T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN YÜKSEK SICAKLIKTAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ: ÇÖZÜNÜRLÜK MODELLERİ VE KROMATOGRAFİK AYRIMLAR

DOKTORA TEZİ

Sema AKAY

DANIŞMAN
Prof. Dr. Berkant KAYAN

AKSARAY, 2020

T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN YÜKSEK SICAKLIKTAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ: ÇÖZÜNÜRLÜK MODELLERİ VE KROMATOGRAFİK AYRIMLAR

DOKTORA TEZİ

Sema AKAY

DANIŞMAN
Prof. Dr. Berkant KAYAN

AKSARAY, 2020

TEŞEKKÜR

Hedeflerime ulaşmak için çıktığım bu zorlu yolda beni yalnız bırakmayan, sabrı ve hoşgörüsüyle çalışmalarımda yol gösterici katkı ve yardımlarda bulunan değerli danışmanım Prof. Dr. Berkant KAYAN'a,

Tez jürimde yer alarak değerli katkılarda bulunan Sayın Prof. Dr. Orhan ATAKOL'a ve Tez İzleme Komitesi'nde görev alarak çalışmalarıma katkılar sunan Sayın Prof. Dr. Orhan GEZİCİ ile Sayın Prof. Dr. Fatih ALGI'ya,

Çalışmalarda kullandığım ilaç etken maddelerini sağlayan Onko Koçsel İlaçları şirketinde Arge Teknoloji Transfer Yöneticisi Sayın Savaş COŞKUN'a,

Çalışmalarımda yer alan termal analiz sonuçlarının yorumlanmasında tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. Talat BARAN'a ve matematiksel modelleme konusunda yardım aldığım PRC Southeast Üniversitesi'nden Sayın Dr. Du CUNBIN'e,

Tezimin gerçekleşmesinde ASU–BA–2019/004 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Aksaray Üniversitesi BAP Koordinasyon birimine,

Çalışmalarım süresince desteklerini gördüğüm dostlarıma ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, beni her konuda destekleyen ve her zaman da destekleyeceklerine inandığım canım AİLEM'e sonsuz teşekkür ederim.

Sema AKAY

AKSARAY, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....i
İÇİNDEKİLER.....ii
ÖZET.....iv
ABSTRACT.....v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....ix
1. GİRİŞ.....1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....3
2.1 Çözünürlük.....3
2.1.1 Çözünürlüğe etki eden faktörler.....4
2.1.1.1 Çözücü-çözünen etkileşimi.....5
2.1.1.2 Sıcaklık etkisi.....6
2.1.1.3 Basınç etkisi.....6
2.1.1.4 Ortak iyon etkisi.....7
2.2 İlaçların Sınıflandırılması ve İlaç Etken Maddeler.....7
2.3 Çalışmalarda Kullanılan İlaç Etken Maddeler.....8
2.3.1 5-Florourasil.....8
2.3.2 Sülfadiazin.....9
2.3.3 İbuprofen.....10
2.3.4 Flukonazol.....11
2.3.5 Essitalopram okzalat.....12
2.4 Subkritik Su.....14
2.4.1 Organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü.....18
2.4.1.1 Çözünenin etkisi.....19
2.4.1.2 Çözücünün etkisi.....22
2.4.1.3 Basıncın etkisi.....23
2.5 Çözünürlük Tahmin Modelleri.....24
2.5.1 Deneysel modeller.....25
2.5.2 Hansen çözünürlük parametresi.....26
2.5.3 Saf bileşen özelliği.....27
2.5.4 Modifiye evrensel fonksiyonel aktivite katsayısı.....27
2.5.5 Dielektrik sabiti modeli.....28
2.6 Önceki Çalışmalar.....29
2.7 Subkritik Su Kromatografisi.....32
2.7.1 Subkritik su kromatografisi sisteminin bileşenleri.....34
2.7.2 Subkritik su kromatografisinde kullanılan kolonlar.....36
2.7.3 Subkritik su kromatografisinde kullanılan dedektörler.....37
2.8 Yüksek Sıcaklık Sıvı Kromatografisi.....39
3. MALZEME VE YÖNTEM.....41
3.1 Kullanılan Kimyasallar.....41
3.2 Kullanılan Cihazlar.....41
3.3 Yöntem.....42
3.3.1 5-Florourasilin subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi.....44
3.3.2 Sülfadiazinin subkritik su ve subkritik su-organik çözücü karışımındaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi.....44
3.3.3 İbuprofenin subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi.....45
3.3.4 Flukonazolün subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi.....46

3.3.5 Essitalopram okzalatın subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi....46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA....48
4.1 5-Florourasilin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi....48
4.1.1 5-Florourasilin çözünürlük tahmin modelleri....50
4.1.2 Subkritik su kromatografisi ile 5-Florourasilin kromatografik tayini…..52
4.2 Sülfadiazinin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi....55
4.2.1 Sülfadiazinin çözünürlüğüne alkol yüzdesinin etkisi....60
4.2.2 Sülfadiazinin çözünürlük tahmin modelleri....61
4.2.3 Subkritik su kromatografisi ile sülfadiazinin kromatografik tayini....65
4.3 İbuprofenin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi....68
4.3.1 İbuprofenin çözünürlük tahmin modelleri....72
4.3.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile ibuprofenin kromatografik tayini....74
4.4 Flukonazolün Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi....76
4.4.1 Flukonazolün çözünürlük tahmin modelleri....80
4.4.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile flukonazolün kromatografik tayini....81
4.5 Essitalopram Okzalatın Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi...84
4.5.1 Essitalopram okzalatın çözünürlük tahmin modelleri....89
4.5.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile essitalopram okzalatın kromatografik tayini....90
4.6 Subkritik Şartlardaki Analitlerin ve Sabit Fazların Termal Kararlılığı....93
4.7 Termodinamik Değerlerin Hesaplanması....107
5. SONUÇ VE ÖNERİLER....111
KAYNAKLAR....115
EKLER....127
EK A. Subkritik sudaki çözünürlük ölçümlerinden elde edilen HPLC kromatogramları....127
ÖZGEÇMİŞ....130

DOKTORA TEZİ

İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN YÜKSEK SICAKLIKTAKİ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜNÜN İNCELENMESİ: ÇÖZÜNÜRLÜK MODELLERİ VE KROMATOGRAFİK AYRIMLAR

Sema AKAY

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Berkant KAYAN

ÖZET

Günümüzde, atık sulardaki kirleticiler konusunda tarım uygulamaları, endüstriyel deşarjlar ve insanlar önemli bir rol oynamaktadır. Tüm bu uygulamalar, çeşitli kirleticiler üreterek ve su döngüsünü değiştirerek doğa ve insan sağlığı üzerinde küresel bir endişeye neden olmaktadır. Mikrokirleticiler içerisinde bugün en çok dikkat çekenlerden biri, içme suları vasıtasıyla insan sağlığında risk uyandırma potansiyeline sahip olan ilaç kalıntılarıdır. İlaç kalıntılarının potansiyel sağlık riskleri yanında, sucul ekosisteme ve fiziki çevreye olan zararları da pek çok araştırmanın konusunu oluşturmaktadır. Bu kirleticiler, farklı su kaynaklarında genellikle birkaç ng/L ile μg/L arasında değişen çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır.

İlaçların çözünürlüğünde kullanılacak ideal çözücü, ayarlanabilir özelliklere sahip çok yönlü bir çözücü olan 'su'dur. Su, kaynama sıcaklığı ile kritik sıcaklığı arasında subkritik su olarak adlandırılmaktadır. Bu çalışmada, subkritik su kullanılarak ilaç etken maddelerinin çözünürlüğü incelenmiştir. Sonuçlar, ilaç etken maddelerinin yüksek sıcaklıktaki sulu çözünürlüğünün, ortam sıcaklığından daha yüksek olduğunu göstermiştir. 498 K'a kadar artan sıcaklık, 5-Florourasil için 12 kat, sülfadiazin için 15 kat, essitalopram okzalat için 55 kat, flukonazol için 147 kat ve ibuprofen için 10600 kat arasında değişen çözünürlük artışlarıyla sonuçlanmıştır. Deneysel verilere dayanarak, subkritik suda ilaç etken maddelerinin çözünürlüğünü tahmin etmek için matematiksel modeller geliştirilmiştir. Modeller başarıyla doğrulanmış ve teorik çözünürlük değerleri deneysel verilerle iyi bir şekilde eşleşmiştir. Ayrıca, Modifiye Apelblat denklemi, yüksek sıcaklıklarda deneysel değerlerle iyi bir uyum sağlamıştır. Subkritik sudaki ilaç etken maddelerinin molar çözünme entalpisi yüksek sıcaklık koşullarında belirlenmiştir. Pozitif entalpi değerleri, işlemin endotermik olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, subkritik sudaki ilaç etken maddelerinin yeterli çözünürlüğü, bu ajanların analizi için yeşil kromatografik teknikler kullanmamıza imkan sunmuştur.

Anahtar Kelimeler: İlaç Etken Maddeleri, Çözünürlük, Çözünürlük Modelleri, Atık Su, Mikrokirletici, Kromatografi, Yüksek Sıcaklık, Subkritik Su.

Temmuz, 2020; 130 sayfa

PhD. THESIS

INVESTIGATION OF SOLUBILITY OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS AT HIGH TEMPERATURE: SOLUBILITY MODELS AND CHROMATOGRAPHIC SEPARATIONS

Sema AKAY

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Berkant KAYAN

ABSTRACT

Nowadays, agriculture practices, industrial discharges and the human being play an important role on the issue of pollutants in wastewater. All these practices have generated various pollutants and altered the water cycle causing a global concern on nature and human health. Today, one of the most important micropollutants groups are residual pharmaceuticals which have potentially health risks for human through drinking water. In addition to the potential health risks of residual pharmaceuticals, their harmful effect on aquatic and physical environment have constituted the main focus of many research studies. These pollutants have commonly found in very low concentrations ranging from a few ng/L to several μg/L in different water resources.

Water is by far the most suitable solvent for active pharmaceutical ingredients (APIs) as it is a versatile solvent with tunable properties. Water is called subcritical water between its boiling and critical temperatures. In the present study, the solubility of APIs was investigated by using subcritical water. The results showed that the aqueous solubility of APIs at elevated temperature was higher than that of ambient temperature. Increasing temperature up to 498 K were resulted in solubility enhancements ranging from 12-fold for 5-Fluorouracil, 15-fold for sulfadiazine, 55-fold for escitalopram oxalate, 147-fold for fluconazole and to 10600-fold for ibuprofen. Based on the experimental data, mathematical models were developed to predict the solubility of APIs in subcritical water. The models were validated successfully and the theoretical solubility values matched well with the experimental data. Furthermore, a modified Apelblat equation provided a good fit to the experimental values at elevated temperatures. The molar enthalpies of dissolution of APIs in subcritical water were determined at high temperatures conditions. The positive enthalpy values indicated that the process was endothermic. Consequently, the adequate solubility of APIs in subcritical water allowed us to perform green chromatographic techniques for the analysis of this agents.

Keywords: Active Pharmaceutical Ingredients, Solubility, Solubility Models, Wastewater, Micropollutant, Chromatography, High Temperature, Subcritical Water.

July, 2020; 130 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 5-Florourasilin molekül yapısı.....8
Şekil 2.2. Sülfadiazinin molekül yapısı.....9
Şekil 2.3. İbuprofenin molekül yapısı.....10
Şekil 2.4. Flukonazolün molekül yapısı.....11
Şekil 2.5. Essitalopram okzalatın molekül yapısı.....12
Şekil 2.6. Suyun faz diyagramı (Saravana ve Chun, 2017).....15
Şekil 2.7. Suyun dielektrik sabitinin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011).....15
Şekil 2.8. Sıcaklığın suyun dielektrik sabitine etkisi (Prini, 1997).....16
Şekil 2.9. Suyun yüzey geriliminin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011).....17
Şekil 2.10. Suyun viskozitesinin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011)...18
Şekil 3.1. Deneysel süreçte kullanılan subkritik kromatografi sistemi.....41
Şekil 3.2. Çözünürlük düzeneği.....42
Şekil 4.1. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen 5-FLU çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.....49
Şekil 4.2. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki 5-FLU kromatogramları.....52
Şekil 4.3. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki 5-Frotu® kromatogramları...54
Şekil 4.4. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen SDA çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.....57
Şekil 4.5. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki SDA kromatogramları.....66
Şekil 4.6. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Silverdin® kromatogramları.....68
Şekil 4.7. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen IBP çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.....71
Şekil 4.8. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki IBP kromatogramları.....74
Şekil 4.9. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Brufen® kromatogramları.....76
Şekil 4.10. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen FLC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.....79
Şekil 4.11. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki FLC kromatogramları.....82
Şekil 4.12. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Fluzole® kromatogramları..84
Şekil 4.13. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen ESC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.....87
Şekil 4.14. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki ESC kromatogramları.....91
Şekil 4.15. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Citoles® kromatogramları...93
Şekil 4.16. 5-Florourasilin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.....96
Şekil 4.17. 5-Florourasilin termal analizinden elde edilen DSC termogramı.....96
Şekil 4.18. Sülfadiazinin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.....97
Şekil 4.19. Sülfadiazinin termal analizinden elde edilen DSC termogramı…….....98
Şekil 4.20. Flukonazolun termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.....99
Şekil 4.21. Flukonazolün termal analizinden elde edilen DSC termogramı.....99
Şekil 4.22. Essitalopram okzalatın termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları….....100
Şekil 4.23. Essitalopram okzalatın termal analizinden elde edilen DSC termogramı.....101

Şekil 4.24. İbuprofenin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.....102
Şekil 4.25. İbuprofenin termal analizinden elde edilen DSC termogramı.....102
Şekil 4.26. İlaç etken maddelerinin HTLC ile elde edilen kromatogramları.....104
Şekil 4.27. İlaç etken maddelerinin SBWC ile elde edilen kromatogramları.....105
Şekil 4.28. İlaç etken maddelerinin SBWC ve HTLC ile farklı ticari kolonlarda elde edilen kromatogramları.....106
Şekil 4.29. İlaç etken maddelerin mol fraksiyon çözünürlüğü-sıcaklık etkileşimi...107

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. 5-Florourasilin fizikokimyasal özellikleri (Yalkowsky vd., 2010).....9
Çizelge 2.2. Sülfadiazinin fizikokimyasal özellikleri (Yalkowsky vd., 2010).....10
Çizelge 2.3. İbuprofenin fizikokimyasal özellikleri (Lau vd., 2011).....10
Çizelge 2.4. Flukonazolün fizikokimyasal özellikleri (URL-4).....12
Çizelge 2.5. Essitalopram okzalatın fizikokimyasal özellikleri (URL-5).....13
Çizelge 2.6. Antrasenin ve bazı oksijenli aromatik bileşiklerin SBCW'deki mol fraksiyon çözünürlüğü (Karasek vd., 2009).....21
Çizelge 4.1. 5-Florourasilin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.....48
Çizelge 4.2. Suyun dielektrik sabiti (5,1 MPa) (Uematsu ve Franck, 1980).....51
Çizelge 4.3. 5-FLU'nun kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi.....53
Çizelge 4.4. Sülfadiazinin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.....56
Çizelge 4.5. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) ve (Subkritik Su + 1-propanol) karışımlarındaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğü üzerine sıcaklığın etkisi.....59
Çizelge 4.6a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) karışımlarındaki Modifiye Apelblat Eq ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü…….....62
Çizelge 4.6b. Subkritik Su + Etanol için Modifiye Apelblat Eq parametreleri…....62
Çizelge 4.7a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + 1-propanol) karışımlarındaki Modifiye Apelblat Eq ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.....62
Çizelge 4.7b. Subkritik Su + 1-propanol için Modifiye Apelblat Eq parametreleri.....63
Çizelge 4.8a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) karışımlarındaki CNIBS/R-K Modeli ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.....64
Çizelge 4.8b. Subkritik Su + Etanol için CNIBS/R-K Model parametreleri.....64
Çizelge 4.9a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + 1-propanol) karışımlarındaki CNIBS/R-K Modeli ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.....64
Çizelge 4.9b. Subkritik Su + 1-propanol için CNIBS/R-K Model parametreleri.....65
Çizelge 4.10. SDA'nın kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi.....67
Çizelge 4.11. İbuprofenin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.....70
Çizelge 4.12. IBP'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa ve hareketli faz bileşimine bağlı olarak değişmesi.....75
Çizelge 4.13. Flukonazolün subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.....78
Çizelge 4.14. FLC'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa ve hareketli faz bileşimine bağlı olarak değişmesi…….....83
Çizelge 4.15. Essitalopram okzalatın subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.....86
Çizelge 4.16. ESC'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa ve hareketli faz bileşimine bağlı olarak değişmesi.....91
Çizelge 4.17. İlaç etken maddeler için elde edilen termodinamik analiz verileri.....108
Çizelge 4.18. Görünür termodinamik analiz ile SDA'nın ortalama harmonik sıcaklıkta (371.93 K) su- organik çözücü karışımlarındaki çözünme entalpisi.....109

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AcOH	Asetik Asit
APIs	İlaç Etken Maddeleri
CNIBS/R-K	Kısmen Karışan İdeal İkili Çözücü / Redlich-Kister
DMSO	Dimetilsülfoksit
ELSD	Evaporatif Işık Dağıtıcı Dedektör
ESC	Essitalopram Okzalat
5-FLU	5-Florourasil
FID	Alev İyonlaştırmalı Dedektör
FLC	Flukonazol
FL	Floresans Spektroskopisi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi
HOC	Hidrofobik Organik Bileşik
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HSP	Hansen Çözünürlük Parametresi
HTLC	Yüksek Sıcaklık Sıvı Kromatografisi
IBP	İbuprofen
ICP/MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma/Kütle Spektrometresi
LC	Sıvı Kromatografisi
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi
MAOI	Monoamin Oksidaz İnhibitörleri
MS	Kütle Spektrometresi
M-UNIFAC	Modifiye Evrensel Fonksiyonel Aktivite Katsayısı
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NSAİİ	Nonsteroid Antienflamatuar İlaçlar
OPA	Orto-fosforik Asit
RAD	Nispi Ortalama Sapma
RI	Refraktif İndeks
RMSD	Kök-ortalama-kare Sapmalar
RPLC	Ters Faz Sıvı Kromatografisi
SBCW	Subkritik Su
SBWC	Subkritik Su Kromatografisi
SDA	Sülfadiazin
SDA-Ag	Gümüş Sülfadiazin
SSRI	Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
TCA	Trisiklik Antidepresan
TFA	Trifloroasetik Asit
UV/VIS	Mor Ötesi/Görünür Bölge Spektroskopisi
cm	Santimetre
ºC	Santigrat Derece
dk	Dakika
Ɛ	Dielektrik Sabiti
g	Gram
ΔH	Entalpi Değişimi
ΔG	Gibbs Serbest Enerji Değişimi
ΔS	Entropi Değişimi
id	İç Çap
K	Kelvin
MΩ	Megaohm
mg	Miligram

mL	Mililitre
mm	Milimetre
MPa	Megapaskal
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
ppm	mg (çözünen)/kg (çözelti)
R	İdeal Gaz Sabiti
R^2	Korelasyon Katsayısı
T	Sıcaklık
T_{hm}	Ortalama Harmonik Sıcaklık
T_o	Ortam Sıcaklığı
$W_{0,5}$	Pik Yarı-yüksekliğindeki Pik Genişliği
X_2	Çözünen Mol Fraksiyonu

1. GİRİŞ

Sanayileşme ve hızlı nüfus artışıyla birlikte; hayatımızın her alanındaki kimyasalların kullanımı da giderek artmaktadır. Özellikle ilaç endüstrisinde antikanser, antibiyotik, antidepresan, antienflamatuar, sınıfı ilaçların alımı ve tüketiminde artan popülasyon ve hasta sayısına bağlı olarak artış söz konusu olmaktadır. Bu tür tıbbi ilaçların yapımında yaklaşık 3000 farklı etken madde kullanılmaktadır. Bunun sonucu olarak, su ortamlarında ve doğada mikrokirletici konsantrasyonlarında artış görülmektedir. Mikrokirleticiler; tıbbi ilaçlara ek olarak, kişisel bakım ürünleri, steroid hormonlar, endüstriyel kimyasallar, pestisitler, poliaromatik hidrokarbonlar ve son zamanlarda görülen diğer bileşiklerden oluşmaktadır. Mikrokirleticiler içerisinde bugün en çok dikkat çeken ve içme suları vasıtasıyla insan sağlığında risk oluşturan gruplardan biri ilaç kalıntılarıdır. İlaç kalıntılarının potansiyel sağlık riskleri yanında, sucul ekosisteme ve fiziki çevreye de etkisi vardır. Dolayısıyla, ilaçların üretim aşamasında kullanılan veya yan ürün olarak ortaya çıkan bazı kimyasalların önlemleri alınmadan çevreye bırakılmasıyla ortaya çıkabilecek zararlı etkilerinin değerlendirilmesi ve bu maddelerin su kaynaklarına geçen miktarlarının izlenmesi gelecekte oluşabilecek ciddi problemlerin önlenmesi açısından önemlidir. Bu anlamda, ilaçların çevrede taşınımının belirlenmesinde, karasal ve sucul ekosistemlere olan risklerinin değerlendirilmesinde çözünürlüklerinin bilinmesi gerekmektedir (Fent vd., 2005; Zhang vd., 2007; Saygı vd., 2012; Akkurt ve Oğuz, 2019).

Bir katı maddenin belirli bir çözücü içindeki çözünürlüğü, çözünmüş maddenin, sabit sıcaklıkta ve basınçta doymuş bir çözelti ile dengede bulunması olarak tanımlanır ve belirli bir hedef bileşiğin saflaştırılmasında, kromatografik ayırımında, geri kazanımında ve konsantre hale getirilmesinde kullanılan işlemlerin tasarımı için gerekli bir fiziksel özelliktir. Organik bileşiklerin su ve organik çözücüler içindeki çözünürlüğü özellikle gıda, farmasötik, kozmetik ve kimya endüstrisinde ekstraksiyon, çökeltme veya kristallendirme gibi ayırma işlemlerinin tasarımında da önemli bir rol oynamaktadır (Pinho ve Macedo, 2007; Martin vd., 2011; Noubigh vd., 2013).

Farmasötiklerin karakterizasyonunda sulu ortamdaki çözünürlük çok önemlidir. İlaçların sıcaklığa bağlı sulu ortamdaki çözünürlüğü, çözünme işlemlerinde yer alan

moleküler mekanizmaların olası bir açıklamasını sağlayan ilgili çözünürlük modellerini gerçekleştirmeye olanak sağlamaktadır (Jiménez ve Martínez, 2006; Cárdenas vd., 2013). Çözünürlük modelleri de farmasötik bileşenlerin saflaştırılması için en iyi çözücü veya çözücü karışımlarını seçmek için hızlı, güvenilir ve uygun maliyetli bir yöntem sunmaktadır. Bu bağlamda en ideal çözücü, ayarlanabilen özellikleri ile çok yönlü bir çözücü olan 'su'dur. Su, kritik noktanın altındaki sıcaklıklarda ve yeterli basınç altında sıvı halini korumakta ve subkritik su olarak adlandırılmaktadır (Carr vd., 2011; Sheikholeslamzadeh ve Rohani, 2012; Pu vd., 2019). Genel olarak, oksijen içeren organik bileşikler, subkritik suda, oksijen içermeyen organik bileşiklerden daha yüksek çözünürlük göstermektedir. Bu anlamda, subkritik suyu bir çözücü olarak kullanan yöntemler oksijenli organik bileşiklere uygulandığında daha yüksek verim elde edilebilmektedir. Birçok ilaç etken madde moleküler yapısında oksijen içermekte, bu da ilaç sektörlerinde subkritik suyun potansiyel kullanımını ön plana çıkarmaktadır (Carr vd., 2010b).

Bu tez çalışmasının temel amacı; antikanser, antibiyotik, antidepresan, antienflamatuar, antifungal gibi 5 farklı gruptan oluşan ilaç etken maddeler için deneysel çözünürlük veri tabanını genişletmek ve bu bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğünü belirlemek için farklı olası tahmin modellerinin kullanımını literatüre kazandırmaktır. Böylece subkritik su ve çözünen madde arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması daha doğru çözünürlük modellerinin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır. Yapılan çalışmalarda daha fazla veri elde edildikçe, çözünürlük modelleri daha geniş bir organik bileşik yelpazesine uygulanabilir hale gelecektir ve benzer moleküler yapıya sahip maddeler için aynı tahmin modellerinin kullanılabileceği öngörülmektedir. Bunun yanında, subkritik sudaki çözünürlük çalışmaları ekstraksiyon ve kromatografi gibi ayırma yöntemlerin gelişimine de katkıda bulunacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Çözünürlük

Çözünürlük, çözünenin bir katı olması durumunda; sabit sıcaklık ve basınçta çözelti içindeki çözünmüş madde ile katı faz arasında denge elde edildiğinde çözeltiye geçen maksimum çözünen madde miktarı olarak tanımlanmaktadır. Kantitatif olarak çözünürlük, çözünen maddenin belirli bir sıcaklıktaki doymuş bir çözelti içindeki konsantrasyonu; kalitatif olarak da homojen bir moleküler dağılım oluşturmak için iki veya daha fazla maddenin kendiliğinden etkileşime girmesi olarak açıklanmaktadır (Martin vd., 2011).

Bir katının sabit sıcaklık ve basınçta kendiliğinden çözünmesi için Gibbs serbest enerji değerinin ($\Delta G<0$) negatif olması gerekmektedir. Gibbs serbest enerjisi, entalpi (ΔH) ve entropi (ΔS)'nin bir fonksiyonudur ve aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanabilmektedir (Eşitlik 2.1) (Wang vd., 2012).

$$\Delta G=\Delta H-T\Delta S \tag{2.1}$$

Çözünmeentalpisi, çözünme işlemi sırasında emilen veya açığa çıkarılan ısı miktarının; entropi ise, sistemin düzensizlik derecesinin bir ölçüsüdür. Eşitlik 2.1, çözeltinin oluşma olasılığının ($\Delta G<0$), entalpi ve entropinin göreceli değerlerine bağlı olduğunu göstermektedir. Entalpi değişimi sıfıra eşitse, o zaman çözelti için serbest enerji değişimi, yani çözünürlük, entropi ile sürdürülmektedir. Bununla birlikte, çoğu çözeltide entalpi değişimi sıfıra eşit değildir. Bu durumda ΔG, entropi ve entalpi arasındaki dengeye bağlıdır. Sistemin çözelti entalpisine göre, ekzotermik (ısı açığa çıkaran) veya endotermik (ısı absorblayan) olduğu söylenmektedir (Khalifeh, 2000).

Çözünürlük, çözünme hızının bir katı-sıvı sistemindeki çökelme hızına eşit olduğu durumlarda elde edilen dinamik denge durumunu ölçmektedir. Çözünen-çözücü, çözünen-çözünen ve çözücü-çözücü arasındaki moleküller arası etkileşimlere bağlıdır. Bir çözünen (i) ve bir çözücüden (j) oluşan bir sistem için, i'nin j içinde çözünme kabiliyeti, i ve j arasındaki etkileşimlerin gücü ile verilmektedir. Eğer i-j arasındaki etkileşim, i-i ve j-j arasındaki etkileşimden daha güçlüyse, çözünen (i) çözücü (j) içinde çözünecektir (Domanska, 2007; Teoh, 2012).

“Benzer benzeri çözer” kuralı, çözünürlüğün temel bir öngörücüsü olarak hala birçok çözünen-çözücü sisteminde uygulanmaktadır. Bu bağlamda, polar maddeler polar çözücülerde; apolar maddeler apolar çözücülerde çözünmektedir. Bununla birlikte, polarite dışında çözünen maddenin fizikokimyasal özellikleri ve hidrojen bağı gibi spesifik moleküller arası etkileşimlerin varlığı da çözünürlük sürecinde önemli rol oynamaktadır (Sweetana ve Akers, 1996).

Bir molekülün çoğu fiziksel özelliğinin temel kaynağı moleküller arası kuvvetlerdir. Moleküller arasındaki çekim kuvvetleri, anlık (indüklenmiş) dipol-dipol ve kalıcı dipol-dipol etkileşimleri tarafından yönetilmektedir. Anlık dipol-dipol etkileşimlerde anlık bir dipole sahip molekül, apolar bir çözücüde apolar bir çözünenin çözünürlüğünü yöneten, moleküller arasında net çekici kuvvetler üreten, komşu moleküllerde bir dipol oluşturmaktadır. Anlık dipol-dipol etkileşimi, bir molekülün polarize edilebilirliği ile iki molekül arasındaki mesafeye bağlıdır ve çözücünün polarize edilebilirliği çözme gücünü göstermektedir. Bununla birlikte, anlık dipol-dipol etkileşimi, sıcaklık değişimlerinden etkilenmemektedir (Allada, 1984; McHugh ve Krukoni, 1986). Bir molekülün yapısına ve büyüklüğüne bağlı olan kalıcı dipol-dipol etkileşimi, moleküller arasında ekstra bir çekim gücü sağlamaktadır. Büyük, karmaşık moleküller, büyük hacimleri nedeniyle genellikle zayıf dipol-dipol etkileşimlere sahiptir. Yüksek dipol momente ve dielektrik sabitine sahip olan bir molekül polar olarak kabul edilmektedir. Kalıcı dipol-dipol etkileşimi, moleküller arası mesafe ile değişmekte ve artan sıcaklıkla azalmaktadır. Bundan dolayı, polar sıvı bir çözücünün suda da gözlemlendiği gibi artan sıcaklıkla polaritesi azalmaktadır (Castellan, 1971; Teoh, 2012).

2.1.1 Çözünürlüğe etki eden faktörler

Çözünürlük, bir denge sürecidir ve böyle bir dengede Le Chatelier ilkesi, çözünürlüğü etkileyen ana faktörlerin çoğunu açıklamak için kullanılabilmektedir. Le Châtelier ilkesine göre, kimyasal dengedeki bir sisteme dışarıdan bir etkide bulunulduğunda sistem bu etkiyi azaltacak yönde yeniden dengeye gelme eğilimindedir.

2.1.1.1 Çözücü-çözünen etkisi

Çözünürlüğü belirlemede çözünen ve çözücü arasındaki ilişki çok önemlidir. Güçlü çözünen–çözücü etkileşimi daha yüksek çözünürlüğe neden olurken, zayıf çözünen–çözücü etkileşimi daha az çözünürlüğe yol açmaktadır.. Bu anlamda, polar çözünenler polar çözücüler içinde; apolar çözünenler de apolar çözücüler içinde daha iyi çözünme eğilimindedir ve benzer benzeri çözer ilkesine göre hareket etmektedir (Yalkowsky, 1999; Petrucci vd., 2002; Zumdahl, 2002).

Genel anlamda çözünmeyi moleküler çözünme ve iyonik çözünme olarak iki kategori altında incelemek mümkündür. Bir molekülün çözünürlüğü büyük ölçüde çözücünün polaritesine, yani dipol momentine bağlıdır. Bununla birlikte, Hildebrand ve Scott (1964) polar maddelerin suda çözünebilirliğini açıklamak için tek başına dipol momentin dikkate alınmasının yeterli olmadığını göstermiştir. Bu noktada çözünenin hidrojen bağları oluşturma yeteneği, çok önemli bir faktördür. Su fenolleri, alkolleri, aldehitleri, ketonları, aminleri ve suyla hidrojen bağları oluşturabilen oksijen ve azot içeren bileşikleri hidrojen bağı etkisi nedeniyle çözebilmektedir. Son olarak, polar çözücüler iyonik türler için de iyi çözünme ortamları sunmaktadır.

Lewis elektron donör-alıcı anlamında bileşenlerin asidik ve bazik karakterlerindeki farklılık da çözeltilerdeki spesifik etkileşimlere katkıda bulunmaktadır. Sayılan faktörlere ek olarak, bir maddenin çözünürlüğü molekülün polar gruplarının apolar gruplarına oranı gibi yapısal özelliklerine de bağlıdır. Bir alifatik alkolün polar olmayan bir zincirinin uzunluğu arttıkça, bileşiğin sudaki çözünürlüğü azalmaktadır. Düz zincirli monohidroksi alkoller, aldehitler, ketonlar ve dört veya beşten fazla karbon içeren asitler, suyun hidrojen bağlı yapısına girememekte ve bu nedenle az çözünmektedir.

Apolar sıvıların çözücü etkisi, polar sıvılarınkinden farklıdır. Apolar çözücüler, düşük dielektrik sabitleri nedeniyle elektrolitlerin iyonları arasındaki çekimi azaltamamakta ve dolayısıyla elektrolitleri iyonize edememektedir. Bu nedenle, iyonik ve polar çözünenler apolar çözücüler içinde çözünmemekte veya kısmen çözünmektedir (Martin vd., 2011).

Bir katı çözünenin çözünürlüğü, çözücünün fiziksel – kimyasal özellikleri yanısıra sıcaklık, basınç ve ortak iyon etkisi gibi bazı faktörlere de bağlı olarak değişmektedir.

2.1.1.2 Sıcaklık etkisi

Çözünürlük dengesi sıcaklığa bağlıdır; artan sıcaklık ile birçok maddenin çözünürlüğü artmaktadır. Sıcaklık değişimleri katıların, sıvıların ve gazların çözünürlüğünü farklı şekilde etkilemektedir. Sıcaklığın katıların çözünürlüğü üzerindeki etkileri, reaksiyonun endotermik veya ekzotermik olmasına bağlı olarak değişmekte ve Le Chatelier ilkesi kullanılarak açıklanabilmektedir. Bir endotermik reaksiyonda sıcaklığın arttırılması, ısının bulduğu tarafın tersine hareket etmesine yol açmaktadır. Bu noktada Le Châtelier ilkesi, sistemin bu etkiyi hafifletmek için ürün tarafına doğru kaymasını öngörmektedir. Ürünler tarafında denge tekrar kurulduğunda daha fazla katı çözünmekte, bu da çözünürlüğün artmasına neden olmaktadır. Ek olarak, çözünürlük bir denge süreci olduğu için, termodinamiğin genel yasalarına da uymaktadır. Bu durumda, katıların çözünürlüğünün sıcaklıkla artması termodinamiğin ikinci yasası olan entropi ile açıklanabilmektedir. Katıyı içeren çözelti ısıtıldığında, katı parçacıkların çözelti ile katı faz arasında kolay hareket etmesi ve II. yasaya göre; katının daha düzensiz ve dağınık duruma geçerek çözünürlüğü gerçekleştirmesi beklenmektedir. Ekzotermik bir reaksiyonda sıcaklığın arttırılması da ürünler tarafında ilave ısıdan kaynaklanan ters bir etkiye neden olmaktadır. Le Châtelier ilkesi, sistemin bu etkiyi hafifletmek için reaktan tarafına doğru kaymasını öngörmekte ve bu kayma ile denge tekrar kurulduğunda katı maddenin çözünürlüğünün azaldığı belirtilmektedir.

Artan sıcaklıkla çözünürlüğü azalan ve sıcaklıktan oldukça bağımsız bir çözünürlük sergileyen maddeler de vardır. Seryum (III) sülfat ($Ce_2(SO_4)_3$), lityum sülfat (Li_2SO_4) ve sodyum sülfat (Na_2SO_4) gibi birkaçı sıcaklık arttıkça suda daha az çözünmektedir. Bu sıcaklık bağımlılığına bazen ters çözünürlük de denmekte ve bir tuzun çözünme sürecinin ekzotermik olduğunda ortaya çıkmaktadır.

2.1.1.3 Basınç etkisi

Basınç değişikliğinin yoğun fazlar olarak bilinen katı ve sıvıların çözünürlüğü üzerindeki etkileri zayıftır ve ihmal edilebilir düzeydedir. Bununla birlikte, sadece

sıvıların içindeki gazların çözünürlüğü, basınca bağlı olarak önemli değişkenlik göstermektedir. Bu durum, Henry yasası ve Le Châtelier ilkesinin bir kombinasyonu ile açıklanabilmekte ve Henry yasası, sıcaklık sabit olduğunda gazın çözünürlüğünün kısmi basıncına karşılık geldiğini belirtmektedir. Bu bağlamda, sabit bir sıcaklıkta kısmi basınç azaldığında, sıvıdaki gaz konsantrasyonu azalmakta ve çözünürlüğü de azaltmaktadır. Tersine, böyle bir durumda kısmi basınç arttığında, sıvıdaki gaz konsantrasyonu da artmakta ve çözünürlüğü de arttırmaktadır.

2.1.1.4 Ortak iyon etkisi

Bir iyonik bileşiğin kimyasal dengede mevcut olan bir iyonunu içeren başka bir tuzun ortama ilave edildiğinde iyonik bileşiğin çözünürlüğündeki azalmayı ifade etmektedir ve bu etki en iyi Le Châtelier ilkesi ile açıklanabilmektedir. Suda az çözünen bir iyonik bileşik dengedeyken, iyonlaşan grupların çoğu katı formda bulunmaktadır. Çözeltiye suda daha çok çözünen başka bir iyonik bileşik eklendiğinde, eklenen bileşikten gelen ortak iyon dengenin reaktanlar tarafına doğru kaymasına yol açmaktadır. Bu nedenle, reaktan tarafına doğru kayan denge, az çözünen iyonik bileşiğin çözünürlüğünü daha da azaltmaktadır (Yalkowsky, 1999; Petrucci vd., 2002; Zumdahl, 2002).

2.2 İlaçların Sınıflandırılması ve İlaç Etken Maddeler

İlaç, tıpta kullanılan ve biyolojik etkinliği olan saf kimyasal madde veya ona eşdeğer bitkisel ya da hayvansal kaynaklı bir veya birden fazla yardımcı madde ile formüle edilmiş, standart miktarda etken madde içeren bir karışımdır. İlaç, etken madde ve taşıyıcı olmak üzere, iki kısımdan oluşmaktadır. Etken madde, canlıda fizyolojik etki gösteren bir veya bir kaç kimyasal madde karışımıdır. Taşıyıcı kısım, etken maddenin hasta tarafından kolay alınabilmesi ya da iyi harmanlanması için dolgu maddesi olarak katılan glikoz, sorbitol, mannitol, parafin, talk gibi fizyolojik etkisi olmayan kimyasal maddedir (Çetin, 1999; URL-1).

İlaçların sınıflandırılmasında genel olarak farmakolojik özellikleri, kimyasal yapıları, hedef sistemler ve etki ettiği bölgeler olmak üzere dört ana özellik öne çıkmaktadır. Farmakolojik özelliklere göre sınıflandırma ilaçların etki etme özelliğine göre sınıflandırılmasının en büyük avantajı, bir fizyolojik sorun için kullanılabilecek ilaçların tümünü gösterebilmesidir. Bu şekilde yapılan bir sınıflandırmada bulunan

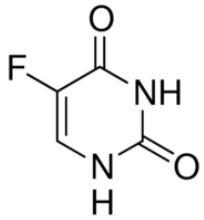
ilaçlar çok geniş ve değişik çeşitlilik göstermektedir. Çünkü fizyolojik bir bozukluğun tek bir bertaraf etme yöntemi yoktur. Bu tür sınıflandırmada yaşanan önemli bir sorun da, bazı ilaçların tek bir etkisinin olmamasıdır. Bu tür sınıflandırmaya örnek ilaçlar olarak antineoplastikler, analjezikler, antibiyotikler, antienflamatuarlar, antidepresanlar, antifungaller, anabolikler, anestetikler, vb. ilaçlar verilebilmektedir (URL-1).

2.3 Çalışmalarda Kullanılan İlaç Etken Maddeler

Bu çalışmada, Dünya genelinde yaygın kullanımları ve çevrede oluşturduğu etkilerle en tehlikeli kirletici türleri olarak kabul edilmeleri nedeniyle antikanser, antibiyotik, antienflamatuar, antifungal ve antidepresandan oluşan 5 farklı ilaç türü seçilmiştir. Bunlar sırasıyla 5-Florourasil, Sülfadiazin, İbuprofen, Flukonazol ve Essitalopram okzalat olup sudaki çözünürlüğü düşük ve subkritik şartlarda daha önce çalışılmamış olan türlerdir.

2.3.1 5-Florourasil

Antineoplastik ilaçlar olarak da bilinen antikanser ilaçlar, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan kanser hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Birkaç antikanser ilaç sınıfı vardır; bunlar alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, doğal ürünler ve hormonlardan oluşmaktadır. 5-Florourasil (5-FLU), pirimidin analogları olarak bilinen antimetabolit sınıfı bir ilaç olup kolon kanseri, rektum kanseri, mide kanseri, meme kanseri, yumurtalık kanseri, mesane kanseri, cilt kanseri, karaciğer kanseri gibi katı tümörlerin tedavisinde yaygın kullanılan bir antikanser ajandır (Şekil 2.1) (Casale vd., 1967; URL-2).



Şekil 2.1. 5-Florourasilin molekül yapısı.

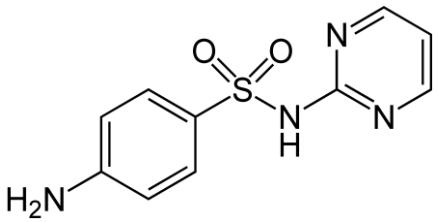
5-Florourasilin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.1'de özetlenmiştir. 5-FLU, suda az çözünmektedir. Kloroform ve eter içinde çözünmezken seyreltik hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi içinde çözünmektedir.

Çizelge 2.1. 5-Florourasilin fizikokimyasal özellikleri (Yalkowsky vd., 2010).

Sistematik (IUPAC) Adı	5-floro-1H-pirimidin-2,4-dion
Kimyasal Formül	$C_4H_3FN_2O_2$
Molar Kütle (g/mol)	130,08
Erime Noktası (°C)	282-283
Çözünürlük (g/L, 25 °C)	12,21
Görünümü	Beyaz kristal

2.3.2 Sülfadiazin

Antibiyotikler günümüz ilaç sektöründe önemli bir grup olarak yer almaktadır ve mikroorganizmaların büyümesini durduran ya da mikroorganizmaları öldüren biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilen çok etkili biyoaktif maddelerdir. Antibiyotikler, insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve hayvanlarda büyümeyi destekleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Etki tarzlarına ve etkiledikleri mikroorganizmalara göre çok sayıda antibiyotik bulunmaktadır (Yalap ve Balcıoğlu, 2008; Saygı vd., 2012). Sulfonamidler, 1930'larda insanlar üzerinde geniş spektrumlu antibiyotik olarak kullanılmaya başlanan ve enfeksiyon tedavisinde kullanılan ilk ilaç grubudur. Sülfadiazin (SDA), sulfonamid grubu bir antibiyotik olup çeşitli bakteri enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisi için etkili bir antimikrobiyal ajandır (Şekil 2.2) (Gelone ve O'Donell, 2005).



Şekil 2.2. Sülfadiazinin molekül yapısı.

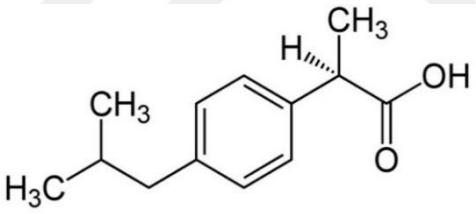
Sülfadiazin suda pratik olarak çözünmezken, etanol ve asetonda az çözünmektedir. Ayrıca, SDA'nın fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Sülfadiazinin fizikokimyasal özellikleri (Yalkowsky vd., 2010).

Sistematik (IUPAC) Adı	4-amino-N-(pirimidin-2-il)benzensulfonamid
Kimyasal Formül	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$
Molar Kütle (g/mol)	250,28
Erime Noktası (°C)	252-256
Çözünürlük (g/L, 25 °C)	0,077
Görünümü	Beyaz veya açık sarı

2.3.3 İbuprofen

Nonsteroid antienflamatuar ilaçlar (NSAİİ) antienflamatuar, analjezik ve antipiretik etkileri nedeniyle çok sık kullanılmaktadır. NSAİİ ilaçlar antibiyotiklerden sonra en sık reçete edilen ilaçlardandır ve toplumda her 20 kişiden birinin NSAİİ kullandığı hesaplanmıştır (Öztürk, 2010). Bu grubun en çok bilinen üyeleri aspirin ve ibuprofendir. İbuprofen (IBP), nonsteroidal antiinflamatuar bir madde olup fenilpropiyonik asit türevidir (Şekil 2.3). Romatizmal, sırt, baş, diş, kas, soğuk algınlığı ve ateşin düşürülmesi amacıyla sıkça kullanılmaktadır.



Şekil 2.3. İbuprofenin molekül yapısı.

İbuprofenin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.3'te özetlenmiştir. IBP, metanol ve etanol gibi organik çözücülerde kolayca çözünürken suda pratik olarak çözünmez (Lau vd., 2011).

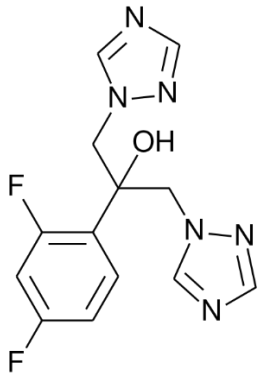
Çizelge 2.3. İbuprofenin fizikokimyasal özellikleri (Lau vd., 2011).

Sistematik (IUPAC) Adı	2-[4-(2-metilpropil)fenil] propanoik asit
Kimyasal Formül	$C_{13}H_{18}O_2$
Molar Kütle (g/mol)	206,28
Erime Noktası (°C)	75-78
Çözünürlük (g/L, 25 °C)	0,021
Görünümü	Beyaz kristal

2.3.4 Flukonazol

Antifungaller, fungus veya diğer bir deyişle mantar enfeksiyonlarında kullanılan farmakolojik ajanlardır (URL-3). Antifungal bileşikler terapötik etkilerine göre iki ana grup altında sınıflandırılabilirler. Bunlardan ilkini sistemik etkisi olmayan direkt yüzeysel mantar enfeksiyonlarında kullanılan topikal antifungal bileşikler diğerini de sistemik mantar enfeksiyonlarında kullanılan sistemik antifungal bileşikler oluşturmaktadır (Kuş ve Alp, 2002).

Azol grubu antifungaller, azol halkasındaki azot sayısına göre imidazol ve triazol olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Bu ilaçlar, her ne kadar etki düzeyi açısından benzer olsa da, farmakokinetikleri ve terapötik kullanımları açısından farklılık göstermektedir. Genellikle cilt enfeksiyonları için kullanılan imidazollerin aksine triazoller, hem dermatolojik hem sistemik mantar enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Yavaş metabolize olmaları ve insan steroidlerinin sentezinde imidazole göre daha az etkili olmaları sayesinde triazoller gelişme gösteren bir azol grubudur. Sık kullanılan triazoller arasında flukonazol, itrakonazol, posakonazol ve vorikonazolü saymak mümkündür. 1980'lerde geliştirilen flukonazol fungustatik etkili bir triazol olup *Candida* türlerine karşı aktiviteye sahiptir ve orofaringeal, özofagus, vajinal ve derin kandidiyazis vakalarında etkilidir. (Park vd., 2007; Corrêa ve Salgado, 2011; Kisgen, 2015).



