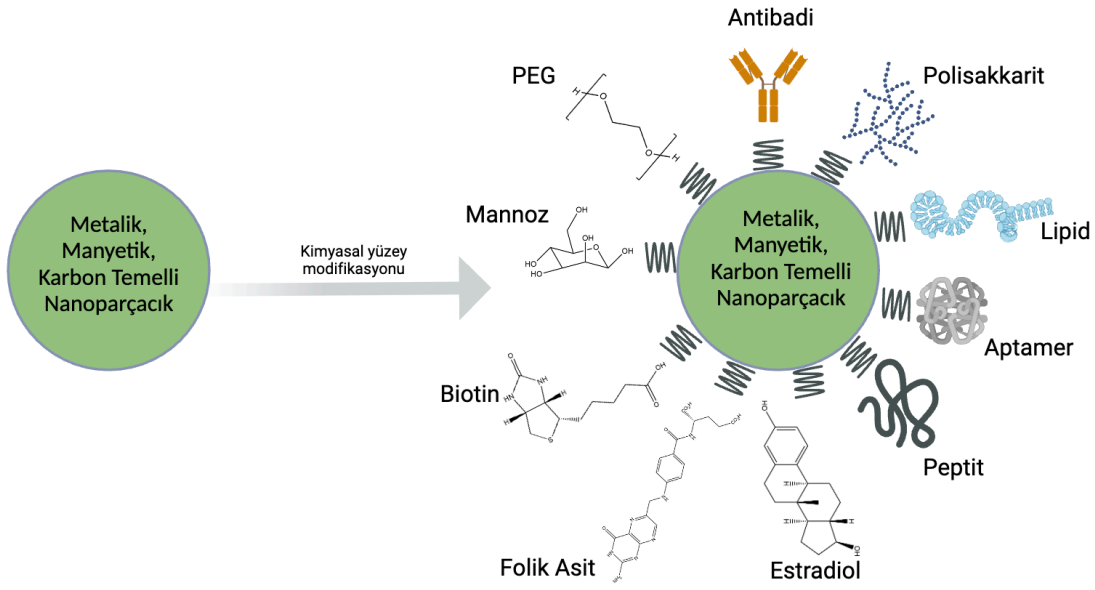
Plazma polimerizasyonu, malzemelerin yüzey özelliklerini iyileştirmek ve fonksiyonelleştirmek için kullanılan bir diğer kimyasal modifikasyon yöntemidir. Bu metod, yüksek enerjili plazma durumunu kullanarak monomerleri yüzeylere bağlar ve böylece yüzey üzerine ince bir polimer tabakası oluşturur [71]. Elde edilen bu tabaka, malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerini değiştirebilir; örneğin, hidrofobik veya hidrofilik özelliklerini artırabilir, biyouyumluluğu iyileştirebilir veya belirli moleküllere bağlanma yeteneği sağlanabilir [72], [73]. Zhang ve arkadaşları, plazma polimerizasyonu yöntemi kullanarak TiO₂ nanoparçacıklarının yüzeylerini poli(akrilik asit) ile modifiye etmişlerdir. İnce bir tabaka poli(akrilik asit) aşılacakları TiO₂ nanoparçacıklarının dağılma davranışlarının iyileştiğini ve çökelmenin engellendiğini gözlemlemişlerdir [74]. Ancak, plazma polimerizasyonunun yüzey modifikasyonunda kullanımı bazı zorlukları da beraberinde getirir. Yüksek vakum gereksinimi nedeniyle yüksek maliyetler oluşabilir, plazma-yüzey etkileşimlerinin karmaşık doğası nedeniyle mekanizmaları detaylı olarak incelemek ve ayarlamak güçtür ve laboratuvar ölçeğinden endüstriyel ölçeğe geçiş yapmak zordur [75].

Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP), yüzey modifikasyon çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir diğer tekniktir. Bu yöntem, kontrollü radikal polimerizasyonu teknikleri arasında yer almakta ve polimer zincirlerinin büyümesini atomik düzeyde kontrol etmeyi sağlamaktadır [76]. ATRP, spesifik fonksiyonel grupların yüzeylere yerleştirilmesi ve polimerik yapıların yüzey üzerinde homojen bir şekilde dağıtılmasına olanak tanır [77]. Kısaca ATRP, yüzeye sabitlenmiş bir başlatıcı molekülün radikal polimerizasyonunu tetikleyerek yüzeyden doğrudan polimer zincirlerinin büyümesini sağlar. İnorganik nanoparçacıkların yüzey özelliklerini modifiye etmek için ATRP, birçok çalışmada tercih edilmiştir [78]–[81]. Örneğin Zhou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, manyetik nanoparçacıkların yüzeyini biyouyumlu, hidrofilik ve pH duyarlı dimetil amino etil metakrilat polimeri (pDMAEMA) ile modifiye etmek için ATRP kullanmışlardır. pDMAEMA ile modifiye edilen manyetik nanoparçacıklar ile hedefli ilaç dağıtımına olanak sağlayan, pH duyarlı, kontrollü bir salım sistemi oluşturulmuştur [52]. Yüzey modifikasyon yöntemi olarak ATRP etkili bir yöntem olarak dikkat çekse de göz ardı edilemeyecek dezavantajları da bulunmaktadır. ATRP için metal katalizörlerin gerekliliği ve bu katalizörlerin potansiyel toksisitesi, biyomedikal uygulamalarda sınırlamalar oluşturmaktadır [82].

Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (*Ring-Opening Metathesis Polymerization* ROMP), kimyasal yüzey modifikasyonu teknikleri arasında etkili bir başka yöntemdir. Bu süreç, halkasal olefinlerin halka yapısını bir katalizör yardımıyla açarak lineer polimerlerin oluşumunu teşvik eden bir zincir büyüme polimerizasyonu çeşididir [83]. Yüzey işlevselliğini değiştirmek için kullanılan bu metodoloji, özellikle polimerik fırçaların yüzeylere eklenmesi yoluyla malzemelerin hidrofobiklik, kimyasal tepkime kabiliyeti ve biyolojik uyumluluk gibi karakteristiklerini hassas bir şekilde ya da kontrollü olarak modifiye etmeyi mümkün kılar [84]. ROMP yönteminin yüzey modifikasyonu için kullanımı, özellikle pahalı ve özelleşmiş katalizörlerin gerekliliği, katalizör kalıntıları ve sınırlı monomer uyumluluğu gibi dezavantajlar nedeniyle bazı uygulamalarda kısıtlıdır. Bu dezavantajlar, yöntemin maliyetini artırır ve özellikle biyomedikal ve çevresel duyarlılık gerektiren alanlarda ROMP tekniğinin kullanımını sınırlar.

Katodik ve anodik elektropolimerizasyon, yüzey modifikasyonu için kullanılan başka iki önemli yöntemdir. Her iki metot da, elektrokimyasal süreçler yoluyla polimer tabakaların oluşturulmasına dayanır [85]. Elektropolimerizasyonun temel süreci, elektrokimyasal hücrede bir elektrot (anot veya katot) üzerinde, uygulanan bir voltaj veya akım aracılığıyla monomerlerin polimerleşmesini tetiklemektir. İletken ve yarı iletken yüzeylere uygulanan bu süreç, yüzeylere fonksiyonel polimer tabakaları ekleyerek malzemelerin yüzey özelliklerinin değiştirmekte kullanılır [86]. Bu yöntem genellikle metal yüzeylere biyouyumluluk, korozyona karşı direnç ve antibakteriyel özellikler kazandırmak için tercih edilir [87]. Katodik ve anodik elektropolimerizasyonun kullanımı, yüksek teknik ve maliyet gereklilikleri, sınırlı malzeme uyumluluğu, kalınlık ve homojenlik kontrolünde zorluklar, özenli yüzey hazırlığı ihtiyacı ve çevresel güvenlik endişeleri gibi dezavantajlarla karşı karşıyadır. Bu faktörler, yöntemin geniş çaplı uygulanabilirliğini ve bazı özel uygulamalar için tercih edilirliliğini sınırlar.

Yüzeyde uygun fonksiyonel grupların bulunması durumunda, asit/amin gruplarının reaksiyonuyla oluşan amit bağları, maleimid/tiyol gruplarının bağlanması ile oluşan tiyo-eter bağları, tiyol/tiyol etkileşimleri yoluyla oluşan disülfid bağları, hidrazin ve aldehit reaksiyonu ile oluşan hidrazon bağları veya azit/alkin kenetlenmesi (klik kimyası) yoluyla oluşan triazol halkası gibi çeşitli kimyasal süreçlerle, farklı pek çok fonksiyonalitye nanoparçacık yüzeylerine kimyasal olarak bağlanabilir [12].



Şekil 2.3. Bir nanoparçacığın farklı model yapılarla kimyasal modifikasyonunu gösteren temsili resim [12]

Son yıllarda, kontrollü ilaç salım sistemlerindeki yenilikçi gelişmeler kanser tedavisinde önemli ilerlemeler sağlamıştır. Bu bağlamda, MNP'ler, fonksiyonelleştirilebilir yüzey özellikleri ve manyetik yönlendirilebilirlikleri sayesinde, bu alandaki araştırmaların odağında yer almaktadır. Ancak ilaç salım sistemleri oluştururken MNP'lerin biyouyumluluğunu arttırmak ve agregasyonun önüne geçmek sistemin verimliliği açısından kritik öneme sahiptir. Bu tez çalışmasında, MNP'lerin yüzeylerini pHEMA ile modifiye etmek suretiyle, pH duyarlı bir ilaç salım sistemi geliştirilmesi hedeflenmektedir. Tez kapsamında bu modifikasyon, ultrases destekli polimerizasyon ve literatürde “*GraftFast*” adı verilen diazonyum tuzlarının indirgenmesiyle gerçekleştirilen bir aşılama tekniği kullanılarak gerçekleştirilecektir. Bu yaklaşımın, MNP'lerin yüzey özelliklerini geliştirerek, ilaç salımını daha etkin ve kontrollü hale getirme potansiyeline sahip olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle aşağıdaki kısımda, ultrases destekli polimerizasyon ve diazonyum tuzları eşliğinde yürütülen bu polimerizasyon tekniği hakkında bilgi verilmektedir.

2.3. Ultrases Destekli Polimerizasyon (Sonokimyasal Polimerizasyon)

Son yıllarda sonokimyasal reaksiyonlar, yeşil ve etkili bir polimerizasyon tekniği olarak ilgi görmektedir. [88]. Sonokimya, ultrases dalgalarının, yani insan işitme duyusunun üst sınırının ötesinde kalan 20 kHz'in üzerindeki frekanslara sahip sesin kimyasal etkileri ve uygulamaları ile ilgilenen bir araştırma alanıdır [89].

Ses frekansları Hz cinsinden ölçülür ve 1 Hz saniyede 1 döngüye eşittir. Ortalama bir insan için tipik işitme aralığı yaklaşık olarak 20 Hz – 20 kHz'dir. Ultrases tanımı ise 20 kHz'den yüksek frekansları ifade etmektedir. Sonokimyada kullanılan ultrases, 20 kHz'den 2 MHz'e kadar geniş bir frekans aralığında araştırılmıştır [90]. Ultrases dalgası maddeler üzerinde fiziksel ve kimyasal değişiklikler meydana getirebilecek yoğun enerjiye sahiptir. Bu ses dalgası sıvı içerisinde mikroskobik kabarcıkların oluşuma ve sonrasında bu kabarcıkların ani çöküşüne yol açar. Bu çöküş olayına "akustik kaviteasyon" denir ve çökme esnasında, kabarcıkların içerisinde ve çevresinde çok yüksek sıcaklık ve basınç koşulları oluşur [91]. Bu durum, çevredeki sıvı ve çözülmüş maddeler üzerinde çeşitli kimyasal reaksiyonların tetiklenmesine yol açar.

Ultrasesin bir polimerizasyonu başlatma mekanizması da temelde akustik kaviteasyon olayı ile ilişkilidir [92]. Ultrases dalgalarının bir sıvının içerisinde uygulanmasıyla oluşan yüksek sıcaklık ve basınç koşulları sıvı içerisinde bulunan monomer moleküllerinin reaktif radikaller oluşturarak polimerizasyon mekanizmasının başlamasına neden olur [93]. Bu süreç, serbest radikal polimerizasyonu olarak bilinir ve genellikle çok hızlı bir şekilde gerçekleşir [94]. Ultrasesle tetiklenen polimerizasyon, geleneksel polimerizasyon tekniklerine göre yeşil kimya ilkelerine uyumlu olmasıyla birçok avantaj sunar. Sonokimyasal Polimerizasyon yönteminin bazı avantajları aşağıda sıralanmıştır:

1. Ultrases ile tetiklenen polimerizasyonda daha yüksek monomer dönüşümü elde edilir, dolayısıyla verimli bir süreçtir [95].
2. Ultrases, hedeflenen kimyasal reaksiyonları doğrudan tetikleyerek reaksiyonları başlatmak için gerekli enerjiyi sağlar ve bu da geleneksel ısıtma yöntemlerine kıyasla enerji verimliliğini artırır [96].

3. Ultrases, reaksiyon hızını arttırarak polimerizasyon süreçlerinin geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı tamamlanmasına olanak tanır [97], [98].
4. Ultrases ile tetiklenen polimerizasyon süreçleri, zararlı kimyasal başlatıcı kullanımını ortadan kaldırır [93], [95]. Ayrıca direkt olarak monomerle etkileşime geçerek yan ürün oluşumunu azaltır, bu da daha az atık ortaya çıkararak saflaştırmada kolaylık sağlar. Dolayısıyla sonokimyasal yöntemler genel olarak çevre dostu kimyasal süreçler olarak nitelendirilirler.

Literatürde ultrasesin yüzey modifikasyonunda kullanıldığına dair örnekler bulunmaktadır. Örneğin, Shimpi ve arkadaşları, ultrases destekli çökeltme tekniği kullanarak kalsiyum karbonat ($n\text{CaCO}_3$) nanoparçacıklarının optimize sentez koşullarını açıklamışlardır. Ultrasonikasyon sayesinde reaksiyon karışımının reaktif bileşenleri homojen olarak dağıtılırken, aynı zamanda $n\text{CaCO}_3$ nanoparçacıklarının yüzeylerinde geliştirilen güçlü elektrostatik çekim kuvveti nedeniyle birbirleriyle olan aglomerasyonu gidermek ve yükün nötralize edilmesi amacıyla nanoparçacıkların yüzeyi trietoksi vinil silan (TEVS) ile modifiye edilmiştir [99]. Çalışmalarının sonucunda $n\text{CaCO}_3$ nanoparçacıkların yüzeyine TEVS'i başarılı bir şekilde modifiye ederken aglomerasyonu engellemişlerdir. Uygulanan sonokimyasal yöntemle, $n\text{CaCO}_3$ nanoparçacıkların yüzeyine TEVS'in başarılı bir şekilde bağlandığı ve agregasyonu engellendiği tespit edilmiştir. Bir başka örnekte ise, Chu ve arkadaşları, nişasta ve bütül akrilatın aşu polimerizasyonlarını ultrases ile ve ultrases olmadan gerçekleştirmişlerdir [100]. 40 kHz ultrasesle gerçekleştirdikleri aşu polimerizasyonu sürecinde reaksiyon süresi, sıcaklık, başlatıcı miktarı gibi parametreleri aşılama verimliliği ve monomer dönüşümü üzerindeki etkisine göre değerlendirmişlerdir. Ultrasesle gerçekleştirdikleri aşu polimerizasyonunun geleneksel aşu polimerizasyon yöntemiyle karşılaştırdıklarında ultrases desteğinin aşılama oranını ve monomer dönüşümünü önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca nişasta ve başlatıcının monomer eklenmeden önce ultrasese tabi tutulmasının da aşu oranını ve verimliliğini arttırdığını gözlemlemişlerdir.

2.4. Diazonyum ile Tetiklenen Bağlanma Süreci ve Mekanizması

Aril diazonyum tuzlarının elektrokimyasal indirgenmesi, karbon, metaller ve yarı iletken yüzeylere uygulanabilen, literatürde birçok örneği olan bir yüzey modifikasyon

yöntemidir [101], [102]. Elektrokimyasal indirgenme; diazonyum tuzuna indirgeyici bir elektron transferini, aril radikallerinin oluşumuna yol açan dinitrojenin bölünmesi ile eşleştirmeyi ve ardından bu radikallerin karbon-karbon veya karbon-metal kovalent bağları yoluyla yüzeye bağlanmasını içerir. Ancak, elektrokimyasal yöntemler belirli cihazlar ve kontrollü laboratuvar koşulları gerektirmektedir. Son çalışmalar, aril diazonyum tuzlarının demir, bakır veya çinko gibi indirgen metallere karşı kendiliğinden gerçekleşen yüzey reaktivitesini göstermiş ve bu etkileşimin substrat yüzeyinde polinitrofenilen benzeri bir katmanın oluşumuna yol açtığını ortaya koymuştur [103], [104]. Mevellec ve arkadaşları, bu gözleme dayanarak heterojen elektron transferinin sulu ortamda aktif radikaller üretmek için etkili bir yöntem olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir [105]. Bunun yanı sıra, aril diazonyum tuzlarının indirgenmesiyle radikallerin oluşumu, modifiye edilecek yüzeyde polifenilen benzeri bir film katmanı oluşturmanın yanı sıra, ortamda vinilik bir monomer bulunduğu takdirde, bu monomerlerin radikal polimerizasyonunu ve oluşan öncü polifenilen benzeri tabakaya bağlanmaları ile yüzeye aşılınmalarını da tetiklendiği kanıtlanmıştır [14].

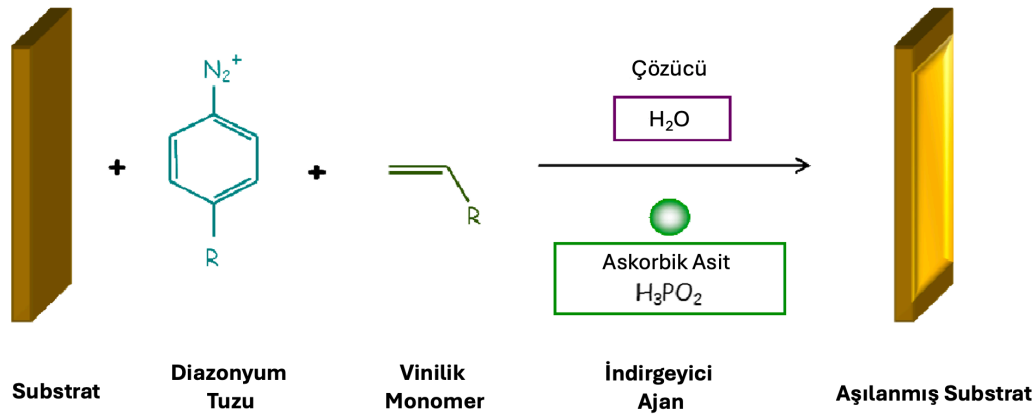
Bu yöntem özellikle yüzey modifikasyonu ve koruyucu kaplamalar oluşturma açısından önem taşımaktadır. “Diazonium-induced anchoring process” (DIAP) --*Diazonium ile Tetiklenen Bağlama Süreci*-- veya “*GraftFast*” olarak adlandırılan ve vinilik bir monomerin varlığında veya yokluğunda diazonyum tuzlarının indirgeyici ajanlar tarafından kimyasal olarak indirgenmesine dayanan bu yüzey modifikasyon tekniği kararlı ve homojen bir kaplama imkânı sunar. DIAP kaplama yöntemi; yalıtkan, iletken, teflon, PTFE, cam, metal, nanoparçacıklar ve bir çok yüzeye kovalent filmler aşılamaı mümkün kılmaktadır [14]. Diazonyum ile Tetiklenen Bağlama Süreci (DIAP), aril diazonyum tuzu kimyasına dayanan ve ilk kez Pinson tarafından önerilen bir yöntemdir. Pinson, diazonyum tuzu ile aromatik gruplar arasındaki nükleofilik aril substitüsyon reaksiyonunu kullanarak karbon elektrotlara polifenilen benzeri bir filmi kovalent olarak aşılamiştir ve çalışması saygın *Journal of the American Chemical Society* dergisinde yayımlanmıştır [101]. Literatüre ilk kez tanıtıldıkları 1992 yılından günümüze, aril diazonyum tuzlarının yüzeylere polimerlerin, biyomakromoleküllerin ve nanoparçacıkların bağlanması için yeni bir bağlayıcı ajan sınıfı olarak kullanımlarına yönelik pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir [106]–[109]. Bu çalışmalarda, geniş bir reaktif fonksiyonel grup seçeneği ve son derece güçlü olan aril-yüzey kovalent

bağlanmalarının avantajlarına dayanarak, DIAP, polimer, inorganik yüzey veya nanoparçacıklar gibi çeşitli malzemelerin yüzeylerinin modifikasyonunda etkin bir yöntem olarak gösterilmiştir.