Şekil 2.4. Flukonazolün molekül yapısı.

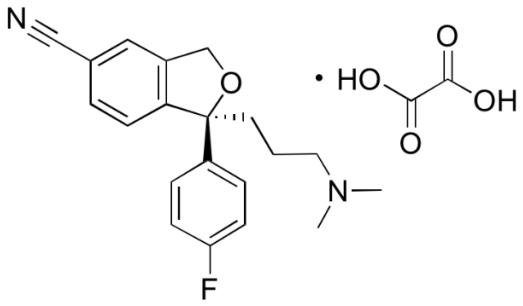
Flukonazol (FLC) beyaz, kristal toz şeklindedir (Şekil 2.4). FLC suda az çözünürken, alkol ve asetonda kısmen, metanolde kolay çözünmektedir. Ek olarak, FLC‘nin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.4’te de verilmiştir (Dash ve Elmquist, 2001; O’Neil, 2006; URL-4).

Çizelge 2.4. Flukonazolün fizikokimyasal özellikleri (URL-4).

Sistematik (IUPAC) Adı	2-(2,4-diflorofenil)-1,3-bis (1,2,4-triazol-1-il) propan-2-ol
Kimyasal Formül	$C_{13}H_{12}F_2N_6O$
Molar Kütle (g/mol)	306,27
Erime Noktası (°C)	138-140
Çözünürlük (g/L, 25 °C)	1,39
Görünümü	Beyaz kristal

2.3.5 Essitalopram okzalat

Antidepresan ilaçlar, enzim - reseptör inhibitörleri ve geri alım engelleyicileri olarak etkilerini göstermektedir (Stahl, 2000; Örsel, 2004). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri (*ENG: Selective Serotonin Re-uptake Inhibitors* - SSRI), başta depresyon olmak üzere farklı psikolojik bozuklukların tedavisinde kullanılan ve diğer antidepresan etken maddelerine göre farmakolojik yan etkilerinin daha az olması sonucu birçok ülkede yaygın olarak reçetelendirilen antidepresan etken maddeleridir. Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI) ve trisiklik antidepresan (TCA) grubu ilaçların aksine, beyinde dopamin ve norepinefrin miktarlarını etkilemeden doğrudan serotonin geri alım mekanizmasını etkilerler ve bundan dolayı seçici olarak adlandırılırlar (Preskorn vd., 2004; Hecht, 2011). Günümüzde altı SSRI (fluvoksamin, fluoksetin, paroksetin, sertralin, sitalopram, essitalopram), depresyon tedavisi ve diğer duygudurum bozukluklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Örsel, 2004). Sitalopram'ın S-enantiyomeri olan essitalopram (Şekil 2.5), terapötik aktivitenin atfedildiği enantiyomerdir.



Şekil 2.5. Essitalopram okzalatın molekül yapısı.

Farmakolojik çalışmalar, R-enantiyomerinin inert olmadığını, ancak sitalopramdaki serotonin arttırıcı özellikleri S-enantiyomerinin karşıladığını göstermiştir.

Essitalopram, depresyon ve panik bozukluk, obsesif kompulsif bozukluk ve sosyal anksiyete bozukluğu gibi bazı anksiyete bozukluklarının tedavisi için kullanılmaktadır.

Essitalopram okzalat (ESC) ince beyaz-sarı, kristalimsi bir tozdur. ESC'nin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.5'te özetlenmiştir. Okzalat formuna rağmen suda az miktarda çözünürken etanol ve asetonda kısmen, metanolde kolay çözünmektedir (Choudhary vd., 2013; URL-5; URL-6).

Çizelge 2.5. Essitalopram okzalatın fizikokimyasal özellikleri (URL-5).

Sistematik (IUPAC) Adı	S-(+)-1-[3-(dimetil-amino)propil]-1-(pflorofenil)-5-ftalankarbonitril okzalat
Kimyasal Formül	$C_{22}H_{23}FN_2O_5$
Molar Kütle (g/mol)	414,4
Erime Noktası (°C)	152-153
Çözünürlük (g/L, 25 °C)	25
Görünümü	Beyaz-sarı kristal

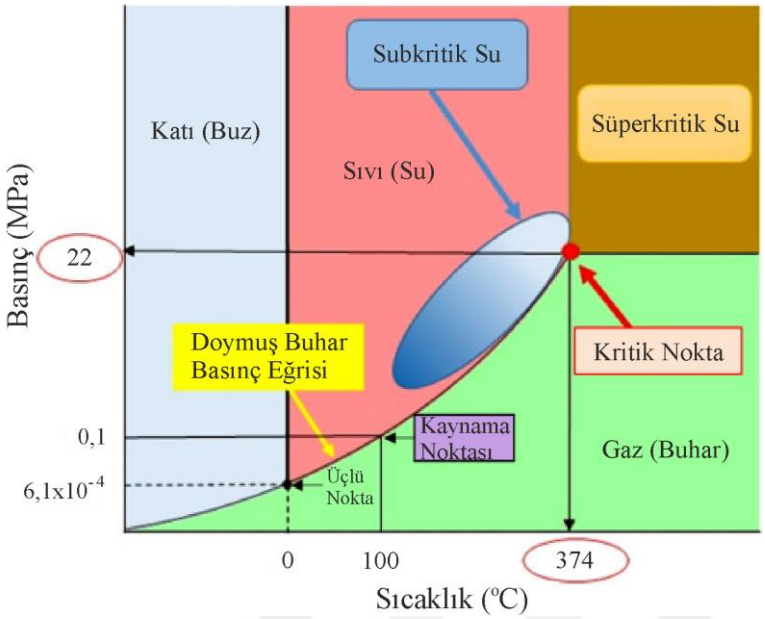
Organik yapıdaki ilaçlarda etken madde olarak kullanılan bileşiklerin çoğu zayıf asit veya zayıf baz özelliğinde olmaktadır ve bu bileşiklerin sudaki çözünürlükleri genellikle düşüktür. En zorlu hedeflerinden biri yeni ilaçların ve formülasyonların keşfi olan ve rutin testler gerektiren farmasötik endüstrisinde, çözünürlük özel bir ilgiye sahiptir. Bu özellik doğrudan bir ilacın farmakokinetik özellikleri ve sonuç olarak insan organizması üzerindeki etkileri ile ilgili olduğu için büyük miktarda sulu çözünürlük verileri gerektirmektedir (Mota vd., 2009). Yine doğal ürünlerdeki bileşikleri ekstrakte edebilmek (özütlemek), ekosistemden uzaklaştırmak ve kromatografik olarak ayırımlarını gerçekleştirebilmek için de bileşiklerin çözünürlüklerinin bilinmesi gerekmektedir. Bu bağlamda uygun çözücünün belirlenmesi şarttır. Organik çözücü içermeyen bir özütleme teknolojisi ile potansiyel olarak zehirli olmayan ürünler elde etmek için gerekli çözücü uzaklaştırma adımını da ortadan kaldırabileceğinden en ideal çözücü, ayarlanabilen özellikleri ile çok yönlü bir çözücü olan ‘‘su’’dur (Zhang vd., 2007; Carr vd., 2011).

2.4 Subkritik Su

Sürdürülebilir işlemler konusundaki artan ilgi, "yeşil" çözücülerin kullanımının artmasına neden olmakta ve bu alanda su önemli bir yer tutmaktadır. Suyun oldukça yüksek kritik noktaya sahip olması, geniş bir aralıkta sıcaklık ve basınç değerlerinin seçilmesine imkan sunmaktadır. Bu sayede, suyun çözme yeteneğinin belirleyicisi olan fiziksel özellikleri de artan sıcaklıkla çok geniş sınırlar içinde ayarlanabilmektedir (Karasek vd., 2006b; Yang, 2007a).

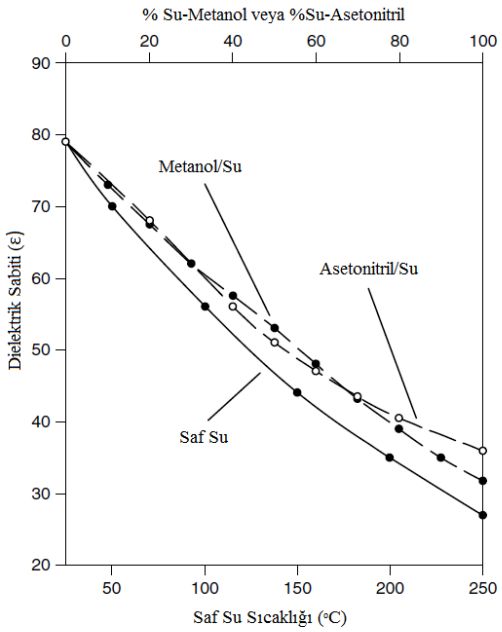
Çözücülerin en yeşili olan su; çalışma sıcaklığı ve basıncındaki değişimler sayesinde dielektrik sabiti, yüzey gerilimi, viskozite, kohesif enerji yoğunluğu ve iyonik ürün gibi fiziksel özellikleri açısından en ayarlanabilir, tek bileşenli çözücüdür. Yeşil ve ayarlanabilir özellikte olması, analitik kimya, bitki ekstraksiyonu ve çevresel iyileştirme süreçleri için gerekli arıtma prosedürleri gibi bazı sürdürülebilir işlemlerde suyun çözücü ve/veya reaksiyon ortamı olarak kullanımını artırmaktadır (Lu vd., 2002; Eckert vd., 2004; Karasek vd., 2009).

Su, 100 °C ile 374 °C arasında subkritik su (SBCW) olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.6) (Yang vd., 2007b; Saravana ve Chun, 2017). Subkritik su hem polar hem de apolar bileşikler için etkili olan bir çözücüdür. Bir çözücü olarak subkritik suyun çok yönlülüğü, doğrudan sıcaklığa bağlı olan suyun ayarlanabilir polaritesi ile ilgilidir (Prini vd., 1991). Su, normal şartlarda dielektrik sabitinin yüksek olmasından dolayı oldukça polar bir yapıya sahiptir ve bu şartlarda polar maddeler ve çoğu tuz için mükemmel bir çözücü özelliği göstermektedir. Bununla birlikte, suyun sıcaklığının artması ile hidrojen bağı zayıflamakta ve polaritesinin azalmasına neden olmaktadır. Ek olarak, artan sıcaklıkla birlikte dielektrik sabiti, yüzey gerilimi ve suyun viskozitesindeki düşüş ile suyun difüzyon oranında da bir artış olmaktadır. Bu özellikler suyun çözünme gücünü arttırmakta, bu da yüksek sıcaklıklarda apolar organik bileşiklerin sudaki çözünürlüğününün artmasını sağlamaktadır (Yang, 2007a).



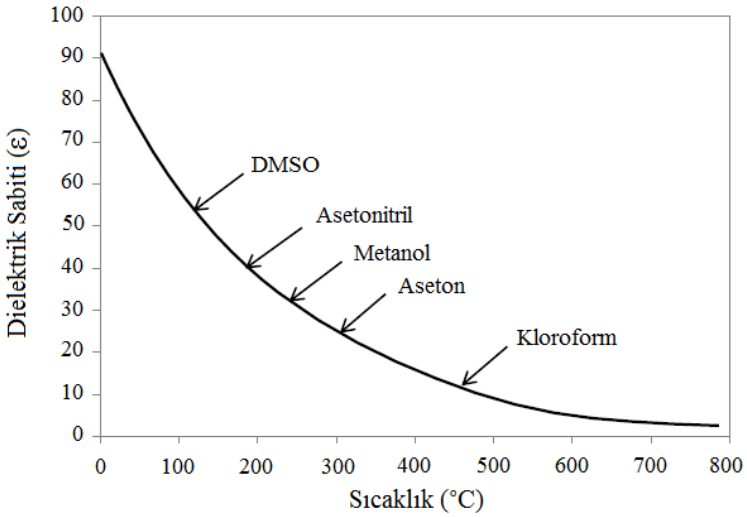
Şekil 2.6. Suyun faz diyagramı (Saravana ve Chun, 2017).

Suyun polaritesi doğrudan ölçülemezken, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak dielektrik sabiti kullanılarak ölçülebilmektedir (Uematsu ve Franck, 1980; Haar vd., 1984; Archer ve Wang, 1990). Şekil 2.7'de gösterildiği gibi, suyun dielektrik sabiti değeri 100 bar basınçta su sıcaklığının 25 °C'den 250 °C'ye yükseltilmesiyle 79'dan 27'ye düşmektedir (Haar vd., 1984; Yang vd., 1998). Bu sıcaklık artışına bağlı olarak azalan dielektrik sabiti suyun polaritesindeki azalmayı ifade etmektedir.



Şekil 2.7. Suyun dielektrik sabitinin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011).

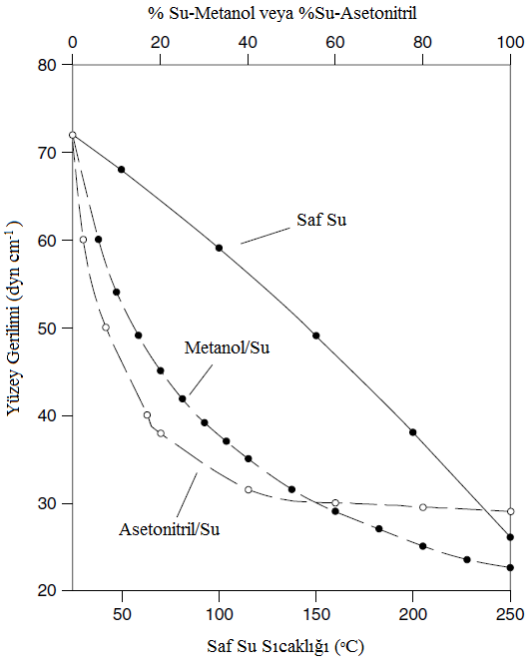
Şekil 2.7'de üst x ekseninde gösterildiği gibi, oda sıcaklığındaki suya metanol veya asetonitril vb. organik çözücüler eklendiğinde de suyun polaritesi azalmaktadır. Bu durum, yüksek sıcaklıktaki suyun, metanol – su veya asetonitril – su gibi RPLC gradyan karışımlarının yerini alabileceği anlamına gelmektedir. Sonuç olarak su sıcaklığı ve basıncı uygun bir şekilde ayarlandığında, suyun dielektrik sabiti, ortam koşullarındaki çeşitli organik çözücülerin dielektrik sabitine (Şekil 2.8) eşdeğer hale getirilebilmektedir (Yang ve Kapalavavi, 2011).



Şekil 2.8. Sıcaklığın suyun dielektrik sabitine etkisi (Prini, 1997).

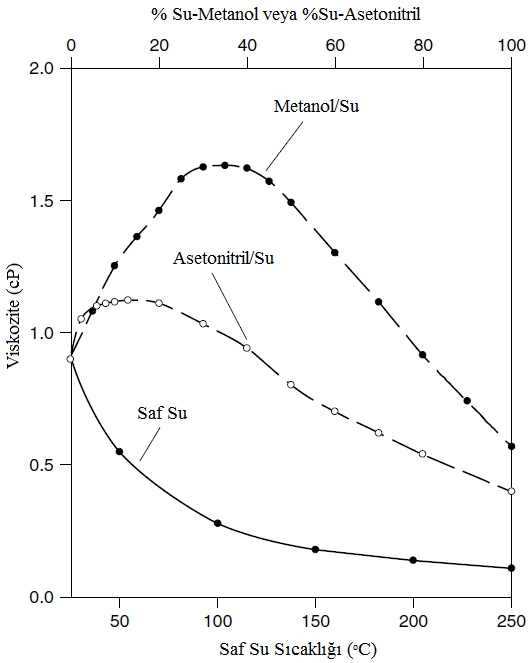
Şekil 2.8'e göre, su sıcaklığının 100 °C'nin üzerine çıkarılmasıyla suyun dielektrik sabiti, normal koşullardaki Dimetilsülfoksitin (DMSO) dielektrik sabitine yakın bir değer almaktadır. Benzer şekilde, su sıcaklığının 200 – 250 °C arasında bir değerde bulunması suyun dielektrik sabitini, normal koşullardaki asetonitril ve metanolün dielektrik sabiti değerine yaklaştırmaktadır (Prini, 1997). Ek olarak, artan su sıcaklığı ile sadece dielektrik sabiti değil aynı zamanda kohesif enerji yoğunluğu ve hidrojen bağlarının asiditesi de azalmaktadır. Bu değişimler sayesinde saf su, daha az polar organik çözücülerle benzer özellikler gösterebilmektedir (Carr vd., 2011).

Suyun yüzey gerilimi, dielektrik sabitine benzer eğilim göstermekte ve Şekil 2.9'da görüldüğü gibi, 100 bar basınçta su sıcaklığının 25 °C'den 250 °C'ye yükseltilmesiyle suyun yüzey gerilimi 72 dyn cm^{-1}'den 26 dyn cm^{-1}'e düşmektedir. Yine aynı şekil, ortam koşullarında organik çözücüler eklendiğinde suyun yüzey gerilimindeki azalmayı göstermektedir (Yang vd., 1998).



Şekil 2.9. Suyun yüzey geriliminin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011).

Dielektrik sabiti ve yüzey gerilimi gibi suyun viskozitesi de artan sıcaklıkla aynı azalma eğilimini izlemektedir. Şekil 2.10'da gösterildiği gibi, su viskozitesi 100 bar basınçta su sıcaklığının 25 °C'den 250 °C'ye yükseltilmesiyle 0,89 cP'den 0,11 cP'ye düşmektedir (Haar vd., 1984). Aynı şekil, yüksek sıcaklıktaki suyun viskozitesini, ortam koşullarındaki metanol-su veya asetonitril-su karışımları ile karşılaştırdığında, her iki organik çözücü-su karışımından daha düşük göstermektedir (Yang ve Kapalavavi, 2011).



Şekil 2.10. Suyun viskozitesinin sıcaklıkla değişimi (Yang ve Kapalavavi, 2011).

Subkritik suyun bir diğer karakteristik özelliği de sıcaklıkla değişen ayrışma sabitidir. Su sıcaklığı 25 °C'den 250 °C'ye arttırıldığında, suyun ayrışma sabiti 1×10^{-14}'ten 4×10^{-12}'ye yükselmektedir. Bu, yüksek sıcaklıktaki suyun, ortam sıcaklığındaki suya kıyasla hem daha güçlü asit hem de daha güçlü bir baz olarak davrandığı anlamına gelmektedir. Su, sıcaklık arttıkça iyonlaşma eğilimi göstermekte, bu da yakın kritik bölgedeki suyun (250 – 350 °C) etkili bir asit katalizörü görevi görmesini sağlamaktadır. Böylece, reaksiyonda aynı anda hem çözücü hem de katalizör olarak subkritik suyu kullanmak, çevreye zararlı organik çözücüleri ve asit katalizörlerine duyulan ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır (Chandler vd., 1997; Yang ve Kapalavavi, 2011; Dembek ve Bocian, 2020).

Subkritik su kullanmanın avantajları; zehirli olmayan yapısı, düşük maliyeti, kolay elde edilebilmesi ve kullanım sonrası bertaraf gerektirmemesidir. Ek olarak, su sıvı durumunu korumak için sıkıştırılırsa çözünürlük özellikleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak değiştirilebilmektedir (Curren ve King, 2001).

2.4.1 Organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü

Bir katı organik bileşiğin subkritik sudaki sulu çözünürlüğü, söz konusu sıcaklıktaki sıvı fazda parçalanmadan veya bozulmadan çözünen madde miktarı olarak ifade edilmektedir. Ancak, maddelerin erime noktasından daha yüksek sıcaklıklardaki

çözünürlüğünde çözünmemiş maddeler de sıvı hale geldiği için, katı maddelerin yüksek sıcaklıktaki çözünürlüğü sadece yaklaşık değerlerdir (Kapalavavi, 2014). Bir organik bileşiğin subkritik su içindeki çözünürlüğü, suyun özelliklerinden, çözünenin yapısından ve su ile çözünen arasındaki karmaşık etkileşimlerden etkilenmektedir (Carr vd., 2011).

2.4.1.1 Çözünenin etkisi

Hidrofobik organik bileşiklerin (HOC) subkritik sudaki çözünürlük davranışı, aromatik halkaların konjugasyon derecesine, HOC etrafındaki hidrojen bağlayıcı yan grupların pozisyonuna ve HOC etrafındaki farklı yan grupların varlığına bağlı olmaktadır. Çalışılan çözünen sayısı ve çözünen tipi (oksijenli / azotlu / klorlu hidrokarbonlar vb.) için çözünürlük verisi sınırlıdır, ancak çözünen yapısının çözünürlüğe olan etkisi üzerine bazı genellemeler yapılabilmektedir (Carr vd., 2011).

Hidrofobik organik bileşiğin çözünürlüğü tipik olarak çözünen bileşiğin büyüklüğü azaldıkça artmaktadır. Örneğin, antrasen (Molar Kütle: 178,23 g/mol), 1,2-benzantrasen (228,29 g/mol) ve krisen (228,29 g/mol)'den daha yüksek bir çözünürlüğe sahiptir (Miller vd., 1998b).

Kümelenmiş aromatik hidrokarbonlar, doğrusal aromatik hidrokarbonlardan daha yüksek bir çözünürlük göstermektedir. Kümelenmiş aromatik halkalar, subkritik su ile kümelenmiş aromatik hidrokarbon arasında daha büyük bir etkileşimi sağlayan delokalize π^* elektron kümesini oluşturmaktadır (Bohon ve Claussen, 1951; Carr vd., 2011).

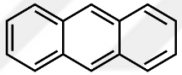
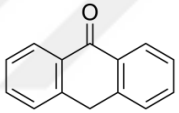
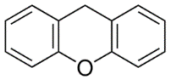
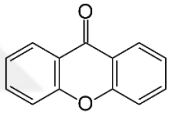
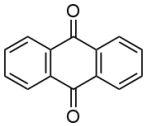
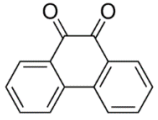
Bir çözünen içindeki oksijenin varlığı genellikle çözünenin subkritik sudaki çözünürlüğünü arttırmaktadır. Karasek vd., (2009) çözünen moleküllerdeki oksijen varlığının, çözünen madde ile su arasında hidrojen bağlarının oluşmasına izin verdiğini ve oksijenli bileşiklerin nispeten yüksek çözünürlüğünün nedeninin bu olduğunu öne sürmektedir (Çizelge 2.6). Örneğin, antronun çözünürlüğü, antrondaki fazladan oksijen nedeniyle, 150 – 160 °C arasındaki sıcaklıkta antrasenden 10 kat daha yüksektir. Bu durumda, su moleküllerindeki hidrojen bağları artan sıcaklıkla giderek zayıflamakta ve su ile çözünen moleküller arasında hidrojen bağlarının oluşmasına izin vermektedir.

Aromatik zincire bağlı oksijen, bir hidrofobik organik bileşiğin çözünürlüğünü etkilemektedir. Çizelge 2.6 incelendiğinde, bir eter grubuna sahip olan ksantenin 90 °C sıcaklıkta bir karbonil grubuna sahip olan antrondan daha düşük bir çözünürlüğe sahip olduğu görülmektedir. Her iki oksijen tipinin varlığı, yalnızca bir karbonil veya bir eter grubunun mevcut olmasından daha yüksek bir çözünürlüğe neden olmaktadır. Çizelge 2.6'da yer alan ksanton hem eter hem de karbonil oksijen tiplerini içermektedir ve bu nedenle ksantonun çözünürlüğü hem ksanten hem de antrondan daha yüksektir (Carr vd., 2011).

Oksijen yan gruplarının konumu da, bir hidrofobik organik bileşiğin çözünürlüğü üzerinde etkili olmaktadır. Örneğin, 9,10-antrakinon, antrondan daha düşük bir çözünürlüğe sahiptir. Oksijen pozisyonunun daha etkili kanıtı, aynı moleküler formüle sahip bileşiklerden 9,10-antrakinon ile 9,10-fenantrakinon karşılaştırıldığında görülmektedir. Orto-oryantasyonda karbonil yan gruplarına sahip olan 9,10-fenantrakinonun çözünürlüğü, para-oryantasyonda karbonil yan-gruplarına sahip 9,10-antrakinondan yaklaşık 10 kat daha yüksektir (Karasek vd., 2009; Carr vd., 2011).

Alifatik zincir uzunluğunun etkisini incelemek için, farklı yağ asitlerinin subkritik sudaki çözünürlükleri araştırılmıştır. Alifatik zincir uzunluğunun artmasıyla, yağ asidinin çözünürlüğünün azaldığı belirtilmiştir. Daha yüksek sıcaklıklarda, daha uzun zincirli karboksilik asitlerin, bir dereceye kadar ısı artışı başına daha yüksek çözünürlük gösterdiği bulunmuştur (Khuwijitjaru vd., 2002).

Çizelge 2.6. Antrasenin ve bazı oksijenli aromatik bileşiklerin SBCW'deki mol fraksiyon çözünürlüğü (Karasek vd., 2009).

$10^9 x_2$						
Bileşikler ve Kimyasal Yapıları						
T (◦C)	Antrasen	Antron	Ksanten	Ksanton	9,10-antrakinon	9,10-fenantrakinon
40	12	345	252	709	73	550
50			471			
60	42	1060	844	1930	205	1630
70			1450			
80	137	3180	2570	5440	592	4180
90			4270			
100	457	9490		12900	1560	10600
110						
120	1540	27900		37000	4100	39400
130						
140		98900		91300	10600	84600
150		126000				
160	15900			271900	29600	255000
170						
180	48400					842000
190						
200	130000					1830000

Oksijen dışındaki yan gruplarla ilgili sınırlı çözünürlük verisi olmasından dolayı seçilen yan gruplu hidrofobik organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü üzerine etkileri incelenmiştir. Azot içeren organik bileşikler, azot içermeyen bileşiklerden daha yüksek çözünürlüğe sahip olma eğilimindedir. Örneğin, karbazol, 200 °C'de aynı moleküler ağırlığa sahip olmasına rağmen, antrasenden yaklaşık 8 kat daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Azot içeren bileşiğin, azot içermeyen bileşiğe göre daha yüksek çözünürlük göstermesi su ile azotun hidrojen bağı oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Marten vd., 1996; Carr vd., 2011). Hidrojen bağ kuvveti, azot içeren bileşiklerde oksijenli bileşiklerde olduğu kadar güçlü olmamakta ve bu durum oksijenli bileşiklerin daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğunu göstermektedir. Klor içeren organik bileşiklerde klorun varlığı çözünürlüğü azaltmaktadır. Yapılan çalışmalarda klorlu aromatik hidrokarbonların çözünürlüğü, klorlanmamış aromatik hidrokarbonlardan önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Bir organik bileşikteki sülfür varlığının, yeterli veri olmadığı için subkritik sudaki çözünürlüğü nasıl etkilediği bilinmemektedir (Carr vd., 2011).

2.4.1.2 Çözücünün etkisi

Suyun termodinamik özellikleri, hem ortam koşullarında hem de kritik koşullar altında tipik olarak hidrojen bağ kuvveti ve hidrojen bağ yapısı ile açıklanmaktadır. Sıvı suda, hidrojen bağı, suyun çözme gücünde merkezi bir rol oynarken; elektriksel dipol momenti ikincil öneme sahiptir. Hidrojen bağlarından dolayı su molekülleri arasındaki güçlü çekim, sıvı suda apolar bileşiklerin gözlenen düşük çözünürlüklerinin de temel sebebidir. Bununla birlikte sudaki hidrojen bağları kendiliğinden birleşmekte ve buradaki bir hidrojen bağının gücü, etrafında bulunan diğer hidrojen bağlarından etkilenmektedir (Franks, 1983; Nezbeda ve Pavlicek, 1996; Teoh, 2012). Böylece bir hidrojen bağındaki küçük bir değişiklik tüm su hacmini etkilemektedir. Hidrojen bağ kuvvetindeki değişimler, dielektrik sabitine ve buharlaşma ısısına yansımaktadır. Düşük sıcaklıklarda, hidrojen bağları daha güçlüdür ve dielektrik sabiti değeri daha yüksektir. Su sıcaklığının artırılması her bir hidrojen bağının gücünü zayıflatmakta ve suyun dielektrik sabitini azaltmaktadır. Bununla birlikte suyun azalan yüzey gerilimi ve viskozitesi suyun difüzyon oranı ile çözme gücünü arttırmaktadır. Bu etkiler sayesinde hidrofobik organik bileşiklerin yüksek sıcaklıklarda sudaki çözünürlüğünde artış olmaktadır (Prini vd., 1991;

Nakahara vd., 2001; Caffarena ve Grigera, 2004; Yang, 2007a; Yang ve Kapalavavi, 2011).

Apolar organik bileşiklerin çözünürlüğünün subkritik su ortamında artması sadece dielektrik sabitinin düşmesine bağlı değil aynı zamanda suyun özellikleri, çözünen maddenin yapısı ve su ile çözünen madde arasındaki bir takım karmaşık molekül içi etkileşimlerden de kaynaklanmaktadır. Molekül içi etkileşimler sıcaklığa bağlı olarak farklı çözünürlük davranışı gösterebilmektedir. Örneğin su sistemine bir çözünen eklendiği zaman daha karmaşık moleküler etkileşimler gerçekleşebilmekte ve geniş sıcaklık aralığında farklı çözünürlük eğilimi gösterebilmektedir. Bileşiklerin çoğunda 150 °C'ye kadar pürüzsüz bir çözünürlük artışı gözlenmekte ve 150 °C'nin üzerinde çözünürlük daha da artmaktadır.

Organik bileşiklerin subkritik su şartlarındaki çözünürlüğünde, iki farklı etkin süreç (pozitif ısı–negatif ısı) rol oynamakta ve birbirine zıt etki yaratmaktadır. Çözünürlükteki pozitif ısı veya yürütücü kuvvet suda boşluk oluşumu esnasında açığa çıkan ısıdan, negatif ısı da hidrojen bağlarının çözünen molekülleri etrafındaki kafes ya da buzdağı şeklindeki yapılarından kaynaklanmaktadır. Kafes oluşumlarının etkin olduğu durumlarda, suyun sıcaklığının artması ile çözünürlük azalmaktadır. Benzer şekilde, boşluk oluşum ısısı, kafes oluşum ısısından fazla ise sıcaklığın artması ile çözünürlük artmaktadır. Bir çok literatür çalışması göstermektedir ki 160 ^{o}C ve üzerindeki sıcaklıklarda polar olmayan organik bileşiklerin çözünürlükleri önemli derecede artmaktadır. Çözünürlükteki bu hızlı artış boşluk oluşum ısısının kafes oluşum ısısına göre daha etkin olduğunu göstermektedir (Bohon ve Claussen, 1951; Shinoda, 1977; Kalinichev ve Bass, 1997; Carr vd., 2011).

2.4.1.3 Basıncın etkisi

Apolar organik bileşiklerin çözünürlüğünde basıncın etkisi ihmal edilebilmektedir. Çözünürlük tayinleri çok büyük basınç aralıklarında sabit sıcaklıkta gerçekleştirildiğinde, basınç artışı suyun dielektrik sabitini (polaritesini) arttırdığı için beklendiği gibi artan basınçla düşük çözünürlük elde edilmektedir (Haar vd., 1984; Miller ve Hawthorne, 1998a). Ayrıca çözünürlükte belirgin bir etki oluşturabilmek için gerekli basıncın büyüklüğü her bileşiğe göre farklılık göstermektedir. Subkritik su şartlarında uygulanan basınç, suyu belirlenen sıcaklıkta

sıvı fazda tutmaya yaramaktadır. Genelde SBCW'de 20 bar ile 100 bar arasında çalışılmaktadır. Dolayısıyla çözünürlükte sıcaklık, basınçtan çok daha etkin bir parametredir ve bu nedenle çözünürlük çalışmalarında genellikle basınç sabit bir değerde tutulmakta ve sıcaklığın çözünürlüğe etkisi incelenmektedir. Bu nedenle literatürdeki çözünürlük tahmin modelleri de sıcaklığın bir fonksiyonu olarak geliştirilmiştir (Miller ve Hawthorne, 1998a; Miller vd., 1998b).

2.5 Çözünürlük Tahmin Modelleri

Katı organik bileşiklerin sulu ortamdaki çözünürlüğü, sıvı organik bileşiklerin çözünürlüğüne kıyasla daha kolay bir termodinamik analiz sağladığı için daha çok çalışılmıştır (Karasek vd., 2006a). Ayrıca, katı bileşiklerin sıcaklığa bağlı sulu ortamdaki çözünürlüğü, çözünme işlemlerinde yer alan moleküler mekanizmaların olası bir açıklamasını sağlayan ilgili termodinamik modelleri gerçekleştirmeye olanak sağlamaktadır. Termodinamik modeller, bileşenlerin saflaştırılmasında en iyi çözücü veya çözücü karışımlarını seçmek için hızlı ve güvenilir tahminler yapmayı mümkün kılmaktadır. Böylece; yüksek maliyetli fizikokimyasal işlemlerde çözünürlük modelleri kritik rol üstlenebilmektedir. (Sheikholeslamzadeh ve Rohani, 2012; Cárdenas vd., 2013).

Çözünürlük tahmin modelleri, bir bileşiğin bir çözücü içinde (subkritik su) ne kadar çözünür olduğunu doğru bir şekilde tahmin etmeli ve bir işlemin deneyler yapılmadan önce uygulanabilir olup olmadığını tespit etmeyi kolaylaştırmalıdır. İşlem endüstriyel bir seviyeye (gıda, farmasötik, kimya vb.) yükseltilecekse, çözünürlük modellerine sahip olması zorunludur (McHugh ve Krukonis, 1994; Carr vd., 2011). Örneğin kristallendirme, özellikle ilaç endüstrisinde kullanılan önemli bir ayırma ve saflaştırma tekniğidir. En uygun çözücünün seçimi ve kristalizasyon proseslerinin tasarımı için sentezlenen yeni ilaç etken maddelerin güvenilir çözünürlük verileri gereklidir. Ancak bu ilaç etken maddelerinin farklı çözücülerdeki veya çözücü karışımlarındaki çözünürlük ölçümleri oldukça zaman alıcıdır ve belirli bir miktarda madde istemektedir, bu da her zaman mevcut değildir. Dolayısıyla bu noktada, çözünürlük tahmin modellerinin kullanılması önem arz etmektedir. Güvenilir bir tahmin metodunun geliştirilmesi için de çözünürlük ve saf bileşen verileri ile kapsamlı bir veri tabanı gerekmektedir (Hahnenkamp vd., 2010). Bazı termodinamik modeller çözünürlüğü tahmin etmek için kullanılabilir, ancak deneysel

verilerin kullanılabilirliği hala uygun bir model geliştirme ve değerlendirme için temel gerekliliktir (Mota vd., 2009).

Subkritik su şartlarındaki çözünürlük modelleri, 1998'den bu yana, sınırlı çözünürlük verilerinin olanak verdiği kadar geliştirilmiştir. Birçok model, çözünen yapısını ihmal eden, yalnızca saf su özelliklerini hidrojen bağı etkileri açısından dikkate alarak çözünürlüğü modellemeye çalışmıştır. Bu modeller ya yüksek sıcaklıkta ya da düşük sıcaklıkta doğru olma eğilimindedir. Miller vd., (1998b) daha fazla veri elde edildikçe, çözünen ve çözücü özelliklerine dayanan modellerin mümkün olacağını önermiştir. Dolayısıyla organik bileşiklerin sudaki çözünürlüğünün daha yüksek sıcaklıklarda tahmin edilmesine rehberlik etmek için çözünürlük modellerine ihtiyaç vardır. Carr vd., (2011) yaptıkları bir çalışmada hidrofobik organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü için son yıllarda geliştirilen çözünürlük modellerini derlemişlerdir. Bu çözünürlük modelleri deneysel model, çözünürlük parametresi, saf bileşen özelliği, Modifiye Evrensel Fonksiyonel Aktivite Katsayısı (M-UNIFAC) ve dielektrik sabiti modeli olmak üzere beş alt gruba ayrılmıştır.

2.5.1 Deneysel modeller

Oda sıcaklığındaki çözünürlüğe dayanarak genelleştirilmiş birinci, ikinci veya üçüncü dereceden denklem oluşturmak için çözünürlük verilerini kullanan ve subkritik sudaki bir bileşiğin çözünürlüğünü tahmin etmek amacıyla optimize edilen modellerdir. Subkritik sudaki deneysel modellerin temel formu Eşitlik 2.2'de gösterildiği gibi $x_2(T)$, T sıcaklığındaki mol fraksiyon çözünürlüğünden ve $x_2(T_o)$, bileşiğin ortam sıcaklığında bilinen çözünürlüğünden oluşmaktadır (Carr vd., 2011).

$$\ln x_2(T) \approx (\frac{T_o}{T}) \ln x_2(T_o) \tag{2.2}$$

Eşitlik 2.2, iki varsayıma dayanmaktadır. İlk olarak çözelti ile dengedeki çözünen maddenin suyu absorblamadığı ve çözelti için Gibbs fonksiyonunun sıcaklıkla büyük ölçüde değişmediği varsayılmıştır. İkinci varsayım da bu büyük çözünmeyen moleküllerin çözelti entalpisinin, Gibbs fonksiyonuna entropiden daha büyük katkı sağlaması ve entalpi değerinin, sıcaklıkla büyük ölçüde değişmemesi temeline dayanmaktadır. Bu eşitlik, Miller vd., (1998b)'in temel eşitliğidir ve herhangi bir değişiklik yapmadan, farklı türdeki bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğünü

tahmin etmek için uygun değildir. Dolayısıyla Miller vd., (1998b) birinci eşitliğin geçerliliğini test etmiş ve bu eşitlikle düşük sıcaklıklarda uyumlu sonuçlar alırken, yüksek sıcaklıklarda başarısız olmuştur. Çünkü sıcaklık artışı ile suyun polaritesi azaldığı için su organik bileşikleri daha fazla çözmüş ve elde edilen grafikte sapmalar meydana gelmiştir. Sonuç olarak, birinci eşitliğe kübik bir denklem eklenerek yaklaşık ve iyi bir tahmin sağlamak için ikinci eşitlik (bu eşitlik, önceki çalışmalar kısmında Eşitlik 2.6 olarak ifade edilmiştir) önerilmiştir (Miller vd., 1998b). Bütün bu sonuçlar, su ve çözünen madde arasındaki hidrojen bağı etkileşimlerini dikkate alan modellerin gerekli olduğunu göstermektedir. Subkritik su-çözünen madde etkileşimini gösteren modeller, son zamanlarda, çözünen ve çözücü arasındaki hidrojen bağını hesaba katarak elde edilmiştir (Carr vd., 2011).

2.5.2 Hansen çözünürlük parametresi

Hansen çözünürlük parametreleri (HSP), çeşitli çözücülerdeki hem polar hem de apolar bileşiklerin çözünürlük başlangıcını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Yöntem çözünürlüğü öngörmese de, bir çözücünün olarak güçlü mü yoksa zayıf mı olduğunu nicel olarak belirleyebilmektedir (Hansen, 2000). Bu HSP yöntemi, bir organik bileşiğin bir çözücü içinde çözündürülmesinde yer alan dağılma, polar ve hidrojen bağlama kuvvetlerinin kısmi katkılarını dikkate almaktadır. Dağılma kuvvetleri organik moleküller için bir dizi grup katkı tablosu ile hesaplanırken, polar kuvvetler dipol moment verileri kullanılarak; hidrojen bağlama kuvvetleri de buharlaşma ısısı verileri kullanılarak hesaplanmaktadır. Bu üç kuvvetin katkısı, çözünen maddeyi ve çözücüyü 3 boyutlu bir alana yerleştirirken çözünen maddenin çözücüye olan bağıl mesafesi, çözünen maddenin çözücüde ne kadar çözünür olduğunu belirlemektedir (Hansen, 2000; Srinivas vd., 2008; Carr vd., 2011).

Srinivas vd., (2008) HSP'yi kateşin ve glikoz gibi bir dizi kompleks organik bileşiğin subkritik sudaki çözünürlük parametrelerini hesaplamak için kullanmış ve çalışmada HSP'ye yapılan herhangi bir katkı düzeltmesine ilişkin ayrıntılı bilgiye yer vermemiştir. Yöntemin gerçek çözünürlük değerini hesaplayamaması HSP modelinin uygulanabilirliğini sınırlamaktadır.

2.5.3 Saf bileşen özelliği

Karasek vd., (2006b) subkritik suda polisiklik aromatik hidrokarbonların çözünürlüğünü hesaplamak için yarı deneysel bir model geliştirmiştir. Model, hidrojen bağı etkileşimlerinin göstergesi olan yüksek sıcaklıktaki suyun özelliklerini dikkate almayı amaçlamış ve modelin geliştirilmesinde sıcaklığın fonksiyonu olarak kohesif enerji yoğunluğu ve dielektrik sabiti göz önünde bulundurulmuştur. Subkritik sudaki katı polisiklik aromatik hidrokarbonların çözünürlüğünü hesaplamak için kullanılan ifadenin tamamı Eşitlik 2.3'te verilmiştir.

$$\ln x_2 = \ln\left(\frac{f_2^{s0}}{f_2^{l0}}\right) - \upsilon_2^{l0}\left[A c_l + B P_l^{int} + C\left(\varepsilon_{rl} - 1\right)\right] \tag{2.3}$$

Eşitlikte; x_2, deneysel çözünürlük; f_2^{s0}, saf katı çözünenin fugasitesi; f_2^{l0}, aşırı soğutulmuş saf sıvı çözünenin fugasitesi; v_2^{l0}, aşırı soğutulmuş saf sıvı çözünenin molar hacmi; A, B, C, 313–498 K sıcaklık aralığında ve 0,1–40 MPa arasındaki basınçta deneysel verilerden elde edilen çözünenin katsayıları; c, kohesif enerji yoğunluğu (MPa); P^{int}, iç basınç (MPa); ε_r, sıvı çözünenin dielektrik sabiti olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak bu model, sadece saf su özelliklerini ve saf çözünen özelliklerini kullanarak, antrasen ve naftalin gibi 17 polisiklik aromatik hidrokarbonun 25–250 °C sıcaklık aralığındaki çözünürlüklerini hesaplamış ve ortalama %44 hata göstermiştir. Ancak model hidrokarbonların çözünürlük tahmini için oda sıcaklığından 250 °C'ye kadar makul bir korelasyon ile tutarlı sonuçlar vermiş, bu da hesaplamalardaki hataların göz ardı edilebileceğini ifade etmiştir (Carr vd., 2011).

2.5.4 Modifiye evrensel fonksiyonel aktivite katsayısı

Modifiye evrensel fonksiyonel aktivite katsayısı modeli (M-UNIFAC), Fredenslund vd., (1975) tarafından geliştirilen orijinal UNIFAC modelinin değiştirilmiş halidir ve organik bileşikteki yan gruplar ile çözücü yan grupları arasındaki etkileşimleri dikkate alarak çözeltideki analitlerin aktivite katsayılarını hesaplamaktadır. Aktivite katsayıları, yüksek sıcaklıkta sudaki çözünürlük tahmini için çözünenin erime noktası özellikleri ile çözünen / çözücü fugasite oranı arasında bir termodinamik ilişki kurarak mol fraksiyon çözünürlüklerine dönüştürülmektedir (Eşitlik 2.4).

$$\ln x_2 = \ln\left(\frac{f_2^s}{f_2^o}\right) = -\frac{\Delta Hm_2}{RTm_2}\left(\frac{Tm_2}{T} - 1\right) - \ln\gamma_2 \quad (2.4)$$

Eşitlik 2.4'te; x_2, mol fraksiyon çözünürlüğü; f_2^s, katı fazdaki saf katı çözünenin fugasitesi; f_2^o, sıvı fazdaki saf çözünenin fugasitesi; ΔHm_2, füzyon entalpisi, R, gaz sabiti; Tm_2, çözünenin normal erime sıcaklığı; γ_2, çözünenin sıvı fazdaki aktivite katsayısı olarak ifade edilmiştir.

Fornari vd., (2008), yüksek sıcaklıkta polisiklik aromatik hidrokarbonların sudaki çözünürlüğünü tahmin etmek için M-UNIFAC modelini kullanmıştır. Model, literatürdeki tüm aromatik hidrokarbonların çözünürlüklerinden %4,7 oranında sapma göstermiştir. M-UNIFAC modelinin oda sıcaklığı ile 200 °C arasındaki doğruluğu, aromatik karbon-su etkileşim parametrelerinin düzeltilmesine izin verdiği için orijinal UNIFAC modeline göre büyük ölçüde geliştirilmiş ve tüm PAH'ların çözünürlüğünü başarıyla öngörmüştür (Carr vd., 2011).

2.5.5 Dielektrik sabiti modeli

Carr vd., (2010c), yüksek sıcaklıklarda budesonidin sudaki çözünürlüğünü tahmin etmek için Akerlof (1932) tarafından oluşturulan matematiksel ilişkilere ve Astin (1929) tarafından geliştirilen bir yönteme dayanan dielektrik sabiti modelini kullanmıştır (Eşitlik 2.5).

$$\ln x_2 = A\varepsilon + B \quad (2.5)$$

Eşitlik 2.5'te; A ve B, doğrusal sabit; ε, çözücünün dielektrik sabiti olarak tanımlanmıştır. Su-organik çözücü karışımında, sıcaklığın ve organik çözücü oranının değiştirilmesiyle budesonidin sudaki çözünürlüğünün, çözücünün dielektrik sabitinin doğrusal bir fonksiyonu olduğu bulunmuştur. Dielektrik sabiti modeli, bilinen en az 3 çözünürlük veri noktası olmadan çözünürlüğü tahmin edememektedir. Bununla birlikte, farklı sıcaklıklarda bir bileşiğin saf sudaki çözünürlüğü biliniyorsa, parametreler kolayca düzenlenebilmekte ve bunlar daha sonra 200 °C'ye kadar farklı çözücü karışımlarındaki çözünürlükleri tahmin etmek için kullanılabilmektedir. Böylece çözünen ve çözücü yan grupları arasındaki teorik etkileşimler dahil olmak üzere modelin daha da geliştirilmesiyle, mevcut çözünürlük verilerine gerek olmadan modelin doğrusal sabitleri tahmin edebileceği belirtilmiştir (Carr vd., 2011).

2.6 Önceki Çalışmalar

Literatürde 25 °C'ye yakın sıcaklıklarda birçok organik bileşiğin sudaki çözünürlüğü mevcut olsa da, 25 °C'den yüksek sıcaklıklarda çok az çözünürlük verisi bulunmaktadır. Yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen su ekstraksiyonlarında, kromatografide, çevresel atık gideriminde ve geri kazanımda yer alan mekanizmaları anlamak için 25 °C'den yüksek sıcaklıklarda, sudaki çözünürlük verilerine ihtiyaç vardır (Miller ve Hawthorne, 1998a). Bu anlamda, organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğünün tahmin edilebilmesi için literatürde bazı modeller önerilmiştir. İlk iki model daha önce de bahsedildiği gibi Miller vd., (1998b) tarafından apolar katı organik maddelerin (polisiklik aromatik hidrokarbonlar) subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için kullanılmıştır. Eşitlik 2.2 (Eş. 1)'ye göre yüksek sıcaklıklardaki mol fraksiyon çözünürlüğü, ortam sıcaklığındaki bilinen mol fraksiyon çözünürlüğü bilgisiyle tahmin edilebilmektedir (Eşitlik 2.2, çizelgelerde ve şekillerde kısaca Eş. 1 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2(T) \approx (\frac{T_o}{T}) \ln x_2(T_o) \tag{2.2}$$

Eşitlikte, $x_2(T)$, herhangi bir sıcaklıkta mol fraksiyon açısından çözünürlüğü ifade etmektedir. $x_2(T_0)$, tipik olarak ortam sıcaklığı olan T_0 sıcaklığında bilinen bir çözünürlüktür.