Mesnage ve arkadaşları, DIAP mekanizmasının açıklamak için bir dizi deney gerçekleştirmiştir [14]. Bu deneylerde oluşan kısa ömürlü serbest radikallerin tespiti ve tanımlanması spin-yakalama ve Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR) tekniği kullanarak gerçekleştirilmiştir. Spin yakalama, kimya ve biyolojide EPR ile birlikte kullanılan, kısa süreli serbest radikallerin saptanmasını ve tanımlanmasını sağlayan bir analiz tekniğidir [110]. İndirgeyici ajanın, DIAP mekanizmasındaki rolünü açıklamak amacıyla, indirgeyici ajan olmadan altın ve diazonyum tuzunun reaksiyonu incelendiğinde, altın yüzeyde çok ince bir PNP tabakası gözlemlenmiştir. Ancak EPR sonuçlarında aril radikallerin oluşmadığı tespit edilmiştir. Vinilik bir monomer varlığında gerçekleştirilen benzer bir deneyde de, radikal polimerizasyonun başlamadığı, dolayısıyla ortamda indirgeyici ajan olmadığında aril radikallerin oluşmadığı gözlemlenmiştir [14]. İndirgeyici ajan, diazonyum tuzlarının elektrokimyasal reaksiyonuna benzer olarak DIAP mekanizmasında, diazonyum öncüllerinin indirgenmesi ile dinitrojenin ayrılmasının eş zamanlı gerçekleşmesi sonucunda, hidrojen ve aril radikallerin oluşumunu sağlar. Oluşan aril radikaller, karbon-metal bağları aracılığıyla substrata kovalent olarak bağlanır [111]. Substrata bağlanan aril radikaller, polifenilen benzeri tabakanın substrat üzerindeki oluşumunu ve aynı zamanda çözelti içinde vinil monomerlerin radikal polimerizasyonunu başlatır. Bu aşamada substrat üzerinde oluşan polifenilen benzeri tabaka, vinilik radikallerin polimerizasyonu ile birleşir. Oluşan aril ve hidrojen radikalleri bu iki süreci tetikler. Büyüyen makro-radikal zincirleri, polifenilen benzeri tabaka ile etkileşime girerek yüzeye tutunmuş bir kopolimer filminin oluşmasına yol açar. Makro-radikal zincirlerde bulunan fenil gruplarının ardışık olarak eklenmesiyle polimer film büyür. Dolayısıyla nihai kaplama, polifenilen benzeri tabaka da kovalent olarak aşılınmış, hem vinilik monomer hem de diazonyum tuzlarından kalan aril grupları içeren bir kopolimerdir. Bu mekanizmada tohum polifenilen tabakasının oluşumu, alkil radikallerinin polikondanse aromatik halkalara karşı reaktivitesi ile de açıklanmaktadır [112].

Alkil radikalleri, genellikle bir kimyasal bağı kırılmasıyla oluşan ve elektronu eşleşmemiş bir karbon atomu içeren kararsız moleküllerdir. Bu radikaller yüksek derecede reaktiftir ve çeşitli kimyasal reaksiyonlara girmeye eğilimlidir. Polikondanse aromatik halkalar ise birden fazla benzen halkasının bir araya gelmesiyle oluşan, yüksek kararlılığa sahip büyük aromatik yapıları ifade eder. Bu yapılar, kimyasal reaktivlikleri açısından genellikle daha az aktif olsalar da, uygun koşullar altında reaktif olabilirler. Alkil radikali, elektronu eşleşmemiş bir karbon atomu içerdiğinden, bu elektronu aromatik halkadaki bir karbon atomuyla paylaşarak kovalent bir bağ oluşturabilir. Bu tür bir bağlanma, radikalın aromatik halkaya eklenmesi ve sonuçta yeni bir organik yapı oluşması anlamına gelir [113]. Literatürde diazonyum tuzlarının indirgenerek kovalent olarak çeşitli yüzeylere aşılmasında bu mekanizmadan yararlanılan modifikasyon örnekleri mevcuttur.

Örneğin, Viel ve arkadaşları, p-fenilendiamin (PPD) diazotizasyonu ile üretilen kendiliğinden yüzeyi kaplayarak öncü bir başlatıcı yüzey oluşturan yeni bir "*grafting-from* / yüzeyden aşılama" sürecini tanıtmış ve poliaminofenilen (PAP) tabakasını hedef yüzeylere aşılamaştır [114]. Le'nin grubu ise aril diazonyum "tohum" tabakasına dayalı "yapışkan" yani bir başka polimerin aşılmasına öncülük eden/imkan tanıyan bir yüzeyin oluşturulmasıyla kitosanın çelik yüzeyine kovalent olarak bağlanabileceğini doğrulamıştır [115]. Dolayısıyla, yüzeye aşılana polimerik yapı, kimi durumlarda halihazırda var olan bir polimer de olabilmektedir. Bu basit ve çok yönlü aşılama tekniği hala araştırmaya açık bir alandır ve bilhassa ultrases ile kullanımı sınırlıdır [116].

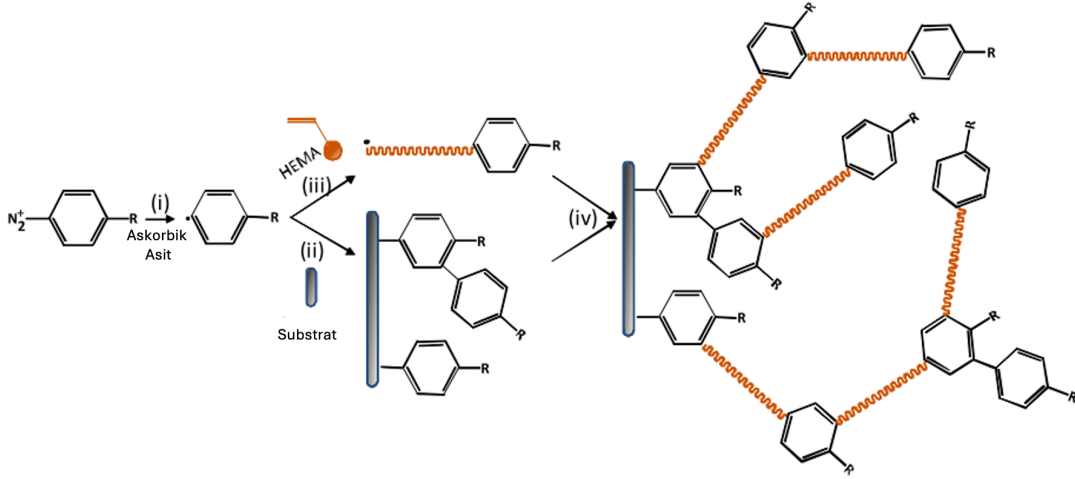


Şekil 2.4. Diazonyum ile tetiklenen bağlanma prosesinin basit bir konseptini temsil eden şematik görsel [117].

DIAP elektrokimyasal indirgenme düzenekleri kullanmaksızın, aril diazonyum tuzlarının, askorbik asit gibi bir indirgeyici ajan varlığında, vinilik monomerlerin basit bir redoks aktivasyonu aracılığıyla oluşan aril radikaller üzerinden polimerleşmesini sağlar [14], [105], [117]. Bu yöntemde, reaktantların konsantrasyonu, işlem süresi ve çevresel koşullar gibi faktörler aşılama kalınlığını ve özelliklerini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır. Diazonyum ile tetiklenmiş aşılama prosesi yüzey modifikasyonunda ve malzeme bilimi alanında birçok önemli avantaj sunmaktadır:

1. DIAP nikel, çinko, platin, titanyum, altın, karbon lifleri, plastikler, selüloz, nanoparçacıklar ve karbon nanotüpler gibi farklı yapıların yüzey modifikasyonunda kullanılabilir. Dolayısıyla geniş bir uygulama alanı sunar [14], [105], [117]–[119].
2. DIAP, substratların yüzey özelliklerini, bir veya daha fazla polimerle kaplayarak ve bu sayede spesifik ihtiyaçlara yönelik olarak değiştirerek, geniş bir yüzey işlevselliği spektrumu sunar [119], [117].
3. Aşılama prosesi, isteğe bağlı olarak substrat üzerinde sadece belirli bir yüzeye yönlendirilebilir, bu da seçilen alanlara işlevsellik kazandırırken malzemenin diğer bölümlerinin orijinal karakteristiklerinin korunmasını sağlar [118].

4. DIAP, çözücü olarak su kullanmasını ve polimerizasyon için ek bir kimyasal başlatıcıya ihtiyaç duyulmamasını içeren, yeşil kimya prensiplerine uygun basit ve tek adımlı bir prosedürdür [14], [117].



Şekil 2.5. DIAP mekanizması [117].

Şekil 2.5'te diazonyum ile tetiklenmiş aşılama işleminin hipotetik aşılama mekanizması görselleştirilmiştir. Bu mekanizma dört aşamalı bir süreç olarak modellenmiştir:

- İlk olarak, aril diazonyum tuzu indirgeyici ajan olan askorbik asit varlığında çözeltide indirgenir. Bu reaksiyon serbest aril radikallerin oluşmasına sebep olur.
- İkinci aşamada oluşan aril radikalleri substrat üzerinde polifenilen benzeri bir tabaka oluşturur. Bu tabaka daha sonra ortamda monomer bulunduğu takdirde polimerizasyon sürecinin başlaması için temel bir platform sağlar (öncü tabaka-tohum tabaka).
- Üçüncü aşamada, serbest aril radikallerin varlığı, vinilik monomerin radikal polimerizasyonunu tetikler ve bu da substrat üzerinden gerçekleşen zincir transferleri ile, yüzeye aşılınmış polimer zincirlerinin oluşumuna yol açar.
- Son aşamada, çözeltide oluşan serbest polimer zincirleri, önceden oluşmuş aromatik halkalar içeren öncül/tohum tabakaya bağlanarak daha yüksek miktarda bu polimer ile aşılınmış bir tabakanın gelişimini sağlar.

Sonuç olarak, bu mekanizma, modifiye edilecek yüzey üzerine düzenli ve kontrollü bir Şekilde polimerik bir film tabakasının aŐılanmasını mümkün kılar, ki bu da malzemenin yüzey özelliklerini belirgin bir Şekilde iyileŐtirir/deŐiŐtirir.

Bu tez çalışmasında manyetik özellikleri ile hedeflenebilen, ilaç ile etkileşimin pH deŐiŐimi ile manipüle edilebildiği, kontrollü bir ilaç salım sistemi oluşturmak amacıyla manyetik demir oksit nanoparçacıklar, pHEMA ile DIAP yöntemi kullanılarak modifiye edilmiştir ve bu nanoparçacıklara model ilaç olarak DOX yüklenmiştir. Bu modifikasyon ek olarak, manyetik demir nanoparçacıkların biyouyumluluk özelliklerinin arttırılması, agrega olmalarının engellemesi ve ilaç yükleme kapasitesinin arttırılması gibi önemli kazanımlara da sebep olmaktadır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kimyasallar

4-nitrobenzendiazoniyum tetrafloroborat (NBD, %97), 2-hidroksi metakrilat (HEMA) ve indirgeyici ajan olarak L-askorbik asit (Vitamin C, >%99) *Sigma-Aldrich'ten* temin edilmiş ve ek bir saflaştırma uygulamadan kullanılmıştır. 20-40 nm partikül boyutuna sahip manyetik demir (III) oksit (γ -Fe₂O₃) nanoparçacıklar, Alfa Aesar™'den satın alınmıştır. Tüm sentezler deiyonize su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen nanoparçacıkların yıkama işlemlerinde saf su ve etanol kullanılmıştır.

İlaç salım çalışmalarında %97,6 saflıkta doksorubisin HCl (DOX) kullanılmıştır. DOX'un salım çalışmaları fosfat tampon çözeltisinde (PBS) gerçekleştirilmiştir. Salım çalışmaları 3.0, 5.4 ve 7.4 pH değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Çözeltinin pH değeri seyreltik hidroklorik asit ile ayarlanmıştır. PBS tabletleri *Sigma-Aldrich'ten* temin edilmiştir ve tampon çözeltiler, 1 tabletin 200.0 mL deiyonize suda çözülmesiyle hazırlanmıştır.

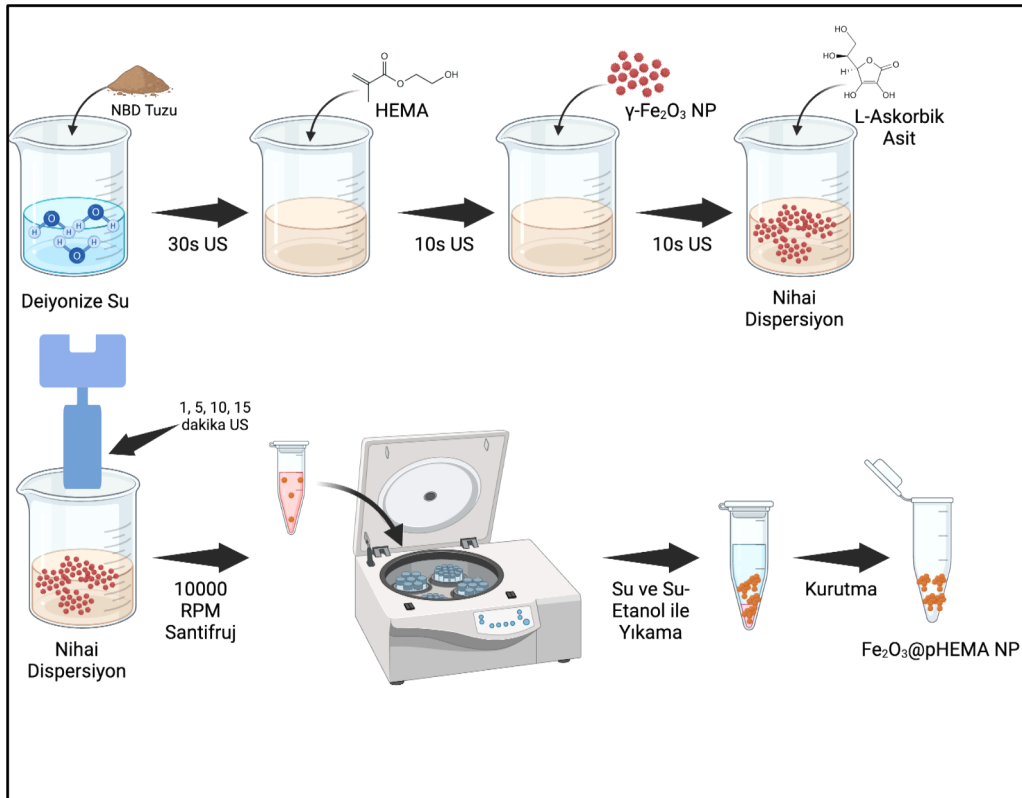
3.2. pHEMA Aşılmalı Manyetik Fe₂O₃ Nanoparçacıkların Sentezi

Manyetik nanoparçacıkların pHEMA ile yüzey modifikasyonu için ultrases destekli diazonyum ile tetikleme aşılama prosesi uygulanmıştır. Ultrases destekli sentez reaksiyonları *Sonics&Materials Inc.* 500 Watt Ultrasonik İşlemci kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik işlemci, 20 kHz frekansta ve %40 genlikte çalıştırılmıştır. Sentezler açık havada, 50 mL'lik tüpte gerçekleştirilmiştir.

Tipik olarak bir sentezde 2.0 mmol (0,473 g) NBD tuzu, 40.0 mL deiyonize su içinde 30 saniye ultrases uygulanarak homojen bir dispersiyon oluşturulmuştur. Ultrasesin sebep olduğu ani sıcaklık artışının engellenmesi amacıyla deneylerde, çözücü olarak 5 °C'deki deiyonize su kullanılmıştır. Sonraki aşamada 0,040 mol HEMA çözeltiye eklenmiş ve tekrar homojen bir dağılım için 10 saniye ultrases uygulanmıştır. Daha sonra çözeltiye aşılacak substrat, yani 0,1 g manyetik γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklar eklenmiş ve tekrar 10

saniye ultrases uygulanmıştır. Son olarak 0,035 g L-askorbik asit çözeltiye eklenmiştir ve nihai dispersiyona farklı süreler boyunca (1, 5, 10 ve 15 dakika) ultrases uygulanarak aşılama gerçekleştirilmiştir. NBD tuzunun indirgeyici ajan C vitaminine oranı daha önce Mevellec ve arkadaşları tarafından önerilen prosedüre göre NBD:VC= 10:1 olarak uygulanmıştır [14], [105]. Deneylerde ideal monomer oranını belirlemek amacıyla NBD tuzu sabit tutularak farklı monomer miktarlarıyla (Monomer:NBD mol oranı; 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 olacak şekilde) deneyler gerçekleştirilmiştir. Deneyin son aşamasında, indirgeyici ajan senteze dahil olduktan sonra, aşılama kalınlığının kontrolü için farklı sürelerde (1, 5, 10 ve 15 dk) ultrases uygulanmıştır.

Aşılama sonrası aşılınmayan monomer ve polimerleri uzaklaştırmak için çözelti 10000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası çöken aşılınmış MNP'ler, çözeltiden ayrılmıştır ve 5 kez ardına sırasıyla, su ve su-etanol karışımı ile yıkayıp, çöktürülerek saflaştırılmıştır. Elde edilen pHEMA aşılınmış Fe_2O_3 nanoparçacıklar ($Fe_2O_3@pHEMA$) vakum etüvünde kurutulmuştur.



Şekil 3.1. pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarının sentezinin deneysel akış şeması.

3.3. pHEMA Aşılanmış Manyetik Fe₂O₃ Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

3.3.1. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

pHEMA aşılanmış manyetik demir oksit nanoparçacıkların (Fe₂O₃@pHEMA) yapısal karakterizasyonu Perkin Elmer Spectrum One FTIR spektrometresi kullanılarak ATR modunda gerçekleştirilmiştir. Her bir spektrum 4000 - 400 cm⁻¹ aralığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte ve 32 taramayla elde edilmiştir.

3.3.2. Termogravimetrik Analiz (TGA)

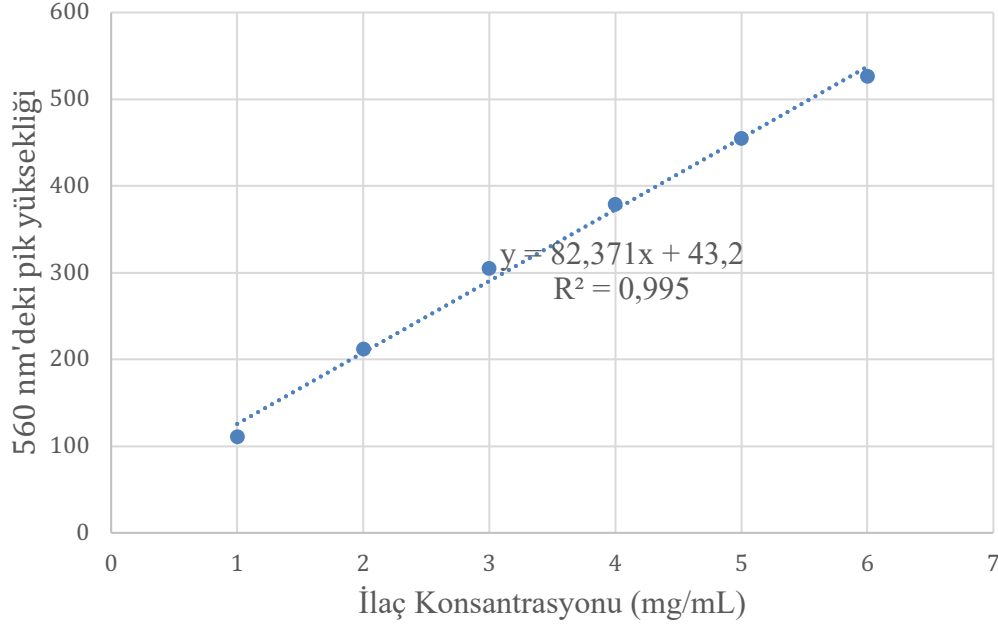
Numunelerin termal özellikleri, Shimadzu marka DTG-60H model termogravimetrik analiz cihazı kullanılarak incelenmiştir. Analizler, 20 °C/dakikalık programlanmış sıcaklık artışıyla, 25 ila 750°C sıcaklık aralığında N₂ atmosferi altında gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

XPS deneyleri Thermo Scientific K-Alpha cihazı ile yapılmıştır. X-ışınları kaynağı olarak monokromatografik Al K α kullanılmıştır. Yüzeydeki elementel bileşimin analizi 0 ile 1000 eV bağlanma enerjisi aralığında, 400 μ m spot boyunda X-ışınları ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.4. Lüminesans Spektroskopisi

İlaç salım çalışmalarında, nanoparçacıklara tutunan ve nanoparçacıklardan salınan DOX miktarını analiz etmek için lüminesans spektroskopisi kullanılmıştır. Tutunan ve salınan ilacın miktarını analiz etmek amacıyla doksorubisinin belirli derişimlerde standart çözeltileri hazırlanmıştır ve bu çözeltilerin lüminesans spektroskopisinde analizleri gerçekleştirilmiştir. Spektrumlardan elde edilen maksimum emisyon değerlerine bağlı olarak aşağıda sunulan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Ölçümler, Perkin Elmer LS-55 Floresanas Spektroforometresi ile, uyarılma dalgaboyu 480 nm ve yayılma dalgaboyu 560 nm olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Farklı derişimlerdeki ilaç etken madde (DOX) çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.

3.3.5. X-Işını Kırınımı (XRD)

XRD ölçümleri 45 kV-15 mA değerleri arasında, 600W güç kapasiteli ve Cu anot materyaline sahip, $-4^{\circ} \leq 2\theta \leq 142^{\circ}$ ölçüm aralığında çalışabilen, su-kapalı devre-su soğutucusuna sahip, bir Malvern Panalytical Aeris XRD cihazıyla yapılmıştır. XRD yöntemi atomların dizilimlerinin bir düzen halinde ve geometride olması ile gelen X-ışınlarının belirli açılarda numune yüzeyinde gerçekleştirdiği kırınımın ölçülmesine dayanır ve bu sayede yapısal tanımlama yapılabilir. Burada düzlemler arası mesafe (d), Bragg eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.1.

$$d = \frac{n\lambda}{2\sin\theta}$$

d: Düzlemler (tabakalar arası mesafe)

λ : Gelen ışının dalga boyu

n: Kırınımın derecesi

θ : Gelen ve kırılan ışın arasındaki açı

3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Taramalı Elektron Mikroskopisi-Enerji Dağıtıcı X-ray (SEM-EDX)

SEM analizleri vakum altında ve 15.00 kV hızlanma voltajında geri saçılmalı elektron tekniğinin kullanıldığı SEM (FEI, Quanta 200F) cihazı ile yapılmıştır. Elementsel haritaların elde edilmesi için, Supra 35 VP Leo EDX cihazı kullanıldı.