Miller vd., (1998b)'in modeli düşük sıcaklıklardaki çözünürlüğü iyi tahmin etmiş, ancak yüksek sıcaklıklarda başarısız olmuştur. Modeldeki büyük hataların iki nedenden dolayı var olduğu öne sürülmektedir. Birincisi, modellenmekte olan bileşiklerin, modelin geliştirildiği bileşiklerden farklı olmasıdır. Çünkü çeşitli yan grupların yerleşimi hidrofobik organik bileşiklerin çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Diğer bir hata da, sudaki değişen hidrojen bağ özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Miller vd., (1998b) bu modeli antrasen, piren, krisen, perilen ve karbazolün subkritik sudaki çözünürlüğüne uygulanabilir hale getirmek için Eşitlik 2.2'ye kübik bir denklem ekleyerek Eşitlik 2.6'yı (Eş. 2) önermiştir (Eşitlik 2.6 çizelgelerde ve şekillerde kısaca Eş. 2 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2(T) = (\frac{T_o}{T}) \ln x_2(T_o) + 15(\frac{T}{T_o} - 1)^3 \tag{2.6}$$

Eşitlik 2.6; daha sonra benzo[a]piren, propazin, klorothalonil ve endosülfan II'nin çözünürlüğünü tahmin etmek için kullanılmıştır (Carr vd., 2011). Ardından yine bazı

katı ve sıvı organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüklerini tahmin etmek ve daha iyi sonuç almak için çeşitli modeller önerilmiştir.

Mathis vd., (2004) apolar sıvı organik bileşiklerin (alkilbenzenler) 298 – 473 K sıcaklıkta elde edilen çözünürlük verilerini, apolar katı organik maddeler için literatürde tanımlanan çözünürlük modellerini kullanarak tahmin etmeye çalışmıştır. Ancak bu modeller deneysel sonucu destekleyemediği için mevcut modele (Eş. 1) farklı bir kübik denklem ekleyerek Eşitlik 2.7 (Eş. 3)'yi geliştirmişlerdir (Eşitlik 2.7 çizelgelerde ve şekillerde kısaca Eş. 3 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2(T) = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + 2\left(\frac{T - T_o}{T_o} - 1\right)^3 \tag{2.7}$$

Eşitlik 2.7 kullanılarak öngörülen değerler, daha düşük sıcaklıklardaki çözünürlük verileri hariç yüksek sıcaklıkta genellikle deneysel değerlerle uyum göstermiştir. Sonuç olarak apolar sıvı organik bileşiklerin 373 K veya daha yüksek sıcaklıktaki çözünürlüğü için deneysel verilerle karşılaştırıldığında, Eş. 3'ün makul tahminler verdiğini tespit etmişlerdir. Ek olarak bu tür tahminlerin, olası deneylerde veya işlemlerde önceden bilgi elde etmek için yeterince iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Kayan vd., (2010) polar katı organik bileşiklerin (benzoik asit ve salisilik asit) mol fraksiyon çözünürlüğünü mevcut çözünürlük modelleri ile tahmin edemediklerini belirterek yeni modeli, Eşitlik 2.8 (Eş. 4)'i geliştirmişlerdir.

$$\ln x_2(T) = \left(1.85\frac{T_o}{T} - 1\right)\ln x_2(T_o) \tag{2.8}$$

Mevcut modellerin yetersiz kalmasının şaşırtıcı olmadığını, çünkü bu modellerin apolar katı organik bileşiklerin çözünürlüğünü tahmin etmek için geliştirildiğini öne sürmüşlerdir. Bu nedenle, çalışmada incelenen iki polar organik bileşiğin çözünürlük davranışını tanımlamak için farklı bir modele ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Sonuçta, Eş. 1 subkritik sudaki organik asitlerin çözünürlüğünü daha iyi tahmin etmek için modifiye edilmiş ve geliştirilen yeni model Eş. 4, yüksek sıcaklıktaki çözünürlük için daha doğru ve tutarlı sonuçlar vermiştir.

Srinivas vd., (2010) fenolik bileşiklerden gallik asit, protokatekuik asit ve kateşinin 298,75 – 415,85 K sıcaklık aralığında, subkritik su ortamındaki mol fraksiyon

çözünürlüğünü araştırmıştır. Fenolik bileşiklerin çözünürlük verileri literatürde tanımlanan çözünürlük modelleriyle tahmin edilemediği için mevcut modele farklı bir katsayı eklenmiştir. Geliştirilen model Eşitlik 2.9 (Eş. 5) ile seçilen tüm fenolik bileşikler için daha makul çözünürlük sonuçları elde edilmiştir (Eşitlik 2.9 çizelgelerde ve şekillerde kısaca Eş. 5 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2 = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + 11\left(1 - \frac{T_o}{T}\right) \tag{2.9}$$

Fenolik bileşiklerin sulu çözünürlüğünü tahmin etmek için mevcut deneysel modeller yanında Modifiye Apelblat denklemi gibi yarı-deneysel bir model de kullanılmıştır. Genel olarak, Modifiye Apelblat denklemi kullanılarak yapılan çözünürlük tahminlerinin deneysel verilerle en iyi uyumu gösterdiği, Eş. 5 ile yapılan çözünürlük tahminlerinin de fenolik bileşiklerin subkritik su ekstraksiyonu için bazı faydalar sağlayacağı belirtilmiştir.

Kapalavavi vd., (2014) metil, etil ve bütil parabenlerin 298 – 473 K sıcaklık aralığında subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü incelemişler ve mevcut modeller ile çalışılan üç parabenin çözünürlüğünü tahmin edememişlerdir. Parabenlerin alkil grubundaki karbon atomu sayısının artması ile lineer korelasyon (R^2) değerinde sapma gözlenmiştir. Bu nedenle, çözünenlerin moleküler yapısından kaynaklanabilecek bu sapmayı ortadan kaldırmak için mevcut modele karbon sayısı eklenmiş ve subkritik sudaki çözünürlüğün tahmini için yeni bir model, Eşitlik 2.10 (Eş. 6) geliştirilmiştir.

$$\ln x_2 = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + 0.5(C-1)\left(\frac{T_o}{T} - 1\right) \tag{2.10}$$

Eşitlik 2.10 kullanılarak 423 K'e kadar tahmin edilen çözünürlük değerlerinin, deneysel verilerle oldukça uyumlu sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Ek olarak, 473 K'de bütün parabenler önemli ölçüde bozulduğundan, 473 K'de elde edilen "çözünürlük" verilerinin yanlış olduğu ve bu nedenle çözünürlük tahmininde yer almadığı bildirilmiştir.

Emire vd., (2016) subkritik su şartlarında ilaç etken maddesi parasetamolün mol fraksiyon çözünürlüğünü araştırmıştır. Elde edilen deneysel çözünürlük verilerini

mevcut modellerle doğru olarak tahmin edememiş ve bu nedenle Eşitlik 2.11 (Eş. 7)'yi geliştirmişlerdir (Eşitlik 2.11 çizelgelerde ve şekillerde kısaca Eş. 7 olarak ifade edilmiştir). Geliştirilen yeni modelin, deneysel veriler ile uyumlu iyi bir tahmin sağladığı belirtilmiştir.

$$\ln x_2 = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + \frac{8}{5}\left(\frac{T - T_o}{T_o}\right) \tag{2.11}$$

Subkritik sudaki çözünürlük verileri, subkritik su ekstraksiyonu ve kromatografi metotlarının geliştirilmesine ek olarak çevresel iyileştirme, mikronizasyon, kimya reaksiyonları için bir ortam ve biyobozunur olmayan polimerlerin ayrışması gibi çeşitli yeşil işlemlerin optimizasyonuna yardımcı olmak için gereklidir (Yang vd., 1995; Smith, 2002; Kronholm vd., 2006; Ong vd., 2006; Carr vd., 2010a). Birçok organik bileşiğin ortam suyunda çok fazla çözünürlük verisi olmasına rağmen, sadece birkaç çalışmada, subkritik sudaki çözünürlüğü araştırılmıştır. Bu nedenle, analitlerin yüksek sıcaklıktaki suda çözünürlüğü ve analit stabilitesi gibi temel çalışmalara ihtiyaç vardır. Elde edilen veriler yeşil SBWC teknolojisinin teşvik edilmesinde hayati öneme sahiptir (Curren ve King, 2001; Kapalavavi vd., 2014).

2.7 Subkritik Su Kromatografisi

Subkritik su kromatografisi (SBWC), tek hareketli faz bileşeni olarak subkritik suyun kullanıldığı yeni bir ters faz sıvı kromatografisi (RPLC) tekniğidir. Literatürde benzer yaklaşımı kullanan diğer terminolojiler aşırı ısıtılmış su kromatografisi, yüksek sıcaklıkta su kromatografisi, saf su kromatografisi, basınçlı sıcak su kromatografisi veya termal sulu sıvı kromatografisidir (Yang ve Kapalavavi, 2011).

Ortam koşullarındaki kromatografik analizde su, eluent olamayacak kadar polardır. Bununla birlikte, sıcaklık artışı ile su polaritesinin önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Suyun oldukça yüksek kritik noktası, geniş spektrumlu sıcaklık ve basınç değerlerinin seçilmesine imkan sunmaktadır. Bu nedenle, subkritik suyun bu eşsiz özelliği, su sıcaklığının artmasıyla azalan dielektrik sabiti, yüzey gerilimi ve viskozite gibi geniş çapta ayarlanabilir parametreler sağlamaktadır. Ancak bu, çözücülerin tek bir parametre için optimize edildiği anlamına gelmemektedir: örneğin dielektrik sabiti, bu tek parametre sadece seçiciliği ya da elüsyon gücünü etkilememektedir. Hareketli fazın sıcaklığındaki bir değişiklik ile tüm değişen

parametreleri ve bunların değişme, artma veya azalma eğilimlerini dikkate almak gerekmektedir. Su sıvı fazda kaldığı sürece, basınç yukarıda belirtilen parametreler üzerinde düşük etkiye sahiptir. Böylece, subkritik su, hareketli fazda modifiyer olarak organik çözücüler ile geleneksel ters faz ayırımlarını taklit edebilecektir (Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020).

Analiz sıcaklığının değişmesi, hareketli fazdaki organik çözücü konsantrasyonundaki değişimin yerini alabilmekte veya organik çözücüyü tamamen ortadan kaldırabilmektedir. Bowermaster ve McNair (1984), subkritik suyun sıcaklığındaki 3,75 °C'lik sıcaklık değişiminin metanol konsantrasyonundaki %1'lik değişime eşdeğer olduğunu bulmuştur. Chen ve Horvath (1997), ile Tran vd., (2001) de benzer şekilde subkritik suyun sıcaklığındaki 5 °C'lik sıcaklık artışının %1'lik asetonitril artışına karşılık geldiğini tespit etmişlerdir. Kondo ve Yang (2003), sıcaklık değişiminin verilen organik çözücü konsantrasyonundaki değişikliğe karşılık geldiğini kanıtlayan bir dizi deney yapmış ve bunun kullanılan kolon ile kromatografik şartlara bağlı olduğunu belirtmiştir. Örneğin, polistiren-divinilbenzen (Hamilton PRP-1) kolonu kullanıldığında subkritik suyun sıcaklığındaki 3,5 °C'lik artışın, metanol-su hareketli fazındaki metanol konsantrasyonunun yaklaşık %1'lik artışına karşılık geldiği; asetonitril-su hareketli fazındaki asetonitril konsantrasyonunun %1'lik asetonitril artışına 5–8 °C arasındaki sıcaklık değişiminin eşdeğer olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Zorbax RX-C18 kolonu kullanıldığında, sıcaklığın 2 °C'lik artışına eşdeğer metanol konsantrasyonunda %1'lik artış sağlanırken, asetonitril konsantrasyonundaki aynı değişiklik, sıcaklığın 3 °C'lik artışına eşdeğer olarak bulunmuştur. Sonuçta burada, dielektrik sabitinin alıkonmayı kontrol etmede baskın faktör olmadığı ve hareketli fazın elüsyon gücünün analit ve kolona bağlı olduğu belirtilmiştir

Hareketli faz olarak subkritik su, ilk olarak Smith ve Burgess (1996) tarafından çok sayıda fenol, paraben ve barbitüratın ayırımında kullanılmıştır. Ayrıca, geleneksel ters faz koşulları ile subkritik su ayırma işleminin performansı karşılaştırılmıştır. Ayırımlar hareketli faz olarak asetonitril-su (20:80) karışımına eşdeğer, yaklaşık 180 °C sıcaklıktaki su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu koşullar altında, suyun buhar basıncı nispeten düşük olduğundan, yaklaşık 15 barlık düşük geri basınç elde edilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte alıkonma faktörlerinin sistematik olarak

azaldığı ve analiz süresinin kısaldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak, hareketli faz olarak subkritik su kullanımının ayırma etkinliğini arttırdığı tespit edilmiştir (Dembek ve Bocian, 2020).

Saf suyun ucuz ve çevre dostu bir bileşik olması, kromatografide eluent olarak kullanılmasını avantajlı kılmaktadır (Allmon ve Dorsey, 2009). Subkritik su kromatografisinin artan analiz hızı, gelişmiş bir ayırım ile azalan ve minimuma indirilen organik çözücü sarfiyatı, ayırımda uzun kolon kullanılmasına olanak vermesi, geniş aralıkta dedektör seçimi gibi pek çok potansiyel avantajı vardır. Su sıcaklığının arttırılmasıyla dielektrik sabiti, yüzey gerilimi ve viskozite gibi fizikokimyasal özelliklerin sayısal değerleri önemli ölçüde azalmaktadır. Sıcaklık arttırıldığında dikkat çekici şekilde azalan viskozite ile birlikte sistem geri basıncı da oldukça düşmektedir. Düşen geri basınç sayesinde yüksek hızda hareketli faz akışı kullanılabilmekte ve yüksek ayırma sıcaklığı ile hızlı elüsyon birlikte kullanıldığında düşük molekül ağırlığına sahip analitlerin alıkonma süresi oldukça kısalmaktadır (Yang, 2007a).

Artan sıcaklıkla suyun polaritesi azalmakta ancak, 100 °C'deki suyun elüsyon gücü çoğu analitin ayırımı için hala yetersiz olmaktadır. Bu nedenle subkritik su şartlarında başarılı kromatografik ayırımların gerçekleştirilebilmesi için sıcaklığın 100–200 °C aralığında tutulması gerekmektedir. Ayrıca SBWC'de yüksek sıcaklıklarda çalışılmasından dolayı analitlerin bu şartlarda kararlı olması beklenmektedir. Su bir hareketli faz olarak değerlendirildiğinde, en olası iki reaksiyon hidroliz ve oksidasyondur. Bazı organik bileşiklerin uzun ısıtma sürelerinden dolayı bozunmaya uğradığı bilinse de çoğu analitin yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen ayırımlarda kararlı olduğu belirtilmektedir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte azalan analiz süresi sayesinde analitler kısa süre yüksek sıcaklığa maruz kalmakta ve onların bozunma olasılıkları en düşük seviyede tutulmaktadır. Bununla birlikte, 5–30 dakika arasında bir analiz süresi ve yüksek sıcaklık sonucu oluşacak tipik bir kimyasal tepkime dehidrasyondur ancak, kromatografik ayırım tamamen sulu hareketli fazda gerçekleştiği için dehidrasyon oluşmamaktadır. Oksidasyon tepkimesi de analit ve hareketli fazdaki çözünmüş gazın giderilmesinden veya cihazın metal parçalarının paslanmasını önlemek için azotla yıkanmasından dolayı

meydana gelmemektedir (Hartonen ve Riekkola, 2008; Smith, 2008; Dembek ve Bocian, 2020).

2.7.1 Subkritik su kromatografisi sisteminin bileşenleri

Subkritik su kromatografisi sistemi, geleneksel HPLC cihazlarına kolon fırını, soğutucu ve geri basınç düzenleyicisi gibi ek elemanların uygun şekilde takılması ile kurulabilmektedir (Yang ve Kapalavavi, 2011). Geleneksel HPLC cihazının bir ısıtma fırını olmasına rağmen, sıcaklık aralığı 80 – 100 °C'yi geçmemektedir. Ek olarak, böyle bir ısıtma sistemi analiz sırasında kolonda sabit bir sıcaklığı korumamakta ve SBWC'de kullanılan sistemlerin çoğu, 350 °C 'ye kadar ısıtma yeteneğine sahip gaz kromatografisinin fırınlarına ve sıcaklık programlamasına dayanmaktadır. Şu anda, piyasada hem izokratik hem de sıcaklık gradyanı koşullarında 200 °C'ye kadar ısınmaya izin veren kolon fırınları bulunmaktadır. Fırınlar, ayrı ayrı kontrol edilen ön ısıtma, kolon ısıtma ve soğutma sistemi gibi üç ısıtma bölgesine sahiptir (Yang, 2007a; Smith, 2008; Dembek ve Bocian, 2020).

Subkritik su kromatografisinde hareketli faz, 100 – 200 °C aralığında ısıtıldığı için dedektöre gelmeden önce soğutulmak zorundadır. Çünkü bu şartlarda bir mor ötesi (UV) detektörü kullanılıyorsa dedektörün duyarlılığı, dedektöre gelen hareketli fazın sıcaklığından etkilendiği için ölçümde sorun oluşturmaktadır. Ayrıca dedektörün çalışma aralığı belli bir maksimum sıcaklık ve basınç şartı gerektirdiğinden analiz ve soğutma için gerekli şartlar belirlenmelidir. Uygulamalarda hareketli fazı soğutmak için ev yapımı veya laboratuvar ölçekli soğutucular kullanılmıştır. Genellikle dedektörden önce buzlu su banyosu yerleştirilerek kapiler boru bu banyoya daldırılmış ve soğutma gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, rutin analizlerde sıcaklığın doğru bir şekilde kontrol edilmesi gerekmekte ve teknik olarak bu işlem Peltier soğutucular ile sağlanmaktadır (Teutenberg, 2009; Yang ve Kapalavavi, 2011).

Yüksek sıcaklıklarda hareketli fazda yer alan suyun kaynamasını önleyerek sıvı halde tutabilmek ve dedektörün akış hücresine zarar vermemek için dedektör çıkışına bir geri basınç düzenleyicisi yerleştirilmektedir. Oluşturulan geri basıncın, yüksek sıcaklıktaki suyun buhar basıncından daha yüksek olması istenmektedir. Örneğin, 200 °C'deki SBWC ayırmaları için geri basınç en az 16 bar olmalıdır. Çözüm

yollarından biri, dakikada 1 mL akış hızında yeterli olabilen dar bir çapa (tipik olarak 3 m x 0,13 mm id.) sahip basit bir polieter eter keton tüpü kullanmaktır (Smith, 2008; Yang ve Kapalavavi, 2011).

2.7.2 Subkritik su kromatografisinde kullanılan kolonlar

Subkritik su ile yapılan analizleri değerlendirirken, sabit fazların termal olarak kararlı olup olmadığına dikkat etmek gerekmektedir. Genelde HPLC şartları altında kararlı olan kolonların çoğu, subkritik su koşullarında kararsızlık gösterebilmektedir. Örneğin silika bazlı oktadesilsilan kolonlar SBWC analizlerinde kullanılmakta ancak kullanım ömürleri ve çalışabilecekleri sıcaklık aralığı düşük olmaktadır. En yaygın kullanılan silika dolgulu kolonlar arasında Nucleosil C18 AB, Zorbax, Zorbax RX-C8, Zorbax RX-C-18, Xterra, Xterra RP 18, Gemini, Kromasil-C18, Luna C18 kolunu bulunmakta ve çalışılan sıcaklık aralığı 50 °C ile 150 °C arasında değişmektedir (Kondo ve Yang, 2003; Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020). Kolon dolgusu için %100 su kullanımı ile önerilen aralık 100 °C'ye kadar olsa da, küçük miktarda bir organik modifiyerin ilavesiyle bu aralık 200 °C'ye kadar arttırılabilmektedir (Lippert vd., 2007). Silika bazlı kolonların stabilitesinin olmaması, yüksek sıcaklıkta kararlı olan yeni tip kolon dolgu malzemelerini aramaya zorlamıştır. Şu anda, hareketli fazda yüksek oranda su kullanan SBWC'de ve diğer kromatografik analizlerde modifiye edilmiş silika fazları, polimer fazları, zirkonya bazlı ve diğer metal oksit fazları, karbon fazları ile hibrid fazlar kullanılmaktadır (Yang, 2007a; Smith, 2008; Dembek ve Bocian, 2020).

Silika bazlı kolonlarla yüksek sıcaklıklarda bazı problemlerle karşılaşılmasından dolayı alümina, zirkonya veya titanya oksit gibi bazı metal oksitlerden yapılmış kolonlar geliştirilmiştir. Zirkonya bazlı kolonlar ilk olarak Nawrocki vd., (1993) ile Dunlap vd., (2001) tarafından geliştirilmiş ve yüksek sıcaklıkla birlikte hareketli faz olarak organik çözücü-su karışımı kullanıldığında zirkonya bazlı kolonların, daha dirençli ve kararlı oldukları tespit edilmiştir. Zirkonya bazlı kolonların en büyük avantajları sırasıyla zirkonyum oksitin farklı malzemelerle ve polimerlerle kaplanabilmesi ve pH=1-14 aralığında kararlı olup silika üzerindeki silanol gruplarının asidik özellik göstermemesidir. Bu özellikleri sayesinde SBCW'de diğer kolon tipleri arasında alternatif olarak gösterilmektedir. En çok kullanılan kolonlar ZirChrom-PDB olarak bilinen polibütadien ve ZirChrom-PS olarak bilinen

polistirenle kaplanmış zirkonyadır. Karbon kaplı – ZirChrom-CARB veya sekonder bağlı C18 – ZirChrom Diamond Bond C18 gibi başka zirkonya bazlı çeşitleri de mevcuttur. Zirkonya bazlı kolonlarda ayırma sıcaklığı 100 – 200 °C arasında değişmektedir ve en yüksek çalışma sıcaklığı ZirChrom-PDB kolonda 370 °C olarak belirlenmiştir (Kephart ve Dasgupta, 2002; Yang, 2007a; Yang ve Kapalavavi, 2011).

Polimer bazlı kolonlar, uzun süre yüksek sıcaklıkta jel filtrasyon kromatografisinde kullanıldığı için bu kolonların subkritik su şartlarında da kararlı olacağı düşünülmüştür. Yaygın olarak kullanılan polimer içerikli kolonlar çapraz bağlı polimerle doldurulmuş PRP-1 ve polistiren divinilbenzen dolgulu PLRP-S kolondur (Smith ve Burgess, 1996; Wilson, 2000; Kondo ve Yang, 2003; Yang, 2007a). Bu kolonların çalışma sıcaklığı 100 – 200 °C arasında değişmektedir. Yüksek sıcaklıkta kararlı oldukları bilinmesine rağmen yüksek tutma kapasitelerinden dolayı kolon verimliliği, silika bazlı ve zirkonyum bazlı kolonlara kıyasla daha zayıf olmaktadır. Bu da alkil aril ketonlar gibi orta derecede polar bileşiklerin elüsyonunun ortam sıcaklığında yetersiz olup sadece yüksek sıcaklıkta gerçekleşmesine neden olmaktadır (Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020).

Karbon bazlı dolgu malzemelerinin esas olarak yüksek termal kararlılığa sahip olmalarından dolayı SBWC'de kullanımları araştırılmıştır. Gözenekli grafit karbon içerikli Hypercarb kolon 225 °C'de bazı polar moleküllerin ayırımında kullanılmıştır (Wilson, 2000; Forgacs, 2002). Hypercarb, tamamen karbondan oluştuğu için kimyasal bağ içermemektedir. Kimyasal olarak oldukça kararlı davrandığı için yüksek sıcaklık şartlarında dahi analitleri kuvvetli tutabilmektedir. Bununla birlikte, karbon son derece aktif bir yüzeye sahip olduğundan dolayı kirlenmekte ve pik simetrilerinin bozulmasına neden olmaktadır. Yüksek sıcaklıktaki kararlılıklarına rağmen kolon verimliliği, karbon ile paslanmaz çelik kolon malzemesinin termal genleşmesindeki farklılıktan ve mekanik stresten dolayı zamanla azalmaktadır (Forgacs, 2002; Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020).

2.7.3 Subkritik su kromatografisinde kullanılan dedektörler

Geleneksel sıvı kromatografisi tekniklerinde kullanılan dedektörler, hareketli fazın bileşimine, özellikle organik modifiyerin konsantrasyonuna bağlıdır. Seçilecek

dedektörün organik çözücülere tepkisi sınırlı olmaktadır ve bu nedenle refraktif indeks (RI) dedektör ile alev iyonlaştırmalı dedektör (FID) organik çözücü kullanımından dolayı ters faz sıvı kromatografisinde sorun yaratmaktadır (Dembek ve Bocian, 2020). Bununla birlikte, subkritik su tespitte bazı yeni avantajlar sunmakta ve organik bir çözücünün yokluğu, düşük dalga boyu spektroskopik emilimini azaltmaktadır. Böylece, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektrumlarındaki çözücü piklerini, FID'daki çözücü sinyalini ve mor ötesi (UV) dedektör ile floresans spektroskopisindeki (FL) çözücü etkileşimini ortadan kaldırmaktadır. Bu sayede, UV ve FL dedektör 190 nm'ye kadar kullanılabilmektedir. Kütle spektrometresinin (MS) de subkritik suda kullanımı mevcuttur ve su iyi iyonizasyon sağlamaktadır (Smith, 2007).

Subkritik su kromatografisinde en çok kullanılan dedektör mor ötesi veya mor ötesi-görünür bölge spektroskopisi (UV veya UV/VIS) dedektörüdür. Kolay bulunabilirliği, çok yönlülüğü ve düşük maliyete sahip olması subkritik su kullanan analizlerde bile kullanılmasına yol açmıştır. Mor ötesi dedektör kullanıldığında yüksek sıcaklıktaki suyu sıvı halde tutmak için dedektör çıkışında bir geri basınç düzenleyicisine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca yüksek sıcaklıkta SBWC ayırımlarının performansını iyileştirmek ve dedektöre zarar vermemek için UV akış hücresi ile kolon arasına bir soğutucu yerleştirilmektedir. Bununla birlikte, bir UV/VIS tekniği ile tek elüent bileşeni olarak saf suyun birlikte kullanılması, organik çözücüden kaynaklı istenmeyen pikleri ortadan kaldırmaktadır. Bu tip bir sıvı kromatografisi, bir organik modifiyerin hareketli fazın ve analitlerin uçuculuğunu değiştirerek tespit edilmesini zorlaştıran konsantrasyon gradyanı yerine bir sıcaklık gradyanı kullanılmasına izin vermektedir. Ayrıca, 200 nm'nin altındaki kısa dalga boylarında bile analitlerin saptanmasına imkan sunmaktadır (Guillarme ve Heinisch, 2005; Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020).

Mor ötesi dedektör, SBWC'de çok kullanılan dedektörken kromofor grupları olmadan analitleri algılayamamaktadır. Alev iyonlaştırmalı dedektör, hassas ve evrensel bir gaz kromatografisi detektörüdür ancak SBWC için de ideal bir dedektör olmaktadır. SBWC–FID sistemi, SBWC–UV sistemindeki gibi kolon sonunda bir soğutucuya gereksinim duymamaktadır. Ayrıca soğutucu sistemden kaynaklanan pik genişlemelerini de ortadan kaldırmaktadır. Alev iyonlaştırmalı dedektörler, organik

çözücülerin çok güçlü sinyallere sebep olmasından dolayı HPLC'de kullanılmamaktadır. Ancak suyun yapısında C–H bağı olmadığı için FID suya cevap vermemekte ve bu sayede SBWC'de dedektör olarak kullanılabilmektedir (Yang, 2007a; Yang ve Kapalavavi, 2011).

Hareketli faz olarak %100 su kullanımı, analitlerin belirlenmesi için daha evrensel yöntemler kullanma olasılığını ortaya çıkarmıştır. Bunlar arasında UV ve FID'ye ek olarak çok pahalı olan NMR, MS, Evaporatif Işık Dağıtıcı Dedektör (ELSD), İndüktif Eşleşmiş Plazma- Kütle Spektrometresi (ICP-MS), Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) gibi dedektörler yer almaktadır (Guillarme ve Heinisch, 2005; Yang, 2007a; Smith, 2008; Teutenberg, 2009; Yang ve Kapalavavi, 2011; Dembek ve Bocian, 2020).

2.8 Yüksek Sıcaklık Sıvı Kromatografisi

''Yüksek sıcaklık'' terimi genellikle 'oda sıcaklığından daha yüksek' veya 'hareketli faz çözücüsünün kaynama noktasından daha yüksek' olarak açıklanmaktadır. Aynı zamanda literatürde '100 °C'den daha yüksek' veya '40 °C ile 200 °C arasında' ifadeleri de bulunmaktadır (Greibrokk ve Andersen, 2003; Heinisch ve Rocca, 2009). Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi (HTLC), ortam sıcaklığının üzerinde süperkritik sıcaklığın altında (40–374 °C) yer almakta ve HTLC ile gerçekleştirilen analizlerin çoğunda hareketli faz olarak su – organik çözücü karışımları kullanılmaktadır. Saf suyun elüsyon gücü yüksek sıcaklığa alternatif olarak organik çözücü kullanılarak da ayarlanabildiği için HTLC, organik çözücü ile modifiye edilmiş SBWC olarak düşünülebilmektedir (McNeff vd., 2007; Yang, 2007a; Dembek ve Bocian, 2020).

Geleneksel RPLC sistemleri ve genel koşullar göz önüne alındığında bir kromatografik ayırım yaklaşık 6–60 dakikada gerçekleşmekte ve uzun alıkonma süresinden dolayı çözücü tüketimi de süreyle orantılı olarak artmaktadır. Geleneksel RPLC sistemleri kullanıldığında analiz süresini kısaltmanın yollarından biri, ortam sıcaklığını kullanırken akış hızını arttırmaktır. Yüksek sıcaklıkta çalışmak analiz hızını arttırmak için makul bir yaklaşımdır. Yüksek kolon sıcaklığı, yüksek geri basınç ile ilişkili akış hızı sorununun üstesinden gelmek için bir araç olarak kullanılabilmekte ve yüksek akış hızlarında çalışmaya olanak sağlamaktadır (Wenclawiak vd., 2008; Shaaban ve Górecki, 2015).

Hareketli fazın dielektrik sabiti, viskozite ve yüzey gerilimi gibi RPLC'de önemli bir rol oynayan bazı fiziksel parametrelerinin artan sıcaklıkla büyük ölçüde değişmesiyle analiz koşulları iyileştirilebilmektedir. Hareketli fazın azalan viskozitesi, sistemin geri basıncını düşürerek yüksek hızda hareketli faz akışıyla küçük partikül boyutuna sahip uzun kolon kullanımına izin vermektedir. Böylece, verimliliği iki katına çıkarmak için kolon uzunluğunu aynı doğrusal hızda ikiye katlamak ya da yaklaşık iki kat daha hızlı analiz sağlamak için aynı kolonu yaklaşık iki kat daha hızlı bir akış hızında çalıştırmak mümkün olmaktadır. Ayrıca azalan viskozite sonucu analitlerin difüzyonu ve kütle transferi artmakta, yüksek sıcaklıkta etkin ayırımlar elde edilmektedir. Artan sıcaklıkla hareketli fazın dielektrik sabiti ile yüzey gerilimi de azaldığından analitlerin alıkonma süresi önemli ölçüde azalmakta ve analiz süresi kısalmaktadır. Analiz süresinin kısalmasına ek olarak, hareketli faz tüketimindeki azalma da daha yeşil analizlerin gerçekleştirilmesine olanak sağlamaktadır (Guillarme vd., 2004; Yang, 2006; Shaaban ve Górecki, 2015).

Yüksek sıcaklık, alıkonma süresinin değişmesiyle analiz süresinin kısalmasına ek olarak, seçiciliğin kontrolünde, dedektör sinyalinin iyileştirilmesinde veya ayırma veriminin geliştirilmesinde de rol almaktadır. Sıcaklık, seçicilik üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. Seçiciliği ayarlamak için hareketli fazın pH'ından ziyade sıcaklığının tercih edilmesinin bazı sebepleri vardır. Sıcaklık, pH'a göre kolay ayarlanabilir bir parametredir ve alıkonma ile sıcaklık arasındaki ilişki pH'a göre daha güvenilirdir. Ayrıca hareketli fazın pH'ı yerine sıcaklığını ayarlamak daha doğru analizlerin gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte, tampon çözelti hazırlarken yapılan küçük bir hata pik çözünürlüğünün azalmasına yol açarken, sıcaklıktaki küçük bir değişim pik çözünürlüğünün iyileşmesi ve ayırma veriminin geliştirilmesi için yeterli olmaktadır (Heinisch ve Rocco, 2009). Sonuç olarak; kromatografik işlemlerde sıcaklık önemli bir deneysel parametre olarak kullanılabilmektedir.

3. MALZEME ve YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasallar

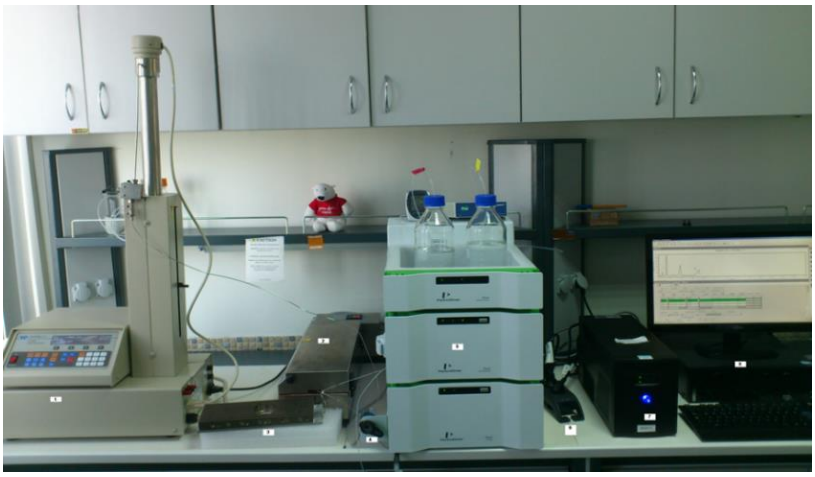
5-Florourasil, sülfadiazin ve ibuprofen Sigma/Aldrich'ten (Steinheim, Almanya) satın alınmış; flukonazol ile essitalopram okzalat Onko Koçsel İlaçları şirketinden (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Metanol, asetonitril, etanol, 1-propanol, asetik asit, trifloroasetik asit, ortofosforik asit ve formik asit Merck (İstanbul, Türkiye) firmasından sağlanmıştır. Ultra saf su (18,2 MΩ – cm) MilliPore Milli–Q Gradient su arıtma sistemi (Billerica, MA, ABD) kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar

XTerra MS C18 kolon Waters Corporation (Milford, ABD) firmasından, Zorbax SB Phenyl ve Zorbax SB C18 kolonlar ise Agilent Technologies (Santa Clara, ABD) firmasından temin edilmiştir.

Agilent 1290 Infinity Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) numunelerin kantitatif analizleri için kullanılmıştır.

Perkin-Elmer Flexar LC sistemine (Waltham, ABD) ISCO 260 D şırınga tipi pompa (Teledyne Isco, Lincoln, ABD) adapte edilerek subkritik su kromatografisi sistemi oluşturulmuştur. ISCO pompanın çıkışına doğrudan Flexar LC enjektör bağlanmış ve bunu sırasıyla ayırma kolonu, Peltier soğutma ünitesi (Teknosem, İstanbul), Flexar UV dedektör ve geri basınç düzenleyicisi takip etmiştir (Şekil 3.1).

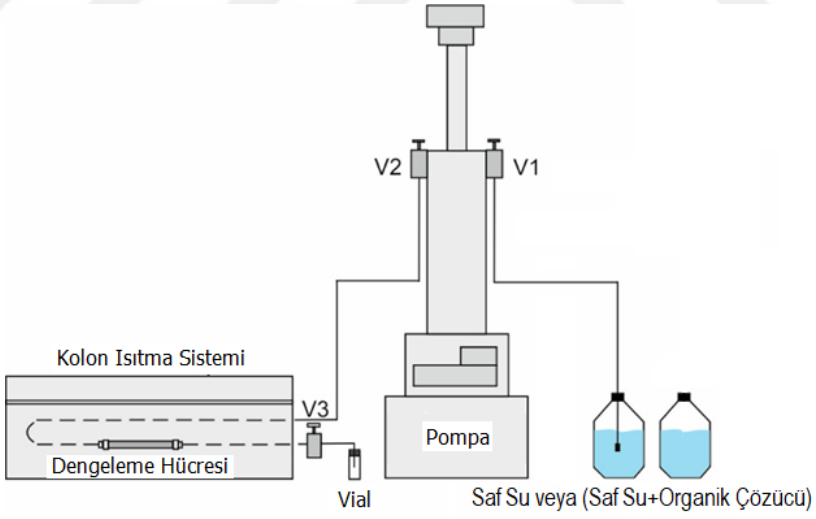


Şekil 3.1. Deneysel süreçte kullanılan subkritik kromatografi sistemi.

Kolon ısıtma ünitesi (Teknosem, İstanbul, Türkiye) kolon sıcaklığını ve hareketli faz sıcaklığını kontrol etmek için blok ısıtıcı fırın olarak kullanılmıştır. Peltier soğutma ünitesi, hareketli fazın UV akış hücresine girmeden önce elüsyon sıcaklığını düşürmek için yerleştirilmiştir. Hareketli fazı sıvı durumda tutmak için yeterli basınç sağlayacak geri basınç düzenleyicisi bağlanmıştır. Veriler, Perkin-Elmer Chromera yazılımı ile kaydedilmiş ve işlenmiştir.

Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi çalışmaları için de yine subkritik kromatografi sistemi kullanılmıştır.

Çözünürlük düzeneği ana hatlarıyla; çözünmenin gerçekleştiği ve katı – sıvı faz dengesinin sağlandığı bir dengeleme hücresi, çözücüyü sisteme göndermek için bir şırınga tipi pompa (hem pompa hem çözücü tankı), sıcaklık programının yapılabildiği ve dengeleme hücresinin yerleştirilebildiği bir kolon ısıtma sisteminden oluşmaktadır (Şekil 3.2). Şekil 3.2'deki V1, pompoya çözücünün doldurulmasında, V2 çözücünün sisteme gönderilmesinde ve V3 numunelerin viallere toplanmasında kullanılan valfleri ifade etmektedir.



Şekil 3.2. Çözünürlük düzeneği.

3.3 Yöntem

Deneysel süreç 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, ilaç etken maddelerinin subkritik su ve (subkritik su+organik çözücü) ortamındaki çözünürlükleri araştırılmıştır. Çözünürlük deneyleri için dengeleme hücresi olarak boş bir sıvı kromatografi kolonu kullanılmıştır. Dengeleme hücresi, aşırı miktarda

ilaç etken maddesi ile doldurulduktan sonra 25–200 °C sıcaklık aralığında çalışan ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5–10 MPa aralığında basınç elde etmek için kullanılan şırınga pompa ile subkritik su (veya subkritik su+organik çözücü) gönderilmiştir. Bu yüksek basınç ile test edilen sıcaklıklarda suyun kaynaması önlenmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Dengeye ulaşıldıktan sonra, belirli sürelerle belirli hacimlerde numuneler toplanmış ve her sıcaklık için bu işlem tekrarlanmıştır. Toplanan numuneler çöktürülmeden hemen uygun çözücü karışımlarıyla seyreltilerek HPLC'de kantitatif olarak analiz edilmiştir. Bu amaçla, standart maddelerle yürütülen HPLC analizlerinden elde edilen piklerin alanları kullanılarak hazırlanan kalibrasyon doğruları kullanılmış ve lineer regresyon tekniği ile miktar tayini yapılmıştır (R^2>0,999). Elde edilen deneysel çözünürlük verileri mevcut çözünürlük tahmin modelleriyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında, ilaç etken maddelerinin subkritik su kromatografisi (SBWC) ve yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi (HTLC) ile kromatografik tayinleri gerçekleştirilmiştir. SBWC'de hareketli faz olarak kullanılacak subkritik suyun oluşturulması için saf su ile 100–200 °C sıcaklık ve 5–10 MPa basınç aralığında çalışılmıştır. Yine aynı şekilde HTLC'de kullanılacak subkritik su+organik çözücü karışımı için de 100–200 °C sıcaklık ve 5–10 MPa basınç aralığında çalışmalar yapılmıştır. Tüm kromatografik tayinlerde hareketli fazı asitlendirmek için %1 oranında formik asit, ortofosforik asit, trifloroasetik asit veya asetik asit kullanılmıştır. Kromatografik olarak tayin edilecek analitler ultra saf su ile konsantrasyonları 20–50 ppm (mg/kg) arasında olacak şekilde her zaman taze hazırlanarak sisteme enjekte edilmiş ve farklı sıcaklık programları ile farklı alıkonma zamanlarında tayinler gerçekleştirilmiştir. Kromatografik sistemin sıcaklık programı ile çalışması ve yüksek sıcaklıklara çıkılması nedeniyle analitik kolondan sıcak olarak çıkan çözeltiler soğutma ünitesinden geçirildikten sonra dedektöre gönderilmiştir. Elde edilen kromatogramlar ile analitlerin elüsyon özellikleri incelenmiştir.

3.3.1 5-Florourasilin subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi

İlaç etken maddesi olarak antimetabolit sınıfı antikanser ajanı olan 5-FLU seçilmiş ve subkritik su ortamındaki mol fraksiyon çözünürlüğü incelenmiştir. Çözünürlük deneyinde dengeleme hücresi olarak boş bir sıvı kromatografi kolonu (60 mm × 4,8 mm i.d., Hamilton) kullanılmıştır. Dengeleme hücresi, 0,25 g 5-FLU ile doldurulduktan sonra her iki uç kapağı sızıntıyı önlemek için sıkıca kapatılarak ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5,1 MPa basınç elde etmek için kullanılan şırınga pompa ile subkritik su gönderilmiştir. Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi deneyler 298 K ile 473 K arasında değişen altı farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını ve katı – sıvı faz dengesinin gerçekleşmesini sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Sıcaklık ölçümü için belirsizlik ±1 K ve basınç ±0,1 MPa'dır. Dengeye ulaşıldıktan 15 dakika sonra 3 mL hacminde numune alınmıştır ve her sıcaklık için bu işlem tekrarlanmıştır. Toplanan numunelerin kimyasal analizi için numuneler çöktürülmeden hemen su+asetik asit karışımı (90:10) ile seyreltilmiştir. 5-FLU çözünürlük deneyindeki büyük çözünürlük artışına bağlı olarak ve kromatografik tayindeki hareketli faz bileşimi göz önünde bulundurularak, su+asetik asit karışımı seyreltme çözücüsü olarak kullanılmıştır. Kantitatif analizler yüksek performanslı sıvı kromatografisi'nde Zorbax-SB C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz bileşimi su (%1 asetik asit, AcOH) (A) ve metanol (%1 AcOH) (B) olarak belirlenmiş ve izokratik elüsyon programı, 95:5 (A:B) şeklinde ayarlanmıştır. Numuneler enjeksiyon hacmi 10 µL, akış hızı 0,50 mL/dk ve dedektörün dalga boyu 277 nm olacak şekilde 3 tekrar ile analiz edilmiştir.

3.3.2 Sülfadiazinin subkritik su ve subkritik su-organik çözücü karışımındaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi

İlaç etken maddesi olarak sülfonamid türevi antibiyotiklerden olan SDA seçilmiş, subkritik su ve (subkritik su+organik çözücü) ortamındaki çözünürlükleri araştırılmıştır. Çözünürlük deneyleri için dengeleme hücresi olarak iki farklı tipte boş sıvı kromatografi kolonu kullanılmıştır. Subkritik su ortamındaki deneyler için Waters Symmetry C8 (150 mm × 4,6 mm i.d.) kolonu, subkritik su + organik çözücü ortamındaki deneyler için Waters µBondapak C18 (300 mm × 3,9 mm id.) kolonu kullanılmıştır. Dengeleme hücresi 1,50 gram sülfadiazin ile doldurulduktan sonra her

iki uç kapağı sızıntıyı önlemek için sıkıca kapatılarak ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5,1 MPa aralığında basınç elde etmek için şırınga pompa ile ilk aşamada subkritik su, sonrasında da (subkritik su+organik çözücü) karışımı gönderilmiştir. Organik çözücü olarak, polaritelerinden ve su ile daha etkin bir karışım oluşturup şırınga pompa ile sıkıştırılabilirliklerinin kolay olmasından dolayı etanol ile 1-propanol seçilmiş ve karışımlarda %2,5–20 oranlarında kullanılmıştır. Deneyler 298 ile 403 K arasında değişen sekiz farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Sıcaklık ölçümü için belirsizlik ±1 K ve basınç ±0,1 MPa'dır. Dengeye ulaşıldıktan 15 dakika sonra 10 mL hacminde numune alınmıştır ve her sıcaklık için bu işlem tekrarlanmıştır. Deneyler sonunda toplanan numunelerin kimyasal analizi için numuneler çöktürülmeden hemen alkol+asetik asit karışımı (80:20) ile seyreltilmiştir. Sülfadiazinin çözünürlük deneylerindeki büyük çözünürlük artışına bağlı olarak, (alkol+asetik asit) karışımı seyreltme çözücüsü olarak kullanılmıştır. Analizler HPLC'de Zorbax-SB C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz bileşimi su (%0,05 trifloroasetikasit, TFA) (A) ve asetonitril (%0,05 TFA) (B) olarak belirlenmiş, gradyan elüsyon programı 0–5 dk, 90:10 (A:B) ve 5–10 dk, 85:15 (A:B) şeklinde ayarlanmıştır. Numuneler enjeksiyon hacmi 10 µL, akış hızı 2,0 mL/dk ve dedektörün dalga boyu 268 nm olacak şekilde 3 tekrar ile analiz edilmiştir.

3.3.3 İbuprofenin subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi

İlaç etken maddesi olarak nonsteroid antienflamatuar ilaç grubundan propiyonik asit türevi IBP seçilmiş ve subkritik su ortamındaki çözünürlüğü araştırılmıştır. Deneysel çalışmada dengeleme hücresi olarak boş Waters µBondapak C18 (300 mm × 3,9 mm i.d.) kolonu kullanılmıştır. Dengeleme hücresi 2,00 gram IBP ile doldurulduktan sonra her iki uç kapağı sızıntıyı önlemek için sıkıca kapatılarak ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5,1 MPa basınç elde etmek için kullanılan şırınga pompa ile subkritik su gönderilmiştir. Deneyler 298 K ile 473 K arasında değişen sekiz farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Sıcaklık ölçümü için belirsizlik ±1 K ve basınç ±0,1 MPa'dır. Dengeye ulaşıldıktan 15 dakika sonra 10,0 mL hacminde numune alınmıştır ve her sıcaklık

için bu işlem tekrarlanmıştır. Deneysel çalışma sonunda toplanan numunelerin kimyasal analizi için numuneler çöktürülmeden hemen metanol ile seyreltilmiştir. Analizler HPLC'de, ACE C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz bileşimi su (%40) – asetonitril (%60) karışımından oluşturulmuş ve izokratik olarak ayarlanmıştır. Numuneler enjeksiyon hacmi 15 µL, akış hızı 1,50 mL/dk ve dedektörün dalga boyu 222 nm olacak şekilde 3 tekrar ile analiz edilmiştir.

3.3.4 Flukonazolün subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi

İlaç etken maddesi olarak antifungal ilaç grubundan triazol türevi FLC seçilmiş ve subkritik su ortamındaki çözünürlüğü araştırılmıştır. Deneylerde dengeleme hücresi olarak boş Thermo ODS Hypersil (125 mm × 4,6 mm i.d.) kolonu kullanılmıştır. Dengeleme hücresi 1,00 gram FLC ile doldurulduktan sonra her iki uç kapağı sızıntıyı önlemek için sıkıca kapatılarak ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5,1 MPa basınç elde etmek için kullanılan şırınga pompa ile subkritik su gönderilmiştir. Deneyler 298 K ile 423 K arasında değişen altı farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Sıcaklık ölçümü için belirsizlik ±1 K ve basınç ±0,1 MPa'dır. Dengeye ulaşıldıktan 15 dakika sonra 3 mL hacminde numune alınmıştır ve her sıcaklık için bu işlem tekrarlanmıştır. Toplanan numunelerin kimyasal analizi için numuneler çöktürülmeden hemen metanol ile seyreltilmiştir. Analizler HPLC'de, Zorbax SB Phenyl (150 x 4,6 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz bileşimi su (%30) - metanol (%70) karışımından oluşturulmuş ve izokratik olarak ayarlanmıştır. Numuneler enjeksiyon hacmi 15 µL, akış hızı 1,0 mL/dk, kolon sıcaklığı 40 °C ve dedektörün dalga boyu 260 nm olacak şekilde 3 tekrar ile analiz edilmiştir.

3.3.5 Essitalopram okzalatın subkritik sudaki çözünürlüğü ve kantitatif analizi

İlaç etken maddesi olarak antidepresan ilaç grubundan seçici serotonin geri alım inhibitörü ESC seçilmiş ve subkritik su ortamındaki çözünürlüğü incelenmiştir. Deneysel çalışmada dengeleme hücresi olarak boş Waters µBondapak C18 (300 mm × 3,9 mm i.d.) kolonu kullanılmıştır. Dengeleme hücresi 2,00 gram essitalopram okzalat ile doldurulduktan sonra her iki uç kapağı sızıntıyı önlemek için sıkıca kapatılarak ısıtıcı sisteme yerleştirilmiştir. Ardından sisteme, çözücü sağlamak ve 5,1

MPa basınç elde etmek için kullanılan şırınga pompa ile subkritik su gönderilmiştir. Deneyler 298 K ile 473 K arasında değişen sekiz farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Dengeleme hücresinin ayarlanan sıcaklıklara ulaşmasını sağlamak için sistem bir saat dengelenmeye bırakılmıştır. Sıcaklık ölçümü için belirsizlik ±1 K ve basınç ±0,1 MPa'dır. Dengeye ulaşıldıktan 15 dakika sonra 3 mL hacminde numune alınmıştır ve her sıcaklık için bu işlem tekrarlanmıştır. Toplanan numunelerin kimyasal analizi için numuneler çöktürülmeden hemen metanol ile seyreltilmiştir. Analizler HPLC'de, Zorbax SB Phenyl (150 x 4,6 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz bileşimi su (%1 ortofosforik asit, OPA) (A) ve metanol (B) olarak belirlenmiş ve izokratik elüsyon programı, 50:50 (A:B) şeklinde ayarlanmıştır. Numuneler enjeksiyon hacmi 10 µL, akış hızı 1,0 mL/dk ve dedektörün dalga boyu 240 nm olacak şekilde 3 tekrar ile analiz edilmiştir. Elde edilen deneysel çözünürlük verileri mevcut çözünürlük tahmin modelleriyle karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 5-Florourasilin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi

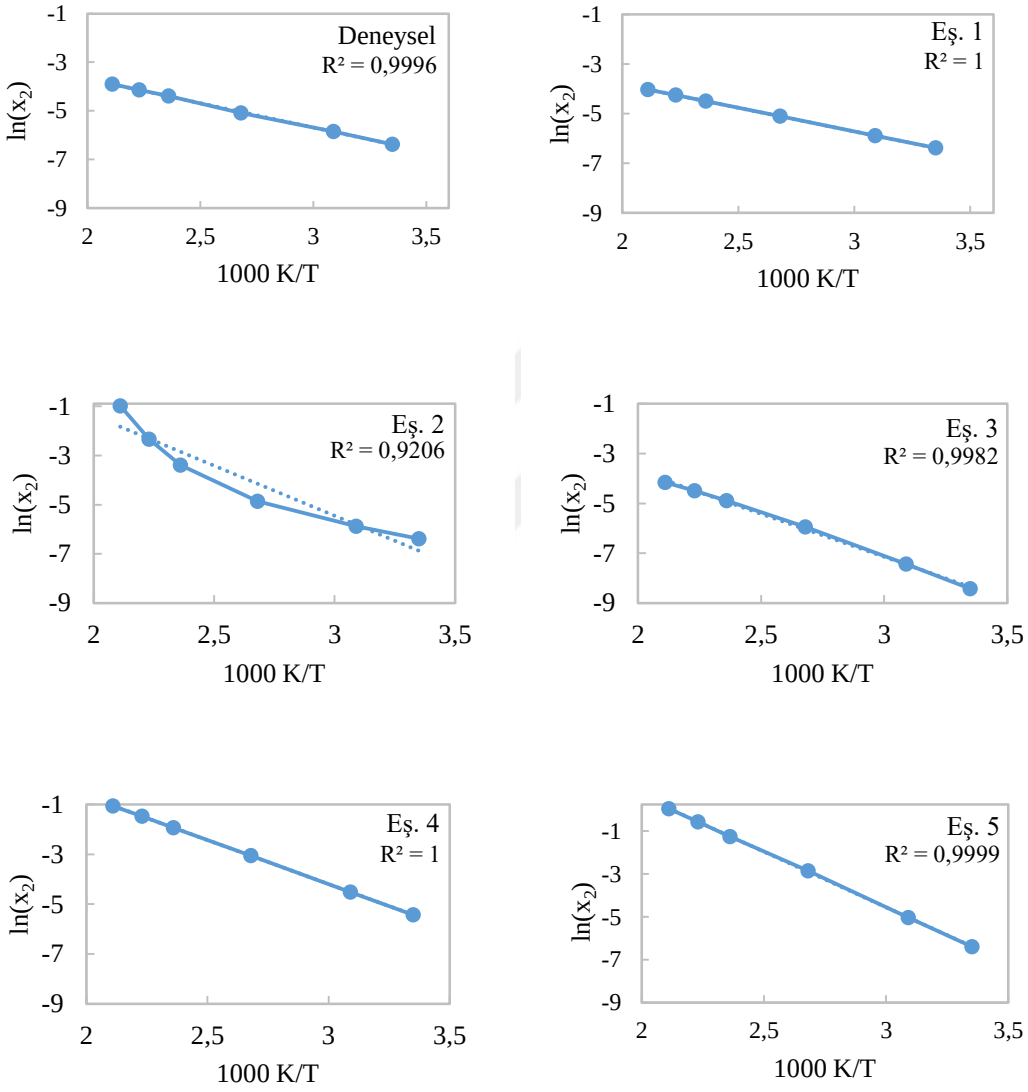
Son yıllarda ortam sıcaklığındaki suda bir dizi hidrofobik katı bileşiğin çözünürlüğü incelenmiş ve 10^{-6} – 10^{-7} mol fraksiyonu kadar düşük bulunmuştur (Bennett ve Canady, 1984; Zhou vd., 2003). Bununla birlikte, çok sayıda çalışma, hidrofobik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüklerinin üstel olarak 100 °C'nin üzerinde arttığını göstermiş ve subkritik suyun çözme gücünün oda sıcaklığındaki sudan çok daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Çözme gücündeki çarpıcı artışın bir sonucu olarak, nispeten daha yüksek sıcaklıktaki suyun organik çözücülere iyi bir alternatif olduğu tespit edilmiştir (Miller ve Hawthorne, 1998a; Miller vd., 1998b; Karasek vd., 2006a, 2010; Carr vd., 2010a; Teoh vd., 2013). Kısacası, literatür verileri organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü üzerinde sıcaklığın önemli bir etkiye sahip olduğunu açıkça göstermiştir. Aynı eğilim bu çalışmada da doğrulanmıştır. Çalışmada, 5-FLU'nunsubkritik sudaki mol farksiyonu çözünürlüğü 298 ile 473 K arasında değişen altı farklı sıcaklıkta belirlenmiş ve Çizelge 4.1'de listelenmiştir. Sıcaklık 298 K'den 473 K'e yükseltildiğinde, 5-FLU'nun mol fraksiyon çözünürlüğünün normal koşullar altındaki çözünürlüğüne kıyasla 12 kat arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. 5-Florourasilin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.

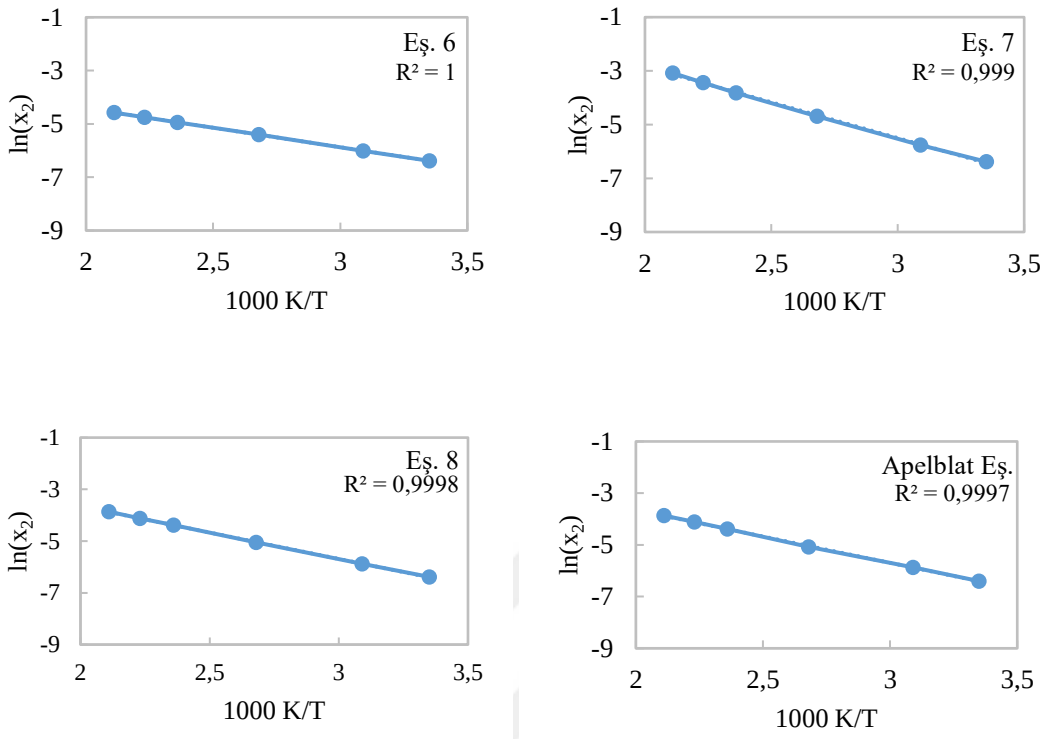
	$10^3 x_2$									
T/K ± 1	Deneysel (x_2^a±sd^b)	Eş. 1	Eş. 2	Eş. 3	Eş. 4	Eş. 5	Eş. 6	Eş. 7	Eş. 8	Apelblat Eş.
298	1,69±0,23	1,69	1,69	0,22	4,40	1,69	1,69	1,69	1,69	1,66
323	2,89±0,41	2,77	2,79	0,59	10,90	6,49	2,46	3,13	2,79	2,83
373	6,19±0,74	6,10	7,75	2,64	47,30	55,70	4,51	9,13	6,38	6,25
423	12,40±1,13	11,15	33,70	7,54	144,30	287,90	7,16	21,82	12,47	12,43
448	15,90±1,46	14,30	97,10	11,22	229,50	570,0	8,67	32,08	16,31	16,30
473	20,30±1,67	17,90	374,20	15,58	347,70	1050,0	10,30	45,91	20,99	20,93

Standart sapmalar ± işaretleri ile belirtilmiştir. [a] Üçlü ölçümlere dayanmaktadır, [b] Ortalamanın standart sapmasıdır. Eş. 1-8 mevcut çözünürlük tahmin modellerini ifade etmektedir. Modifiye Apelblat denklemi üç parametreli yarı deneysel bir modeldir.

Çözünürlüğün sıcaklığa bağlılığı Şekil 4.1'de de ayrıca gösterilmiştir. Burada modellerin çoğu için ln(x_2) ve 1000 K/T arasında iyi bir korelasyon elde edilmiştir. Eş. 2 dışında korelasyon katsayısının, R^2=0,999'dan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, deneysel sıcaklık aralığında 5-FLU'nun çözünme entalpisinin pozitif değerli ve çözünme sürecinin endotermik olduğu belirlenmiştir. Böylece, artan sıcaklık ile çözünürlüğün arttığı ifade edilmiştir.



Şekil 4.1. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen 5-FLU çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.



Şekil 4.1 (devam). Mevcut modeller tarafından tahmin edilen 5-FLU çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.

4.1.1 5-Florourasilin çözünürlük tahmin modelleri

Subkritik suda apolar katı organik bileşiklerin çözünürlüğünü tahmin etmek için Miller vd., (1998b) tarafından geliştirilen modellerden Eş. 1 ve Eş. 2, 5-FLU'nun mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için kullanılmıştır. Eş. 1'e göre, düşük sıcaklık aralığında (373 K'ya kadar) deneysel verilere benzer tahmini değerler elde edilmiştir, ancak daha yüksek sıcaklıklarda tahmin edilen değerler deneysel sonuçlardan farklılık göstermiştir. Eş. 2 kullanıldığında, Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi bu sapma daha da artmıştır. Ardından yine alkilbenzenler (Eş. 3), (Mathis vd., 2004), benzoik ve salisilik asitler (Eş. 4), (Kayan vd., 2010) gallik asit, kateşin ve protokatekuik asit (Eş. 5), (Srinivas vd., 2010); parabenler (Eş. 6), (Kapalavavi vd., 2014); parasetamol (Eş. 7), (Emire vd., 2016) gibi bazı katı ve sıvı organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüklerini tahmin etmek için önerilen çeşitli modeller 5-FLU'nun mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için kullanılmıştır. Deneysel çalışmadan elde edilen veriler ile önerilen modellerden hesaplanan değerler karşılaştırılmış ancak bu modellerin hiçbiri ile 5-FLU'nun çözünürlüğü makul bir şekilde tahmin edilememiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. Suyun dielektrik sabiti (5,1 MPa) (Uematsu ve Franck, 1980).

T/K	298	323	348	373	398	423	448	473
ε_r	78,65	70,09	62,42	55,59	49,52	44,12	39,28	34,90

5-Florourasilin mol fraksiyon çözünürlüğünü daha iyi tahmin edebilmek adına suyun dielektrik sabitinin artan sıcaklık ile azalması göz önünde bulundurularak mevcut tahmin modeline suyun dielektrik sabiti eklenmiş (Çizelge 4.2) ve Eşitlik 4.1 (Eş. 8)'de gösterilen model geliştirilmiştir (Eşitlik 4.1 çizelgelerde ve şekillerde Eş. 8 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2 = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2\left(T_o\right) + \frac{\varepsilon_{(T)}}{\varepsilon_{(T_o)}}\left[\left(\frac{T - T_o}{T_o}\right)\right]^2 \tag{4.1}$$

Modifiye edilmiş bu modelin Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi deneysel olarak elde edilenlere oldukça benzer tahmini değerler verdiği gözlemlenmiş ve modeldeki hata değeri $0{,}34\times10^{-3}$ olarak hesaplanmıştır. Böylece geliştirilen bu modelin 5-FLU'nun subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünün makul bir öngörücüsü olduğu belirtilmiştir.

5-Florourasilin subkritik sudaki çözünürlüğünü tahmin etmek için ayrıca Modifiye Apelblat denklemi (Eşitlik 4.2) de kullanılmıştır (Apelblat ve Manzurola, 1999, 2002).

$$\ln x_2 = A + B\left(\frac{T_o}{T}\right) + C\ln\left(\frac{T}{T_o}\right) \tag{4.2}$$

x_2, 5-Florourasilin mol fraksiyon çözünürlüğü; A, B ve C Modifiye Apelblat denkleminin uyarlanabilir parametreleridir.

Deneysel ve hesaplanmış değerler arasındaki kök-ortalama-kare sapması (RMSD), aşağıdaki denklemden (Eşitlik 4.3) elde edilmiştir.

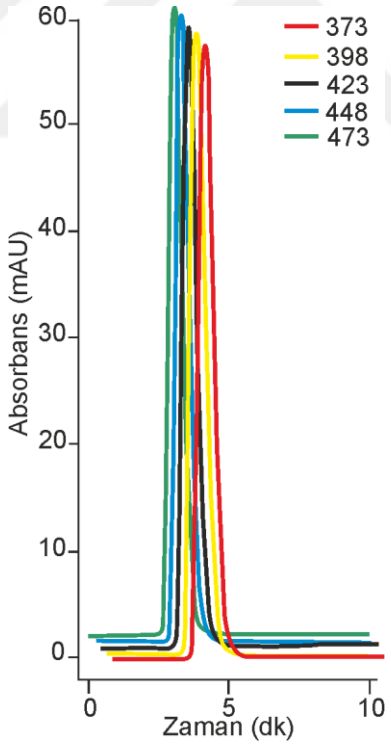
$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}\left(x_{w,T}^{c} - x_{w,T}^{e}\right)^2}{N}} \tag{4.3}$$

N, deneysel değerlerin sayısını; $x_{w,T}^{c}$ hesaplanan mol fraksiyon çözünürlüğünü; $x_{w,T}^{e}$ deneysel mol fraksiyon çözünürlüğünü temsil etmektedir.

Eşitlik 4.2'deki A, B ve C değerlerini belirlemek için çoklu doğrusal regresyon yapılmıştır. Bu değerler A = -5,411; B = -1729,28 ve C = 0,8447 olarak hesaplanmış ve RMSD değeri $4{,}43\times10^{-5}$olarak bulunmuştur. Çizelge 4.1'de Modifiye Apelblat denklemi kullanılarak hesaplanan çözünürlük değerleri ile deneysel değerlerin karşılaştırılması yapılmış ve denklemin makul bir korelasyon ile tutarlı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Apelblat denklemi de 5-FLU'nun subkritik sudaki çözünürlük tahmini için iyi bir öngörücü etki sağlamıştır.

4.1.2 Subkritik su kromatografisi ile 5-Florourasilin kromatografik tayini

5-Florourasilin kromatografik tayini, hareketli faz olarak saf su (%1 AcOH) kullanılarak Waters X-Terra MS C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 µm) kolonu ile 348–473 K arasında değişen sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0,6 mL/dk, enjeksiyon hacmi, 10 µL, analit konsantrasyonu 20 mg/kg ve UV detektör 277 nm olarak ayarlanmıştır. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, 5-FLU'nun tayini çalışılan tüm sıcaklıklarda başarıyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki 5-FLU kromatogramları.

5-Florourasilin alıkonma süresi, artan sıcaklıkla suyun polaritesindeki azalmadan dolayı kısalmıştır ve azalan polarite suyun elüsyon gücünü artırmıştır. Dolayısıyla artan 5-FLU çözünürlüğü ile gelişen pikler, tüm sıcaklıklarda keskin ve simetriktir.

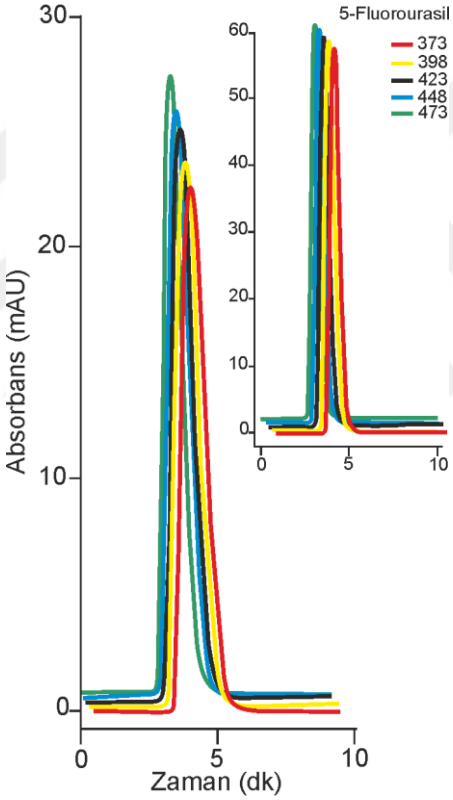
Bu durum artan tabaka sayısına bağlı olarak kolon etkinliğinin artmasıyla da doğrulanmıştır. Çizelge 4.3'te gösterildiği gibi, artan sıcaklıkla birlikte kapasite faktörü azalmış ve pik simetrisi daha da iyileşmiştir. Kromatografik verimin belirlenmesinde dikkat edilmesi gereken önemli parametrelerden biri de kapasite faktörüdür (k′). k′ uygulanan yönteme, her bileşenin fiziksel ve kimyasal yapısına bağlı olarak farklılıklar göstermekte ve bu değerin mümkün olduğunca $2<k'<10$ arasında olması beklenmektedir. Çizelgede de görüldüğü gibi, 5-FLU'nun SBWC ile tayini başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve uygun değerler elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. 5-FLU'nun kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi.

T (K)	Akış Hızı (mL/dk)	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü	Asimetri Faktörü	Pik Genişliği ($W_{0,5}$)	Tabaka Sayısı
5-Florourasil						
373	0,60	3,38	12,54	0,96	0,66	145
398	0,60	3,29	12,16	0,97	0,63	151
423	0,60	3,19	11,81	0,96	0,60	157
448	0,60	3,11	11,46	0,98	0,58	159
473	0,60	3,04	11,19	1,00	0,55	169
5-Frotu®						
373	0,60	3,51	12,70	0,95	0,74	125
398	0,60	3,42	12,37	0,96	0,70	132
423	0,60	3,30	11,99	0,96	0,67	134
448	0,60	3,22	11,63	0,97	0,65	136
473	0,60	3,13	11,31	0,98	0,61	146

5-Florourasilin kromatografik tayini ve analizi normal olarak ortam koşullarında HPLC ve sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) gibi farklı sıvı kromatografi sistemleri kullanılarak farklı araştırmacılar tarafından da gerçekleştirilmiştir. Holleran vd., (2016) LC-MS/MS sisteminde hareketli faz olarak asetonitril (%0,1 AcOH) – su (%0,1 AcOH) kullanarak 5,5 dakikada kromatografik tayini tamamlamışlardır. Ancak, hareketli faz olarak organik çözücülerin kullanıldığı çalışmalarda kromatografik tayin sonrasında oluşan atıkların da uygun şekilde bertaraf edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, bu deneysel sonuçlar 4 dakika içinde 5-FLU'nun başarılı bir şekilde ayrılabileceğini ve tayin sonrasında atık oluşmayacağını göstermektedir. Sonuç olarak, sudaki çözünürlüğü çok düşük olan bir türün sadece subkritik su kullanılarak C-18 kolonu üzerinden kolayca elue edilebildiği tespit

edilmiştir. Antikanser ajanı olan 5-FLU'nun kromatografik parametrelerinin belirlenip subkritik şartlarda başarılı bir şekilde tayin edilmesinin ardından 5-FLUetken maddesini içeren ve Onko Koçsel İlaçları tarafından üretilen 5-Frotu® adlı bir ticari ilacın da kalitatif olarak tayini gerçekleştirilmiştir. Ticari ilaç (5000 mg 5-FLU) örneğinden 0,5 mL alınıp balon jojede 100 mL'ye su ile seyreltilmiş ve vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Ardından çözelti 0,45 µm'lik bir membran filtre ile süzüldükten sonra 20 mg/kg derişimde hazırlanarak sıvı kromatografisi sistemine enjekte edilmiştir. Flakonda bulunan 5-FLU'nun tayini önceden belirlenen kromatografik şartlar ile subkritik su kromatografisinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki 5-Frotu® kromatogramları.

Ticari ilaç örneği de 5-FLU tayini gibi kısa sürede ve etkin bir şekilde analiz edilmiştir. Elüsyon sırasında ilaç örneğinden kaynaklı ekstra bir pik veya herhangi bir parçalanma ürünü gözlenmemiştir. Ayrıca, Çizelge 4.3'te verilen kromatografik parametreler incelenmiş olup artan sıcaklık ve akış hızı ile birlikte 5-FLU'nun gelişen pik simetrisi yanında kolon etkinliğinin de arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ticari ilaç örneğindeki 5-FLU'nun da SBWC ile başarılı bir şekilde tayin edildiği ve artan sıcaklıkla organik çözücü sarfiyatının sıfıra indirildiği gösterilmiştir.

Bu sayede, SBWC'nin zararlı organik çözücüler olmadan göstermiş olduğu tayin performansı ile hızlı, ekonomik ve çevresel açıdan yeşil bir teknik olduğu doğrulanmıştır.

4.2 Sülfadiazinin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi

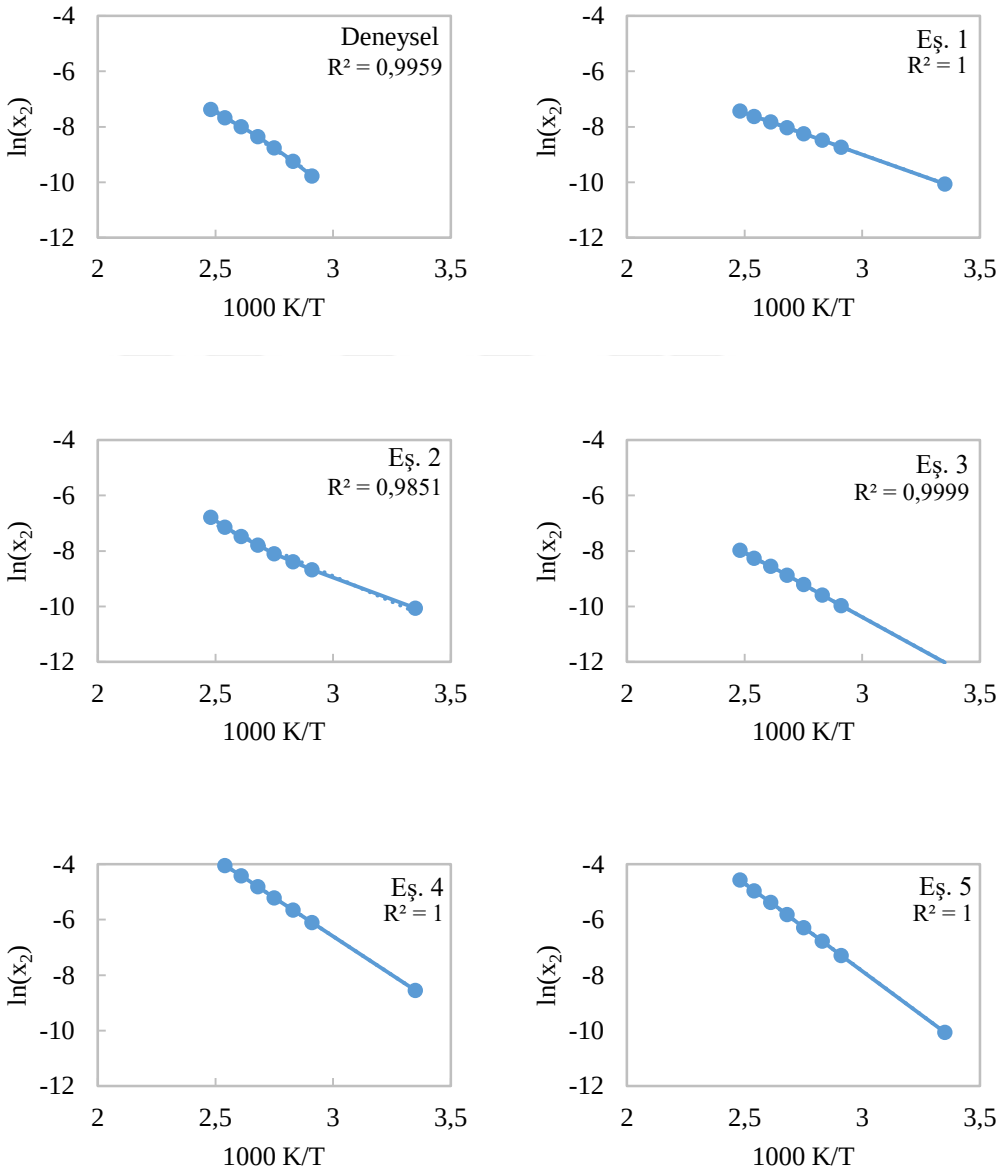
Subkritik sudaki organik çözünenlerin çözünürlüğü, çözünenlerin kimyasal yapısı ve sıcaklık ile yakından ilgilidir. Sıcaklıktaki bir artış, hidrofobik bileşiklerin sudaki çözünürlüğünü artırırken, aynı durum bir yardımcı çözücünün (modifiyerin) eklenmesiyle de olabilmektedir. Bu sayede, bir modifiyerin kullanımı daha yüksek işlem sıcaklıklarına olan ihtiyacı kolayca azaltmakta ve çözünürlük, ekstraksiyon, mikronizasyon gibi subkritik su işlemlerinin gerçekleştirileceği sıcaklığı düşürebilmektedir (Teoh vd., 2014; Pu vd., 2019). Bu nedenle, çözünürlük çalışmaları da 298 ile 403 K arasında değişen sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, deneysel olarak elde edilen subkritik su ortamındaki SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğü Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde, SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğünün, 298 K'de $0{,}043 \times 10^{-3}$ 'ten, 403 K'de $0{,}630 \times 10^{-3}$ değerine yükseldiği ve çözünürlükte yaklaşık 15 katlık bir artışın olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. Sülfadiazinin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.

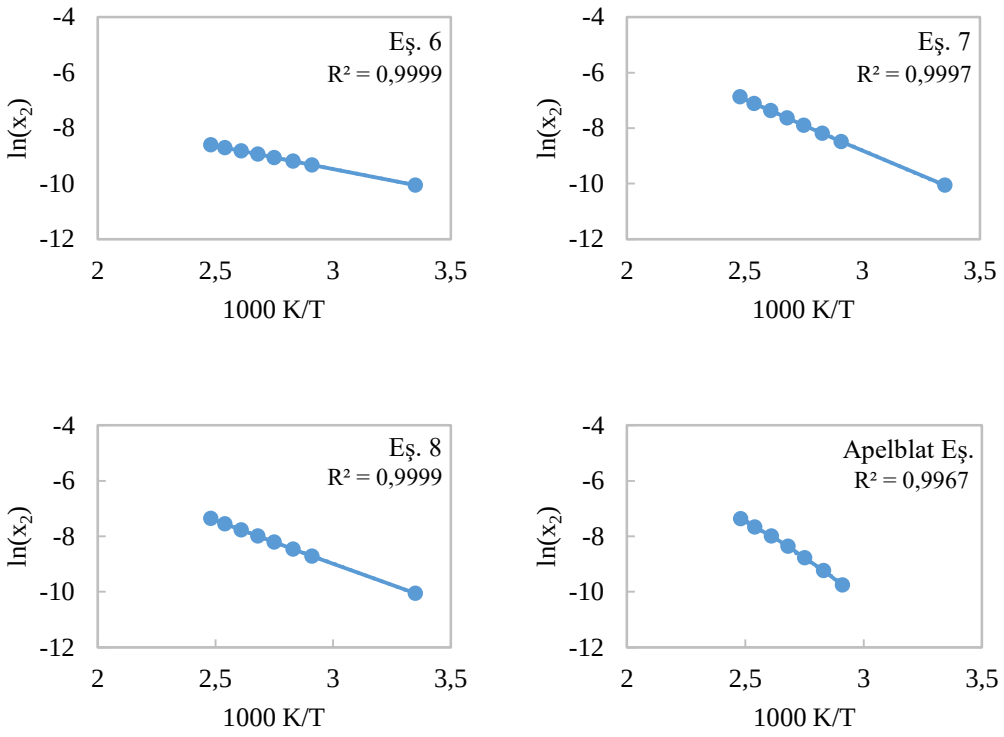
$10^3 x_2$										
T/K ± 1	Deneysel ($x_2^a \pm sd^b$)	Eş. 1	Eş. 2	Eş. 3	Eş. 4	Eş. 5	Eş. 6	Eş. 7	Eş. 8	Apelblat Eş.
298	0,043± 0,005	0,043	0,043	0,006	0,194	0,043	0,043	0,043	0,043	0,042
343	0,057± 0,008	0,161	0,170	0,047	2,229	0,683	0,089	0,206	0,164	0,058
353	0,097± 0,010	0,207	0,227	0,069	3,524	1,150	0,102	0,278	0,212	0,098
363	0,157± 0,010	0,261	0,305	0,100	5,431	1,870	0,116	0,370	0,271	0,155
373	0,236± 0,020	0,326	0,414	0,141	8,179	2,980	0,132	0,487	0,341	0,234
383	0,336± 0,030	0,401	0,569	0,194	12,056	4,610	0,148	0,634	0,424	0,338
393	0,468± 0,050	0,490	0,797	0,260	17,425	7,000	0,165	0,817	0,523	0,469
403	0,630± 0,080	0,592	1,140	0,344	24,726	10,400	0,183	1,040	0,639	0,629

Standart sapmalar ± işaretleri ile belirtilmiştir. [a] Üçlü ölçümlere dayanmaktadır, [b] Ortalamanın standart sapmasıdır. Eş. 1-8 mevcut çözünürlük tahmin modellerini ifade etmektedir.

Çözünürlüğün sıcaklığa bağlılığı Şekil 4.4'te de ayrıca gösterilmiştir. Modellerin çoğu için $\ln(x_2)$ –1000 K/T arasında iyi bir korelasyon vardır, Eş. 2 dışında korelasyon katsayısı, R^2=0,999'dan daha yüksektir. Deneysel sıcaklık aralığında SDA'nın çözünme entalpisinin pozitif değerli olduğu ve artan sıcaklık ile çözünürlüğünün arttığı belirlenmiştir. Çünkü çözünen-çözücü molekülleri arasındaki etkileşimler çözücü molekülleri arasındaki etkileşimden daha güçlüdür.



Şekil 4.4. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen SDA çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.



Şekil 4.4 (devam). Mevcut modeller tarafından tahmin edilen SDA çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.

Sıcaklık, SDA'nın subkritik su + alkol karışımları içindeki mol fraksiyon çözünürlüğü üzerinde de benzer bir etkiye sahiptir. Suyun çözme gücü, hem sistemin sıcaklığıdan hem de suya eklenen yardımcı organik çözücünün miktarından etkilenmektedir. Bu durum da suyun dielektrik sabitinde azalmaya ve sulfadiazinin mol fraksiyon çözünürlüğünde artışa neden olmaktadır. Örneğin Çizelge 4.5'te ifade edildiği gibi, SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğü 373 K (100 °C)'de subkritik sudaki çözünürlüğüne ($0,24x10^{-3}$) kıyasla, ağırlıkça %20 etanolden oluşan subkritik su+organik çözücü karışımında ($0,79x10^{-3}$) 3 kat, ağırlıkça %20 1-propanolden oluşan subkritik su+organik çözücü karışımında da ($1,41x10^{-3}$) yaklaşık 6 kat artış göstermiştir. Yine Çizelge 4.5'te gösterildiği gibi, SDA'nın subkritik su+etanol (80:20) karışımı içindeki mol fraksiyon çözünürlüğü, 343 K'de $0,22x10^{-3}$ 'ten 403 K'de $2,10x10^{-3}$ 'e yükselirken, subkritik su+1-propanol (80:20) karışımı içerisindeki mol fraksiyon çözünürlüğü, 343 K'de $0,26x10^{-3}$'ten 403 K'de $3,24x10^{-3}$ değerine yükselmiştir. Sonuç olarak hem sıcaklık hem de yardımcı organik çözücü SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğünde genel bir artışa katkıda bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) ve (Subkritik Su + 1-propanol) karışımlarındaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğü üzerine sıcaklığın etkisi.

$10^3 x_2$									
Subkritik Su (SBCW) + Etanol (% E)									
T(K)	SBCW	SBCW +2,5 E	SBCW +5 E	SBCW +7,5 E	SBCW +10 E	SBCW +12,5 E	SBCW +15 E	SBCW +17,5 E	SBCW+20 E
343	0,057	0,056	0,069	0,089	0,114	0,135	0,156	0,192	0,225
353	0,097	0,115	0,136	0,186	0,217	0,241	0,262	0,304	0,346
363	0,157	0,192	0,222	0,300	0,340	0,384	0,401	0,464	0,537
373	0,236	0,298	0,349	0,439	0,496	0,573	0,621	0,702	0,791
383	0,336	0,427	0,506	0,611	0,717	0,802	0,880	1,000	1,110
393	0,468	0,590	0,699	0,830	0,963	1,080	1,230	1,380	1,530
403	0,630	0,777	0,929	1,090	1,240	1,420	1,620	1,830	2,090
Subkritik Su (SBCW) + 1-propanol (% P)									
T(K)	SBCW	SBCW+2,5 P	SBCW+5 P	SBCW+7,5 P	SBCW+10 P	SBCW+12,5 P	SBCW+15 P	SBCW+17,5 P	SBCW+20 P
343	0,057	0,065	0,091	0,120	0,142	0,164	0,167	0,194	0,265
353	0,097	0,148	0,200	0,245	0,290	0,330	0,383	0,450	0,536
363	0,157	0,262	0,335	0,417	0,481	0,588	0,667	0,791	0,970
373	0,236	0,388	0,510	0,628	0,725	0,892	1,010	1,170	1,410
383	0,336	0,554	0,718	0,882	1,010	1,240	1,430	1,670	1,920
393	0,468	0,732	0,948	1,180	1,360	1,640	1,950	2,270	2,580
403	0,630	0,930	1,200	1,500	1,770	2,070	2,470	2,850	3,240

4.2.1 Sülfadiazinin subkritik sudaki çözünürlüğüne alkol yüzdesinin etkisi

Modifiyer organik çözücülerin, subkritik su-organik bileşik çözeltisine eklendiğinde çözünürlüğü arttırılabileceği belirtilmiştir (Curren ve King, 2001). Organik modifiyerlerin etkisi, çözücünün dielektrik sabitini azaltarak çözünen için afinitesini arttırmaktır. Böylece, SDA'nın subkritik su sistemindeki çözünürlüğünün, SBCW'ye organik çözücü eklenerek arttırılması mümkündür. SDA'nın subkritik su + alkol karışımları içindeki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğü, Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Çizelge 4.5 incelendiğinde, SDA'nın subkritik su+alkol karışımları içindeki mol fraksiyon çözünürlüğünün, subkritik suya eklenen alkol yüzdesinin artışına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Örneğin, sulfadiazinin 343 K'de subkritik su + etanol karışımı içindeki mol fraksiyon çözünürlüğünde, karışımdaki etanol yüzdeleri göz önüne alındığında subkritik su+%2,5 etanol karışımındaki çözünürlüğü $0{,}056x10^{-3}$ iken subkritik su+%20 etanol karışımındaki çözünürlüğü $0{,}225x10^{-3}$ olarak belirlenmiştir. Çözünürlük değerindeki bu 3-4 katlık artış, test edilen tüm diğer sıcaklıklarda da gözlenmiştir. Benzer şekilde, SDA'nın 343 K'de subkritik su+1-propanol karışımı içindeki mol fraksiyon çözünürlüğünde, subkritik su+%2,5 1-propanol karışımındaki çözünürlük $0{,}065x10^{-3}$ iken subkritik su+%20 1-propanol karışımında $0{,}265x10^{-3}$'e yükselmiştir. Sonuç olarak sulfadiazinin 298 K'den 403 K'e olan subkritik su+etanol karışımındaki mol fraksiyon çözünürlüğünde, subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğüne göre yaklaşık 49 katlık bir artış gözlenirken; subkritik su+1-propanol karışımındaki mol fraksiyon çözünürlüğünde 75 katlık artış gözlemlenmiştir. Elde edilen bütün veriler sistem sıcaklığını artırmanın yanı sıra subkritik suya yardımcı çözücü ilave edilmesinin, SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğünü arttırdığını göstermekte ve eklenen 1-propanolün etanole göre SDA'nın çözünürlüğü üzerinde daha etkin olduğunu belirtmektedir. SDA'nın yardımcı çözücü olarak 1-propanol kullanıldığında elde edilen mol fraksiyon çözünürlüğündeki artış, suyun hidrojen bağ yoğunluğunun bu yardımcı çözücünün ilave edilmesiyle zayıflamasının yanında SDA ile 1-propanol arasında hidrojen bağı oluşumuna ve alkolün yapısındaki hidrokarbon uç ile çalışılan SDA arasındaki apolar-apolar etkileşmelere atfedilmiştir.

4.2.2 Sülfadiazinin çözünürlük tahmin modelleri

Bazı katı ve sıvı organik bileşiklerin çözünürlüklerini tahmin etmek amacıyla geliştirilen mevcut 7 model ve 5-FLU için önerilen model (Eş. 8) kullanılarak SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğü tahmin edilmeye çalışıldığında, Eş. 1-8 denklemlerinden elde edilen sonuçlar ile deneysel çözünürlük değerlerinin uyuşmadığı ve hiçbirinin de yüksek sıcaklıkta SDA'nın çözünürlüğünü makul bir şekilde tahmin edemediği gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

Ardından subkritik suda ve subkritik su+alkol karışımlarında SDA'nın çözünürlüğünü değerlendirmek ve tahmin etmek için Modifiye Apelblat denklemi ve Kısmen Karışan İdeal İkili Çözücü/Redlich-Kister (CNIBS/R-K) modeli uygulanmıştır. Eşitlik (4.2) 'de ifade edilen Modifiye Apelblat denklemi üç parametreli yarı deneysel bir modeldir. Katı-sıvı faz dengesi için sulu çözelti içindeki SDA'nın çözünürlüğünün sıcaklığa bağlı olarak tanımlanmasında yaygın kullanılmaktadır (Apelblat ve Manzurola, 2002; Pu vd., 2017).

$$\ln x_2 = A + B\left(\frac{T_o}{T}\right) + C\ln\left(\frac{T}{T_o}\right) \tag{4.2}$$

Subkritik su+alkol karışımlarının deneysel çözünürlük verileri ile Modifiye Apelblat denklemi kullanılarak tahmin edilen çözünürlük verileri ve model parametreleri Çizelge 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir.

Hatayı göstermek ve modeli değerlendirmek için, RMSD ve nispi ortalama sapma (RAD) da aşağıda yer alan eşitliklerden hesaplanmıştır (Eşitlik 4.3 ve 4.4).

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}\left(x_{w,T}^{c} - x_{w,T}^{e}\right)^2}{N}} \tag{4.3}$$

$$RAD = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\left(\frac{\left|x_{w,T}^{c} - x_{w,T}^{e}\right|}{x_{w,T}^{e}}\right) \tag{4.4}$$

N, deneysel değerlerin sayısını; $x_{w,T}^{c}$ hesaplanan mol fraksiyon çözünürlüğünü; $x_{w,T}^{e}$ deneysel mol fraksiyon çözünürlüğünü temsil etmektedir.

Çizelge 4.6a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) karışımlarındaki Modifiye Apelblat Eq ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.

$10^3 x_2$							
Etanol (%)	343 K	353 K	363 K	373 K	383 K	393 K	403 K
0,0	0,059	0,098	0,155	0,234	0,338	0,469	0,629
2,5	0,063	0,113	0,189	0,294	0,429	0,592	0,775
5,0	0,075	0,133	0,222	0,345	0,506	0,702	0,927
7,5	0,107	0,182	0,289	0,433	0,617	0,836	1,086
10,0	0,122	0,209	0,335	0,503	0,714	0,963	1,240
12,5	0,144	0,241	0,379	0,566	0,803	1,089	1,416
15,0	0,154	0,258	0,409	0,616	0,887	1,222	1,622
17,5	0,186	0,304	0,471	0,701	1,000	1,376	1,832
20,0	0,227	0,354	0,533	0,780	1,111	1,540	2,086

Çizelge 4.6b. Subkritik Su + Etanol için Modifiye Apelblat Eq parametreleri.

Apelblat Eq					
Etanol (%)	A_1	B_1	C_1	RMSD	RAD
0,0	$2{,}16\times10^{2}$	$-1{,}67\times10^{4}$	-30,33	$1{,}65\times10^{-2}$	1,12
2,5	$3{,}97\times10^{2}$	$-2{,}67\times10^{4}$	-56,33	$3{,}47\times10^{-2}$	2,50
5,0	$3{,}74\times10^{2}$	$-2{,}55\times10^{4}$	-53,02	$3{,}16\times10^{-2}$	1,71
7,5	$3{,}18\times10^{2}$	$-2{,}21\times10^{4}$	-45,07	$9{,}12\times10^{-2}$	4,21
10,0	$3{,}56\times10^{2}$	$-2{,}41\times10^{4}$	-50,51	$5{,}57\times10^{-2}$	2,07
12,5	$2{,}92\times10^{2}$	$-2{,}06\times10^{4}$	-41,38	$5{,}91\times10^{-2}$	1,50
15,0	$2{,}53\times10^{2}$	$-1{,}87\times10^{4}$	-35,66	$5{,}40\times10^{-2}$	1,02
17,5	$2{,}00\times10^{2}$	$-1{,}57\times10^{4}$	-27,96	$3{,}89\times10^{-2}$	0,76
20,0	86,10	$-0{,}94\times10^{4}$	-11,50	$6{,}45\times10^{-2}$	0,81

Çizelge 4.7a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + 1-propanol) karışımlarındaki Modifiye Apelblat Eq ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.