3.3.7. Transmisyon Elektron Mikroskopu (TEM)

Örneklerin TEM analizleri *FEI* marka Tecnai G2 F30 Model TEM cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.4. İlaç Salım Çalışmaları

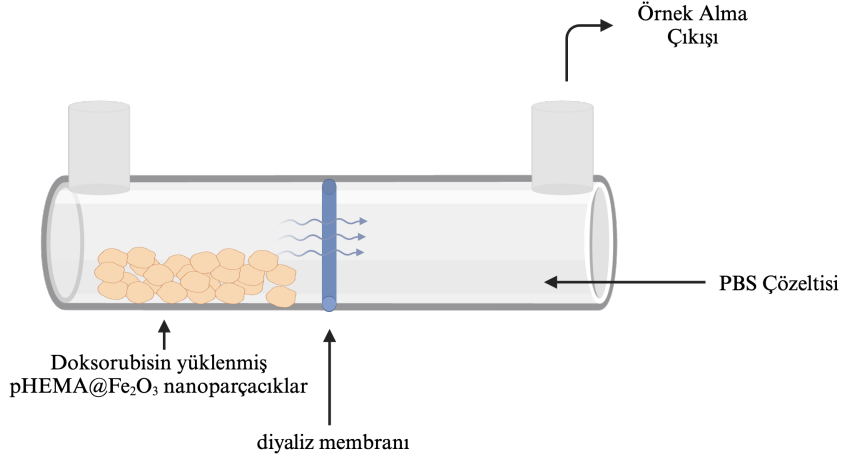
3.4.1. İlaç Yükleme

Monomer oranı ve ultrases uygulama süresi optimize edilerek sentezlenen ve vakum etüvünde kurutulan 12,0 mg pHEMA@Fe₂O₃, 2,5 mg doksorubisin HCl (DOX) içeren 5 mL PBS çözeltisi içerisinde, 3 gün boyunca sürekli rotatör ile karıştırılarak, 20°C’de denge miktarına ulaşmaya kadar DOX ile yüklenmiştir. Rotatörden alınan çözeltiler 10000 rpmde 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası çöken ilaç yüklü nanoparçacıklar (DOX@pHEMA@Fe₂O₃) ve yüklenmemiş ilacı içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Nanoparçacıklara ilaç yüklenme oranını hesaplamak için, yüklenmemiş ilaç moleküllerini içeren çözeltinin derişimini tespit etmek amacıyla, Lüminesans spektroskopisinde çözeltilerin emisyonu ölçülmüştür. Yüklenen ilaç miktarı aşağıdaki eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.2.

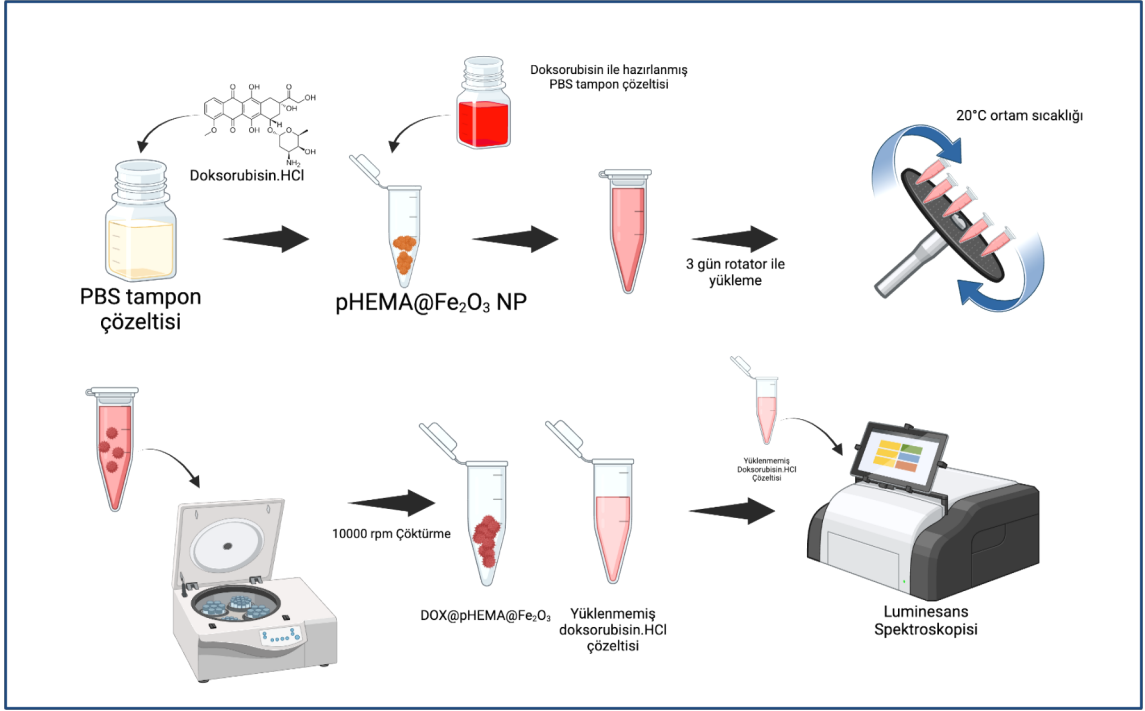
$$\% \text{Yüklenen İlaç} = \frac{\text{Başlangıç İlaç Miktarı} - \text{Yüklenmemiş İlaç Miktarı}}{\text{Başlangıç İlaç Miktarı}} \times 100$$

3.4.2. In-Vitro Salım Çalışmaları



Şekil 3.3. İlaç salım hücresi.

Şekil 3.2’de gösterilen düzeneğin bir tarafına pH’ı ayarlanmış PBS çözeltisi, diğer tarafa ise DOX@pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarının PBS çözeltisi eklenmiştir. Salınan DOX molekülleri, nanoparçacıkların geçişini engelleyen diyaliz membranından saf PBS çözeltisi tarafına geçer. Belirli sürelerde PBS çözeltisinin olduğu hücreden örnek alınır ve alınan örneğin miktarı kadar taze PBS çözeltisi ekleme yapılır. Alınan çözeltilerin lüminesans spektroskopisinde gerçekleştirilen spektroskopik değerlendirilmesi neticesinde, o süre zarfında salınan DOX miktarı tespit edilmiştir.



Şekil 3.4. DOX@pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların hazırlanması.

In-vitro ilaç salım çalışmaları Şekil 3.3’de gösterildiği gibi yalnızca salınan ilaç moleküllerinin geçişine izin veren bir diyaliz membranı ile ayrılmış iki odacıklı bir cihaz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Salım davranışı, ilacın pH’a duyarlı kontrollü salımını incelemek üzere üç farklı pH’ta (3.0, 5.5 ve 7.4) PBS çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu sistemlerde odacıklardan birine 6.0 mL PBS içinde dağıtılmış 12 mg DOX@pHEMA@Fe₂O₃ konmuş, diğer odacığa ise sadece 6.0 mL PBS çözeltisi eklenmiştir. 37°C’de su banyosunda 10 gün çalkalayıcı içerisinde kalan düzenekten planlanan zaman aralıklarında 1.0 mL numune, sadece PBS içeren kısımdan alınmış ve yerine hemen 1.0 mL taze PBS çözeltisi eklenmiştir. 10 gün boyunca belirli aralıklarla toplanan numunelerdeki nanoparçacıklardan salınan DOX miktarı, 560 nm’de maksimum DOX emisyonunun ölçüldüğü Şekil 3.2’de sunulan kalibrasyon eğrisine göre, luminesans spektroskopisiyle tespit edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının öncelikli amacı, manyetik özellikleri ile akıllı ilaç salım çalışmalarına uyarlanabilecek, nanoparçacık temelli etkin bir yeni ilaç salım sistemi geliştirmesidir. Tez çalışması, bu nanoparçacıkların sentezinin yanı sıra, uygulanan sentez tekniği ile yeşil ve kolay uygulanabilir bir yöntemin etkinliğini araştırmayı hedeflemektedir.

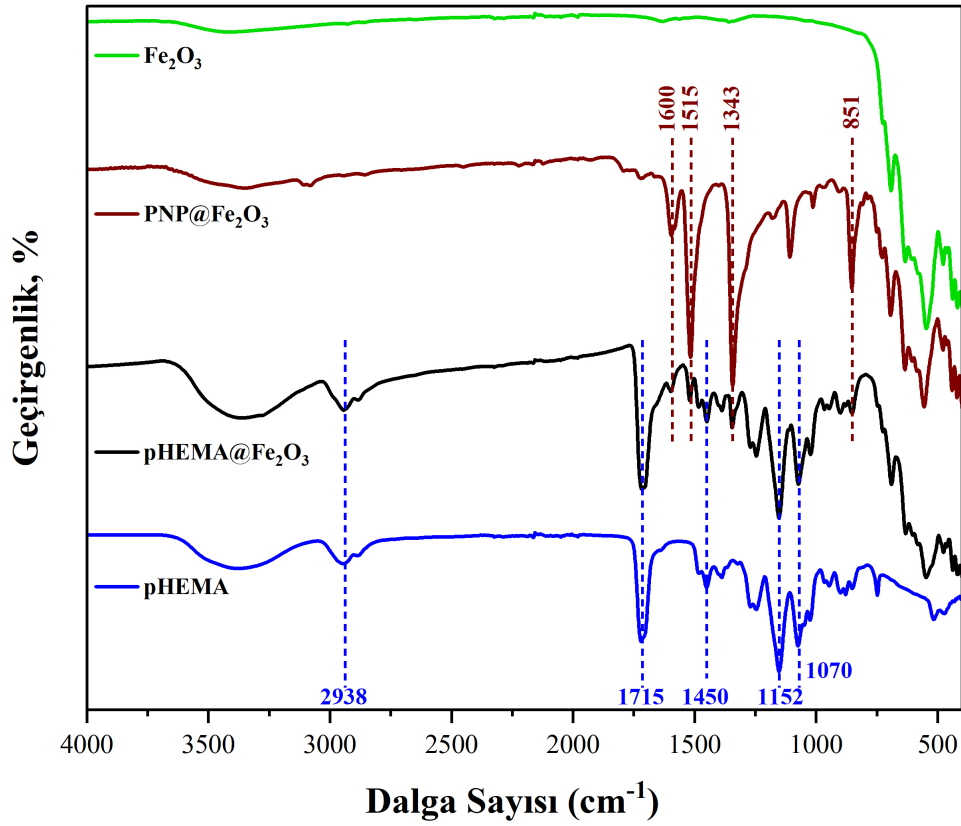
Tez kapsamında sentezlenen nanotaşıyıcılar, manyetik demir oksit (Fe_2O_3) nanoparçacıkların yüzeylerinin hidrofilik ve biyoyumlu özelliklere sahip poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) ile kaplanmasıyla oluşturulmuştur. Yüzey modifikasyonu, ultrases altında diazonyum tuzlarının kimyasal olarak indirgenmesiyle gerçekleştirilen aşılama prosesiyle sağlanmıştır. Farklı monomer/diazonyum tuzu (Monomer:NBD) oranları ve farklı ultrases maruziyet süreleriyle deneyler gerçekleştirilerek optimal deneysel koşullar belirlenmiştir. Optimal monomer:NBD oranının ve ultrases süresinin tespiti için, FTIR ve TGA analizi sonuçlarından faydalanılmıştır. Sentezlenen pHEMA kaplı Fe_2O_3 nanoparçacıkların (pHEMA@ Fe_2O_3) yapısal ve morfolojik özelliklerinin karakterizasyonu için FTIR ve TGA analizlerine ek olarak, XPS, XRD, SEM-EDX ve TEM analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu karakterizasyonlardan elde edilen sonuçlar, nanoparçacıkların ilaç salım sistemi için uygunluğunu anlamak amacıyla değerlendirilmiştir.

Tezin aşağıdaki kısmında, öncelikle optimal deneysel koşulların tespitine yönelik yürütülen çalışmaların sonuçları, ardından elde edilen pHEMA@ Fe_2O_3 nanoparçacıkların karakterizasyonuna ilişkin yürütülen analizler ve son olarak da bu yapıların ilaç salım kapasitelerinin araştırıldığı çalışmalara ilişkin sonuçlar sunulacaktır. İlaç salım çalışmalarında, model bir kanser ilacı olan doksorubisinin kullanılmış olup, bu ilacın pHEMA@ Fe_2O_3 nanoparçacıklarına yüklenmesi ve farklı pH ortamlarında (pH 3.0, 5.5 ve 7.4) salımı incelenecektir.

4.1. pHEMA Kaplı Fe₂O₃ Nanoparçacıkların (pHEMA@Fe₂O₃) Sentezi ve Yapısal Karakterizasyonu

Literatürde belirtildiği üzere, diazonyum ile tetiklenen bağlanma süreci, monomerin varlığında ve yokluğunda farklı şekilde ilerlemektedir [14], [105], [117]. Mekanizma, ortamda monomer bulunmadığında, aril diazonyum tuzunun indirgeyici ajan olan askorbik asit gibi bir madde tarafından indirgenerek substrat üzerinde polinitrofenilen (PNP) benzeri bir tabaka oluşturmasıyla sonuçlanır [14]. Bu tabaka, ortamda monomer mevcut olduğunda ise polimerizasyon sürecinin başlaması için uygun bir platform sağlar. Ortamda oluşan serbest aril radikaller, vinilik monomerin çözeltideki radikalik homopolimerizasyonuna ek olarak, öncü organik tabakada (PNP) radikal oluşumuyla, bu tabakaya aşılacak polimer zincirlerinin büyümesini başlatır. Böylece, yüzeyin tamamını kaplayan bir polimer film tabakası oluşturur [119].

Tez çalışmasında, diazonyum tuzları ile tetiklenen kaplanma ve pHEMA aşılama süreçlerini açıklamak amacıyla, öncelikle monomer yokken ultrases altında sentez çalışması gerçekleştirilmiştir. Böylece, ortamda monomer yokken oluşan polinitrofenilen benzeri tabakanın Fe₂O₃ nanoparçacıklara kaplandığını doğrulamak için deneysel bir prosedür uygulanmıştır. Sentezler neticesinde elde edilen polinitrofenilen benzeri bir tabaka ile kaplanmış nanoparçacıkların (PNP@Fe₂O₃) ve saf Fe₂O₃ yapısının FTIR spektrumları Şekil 4.1'de sunulmuştur. Fe₂O₃ nanoparçacıklarına ait FT-IR spektrumunda, 550 cm⁻¹'de Fe-O bağına ait gerilme titreşimi gözlenmiştir [120]. 400-725 cm⁻¹ aralığında Fe-O bağlarına ait gözlemlenen geniş bant, tüm aşılama örneklerinde yapıdaki manyetik bileşen olan Fe₂O₃ nanoparçacıklarının varlığını belirtmektedir [121].



Şekil 4.1. Fe_2O_3 nanoparçacıkların, polifenilen benzeri tabaka ile kaplanan Fe_2O_3 nanoparçacıkların ($\text{PNP@Fe}_2\text{O}_3$), pHEMA kaplanan Fe_2O_3 nanoparçacıkların ($\text{pHEMA@Fe}_2\text{O}_3$) ve ticari pHEMA'ya ait FT-IR spektrumları.

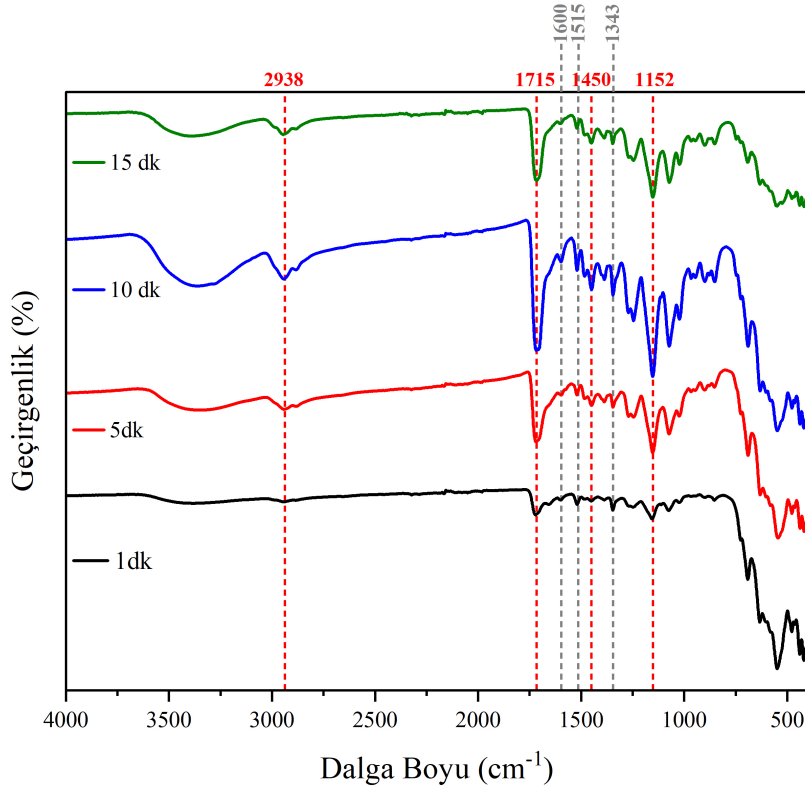
Şekil 4.1'de $\text{PNP@Fe}_2\text{O}_3$ örneğine ait FTIR spektrumunda, 1515 cm^{-1} ve 1350 cm^{-1} 'de gözlemlenen pikler, NO_2 gruplarına, 1600 cm^{-1} 'de görülen pik ise fenil gruplarına atfedilir. Bu pikler, substrat üzerinde diazonyum tuzlarının indirgenmesiyle oluşan nitrofenil gruplarının varlığını gösterir. Bu analiz sonucu, monomersiz gerçekleşen sentezlerde Fe_2O_3 nanoparçacıklarının yüzeylerinin polinitrofenilen (PNP) benzeri organik bir tabaka ile kaplandığını doğrular ve daha önceki literatür verileri ile uyumludur [14][116].

PNP tabakasının Fe_2O_3 nanoparçacıklarına kaplandığının gösterilmesini takiben, pHEMA'nın yüzeye aşılandığını teyit etmek amacıyla, aşılama çözeltisinde monomer

(HEMA) varlığında sentez çalışmaları yürütülmüştür. Saf pHEMA'ya ait FT-IR spektrumu incelendiğinde, yaklaşık 3354 cm^{-1} 'de tespit edilen yayvan pikin, hidroksil (OH) grubuna ait gerilmeye karşılık geldiği tespit edilmiştir. Alifatik CH_2 gruplarının asimetrik ve simetrik gerilmeleri sırasıyla 2942 cm^{-1} ve 2883 cm^{-1} 'de görülen piklerle tanımlanmıştır [122]. Ester fonksiyonel grubunun karakteristik $\text{C}=\text{O}$ gerilmesi 1715 cm^{-1} 'de belirgin pikle gözlemlenmiştir [33]. Ester gruplarına ait C-O bağının gerilmesi ise 1273 cm^{-1} ve 1023 cm^{-1} aralığındaki piklerle tanımlanmıştır. Bu gruplara ait C-O-C gerilmesi ise 1154 cm^{-1} 'de keskin bir pik şeklinde tespit edilmiştir [123]. Bu karakteristik pikler, pHEMA'nın kimyasal yapısının açıklanmasına olanak tanır ve malzemenin fonksiyonel gruplarını doğrular. pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarına ait spektrum incelendiğinde, pHEMA'ya ait tüm karakteristik piklerin spektrumda var olduğu, pHEMA tabasının altında kalan PNP öncü tabakaya ait karakteristik piklerin ise şiddetlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, Fe₂O₃ nanoparçacıkların üzerinde oluşan öncül PNP tabakasına, başarılı bir şekilde pHEMA zincirlerinin aşılandığını doğrulamaktadır.

Diazonyum tuzlarıyla tetiklenen, ultrases başlatıcılı yüzey modifikasyonu yönteminin Fe₂O₃ nanoparçacıklara pHEMA'nın başarıyla aşılmasına olanak tanıdığına doğrulanmasını takiben, sürecin optimizasyonuna yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Polimerizasyon sürecinde uygulanan ultrasesin şiddeti ve süresi, polimerizasyon hızı, aşılama verimliliği, polimer morfolojisi, mekanik ve termal özellikler gibi bir dizi kritik özelliği belirlemede hayati öneme sahiptir [124]. Ultrases süresinin uzatılması genel olarak polimerizasyon sürecini hızlandırabilir ve aşılama daha yüksek verimlilik sağlayabilir; ancak çok uzun süreler polimer yapısında bozunmalar ya da bazı istenmeyen değişikliklere neden olabilir [100]. Örneğin, uzun süreli ultrases uygulamasının polimerlerin mekanik direnç ve termal kararlılığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabildiği bilinmektedir [125]. Bu nedenle, ultrases süresinin optimal düzeyde kullanımı, hedeflenen polimer özellikleri ve uygulama gereksinimleri bağlamında dikkatle ayarlanmalıdır ve bu ayarlama, özel polimerizasyon sistemleri için gerçekleştirilen deneysel çalışmalarla belirlenmelidir. Tez çalışmasında, optimum ultrases maruziyet süresinin belirlenmesi amacıyla çeşitli sürelerde (1, 5, 10 ve 15 dakika) pHEMA@Fe₂O₃ sentezi gerçekleştirilmiştir. Diğer tüm parametreler ve koşullar aynı tutularak, bu

sürelerde sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneklerine ait FTIR spektrumları Şekil 4.2.'de sunulmuştur.



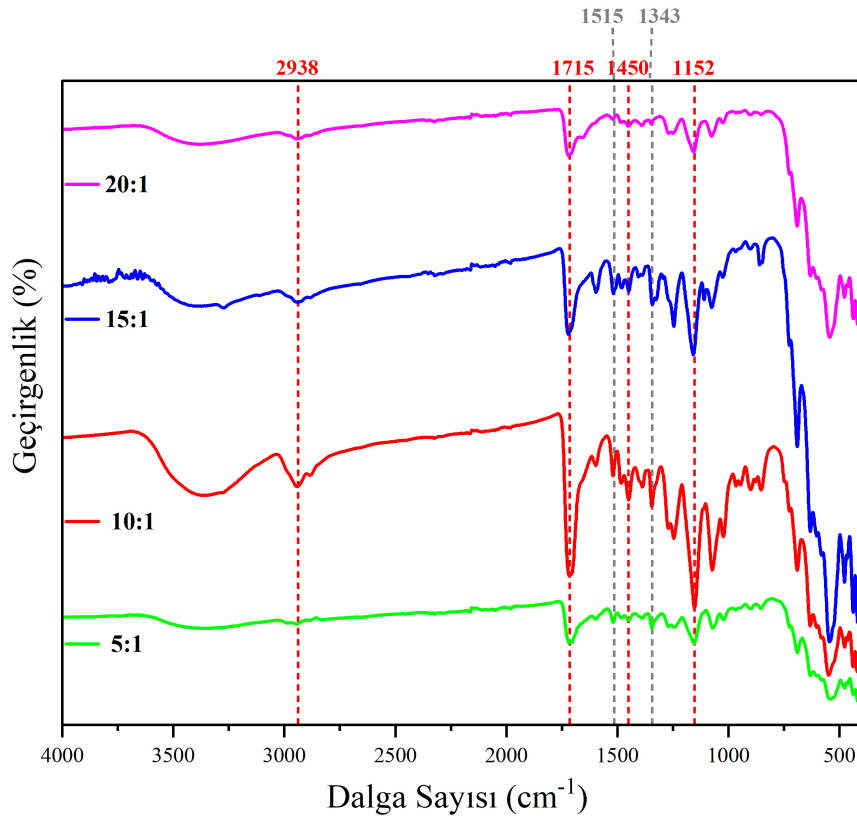
Şekil 4.2. 1,5,10 ve 15 dakika ultrases maruziyetiyle sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ numunelerine ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.2'de görülebileceği gibi, farklı sürelerde sentezlenmiş her bir örneğe ait spektrumlarda, hem PNP tabakasına hem de pHEMA'ya ait karakteristik pikler açıkça görülmektedir. PNP tabakalarına ait karakteristik piklerin şiddeti, aşılama kaynağı olarak azalmıştır. Spektrumlar incelendiğinde, 1, 5 ve 10 dakikalık ultrases sürelerinde pHEMA'ya ait karakteristik piklerin şiddetlerinin arttığı görülmektedir ki bu bulgu literatürle uyumludur. Bu süreler sonunda, PNP tabakasına ait piklerin ise şiddetlerinin azaldığı gözlenmektedir. Diazonyum tuzları varlığında gerçekleştirilen aşılama çalışmalarında reaksiyon süresinin artmasıyla aşılama miktarının arttığı literatürde belirtilmiştir [14]. Ultrases ile başlatılan aşılama polimerizasyon çalışmalarında, genel olarak ultrasonik maruziyet süresinin artmasının, aşılama verimini arttırdığı bilinmektedir [124] [126]. Ancak bu çalışmaların bir kısmında, ultrases maruziyet süresinin bir sınırdan sonra aşılama verimini arttırmadığı, hatta uzun maruziyet sürelerinde bozunmalar nedeniyle verimin sabit kaldığı veya düştüğü belirtilmektedir [125].

Tez çalışmasında, 15 dakika US süresinde gerçekleşen senteze ait FT-IR spektrumu incelendiğinde, 10 dakikaya göre daha az aşılama olduğu görülmektedir. Bu durum, uzun ultrases maruziyet sürelerinde polimerizasyonla eş zamanlı olarak gözlemlenen bozunma reaksiyonları ile bağlantılıdır. Ultrases dalgalarının sıvı içerisinde mikroskobik kabarcıkların oluşumuna ve sonrasında bu kabarcıkların "akustik kativasyon" adı verilen ani çöküşüne yol açtığını daha önce belirtmiştik [88]. Bu çökme esnasında kabarcıkların içerisinde ve çevresinde çok yüksek sıcaklık ve basınç koşulları oluşur. Aslında, polimerizasyon çözültisi içerisinde reaktif radikaller oluşturarak monomerlerin polimerleşmesini sağlayan da bu aşırı koşullardır [92]. Ancak, uzun maruziyet sürelerinde bu aşırı koşullar ani sıcaklık artışlarına sebep olur. Uzun süre yüksek enerjili ses dalgalarına maruz kalan polimerik yapılar, bu yüksek sıcaklığın ve akustik kativasyon ile oluşan yüksek basıncın da yardımıyla bozunup aşılandıkları yüzeyden ayrılabilir. Uzun maruziyet sürelerinin aşılama üzerindeki olumsuz etkileri önceki çalışmalarda da gösterilmiştir [127].

Chu ve arkadaşları nişasta ve butil akrilatın ultrases destekli aşı polimerizasyonunu gerçekleştirdikleri bir çalışmada, ultrases süresinin ve polimerizasyon sıcaklığının aşılama sürecine olan etkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgularda, ultrases destekli aşılama çalışmalarında süre arttıkça aşılama veriminin arttığını gözlemlemişlerdir. 80°C'ın üstüne çıkan polimerizasyon sıcaklıklarında ise, aşılama veriminin ve oranının düştüğünü ancak monomer dönüşümünün azalmadığını gözlemlemişlerdir. Bu durumu, yüksek sıcaklıkta, monomerin ve radikallerin kendi arasındaki etkileşiminin sonucunda artan miktarda homopolimerizasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Homopolimerizasyon bir şekilde gerçekleşirken, aşılamanın ise uzun maruziyet sürelerinde azaldığı gösterilmiştir [100]. Mevcut tez çalışmasında elde edilen bulgular literatürle uyum içerisindedir. 15 dakika ultrases maruziyet süresinde, çözülti sıcaklığının aşırı yükselmesi ve kaplanan pHEMA tabakanın bozunması nedeniyle Fe₂O₃ nanoparçacıkları üzerindeki aşı oranı azalmıştır. Ancak bu örneklerde yüksek miktarda homopolimerizasyon gerçekleşmiştir. 15 dakika boyunca ultrasese maruz bırakılan örneklerin çözültisinde gözlemlenen ciddi boyuttaki viskozite artışı da yüksek miktardaki homopolimerizasyonun göstergesidir. Şekil 4.2'de sunulan bulgular neticesinde optimum aşılama süresi 10 dakika olarak tespit edilmiş ve ilerleyen kısımlarda gerçekleştirilen çalışmalar bu örnekler ile gerçekleştirilmiştir.

Aşılama sürecini etkileyen bir diğer önemli parametre ise reaktiflerin konsantrasyonudur. Diazonyum tuzları varlığında gerçekleşen aşılama prosesinin literatürdeki örneklerinde, monomer miktarının diazonyum tuzu miktarına oranının aşılama için önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla, tez kapsamında kullanılan monomer olan HEMA ve diazonyum tuzu 4-nitrobenzendiazonyum tetrafloroborat (NBD) arasındaki optimum mol oranını belirlemek amacıyla, çeşitli [HEMA:NBD] oranlarında sentezler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.3. 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] oranlarıyla sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ numunelerine ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.3’de, 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] oranlarında sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ numunelerine ait FT-IR spektrumları görülmektedir. Her bir spektrumda pHEMA’ya ve PNP tabakasına ait karakteristik pikler görülmektedir. Bu, tüm oranlarda başarılı bir yüzey modifikasyonunun gerçekleştiğini doğrulamaktadır. 5:1 oranında ve 10:1 oranında sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneklerine ait spektrumlar incelendiğinde, 10:1 oranında pHEMA’ya ait karakteristik piklerin şiddetinin daha fazla

olduğu görülmektedir. Bu durum, monomer oranının artmasıyla Fe₂O₃ nanoparçacıkların yüzeyinde aşılana pHEMA miktarının arttığını gösterir. Ancak bu artışın 15:1 ve 20:1 oranlarında gerçekleşmediği dikkat çekmektedir. 10:1 oranından sonraki monomer miktarı artışları, pHEMA'ya ait karakteristik piklerin şiddetinde düşüşe ve dolayısıyla da aşılana pHEMA miktarında azalmaya sebep olmuştur. Bu durum, literatürdeki bazı çalışmalarla uyumludur. Mesnage ve arkadaşlarının diazonyum tuzları varlığında gerçekleşen aşılama prosesinin mekanizmasını saptamak üzere yaptıkları bir çalışmada da, FT-IR sonuçlarında monomer/diazonyum tuzu mol oranındaki artışın, belli bir değerdan sonra aşılana polimer miktarında düşüşe sebep olduğu rapor edilmiştir [14]. Bu durum, düşük monomer konsantrasyonlarında, kimyasal modifikasyon yerine fiziksel modifikasyon fenomeninin daha baskın olması ile açıklanmıştır. Gözlenen düşüş, düşük monomer derişimlerinde substrat yüzeyine fiziksel olarak tutunmuş, ancak kimyasal olarak bağlanmamış polimer zincirlerinin daha fazla biriktiği şeklinde yorumlanmıştır. Yüksek monomer konsantrasyonunda ise fiziksel bağlanmaların azaldığı, çünkü çözeltideki yüksek monomer miktarı nedeniyle fiziksel tutunmuş polimerin çözüdüğü belirtilmiştir. Yüksek monomer derişimlerinde fiziksel bağlanmaların gerçekleşmemesi nedeniyle, aşılamanın azaldığı gözlenen azalışa gerekçe olarak gösterilmiştir.

Yukarıdaki gerekçe bizim aşılama sistemimiz için iki nedenden ötürü geçerli görünmemektedir. Bunlardan ilki, tez çalışmasında uygulanan ultrases başlatıcılı aşılama sürecinin fiziksel etkileşimlerle gerçekleşecek bağlanmaları neredeyse imkânsız hale getirmesidir. Ultrases dalgalarının, sıvı içerisinde mikroskobik kabarcıkların oluşumuna ve sonrasında bu kabarcıkların akustik kativasyon ile aniden çöküşüne yol açması sebebiyle oluşan yüksek basıncın, fiziksel bağlanmaları engelleyeceği değerlendirilmektedir. Ayrıca ortamda çözücü olarak su kullanılması ve pHEMA için suyun iyi bir çözücü olması, yukarıda değinilen çözünlük farkı kontrollü fiziksel bağlanma sürecini, bizim sistemimiz için imkânsız kılmaktadır. Bu durumda, artan monomer miktarına karşın, aşılama da bir azalış görülmesi aşılı kopolimerizasyonu ve homopolimerizasyon arasında var olduğu düşünülen bir yarışa atfedilmiştir. Aşılı ve homopolimerizasyon süreçlerinin eş zamanlı olarak gerçekleştiği süreçlerde, bu iki polimerizasyon arasında bir yarışın varlığına sıklıkla değinilmektedir. Örneğin, iyonlaştırıcı radyasyon ile gerçekleştirilen aşılama süreçlerinde yüzeyin radikal verimi ve çözeltideki monomerlerin radikal verimleri arasındaki fark, yarışmalı bir ortama sebep

olur [128][129]. Monomer miktarının fazla olduğu durumlarda bu yarış, homopolimerizasyon lehine ilerlerken, aşırı miktarlarında azalış gözlemlenir. Oysa, düşük monomer derişimlerinde, çözeltide aşırı kopolimerizasyonu daha yüksek miktarda gerçekleşme fırsatı bulabilmekte ve dolayısıyla yüksek aşırı verimliliklerine ulaşılabilir.

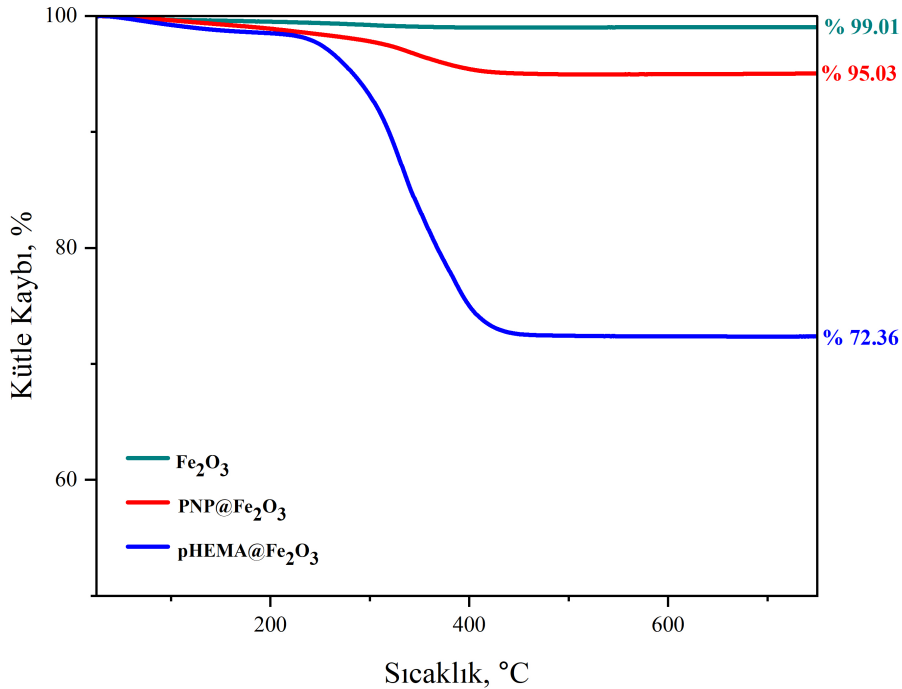
Ultras ses ile yürüttüğümüz aşılama çalışmasında da benzer bir yarışmalı ortamın olduğu düşünülmektedir. Monomer oranı çok yüksek olduğunda, ortamda bulunan monomerler çok hızlı bir şekilde polimerleşip tüketilirken, radikal verimi muhtemelen daha düşük olan yüzeye ise daha az miktarda polimer aşılabilir. Bu durumun doğruluğuna dair bir gösterge, yüksek monomer derişiminin kullanıldığı 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] içeren çözeltilerde çok ani viskozite artışının tespit edilmiş olmasıdır. Bu iki örnekte, oldukça kısa süre içerisinde çözelti viskozitesinin aniden arttığı görülmüştür. Çözeltide hızlı ilerleyen homopolimerizasyon ve aniden monomerlerin tükenmesi nedeniyle, çözeltide sıcaklık da aniden yükselmiştir. Monomer derişimin daha düşük olduğu çözeltilerde ise, radikal verimi muhtemelen daha düşük olan PNP@Fe₂O₃ yüzeylere aşılabilir için yeterli süreye sahip monomer molekülleri yüzeye bağlanabilmiş ve böylece daha yüksek aşırı oranları elde edilebilmiştir. Bu sonuçlar ışığında tez çalışmamızda optimal [HEMA:NBD] oranı, en yüksek aşılamanın gözlemlendiği 10:1 olarak tespit edilmiştir.

FT-IR analizleri ile elde edilen bulguların desteklenmesi amacıyla sentezlenen numunelerin termogravimetrik analizleri de (TGA) gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.4'de saf Fe₂O₃ nanoparçacıkların TGA eğrisi incelendiğinde, 750 °C'ye ulaşan ısıtma işleminin sonunda kalıntı kütleinin yaklaşık %98,9'a indiği görülmektedir. Bu, literatürle uyumlu bir şekilde, Fe₂O₃ nanoparçacıkların ısıya dayanıklı inorganik yapısını doğrular ve yapılarında organik kirliliklerin çok az olduğunu gösterir [130].

PNP@Fe₂O₃ örneğine ait termogramda görülen %4,97'lik kütle kaybının düşük sıcaklıklarda görülen yaklaşık %2,3'lük kısmı, numunedeki su moleküllerine ve çözücü gibi organik kirliliklere atfedilir. Geriye kalan yaklaşık %2,7'lik kütle kaybı ise 350 °C civarında başlamış ve 450 °C'ta maksimuma ulaşmış bir bozunma sürecinin neticesinde gerçekleşmiştir. Bu termal bozunma davranışı, nitro grupları içeren yapıların yaklaşık

350°C'a kadar gösterdikleri termal kararlılık ile uyumludur ve yapıda polinitrofenilenin varlığını doğrular [131].

pHEMA@Fe₂O₃ örneğine ait Şekil 4.4'de verilen termogramda, 200°C'ın altında gerçekleşen yaklaşık %1,66'lık kütle kaybı yapıdaki su moleküllerinin ve uçucu safsızlıkların uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır.. Literatürde saf pHEMA'nın bozunmasının yaklaşık 200°C–400°C sıcaklık aralığında olduğu bilinmektedir [132]. Sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneklerinde de literatürle uyumlu olarak pHEMA'nın bozunma davranışı yaklaşık 200°C'de başlamıştır. Bozunma yaklaşık 500°C'da maksimumuna ulaşmıştır [133]. Yapıdaki PNP tabakasının da termal bozunması, benzer aralıklarda gerçekleşmektedir. pHEMA@Fe₂O₃ numunesi için, yaklaşık 200°C'nin sonrasında gözlemlenen %25,98 civarındaki kütle kaybı, nanoparçacıklarının üzerine aşılana PNP tabakası ve pHEMA'ya karşılık gelmektedir. 750 °C'ye kadar sürdürülen ısıtma rejiminin sonunda bozunmadan kalan %72,36'lık kalıntı, inorganik Fe₂O₃ nanoparçacıklarına aittir.

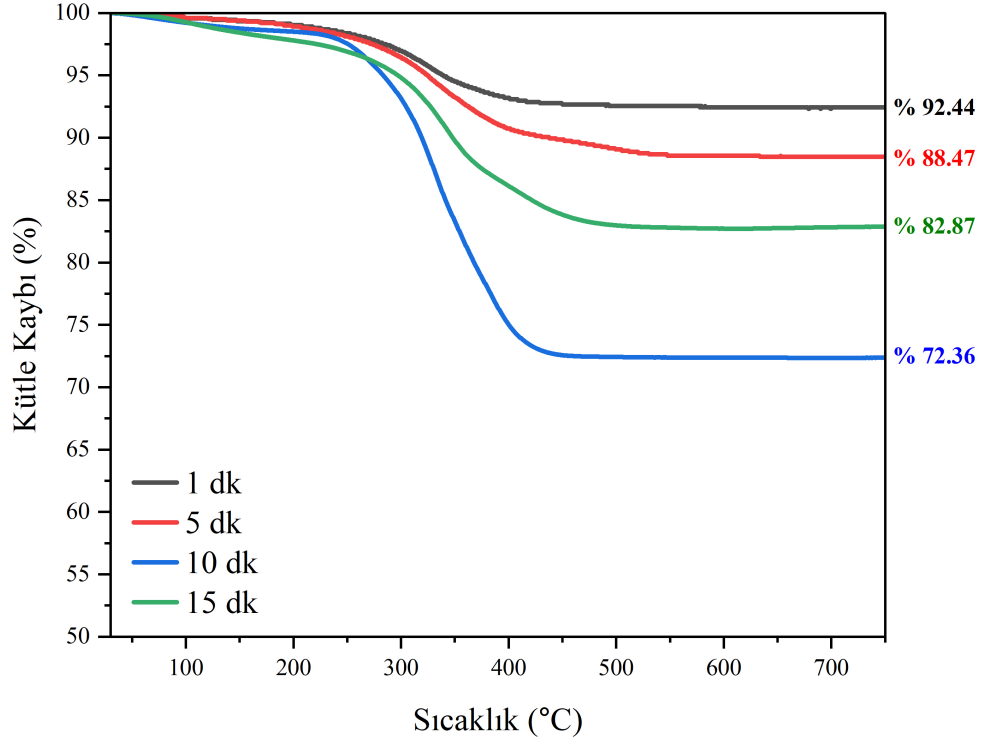


Şekil 4.4. Fe₂O₃ nanoparçacıkların, polinitrofenilen benzeri tabaka ile kaplanan Fe₂O₃ nanoparçacıkların (PNP@Fe₂O₃ ve pHEMA ile kaplanan Fe₂O₃ nanoparçacıkların (pHEMA@Fe₂O₃) TGA eğrileri.

Farklı ultrases maruziyet süreleri boyunca aşılınmış pHEMA@Fe₂O₃ örneklerine ait termogramlar Şekil 4.5'de sunulmaktadır. 1 dakikalık ultrases maruziyeti ile sentezlenen örneğin termogramında tespit edilen, 200 °C civarındaki yaklaşık %6,3'lük kütle kaybı, yapıdaki pHEMA'nın varlığını kanıtlamaktadır. 5 dakikalık ultrasonik maruziyet neticesinde sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneği, 200°C'da başlayan ve 550°C'a kadar devam eden yaklaşık %10,1'lik bir organik kütle kaybını gösterir. Bu kayıp yapıdaki PNP tabakasına ek olarak, büyük oranda pHEMA'ya karşılık gelmektedir. Bu sonuçlar ile, 1 dakikaya kıyasla 5 dakikalık ultrasonik maruziyet neticesinde sentezlenen numunenin daha kalın bir pHEMA tabakasına sahip olduğu doğrulanmaktadır.

10 dakikalık ultrasonik maruziyet ile sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneğinde ise, 200°C'de başlayan bozunmada %26,24'lük bir organik kütle kaybı gözlemlenmiştir. Tüm örnekler arasında pHEMA'ya ait maksimum organik kütle kaybının gözlemlendiği bu örnek, FT-IR sonuçlarıyla da uyum içerisinde, maksimum aşılmanın gerçekleştiği koşulu göstermektedir.

15 dakikalık ultrases maruziyeti ile sentezlenen örneğin termogramında ise, pHEMA'ya ait bozunma sıcaklık aralığında yaklaşık %15,27'lik bir kütle kaybı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, FT-IR spektrum sonuçlarını destekler niteliktedir ve uzun maruziyet sürelerinde kaplanan yüzeylerde bozunma süreçlerinin etkin hale geldiğini doğrular. Aslında ultrases maruziyeti altında, aşılama ek olarak aşılınmış zincirlerin bozunması/kopması da eşzamanlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Ancak uzun polimerizasyon süreleri neticesinde, ortamdaki monomerler neredeyse tükendiğinden, daha fazla aşılama gerçekleşemezken, bozunmalar/kopmalar etkin hale gelerek yüzeydeki aşılınmış tabakaların miktarında azalmalara sebep olmaktadır. Bu nedenle FTIR sonuçları ile de uyumlu bir şekilde, 10 dakikalık ultrasonik maruziyet süresi optimal polimerizasyon süresi olarak tespit edilmiştir.