$10^3 x_2$							
1-propanol (%)	343 K	353 K	363 K	373 K	383 K	393 K	403 K
0,0	0,059	0,098	0,155	0,234	0,337	0,469	0,629
2,5	0,079	0,148	0,249	0,387	0,554	0,740	0,926
5,0	0,107	0,196	0,328	0,505	0,719	0,957	1,195
7,5	0,135	0,245	0,406	0,622	0,887	1,186	1,496
10,0	0,165	0,288	0,467	0,712	1,017	1,373	1,763
12,5	0,184	0,340	0,569	0,876	1,248	1,656	2,061
15,0	0,202	0,378	0,642	1,002	1,448	1,951	2,466
17,5	0,236	0,443	0,753	1,173	1,690	2,266	2,848
20,0	0,309	0,556	0,913	1,386	1,957	2,589	3,229

Çizelge 4.7b. Subkritik Su + 1-propanol için Modifiye Apelblat Eq parametreleri.

Apelblat Eq					
1-propanol (%)	A_1	B_1	C_1	RMSD	RAD
0,0	$2,16\times10^{2}$	$-1,67\times10^{4}$	-30,33	$1,64\times10^{-2}$	1,12
2,5	$5,51\times10^{2}$	$-3,48\times10^{4}$	-78,58	$8,10\times10^{-2}$	4,28
5,0	$5,36\times10^{2}$	$-3,39\times10^{4}$	-76,40	$7,78\times10^{-2}$	3,32
7,5	$4,93\times10^{2}$	$-3,16\times10^{4}$	-70,15	$8,06\times10^{-2}$	2,50
10,0	$3,98\times10^{2}$	$-2,64\times10^{4}$	-56,51	$1,26\times10^{-1}$	3,28
12,5	$5,53\times10^{2}$	$-3,48\times10^{4}$	-78,78	$1,44\times10^{-1}$	3,14
15,0	$5,43\times10^{2}$	$-3,44\times10^{4}$	-77,25	$1,80\times10^{-1}$	4,04
17,5	$5,60\times10^{2}$	$-3,54\times10^{4}$	-79,77	$2,32\times10^{-1}$	4,31
20,0	$5,03\times10^{2}$	$-3,20\times10^{4}$	-71,59	$3,32\times10^{-1}$	4,38

Çizelgeler incelendiğinde deneysel çözünürlük verileri ile tahmini değerler arasındaki hataların küçük olduğu gözlemlenmiştir. Modifiye Apelblat denklemi subkritik su + alkol karışımlarındaki SDA'nın mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmenin yanında subkritik sudaki çözünürlük tahmini için de iyi bir öngörücü etki sağlamıştır.

Eşitlik (4.5) ile ifade edilen ve çözünürlüğü değerlendirmek için kullanılan diğer denklem ise CNIBS/R-K modeldir. Çözünürlüğü ve ikili karışım oluşturan çözücülerin bileşimi arasındaki ilişkiyi belirli bir sıcaklıkta tanımlamak için kullanılan CNIBS/R-K modeli, ikili çözücü sistemleri için en uygun modellerden biri olarak kabul edilmektedir (Acree, 1992).

$$\ln x = B_0 + B_1 x_2 + B_2 x_2^2 + B_3 x_2^3 + B_4 x_2^4 \qquad (4.5)$$

X, sülfadiazinin mol fraksiyon çözünürlüğü; X_2, sülfadiazin yokluğunda ikili çözücü karışımlarında etanol veya 1-propanolün başlangıç mol fraksiyon bileşimi ve B_0 - B_4 model parametreleridir.

Subkritik su + alkol karışımlarının CNIBS/R-K modeliyle tahmin edilen çözünürlük verileri ve model parametreleri Çizelge 4.8 ve 4.9'da özetlenmiştir. Hatayı göstermek ve modeli değerlendirmek için, RAD ve RMSD sonuçları da çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.8a. Sülfadiazinin (Subkritik Su + Etanol) karışımlarındaki CNIBS/R-K Modeli ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.

$10^3 x_2$							
Etanol (%)	343 K	353 K	363 K	373 K	383 K	393 K	403 K
0,0	0,06	0,10	0,16	0,24	0,34	0,47	0,63
2,5	0,06	0,11	0,19	0,29	0,42	0,58	0,78
5,0	0,07	0,14	0,23	0,36	0,51	0,71	0,93
7,5	0,09	0,18	0,29	0,43	0,61	0,83	1,08
10,0	0,11	0,21	0,34	0,50	0,71	0,95	1,25
12,5	0,14	0,25	0,38	0,57	0,80	1,09	1,42
15,0	0,16	0,27	0,41	0,63	0,89	1,23	1,61
17,5	0,18	0,29	0,45	0,70	0,99	1,38	1,83
20,0	0,23	0,35	0,54	0,79	1,11	1,53	2,09

Çizelge 4.8b. Subkritik Su + Etanol için CNIBS/R-K Model parametreleri.

R-K model	B_0	B_1	B_2	B_3	B_4	RAD	RMSD
343 K	-9,79	-6,87	$1,19\times10^3$	$-1,92\times10^4$	$9,69\times10^4$	1,90	$3,3\times10^{-2}$
353 K	-9,24	12,43	$0,55\times10^3$	$-1,25\times10^4$	$7,32\times10^4$	2,24	$5,7\times10^{-2}$
363 K	-8,76	14,92	$0,42\times10^3$	$-1,09\times10^4$	$6,74\times10^4$	2,11	$8,6\times10^{-2}$
373 K	-8,35	22,28	$-0,04\times10^3$	$-0,23\times10^4$	$1,80\times10^4$	1,22	$6,3\times10^{-2}$
383 K	-8,00	24,02	$-0,15\times10^3$	$-0,03\times10^4$	$0,70\times10^4$	0,80	$7,0\times10^{-2}$
393 K	-7,67	24,93	$-0,28\times10^3$	$0,25\times10^4$	$-0,99\times10^4$	0,43	$4,7\times10^{-2}$
403 K	-7,37	23,54	$-0,25\times10^3$	$0,23\times10^4$	$-0,80\times10^4$	0,21	$3,9\times10^{-2}$

Çizelge 4.9a. Sülfadiazinin (Subkritik Su+ 1-propanol) karışımlarındaki CNIBS/R-K Modeli ile tahmin edilen mol fraksiyon çözünürlüğü.

$10^3 x_2$							
1-propanol (%)	343 K	353 K	363 K	373 K	383 K	393 K	403 K
0,0	0,06	0,12	0,19	0,29	0,42	0,56	0,73
2,5	0,07	0,14	0,24	0,36	0,52	0,70	0,91
5,0	0,09	0,18	0,30	0,46	0,64	0,86	1,12
7,5	0,11	0,22	0,38	0,57	0,79	1,07	1,37
10,0	0,13	0,27	0,47	0,70	0,98	1,31	1,68
12,5	0,16	0,33	0,58	0,88	1,23	1,63	2,05
15,0	0,17	0,38	0,67	1,02	1,44	1,96	2,48
17,5	0,19	0,45	0,79	1,17	1,67	2,27	2,85
20,0	0,28	0,59	1,06	1,55	2,12	2,82	3,53

Çizelge 4.9b. Subkritik Su + 1-propanol için CNIBS/R-K Model parametreleri.

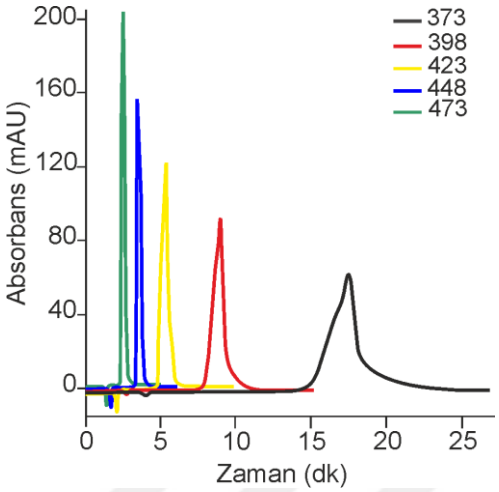
R-K model	B_0	B_1	B_2	B_3	B_4	RAD	RMSD
343 K	-9,79	15,20	$1,64\times10^3$	$-5,00\times10^4$	$4,01\times10^5$	2,17	0,03
353 K	-9,24	66,40	$-1,60\times10^3$	$2,14\times10^4$	$-1,03\times10^5$	0,21	0,01
363 K	-8,75	74,25	$-2,05\times10^3$	$3,11\times10^4$	$-1,67\times10^5$	1,80	0,10
373 K	-8,34	73,94	$-1,99\times10^3$	$2,98\times10^4$	$-1,61\times10^5$	1,69	0,16
383 K	-7,99	76,06	$-2,26\times10^3$	$3,74\times10^4$	$-2,22\times10^5$	1,47	0,19
393 K	-7,66	69,08	$-1,94\times10^3$	$3,23\times10^4$	$-1,95\times10^5$	0,99	0,16
403 K	-7,37	59,16	$-1,40\times10^3$	$2,15\times10^4$	$-1,24\times10^5$	0,56	0,12

Subkritik şartlarda saf etanol veya 1-propanoldeki SDA'nın çözünürlüğü çok büyük olacağından, deneyler sırasında, SDA'nın bu iki alkol içindeki çözünürlüğü ölçülmemiştir. Buna ek olarak, subkritik su bu organik çözücüler ile en fazla %20 oranında karışabilmekte ve sonrasında sıkıştırılabilirlik açısından sorun oluşturmaktadır. Dolayısıyla ölçülen çözünürlük, ikili çözücü karışımının tam bileşim aralığında yer almazsa daha az doğru sonuç üretebileceğinden sadece belirli bir sıcaklıkta, çözücü bileşimini (ağırlıkça %0–20) ve çözünürlük arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için CNIBS/R-K modeli uygulanmıştır. Sonuç olarak, Çizelge 4.6; 4.7; 4.8 ve 4.9'da, deneysel değerlerin tahmini değerler ile uyum gösterdiği ve RMSD'nin $3,32 \times 10^{-5}$ 'ten daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Belirlenen değerler arasındaki sapmaların, RAD %4,38 'ten büyük olmadığı gözlemlenmiştir. Bütün sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda her iki modelin de SDA'nın subkritik su ve subkritik su+alkol karışımlarındaki mol fraksiyon çözünürlüğünü değerlendirmek için kullanılabileceği, ancak çalışılan sıcaklıklarda çözünürlüğü makul bir şekilde tahmin edebilen modelin Modifiye Apelblat denklemi olduğu tespit edilmiştir. İlgili model parametrelerinin de, SDA'nın kristalizasyon ve ekstraksiyon işlemini optimize etmek için yararlı olabileceği belirtilmiştir.

4.2.3 Subkritik su kromatografisi ile sülfadiazinin kromatografik tayini

Sülfadiazinin kromatografik tayini hareketli faz olarak subkritik su kullanılarak Zorbax-SB C18 (150 x 4,6 mm, 5 μm) kolonu ile 373–473 K arasında değişen sıcaklıklarda ve 0,5–1,3 mL aralığında değişen akış hızlarında gerçekleştirilmiştir. Numune enjeksiyon hacmi, 10 μL, analit konsantrasyonu 25 mg/kg ve UV detektörü

254 nm olarak ayarlanmıştır. Kromatografik tayin sonunda elde edilen kromatogramlar Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki SDA kromatogramları.

Şekil 4.5'te, 373 K'de elde edilen kromatogram ile 473 K'deki kromatogram karşılaştırıldığında artan sıcaklık (100 K) sonucu azalan polarite ile suyun elüsyon gücünün arttığı gözlenmiştir. Yüksek sıcaklıkta suyun polaritesinin azalmasına ek olarak viskozitesinin de azalması SDA'nın difüzyonunu ve kütle transferini artırmıştır. Ayrıca azalan viskozite sistem geri basıncını düşürerek yüksek akış hızı kullanımına olanak vermiştir. Artan akış hızıyla birlikte alıkonma süresi kısalmış ve elüsyon 473 K'de yaklaşık 3 dakika içinde tamamlanmıştır. Ayrıca; SDA'nın kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi Çizelge 4.10'da da gösterilmiştir. Burada kapasite faktörünün düşük sıcaklıklarda 10'dan büyük olmasıyla, SDA'nın sabit faz tarafından iyi tutulduğu ve bu nedenle alıkonma süresinin de uzadığı tespit edilmiştir. Ancak artan sıcaklıkla hızlı bir elüsyon gerçekleştirilmiş ve uygun değerler elde edilmiştir.

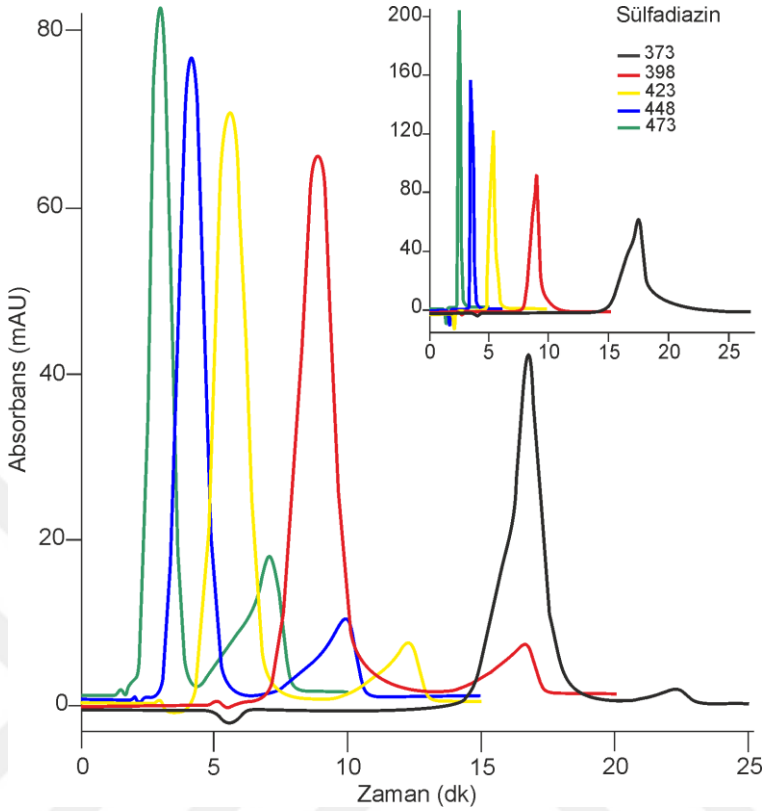
Çizelge 4.10. SDA'nın kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi.

T (K)	Akış Hızı (mL/dk)	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü	Asimetri Faktörü	Pik Genişliği ($W_{0,5}$)	Tabaka Sayısı
Sülfadiazin						
373	0,50	17,44	68,75	0,91	2,12	375
398	0,70	9,03	35,11	0,95	1,41	227
423	0,90	5,46	20,86	0,96	0,87	218
448	1,10	3,56	13,25	0,98	0,58	209
473	1,30	2,51	9,05	1,00	0,43	189
Silverdin®						
373	0,50	17,52	69,07	0,92	2,27	330
398	0,70	9,10	35,39	0,93	1,56	188
423	0,90	5,52	20,98	0,93	0,99	172
448	1,10	3,63	13,51	0,94	0,67	163
473	1,30	2,59	9,30	0,95	0,50	149

Yüksek sıcaklıkta hızlı elüsyon sonucu SDA'nın alıkonma süresinin yanında pik genişliğinin de azalması pik simetrilerini geliştirmiştir ve bu parametrelerin teorik tabaka sayısını yani kolon verimini olumlu yönde etkileyeceği belirtilmiştir. Ancak kolon veriminin artması beklenirken aksine azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durumda kolonun yüksek sıcaklıklarda kararlı olmasına rağmen zamanla kolon etkinliğini kaybettiği ve optimum hareketli faz hızı değiştiği için gözlemlenen verimliliğin daha yüksek sıcaklıkta düşmesinin mümkün olabileceği belirtilmiştir.

Sülfonamid türevi antibiyotiklerden SDA'nın SBWC'de başarılı bir şekilde tayin edilmesinin ardından SDA etken maddesini içeren ve Deva İlaç firması tarafından üretilen bir krem de analiz edilmiştir. Seçilen Silverdin® adlı krem örneğinden (10 mg gümüş sülfadiazin, SDA-Ag) 1,00 g tartılıp 50 mL'lik şişeye alınmıştır. Üzerine metanol eklenmiş ve kremin vorteks yardımıyla 45 dakika boyunca iyi bir şekilde karıştırılıp çözünmesi sağlanmıştır. Çözünme işlemi bittikten sonra çözelti 0,45 µm çaplı membran filtre yardımıyla süzülmüştür. Elde edilen süzüntüde sülfadiazinle birlikte yer alan gümüşü ortamdan uzaklaştırmak için 0,20 M sodyum klorür (NaCl) çözeltisi hazırlanmıştır. Süzüntüden 9 mL alınmış ve üzerine 1,0 mL NaCl çözeltisi eklenerek gümüşün çökmesi sağlanmıştır. Oluşan beyaz renkli çökelti tekrar 0,45 µm çaplı membran filtre yardımıyla süzülmüş ve elde edilen çözelti seyreltilerek enjeksiyona (25 mg/kg SDA) hazır hale getirilmiştir. Kremin analizi daha önceden

SDA için belirlenen kromatografik şartlar ile subkritik su kromatografisinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. SBWC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Silverdin® kromatogramları.

Ticari krem örneği artan sıcaklık ve akış hızı ile birlikte kısa sürede analiz edilmiştir. Elüsyon sırasında krem içeriğinden kaynaklı ekstra bir pik gözlenmiş ve artan sıcaklıkla çözünürlüğünün arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Çizelge 4.10'da verilen kromatografik parametrelerden artan sıcaklık ile SDA'nın pik simetrisinin geliştiği gözlenmiştir. Sonuçlar, ticari kremdeki SDA'nın zararlı organik çözücüler olmadan da başarılı bir şekilde analiz edilebileceğini göstermiştir.

4.3 İbuprofenin Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi

Organik bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğü üzerinde sıcaklığın önemli bir etkiye sahip olduğu literatür verilerinde açıkça belirtilmektedir. Sıcaklığın artmasıyla suyun dielektrik sabitinin azaldığı ve bu sayede hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğünde artış gözlendiği bilinmektedir. Ancak hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğünün subkritik su ortamında artması sadece dielektrik sabitinin düşmesine bağlı değil aynı zamanda suyun özellikleri, çözünen maddenin yapısı ve su ile

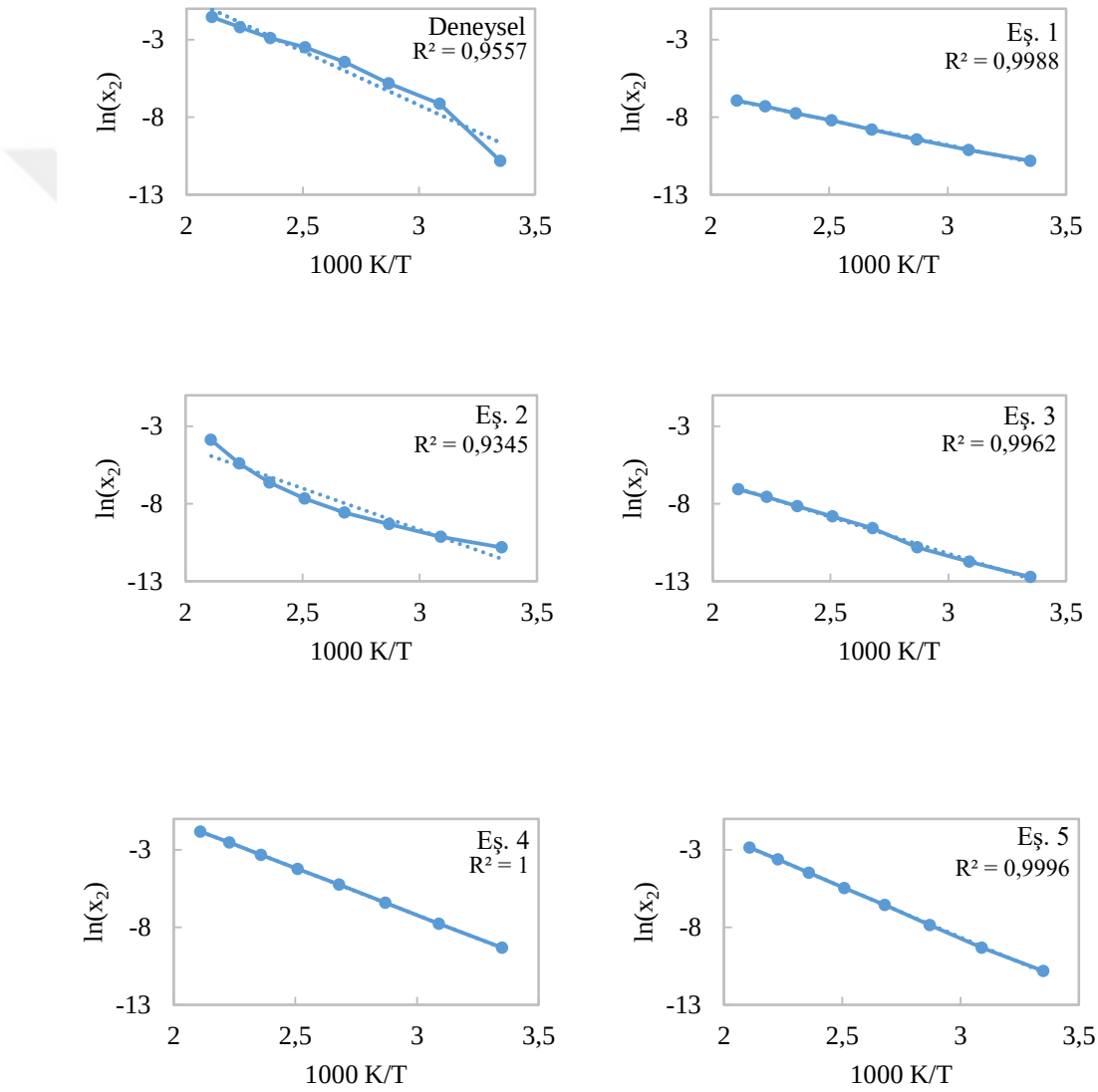
çözünen madde arasındaki molekül içi etkileşimlerin sıcaklığa bağlı olarak farklı çözünürlük davranışı göstermesinden kaynaklanmaktadır. Örneğin su sistemine bir çözünen madde eklendiği zaman daha karmaşık moleküler etkileşimler gerçekleşebilmekte ve geniş sıcaklık aralığında farklı çözünürlük eğilimi gözlemlenebilmektedir. Bileşiklerin çoğunda 150 °C'ye kadar doğrusal bir çözünürlük artışı gözlenirken 150 °C'nin üzerinde çözünürlük daha da artmaktadır (Carr vd., 2011). Aynı eğilim bu çalışmadaki sonuçlarla da doğrulanmıştır. Çalışmada elde edilen deneysel çözünürlük verileri Çizelge 4.11'de özetlenmiştir. Çizelge 4.11 incelendiğinde, IBP'nin deneysel mol fraksiyon çözünürlüğünde sıcaklık artışıyla orantılı bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklık 298 K'den 423 K (150 °C)'e yükseltildiğinde, çözünürlük 2700 kat artış gösterirken, 473 K'e yükseltildiğinde IBP'nin çözünürlüğü toplamda 10600 kattan fazla artış göstermiştir. Çözünürlüğün artması, su ve IBP'nin oksijenli yan grupları arasındaki hidrojen bağına atfedilebilmektedir. Karasek vd., (2009) çözünen moleküllerdeki oksijen varlığının, çözünen madde ile su arasında hidrojen bağlarının oluşmasına izin verdiğini ve oksijenli bileşiklerin nispeten yüksek çözünürlüğünün nedeninin bu olduğunu öne sürmüştür. Su moleküllerindeki hidrojen bağları artan sıcaklıkla giderek zayıflamakta, bu da su ve çözünen moleküller arasında hidrojen bağlarının oluşmasına izin vermektedir. Bu nedenle, oksijenli bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüğünün oksijensiz bileşiklerden daha yüksek olması beklenmektedir.

Çizelge 4.11. İbuprofenin subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.

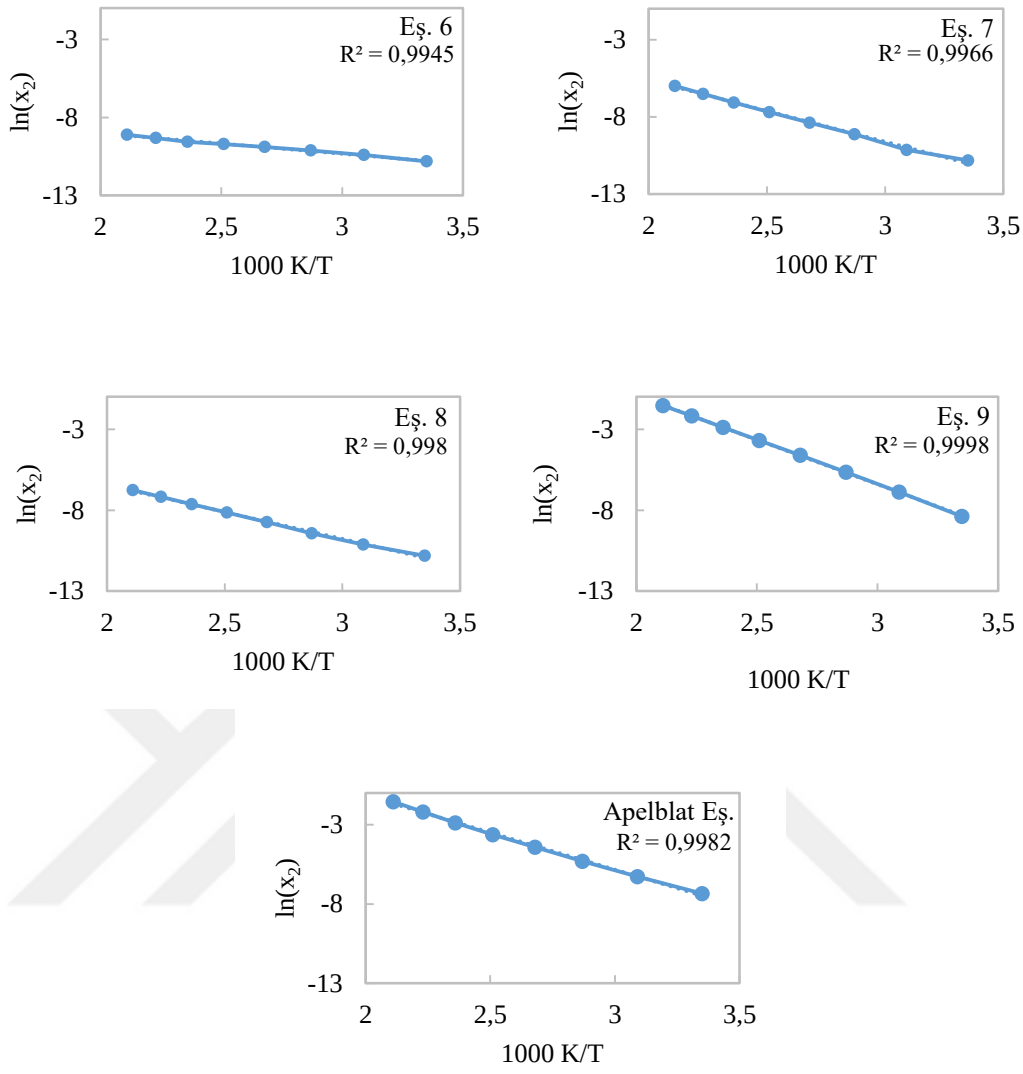
10^3x_2											
T/K ± 1	Deneysel (x_2^a±sd^b)	Eş. 1	Eş. 2	Eş. 3	Eş. 4	Eş. 5	Eş. 6	Eş. 7	Eş. 8	Eş. 9	Apelblat Eş.
298	0,02± 0,00	0,02	0,02	0,003	0,09	0,02	0,02	0,02	0,02	0,23	0,64
323	0,80± 0,10	0,04	0,04	0,008	0,42	0,09	0,03	0,04	0,04	1,02	1,89
348	2,96± 0,42	0,08	0,09	0,026	1,63	0,39	0,04	0,11	0,08	3,50	4,97
373	11,80± 1,06	0,15	0,19	0,066	5,23	1,41	0,05	0,23	0,16	10,00	12,01
398	30,09± 2,43	0,27	0,47	0,149	14,5	4,23	0,06	0,46	0,29	24,90	26,88
423	55,10± 4,45	0,43	1,31	0,294	35,6	11,20	0,07	0,85	0,48	55,43	56,47
448	111,74±8,99	0,67	4,53	0,524	79,37	26,62	0,09	1,50	0,76	112,87	112,30
473	212,88±16,92	0,98	20,55	0,856	162,19	57,67	0,11	2,52	1,15	213,61	212,80

Standart sapmalar ± işaretleri ile belirtilmiştir. [a] Üçlü ölçümlere dayanmaktadır, [b] Ortalamanın standart sapmasıdır. Eş. 1-8 mevcut çözünürlük tahmin modellerini ifade etmektedir.

Çözünürlüğün sıcaklığa bağlılığı yine Şekil 4.7'de de gösterilmiştir. Modellerin çoğu için $\ln(x_2)$ – 1000 K/T arasında iyi bir korelasyon olduğu belirlenmiş ve Eş. (2) hariç korelasyon katsayısı, R^2=0,95'ten daha yüksek olarak hesaplanmıştır. Ek olarak, çalışılan sıcaklık aralığında IBP'nin çözünme entalpisinin pozitif değerli ve çözünme sürecinin endotermik olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, artan sıcaklık ile çözünürlüğün arttığını ve çözünen-çözücü molekülleri arasındaki etkileşimlerin daha güçlü olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.7. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen IBP çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.



Şekil 4.7 (devam). Mevcut modeller tarafından tahmin edilen IBP çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.

4.3.1 İbuprofenin çözünürlük tahmin modelleri

İbuprofenin subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için Miller ve arkadaşlarının (1998b) apolar katı organik bileşiklerin çözünürlüğünü tahmin etmek için geliştirdiği modeller kullanılmıştır. Çizelge 4.11'den de görüldüğü gibi yapılan hesaplamalar sonucunda hem düşük sıcaklıklarda hem de yüksek sıcaklıklarda deneysel verilerle uyumlu tahminler elde edilememiştir. Ardından alkilbenzenler Eş. 3, (Mathis vd., 2004); gallik asit, kateşin ve protokatekuik asit Eş. 5, (Srinivas vd., 2010); parabenler Eş. 6, (Kapalavavi vd., 2014); parasetamol Eş. 7, (Emire vd., 2016) ve 5-Florourasil için geliştirilen Eş. 8, gibi bazı katı ve sıvı organik

bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüklerini tahmin etmek ve daha iyi sonuç almak için önerilen çeşitli modeller IBP'nin çözünürlüğünü tahmin etmek için kullanılmıştır. Deneysel çalışmadan elde edilen çözünürlük verileri ile bu tahmin modellerinden hesaplanan değerler karşılaştırılmış ve hiçbirinin IBP'nin çözünürlüğünü makul bir şekilde tahmin edemediği gözlenmiştir (Çizelge 4.11).

Son olarak Kayan ve arkadaşlarının (2010), benzoik asit ile salisilik asitin çözünürlüğünü tahmin etmek için geliştirdiği Eşitlik 2.8 (Eş. 4) kullanılmıştır.

$$\ln x_2(T) = (1.85\frac{T_o}{T} - 1)\ln x_2(T_o) \tag{2.8}$$

Modelde (Eş. 4), düşük sıcaklık aralığında hesaplanan değerler deneysel verilerden sapma göstermiştir ancak daha yüksek sıcaklıklarda elde edilen sonuçlar deneysel verilere benzer değerler vermiştir. Daha tutarlı bir tahmin elde etmek adına suyun dielektrik sabitinin artan sıcaklık ile azalması sonucu çözme gücünün artması göz önünde bulundurularak bu modele (Eş. 4) suyun dielektrik sabiti eklenmiş ve Eşitlik 4.6'da (Eş. 9) gösterilen tahmin modeli geliştirilmiştir.

$$\ln x_2(T) = (1.85\frac{T_o}{T} - 1)\ln x_2(T_o) + \left(\frac{\varepsilon_{(T)}}{\varepsilon_{(T_o)}}\right)^{T/T_o} \tag{4.6}$$

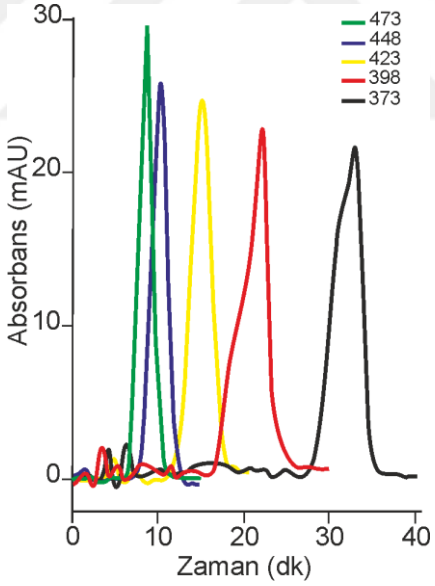
Modifiye edilmiş bu modelin Çizelge 4.11'de gösterildiği gibi deneysel olarak elde edilen verilere benzer hesaplanmış değerler verdiği gözlemlenmiş ve RMSD değeri $2{,}01\times10^{-3}$ olarak hesaplanmıştır. Böylece bu model IBP'nin subkritik sudaki çözünürlüğü için makul bir öngörücü olmuştur.

İbuprofenin subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için Eşitlik 4.2'de yer alan Modifiye Apelblat denklemi de kullanılmıştır. Eşitlikteki A, B ve C değerlerini belirlemek için çoklu doğrusal regresyon yapılmıştır. Bu değerlerden A = -50,3797; B = -1529,92 ve C = 8,45367 olarak hesaplanmıştır. RMSD değeri $1{,}51\times10^{-3}$'dir. Modifiye Apelblat denklemi ile hesaplanan çözünürlük değerleri, yüksek sıcaklıklarda elde edilen deneysel değerlerle benzer sonuçlar verirken düşük sıcaklıklardaki deneysel veriler ile uyum göstermemiştir. Değerlerin küçük olması hatayı önemli ölçüde artırmıştır. Ancak denklemden elde edilen değerler genel olarak IBP'nin deneysel değerlerinin korelasyonu için uygun bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Bu nedenle düşük sıcaklıktaki tutarsızlıkların, modelin uygulanabilirliğine çok fazla etki etmediği belirtilmiştir.

4.3.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile ibuprofenin kromatografik tayini

İbuprofenin kromatografik tayini Zorbax SB Phenyl (4,6 x 150 mm, 5 µm) kolon ile hareketli faz olarak saf su – asetonitril – orto-fosforik asit (OPA) (79:20:1) karışımı kullanılarak izokratik elüsyon sisteminde, 373 – 473 K sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Denemeler sırasında düşük sıcaklıklarda suyun elüsyon gücünün yetersiz kalması sonucu kromatografik verimi artırmak için sıcaklığa ek olarak saf su yanında %20 oranında asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca hareketli fazın pH'ını ayarlamak ve IBP'nin pik simetrisini geliştirmek için de karışıma OPA eklenmiştir. Ardından enjeksiyon hacmi, 10 µL, analit konsantrasyonu 50 mg/kg ve UV detektörü 222 nm olarak ayarlanmış ve 1,0 – 1,4 mL aralığında değişen hareketli faz akış hızlarında IBP tayin edilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki IBP kromatogramları.

İbuprofenin alıkonma süresi, hem artan sıcaklıkla hem de eklenen asetonitril miktarıyla suyun polaritesindeki azalmadan dolayı kısalmıştır. Ayırma kalitesinin, düşük sıcaklıkta yetersiz kalırken yükselen sıcaklıkla arttığı tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıkta IBP'nin sabit faza olan ilgisinden dolayı güçlü tutunduğu ve hareketli fazın elüsyon gücünün yetersiz kalmasıyla alıkonma süresinin uzadığı düşünülmüştür. Ek olarak bu durum kapasite faktörünün düşük sıcaklıklarda (k'>10) oldukça büyük

değerler vermesiyle de doğrulanmıştır. IBP'nin kromatografik parametrelerine hareketli faz bileşiminin ve sıcaklığın etkisi Çizelge 4.12'de de gösterilmiştir.

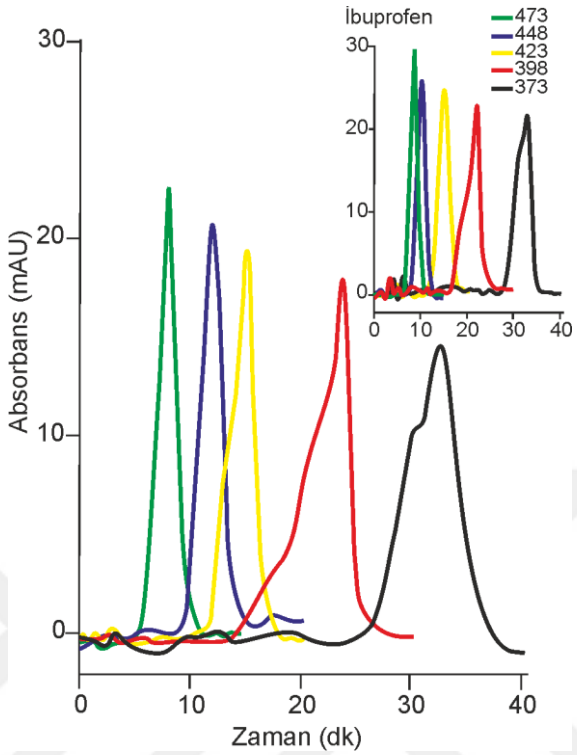
Çizelge 4.12. IBP'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa ve hareketli faz bileşimini bağlı olarak değişmesi.

T (K)	Akış Hızı (mL/dk)	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü	Asimetri Faktörü	Pik Genişliği ($W_{0.5}$)	Tabaka Sayısı
İbuprofen						
373	1,00	33,27	131,60	0,81	4,18	351
398	1,10	22,44	88,75	0,84	3,36	247
423	1,20	15,50	61,00	0,90	2,41	229
448	1,30	11,18	43,71	0,94	1,90	192
473	1,40	8,04	31,15	0,96	1,49	161
Brufen®						
373	1,00	33,34	131,87	0,78	4,27	338
398	1,10	22,50	88,98	0,81	3,48	231
423	1,20	15,57	61,27	0,88	2,63	194
448	1,30	11,23	43,90	0,90	1,99	176
473	1,40	8,10	31,38	0,93	1,65	133

Analiz süresinin artan sıcaklık ile azaldığı ancak 373 K ve 398 K'deki tayin için yeterli olmadığı belirtilmiştir. Analiz süresinin uzun olması kullanılan hareketli faz miktarının da fazla olmasına neden olacağından hem kimyasal madde sarfiyatı hem de çevresel açıdan dezavantaj oluşturmuş ve kromatografik tayin için istenilen bir durum olmamıştır. Ancak 423 K ve sonrasında yükselen sıcaklık ile artan akış hızı analiz süresini kısaltmış ve gelişen pik simetrisiyle düşük sıcaklıklara göre başarılı bir tayin gerçekleştirilmiştir.

Nonsteroid antienflamatuar ilaç grubundan IBP'nin HTLC'de tayin edilmesinin ardından bu etken maddeyi içeren bir ticari ilaç örneğinin de tayini gerçekleştirilmiştir. Analiz için seçilen ve Abbott İlaç firması tarafından üretilen Brufen® adlı ticari ilaçtaki tabletlerden birinin (600 mg IBP) yarısı alınıp toz haline getirilmiş ve 50 mL'lik falkon tüpe konmuştur. Ardından tüpe su eklenmiş ve 30 dk boyunca ultrasonik banyoda tutularak ilacın çözünmesi sağlanmıştır. Çözünme tamamlandıktan sonra 0.45 μm gözenek çapına sahip bir filtre yardımıyla çözelti süzülmüş ve enjeksiyona (50 mg/kg IBP) hazır hale getirilmiştir. Tablet ilaçlarda bulunan IBP'nin tayini, önceden belirlenen kromatografik tayin şartlarıyla yüksek

sıcaklık sıvı kromatografisinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Brufen® kromatogramları.

Ticari ilaç örneğinden elde edilen kromatogramlar incelendiğinde, ilacın da IBP tayinine benzer sonuçlar verdiği ve elüsyon sırasında ilaç örneğinden kaynaklanabilecek ekstra bir pikin veya herhangi bir parçalanma ürününün gözlenmediği belirtilmiştir. Ek olarak Çizelge 4.12'ye göre, verilen kromatografik parametrelerden artan sıcaklıkla azalan alıkonma süresi ile gelişen pik simetrisine rağmen yine kolon etkinliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçta, sıcaklığın tayin üzerinde etkin bir parametre olduğu ve IBP etken maddesini içeren ticari ilacın da HTLC ile başarılı bir şekilde analiz edilebileceği gösterilmiştir.

4.4 Flukonazolün Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi

Subkritik suyun fizikokimyasal özellikleri ortam sıcaklığındaki sudan çok farklıdır çünkü suyun moleküler kinetik enerjisi sıcaklıkla artmakta, hidrojen bağı ile birlikte su molekülleri arasındaki mesafede önemli bir değişim meydana gelmektedir. Hidrojen bağ kuvvetindeki değişimler, dielektrik sabitine yansımaktadır. Suyun sıcaklığının artması hidrojen bağı gücünü zayıflatarak suyun dielektrik sabiti değerini

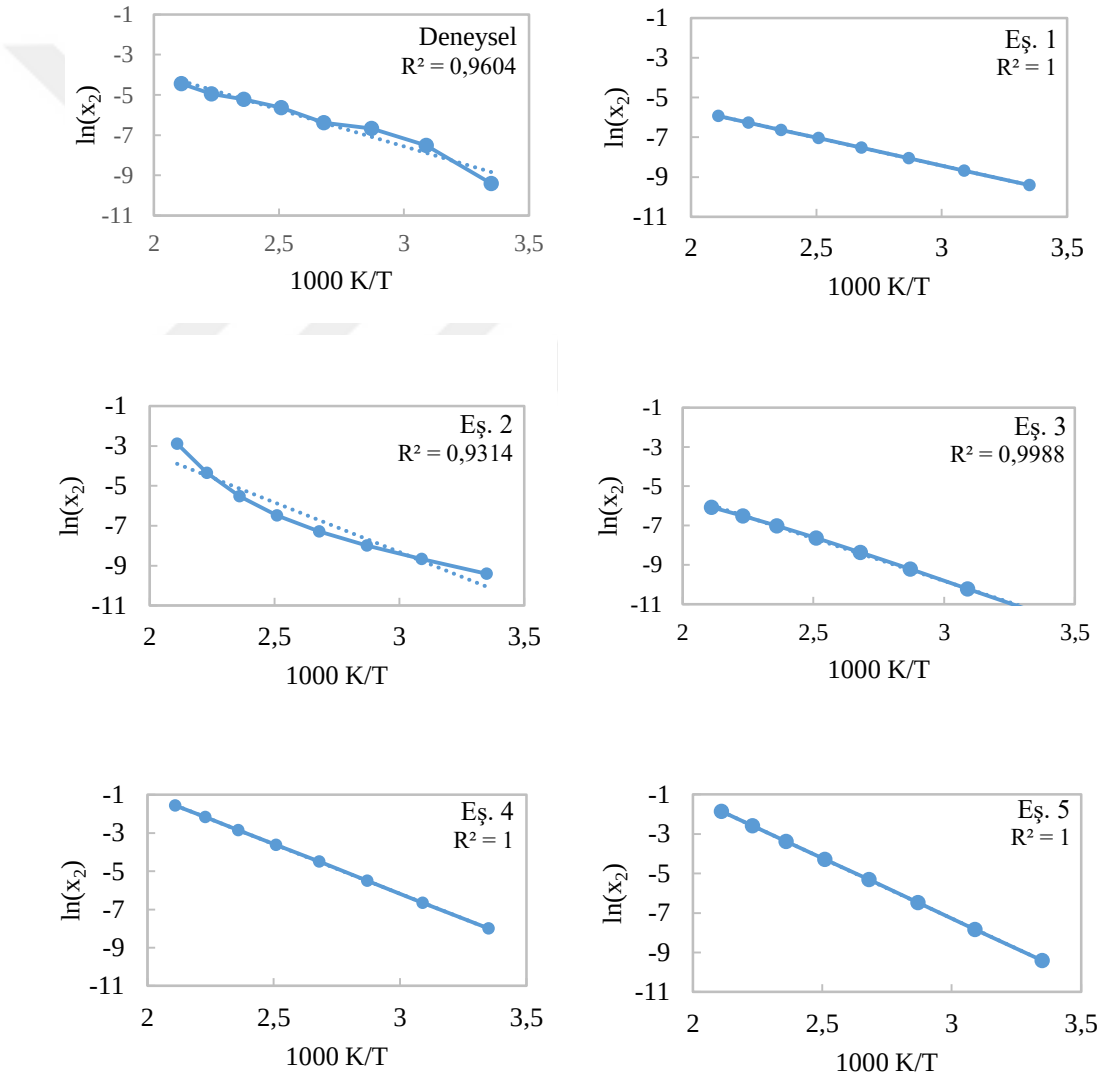
azaltmaktadır. Bu etkiler sayesinde hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğü artmaktadır (Prini vd., 1991; Nakahara vd., 2001; Caffarena ve Grigera, 2004). Literatürde belirtildiği gibi bu çalışmada da FLC'nin subkritik sudaki çözünürlüğü sıcaklık artışıyla birlikte artmış ve böylece sıcaklığın çözünürlük üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışılan sıcaklık aralığında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Flukonazolün subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.