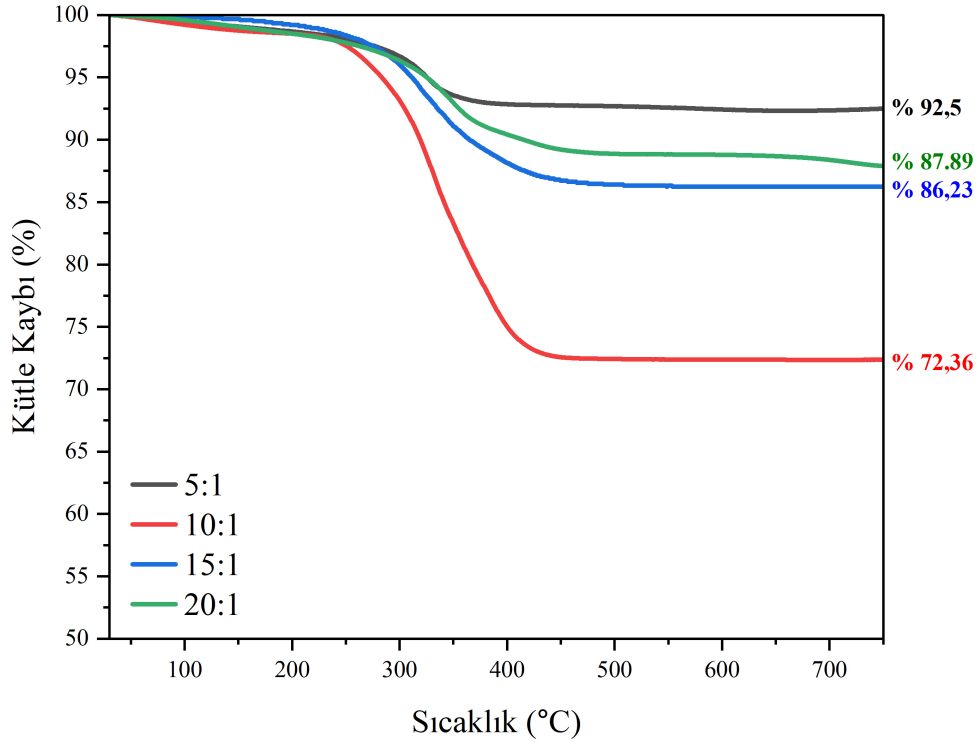


Şekil 4.5. Farklı US maruziyet süreleriyle sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneklerine ait TGA eğrileri.

Şekil 4.6’da sunulan TGA sonuçları, farklı monomer/diazonyum tuzu oranları kullanılarak sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örneklerinin termal özelliklerine dair elde edilen sonuçları sunmaktadır. Analiz sonuçlarından, en düşük monomer oranı olan 5:1 mol oranında sentezlenen örneğin, en düşük kalıntı kütlelerini verdiği görülmektedir ki bu yapıdaki aşılamanın az olduğunu gösterir. Monomer oranı 10:1’e yükseltildiğinde, FTIR sonuçları ile de uyumlu bir şekilde, en yüksek aşılamanın elde edildiği anlaşılmaktadır. Ancak monomer oranının daha da artıp 15:1 ve 20:1’e ulaşması, aşım miktarını arttırmamış, tersine bir azalışa sebep olmuştur. Bu sonuç, FTIR ile elde edilen sonuçlarla çok iyi bir uyum göstermektedir.

Yüksek monomer derişimlerinde gözlenen aşılama miktarındaki azalış, yukarıda değinilen homopolimerizasyon ve aşım kopolimerizasyonu arasındaki olası yarışma atfedilebilir. Böyle bir rekabet varlığı, yüksek monomer oranlarına sahip 15:1 ve 20:1

derişimlerdeki çözeltilerde polimerizasyonun henüz ilk aşamalarında gözlemlenen hızlı viskozite artışı ile de uyumludur. Yüksek monomer miktarlarının kullanıldığı senaryolarda homopolimerizasyonun çok hızlı gerçekleşmesine eşlik eden ani sıcaklık artışı da, bozunmalar yoluyla yüzeye bağlanmış zincirlerin kopuşlarını arttırmış olabilir. Ayrıca, polimerizasyon çözeltisinin hızla viskozlaşmasının, aşılmanmayı difüzyon kontrollü bir sürece dönüştürerek daha da zorlaştırdığı düşünülmektedir. Tüm bu gerekçeler yüksek monomer miktarında aşılmanın daha düşük gerçekleşmesine katkıda bulunmuş olabilir. Ancak, bu etkilerin her birinin aşılama üzerindeki olası sonuçlarının detaylı bir şekilde incelenmesi ve net bir şekilde açıklanması, çok daha kapsamlı bir çalışmayı gerektirmektedir ve tezin öncelikli amacının ötesine geçmektedir.

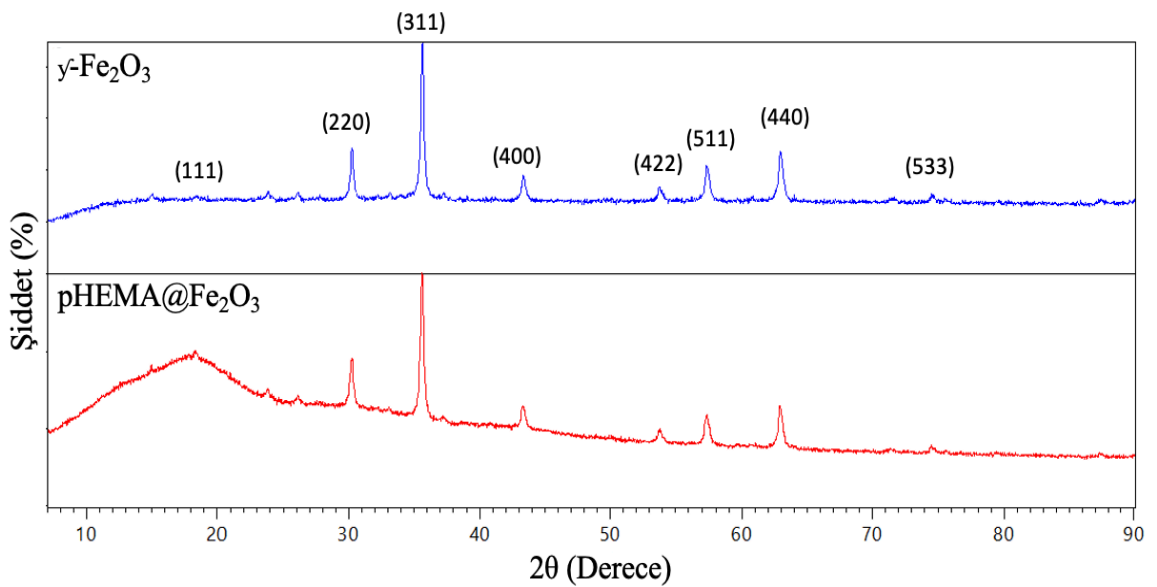


Şekil 4.6. 5:1, 10:1, 15:1 ve 20:1 [HEMA:NBD] oranlarıyla sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ numunelerine ait TGA eğrileri.

FT-IR ve TGA sonuçları birlikte değerlendirildiğinde 10 dakikalık ultrasonik maruziyet süresi ve 10:1 [HEMA:NBD] mol oranı, en yüksek aşılmanın elde edildiği optimum deneysel koşullar olarak belirlenmiştir. Tezin ilerleyen kısımlarında bu koşullar altında sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ örnekleri kullanılmıştır.

XRD (X-ışını kırınımı), malzemenin kristal yapısını analiz etmek için kullanılan bir karakterizasyon tekniğidir. Fe_2O_3 nanoparçacıklarının karakterizasyonunda XRD, kristal yapının belirlenmesi, kristalinite derecesinin değerlendirilmesi ve örneklerdeki farklı fazların tanımlanması gibi önemli bilgiler sağlar. Bu teknik, Fe_2O_3 nanoparçacıklarının yapısal özelliklerini anlamak ve sentezlenen malzemede istenen aşılamanın gerçekleşip gerçekleşmediğini değerlendirmek için kullanılabilir. Fe_2O_3 , iki farklı kristal yapıya sahip olan iki faza sahiptir: alfa- Fe_2O_3 (α - Fe_2O_3 hematit) ve gama- Fe_2O_3 (γ - Fe_2O_3 maghemit). Hematit, Fe_2O_3 'ün kararlı fazıdır ve trigonal kristal yapısına sahiptir. Diğer yandan, maghemit (γ - Fe_2O_3), daha düşük sıcaklıklarda oluşur ve spinel kristal yapısı sergiler. Bu iki farklı faz, Fe_2O_3 nanoparçacıklarının özelliklerini ve davranışlarını etkiler. Maghemit (γ - Fe_2O_3), hematite kıyasla daha manyetiktir [49]. Bu nedenle, maghemit yapısı tez kapsamında tercih edilmiştir.

γ - Fe_2O_3 nanoparçacıklarının modifikasyon öncesi saf hallerine ve optimum deneysel koşullar olarak belirlenen 10 dakika ultrasonik maruziyet ve 10:1 HEMA:NBD mol oranında sentezlenmiş pHEMA@ Fe_2O_3 numunesine ait XRD desenleri Şekil 4.7'de sunulmaktadır.



Şekil 4.7. γ - Fe_2O_3 nanoparçacıklarının ve pHEMA@ Fe_2O_3 numunelerine ait XRD desenleri.

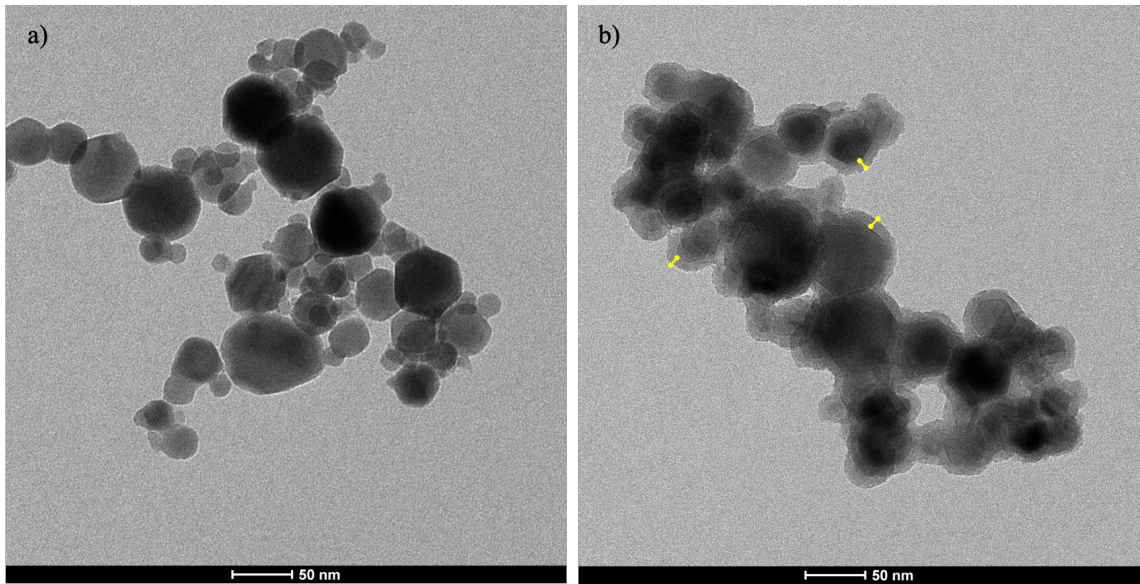
γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarının XRD deseninde, $2\theta = 23,82^\circ, 26,13^\circ, 30,26^\circ(220), 35,65^\circ(311), 43,34^\circ(400), 53,76^\circ, 62,93^\circ(440)$ ve $74,53^\circ(533)$ 'da gözlemlenen pikler, karakteristik γ -Fe₂O₃ fazı ile uyumludur. Cihazın veri tabanında bulunan JCPDS veri kartlarının taratılması ile, γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarının kırılma açılarının, kart numarası 39-1346 olan γ -Fe₂O₃'e ait kırınım desenindeki açılara uyduğu tespit edilmiştir [134]. XRD desenlerinde görüldüğü üzere 2θ değeri $30,2681$ derecede oluşan (220) düzlemi ve $35,6592$ derecede oluşan (311) düzlemine ait yansıma pikleri γ -Fe₂O₃'e ait kübik yapının varlığını göstermektedir [135]. Şekil 4.7'de sunulan γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarının XRD deseni literatür verileri ile birebir uyumludur. Modifikasyon öncesi γ -Fe₂O₃ ve optimum koşullarla sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ numunesine ait XRD deseninde γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarına ait piklerin modifikasyon sonrası konumlarını koruduğu Tablo 4.1'de verilen düzlemler arası mesafeden anlaşılmaktadır. pHEMA@Fe₂O₃ numunelerine ait yaklaşık $15-20^\circ$ açısında görülen yayvan pik, yapıda bulunan amorf polimer fazına karşılık gelip, pHEMA varlığını doğrulamaktadır [136].

Tablo 4.1. γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarının modifikasyon öncesi ve sonrası XRD pik analizi

Pik No.	γ -Fe ₂ O ₃		pHEMA@Fe ₂ O ₃	
	Kırınım Açısı [$^\circ 2\theta$]	d [Å]	Kırınım Açısı [$^\circ 2\theta$]	d [Å]
1	5.6303	15.68384	5.6607	15.59975
2	23.8209	3.73238	23.787	3.73763
3	26.139	3.4064	26.1212	3.40868
4	30.2681	2.95045	30.3126	2.94623
5	35.6592	2.51578	35.6263	2.51803
6	43.3486	2.08567	43.354	2.08542
7	53.7693	1.70346	53.7543	1.7039
9	62.9376	1.47557	62.8932	1.47651
10	74.5359	1.27208	74.512	1.27243

Söz konusu tüm düzlemler arası mesafe (d), Bragg kanunu kullanılarak hesaplanmıştır.

TEM, malzemelerin nanometre ölçeğindeki yapılarını ve boyutlarını incelemek için kullanılan önemli bir araçtır. Ayrıca, aşılama gibi yüzey modifikasyonu işlemlerinin neticesinde parçacıkların yapılarında gerçekleşen değişimleri de incelenmeye olanak tanır. Bu sayede, yüzey modifikasyonunun etkinliği, kaplanan tabakanın kalınlığı ve homojenliği gibi önemli parametreler değerlendirilebilir. Şekil 4.8’de sunulan TEM resimleri incelendiğinde, Fe_2O_3 nanoparçacıkların modifikasyon öncesinde, yüzeylerinde belirgin bir organik tabakanın bulunmadığı görülmektedir. Nanoparçacıkların yüzeyleri pürüzsüz ve boyutları beklendiği gibi yaklaşık 30 nm civarındadır. Ancak, pHEMA ile aşılandıktan sonraki TEM incelemesinde, tüm Fe_2O_3 nanoparçacıklarının yüzeyinin homojen bir kalınlıkta, belirgin bir organik tabaka ile kaplandığı gözlemlenmiştir. Aşılama kalınlığının, yaklaşık 10 nm olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum, aşılama yönteminin başarıyla uygulandığını ve pHEMA'nın demir nanoparçacıklarının yüzeyine etkili bir şekilde bağlandığını göstermektedir.

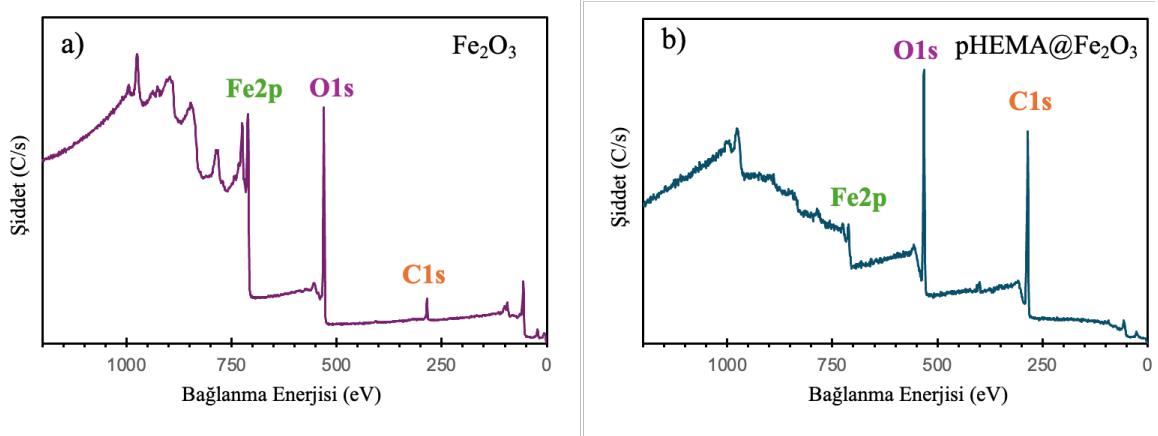


Şekil 4.8. TEM resimleri: (a) saf Fe_2O_3 , (b) pHEMA@ Fe_2O_3 .

X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), bir yüzeyin kimyasal bileşimini ve elektronik yapısını incelemek için kullanılan güçlü bir karakterizasyon tekniğidir. Demir oksit nanoparçacıklarının yüzeyinde gerçekleştirilen aşılamanın takibi için XPS, çok önemli bilgiler sunma potansiyeline sahiptir. Çünkü bu teknikle, nanoparçacıkların yüzeyindeki kimyasal gruplar ve elementlerin dağılımları nanometre mertebesinde belirlenerek,

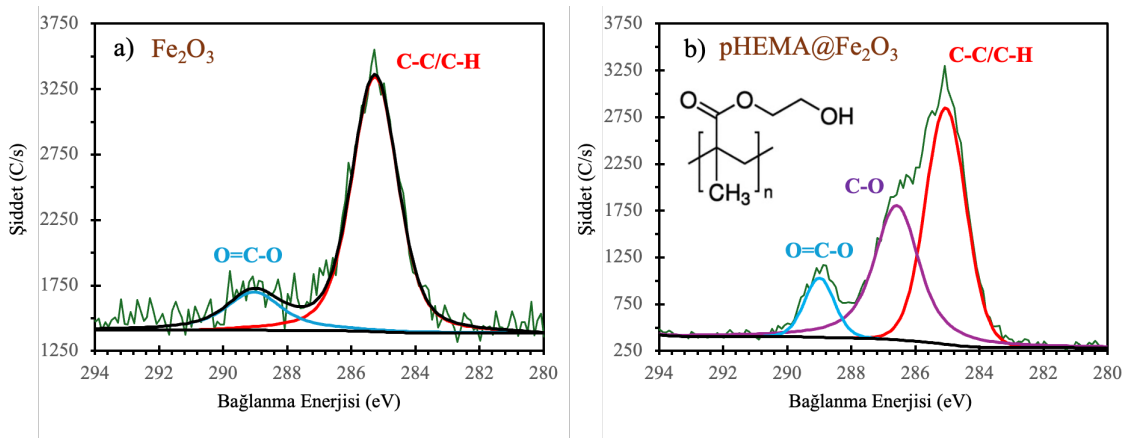
modifikasyonun etkileri doğrudan analiz edilebilir. Özellikle yüzey modifikasyonu sonrası, yeni katmanların oluşumu ve kimyasal bileşimindeki değişiklikler XPS aracılığıyla belirlenip, modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirilip gerçekleştirilmediğini değerlendirmek mümkün olabilir.

Saf Fe₂O₃ nanoparçacıkların, Şekil 4.9’da sunulan yüzey XPS spektrumu incelendiğinde, yaklaşık 710.5 eV’da karakteristik Fe 2p piki görünmektedir [137]. 529.7 eV’daki O1s ve yaklaşık 286 eV C1s pikleri ile birlikte XPS analizi, yapıda bulunan demir (Fe), oksijen (O) ve karbon (C) elementlerinin varlığını doğrulamaktadır [138]. Karbon, Fe₂O₃ yapısı için beklenmedik bir element de olsa, aslında pek çok yapıda tespit edilmektedir. Yüzeydeki yapının kaynağından bağımsız olarak bulunan bu karbon, "*adventitious carbon*-rastlantısal karbon" olarak adlandırılır. Bu karbon, çoğunlukla numunenin yüzeyine hava temasıyla birlikte ortaya çıkar ve yüzey temizliği sağlansa bile yapıda bulunur. Temiz laboratuvar koşullarında bile, numunelerin hazırlanması ve analiz sürecinde temas ettiği hava nedeniyle yüzeyde rastlantısal karbon birikimi oluşabilir [139][140]. Saf Fe₂O₃ örneğine ait yüzey geniş XPS spektrumundan görülebileceği gibi, bu numenin yüzey bileşimi yaklaşık %39.4 Fe, %59.3 O ve %1.3 C elementlerinden oluşmaktadır. pHEMA aşılınmış örneğin XPS yüzey spektrumu incelendiğinde ise C miktarında ciddi bir artış yaşandığı ve bu elementin miktarının %64.3’e yükseldiği görülmektedir. Karbon elementinin miktarındaki artışın tersine Fe miktarı ise, yaklaşık %39.4’den %2.6’ya düşmektedir. XPS yüzeyin yaklaşık 10 nm derinliğine kadar bilgi sağlayan bir yüzey analiz tekniğidir. TEM sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, Fe₂O₃ nanoparçacıklarının yüzeylerindeki pHEMA tabakasının yaklaşık 10 nm’den kalın olduğu anlaşılmaktadır. Bu nedenle iç kısımda kalan Fe₂O₃ nanoparçacıklarından gelen sinyal belirgin bir şekilde azalmış ve tespit edilebilen demir elementi miktarı ciddi bir düşüş sergilemiştir.