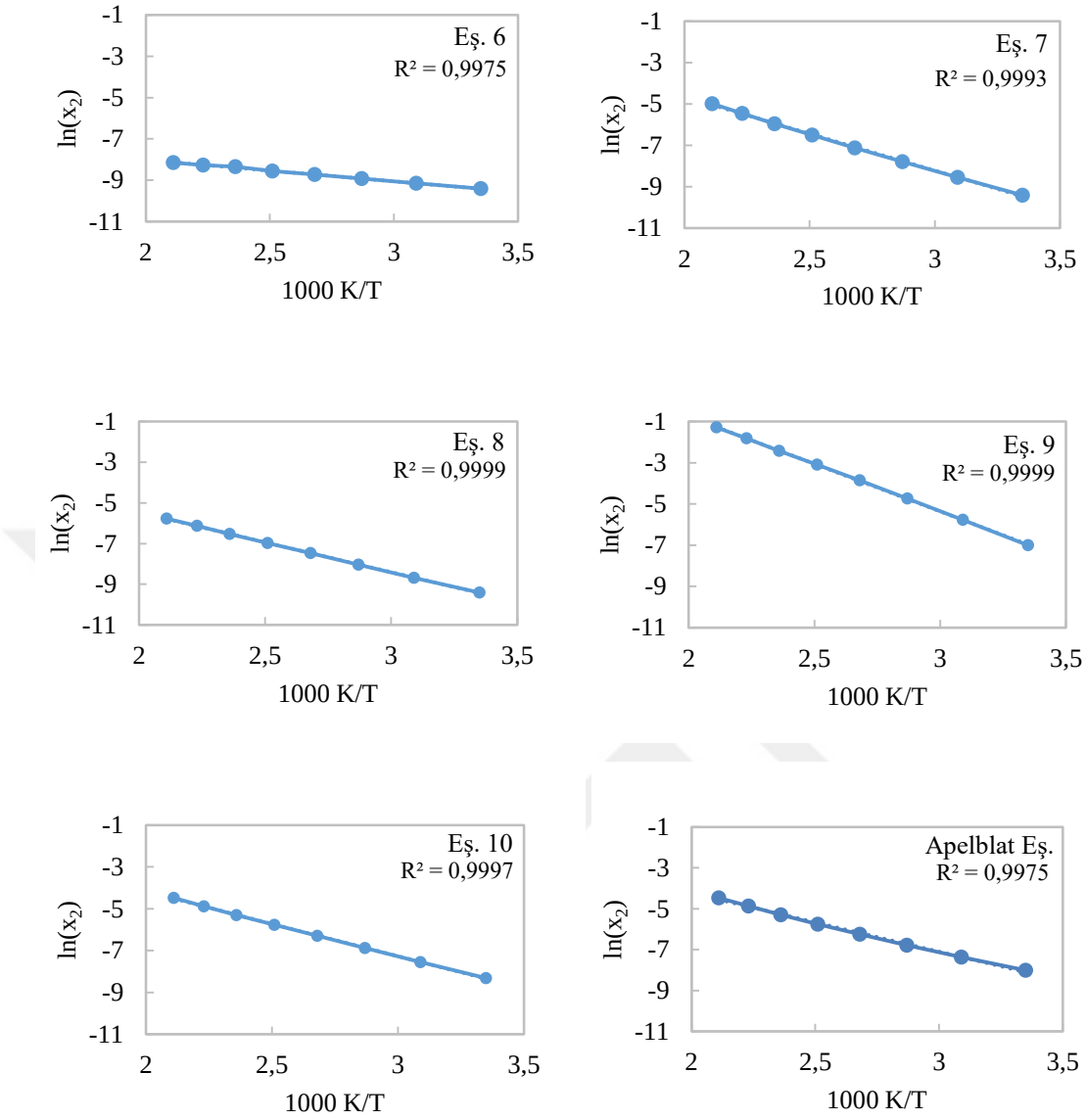
10^3x_2												
T/K ± 1	Deneysel ($x_2^a \pm sd^b$)	Eş. 1	Eş. 2	Eş. 3	Eş. 4	Eş. 5	Eş. 6	Eş. 7	Eş. 8	Eş. 9	Eş. 10	Apelblat Eş.
298	0,08± 0,01	0,08	0,08	0,01	0,33	0,08	0,08	0,08	0,08	0,91	0,24	0,33
323	0,54± 0,06	0,17	0,17	0,04	1,29	0,40	0,11	0,19	0,17	3,12	0,53	0,63
348	1,27± 0,17	0,32	0,34	0,10	4,09	1,53	0,13	0,41	0,32	8,78	1,03	1,14
373	1,68± 0,23	0,54	0,69	0,23	11,12	4,95	0,16	0,81	0,57	21,24	1,85	1,94
398	3,54± 0,49	0,87	1,53	0,48	26,63	13,79	0,19	1,49	0,93	45,66	3,12	3,18
423	5,40± 0,72	1,32	3,99	0,89	57,56	34,03	0,24	2,58	1,45	89,39	4,99	5,03
448	7,05± 0,83	1,91	12,93	1,49	114,13	75,92	0,26	4,27	2,17	162,31	7,64	7,70
473	11,73± 1,06	2,66	55,44	2,31	210,52	155,61	0,29	6,80	3,10	277,26	11,31	11,50

Standart sapmalar ± işaretleri ile belirtilmiştir. [a] Üçlü ölçümlere dayanmaktadır, [b] Ortalamanın standart sapmasıdır. Eş. 1-8 mevcut çözünürlük tahmin modellerini ifade etmektedir.

Çizelge 4.13'ten görüldüğü gibi FLC'nin deneysel mol fraksiyon çözünürlüğünde sıcaklık artışı ile IBP'nin mol fraksiyon çözünürlüğüne benzer orantılı bir artış gözlenmiştir. Sıcaklık 298 K'den 473 K'e yükseltildiğinde FLC'nin çözünürlüğü yaklaşık olarak 147 katlık artış göstermiştir. Çözünürlüğün sıcaklığa bağlılığı Şekil 4.10'da da ayrıca gösterilmiştir. Modellerin çoğu için $\ln(x_2)$ ve 1000 K/T arasında iyi bir korelasyon vardır, Eş. (2) dışında korelasyon katsayısı, R^2=0,96'dan daha yüksektir. Çalışılan sıcaklık aralığında, FLC'nin çözünme entalpisinin pozitif değerli ve çözünme sürecinin endotermik olduğu belirlenmiştir. Böylece, artan sıcaklık ile çözünürlüğün arttığı ifade edilmiştir.



Şekil 4.10. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen FLC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.



Şekil 4.10 (devam). Mevcut modeller tarafından tahmin edilen FLC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.

4.4.1 Flukonazolün çözünürlük tahmin modelleri

Flukonazolün subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için bazı katı ve sıvı organik bileşiklerin çözünürlüklerini tahmin etmek amacıyla geliştirilen mevcut 7 model ile 5-FLU ve IBP için önerilen tahmin modelleri kullanılmıştır. Çizelge 4.13'ten de görüldüğü gibi yapılan hesaplamalar sonucunda deneysel verilerle uyumlu tahminler elde edilememiştir. Deneysel veriler ile daha uyumlu sonuçlar elde etmek için sıcaklık artışı ile dielektrik sabitinin değişmesi ve subkritik şartlardaki çözünürlüğü değiştirmesinden dolayı mevcut modele (Eş. 1) dielektrik

sabiti eklenmiş ve Eşitlik 4.7 (Eş. 10) geliştirilmiştir (Eşitlik 4.7 çizelgelerde ve şekillerde Eş. 10 olarak ifade edilmiştir).

$$\ln x_2(T) = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + \ln\left(\frac{\varepsilon_{T_o}}{\varepsilon_T} + 2\right) \quad (4.7)$$

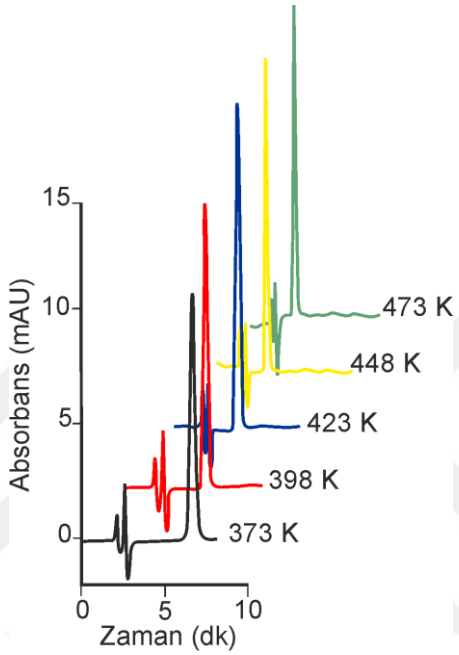
Modifiye edilmiş bu modelin Çizelge 4.13'te gösterildiği gibi deneysel olarak elde edilen verilere benzer hesaplanmış değerler verdiği gözlemlenmiştir (Eş. 10). Hatayı göstermek ve modeli değerlendirmek için RMSD değeri hesaplanmış ve $3{,}50\times10^{-4}$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak bu model, FLC'nin subkritik sudaki çözünürlüğünün tahmini için makul bir öngörücü olarak belirlenmiştir.

Flukonazolün subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için Eşitlik 4.2'de yer alan Modifiye Apelblat denklemi de kullanılmıştır. Eşitlikteki A, B ve C değerlerini belirlemek için çoklu doğrusal regresyon yapılmıştır. Bu değerlerden A = -40,22, B = -615,25 ve C = 6,016 olarak hesaplanmıştır. RMSD değeri $3{,}38\times10^{-3}$'tür. Çizelge 4.13 incelendiğinde, FLC'nin Modifiye Apelblat denklemi ile hesaplanan mol fraksiyon çözünürlük değerlerinin, yüksek sıcaklıklardaki deneysel değerlerle benzer sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda elde edilen deneysel değerlerle hesaplanan değerler uyum göstermemiş ve deneysel değerlerin küçük olması hatayı önemli ölçüde arttırmıştır. Genel olarak Apelblat denklemi ile hesaplanan çözünürlük değerleri, FLC'nin deneysel değerlerinin korelasyonu için uygun bulunmuştur. Düşük sıcaklıktaki tutarsızlıkların, modelin uygulanabilirliğini önemli ölçüde etkilemediği belirtilmiştir.

4.4.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile flukonazolün kromatografik tayini

Flukonazolün kromatografik tayini Zorbax SB Phenyl (4,6 x 150 mm, 5 μm) kolon ile izokratik elüsyon sisteminde gerçekleştirilmiştir. Denemeler sırasında 373 K sıcaklıkta suyun elüsyon gücünün yetersiz kalması sonucu kromatografik verimi artırmak için sıcaklığa alternatif olarak hareketli fazda saf su yanında değişen yüzdelerde (%10–20) asetonitril kullanılmıştır. Artan modifiyer organik çözücü miktarıyla kromatografik tayinin daha iyi gerçekleştiği gözlemlenmiş ancak çevresel etkileri ve yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen analizlerde suyun da organik çözücü gibi davrandığı göz önünde bulundurularak kullanılan modifiyer miktarı %10 oranında sabit tutulmuştur. Dolayısıyla FLC'nin kromatografik tayini hareketli faz

olarak saf su – asetonitril – orto-fosforik asit (OPA) (89:10:1) karışımı kullanılarak 373–473 K arasında değişen sıcaklıklarda ve 0,70–1,10 mL aralığında değişen hareketli faz akış hızlarında gerçekleştirilmiştir. OPA hareketli fazın pH'ını ayarlamak için kullanılmıştır. Numune enjeksiyon hacmi, 10 µL, analit konsantrasyonu 50 mg/kg ve UV detektörü 260 nm olarak ayarlanmıştır. Şekil 4.11'de görüldüğü gibi, FLC tüm sıcaklıklarda başarılı bir şekilde tayin edilmiştir.



Şekil 4.11. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki FLC kromatogramları.

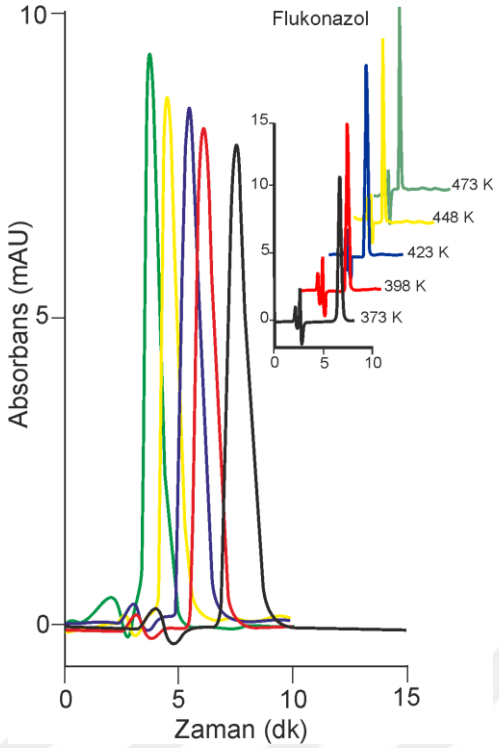
Yüksek sıcaklık ve asetonitrilin birlikte kullanılması sonucu azalan polarite ve viskozite ile FLC'nin difüzyon hızı ve kütle transferi artmıştır. Böylece sistem geri basıncının azaltılmasıyla yüksek akış hızı uygulanmış ve FLC'nin alıkonma süresinin 8,09 dakikadan 3,18 dakikaya düşürülmesi sağlanmıştır. Ayrıca FLC'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi Çizelge 4.14'te de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde, artan sıcaklıkla kapasite faktörünün azaldığı ve uygun değerlerin elde edildiği gözlenmiştir. Bu durum, alıkonma süresinin azalmasıyla da doğrulanmıştır.

Çizelge 4.14. FLC'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa bağlı olarak değişmesi.

T (K)	Akış Hızı (mL/dk)	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü	Asimetri Faktörü	Pik Genişliği ($W_{0,5}$)	Tabaka Sayısı
Flukonazol						
373	0,70	8,09	31,35	0,97	0,73	680
398	0,80	5,85	22,40	0,97	0,51	729
423	0,90	4,50	17,00	0,99	0,38	777
448	1,00	3,62	13,47	0,98	0,30	807
473	1,10	3,18	11,73	1,00	0,25	896
Fluzole®						
373	0,70	8,17	31,68	0,94	0,80	578
398	0,80	5,92	22,64	0,95	0,62	505
423	0,90	4,61	17,18	0,96	0,53	419
448	1,00	3,70	13,69	0,96	0,44	392
473	1,10	3,25	11,90	0,97	0,40	366

FLC'nin alıkonma süresinin yanında pik genişliğinin de azaldığı tespit edilmiştir. Bütün bu etkilerin birleşmesi ile yüksek sıcaklıkta artan çözünürlükle keskin, simetrik pikler elde edilmiş ve bu parametrelerin kolon verimini olumlu yönde etkileyeceği belirtilmiştir. Sonuç olarak, yüksek sıcaklık ve su-asetonitril karışımının elüsyon gücü ile analiz süresinin kısaldığı ve kolon etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir.

Antifungal ilaç grubundan triazol türevi FLC'nin kromatografik parametrelerinin belirlenmesinin ve HTLC şartlarında başarılı bir şekilde tayin edilmesinin ardından bu FLC etken maddesini içeren bir ticari ilacın da kalitatif olarak tayini gerçekleştirilmiştir. Kromatografik tayinde Bioforma İlaç firması tarafından üretilen Fluzole® adlı ticari ilaç kullanılmış ve kapsül şeklindeki ilaçlardan biri (150 mg FLC) alınıp 50 mL'lik falkon tüpe boşaltılmıştır. Ardından üzerine su eklenmiş ve ilacın vorteks yardımıyla 45 dakika iyi bir şekilde karıştırılıp çözünmesi sağlanmıştır. Oluşan çözelti 0,45 μm çaplı membran filtre yardımıyla süzülmüş ve seyreltilerek enjeksiyona (50 mg/kg FLC) hazır hale getirilmiştir. Kapsüllerde bulunan flukonazolun tayini daha önceden belirlenen kromatografik şartlar ile yüksek sıcaklık sıvı kromatografisinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Fluzole® kromatogramları.

Şekil 4.12'ye göre, ticari ilaç örneğinin artan sıcaklık ve eklenen asetonitril ile kısa sürede tayin edildiği belirtilmiştir. Elüsyon sırasında herhangi bir parçalanma ürünü veya ilaç örneğindeki diğer maddelerden kaynaklı ekstra bir pik gözlenmemiştir. Bununla birlikte, Çizelge 4.14'te verilen kromatografik parametrelerden FLC'ye göre ticari ilacın daha yayvan pik simetrisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak ticari ilaç örneğindeki FLC'nin de HTLC şartlarında bozulmadan hızlı ve başarılı bir şekilde tayin edildiği belirtilmiştir.

4.5 Essitalopram Okzalatın Subkritik Sudaki Çözünürlüğüne Sıcaklığın Etkisi

Organik bileşiklerin subkritik su şartlarındaki çözünürlüğünde, iki farklı etkin süreç (pozitif ısı – negatif ısı) rol oynamakta ve birbirine zıt etki yaratmaktadır (Bohon ve Claussen, 1951). Çözünürlükteki pozitif ısı (veya yürütücü kuvvet) suda kavitasyon oluşumu sırasında meydana gelen ısıdan, negatif ısı da hidrojen bağlarının çözünen molekülleri etrafındaki kafes ya da buzdağı şeklindeki yapılarından kaynaklanmaktadır (Shinoda, 1977). Kafes oluşumlarının etkin olduğu durumlarda, suyun sıcaklığının artması ile çözünürlük azalmaktadır. Benzer şekilde, kavitasyon oluşum ısısı, kafes oluşum ısısından fazla etkinse sıcaklığın artması ile çözünürlük artmaktadır. Çoğu literatür çalışmasında görülmektedir ki 160 ^{o}C ve üzerindeki

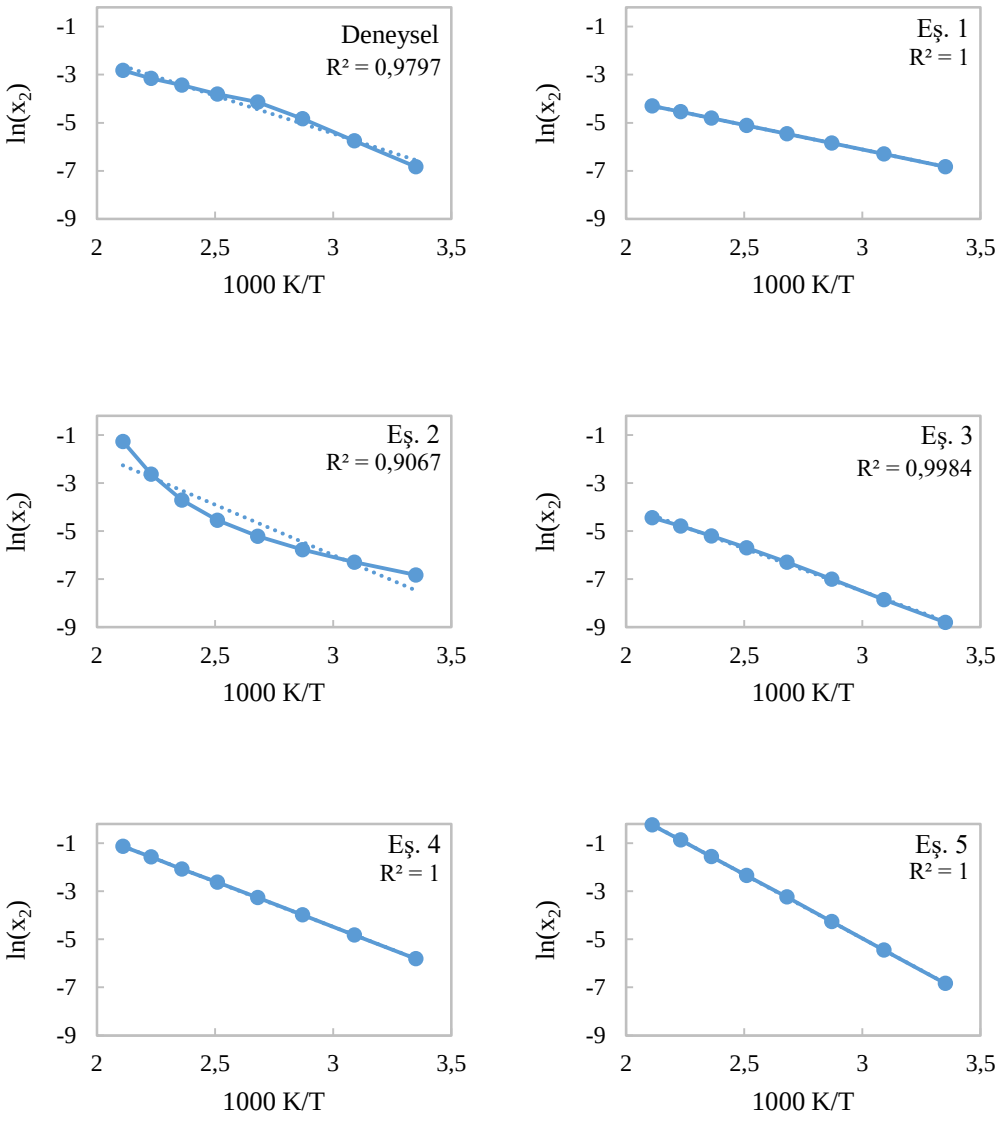
sıcaklıklarda apolar organik bileşiklerin çözünürlükleri önemli ölçüde artmıştır. Çözünürlükteki bu hızlı artış kavitasyon oluşum ısısının kafes oluşum ısısına göre oldukça etkin olduğunu ifade etmektedir (Carr vd., 2011). Literatürde belirtildiği gibi bu çalışmada da benzer eğilim gözlenmiştir. ESC'nin subkritik sudaki çözünürlüğü sıcaklık artışıyla birlikte artmış ve çalışılan sıcaklık aralığında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.15'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.15. Essitalopram okzalatın subkritik sudaki deneysel mol fraksiyon çözünürlüğüne sıcaklığın etkisi.

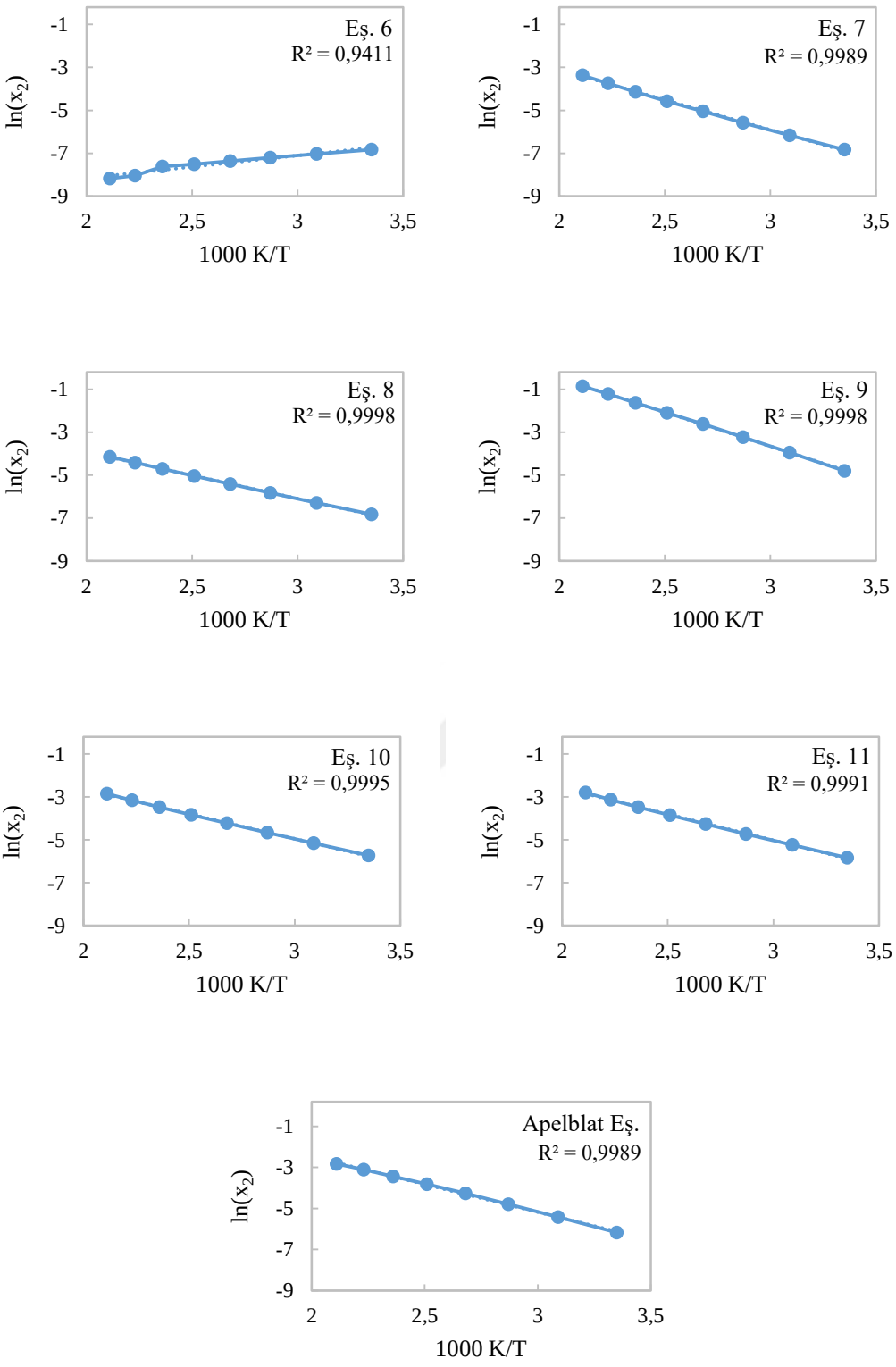
10^3x_2													
T/K ± 1	Deneysel ($x_2^a \pm sd^b$)	Eş. 1	Eş. 2	Eş. 3	Eş. 4	Eş. 5	Eş. 6	Eş. 7	Eş. 8	Eş. 9	Eş. 10	Eş. 11	Apelblat Eş.
298	1,08± 0,13	1,08	1,08	0,15	3,02	1,08	1,08	1,08	1,08	8,21	3,25	2,94	2,08
323	3,17± 0,37	1,84	1,86	0,39	8,03	4,31	0,88	2,10	1,85	19,40	5,74	5,30	4,42
348	8,00± 0,92	2,89	3,10	0,91	18,54	14,05	0,74	3,78	2,96	39,77	9,43	8,88	8,28
373	16,03± 1,77	4,28	5,43	1,85	38,27	39,08	0,63	6,40	4,47	73,13	14,61	14,06	14,02
398	22,13± 2,35	6,03	10,62	3,35	72,12	95,61	0,55	10,31	6,47	123,65	21,63	21,25	21,91
423	32,29± 3,12	8,15	24,67	5,51	126,12	210,43	0,49	15,95	9,00	195,86	30,84	30,99	32,07
448	42,73± 3,99	10,66	72,23	8,35	207,20	424,09	0,32	23,86	12,10	294,66	42,68	43,90	44,49
473	59,88± 4,91	13,56	282,79	11,78	323,02	793,68	0,28	34,69	15,80	425,41	57,67	60,83	59,04

Standart sapmalar ± işaretleri ile belirtilmiştir. [a] Üçlü ölçümlere dayanmaktadır, [b] Ortalamanın standart sapmasıdır. Eş. 1-8 mevcut çözünürlük tahmin modellerini ifade etmektedir.

Çizelge 4.15 incelendiğinde ESC'nin deneysel mol fraksiyon çözünürlüğünde sıcaklık artışı ile orantılı bir artış gözlenmiştir. Sıcaklık 298 K'den 473 K'e yükseltildiğinde ESC'nin çözünürlüğü yaklaşık olarak 55 katlık artış göstermiştir. Çözünürlüğün sıcaklığa bağlılığı Şekil 4.13'te de ayrıca gösterilmiştir. Modellerin çoğu için $\ln(x_2)$ – 1000 K/T arasında iyi bir korelasyon vardır, Eş. (2) ve Eş. (6) dışında korelasyon katsayısı, R^2=0,97'den daha yüksektir. Deneysel sıcaklık aralığında ESC'nin çözünme entalpisinin pozitif değerli olduğu ve artan sıcaklık ile çözünürlüğünün arttığı belirlenmiştir. Bu durum, çözücü-çözünen etkileşimlerinin çözücü-çözücü etkileşimlerinden daha zayıf olduğunu düşündürmüştür.



Şekil 4.13. Mevcut modeller tarafından tahmin edilen ESC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.



Şekil 4.13 (devam). Mevcut modeller tarafından tahmin edilen ESC çözünürlüğünün sıcaklığa bağlılığı.

4.5.1 Essitalopram okzalatın çözünürlük tahmin modelleri

Essitalopram okzalatın subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için ilk olarak Miller ve arkadaşlarının (1998b) apolar katı organik bileşiklerin çözünürlüğünü tahmin etmek için geliştirdiği Eş. 1 ve Eş. 2 kullanılmış ancak Çizelge 4.15'te de gösterildiği gibi yapılan hesaplamalar sonucunda hem düşük sıcaklıklarda (373 K'ya kadar) hem de yüksek sıcaklıklarda deneysel verilerle uyumlu tahminler elde edilememiştir.

Ardından ESC'nin çözünürlüğünü tahmin etmek için yine bazı katı ve sıvı organik bileşiklerin çözünürlüklerini tahmin etmek amacıyla geliştirilen mevcut 5 model ile son olarak 5-FLU, IBP ve FLC için önerilen tahmin modelleri kullanılmıştır. Deneysel çalışmadan elde edilen veriler ile bu tahmin modellerinden hesaplanan değerler karşılaştırılmış ve FLC için önerilen model dışında diğer hiçbir modelin ESC'nin mol fraksiyon çözünürlüğünü makul bir şekilde tahmin edemediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). FLC etken maddesi için geliştirilen modelde de (Eş. 10), düşük sıcaklık aralığındaki hesaplanan değerler deneysel verilerden sapma göstermiş ancak daha yüksek sıcaklıklarda elde edilen sonuçlar deneysel verilere oldukça benzer değerler vermiştir. Düşük sıcaklıktaki değerler için de daha tutarlı bir tahmin elde etmek adına Eşitlik 4.8'de (Eş. 11) gösterilen tahmin modeli geliştirilmiştir.

$$\ln x_2 = \left(\frac{T_o}{T}\right)\ln x_2(T_o) + \left(\frac{\varepsilon_{(T_o)}}{\varepsilon_{(T)}}\right)^{1/2} \qquad (4.8)$$

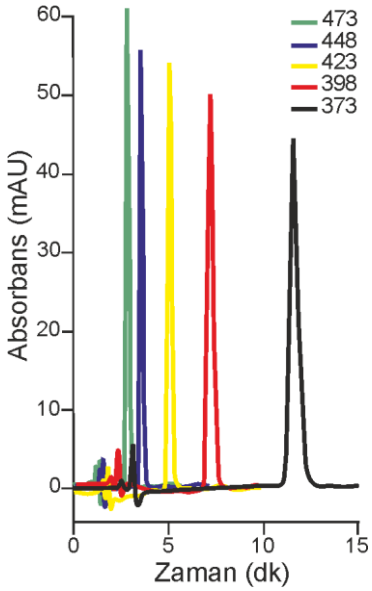
Modifiye edilmiş bu modelin Çizelge 4.15'te gösterildiği gibi deneysel olarak elde edilen verilere benzer hesaplanmış değerler verdiği gözlemlenmiştir. RMSD değeri $1{,}47\times10^{-3}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sayede geliştirilen model ESC'nin subkritik sudaki çözünürlüğü için makul ve tutarlı bir öngörücü olmuştur.

Essitalopram okzalatın subkritik sudaki mol fraksiyon çözünürlüğünü tahmin etmek için ayrıca Modifiye Apelblat denklemi de kullanılmıştır (Eşitlik 4.2). Eşitlikteki A, B ve C değerlerini belirlemek için çoklu doğrusal regresyon yapılmış ve A= 26,28; B= -3949,13 ve C= -3,371 olarak hesaplanmıştır. RMSD değeri $1{,}15\times10^{-3}$'dir. Modifiye Apelblat denklemi kullanılarak hesaplanan çözünürlük değerleri ile deneysel değerlerin karşılaştırılması yapılmış ve denklemin makul bir korelasyon ile

tutarlı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Sonuçta, Apelblat denkleminin de ESC'nin subkritik sudaki çözünürlük tahmini için iyi bir öngörücü etki sağladığı belirtilmiştir.

4.5.2 Yüksek sıcaklık sıvı kromatografisi ile essitalopram okzalatın kromatografik tayini

Essitalopram okzalatın kromatografik tayini Zorbax SB Phenyl (4,6 x 150 mm, 5 μm) kolon ile izokratik elüsyon sisteminde gerçekleştirilmiştir. Yüksek sıcaklıkta yapılan denemeler sırasında suyun elüsyon gücünün yetersiz kaldığı tespit edilmiş ve kromatografik verimi artırmak için hareketli faza organik çözücü eklenmiştir. Modifiyer organik çözücü olarak değişen yüzdelerde (%10–20) asetonitril ve metanol kullanılmıştır. Artan organik çözücü miktarıyla kromatografik tayinin daha iyi gerçekleştiği gözlemlenmiş ancak hem kimyasal madde sarfiyatı hem de çevresel etkileri nedeniyle kullanılan modifiyer miktarı maksimum %20 oranında sabit tutulmuştur. Denemeler sonucunda, sabit fazın ve hareketli faz bileşiminin, ESC'nin kromatografik davranışını etkilediği ve metanolün elüsyon gücünün asetonitrile oranla düşük olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla ESC'nin kromatografik tayini hareketli faz olarak saf su – asetonitril – orto-fosforik asit (OPA) (79:20:1) karışımı kullanılarak 373–473 K sıcaklık aralığında ve 0,70–1,50 mL aralığında değişen hareketli faz akış hızlarında gerçekleştirilmiştir. Hareketli fazın pH'ını ve pik simetrisini ayarlamak için OPA kullanılmıştır. Numune enjeksiyon hacmi 10 μL, analit konsantrasyonu 25 mg/kg ve UV detektörü 240 nm olarak ayarlanmıştır. Şekil 4.14'te görüldüğü gibi, ESC çalışılan tüm sıcaklıklarda başarılı bir şekilde tayin edilmiştir.



Şekil 4.14. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki ESC kromatogramları.

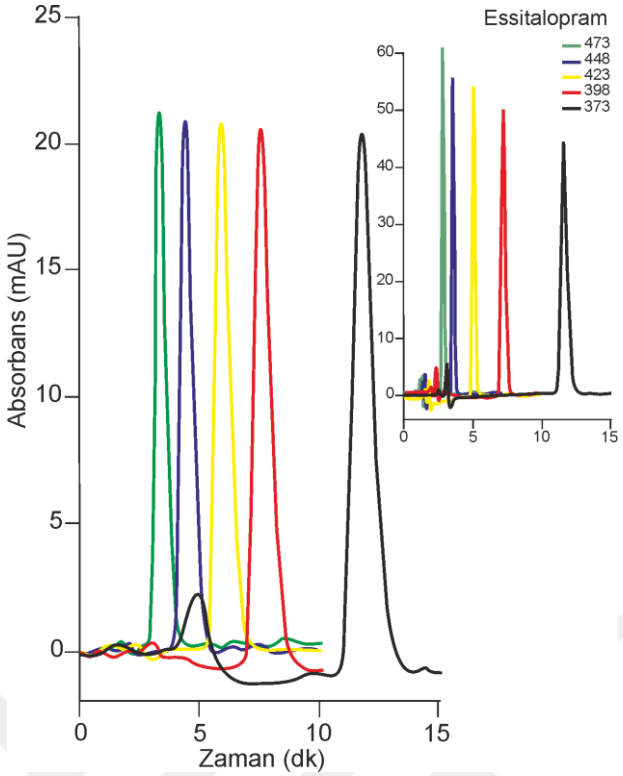
Şekil 4.14 incelendiğinde, ESC'nin alıkonma süresi, yüksek sıcaklık ile asetonitrilin birlikte kullanılması sonucu suyun polaritesindeki azalmadan dolayı kısalmıştır. Artan elüsyon gücü ile ESC piki, tüm sıcaklıklarda keskin ve simetriktir. Buna ek olarak, pik yüksekliğindeki iyileşmenin de ESC çözünürlüğündeki artıştan kaynaklandığı düşünülmüştür. Çizelge 4.16'da ESC'nin kromatografik parametrelerine hareketli faz bileşiminin ve sıcaklığın etkisi gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. ESC'nin kromatografik parametrelerinin sıcaklığa ve hareketli faz bileşimine bağlı olarak değişmesi.

T (K)	Akış Hızı (mL/dk)	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü	Asimetri Faktörü	Pik Genişliği ($W_{0,5}$)	Tabaka Sayısı
Essitalopram Okzalat						
373	0,70	11,67	45,66	0,96	0,86	1020
398	0,90	7,14	27,55	0,97	0,54	968
423	1,10	5,09	19,39	0,99	0,42	814
448	1,30	3,53	13,14	1,08	0,31	718
473	1,50	2,77	10,08	1,10	0,26	629
Citoles®						
373	0,70	11,84	45,99	0,94	0,98	809
398	0,90	7,54	28,07	0,97	0,77	531
423	1,10	5,30	20,60	0,99	0,65	368
448	1,30	3,75	13,53	1,09	0,57	240
473	1,50	2,98	10,49	1,12	0,48	213

Yüksek sıcaklık ile artan akış hızına ek olarak asetonitrilin gelişmiş elüsyon gücü ve yüksek sıkıştırılabilme özelliği sayesinde kısa sürede etkin analizlerin gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir. Bu durum, kapasite faktörünün azalması ve uygun değerlerin elde edilmesiyle de doğrulanmıştır. Sonuç olarak, sıcaklığın yanı sıra hareketli fazdaki organik çözücü miktarının da kromatografik analiz performansını etkileyen bir parametre olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, gelişen pik simetrisi yanında kolon etkinliğinin de artması beklenirken aksine azaldığı gözlemlenmiştir. Bu da kolonun yüksek sıcaklıklarda kararlı olmasına rağmen zamanla kolon etkinliğini kaybettiğini düşündürmüştür.

Antidepresan grubundan ESC'nin HTLC'de başarılı bir şekilde tayin edilmesi sonucu ESC etken maddesini içeren ve Abdi İbrahim İlaç firması tarafından üretilen Citoles® adlı bir ticari ilacın da tayini gerçekleştirilmiştir. Seçilen ticari ilaçtaki tabletlerden biri (5 mg ESC) alınıp toz haline getirilmiş ve 50 mL'lik falkon tüpe konmuştur. Ardından üzerine su eklenmiş ve falkon tüp 30 dk boyunca ultrasonik banyoda tutularak ilacın iyi bir şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Çözünme işlemi bittikten sonra 0.45 μm gözenek çapına sahip bir filtre yardımıyla çözelti süzülmüş ve enjeksiyona (25 mg/kg ESC) hazır hale getirilmiştir. Tablet ilaçlarda bulunan ESC'nin tayini, önceden belirlenen kromatografik tayin şartlarıyla yüksek sıcaklık sıvı kromatografisinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 4.15'te gösterilmiştir.



Şekil 4.15. HTLC ile elde edilen farklı sıcaklıklardaki Citoles® kromatogramları.

Şekil 4.15 incelendiğinde, ticari ilaç örneğinin de ESC'nin tayini gibi kısa sürede ve etkin bir şekilde analiz edildiği görülmüştür. Elüsyon sırasında ilaç örneğinden kaynaklı ekstra bir pik veya herhangi bir parçalanma ürünü gözlenmemiştir. Ek olarak Çizelge 4.16'da verilen kromatografik parametreler incelendiğinde, elde edilen piklerin artan sıcaklıkla gelişen pik simetrisine rağmen yine kolon etkinliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ticari ilaç örneğindeki ESC'nin de HTLC ile başarılı bir şekilde tayin edildiği belirtilmiştir.

4.6 Subkritik Şartlardaki Analitlerin ve Sabit Fazların Termal Kararlılığı

Subkritik sudaki organik bileşiklerin termal kararlılığının incelenmesi, subkritik şartlardaki araştırmaların hem temel hem de uygulamalı yönleri için büyük önem taşımaktadır (Yang ve Hildebrand, 2006). Bu anlamda, çalışılan bir organik bileşiğin subkritik suda bozulmasıyla, deneysel olarak belirlenen çözünürlük verileri yanlış ve yanıltıcı olabilmektedir. Yang ve Hildebrand (2006), fenantrenin subkritik sudaki termal kararlılığını araştırmıştır. Bu çalışmada iki seri deney yapılmış ve ilk aşamada fenantren ile subkritik su arasındaki kimyasal etkileşimler, belirlenen süre ve sıcaklıklarda ortama başka bir reaktif eklenmeden incelenmiştir. İkinci aşamada da fenantren–subkritik su çözeltisine %3 oranında hidrojen peroksit eklenmiş ve yüksek

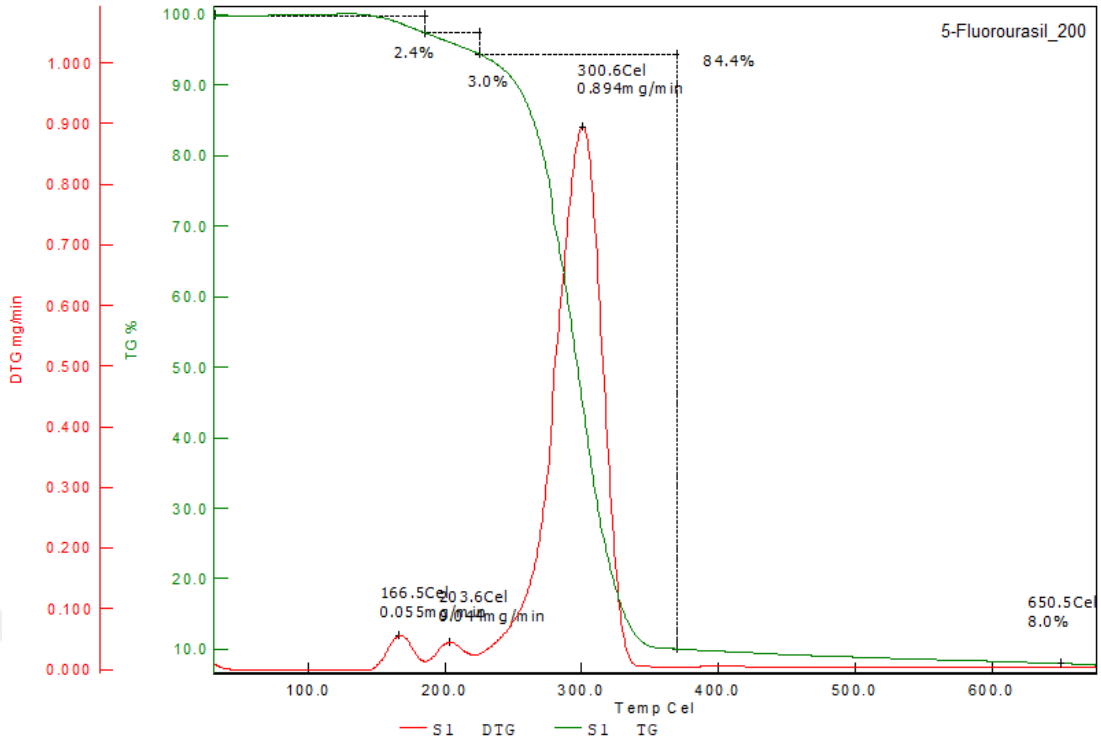
sıcaklıklarda fenantrenin oksidasyonu değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, ilk aşamada gerçekleştirilen ve daha yüksek miktarda (10 mg) fenantren kullanılan reaksiyonlar için bozulmuş fenantren yüzdesi, 100 °C'de %0; 200 °C'de %0,8 ve 350 °C'de %5,6 olarak tespit edilmiş ve termal bozulmanın ihmal edilebilir düzeyde olduğu belirtilmiştir. Ardından aynı işlem daha düşük miktarda (2,5 mg) fenantren kullanılarak gerçekleştirildiğinde bozulmuş fenantren yüzdesi, 100 °C'de %0; 200 °C'de %5,6 ve 350 °C'de %61,9 olarak tespit edilmiş ve termal bozulmanın önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, ikinci aşamada gerçekleştirilen ve %3 hidrojen peroksit çözeltisi ile daha yüksek miktarda fenantren kullanılan oksidasyon reaksiyonları için bozulmuş fenantren yüzdesi, 100 °C'de %0; 200 °C'de %16,2 ve 350 °C'de %100 olarak tespit edilmiştir. Aynı işlem daha düşük miktarda fenantren kullanılarak gerçekleştirildiğinde bozulmuş fenantren yüzdesi, 100 °C'de %0, 200 °C'de %99,2 ve 350 °C'de %100 olarak tespit edilmiş ve fenantrenin tamamen bozulduğu gözlemlenmiştir. Bu duruma oksidasyonun neden olduğu ve sudaki çözünmüş oksijenin subkritik suyun oksitleyici gücüne katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Sonuç olarak, hem sıcaklık hem de fenantren konsantrasyonu, subkritik su koşulları altında fenantrenin oksidasyonunda önemli rol oynamıştır.

Çalışılan maddelerin termal işlemler sonrasında bozunmaya uğrayıp uğramadığını değerlendirmek amacıyla yüksek sıcaklıklarda çözünürlük işlemine tabi tutulan etken maddeler önce HPLC'de analiz edilmiş ve elde edilen kromatogramları EK A'da verilmiştir. Kaydedilen kromatografik piklerin alıkonma sürelerinde kayda değer bir farklılaşmanın meydana gelmemesi ve pik simetrisisinde değişimlerin oluşmaması, çalışılan maddelerin bozunmaya uğramadığına dair kaba da olsa bir değerlendirme yapılmasına olanak tanımıştır. Ayrıca; etken maddelerin stabilitesinin bir diğer doğrulaması da termal analiz ile sağlanmış ve erime noktalarında önemli bir değişimin meydana gelmemiş olması bunu desteklemiştir.

Termal analiz yöntemleri, bir maddeye kontrollü bir sıcaklık programı uygulandığında, o maddenin veya reaksiyon ürünlerinin sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçüldüğü bir grup tekniğidir. Bu yöntemler, hem kalite kontrol işlemlerinde hem de sanayi ürünlerinin (ilaç, polimer, mineral, metal, alaşım vb.) araştırma faaliyetlerinde kullanılmaktadır. Termal analiz yöntemlerinden termogravimetri (TG), bir numunenin doğrusal hızda ısıtılarak kütlesinin sürekli ölçüldüğü bir tekniktir.

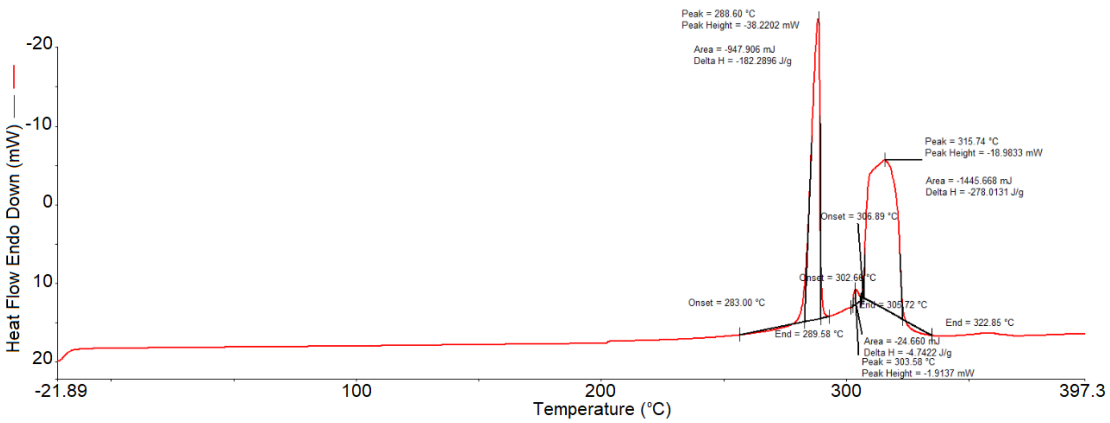
Sıcaklığa karşılık çizilen kütle değişiminin eğrisi orijinal numunenin, ara maddenin ve kalan maddenin bileşimi ve termal kararlılığı hakkında bilgi vermektedir (Leary ve Skoog, 1992). Bir diğer termal analiz yöntemi diferansiyel tarama kalorimetrisidir (DSC) ve bu yöntemde numune ısıtılırken, soğutulurken veya sabit bir sıcaklıkta tutulurken soğurulan ya da salıverilen ısı miktarı, sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Bu yöntem, ilaç etken maddelerinin erime noktasını, saflığını, camsı geçiş sıcaklığını ve termal bozulmasını belirlemek için ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Singh vd., 2009).

Tez kapsamında seçilen ilaç etken maddelerinin çalışılan yüksek sıcaklıktaki (200 °C) termal kararlılığını belirlemek için ilk olarak TG (EXSTAR SII TG/DTA 7300) analizi yapılmıştır. Bütün ölçümler, azot atmosferinde 2,5 – 5,0 mg aralığında numune kullanılarak 10 °C/dk ısıtma hızı ile 25–650 °C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ilk olarak 5-FLU'nun DTG eğrisi (Şekil 4.16) incelendiğinde, etken maddenin 166 ºC'ye kadar kararlı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 166 ºC ile 203 ºC'de düşük oranlarda kütle kayıplarının olduğu gözlenmiş ve bu termal bozulmaların ihmal edilebilir düzeyde olduğu belirtilmiştir. Ardından 203–370 ºC sıcaklık aralığında özellikle 300 ºC'de görülen maksimum pikle bir bozulmanın gerçekleştiği ve TG eğrisinde %84,4 oranında bir kütle kaybının olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16). Analiz sonunda da (650 °C'de) %8 oranında maddenin bozulmadan kaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.16. 5-Florourasilin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.

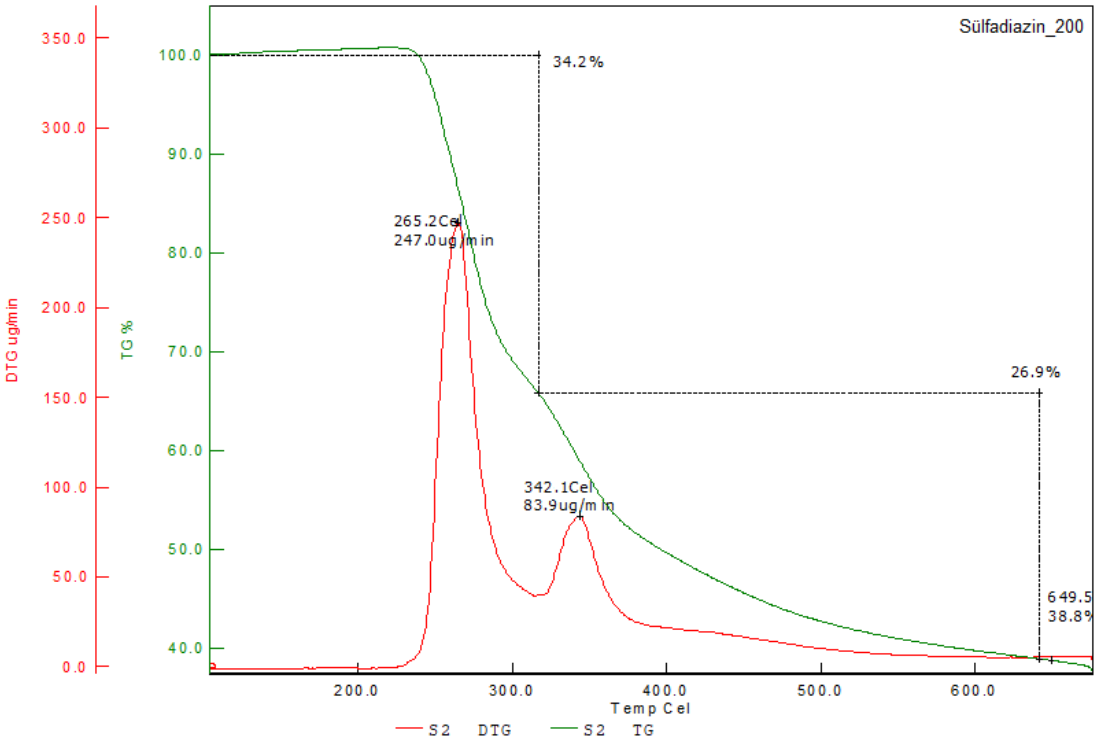
Ardından 5-FLU'nun ve çalışılan diğer ilaç etken maddelerinin termal kararlılığını desteklemek amacıyla DSC (Perkin Elmer DSC 400) analizi de yapılmıştır. Bütün ölçümler, azot atmosferinde (20 mL/dk) 2,5 – 5,0 mg aralığında numune kullanılarak 10 °C/dk ısıtma hızı ile -20–400 °C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. DSC termogramında, ısı akışındaki değişimlerden elde edilen endotermik veya ekzotermik pikler numunenin erime veya kristalizasyon sıcaklığını ifade etmektedir. 5-FLU'nun DSC termogramı (Şekil 4.17) incelendiğinde, etken maddenin erime noktasına (283 °C) kadar iyi bir termal kararlılık sergilediği görülmüştür.



Şekil 4.17. 5-Florourasilin termal analizinden elde edilen DSC termogramı.

288 °C'de gözlenen ekzotermik pikte 5-FLU'nun kristallendiği ve 300 °C'den sonra elde edilen ekzotermik pikin simetrisinden bozulmaya başladığı düşünülmüştür. TG termogramı ile DSC termogramı karşılaştırıldığında da sonuçların birbiriyle tutarlı olduğu ve termal bozulmaların 300 °C'de gerçekleştiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 5-FLU'nun çalışılan yüksek sıcaklıklarda oldukça kararlı olduğu belirtilmiştir.

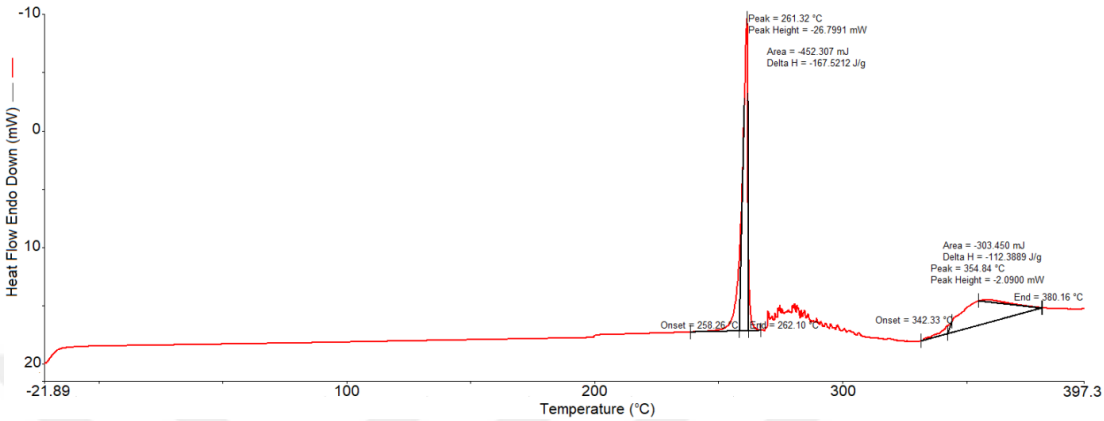
Sülfadiazinin termal kararlılığını belirlemek için elde edilen DTG eğrisi (Şekil 4.18) incelendiğinde, etken maddenin yaklaşık olarak 225 ºC'ye kadar kararlı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 225 – 320 ºC sıcaklık aralığında özellikle 265 ºC'de görülen maksimum pikte bir bozulmanın gerçekleştiği ve bu aralıktaki bozulmanın TG eğrisinde %34,2'lik bir kütle kaybına karşılık geldiği belirtilmiştir.



Şekil 4.18. Sülfadiazinin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.

Benzer şekilde 320 – 649 ºC sıcaklık aralığında, 342 ºC'de görülen maksimum pikte de bozulma gerçekleşmiş ve bu aralıktaki TG eğrisinden yaklaşık olarak %27 oranında bir kütle kaybının olduğu belirlenmiştir. Analiz sonunda bozunmadan kalan madde miktarının da yaklaşık %39 olduğu tespit edilmiştir.

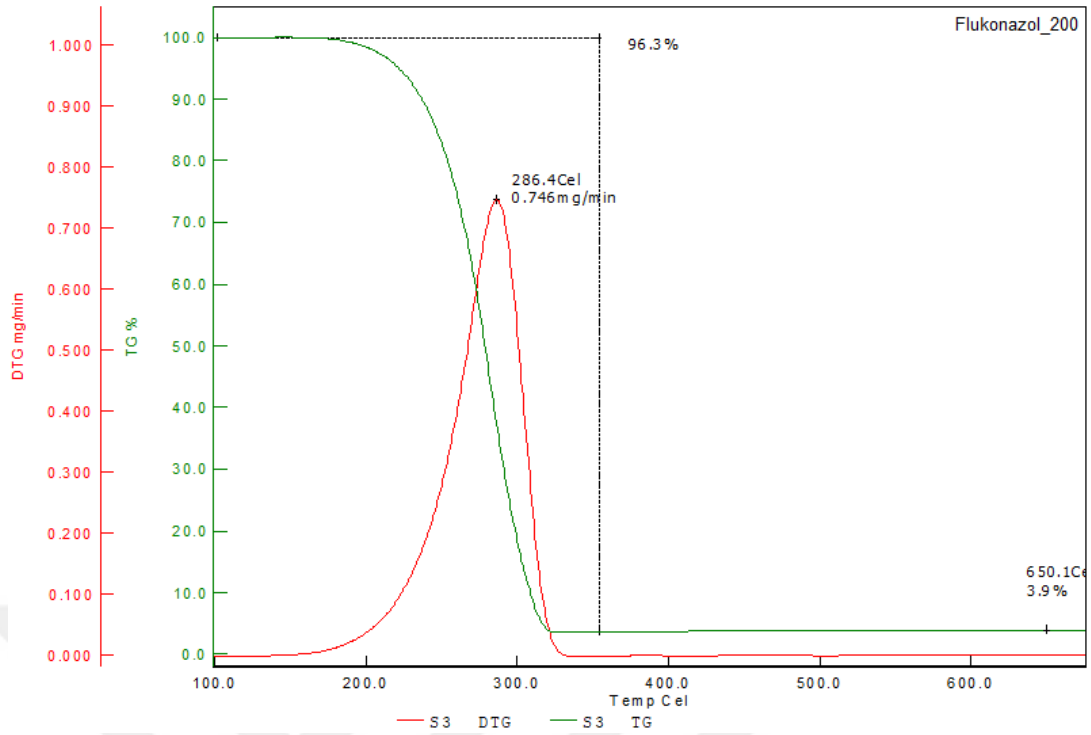
Termogravimetrik analiz sonuçlarının ardından SDA'nın DSC termogramı (Şekil 4.19) ele alındığında, etken maddenin erime noktasına (252 °C) kadar iyi bir termal kararlılık sergilediği gözlenmiştir. 261 °C'de elde edilen ekzotermik pikte kristallendiği ve sonrasında bozulmaya başladığı belirtilmiştir.



Şekil 4.19. Sülfadiazinin termal analizinden elde edilen DSC termogramı.

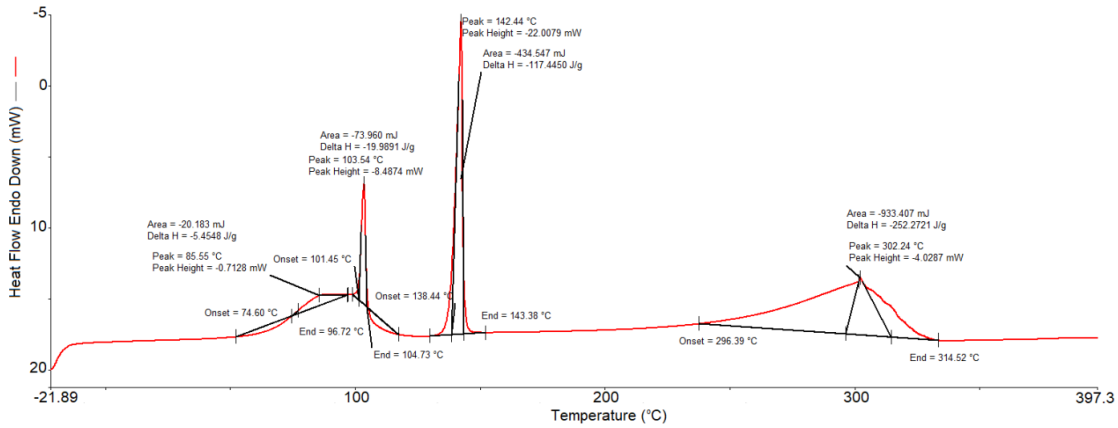
Sonuç olarak, SDA'nın DSC termogramında başka bir karakteristik pik gözlenmemiştir. DSC sonuçlarına ek olarak, TG analizinden elde edilen sonuçlar da SDA'nın subkritik su şartlarında termal olarak kararlı olduğunu ve bozulmaların 262 °C'den sonra başladığını göstermiştir.

Flukonazolün termal kararlılığını değerlendirmek amacıyla yapılan TG analizden elde edilen sonuçlar Şekil 4.20'de verilmiştir. DTG eğrisi incelendiğinde, FLC'nin 170 ºC'ye kadar kararlı olduğu tespit edilmiştir. 170 ºC'den sonra 0,099 mg (%2,25) kütle kaybı ile başlayan termal bozulma 200 ºC'de 0,165 mg (%4,01) olarak ölçülmüş ve 355 ºC'ye kadar devam etmiştir. 170–355 ºC sıcaklık aralığında özellikle 286 ºC'de görülen maksimum pikte 0,746 mg'lık bir kütle kaybı gözlenmiş ve bu geniş sıcaklık aralığında gerçekleşen bozulmanın TG eğrisinde %96,3'lük bir kütle kaybına karşılık geldiği tespit edilmiştir. Analiz sonunda yaklaşık %4 oranında maddenin bozulmadan kaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Flukonazolun termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.

Flukonazolün TG sonuçlarına ek olarak DSC termogramı (Şekil 4.21) da incelenmiş ve çalışılan en yüksek sıcaklığa (200 ºC) kadar iki ekzotermik pikin oluştuğu gözlenmiştir. Oluşan bu termal bozulma eğrileri, literatür verileri ile de uyumlu sonuçlar vermiştir. 100 ºC yakınındaki ilk geniş pikin (103 ºC) kristalin dehidrasyonu sonucu oluştuğu ve suyun kaynama noktasına karşılık geldiği tespit edilmiştir.

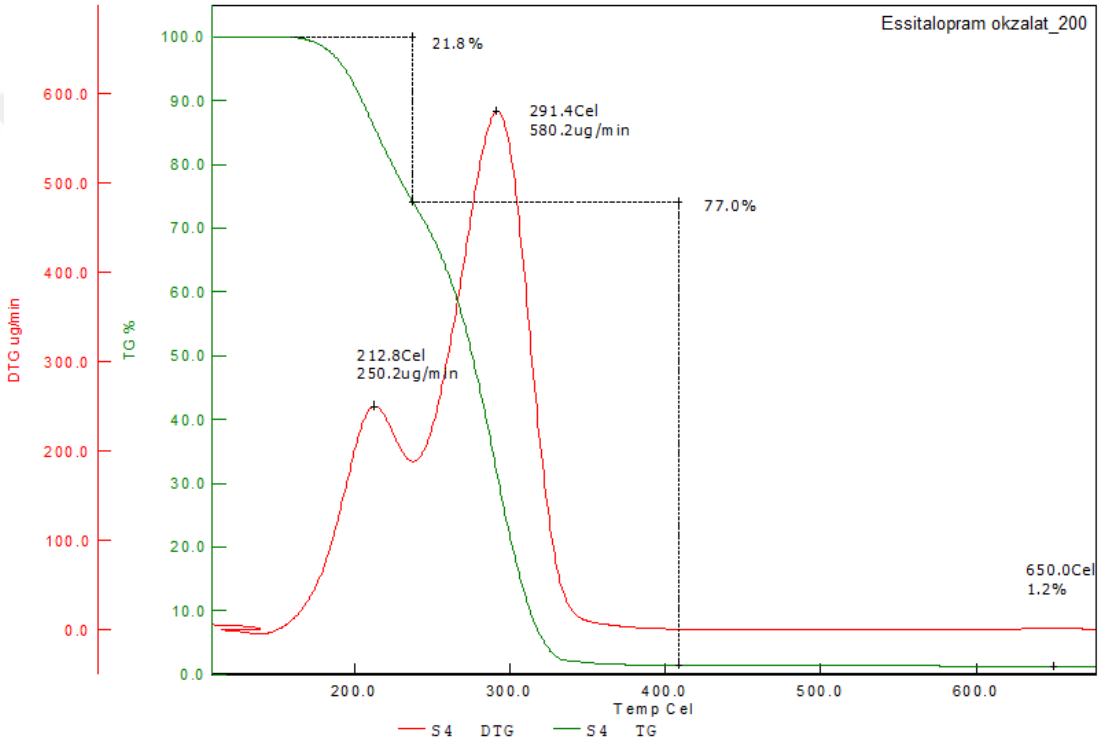


Şekil 4.21. Flukonazolün termal analizinden elde edilen DSC termogramı.

142 ºC'deki ekzotermik pikte, FLC'nin erime noktasına karşılık kristal oluşturduğu düşünülmüş ve 200 ºC'den sonra da termal bozulmaların başladığı belirtilmiştir.

Sonuç olarak, FLC'nin Alkhamis vd., (2002) tarafından literatürde bildirilen monohidrat formdaki FLC ile benzer termal davranış sergilediği ve çalışılan sıcaklıklarda kararlı olduğu tespit edilmiştir.

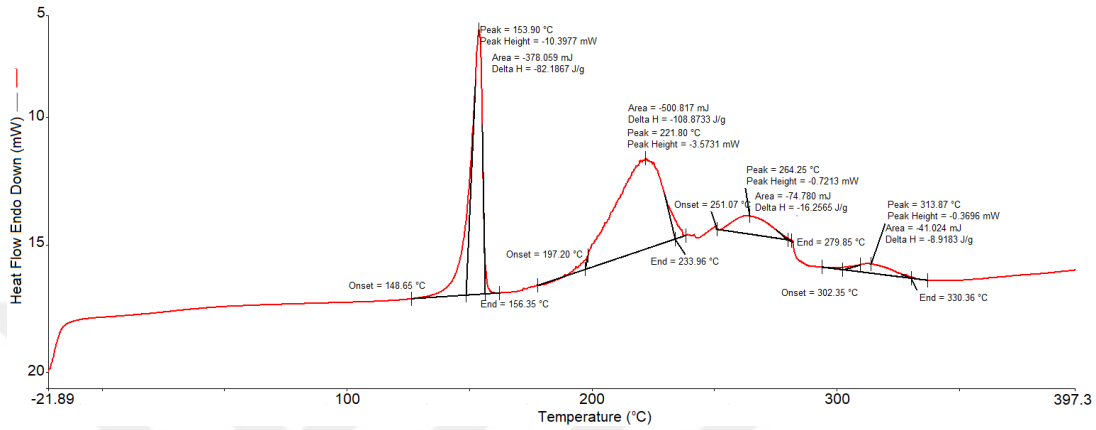
Essitalopram okzalatın termal analizinden elde edilen DTG eğrisi (Şekil 4.22) incelendiğinde, ESC'nin 152 ºC'ye kadar kararlı olduğu gözlenmiş ve bu noktadan sonra iki aşamada bozulduğu tespit edilmiştir. İlk kütle kaybı 212 ºC'de meydana gelirken; ikinci kütle kaybı, 291 ºC'de gerçekleşmiştir. Elde edilen termal bozulma eğrileri, literatür verileri ile benzer sonuçlar vermiştir.



Şekil 4.22. Essitalopram okzalatın termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.

Pinto vd., (2018) tarafından yapılan çalışmada da ifade edildiği gibi 152–237 ºC sıcaklık aralığında gerçekleşen termal bozulmanın yapıdaki okzalatın parçalanması sonucu oluştuğu ve TG eğrisinde yaklaşık olarak %22 oranında bir kütle kaybına karşılık geldiği belirlenmiştir. Benzer şekilde 237–410 ºC sıcaklık aralığında gerçekleşen ve TG eğrisinde %77 oranında bir kütle kaybına sebep olan bozulmanın da essitalopramın parçalanmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir.

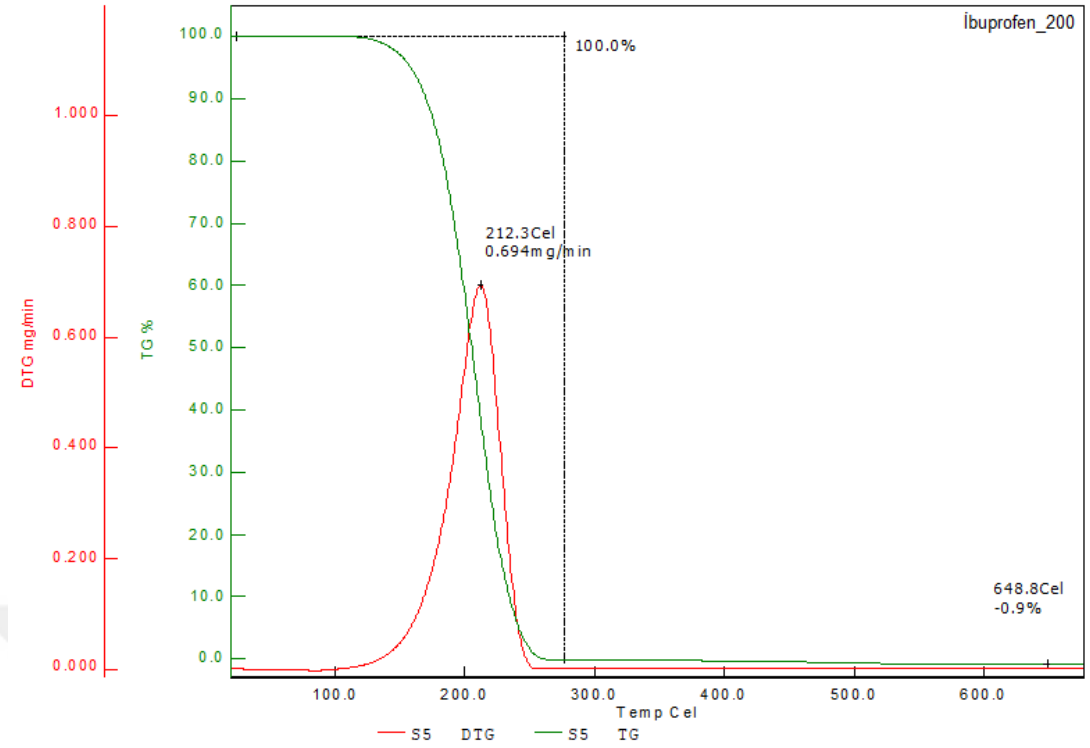
Essitalopram okzalatın DSC termogramı (Şekil 4.23) incelendiğinde, yine etken maddenin erime noktasına (152 °C) kadar iyi bir termal kararlılık sergilediği görülmüştür. 152–330 °C sıcaklık aralığında bazı ekzotermik pikler elde edilmiştir. Bu sıcaklıklardan 152 °C'de ESC'nin kristallendiği ve sonrasında bozulan pik simetrisinden essitalopramın bozulmaya başladığı düşünülmüştür.



Şekil 4.23. Essitalopram okzalatın termal analizinden elde edilen DSC termogramı.

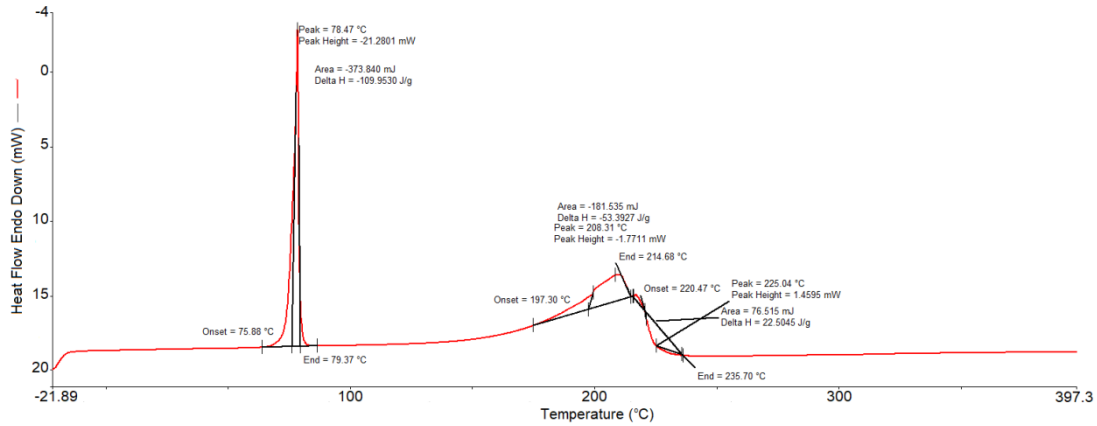
Essitalopram okzalatın TG analizi ile DSC analizi sonuçları karşılaştırıldığında, 152–200 °C aralığında gerçekleşen bozulmaların mikrogram seviyelerde ve ihmal edilebilir düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ESC'nin çalışılan yüksek sıcaklıklarda kararlı olduğu ve 200 °C'den sonra bozulmaya başladığı belirtilmiştir

İbuprofenin termal kararlılığını belirlemek için yapılan TG analizden elde edilen sonuçlar Şekil 4.24'te verilmiştir. DTG eğrisi incelendiğinde, IBP'nin 125 ºC'ye kadar kararlı olduğu tespit edilmiş ve bu sıcaklıktan sonra IBP'de kütle kaybı gözlenmeye başlamıştır. 125–275 ºC sıcaklık aralığında özellikle 212 ºC'de (0,694 mg/dk) görülen maksimum pikte bir bozulmanın gerçekleştiği ve bu aralıktaki TG eğrisinde %100'lük bir kütle kaybına karşılık geldiği belirtilmiştir.



Şekil 4.24. İbuprofenin termal bozulmasından elde edilen TG ve DTG termogramları.

Termogravimetrik analiz sonuçlarının ardından IBP'nin DSC termogramı (Şekil 4.25) değerlendirildiğinde, etken maddenin erime noktasına (75 °C) kadar iyi bir termal kararlılık sergilediği görülmüştür. Buna ek olarak, 78 °C'de oluşan ekzotermik pikte kristallendiği, 208 °C'de oluşan ekzotermik pik ile 225 °C'de elde edilen endotermik pikte de bozulmanın gerçekleştiği belirtilmiştir.



Şekil 4.25. İbuprofenin termal analizinden elde edilen DSC termogramı.

Sonuç olarak, IBP'nin DSC termogramında başka bir karakteristik pik gözlenmemiştir. DSC sonuçlarına ek olarak, TG analizinden elde edilen sonuçlar da

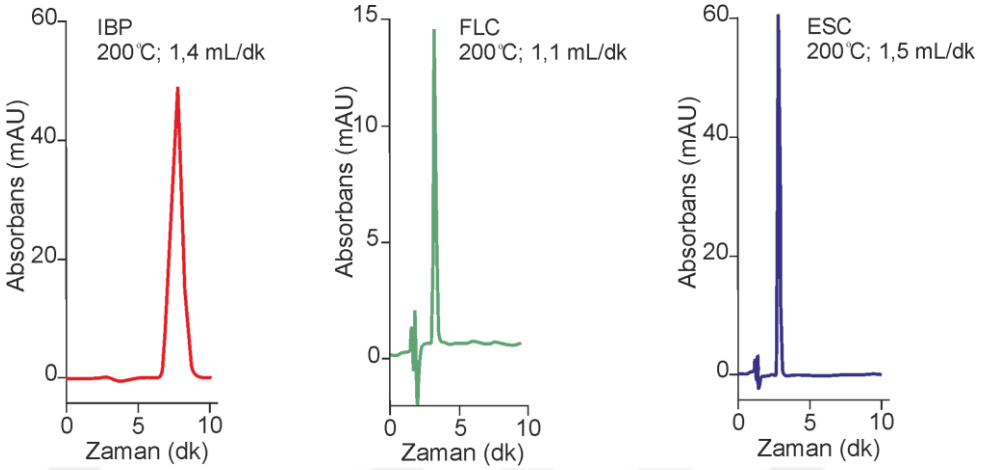
IBP'nin subkritik su şartlarında termal olarak kararlı olduğunu ve asıl bozulmaların 200 °C'den sonra başladığını göstermiştir.

Subkritik sudaki işlemler sırasında ilaç etken maddelerde önemli bir bozulmanın gözlenmemesinin nedenlerinden biri kullanılan suyun degaze edilmesidir. Bu sayede çözünmüş oksijenin büyük bir kısmı sudan uzaklaştırılmış ve suyun oksitleyici gücü zayıflatılmıştır. İkinci neden de, kullanılan etken maddelerin yüksek konsantrasyonudur. Degaze edilmiş suda bulunan az miktarda oksijenin, literatürde de ifade edildiği gibi dengeleme hücresinde bulunan aşırı miktardaki etken maddenin çok küçük bir kısmını bozabileceği belirtilmiştir. Bu da bozunma yüzdesini neredeyse fark edilmez hale getirmekte ve termal kararlılığı çok etkilememektedir.

Subkritik su kromatografisi ve subkritik su ekstraksiyonunun en belirgin avantajı, ayırma işlemlerinde gerekli olan tehlikeli organik çözücülerin ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesidir. Bu yeşil subkritik su tekniklerinin umut verici olmasının yanında, subkritik su koşullarındaki ekstraksiyon ve kromatografi verilerinin doğruluğunu sağlamak için analitlerin kararlılığının değerlendirilmesi gerekmektedir (Lindquist ve Yang, 2011).

Yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen kromatografik analizlerde karşılaşılan sorunlardan biri analiz edilen bileşiklerin kararsızlığı veya bozulmasıdır. Thompson ve Carr, (2002) bir dizi ilaç ve alkaloidin termal kararlılığını belirlemek için yaptığı bir çalışmada, analitin kolonda tutulması sırasında meydana gelen reaksiyonların analitin yüksek sıcaklıktaki stabilitesini belirlediğini bildirmiştir. Alıkonma sırasında meydana gelen hidroliz, oksidasyon, izomerizasyon ve epimerizasyon, analitlerin stabilitesini etkileyen ve istenmeyen başlıca kimyasal reaksiyon tipleri olarak belirtilmiştir (Connors vd., 1986; Xu ve Trissel, 1999; Thompson ve Carr, 2002). Çalışmada ters faz sıvı kromatografisi kullanılarak incelenen bileşiklerin stabilitesinin ortam koşullarındaki bozunma hızları ve kolonda kalma süreleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bir analitin kolonda harcadığı zaman azalırsa, reaksiyona giren analitlerin kolondaki reaksiyonu da azaltacağı belirtilmiştir. Sadece norpseudoefedrinin önemli derecede bozulma gösterdiği ve diğer ilaçların HTLC koşullarında 190 °C'ye kadar stabil olduğu tespit edilmiştir. Bu literatür verilerinden yola çıkarak, tez kapsamındaki çalışmalarda kullanılan analitlerle 200 °C sıcaklıkta

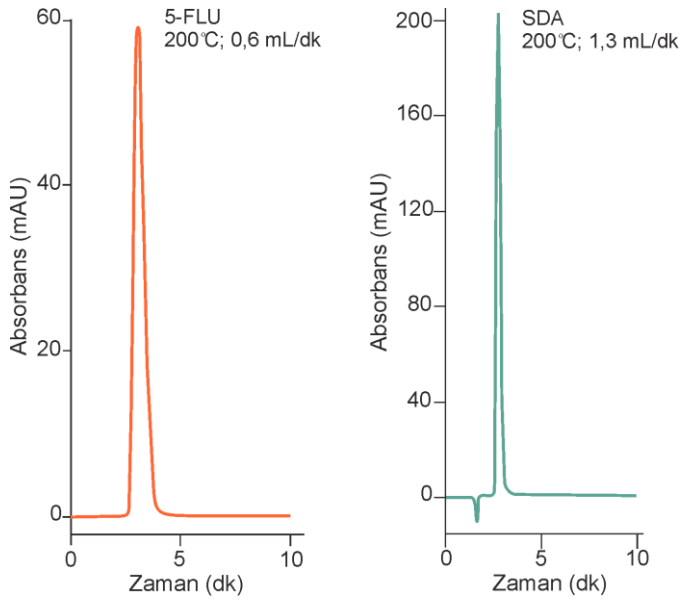
HTLC ile gerçekleştirilen analizlerde elde edilen kromatogramlar Şekil 4.26'da gösterilmiştir.



Şekil 4.26. İlaç etken maddelerinin HTLC ile elde edilen kromatogramları.

Şekil 4.26 incelendiğinde, analitlerin kısa süren elüsyonu ile alıkonma sırasında stabilitesini etkileyen veya istenmeyen herhangi bir kimyasal reaksiyonun meydana gelmediği ve 200 °C sıcaklıkta analitlerin kararlı olduğu tespit edilmiştir.

Suyu bir hareketli faz olarak değerlendirdiğimizde, SBWC'de en olası iki reaksiyon hidroliz ve oksidasyondur (Smith, 2008). Ancak kromatografik analizin daha yüksek sıcaklıkta gerçekleşmesi nedeniyle, suyun viskozitesi azalmakta ve sistem geri basıncı düşmektedir. Bu durum, daha yüksek bir hareketli faz akış oranına izin vermekte ve yüksek sıcaklık ile yüksek akış hızını birleştirerek analiz süresini kısaltmaktadır. Böylece, SBWC analizleri numunenin sıcak suya daha az maruz kalmasını sağlamakta ve analitlerin bozulmasını engellemektedir (Yang, 2007a). Örnek olarak parabenler ele alındığında, alkil p-hidroksibenzoatların oksidasyona veya hidrolize uğraması beklenebilir. Bununla birlikte, Smith ve Burgess, (1996) PS-DVB kolonda, 200 °C'ye kadar olan analiz koşulları altında bile, bu bileşiklerin termal olarak kararlı olduğunu ve kolon malzemesinde de herhangi bir bozulma veya hidroliz olmadığını tespit etmiştir. Sonuç olarak, azalan analiz süresiyle, analitlerin kolon üzerinde meydana gelen reaksiyonlara daha az maruz kaldığı ve bu nedenle bozulmadığı belirtilmiştir. Bu tez kapsamındaki çalışmalarda kullanılan analitlerle 200 °C sıcaklıkta SBWC ile gerçekleştirilen analizlerde de herhangi bir bozulma gözlenmemiş ve elde edilen kromatogramlar Şekil 4.27'de gösterilmiştir.



Şekil 4.27. İlaç etken maddelerinin SBWC ile elde edilen kromatogramları.

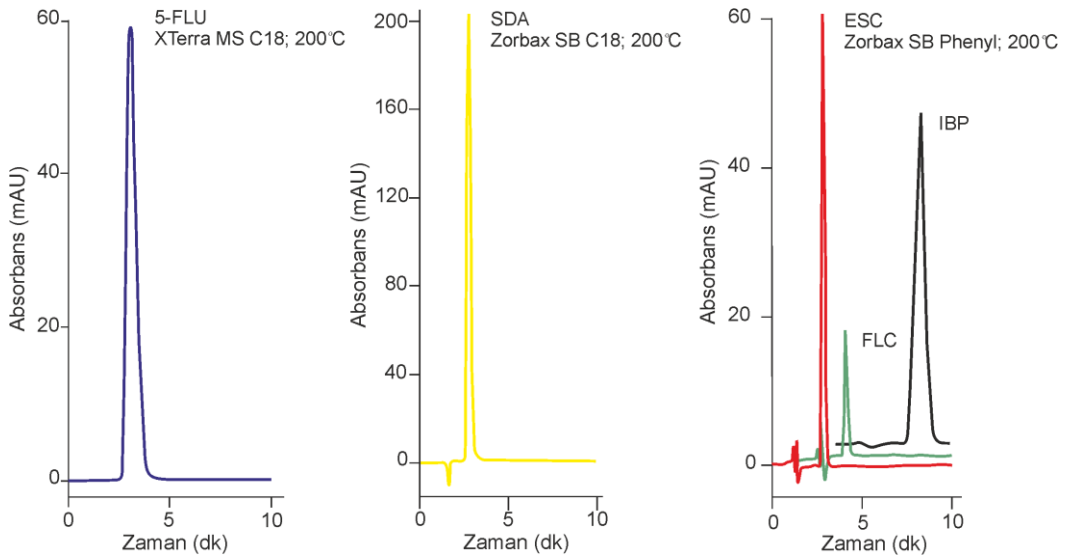
Şekil 4.27 incelendiğinde, sıcaklığın ve akış hızının artmasıyla birlikte azalan analiz süresi sonunda analitlerin kısa süre yüksek sıcaklığa maruz kaldığı tespit edilmiştir. Bu sayede analitlerin bozulma olasılıkları da en düşük seviyede tutulmuştur.

Yang ve Kapalavavi (2011) az miktarda bozulan analitin, subkritik su kromatografisi koşullarındaki kantitatif analizi fazla etkilemeyeceğini belirtmiştir. Hem standart hem de analit karışımı SBWC ile aynı anda analiz edildiğinden, bu karışımın aynı sıcaklıklara maruz kaldığını ve aynı miktarda bozulmaya uğradığını öne sürmüştür. Bu nedenle, küçük miktardaki bozulmaların SBWC'deki kantitatif sonuçları çok etkilemediği ve düşük molekül ağırlıklı çoğu bileşiğin SBWC ile analizleri sırasında bozulmasının önemli bir sorun olmadığı iddia edilmiştir (Yang, 2007a).

Yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen kromatografik analizlerde karşılaşılan sorunlardan bir diğeri de sabit fazların termal olarak kararsız olmasıdır. Analitlerin stabilitesine benzer şekilde, SBWC koşulları altında sabit fazın stabilitesi de SBWC'nin gelişimini ve uygulamalarını kısıtlamaktadır. Bununla birlikte, son yıllarda, 200 °C'yi aşan sıcaklıklarda termal olarak kararlı, yüksek verimli sabit fazlar geliştirilmiştir. Yüksek sıcaklıklarda SBWC analizleri için hem ticari hem de laboratuvarda doldurulmuş kolonlar kullanılmıştır (Kapalavavi ve Yang, 2011). He ve Yang, (2003) SBWC koşulları altında (100-150 °C) üçü silika (Zorbax RX-C8, Nucleosil C18 AB ve Hypersil BDS C18), biri polimer (PRP-1) ve diğeri de zirkonya (ZirChrom-PS) bazlı olmak üzere beş ticari kolonun uzun süreli termal kararlılığını

değerlendirmiştir. Her bir kolonun, çalışılan sıcaklıkta 6000–12500 aralığında kolon hacmine sahip olduğu belirlenmiştir. 100 °C'de değerlendirilen silika bazlı kolonlardan, Zorbax RX-C8 kolonunun 250 saat (6180 kolon hacmi), Nucleosil C18 AB kolonunun 245 saat (8000 kolon hacmi) ve Hypersil BDS C18 kolonunun 42 saat (746 kolon hacmi) boyunca kararlı olduğu belirtilmiştir. Ek olarak, ZirChrom-PS kolonun 100 °C'de 120 saate kadar (7502 kolon hacmi) ve PRP-1 kolonun 100 ve 150 °C'de toplam 499 saate (8821 kolon hacmi) kadar stabil olduğu tespit edilmiştir. Test edilen tüm kolonlar arasında en kararlı kolon polimer bazlı PRP-1 olurken en az kararlı kolonun Hypersil BDS C18 olduğu belirtilmiştir.

Tez kapsamındaki deneysel çalışmalarda da silika esaslı üç ticari kolon (XTerra MS C18, Zorbax SB-C18, Zorbax SB-Phenyl) kullanılmıştır. XTerra MS C18 kolonu, MS uygulamaları ile uyumlu olacak şekilde tasarlanmış genel amaçlı, hibrit tabanlı, ters fazlı C18 kolondur. Zorbax StableBond kolonları, siloksan bağını sterik olarak koruyan hacimli izobütil (SB-C18) veya izopropil (SB-Phenyl) yan zincir gruplarına sahip silanları kullanan ters faz kolonlardır. Kromatografik analizde bu kolonların kullanılmasının nedenleri yeni nesil kolon dolgu maddelerine sahip olmaları ve kolon dolgularının yüksek sıcaklıkta gösterdiği termal kararlılığın diğer ticari kolonlara göre fazla olmasıdır. Bu kolonlarla 200 °C sıcaklıkta gerçekleştirilen analizlerde elde edilen kromatogramlar Şekil 4.28'de gösterilmiştir.



Şekil 4.28. İlaç etken maddelerinin SBWC ve HTLC ile farklı ticari kolonlarda elde edilen kromatogramları.

Silika kolon dolgusu için saf su kullanımı ile önerilen sıcaklık 100 °C'ye kadar olsa da, küçük miktarda bir organik modifiyerin ilavesiyle bu aralığın 200 °C'ye kadar arttırılabildiği bilinmektedir. Bu bağlamda, analizin yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmesiyle kısalan kolon ömrüne rağmen, alıkonma süresindeki kayda değer azalma kolonun daha verimli kullanılmasını sağlamış ve analizler esnasında kolon dolgularında herhangi bir bozulma gerçekleşmemiştir.

4.7 Termodinamik Değerlerin Hesaplanması

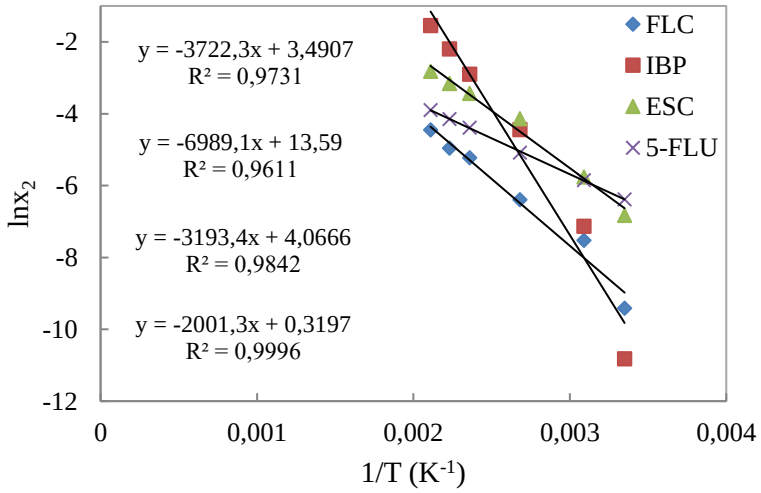
Organik bir bileşiğin fizikokimyasal karakterizasyonunda ilk temel adım, çözelti işlemine enthalpik ve entropik katkıları içeren sistemin tam bir termodinamik tarifini verebilecek olan çözünürlük davranışını belirlemektir (Garzon ve Martinez, 2004).

Bir çözünenin mol fraksiyon çözünürlüğü ile gerçek bir çözeltideki sıcaklık arasındaki ilişki van't Hoff eşitliği ile açıklanmakta ve Eşitlik 4.9 (Long vd., 2011):

$$\ln x_2 = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \tag{4.9}$$

şeklinde ifade edilmektedir. Burada x; mol fraksiyon çözünürlüğü, ΔH; çözünme entalpisi, ΔS; çözünme entropisi, T; sıcaklık ve R; gaz sabiti olarak nitelendirilmektedir. van't Hoff eşitliğine göre, 1/T ye karşılık lnx grafiğe geçirildiğinde oluşan eğrinin eğimi entalpiyi; kesim noktası da entropiyi vermektedir (Şekil 4.29). Gibbs serbest enerji değerleri, daha önce de bahsedildiği gibi aşağıdaki denklemle (Eşitlik 2.1) hesaplanabilmektedir (Wang vd., 2012).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \tag{2.1}$$



Şekil 4.29. İlaç etken maddelerin mol fraksiyon çözünürlüğü-sıcaklık etkileşimi.

Deneysel veriler kullanılarak yapılan grafik çizimi (Şekil 4.29) sonucu, sülfadiazin dışındaki diğer ilaç etken maddelerinin entalpi ve entropi değerleri ile korelasyon katsayıları hesaplanmış, elde edilen değerler Çizelge 4.17'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. İlaç etken maddeler için elde edilen termodinamik analiz verileri.

T (K)	298	323	373	423	448	473
5-FLU						
ΔH (kJ/mol)	16,46	16,46	16,46	16,46	16,46	16,46
ΔS ($J.mol^{-1}.K^{-1}$)	2,66	2,66	2,66	2,66	2,66	2,66
ΔG (kJ/mol)	15,85	15,78	15,65	15,52	15,45	15,38
IBP						
ΔH (kJ/mol)	58,11	58,11	58,11	58,11	58,11	58,11
ΔS ($J.mol^{-1}.K^{-1}$)	112,99	112,99	112,99	112,99	112,99	112,99
ΔG (kJ/mol)	24,44	21,62	15,97	10,32	7,49	4,67
FLC						
ΔH (kJ/mol)	30,95	30,95	30,95	30,95	30,95	30,95
ΔS ($J.mol^{-1}.K^{-1}$)	29,02	29,02	29,02	29,02	29,02	29,02
ΔG (kJ/mol)	22,30	21,58	20,13	18,68	17,95	17,22
ESC						
ΔH (kJ/mol)	26,55	26,55	26,55	26,55	26,55	26,55
ΔS ($J.mol^{-1}.K^{-1}$)	33,81	33,81	33,81	33,81	33,81	33,81
ΔG (kJ/mol)	16,48	15,63	13,94	12,25	11,40	10,56

Deneysel sıcaklık aralığında ilaç etken maddelerinin ΔH'si ($\Delta H > 0$) endotermiktir ve bu durum etken maddelerin artan sıcaklık ile çözünürlüğünün arttığını ifade etmektedir. Çözünme endotermik bir işlemdir, çünkü çözünen-çözücü molekülleri arasındaki etkileşimler çözücü molekülleri arasındaki etkileşimden daha güçlüdür.

Pozitif değerli ΔH ve ΔS; çözünme işleminde yer alan etkileşimlerin tümünün entropi ile yürütüldüğünü belirtmektedir. Çalışmada kullanılan ilaç etken maddeler, −N=, −N−H, −OH, −F ve C=O gibi çok çeşitli fonksiyonel gruplara sahiptir. Bu anlamda çözünürlüğün, çözünme işlemi sırasında elektrostatik kuvvet, hidrojen bağı, hidrofobik etkileşim gibi farklı mekanizmalara bağlı olarak gerçekleştiği söylenebilir. ΔH ve ΔS değerleri gibi ΔG değerleri de pozitiftir ve artan sıcaklıkla azalmaktadır. Bu durum düşük ΔG değerinin daha yüksek çözünürlüğe karşılık geldiğini ifade etmektedir.