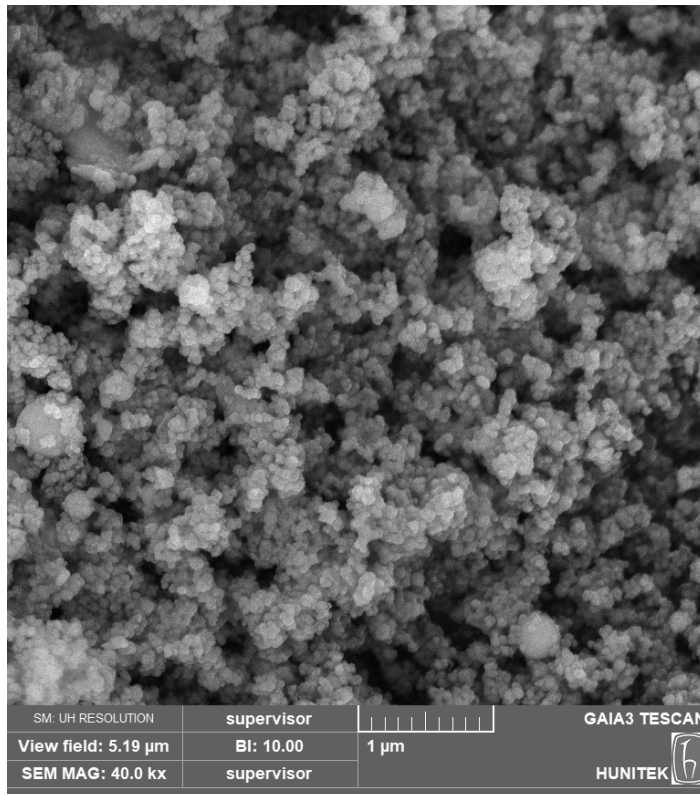
Şekil 4.9. XPS geniş yüzey taraması spektrumları, (a) saf Fe_2O_3 , (b) $\text{pHEMA@Fe}_2\text{O}_3$.

XPS analizinde karbon elementinin kimyasal bağlanma durumu hakkında detaylı bilgi sağlayan C1s spektrumu, yüzey kimyasal bileşimini ve modifikasyonunun etkilerini anlamak için önemli bilgiler sunar. Şekil 4.10'da sunulan C 1s çekirdek seviyesi XPS spektrumu incelendiğinde, saf Fe_2O_3 örneğindeki karbonun kimyasal yapısının, büyük ölçüde, yaklaşık 285 eV'daki pikten anlaşıldığı gibi, C-C/C-H türündeki bağlanmalara sahip gruplardan oluştuğu görülmektedir. Bu temel pike, yaklaşık 288.9 eV civarındaki O-C=O türündeki oksitlenmiş C türleri eşlik etmektedir [137]. pHEMA aşılansız örneğe ait C1s spektrumunda ise, oksijenlenmiş C gruplarına ait piklerin şiddetlerinde belirgin bir artış görülmektedir. 286.4 eV civarında çıkan C-O ve 289.2 eV civarındaki O-C=O gruplarına ait pikler, literatür ile tam bir uyum sergileyerek yapıda bulunan pHEMA varlığını doğrular [141].



Şekil 4.10. C 1s çekirdek seviyesi spektrumları, (a) saf Fe_2O_3 , (b) $\text{pHEMA@Fe}_2\text{O}_3$.

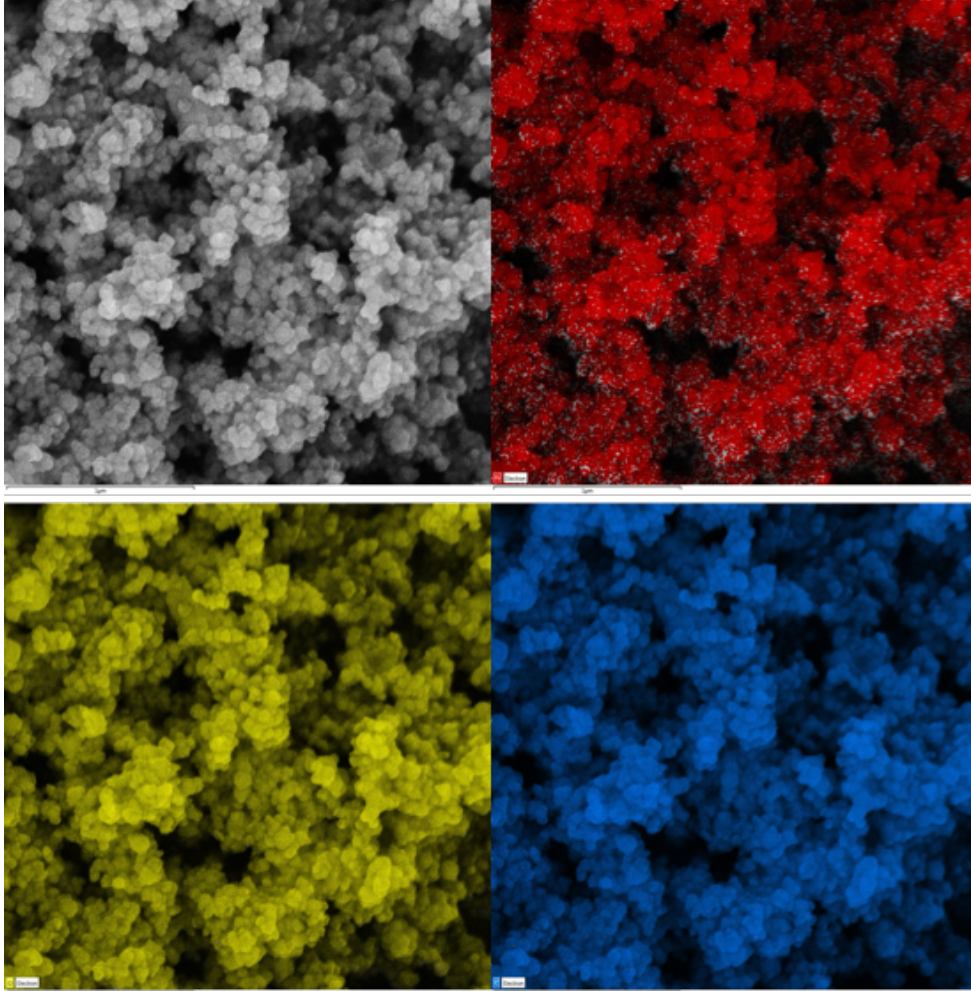
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), yüzey morfolojisini incelemek ve nano ölçekte yapısal bilgiler elde etmek için kullanılan bir karakterizasyon tekniğidir. Fe_2O_3 nanoparçacıkların boyutunu, şeklini ve boyut dağılımını belirlemek için SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.11’de sunulan SEM görüntüsü, Fe_2O_3 nanoparçacıklarının büyük ölçüde homojen bir şekilde küresel yapıda olduğunu ve yaklaşık 30 nm boyutlara sahip olduklarını göstermektedir. Tamamı kabaca 100 nm altında kalan bu homojen boyut dağılımı, sentezlenen nanoparçacıkların ilaç salım uygulamalarında kullanımları açısından uygunluğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.11. Saf γ - Fe_2O_3 nanoparçacıklarına ait SEM görüntüsü.

Enerji Dağılım X-ışını Spektroskopisi (EDX), bir yüzeyin bileşimini analiz etmek için sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, numunenin yüzeyindeki elementlerin dağılımını haritalamak ve bileşimlerini belirlemek için kullanılabilir. Bu sayede, malzemenin kimyasal bileşimi ve elementel dağılımı hakkında bilgi elde edilebilir. Şekil 4.12’de sunulan pHEMA@ Fe_2O_3 numunesine ait EDX elementel haritalama analizi, Fe_2O_3 nanoparçacıklarının yüzeyinde yüksek oranda karbon (C) elementinin varlığını göstermektedir. Bu sonuç, XPS ile uyumlu bir şekilde, pHEMA zincirlerinin

nanoparçacıklarının yüzeyine başarıyla aşılandığına dair önemli ipucu verir. Karbon elementine ilişkin tespit edilen homojen dağılım, pHEMA'nın demir nanoparçacıklarının yüzeyini tamamen kapladığına işaret etmektedir. Bu homojen aşılama profili, tez çalışmasında amaçlandığı gibi, ilaç salım çalışmalarında potansiyel olarak kullanılacak uygun bir yapıya işaret etmektedir.



Şekil 4.12. pHEMA@Fe₂O₃ örneğine ait SEM görüntüsü ve bu görüntüde demir (kırmızı), oksijen (sarı) ve karbon (mavi) elementlerinin EDX dağılım haritası.

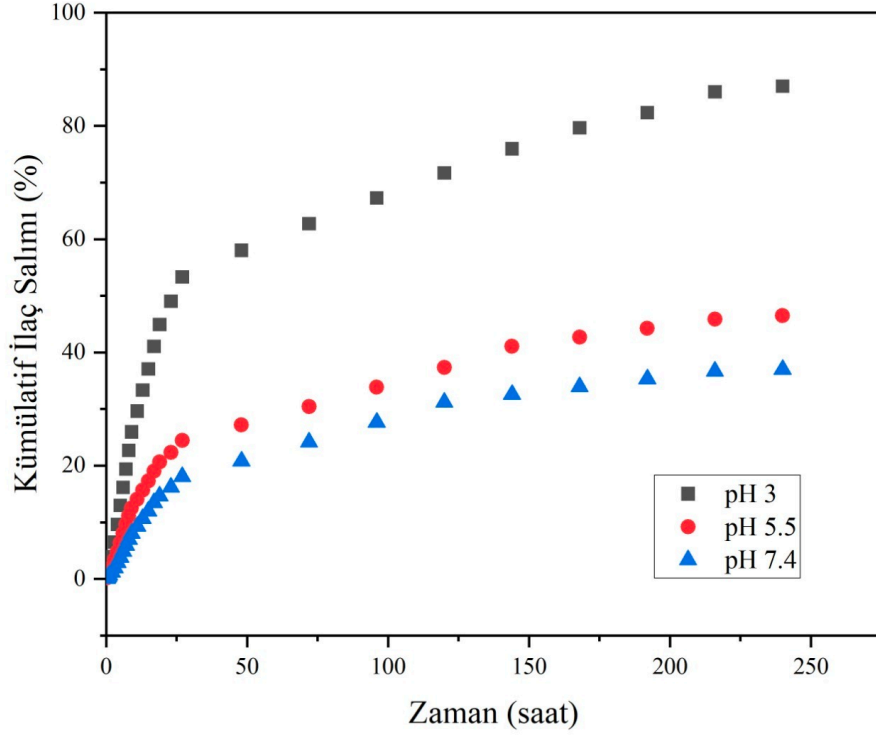
4.2. pHEMA@Fe₂O₃ Nanoparçacıklara Doksorubisin Yüklenmesi ve Salım Uygulaması

Doksorubisin, çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kullanılan bir kemoterapi ilacıdır. Antrasiklinler adı verilen bir grup ilacın parçasıdır ve kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleyerek çalışır [55]. Doksorubisin, DNA ile etkileşime girerek DNA'nın kendini kopyalamasını önler ve bu şekilde kanser hücrelerinin büyümesini durdurur veya

yavaşlatır. Meme kanseri, lösemi, lenfoma, yumurtalık kanseri, mesane kanseri ve diğer bazı kanser türlerinin tedavisinde kullanılabilir [56].

Doksorubisin gibi güçlü kemoterapi ilaçlarının yan etkileri, bu ilaçların kanser hücrelerine karşı yüksek etkinliklerinin bir sonucu olarak kabul edilir. Ancak, bu ilaçların seçiciliklerinin sınırlı olması, sağlıklı hücelere de zarar verebilir ve çeşitli yan etkilere yol açabilir. Doksorubisinin bilinen yan etkileri arasında saç dökülmesi, mukozit (ağız içinde yaralar), mielosupresyon (kemik iliğinin baskılanması), kardiyotoksisite (kalp hasarı), ve bulantı/kusma bulunmaktadır [55]. Yan etkileri azaltmak ve ilacın etkinliğini artırmak amacıyla kontrollü ilaç salım sistemleri üzerine önemli araştırmalar yapılmaktadır [142]. Bu sistemler, ilacın vücutta doğrudan tümöre yönlendirilmesini sağlayarak sağlıklı hücelere verilen zararı azaltmayı hedefler. Kontrollü ilaç salımı, ilacın daha uzun süreler boyunca istenen bölgeye yavaşça salınmasını sağlar, bu da tedavi etkinliğini artırabilir ve sistemik yan etkileri azaltabilir [36]. Gastrointestinal sistemin çeşitli bölümlerinde farklı organ ve dokularda pH farklılık gösterir. Kan ve normal hücrelerin pH değeri 7,4 iken kanserli hücrelerin pH değerleri daha düşüktür. Farklı organların, dokuların ve hücrelerin pH değerlerindeki farklılık, pH'ye duyarlı ilaç salım sistemleri için uygun bir fizyolojik uyarıcı sağlayabilir [139]. İlaç salım sistemlerinde pH duyarlı bir salım profili hedefe yönelik ilaç salımı için ideal bir platform sunar çünkü salımın pH 7,4 fizyolojik pH değerinde salımı engellenir ve ilaç kanser hücrelerinde daha fazla etkisini gösterir [140].

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklar, 2,5 mg DOX içeren 5,0 mL PBS çözeltisi içinde, 20°C'de 3 gün boyunca ilaç yüklemesine tabi tutulmuştur. pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların DOX yükleme kapasitesi %35,68 olarak tespit edilmiştir. Bu değer, deneysel çalışmalar kısmında verilen Eşitlik 3.2 ve farklı derişimlerdeki DOX çözeltilerinin spektrumları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi (Şekil 3.2) kullanılarak hesaplanmıştır.

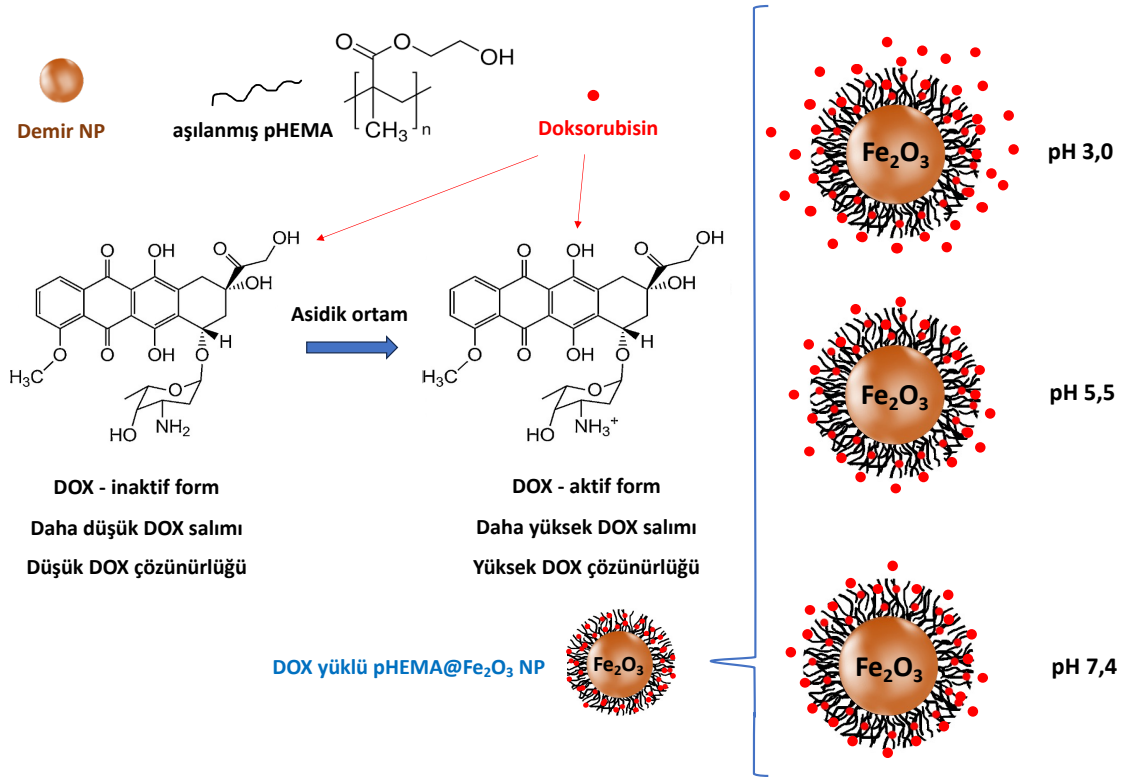


Şekil 4.13. DOX yüklü pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarının (DOX@pHEMA@Fe₂O₃) 3.0, 5.5 ve 7.4 pH değerlerindeki salım davranışları.

DOX yüklü pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarının, üç farklı pH değerinde (3.0, 5.5 ve 7,4) salım davranışı 240 saat boyunca incelenmiştir. In vitro DOX salım profilleri Şekil 4.13'de sunulmaktadır. pH'a bağlı salım profilleri incelendiğinde, 240 saat sonunda en fazla kümülatif ilaç salımının pH 3'te gerçekleştiği, bu pH'de ilaç salımının %87'ye ulaştığı görülmektedir. Salım profillerinde, pH arttıkça salınan ilaç miktarının azaldığı dikkat çekmektedir. pH 5.5'ta salınan DOX miktarı, %46'ya düşmüştür. pH 7,4'te ise, 240 saat sonunda yüklenen ilacın %37'sinin salındığı görülmektedir.

Farklı pH koşullarında ilaç molekülü ve polimer arasındaki etkileşimler, dokсорubisin hidroklorürün pH duyarlı davranışından doğrudan etkilenmektedir. İlacın aktif ve inaktif formunun kimyasal yapıları Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Dokсорubisin ilacının kimyasal yapısında amino gruplarının varlığı bilinmektedir ve bu grubun pKa'sı 8,6'dır [143]. Düşük pH'de, dokсорubisin yapısındaki amin grubu protonlanarak katyonik bir yapıya dönüşür [144]. İlacın bu katyonik formu, doğası gereği daha hidrofildir ve salım

ortamıyla kolaylıkla etkileşime girer. Böylece ilacın daha düşük pH'lerde daha yüksek salım kinetiği elde edilmiş olur. Daha yüksek pH'de ilaç, daha hidrofobik olan deprotone formda kalır ve ilacın bu formu, salım ortamı ile daha düşük etkileşim nedeniyle daha stabil polimer ilaç molekülü etkileşimlerine sebep olur [145]. Ayrıca Fülöp ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada nötr doksorubisin moleküllerinin dimer, trimer oluşturarak protonlanmış DOX yapısına göre daha kolay agregasyona uğradığını ve bu nedenle salım ortamında çözünürlüğünün azaldığını ortaya koymaktadır. Bu durum da, DOX yapısının protone olduğu düşük pH koşullarda daha yüksek kümülatif salım miktarlarını açıklamaktadır [146]. Benzer davranış birçok çalışmada belirtilmiştir. Örneğin Ma ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada manyetik kolloid nanokristal küme çekirdeği (MCNC) ve pH'ye duyarlı çapraz bağlı poli(akrilik asit) (PAA) kabuğu içeren nanoparçacıkları sentezlenmiş ve PNIPAM@MCNC, pHEMA@MCNC ve PDMAPMA@MCNC gibi çeşitli polimer kabukları içeren nanoparçacıklardan DOX'un kontrollü salımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. PAA yapısının pH duyarlılığı ve DOX'un nötr ve asidik durumlarda farklı çözünürlüğü sayesinde, DOX@PAA@MCNC ilaç taşıyıcı sistemleri beklenen pH duyarlı DOX salımı göstermiştir. DOX@PAA@MCNC yapısı pH 7,4, 5,0'te oldukça stabil iken, pH 4,0 koşullarında agregasyonlar gözlenmiştir. Buna karşılık, pH duyarlılığı göstermemesi beklenen PNIPAM@MCNC ve pHEMA@MCNC sistemlerinde DOX'un asidik ortamda artan çözünürlüğü, pH kontrollü salıma yardımcı olmuştur. DOX@PNIPAM@MCNC yapısının pH 7,4, 5,0 ve pH 4,0 koşullarında kararsız ve çökme eğiliminde olduğu, pHEMA@MCNC sisteminin ise sadece pH 7,4'te kararsızlık ve çökme eğilimi sergilediği gösterilmiştir [144]. Antikanser ilaçlarının, özellikle DOX'un, sağlıklı hücrelerin fizyolojik durumunda (nötr pH) kontrollü salımı, ciddi yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olan DOX konsantrasyonunun hızlı artışını önlemek için önemli bir faktördür. Bu açıdan bakıldığında, nötr durumda, pHEMA@Fe₂O₃ temelli ilaç salım sistemindeki düşük DOX salımı, özellikle asidik tümör dokusu pH'ları hedef alındığında oldukça avantajlı bir durumdur.



Şekil 4.14. DOX yüklü pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların farklı pH koşullarında DOX salımı.

Asidik koşullar altında pozitif yüklenen DOX'un, aslında pH duyarlı olarak nitelendirilemeyecek pHEMA yapısından, yukarıda tartışılan çözünürlük davranışına ek olarak, elektrostatik itmeler nedeniyle de daha fazla salındığı düşünülmektedir. Bu itme kuvvetleri, DOX moleküllerinin birbirinden uzaklaşma eğilimi sergilemesine sebep olmakta ve asidik koşullarda, fizyolojik ve alkalın koşullara göre daha fazla salınmasında etkili olmaktadır. Benzer sonuçlara literatürde de rastlanmaktadır [57]. İlaç-polimer etkileşimlerinin farklılaşması ya da polimerin veya ilacın çözünme özelliklerinin değişimine bağlı olarak, pH'a duyarlı ilaç salım sistemlerinin pHEMA ile başarılı bir şekilde uygulanabileceğini gösteren başka çalışmalar, literatürde mevcuttur [147]–[152].

Tez çalışması kapsamında yeşil, hızlı ve verimli bir proses uygulanarak sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ temelli ilaç salım sistemi, salım profilinde gözlemlendiği üzere, fizyolojik pH ortamında daha az miktarda ilaç salımı gerçekleştirirken, yüksek pH'ta daha fazla ilacın salımını gerçekleştirmiştir.

5. TOPLU SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, yeşil kimya ilkelerine bağlı kalarak, kontrollü bir ilaç salım sistemi geliştirmek amacıyla manyetik Fe₂O₃ nanoparçacıklarının yüzeyleri biyoyumlu bir polimer olan pHEMA ile modifiye edilmiştir. Tez kapsamında sunulan modifikasyon yöntemi, nanoparçacık yüzeylerine polimerlerin modifiye edilmesi için yeni bir alternatif sunmaktadır. Bu yöntem diazonyum tuzlarının sergiledikleri redoks aktivasyonunun, vinilik bir monomer varlığında gerçekleştirilmesine dayanmaktadır. Diazonyum tuzları aşılacak yüzeyde, indirgeyici bir ajan ile tetiklenerek polinitrofenilen benzeri öncü bir tohum tabaka oluşturmaktadır. Bu tohum tabaka, ortamda bulunan aril radikaller varlığında, aşılama için uygun bir platform oluşturur. “Diazonium-induced anchoring process” (DIAP) --*Diazonyum ile Tetiklenen Bağlama Süreci*-- veya “GraftFast” olarak adlandırılan bu süreç, tez çalışmasında, yeşil, hızlı ve verimli bir aşılama prosesi geliştirmek amacıyla, ultrases maruziyeti altında gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik polimerizasyon yönteminin DIAP prosesine uyarlanması literatürde oldukça yeni bir yaklaşım olarak dikkat çekicidir.

- Ultrases maruziyet süresinin, pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların aşılama verimliliğine etkisi FTIR ve TGA sonuçlarının karşılaştırılmasıyla incelenmiştir. Elde edilen bulgularda 10 dakikadan sonra aşılama verimliliğinin artmadığı, hatta uzun maruziyet sürelerinde bozunmalar nedeniyle verimin düştüğü tespit edilmiştir.
- Monomer/NBD tuzu oranının pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların aşılama verimliliğine etkisi, FTIR ve TGA sonuçları ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, monomer oranının çok yüksek olduğu koşullarda, aşılama veriminin düştüğünü göstermiştir. Bu durum, aşılama yüzeyinin radikal verimi ile çözeltideki monomerlerin radikal verimleri arasındaki farkın, yarışmalı bir ortama neden olması ile açıklanmıştır. Yüksek monomer derişiminde, homopolimerizasyon lehine ilerleyen bu süreç nedeniyle optimum monomer/NBD tuzu oranı 10:1 olarak belirlenmiştir.
- XRD analizinden elde edilen bulgularda, γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklarına ait karakteristik fazlar tespit edilmiş, bu yapının yüzey modifikasyonu sonrası korunduğu doğrulanmış ve yapıya eklenen pHEMA varlığı gösterilmiştir.

- XPS sonuçları değerlendirildiğinde, pHEMA aşılınmış örneğin yüzey spektrumunda C miktarının ciddi miktarda artışı ve Fe miktarının ise düşüşü tespit edilmiş, böylece yüzeye pHEMA'nın başarılı bir şekilde kaplandığını doğrulamıştır. Ayrıca, C1s spektrumları ile aşılanan nanoparçacık yapısındaki pHEMA varlığı gösterilmiştir.
- TEM analizi neticesinde γ -Fe₂O₃ nanoparçacıkların yüzeyinin ince ve homojen bir organik tabaka ile kaplandığı açık bir şekilde görülmüş, diğer analiz sonuçları ışığında bu tabakanın pHEMA olduğu sonucuna varılmıştır.
- XPS ve TEM sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, optimum koşullarda sentezlenen pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklara aşılanan pHEMA kalınlığının, yaklaşık 10 nm civarında olduğu anlaşılmıştır.
- SEM ve SEM-EDX analiz sonuçları γ -Fe₂O₃ nanoparçacıklar etrafındaki pHEMA tabakanın varlığını doğrulamış, nanoparçacıkların genel olarak 100 nm'den küçük ve homojen dağılım gösteren boyut profillerini ortaya koymuştur.
- pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıkların DOX yükleme kapasitesi %35,68 olarak tespit edilmiştir. DOX@pHEMA@Fe₂O₃ nanoparçacıklarla gerçekleştirilen kümülatif ilaç salım çalışması neticesinde en yüksek salımın pH 3'te gerçekleştiği, bu pH'de ilaç salımının %87'ye ulaştığı görülmüştür. Salım profillerinde, pH arttıkça salınan ilaç miktarının azaldığı dikkat çekmiştir. pH 5.5'ta salınan DOX miktarı, %46'ya düşerken, pH 7,4'te ise, 240 saat sonunda yüklenen ilacın %37'sinin salındığı görülmüştür.
- Tüm bu veriler ışığında, ultrasonik maruziyet altında gerçekleştirilen DIAP sürecinin, modifikasyonu zor inorganik nanoparçacıklara istenen fonksiyonlitenin kazandırılabilmesi amacıyla uygulanabilecek, yeşil kimya süreçleri ile uyumlu, homojen ve etkin bir kaplamaya sebep olan bir aşılama yöntemi olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- [1] S. American, N. America, and S. American, “Fundamental Understandings,” *Sci. Am.*, vol. 275, no. 3, pp. 61–61, 1996, doi: 10.1038/scientificamerican0996-61.
- [2] R. L. Siegel, K. D. Miller, N. S. Wagle, and A. Jemal, “Cancer statistics, 2023,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 73, no. 1, pp. 17–48, 2023, doi: 10.3322/caac.21763.
- [3] B. S. Chhikara and K. Parang, “Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis,” *Chem. Biol. Lett.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–16, 2023.
- [4] M. Türkyılmaz, E. İ. Oruç Hamavioğlu, S. DüNDAR, A. Kavak Ergün, A. Sevinç, and S. Tütüncü, “Türkiye Kanser İstatistikleri 2018,” *Türkiye Kanser İstatistikleri 2018*, vol. 2018, p. 28, 2022.
- [5] O. Baykara, “Current Modalities in Treatment of Cancer,” *Balıkesir Heal. Sci. J.*, vol. 5, no. 3, pp. 154–165, 2016, doi: 10.5505/bsbd.2016.93823.
- [6] F. Alexis, J. W. Rhee, J. P. Richie, A. F. Radovic-Moreno, R. Langer, and O. C. Farokhzad, “New frontiers in nanotechnology for cancer treatment,” *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.*, vol. 26, no. 1, pp. 74–85, 2008, doi: 10.1016/j.urolonc.2007.03.017.
- [7] A. Aghebati-Maleki *et al.*, “Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers,” *J. Cell. Physiol.*, vol. 235, no. 3, pp. 1962–1972, 2020, doi: 10.1002/jcp.29126.
- [8] T. Vangijzegem, D. Stanicki, and S. Laurent, “Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: applications and characteristics,” *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 16, no. 1, pp. 69–78, 2019, doi: 10.1080/17425247.2019.1554647.
- [9] N. Zhu *et al.*, “Surface modification of magnetic iron oxide nanoparticles,” *Nanomaterials*, vol. 8, no. 10, pp. 1–27, 2018, doi: 10.3390/nano8100810.
- [10] W. Wu, Q. He, and C. Jiang, “Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 3, no. 11, pp. 397–415, 2008, doi: 10.1007/s11671-008-9174-9.
- [11] J. Chomoucka, J. Drbohlavova, D. Huska, V. Adam, R. Kizek, and J. Hubalek, “Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering,” *Pharmacol. Res.*, vol. 62, no. 2, pp. 144–149, 2010, doi: 10.1016/j.phrs.2010.01.014.
- [12] G. Moku, V. R. Gopalsamuthiram, T. R. Hoye, and J. Panyam, “Surface modification of nanoparticles: Methods and applications,” *Surf. Modif. Polym. Methods Appl.*, pp. 317–346, 2019, doi: 10.1002/9783527819249.ch11.

- [13] V. Mévellec *et al.*, “Grafting polymers on surfaces: A new powerful and versatile diazonium salt-based one-step process in aqueous media,” *Chem. Mater.*, vol. 19, no. 25, pp. 6323–6330, 2007, doi: 10.1021/cm071371i.
- [14] A. Mesnage, S. Esnouf, P. Jégou, G. Deniau, and S. Palacin, “Understanding the redox-induced polymer grafting process: A dual surface-solution analysis,” *Chem. Mater.*, vol. 22, no. 23, pp. 6229–6239, 2010, doi: 10.1021/cm1014702.
- [15] The International Agency for Research On Cancer, “Latest global cancer data: Cancer burden rises to 19.3 million new cases and 10.0 million cancer deaths in 2020,” *Int. Agency Res. Cancer*, no. december, pp. 13–15, 2020.
- [16] A. Sudhakar, “History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods,” *J. Cancer Sci. Ther.*, vol. 01, no. 02, pp. i–iv, 2009, doi: 10.4172/1948-5956.100000e2.
- [17] C. Pucci, C. Martinelli, and G. Ciofani, “Innovative approaches for cancer treatment: Current perspectives and new challenges,” *Ecancermedicalscience*, vol. 13, pp. 1–26, 2019, doi: 10.3332/ecancer.2019.961.
- [18] E. Dickens and S. Ahmed, “Principles of cancer treatment by chemotherapy,” *Surg. (United Kingdom)*, vol. 36, no. 3, pp. 134–138, 2018, doi: 10.1016/j.mpsur.2017.12.002.
- [19] W. H. Gmeiner and S. Ghosh, “Nanotechnology for cancer treatment,” *Nanotechnol. Rev.*, vol. 3, no. 2, pp. 111–122, 2014, doi: 10.1515/ntrev-2013-0013.
- [20] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, “Nanotechnology: History and future,” *Hum. Exp. Toxicol.*, vol. 34, no. 12, pp. 1318–1321, 2015, doi: 10.1177/0960327115603588.
- [21] A. Z. Wilczewska, K. Niemirowicz, K. H. Markiewicz, and H. Car, “Nanoparticles as drug delivery systems,” *Pharmacol. Reports*, vol. 64, no. 5, pp. 1020–1037, 2012, doi: 10.1016/S1734-1140(12)70901-5.
- [22] K. Park, “Controlled drug delivery systems: Past forward and future back,” *J. Control. Release*, vol. 190, pp. 3–8, 2014, doi: 10.1016/j.jconrel.2014.03.054.
- [23] A. Tewabe, A. Abate, M. Tamrie, A. Seyfu, and E. A. Siraj, “Targeted drug delivery — from magic bullet to nanomedicine: Principles, challenges, and future perspectives,” *J. Multidiscip. Healthc.*, vol. 14, pp. 1711–1724, 2021, doi: 10.2147/JMDH.S313968.
- [24] U. Edlund and A. C. Albertsson, “Degradable polymer microspheres for controlled

- drug delivery,” *Adv. Polym. Sci.*, vol. 157, pp. 67–112, 2002, doi: 10.1007/3-540-45734-8_3.
- [25] J. H. Lee and Y. Yeo, “Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 125, pp. 75–84, 2015, doi: 10.1016/j.ces.2014.08.046.
- [26] M. L. Laracuenta, M. H. Yu, and K. J. McHugh, “Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects,” *J. Control. Release*, vol. 327, no. July, pp. 834–856, 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.09.020.
- [27] Y. H. Yun, B. K. Lee, and K. Park, “Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation,” *J. Control. Release*, vol. 219, pp. 2–7, 2015, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.10.005.
- [28] X. He, J. Li, S. An, and C. Jiang, “PH-Sensitive drug-Delivery systems for tumor targeting,” *Ther. Deliv.*, vol. 4, no. 12, pp. 1499–1510, 2013, doi: 10.4155/tde.13.120.
- [29] S. Abdella *et al.*, “pH and its applications in targeted drug delivery,” *Drug Discov. Today*, vol. 28, no. 1, pp. 1–18, 2023, doi: 10.1016/j.drudis.2022.103414.
- [30] J. Liu *et al.*, “PH-Sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 32, no. 4, pp. 693–710, 2014, doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.11.009.
- [31] F. Moradi Kashkooli, M. Soltani, and M. Souri, “Controlled anti-cancer drug release through advanced nano-drug delivery systems: Static and dynamic targeting strategies,” *J. Control. Release*, vol. 327, no. June, pp. 316–349, 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.08.012.
- [32] J. Zhang *et al.*, “pH-sensitive polymeric nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin to treat cancer via enhanced pro-apoptotic and anti-angiogenic activities,” *Acta Biomater.*, vol. 58, pp. 349–364, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2017.04.029.
- [33] R. Chouhan and A. K. Bajpai, “Real time in vitro studies of doxorubicin release from PHEMA nanoparticles,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 7, p. 5, Oct. 2009, doi: 10.1186/1477-3155-7-5.
- [34] C. Martinelli, C. Pucci, and G. Ciofani, “Nanostructured carriers as innovative tools for cancer diagnosis and therapy,” *APL Bioeng.*, vol. 3, no. 1, 2019, doi: 10.1063/1.5079943.
- [35] B. Haley and E. Frenkel, “Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment,” *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.*, vol. 26, no. 1, pp. 57–64, 2008, doi:

- 10.1016/j.urolonc.2007.03.015.
- [36] M. J. Mitchell, M. M. Billingsley, R. M. Haley, M. E. Wechsler, N. A. Peppas, and R. Langer, “Engineering precision nanoparticles for drug delivery,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 20, no. 2, pp. 101–124, 2021, doi: 10.1038/s41573-020-0090-8.
- [37] L. Sercombe, T. Veerati, F. Moheimani, S. Y. Wu, A. K. Sood, and S. Hua, “Advances and challenges of liposome assisted drug delivery,” *Front. Pharmacol.*, vol. 6, no. DEC, pp. 1–13, 2015, doi: 10.3389/fphar.2015.00286.
- [38] R. Savla, J. Browne, V. Plassat, K. M. Wasan, and E. K. Wasan, “Review and analysis of FDA approved drugs using lipid-based formulations,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 43, no. 11, pp. 1743–1758, 2017, doi: 10.1080/03639045.2017.1342654.
- [39] D. Guimarães, A. Cavaco-Paulo, and E. Nogueira, “Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications,” *Int. J. Pharm.*, vol. 601, no. April, 2021, doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120571.
- [40] M. Afsharzadeh, M. Hashemi, A. Mokhtarzadeh, K. Abnous, and M. Ramezani, “Recent advances in co-delivery systems based on polymeric nanoparticle for cancer treatment,” *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, no. 6, pp. 1095–1110, 2018, doi: 10.1080/21691401.2017.1376675.
- [41] K. M. El-Say and H. S. El-Sawy, “Polymeric nanoparticles: Promising platform for drug delivery,” *Int. J. Pharm.*, vol. 528, no. 1–2, pp. 675–691, 2017, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.052.
- [42] K. Ulbrich, K. Holá, V. Šubr, A. Bakandritsos, J. Tuček, and R. Zbořil, “Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies,” *Chem. Rev.*, vol. 116, no. 9, pp. 5338–5431, 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00589.
- [43] A. R. Guerrero, N. Hassan, C. A. Escobar, F. Albericio, M. J. Kogan, and E. Araya, “Gold nanoparticles for photothermally controlled drug release,” *Nanomedicine*, vol. 9, no. 13, pp. 2023–2039, 2014, doi: 10.2217/nmm.14.126.
- [44] D. Bobo, K. J. Robinson, J. Islam, K. J. Thurecht, and S. R. Corrie, “Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date,” *Pharm. Res.*, vol. 33, no. 10, pp. 2373–2387, 2016, doi: 10.1007/s11095-016-1958-5.
- [45] P. Reimer, G. Schuierer, T. Balzer, and P. E. Peters, “Application of a superparamagnetic iron oxide (Resovis®) for MR imaging of human cerebral

- blood volume,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 34, no. 5, pp. 694–697, 1995, doi: 10.1002/mrm.1910340507.
- [46] A. Marcu *et al.*, “Magnetic iron oxide nanoparticles as drug delivery system in breast cancer,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 281, pp. 60–65, 2013, doi: 10.1016/j.apsusc.2013.02.072.
- [47] A. Senyei, K. Widder, and G. Czerlinski, “Magnetic guidance of drug - carrying microspheres □,” vol. 3583, no. 1978, pp. 3578–3583, 2008.
- [48] K. J. Widder, A. E. Senyei, and D. G. Scarpelli, “Magnetic Microspheres: A Model System for Site Specific Drug Delivery in Vivo,” *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. 158, no. 2, pp. 141–146, 1978, doi: 10.3181/00379727-158-40158.
- [49] A. Ali *et al.*, “Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles,” *Nanotechnol. Sci. Appl.*, vol. 9, pp. 49–67, 2016, doi: 10.2147/NSA.S99986.
- [50] S. C. McBain, H. H. P. Yiu, and J. Dobson, “Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 3, no. 2, pp. 169–180, 2008, doi: 10.2147/ijn.s1608.
- [51] H. Aslam *et al.*, “Current and future perspectives of multifunctional magnetic nanoparticles based controlled drug delivery systems,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 67, no. August 2021, p. 102946, 2022, doi: 10.1016/j.jddst.2021.102946.
- [52] L. Zhou *et al.*, “Synthesis, characterization, and controllable drug release of pH-sensitive hybrid magnetic nanoparticles,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 321, no. 18, pp. 2799–2804, 2009, doi: 10.1016/j.jmmm.2009.04.020.
- [53] B. Koppolu *et al.*, “Temperature-sensitive polymer-coated magnetic nanoparticles as a potential drug delivery system for targeted therapy of thyroid cancer,” *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 6, pp. 983–990, 2012, doi: 10.1166/jbn.2012.1465.
- [54] W. Cai, M. Guo, X. Weng, W. Zhang, G. Owens, and Z. Chen, “Modified green synthesis of Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles for pH responsive drug release,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 112, no. March, 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110900.
- [55] C. Carvalho *et al.*, “Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect,” *Curr. Med. Chem.*, vol. 16, no. 25, pp. 3267–3285, 2009, doi: 10.2174/092986709788803312.
- [56] S. Rivankar, “An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy,” *J.*

- Cancer Res. Ther.*, vol. 10, no. 4, pp. 853–858, 2014, doi: 10.4103/0973-1482.139267.
- [57] R. Chouhan and A. K. Bajpai, “Real time in vitro studies of doxorubicin release from PHEMA nanoparticles,” *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 7, p. 5, 2009, doi: 10.1186/1477-3155-7-5.
- [58] K. F. Chou, C. C. Han, and S. Lee, “Water transport in crosslinked 2-hydroxyethyl methacrylate,” *Polym. Eng. Sci.*, vol. 40, no. 4, pp. 1004–1014, 2000, doi: 10.1002/pen.11228.
- [59] M. Zare, A. Bigham, M. Zare, H. Luo, E. Rezvani Ghomi, and S. Ramakrishna, “Phema: An overview for biomedical applications,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 12, 2021, doi: 10.3390/ijms22126376.
- [60] J. Farzanfar, F. Farjadian, A. Roointan, S. Mohammadi-Samani, and L. Tayebi, “Assessment of pH Responsive Delivery of Methotrexate Based on PHEMA-st-PEG-DA Nanohydrogels,” *Macromol. Res.*, vol. 29, no. 1, pp. 54–61, 2021, doi: 10.1007/s13233-021-9007-6.
- [61] M. A. Puetz, J. , Aegerter, “Dip Coating Technique,” in *Sol-Gel Technologies for Glass Producers and Users*, no. 37–48, New York, 2004, pp. 152–156.
- [62] K. L. Mittal, “Surface modification of textile materials by dip-coating with magnetic nanoparticles,” *Polym. Surf. Modif. Relev. to Adhes. Vol. 4*, no. June 2015, pp. 227–236, 2020, doi: 10.1201/b12203-15.
- [63] Z. Lu *et al.*, “Langmuir–Blodgett-Mediated Formation of Antibacterial Microneedles for Long-Term Transdermal Drug Delivery,” *Adv. Mater.*, vol. 35, no. 38, pp. 1–10, 2023, doi: 10.1002/adma.202303388.
- [64] R. Zhong, Y. Liu, P. Zhang, J. Liu, G. Zhao, and F. Zhang, “Discrete nanoparticle-BSA conjugates manipulated by hydrophobic interaction,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 22, pp. 19465–19470, 2014, doi: 10.1021/am506497s.
- [65] J. Guo *et al.*, “Interaction study on bovine serum albumin physically binding to silver nanoparticles: Evolution from discrete conjugates to protein coronas,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 359, pp. 82–88, 2015, doi: 10.1016/j.apsusc.2015.09.247.
- [66] M. H. Jazayeri, H. Amani, A. A. Pourfatollah, H. Pazoki-Toroudi, and B. Sedighimoghaddam, “Various methods of gold nanoparticles (GNPs) conjugation to antibodies,” *Sens. Bio-Sensing Res.*, vol. 9, pp. 17–22, 2016, doi: 10.1016/j.sbsr.2016.04.002.
- [67] D. Prashar, “Self assembled monolayers -a review,” *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 4,

- no. 1, pp. 258–265, 2012.
- [68] U. Steinike and B. Wallis, “Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers,” *Cryst. Res. Technol.*, vol. 32, no. 1, pp. 187–193, 1997, doi: 10.1002/crat.2170320119.
- [69] C. Haensch, S. Hoepfner, and U. S. Schubert, “Chemical modification of self-assembled silane based monolayers by surface reactions,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 6, pp. 2323–2334, 2010, doi: 10.1039/b920491a.
- [70] B. W. Park, D. S. Kim, and D. Y. Yoon, “Surface modification of gold electrode with gold nanoparticles and mixed self-assembled monolayers for enzyme biosensors,” *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 1, pp. 64–70, 2011, doi: 10.1007/s11814-010-0349-6.
- [71] P. K. Chu, J. Y. Chen, L. P. Wang, and N. Huang, “Plasma-surface modification of biomaterials,” *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 36, no. 5–6, pp. 143–206, 2002, doi: 10.1016/S0927-796X(02)00004-9.
- [72] A. Vesel and M. Mozetic, “New developments in surface functionalization of polymers using controlled plasma treatments,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 29, 2017, doi: 10.1088/1361-6463/aa748a.
- [73] M. Iqbal, D. K. Dinh, Q. Abbas, M. Imran, H. Sattar, and A. Ul Ahmad, “Controlled Surface Wettability by Plasma Polymer Surface Modification,” *Surfaces*, vol. 2, no. 2, pp. 349–371, 2019, doi: 10.3390/surfaces2020026.
- [74] F. Zhu, E. S. W. Kong, J. Zhang, and Y. Zhang, “Surface modification of TiO₂ nanoparticles through plasma polymerization of acrylic acid,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 423, no. 4–6, pp. 270–275, 2006, doi: 10.1016/j.cplett.2006.03.076.
- [75] B. Robert and E. B. Brown, *Plasma Modification of Polymer Surfaces and Plasma Polymerization*, no. 1. 2008.
- [76] S. G. Gaynor and K. Matyjaszewski, “Functionalized polymers by atom transfer radical polymerization,” *ACS Symp. Ser.*, vol. 768, no. November 2000, pp. 347–360, 2000, doi: 10.1021/bk-2000-0768.ch024.
- [77] D. J. Siegwart, J. K. Oh, and K. Matyjaszewski, “ATRP in the design of functional materials for biomedical applications,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 1, pp. 18–37, 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.08.001.
- [78] J. T. Park, J. A. Seo, S. H. Ahn, J. H. Kim, and S. W. Kang, “Surface modification of silica nanoparticles with hydrophilic polymers,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 16, no. 4, pp. 517–522, 2010, doi: 10.1016/j.jiec.2010.03.030.

- [79] Y. Zhou, S. Wang, B. Ding, and Z. Yang, "Modification of magnetite nanoparticles via surface-initiated atom transfer radical polymerization (ATRP)," *Chem. Eng. J.*, vol. 138, no. 1–3, pp. 578–585, 2008, doi: 10.1016/j.cej.2007.07.030.
- [80] F. Zhang, F. J. Xu, E. T. Kang, and K. G. Neoh, "Modification of titanium via surface-initiated atom transfer radical polymerization (ATRP)," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 45, no. 9, pp. 3067–3073, 2006, doi: 10.1021/ie051225r.
- [81] R. Ghiarasim *et al.*, "SI-ATRP decoration of magnetic nanoparticles with PHEMA and post-polymerization modification with folic acid for tumor cells' specific targeting," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 1, 2022, doi: 10.3390/ijms23010155.
- [82] S. de Á. Gonçalves and R. P. Vieira, "Current status of ATRP-based materials for gene therapy," *React. Funct. Polym.*, vol. 147, no. October 2019, p. 104453, 2020, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104453.
- [83] C. W. Bielawski and R. H. Grubbs, "Living ring-opening metathesis polymerization," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 1, pp. 1–29, 2007, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2006.08.006.
- [84] Q. Chen, "Surface-Initiated Ring-Opening Metathesis Polymerization (SI-ROMP): History, General Features, and Applications in Surface Engineering with Polymer Brushes," *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2021, 2021, doi: 10.1155/2021/6677049.
- [85] D. Bélanger and J. Pinson, "Electrografting: A powerful method for surface modification," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 7, pp. 3995–4048, Jun. 2011, doi: 10.1039/c0cs00149j.
- [86] S. Gabriel, R. Jérôme, and C. Jérôme, "Cathodic electrografting of acrylics: From fundamentals to functional coatings," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, no. 1–2, pp. 113–140, 2010, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.11.003.
- [87] S. Palacin, C. Bureau, J. Charlier, G. Deniau, B. Mouanda, and P. Viel, "Molecule-to-metal bonds: Electrografting polymers on conducting surfaces," *ChemPhysChem*, vol. 5, no. 10. Wiley-VCH Verlag, pp. 1468–1481, Oct. 18, 2004, doi: 10.1002/cphc.200301202.
- [88] T. G. McKenzie, F. Karimi, M. Ashokkumar, and G. G. Qiao, "Ultrasound and Sonochemistry for Radical Polymerization: Sound Synthesis," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 25, no. 21, pp. 5372–5388, 2019, doi: 10.1002/chem.201803771.
- [89] G. Cravotto and P. Cintas, "Power ultrasound in organic synthesis: Moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications,"

- Chem. Soc. Rev.*, vol. 35, no. 2, pp. 180–196, 2006, doi: 10.1039/b503848k.
- [90] J. H. Bang and K. S. Suslick, “Applications of ultrasound to the synthesis of nanostructured materials,” *Advanced Materials*, vol. 22, no. 10, pp. 1039–1059, Mar. 12, 2010, doi: 10.1002/adma.200904093.
- [91] G. J. Price, “Ultrasonically enhanced polymer synthesis,” ELSEVIER, 1996. doi: 10.1016/S1350-4177(96)00031-4.
- [92] R. P. S. JOS M. J. PAULUSSE, “Ultrasound in Polymer Chemistry: Revival of an Established Technique,” *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, vol. 44, no. June, 2006, doi: 10.1002/pola.
- [93] G. J. Price, “Recent developments in sonochemical polymerisation,” ELSEVIER, 2003. doi: 10.1016/S1350-4177(96)00031-4.
- [94] D. Peters, “Ultrasound in materials chemistry,” *J. Mater. Chem.*, vol. 6, no. 10, pp. 1605–1618, 1996, doi: 10.1039/jm9960601605.
- [95] Y. Cao, Y. Zheng, and G. Pan, “Radical generation process studies of the cationic surfactants in ultrasonically irradiated emulsion polymerization,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 15, no. 4, pp. 320–325, 2008, doi: 10.1016/j.ultsonch.2007.07.002.
- [96] P. Kruus and T. J. Patraboy, “Initiation of Polymerization with Ultrasound In Methyl Methacrylate,” 1985. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [97] B. M. Teo, S. W. Prescott, G. J. Price, F. Grieser, and M. Ashokkumar, “Synthesis of temperature responsive poly(N-isopropylacrylamide) using ultrasound irradiation,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 114, no. 9, pp. 3178–3184, 2010, doi: 10.1021/jp9114817.
- [98] B. M. Teo, F. Grieser, and M. Ashokkumar, “High intensity ultrasound initiated polymerization of butyl methacrylate in mini- and microemulsions,” *Macromolecules*, vol. 42, no. 13, pp. 4479–4483, 2009, doi: 10.1021/ma900521z.
- [99] N. Shimpi, A. Mali, D. P. Hansora, and S. Mishra, “Synthesis and Surface Modification of Calcium Carbonate Nanoparticles Using Ultrasound Cavitation Technique,” *Nanosci. Nanoeng.*, vol. 3, no. 1, pp. 8–12, 2015, doi: 10.13189/nn.2015.030102.
- [100] H. J. Chu, H. L. Wei, and J. Zhu, “Ultrasound enhanced radical graft polymerization of starch and butyl acrylate,” *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 90, pp. 1–5, 2015, doi: 10.1016/j.cep.2015.02.002.

- [101] P. Allongue *et al.*, “Covalent modification of carbon surfaces by aryl radicals generated from the electrochemical reduction of diazonium salts,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 119, no. 1, pp. 201–207, 1997, doi: 10.1021/ja963354s.
- [102] M. Raicopol, L. Necula, M. Ionita, and L. Pilan, “Electrochemical reduction of aryl diazonium salts: A versatile way for carbon nanotubes functionalisation,” *Surf. Interface Anal.*, vol. 44, no. 8, pp. 1081–1085, 2012, doi: 10.1002/sia.4830.
- [103] F. I. Podvorica, C. Combellas, M. Delamar, F. A. A. Kanoufi, and J. Pinson, “Spontaneous grafting of iron surfaces by reduction of aryldiazonium salts in acidic water: Applications to the inhibition of iron corrosion,” *Passiv. Met. Semicond. Prop. Thin Oxide Layers*, no. 9, pp. 697–702, 2006, doi: 10.1016/B978-044452224-5/50106-2.
- [104] A. Adenier *et al.*, “Study of the spontaneous formation of organic layers on carbon and metal surfaces from diazonium salts,” *Surf. Sci.*, vol. 600, no. 21, pp. 4801–4812, 2006, doi: 10.1016/j.susc.2006.07.061.
- [105] V. Mévellec *et al.*, “Grafting polymers on surfaces: A new powerful and versatile diazonium salt-based one-step process in aqueous media,” *Chem. Mater.*, vol. 19, no. 25, pp. 6323–6330, Dec. 2007, doi: 10.1021/cm071371i.
- [106] S. Mahouche-Chergui, S. Gam-Derouich, C. Mangeney, and M. M. Chehimi, “Aryl diazonium salts: A new class of coupling agents for bonding polymers, biomacromolecules and nanoparticles to surfaces,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 7, pp. 4143–4166, 2011, doi: 10.1039/c0cs00179a.
- [107] D. Li *et al.*, “Surface functionalization of nanomaterials by aryl diazonium salts for biomedical sciences,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 294, no. June, 2021, doi: 10.1016/j.cis.2021.102479.
- [108] F. Mo, D. Qiu, L. Zhang, and J. Wang, “Recent Development of Aryl Diazonium Chemistry for the Derivatization of Aromatic Compounds,” *Chem. Rev.*, vol. 121, no. 10, pp. 5741–5829, 2021, doi: 10.1021/acs.chemrev.0c01030.
- [109] C. Gautier, I. López, and T. Breton, “A post-functionalization toolbox for diazonium (electro)-grafted surfaces: Review of the coupling methods,” *Mater. Adv.*, vol. 2, no. 9, pp. 2773–2810, 2021, doi: 10.1039/d1ma00077b.
- [110] B. Rånby and J. F. Rabek, “*ESR Spectroscopy in Polymer Research*” Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag, vol. 1. Springer Science & Business Media, 1977.
- [111] L. Tessier, G. Deniau, B. Charleux, and S. Palacin, “Surface electroinitiated

- emulsion polymerization (SEEP): A mechanistic approach,” *Chem. Mater.*, vol. 21, no. 18, pp. 4261–4274, Sep. 2009, doi: 10.1021/cm901430t.
- [112] M. Levy and M. Szwarc, “Methyl affinities of aromatic compounds,” *J. Chem. Phys.*, vol. 22, no. 9, pp. 1621–1622, 1954, doi: 10.1063/1.1740487.
- [113] D. H. Hey and G. H. Williams, “Partial rate factors for homolytic aromatic substitution,” *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 14, no. 216, pp. 216–221, 1953, doi: 10.1039/DF9531400216.
- [114] P. Viel *et al.*, “Covalent grafting onto self-adhesive surfaces based on aryldiazonium salt seed layers,” *J. Mater. Chem.*, vol. 18, no. 48, pp. 5913–5920, 2008, doi: 10.1039/b811299a.
- [115] X. T. Le, N. D. Doan, T. Dequivre, P. Viel, and S. Palacin, “Covalent grafting of chitosan onto stainless steel through aryldiazonium self-adhesive layers,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 12, pp. 9085–9092, 2014, doi: 10.1021/am500582e.
- [116] A. Mesnage *et al.*, “Grafting polymers to titania nanoparticles by radical polymerization initiated by diazonium salt,” in *Journal of Materials Science*, Oct. 2011, vol. 46, no. 19, pp. 6332–6338, doi: 10.1007/s10853-011-5709-z.
- [117] A. Mesnage, P. Simon, G. Deniau, N. Herlin-Boime, and S. Palacin, “Graftfast ©: Towards the control of surface properties of any type of materials by the grafting of polymers,” in *Advanced Materials Research*, 2012, vol. 445, pp. 797–802, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.445.797.
- [118] A. Mesnage, G. Deniau, L. Tessier, V. Mévellec, and S. Palacin, “Localized grafting through chemical lift-off,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 257, no. 17, pp. 7805–7812, 2011, doi: 10.1016/j.apsusc.2011.04.033.
- [119] M. Giménez-Marqués *et al.*, “GraftFast Surface Engineering to Improve MOF Nanoparticles Furtiveness,” *Small*, vol. 14, no. 40, pp. 1–11, 2018, doi: 10.1002/sml.201801900.
- [120] S. Sobhanardakani, A. Jafari, R. Zandipak, and A. Meidanchi, “Removal of heavy metal (Hg(II) and Cr(VI)) ions from aqueous solutions using Fe₂O₃@SiO₂ thin films as a novel adsorbent,” *Process Saf. Environ. Prot.*, vol. 120, no. October, pp. 348–357, 2018, doi: 10.1016/j.psep.2018.10.002.
- [121] A. Murtaza and K. Zaheeruddin, “Synthesis and FTIR Characterization of Iron Oxide Nanoparticles,” *Int. J. Innov. Res. Sci.*, vol. 8, pp. 2963–2965, 2019, doi: 10.15680/IJRSET.2019.0803219.

- [122] J. K. V. & H. X. T. S. Perova, “Fourier transform infrared study of poly (2-hydroxyethyl methacrylate) PHEMA,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 275, pp. 323–332, 1997, doi: 10.1007/s10856-006-8230-1.
- [123] E. Vargün, M. Sankir, B. Aran, N. D. Sankir, and A. Usanmaz, “Synthesis and characterization of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and methyl methacrylate (MMA) 1,” *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 47, no. 3, pp. 235–240, 2010, doi: 10.1080/10601320903526998.
- [124] Y. Qi *et al.*, “Antifouling poly(vinylidene fluoride) hollow fiber membrane with hydrophilic surfaces by ultrasonic wave-assisted graft polymerization,” *Polym. Eng. Sci.*, vol. 59, pp. E446–E454, 2019, doi: 10.1002/pen.25012.
- [125] A. R. S. Santha Kumar *et al.*, “Ultrasonics in polymer science: applications and challenges,” *Prog. Mater. Sci.*, vol. 136, no. July 2022, p. 101113, 2023, doi: 10.1016/j.pmatsci.2023.101113.
- [126] B. M. Teo, S. W. Prescott, M. Ashokkumar, and F. Grieser, “Ultrasound initiated miniemulsion polymerization of methacrylate monomers,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 15, no. 1, pp. 89–94, 2008, doi: 10.1016/j.ultsonch.2007.01.009.
- [127] G. J. Price, “Recent developments in sonochemical polymerisation,” in *Ultrasonics Sonochemistry*, 2003, vol. 10, no. 4–5, pp. 277–283, doi: 10.1016/S1350-4177(02)00156-6.
- [128] T. R. Dargaville, G. A. George, D. J. T. Hill, and A. K. Whittaker, “High energy radiation grafting of fluoropolymers,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 28, no. 9, pp. 1355–1376, 2003, doi: 10.1016/S0079-6700(03)00047-9.
- [129] M. Barsbay and O. Güven, “RAFT mediated grafting of poly(acrylic acid) (PAA) from polyethylene/polypropylene (PE/PP) nonwoven fabric via preirradiation,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 54, no. 18, pp. 4838–4848, 2013, doi: 10.1016/j.polymer.2013.06.059.
- [130] J. Azadmanjiri, G. P. Simon, K. Suzuki, C. Selomulya, and J. D. Cashion, “Phase reduction of coated maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles under microwave-induced plasma heating for rapid heat treatment,” *J. Mater. Chem.*, vol. 22, no. 2, pp. 617–625, 2012, doi: 10.1039/c1jm12524a.
- [131] T. F. Conceição, J. R. Bertolino, G. M. O. Barra, S. L. Mireski, A. C. Joussef, and A. T. N. Pires, “Preparation and characterization of poly(ether ether ketone) derivatives,” *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 19, no. 1, pp. 111–116, 2008, doi: 10.1590/S0103-50532008000100016.

- [132] K. Demirelli, M. Coşkun, and E. Kaya, “A detailed study of thermal degradation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate),” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 72, no. 1, pp. 75–80, 2001, doi: 10.1016/S0141-3910(00)00204-4.
- [133] W. Yuan, J. Yuan, L. Zhou, S. Wu, and X. Hong, “Fe₃O₄@poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-graft-poly(ϵ)-caprolactone magnetic nanoparticles with branched brush polymeric shell,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 51, no. 12, pp. 2540–2547, 2010, doi: 10.1016/j.polymer.2010.04.016.
- [134] H. Cui, Y. Liu, and W. Ren, “Structure switch between α -Fe₂O₃, γ -Fe₂O₃ and Fe₃O₄ during the large scale and low temperature sol-gel synthesis of nearly monodispersed iron oxide nanoparticles,” *Adv. Powder Technol.*, vol. 24, no. 1, pp. 93–97, 2013, doi: 10.1016/j.appt.2012.03.001.
- [135] S. Babay, T. Mhiri, and M. Toumi, “Synthesis, structural and spectroscopic characterizations of maghemite γ -Fe₂O₃ prepared by one-step coprecipitation route,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1085, pp. 286–293, 2015, doi: 10.1016/j.molstruc.2014.12.067.
- [136] V. C. Tran, V. H. Nguyen, D. Tuma, and J. J. Shim, “Ionic liquid mediated synthesis of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-block-methyl methacrylate)/Fe₃O₄ core-shell structured nanocomposite by ATRP method,” *Colloid Polym. Sci.*, vol. 294, no. 4, pp. 777–785, 2016, doi: 10.1007/s00396-016-3835-5.
- [137] A. N. Mansour and R. A. Brizzolara, “Characterization of the Surface of γ -Fe₂O₃ Powder by XPS,” *Surf. Sci. Spectra*, vol. 4, no. 4, pp. 351–356, 1996, doi: 10.1116/1.1247832.
- [138] P. S. Bagus, C. J. Nelin, C. R. Brundle, N. Lahiri, E. S. Ilton, and K. M. Rosso, “Analysis of the Fe 2p XPS for hematite α Fe₂O₃: Consequences of covalent bonding and orbital splittings on multiplet splittings,” *J. Chem. Phys.*, vol. 152, no. 1, 2020, doi: 10.1063/1.5135595.
- [139] P. Swift, “Adventitious carbon—the panacea for energy referencing?,” *Surf. Interface Anal.*, vol. 4, no. 2, pp. 47–51, 1982, doi: 10.1002/sia.740040204.
- [140] G. Greczynski and L. Hultman, “C 1s Peak of Adventitious Carbon Aligns to the Vacuum Level: Dire Consequences for Material’s Bonding Assignment by Photoelectron Spectroscopy,” *ChemPhysChem*, vol. 18, no. 12, pp. 1507–1512, 2017, doi: 10.1002/cphc.201700126.
- [141] D. G. Castner, B. D. Ratner, A. Hirao, and S. Nakahama, “Characterization of

- Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate) (PHEMA) by XPS,” *Surf. Sci. Spectra*, vol. 4, no. 1, pp. 14–20, 1996, doi: 10.1116/1.1247807.
- [142] Y. Wang, X. Wei, C. Zhang, F. Zhang, and W. Liang, “Nanoparticle delivery strategies to target doxorubicin to tumor cells and reduce side effects,” *Ther. Deliv.*, vol. 1, no. 2, pp. 273–287, 2010, doi: 10.4155/tde.10.24.
- [143] P. R. Harrigan, K. F. Wong, T. E. Redelmeier, J. J. Wheeler, and P. R. Cullis, “Accumulation of doxorubicin and other lipophilic amines into large unilamellar vesicles in response to transmembrane pH gradients,” *BBA - Biomembr.*, vol. 1149, no. 2, pp. 329–338, 1993, doi: 10.1016/0005-2736(93)90218-O.
- [144] W. F. Ma *et al.*, “Magnetic drug carrier with a smart pH-responsive polymer network shell for controlled delivery of doxorubicin,” *J. Mater. Chem.*, vol. 22, no. 30, pp. 15206–15214, 2012, doi: 10.1039/c2jm31721d.
- [145] D. Banerjee and S. Bose, “Effects of polymer chemistry, concentration, and pH on doxorubicin release kinetics from hydroxyapatite-PCL-PLGA composite,” *J. Mater. Res.*, vol. 34, no. 10, pp. 1692–1703, 2019, doi: 10.1557/jmr.2019.120.
- [146] Z. Fülöp, R. Gref, and T. Loftsson, “A permeation method for detection of self-aggregation of doxorubicin in aqueous environment,” *Int. J. Pharm.*, vol. 454, no. 1, pp. 559–561, 2013, doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.06.058.
- [147] S. Brahim, D. Narinesingh, and A. Guiseppi-Elie, “Synthesis and hydration properties of pH-sensitive p(HEMA)-based hydrogels containing 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate,” *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 3, pp. 497–503, 2003, doi: 10.1021/bm020080u.
- [148] A. Roointan, J. Farzanfar, S. Mohammadi-Samani, A. Behzad-Behbahani, and F. Farjadian, “Smart pH responsive drug delivery system based on poly(HEMA-co-DMAEMA) nanohydrogel,” *Int. J. Pharm.*, vol. 552, no. 1–2, pp. 301–311, 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.10.001.
- [149] S. Brahim, D. Narinesingh, and A. Guiseppi-Elie, “Release characteristics of novel pH-sensitive p(HEMA-DMAEMA) hydrogels containing 3-(trimethoxy-silyl) propyl methacrylate,” *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 5, pp. 1224–1231, 2003, doi: 10.1021/bm034048r.
- [150] Z. Yang, H. Peng, W. Wang, and T. Liu, “Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 116, no. 5, pp. 2658–2667, 2010, doi: 10.1002/app.
- [151] M. A. Zia *et al.*, “HEMA based pH-sensitive semi IPN microgels for oral delivery;

a rationale approach for ketoprofen,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 46, no. 2, pp. 272–282, 2020, doi: 10.1080/03639045.2020.1716378.

- [152] G. Bayramoğlu and M. Y. Arica, “A Novel pH Sensitive Porous Membrane Carrier for Various Biomedical Applications Based on pHEMA/chitosan: Preparation and Its Drug Release Characteristics,” *Macromol. Symp.*, vol. 203, pp. 213–218, 2003, doi: 10.1002/masy.200351321.