Çözücü karışımlarında çözünen bileşiğin termodinamik özelliklerinin, çözünme sürecinin analiz edilmesinde pratik öneme sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, (subkritik su+organik çözücü) karışımında çözünmüş SDA'nın çözünme entalpisini hesaplamak için "Görünür termodinamik analiz" uygulanmış ve kullanılan Eşitlik 4.10 (Adel vd., 2012; Holguin vd., 2012):

$$\Delta H_{sol} = -R\left(\frac{\partial \ln x_{w,T}}{\partial (1/T)}\right)_p = -R\left(\frac{\partial \ln x_{w,T}}{\partial\left[(1/T)-(1/T_{hm})\right]}\right)_p \qquad (4.10)$$

şeklinde ifade edilmiştir. Burada R; evrensel gaz sabitidir. T_{hm}, ortalama harmonik sıcaklığı belirtir ve aşağıdaki Eşitlik (4.11) ile elde edilebilmektedir.

$$T_{hm} = \frac{n}{\sum_{i=1}^{n} \frac{1}{T_i}} \qquad (4.11)$$

Burada n, deneysel sıcaklık noktalarının sayısıdır. Çözünme entalpisi (ΔH_{sol}); ($1/T - 1/T_{hm}$)'ye karşılık $\ln x_{w,T}$ 'nin grafiğe geçirilmesiyle elde edilen eğrinin eğiminden hesaplanmaktadır. Deneysel veriler kullanılarak elde edilen entalpi değerleri Çizelge 4.18'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.18. "Görünür termodinamik analiz" ile SDA'nın ortalama harmonik sıcaklıkta (371,93 K) su-çözücü karışımlarındaki çözünme entalpisi.

w	Etanol (w)+su (1-w)	1-propanol (w)+su (1-w)
0,000	44,93	44,93
0,025	49,02	50,32
0,050	48,80	48,31
0,075	46,05	47,59
0,100	45,30	47,33
0,125	45,10	48,16
0,150	44,65	49,93
0,175	43,74	50,12
0,200	42,91	47,13

Çizelge 4.18 incelendiğinde, entalpi değerlerinin pozitif olduğu görülmüştür. Bu da incelenen çözücü karışımlarındaki SDA'nın çözünme işleminin endotermik ve kendiliğinden olduğunu göstermiştir.

Doğru termodinamik verilere duyulan ihtiyaçlar göz önünde bulundurulduğunda, subkritik şartlardaki çözünürlük çalışmaları, subkritik suyun çözme gücünü ölçmek ve bir işlemin termodinamik sınırını belirlemek için gerekmektedir. Subkritik su faz dengesinin termodinamiğinin anlaşılması, ayırma ve ekstraksiyon işlemlerinin tasarımında önemli olmaktadır (Domanska, 2007).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sıvı kromatografisi; kimya, eczacılık, çevre ve tıp gibi birçok alanda hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçekte kullanılan bir tekniktir. Bu tekniğin en büyük dezavantajlarından biri, canlı sağlığında ve çevrede zararlı etkilere sahip bazı organik çözücülerin kullanılıyor olmasıdır. Bu nedenle günümüzde, daha az organik çözücünün kullanıldığı ve bazı çevrelerce "yeşil kromatografi" olarak da ifade edilen yaklaşımlar yaygınlaşmaktadır. Bu yaklaşımların merkezinde hiç kuşkusuz en güvenilir çözücü olan su bulunmaktadır. Suyun yüksek sıcaklık ve basınç altında organik türlere karşı sergilediği çözme gücünün artması, belirtilen şartlarda suyun hidrojen bağı yapma özelliğinin ve dolayısıyla polaritesinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda suyun yüzey gerilimi ve viskozitesindeki düşüş de çözme gücünün artmasına katkıda bulunmakta ve organik bileşiklerin sudaki çözünürlüğünü arttırmaktadır. Sudaki gelişmiş organik çözünürlük; ekstraksiyon, kromatografi, çevresel iyileştirme ve diğer kimyasal işlemler için yeşil bir çözücü olarak yüksek sıcaklıktaki suyun kullanılmasına izin vermektedir. Bu anlamda, 1997 yılından beri subkritik su ayarlanabilir parametreleri, özellikle çözme gücü nedeniyle topraklarda bulunan kirleticilerden bitkilerde ve gıdalarda yaygın olarak bulunan apolar organik terapötiklere kadar pek çok organik bileşiğin ekstraksiyonu ve kromatografik ayırımı için popüler bir kullanım alanı bulmuştur. Bu tekniklerin avantajlı olduğu ancak verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için bu alanda yeterli çalışmanın olmamasından dolayı bazı önemli hususların iyileştirilmesinin gerektiği ifade edilmiştir. Bu nedenle, bu tekniklerin geliştirilebilmesi için hedef bileşiklerin subkritik sudaki çözünürlüklerinin belirlenmesi ve yeni verilerin sağlanması gerekmektedir.

Çözünürlük tahmin modelleri, deneyler gerçekleştirilmeden önce subkritik sudaki çözünürlüğü tahmin etmek için kullanılabilmektedir. Çözünürlüğün deneysel olarak belirlenmesi zor olmasa da, tahmin edilmesini sağlayan modellerin geliştirilmesi için bazı nedenler vardır. Bu gerekçelerden biri ve en önemlisi ilgili bileşiklerin zehirli, kanserojen olması yanında istenmeyen çevresel etkileridir. Bu anlamda, çözünürlüğü tahmin etme yeteneği, sentezi gerçekleştirmeden önce çözünürlüğü tahmin edilebilecek yeni farmasötik ürünler ile kimyasalların tasarımına yardımcı olmakta ve bu yeni bileşiklerin tasarımı, bu tahmini hesaplamaların sonuçları ile yönlendirilebilmektedir. Ek olarak, elde edilen bu subritik sudaki çözünürlük verileri,

ekstraksiyon, çevresel iyileştirme ve kromatografi gibi yeşil SBWC metotlarının optimizasyonunda da yol gösterici olabilmektedir.

Sunulan bu çalışmada, 5 farklı ilaç etken maddenin subkritik sudaki çözünürlüğü, 5,1 MPa'lık sabit bir basınç altında 298 - 473 K arasındaki sıcaklıklarda deneysel olarak başarıyla belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

- ✓ Sıcaklık mol fraksiyon çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Su sıcaklığı 298'den 473 K'e yükseltildiğinde her bir etken maddenin mol fraksiyon çözünürlüğü sırasıyla 5-Florourasilde 12; sülfadiazinde 15; essitalopram okzalatta 55; flukonazolde 147 ve ibuprofende de 10600 kat artış göstermiştir.

- ✓ Su sıcaklığını artırmanın yanı sıra suya yardımcı organik çözücü eklemenin de, maddelerin (örneğin SDA) çözünürlüğünü arttırdığı tespit edilmiştir.

- ✓ Deneysel veriler, mevcut modeller kullanılarak tahmin edilen değerlerle karşılaştırılmıştır. Mevcut yaklaşım modelleri, ilaç etken maddelerinin subkritik sudaki çözünürlüğünü tahmin etmede başarısızken bu çalışmada geliştirilen modeller, deneysel sonuçlarla karşılaştırılabilir çözünürlük değerleri vermiştir.

- ✓ Yarı deneysel bir model olan Modifiye Apelblat denklemi de deneysel çözünürlük değerleri ile uyumlu tahminler sağlamış ve sonuçların ilişkilendirilmesinde kullanılmıştır.

- ✓ Subkritik şartlarda çözünme entalpisi hesaplanarak çözünme süreci değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, entalpi değerlerinin pozitif olduğu; çözünme işleminin endotermik ve kendiliğinden gerçekleştiği tespit edilmiştir.

- ✓ Subkritik sudaki yeterli çözünürlük, ilaç etken maddelerinin kromatografik tayininde kullanılabilecek yeşil kromatografi tekniklerinden olan subkritik su kromatografisinin metot optimizasyonuna da katkı sağlamıştır. Örnek olarak, SDA'nın subkritik sudaki yeterli çözünürlüğü sayesinde kromatografik analizinde subkritik su kromatografisi kullanılmış ve böylece hem HPLC'de kullanılan toksik organik çözücüler hareketli fazdan uzaklaştırılmış hem de

çözünürlük tahmin modelleri kullanılarak subkritik şartlardaki çözünürlüklerin tahmin edilmesiyle bu tekniğin verimliliğinin arttırılabildiği gösterilmiştir.

- ✓ Çözünürlük çalışmaları ve kromatografik tayinler sırasında, SBWC koşulları altındaki analitlerin ve kromatografik kolonların termal kararlılığı incelenmiştir. Bu çalışmaların yapılması yeşil subkritik su tekniklerinin kullanımının artmasını ve işlem verimliliğinin en üst düzeye çıkmasını sağlayacaktır. Bu anlamda subkritik suda çözünen ilaç etken maddelerinin termal kararlılığı, ilk olarak her bir etken maddenin çözünürlük ölçümleri sırasında elde edilen HPLC kromatogramlarında; kromatografik piklerin alıkonma sürelerinde kayda değer bir değişimin meydana gelmemesi ve pik simetrisisinde farklılaşmaların oluşmamasıyla doğrulanmıştır.

- ✓ Etken maddelerin stabilitesinin bir diğer doğrulaması da incelenen en yüksek sıcaklıktaki çözünürlük deneylerinin tamamlanmasından sonra alınan doymuş sulu çözeltilerin buharlaştırılması sonucu elde edilen katı formun termal analizi ile sağlanmıştır. Termogravimetrik analizlerde, ilaç etken maddelerinin erime noktalarında önemli bir değişimin meydana gelmemiş olması, diğer sonuçları desteklemiştir. Çünkü kullanılan suyun degaze edilmesiyle çözünmüş oksijenin büyük bir kısmı sudan uzaklaştırılmış ve suyun oksitleyici gücü zayıflatılmıştır. Bunun yanında, seçilen etken maddelerin yüksek konsantrasyonda kullanılması da bozulma yüzdesini düşük seviyelerde tutmuştur.

- ✓ Yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen kromatografik analizlerde kullanılan sabit fazların termal olarak kararlı olduğu tespit edilmiştir. Kromatografik tayinlerde sıcaklığın ve akış hızının artmasıyla birlikte azalan analiz süresi sonunda analitlerin kısa süre yüksek sıcaklığa maruz kaldığı belirlenmiştir. Bu sayede hem analitlerin bozulma olasılıkları azalmış hem de analizin yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmesiyle kısalan kolon ömrüne rağmen alıkonma süresindeki kayda değer azalma kolonların daha verimli kullanılmasını sağlamıştır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile subkritik su ve çözünen madde arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması sonucu daha doğru çözünürlük tahmin modellerinin oluşturulduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, ileride yapılacak

çalışmalar da göz önünde bulundurulduğunda daha fazla çözünürlük verisinin elde edilmesiyle çözünürlük tahmin modellerinin daha geniş bir organik bileşik yelpazesine uygulanabilir hale geleceği ve benzer yapıya sahip bileşikler için de aynı tahmin modellerinin kullanılabileceği belirtilmiştir. Buna ek olarak, pek çok potansiyel uygulamada sürekli bir gelişime olanak sağlamak için subkritik sudaki çözünürlüğü etkileyen faktörlerin yanı sıra subkritik suda gerçekleştirilen işlemlerin tasarlanmasına ve ölçeklendirilmesine de katkıda bulunacağı ifade edilmiştir. Bu anlamda, subkritik su kromatografisi günümüzde organik çözücülerle yapılan ayırma ve saflaştırma işlemlerinin yerine kullanılabilme potansiyeline sahip ve yaygın olarak incelenen tekniklerin başında gelmektedir. Ayrıca, bu teknik organik çözücüler olmaksızın etkin analizler gerçekleştirebilmenin yanında hem çevreyle dost hem de ekonomik açıdan fayda sağlamaktadır. Bu nedenle, zararlı organik çözücüler yerine çevre dostu suyun kullanılmasının ülke ekonomisine de katkısı göz ardı edilemeyecek düzeydedir.

KAYNAKLAR

Acree, E.W., 1992. Mathematical representation of thermodynamic properties: Part 2. Derivation of the combined nearly ideal binary solvent (CNIBS)/Redlich-Kister mathematical representation from a two-body and three-body interactional mixing model, Thermochimica Acta, 198, 1, 71–79**.**

Adel, N.J., Chokri, M. ve Arbi, A., 2012. Solubility of gallic acid in liquid mixtures of (ethanol+water) from (293.15 to 318.15) K, The Journal of Chemical Thermodynamics, 55, 75–78.

Akerlof, G., 1932. Dielectric constants of some organic solvent-water mixtures at various temperatures, Journal of the American Chemical Society, 54, 11, 4125–4139.

Akkurt, Ş. ve Oğuz, M., 2019. Atıksu arıtma tesislerinde mikro kirleticilerin arıtılabilirliği, KSÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi, 22, 2, 58 – 77.

Alkhamis, K.A., Obaidat, A.A. ve Nuseirat, A.F., 2002. Solid-state characterization of fluconazole, Pharmaceutical Development and Technology 7, 4, 491–503.

Allada, S.R., 1984. Solubility parameters of supercritical fluids, Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development, 23, 2, 344–348.

Allmon, S.D. ve Dorsey, J.G., 2009. Retention mechanism in subcritical water reversed-phase chromatography, Journal of Chromatography A, 1216, 26, 5106–5111.

Apelblat, A. ve Manzurola, E., 1999. Solubilities of o-acetylsalicylic, 4-aminosalicylic, 3,5-dinitrosalicylic, and p-toluic acid, and magnesium-DL-aspartate in water from T = (278 to 348) K, The Journal of Chemical Thermodynamics, 31, 1, 85–91.

Apelblat, A. ve Manzurola, E., 2002. Solubilities of L-glutamic acid, 3-nitrobenzoic acid, p-toluic acid, calcium-L-lactate, calcium gluconate, magnesium-DL aspartate, and magnesium-L-lactate in water, The Journal of Chemical Thermodynamics, 34, 7, 1127–1136.

Archer, D.G. ve Wang, P., 1990. The dielectric constant of water and Debye-Hückel limiting law slopes, Journal of Physical and Chemical Reference Data, 19, 2, 371–388.

Astin, A., 1929. A new method for measuring the dielectric constants of conducting liquids, Physical Review, 34, 2, 300–309.

Bennett, D. ve Canady, W.J., 1984. Thermodynamics of solution of naphthalene in various water-ethanol mixtures, Journal of the American Chemical Society, 106, 4, 910−915.

Bohon, R.L. ve Claussen, W.F., 1951. The solubility of aromatic hydrocarbons in water, Journal of the American Chemical Society, 73, 4, 1571–1578.

Bowermaster, J. ve McNair, H.M., 1984. Temperature programmed microbore HPLC-part I, Journal of Chromatographic Science, 22, 4, 165–170.

Caffarena, E.R. ve Grigera, J.R., 2004. On the hydrogen bond structure of water at different densities, Physica A: Statistical Mechanics and its Applications, 342, 1–2, 34–39.

Cárdenas, P.A., Baena, Y., Aragón, D.M., Jiménez-Kairuz Á.F. ve Martínez, F., 2013. Solution Thermodynamics of 6-methylcoumarin in aqueous media at several pH values, Latin American Journal of Pharmacy, 32, 6, 793–801.

Carr, A.G., Mammucari, R. ve Foster, N.R., 2010a. Solubility and micronization of griseofulvin in subcritical water, Industrial & Engineering Chemistry Research, 49, 7, 3403–3410.

Carr, G.A., Mammucari, R. ve Foster, N.R., 2010b. Solubility, solubility modeling, and precipitation of naproxen from subcritical water solutions, Industrial & Engineering Chemistry Research, 49, 19, 9385–9393.

Carr, A.G., Mammucari, R. ve Foster, N.R., 2010c. The solubility and solubility modeling of budesonide in pure and modified subcritical water solutions, The Journal of Supercritical Fluids 55, 1, 37–42.

Carr, G.A., Mammucari, R. ve Foster, N.R., 2011. A review of subcritical water as a solvent and its utilisation fort he processing of hydrophobic organic compounds, Chemical Engineering Journal, 172, 1, 1–17.

Casale, F., Canaparo, R. ve Serpe, L., 1967. Plasma concentrations of 5-fluorouracil and its metabolites in colon cancer patients, Pharmaceutical Research, 50, 2, 173−179.

Castellan, G.W., 1971. Physical chemistry, Third Edition, Addison-Wesley Publishing Company, Reading, USA.

Chandler, K., Deng, F., Dillow, A.K., Liotta, C.L. ve Eckert, C.A., 1997. Alkylation Reactions in Near-Critical Water in the Absence of Acid Catalysts, Industrial & Engineering Chemistry Research, 36, 12, 5175–5179.

Chen, M.H. ve Horvath, C., 1997. Temperature programming and gradient elution in reversed-phase chromatography with packed capillary columns, Journal of Chromatography A, 788, 1–2, 51–61.

Choudhary, N.H., Kumbhar, M.S., Dighe, D.A., Mujgond, P.S. ve Singh, M.C., 2013. Solubility enhancement of escitalopram oxalate using hydrotrope, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5, 1, 121–125.

Connors, K.A., Amidon, G.L. ve Stella, V.J., 1986. Chemical stability of pharmaceuticals: a handbook for pharmacists, Wiley, New York, USA.

Corrêa, J.C.R. ve Salgado, H.R.N., 2011. Review of fluconazole properties and analytical methods for its determination, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 41, 2, 124–132.

Curren, M.S.S. ve King, J.W., 2001. Solubility of triazine pesticides in pure and modified subcritical water, Analytical Chemistry, 73, 4, 740−745.

Çapan, Y., 2004. Çözünürlük ve çözünme hızına etki eden faktörler, pp. 85-96, Farmasötik teknoloji-temel konular ve dozaj şekilleri, Gürsoy, A. (Editör), Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, İstanbul.

Çetin, H., 1999. İlaç aktif maddeler ders notları, İ.Ü. Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, İstanbul.

Dash, A.K. ve Elmquist, W.F., 2001. Fluconazole, pp. 67–113, in:Brittain, H.G. (Editor), Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients, Academic Press, San Diego.

Dembek, M. ve Bocian, S., 2020. Pure water as a mobile phase in liquid chromatography techniques, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 123, 115793, 1–13.

Domańska, U., 2007. Solubility of organic solids for industry, pp. 94–130, in:Letcher, T.M. (Editor), Developments and Applications in Solubility, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Dunlap, C.J., Carr, P.W., McNeff, C.V. ve Stoll, D., 2001. Zirconia stationary phases for extreme separations, Analytical Chemistry, 73, 21, 598A–607A.

Eckert, C.A., Liotta, C.L., Bush, D., Brown, J.S. ve Hallett, J.P., 2004. Sustainable reactions in tunable solvents, The Journal of Physical Chemistry B, 108, 47, 18108–18118.

Emire, Z., Yabalak, E. ve Gizir, A.M., 2016. Solubility and degradation of paracetamol in subcritical water, Journal of the Serbian Chemical Society, 82, 1, 1–8.

Fent, K.,Weston A.A. ve Caminada D., 2005. Ecotoxicology of human pharmaceuticals, Aquatic Toxicology, 76, 2, 122–159.

Forgacs, E., 2002. Retention characteristics and practical applications of carbon sorbents, Journal of Chromatography A, 975, 2, 229–243.

Fornari, T., Stateva, R.P., Se˜norans, F.J., Reglero, G. ve Iba˜nez, E., 2008. Applying UNIFAC based models to predict the solubility of solids in subcritical water, The Journal of Supercritical Fluids, 46, 3, 245–251.

Franks, F., 1983. Water, First Edition, The Royal Society of Chemistry, London, UK.

Fredenslund, A., Jones, R.L. ve Prausnitz, J.M., 1975. Group-contribution estimation of activity coefficients in nonideal liquid mixtures, AIChE Journal, 21, 6, 1086–1099.

Garzon, L.C. ve Martinez, F., 2004. Temperature dependence of solubility for ibuprofen, Journal of Solution Chemistry, 33, 11, 1379–1395.

Gelone, S. ve O'Donell, J.A., 2005. Anti-infectives, pp. 1630-1633, in:Gennaro, A.R. (Editor), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA.

Greibrokk, T. ve Andersen, T., 2003. High-temperature liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 1000, 1–2, 743–755.

Guillarme, D., Heinisch, S. ve Rocca, J.L., 2004. Effect of temperature in reversed phase liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 1052, 1–2, 39–51.

Guillarme, D. ve Heinisch, S., 2005. Detection modes with high temperature liquid chromatography - a review, Separation & Purification Reviews, 34, 2, 181–216.

Haar, L., Gallagher, J.S. ve Kell, G.S., 1984. NBS/NRC Steam Tables-Thermodynamic and transport properties and computer programs for vapor and liquid states of water in SI units, Hemisphere Publishing Corporation, New York, USA.

Hahnenkamp, I., Graubner, G. ve Gmehling, J., 2010. Measurement and prediction of solubilities of active pharmaceutical ingredients, International Journal of Pharmaceutics, 388, 1–2, 73–81.

Hansen, C.M., 2000. Hansen solubility parameters: a users handbook, CRC Press, Boca Raton, USA.

Hartonen, K. and Riekkola, M.L., 2008. Liquid chromatography elevated temperatures with pure water as the mobile phase, Trends in Analytical Chemistry, 27, 1, 1–14.

He, P. ve Yang, Y., 2003. Studies on the long-term thermal stability of stationary phases in subcritical water chromatography, Journal of Chromatography A, 989, 1, 55–63.

Hecht, A., 2011. Antidepressants and antianxiety drugs, Triggle, D.J.(Editor), Infobase Publishing, New York, ABD.

Heinisch, S. ve Rocca, J.L. 2009. Sense and nonsense of high-temperature liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 1216, 4, 642–658.

Hildebrand, J.H. ve Scott, R.L., 1964. Solubility of nonelectrolytes, Third Edition, Dover Publications, New York, USA.

Holguín, A.R., Rodríguez, G.A., Cristancho, D.M., Delgado, D.R. ve Martínez, F., 2012. Solution Termodynamics of Indomethacin in Propylene Glycol + Water Mixtures, Fluid Phase Equilibria, 314, 134–139.

Holleran, J.L., Eiseman, J.L., Parise, R.A., Kummar, S. ve Beumer, J.H., 2016. LC–MS/MS assay for the quantitation of FdCyd and its metabolites FdUrd and FU in human plasma, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 129, 359–366.

Jiménez, J.A. ve Martínez, F., 2006. Thermodynamic study of the solubility of acetaminophen in propylene glycol + water cosolvent mixtures, Journal of the Brazilian Chemical Society, 17, 1, 125–134.

Kalinichev, A.G. ve Bass, J.D., 1997. Hydrogen bonding in supercritical water. 2.Computer simulations, Journal of Physical Chemistry A, 101, 50, 9720–9727.

Kapalavavi, B., 2014. Fundamental and applied studies on chromatographic separation of cold drugs and skincare creams and extraction of salvia miltiorrhiza using subcritical water, Doctor of Philosophy Thesis, ECU, Interdisciplinary Doctoral Program in Biological Sciences, Greenville, USA.

Kapalavavi, B., Ankney, J., Baucom, M. ve Yang, Y., 2014. Solubility of parabens in subcritical water, Journal of Chemical & Engineering Data, 59, 3, 912−916.

Karasek, P., Planeta, J. ve Roth, M., 2006a. Solubility of solid polycyclic aromatic hydrocarbons in pressurized hot water at temperatures from 313 K to the melting point, Journal of Chemical & Engineering Data, 51, 2, 616–622.

Karasek, P., Planeta, J. ve Roth, M., 2006b. Solubility of solid polycyclic aromatic hydrocarbons in pressurized hot water: Correlation with pure component properties, Industrial & Engineering Chemistry Research, 45, 12, 4454–4460.

Karasek, P., Planeta, J. ve Roth, M., 2009. Solubilities of oxygenated aromatic solids in pressurized hot water, Journal of Chemical & Engineering Data, 2009, 54, 5, 1457–1461.

Karasek, P., Hohnova, B., Planeta, J. ve Roth, M., 2010. Solubility of solid ferrocene in pressurized hot water, Journal of Chemical & Engineering Data, 55, 8, 2866−2869.

Kayan, B., Yang, Y., Lindquist, E.J. ve Gizir, A.M., 2010. Solubility of benzoic and salicylic acids in subcritical water at temperatures ranging from (298 to 473) K, Journal of Chemical & Engineering Data, 55, 6, 2229–2232.

Khalifeh, I., 2000. Thermodynamic evaluation of ibuprofen solubility in aqueous and non-aqueous co-solvent systems, Doctor of Philosophy Thesis, Purdue University, Indiana, USA.

Khuwijitjaru, P., Adachi, R. ve S., 2002. Solubility of saturated fatty acids in water at elevated temperatures, Bioscience Biotechnology and Biochemistry 66, 8, 1723–1726.

Kisgen, J., 2015. Azole antifungals, pp. 538-540, in:Whalen, K., Finkel, R. ve Panavelil T.A. (Editor), Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology, Wolters Kluwer, Philadelphia, USA.

Knez, Ž., Hrnčič, M.K., Čolnik, M. ve Škerget, M., 2018. Chemicals and value added compounds from biomass using sub- and supercritical water, The Journal of Supercritical Fluids, 133, 2, 591 – 602.

Kondo, T. ve Yang, Y., 2003. Comparison of elution strength, column efficiency, and peak symmetry in subcritical water chromatography and traditional reversed-phase liquid chromatography, Analytica Chimica Acta, 494, 1–2, 157–166.

Kronholm, J., Vastamäki, P., Räsänen, R., Ahonen, A., Hartonen, K. ve Riekkola, M.L., 2006. Thermal field-flow fractionation and gas chromatography-mass spectrometry in determination of decomposition products of expandable polystyrene after reactions in pressurized hot water and supercritical water, Industrial & Engineering Chemistry Research, 45, 9, 3029–3035.

Kuş, C. ve Alp, M., 2002. Sistemik mantar enfeksiyonlarinin tedavisinde yeni hedefler ve yeni bileşikler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 31, 2, 91–131.

Lau, S.Y., Gonawan, F.N., Bhatia, S., Kamaruddin, A.H. ve Uzir, M.H., 2011. Conceptual design and simulation of a plant for the production of high purity (S)-ibuprofen acid using innovative enzymatic membrane technology, Chemical Engineering Journal, 166, 2, 726–737.

Leary, J.J. ve Skoog, D.A., 1992. Principles of instrumental analysis, Saunders College Publishing, Philadelphia, USA.

Lindquist, E. ve Yang, Y., 2011. Degradation of benzoic acid and its derivatives in subcritical water, Journal of Chromatography A, 1218, 15, 2146–2152.

Lippert, J.A., Johnson, T.M., Lloyd, J.B., Smith, J.P., Johnson, B.T., Furlow, J., Proctor, A. ve Marin, S.J., 2007. Effects of elevated temperature and mobile phase composition on a novel C18 silica column, Journal of Separation Science, 30, 8, 1141–1149.

Long, B.W, Li, J., Song, Y.H. ve Du, J.Q., 2011. Temperature dependent solubility of α-form L-glutamic acid in selected organic solvents: Measurements and

thermodynamic modeling, Industrial & Engineering Chemistry Research, 50, 13, 8354−8360.

Lu, J., Brown, J.S., Boughner, E.C. Liotta, C.L. ve Eckert, C.A., 2002. Solvatochromic characterization of near-critical water as a benign reaction medium, Industrial & Engineering Chemistry Research, 41, 12, 2835–2841.

Marten, B., Kim, K., Cortis, C., Friesner, R., Murphy, R., Ringnalda, M., Sitkoff, D. Ve Honig, B., 1996. New model for calculation of solvation free energies: correction of self-consistent reaction field continuum dielectric theory for short-range hydrogen-bonding effects, The Journal of Physical Chemistry, 100, 28, 11775–11788.

Martin, A.N., Sinko, P.J. ve Singh, Y., 2011. Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences : physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences, Sixth Edition, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, USA.

Mathis, J., Gizir, A.M. ve Yang, Y., 2004. Solubility of alkylbenzenes and a model for predicting the solubility of liquid organics in high-temperature water, Journal of Chemical & Engineering Data, 49, 5, 1269–1272.

McHugh, M. ve Krukoni, V., 1986. Supercritical fluid extraction principles and practices, Butterworth Publishers, Stoneham, MA.

McHugh, R.M.A. ve Krukonis, V.J., 1994. Supercritical fluid extraction, Second Edition, Elsevier, Amsterdam, NL.

McNeff, C.V., Yan, B., Stoll, D.R. ve Henry, R.A., 2007. Practice and theory of high temperature liquid chromatography, Journal of Separation Science, 30, 11, 1672–1685.

Miller, D.J. ve Hawthorne, S.B., 1998a. Method for determining the solubilities of hydrophobic organics in subcritical water, Analytical Chemistry, 70, 8, 1618–1621.

Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Gizir, A.M. ve Clifford, A.A., 1998b. Solubility of polycyclic aromatichydrocarbons in subcritical water from 298 K to 498 K., Journal of Chemical & Engineering Data, 43, 6, 1043–1047.

Mota, F.L., Carneiro, A.P., Queimada, A.J., Pinho, S.P. ve Macedo, E.A., 2009. Temperature and solvent effects in the solubility of some pharmaceutical compounds: Measurements and modeling, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 37, 3–4, 499–507.

Nakahara, M., Matubayasi, N., Wakai,C. ve Tsujino,Y., 2001. Structure and dynamics of water: from ambient to supercritical, Journal of Molecular Liquids, 90, 1–3, 75–83.

Nawrocki, J., Rigney, M.P., McCormick, A. ve Carr, PW., 1993. Chemistry of zirconia and its use in chromatography, Journal of Chromatography A, 657, 2, 229–282.

Nezbeda, I. ve Pavlicek, J., 1996. Application of primitive models of association; a simple theoretical equation of state of water, Fluid Phase Equilibria, 116, 1–2, 530–536.

Noubigh, A., Abdelkarim, A., Mgaidi, A. ve Abderrabba, M., 2013. Measurement and correlation of the solubility of gallic acid in methanol plus water systems from (293.15 to 318.15) K, Journal of Molecular Liquids, 187, 226–229.

O'Neil, M.J., 2006. The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, Fourteenth Edition, Whitehouse Station: Merck, New Jersey, USA.

Ong, E.S., Cheong, J.S.H. ve Goh, D., 2006. Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials, Journal of Chromatography A, 1112, 1, 92–102.

Örsel, S., 2004. Depresyonda tedavi: genel ilkeler ve kullanılan antidepresan ilaçlar, Klinik Psikiyatri, 7, 4, 17–24.

Öztürk, M., 2010. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, the other drugs used for the abortive treatment of headache, and drugs induced headache, Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics, 3, 1, 86–91.

Park, J.S., Yu, K.A., Kang, T.H., Kim, S. ve Suh, Y.G., 2007. Discovery of novel ındazole-linked triazoles as antifungal agents, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 17, 12, 3486–3490.

Petrucci, R.H., Harwood, W.S. ve Herring, G., 2002. General chemistry: principles & modern applications, Eighth Edition, Pearson/Prentice Hall, New Jersey, USA.

Pinho, S.P. ve Macedo, E.A., 2007. Solubility in food, pharmaceutical and cosmetic industries, pp. 309–326, in:Letcher, T.M. (Editor), Developments and Applications in Solubility, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Pinto, B.V., Ferreira, A.P.G. ve Cavalheiro, E.T.G., 2018. Thermal degradation mechanism for citalopram and escitalopram, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 133, 3, 1509–1518.

Preskorn, S.H., Ross, R. ve Stanga, C.Y., 2004. Selective serotonin reuptake inhibitors, pp. 241-262, in:Preskorn, S.H., Stanga, C.Y., Feighner, J.P. ve Ross, R. (Editor), Antidepressants: past, present and future, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

Prini, R.J.F., Corti, H.R. ve Japas, M.L., 1991. High temperature aqueous solutions: Thermodynamic properties, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Prini, R.F., 1997. Release on the static dielectric constant of ordinary water substance for temperatures from 238 K to 873 K and pressures up to 1000 MPa, The International Association for the Properties of Water and Steam (IAPWS), Erlangen, Germany.

Pu, Y., Cai, F., Wang, D., Li, Y., Chen, X., Maimouna, A.G., Wu, Z., Wen, X., Chen, J.F. ve Foster, N.R., 2017. Solubility of bicalutamide, megestrol acetate, prednisolone, beclomethasone dipropionate, and clarithromycin in subcritical water at different temperatures from 383.15 to 443.15 K, Journal of Chemical & Engineering Data, 62, 3, 1139–1145.

Pu, Y., Wang, J-X., Wang, D., Foster N.R. ve Chen, J-F., 2019. Subcritical water processing for nanopharmaceuticals, Chemical Engineering & Processing: Process Intensification, 140, 36–42.

Saravana P.S. ve Chun B.S. 2017. Seaweed polysaccharide isolation using subcritical water hydrolysis, pp.47-73, in:Venkatesan J., Anil S. ve Kim S.K. (Editor), Seaweed Polysaccharides: Isolation, Biological and Biomedical Application, Elsevier Incorporated, Amsterdam, NL.

Saygı, Ş., Battal, D. ve Özlen Şahin, N., 2012. Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi, Marmara Pharmaceutical Journal, 16, 2, 82–90.

Shaaban, H. ve Górecki T., 2015. Current trends in green liquid chromatography for the analysis of pharmaceutically active compounds in the environmental water compartments, Talanta, 132C, 739–752.

Sheikholeslamzadeh, E. ve Rohani, S., 2012. Solubility prediction of pharmaceutical and chemical compounds in pure and mixed solvents using predictive models, Industrial & Engineering Chemistry Research, 51, 1, 464–473.

Shinoda, K., 1977. Iceberg formation and solubility, The Journal of Physical Chemistry, 81, 13, 1300–1302.

Singh, P., Tyagi, G., Mehrotra, R. ve Bakhshi, A.K., 2009. Thermal stability studies of 5-fluorouracil using diffuse reflectance infrared spectroscopy, Drug Testing and Analysis, 1, 5, 240–244.

Smith, R.M. ve Burgess, R.J., 1996. Superheated water: a clean eluent for reversedphase high-performance liquid chromatography, Analytical Communications, 33, 9, 327–329.

Smith, R.M., 2002. Extractions with superheated water, Journal of Chromatography A, 975, 1, 31–46.

Smith, R.M., 2007. Temperature as a variable in pharmaceutical applications, pp.811-835, in:Kazakevich, Y. ve LoBrutto, R. (Editors), HPLC for Pharmaceutical Scientists, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.

Smith, R.M., 2008. Superheated water chromatography - a green technology for the future, Journal of Chromatography A, 1184, 1–2, 441–455.

Srinivas, K., King, J.W. ve Hansen, C.M., 2008. Prediction and modeling of solubility phenomena in subcritical fluids using an extended solubility parameter approach, AIChE Spring National Meeting and Global Congress on Process Safety, New Orleans, USA.

Srinivas, K., King, J.W., Howard, L.R. ve Monrad, J.K., 2010. Solubility of gallic acid, catechin, and protocatechuic acid in subcritical water from (298.75 to 415.85) K, Journal of Chemical & Engineering Data, 55, 9, 3101–3108.

Stahl, M.S., 2000. Classical antidepresants, serotonin selective reuptake inhibitors, and noradrenerjic reuptake inhibitors, pp.199-245, in:Stahl, M.S. (Editor), Essential Pyschopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Sweetana, S. ve Akers, M.J., 1996. Solubility principles and practices for parenteral drug dosage form development, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 50, 5, 330–342.

Teoh, W.H., 2012. Fundamental solubility study of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcritical water and ethanol mixtures, Doctor of Philosophy Thesis, UNSW, School of Chemical Engineering, Sydney, Australia.

Teoh, W.H., Mammucari, R., Vieira de Melo, S.A.B. ve Foster, N.R., 2013. Solubility and solubility modeling of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcritical water, Industrial & Engineering Chemistry Research, 52, 16, 5806–5814.

Teoh, W.H., Vieira de Melo, S.A.B., Mammucari, R. ve Foster, N.R., 2014. Solubility and solubility modeling of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcritical ethanol and water mixtures, Industrial & Engineering Chemistry Research, 53, 24, 10238−10248.

Teutenberg, T., 2009. Potential of high temperature liquid chromatography for the improvement of separation efficiency: a review, Analytica Chimica Acta, 643, 1–2, 1–12.

Thompson, J.D. ve Carr, P.W., 2002. A study of the critical criteria for analyte stability in high-temperature liquid chromatography, Analytical Chemistry, 74, 5, 1017–1023.

Tran, J.V., Molander, P., Greibrokk, T. ve Lundanes, E., 2001. Temperature effects on retention in reversed phase liquid chromatography, Journal of Chromatographic Science, 24, 12, 930–940.

Uematsu, M. ve Franck, E.U., 1980. Static dielectric constant of water and steam, Journal of Physical and Chemical Reference Data, 9, 4, 1291–1306.

Wang, N., Fu, Q. ve Yang, G., 2012. Determination of the solubility, dissolution enthalpy and entropy of icariin in water, ethanol, and methanol, Fluid Phase Equilibria, 324, 41–43.

Wenclawiak, B.W., Giegold, S. ve Teutenberg, T., 2008. High-temperature liquid chromatography, Analytical Letters, 41, 7, 1097–1105.

Wilson, I.D., 2000. Investigation of a range of stationary phases for the separation of model drugs by HPLC using superheated water as the mobile phase, Chromatographia, 52, 1, 28–34.

Xu, Q.A. ve Trissel, L.A., 1999. Stability-indicating HPLC methods for drug analysis, Pharmaceutical Press, London, UK.

Yalap, K.S. ve Balcıoğlu, I.A., 2008. Oksitetrasiklinin ileri oksidasyon ile arıtımına su bileşenlerinin etkisi, İTÜ Dergisi Su Kirlenme Kontrolü, 18, 2–3, 51–60.

Yalkowsky, S.H., 1999. Solubility and solubilization in aqueous media, First Edition, American Chemical Society Publication, Washington D.C., USA.

Yalkowsky, S.H., He, Y. ve Jain, P., 2010. Handbook of aqueous solubility data, Second Edition, CRC Press, Boca Raton, FL.

Yang, Y., Bowadt, S., Hawthorne, S.B., ve Miller, D.J., 1995. Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment, Analytical Chemistry, 67, 24, 4571–4576.

Yang, Y., Belghazi, M., Lagadec, A., Miller, D.J. ve Hawthorne, S.B., 1998. Elution of organic solutes from different polarity sorbents using subcritical water, Journal of Chromatography A, 810, 1–2, 149–159.

Yang, Y., 2006. A model for temperature effect on column efficiency in high-temperature liquid chromatography, Analytica Chimica Acta, 558, 1–2, 7–10.

Yang, Y. ve Hildebrand, F., 2006. Phenanthrene degradation in subcritical water, Analytica Chimica Acta, 555, 2, 364–369.

Yang, Y., 2007a. Subcritical water chromatography: A gren approach to high-temperature liquid chromatography, Journal of Separation Science, 30, 8, 1131–1140.

Yang, Y., Kayan, B., Bozer, N., Pate, B., Baker, C. ve Gizir A.M., 2007b. Terpene degradation and extraction from basil and oregano leaves using subcritical water, Journal of Chromatography A, 1152, 1–2, 262–267.

Yang, Y. ve Kapalavavi, B., 2011. Subcritical water chromatography-an economical and green separation technique, Encyclopedia of Analytical Chemistry, John Wiley & Sons, Ltd., 1–23.

Zhang, C.L., Wang, F.A. ve Wang, Y., 2007. Solubilities of sulfadiazine, sulfamethazine, sulfadimethoxine, sulfamethoxydiazine, sulfamonomethoxine, sulfamethoxazole, and sulfachloropyrazine in water from (298.15 to 333.15) K, Journal of Chemical & Engineering Data, 52, 5, 1563–1566.

Zhou, B., Cai, W. ve Zou, L., 2003. Thermodynamic functions for transfer of anthracene from water to (water + alcohol) mixtures at 298.15 K, Journal of Chemical & Engineering Data, 48, 3, 742−745.

Zumdahl, S.S., 2002. Chemical principles, Forth Edition, Houghton Mifflin Company, Boston, USA.

URL-1 Merey, G., 2016. İlaç kimyası ve endüstriyel uygulamaları (Ders notları). URL Adres: http://web.hitit.edu.tr/dersnotlari/gokcemerey_24.02.2016_2N9Y.pdf Erişim tarihi: 03.09.2019.

URL-2 < https://www.britannica.com/science/anticancer-drug >, Erişim tarihi: 25.01.2018.

URL-3 < http://sosyolojisi.com/antifungaller-nedir-antifungaller-ilaclar-ozellikleri/11545.html >, Erişim tarihi: 24.01.2019.

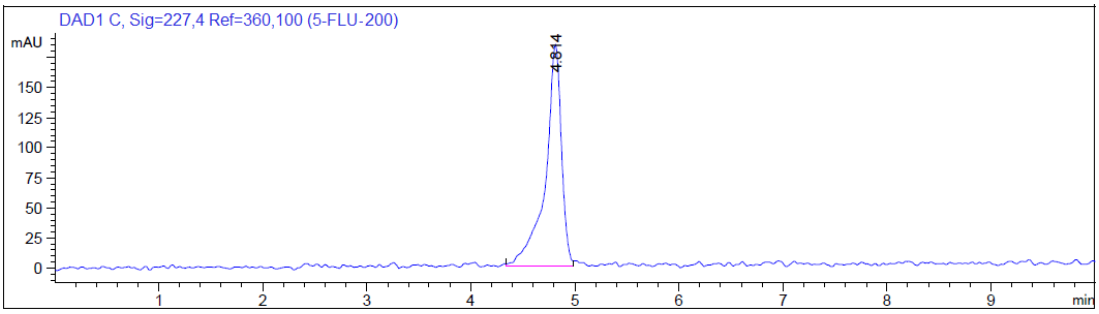
URL-4 < http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0014342 >, Erişim tarihi: 12.02.2020.

URL-5 <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/021323s032,021365s023lbl.pdf>, Erişim tarihi: 27.11.19.

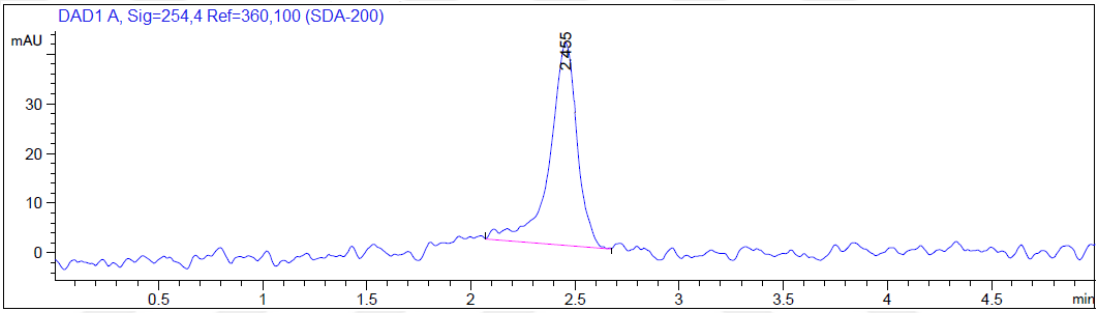
URL-6 < https://medicines.org.au/files/txpescit.pdf >, Erişim tarihi: 09.02.2020.

EKLER

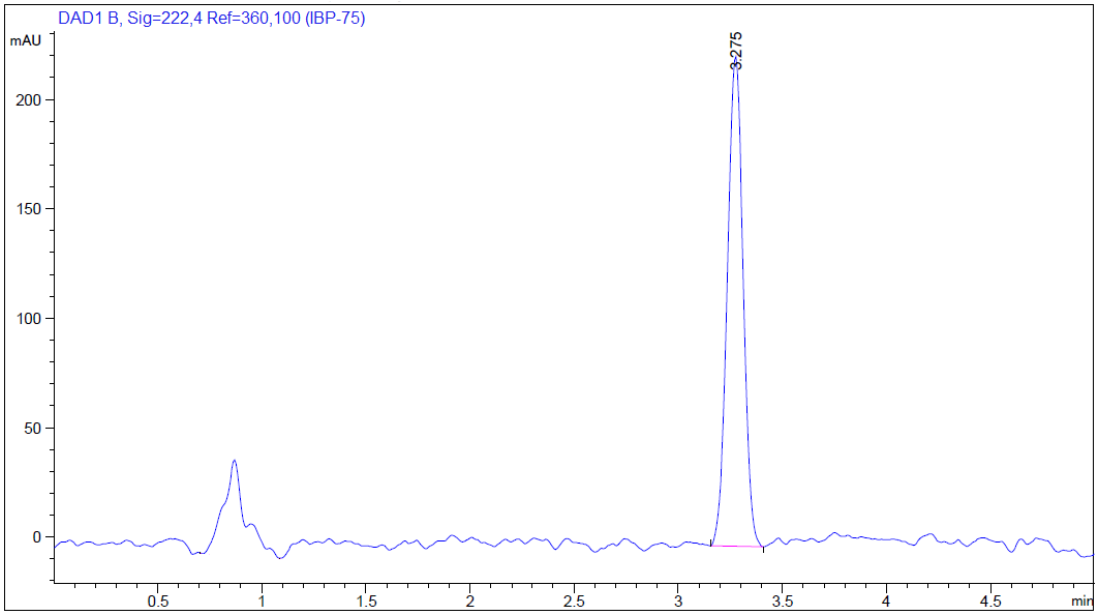
EK A. Subkritik sudaki çözünürlük ölçümlerinden elde edilen HPLC kromatogramları.



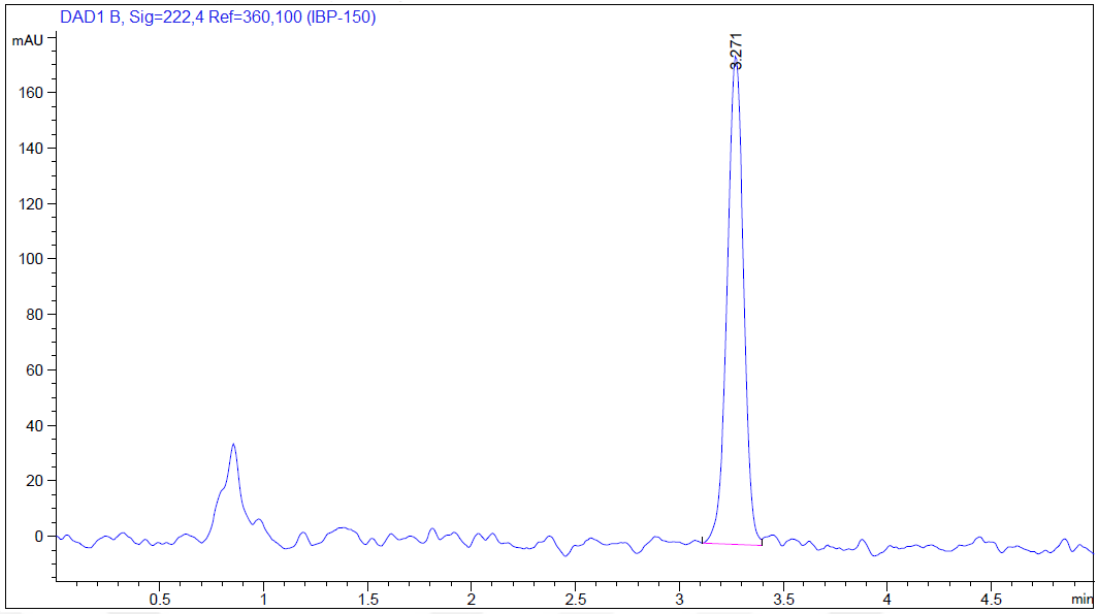
Şekil A.4a. 5-Florourasilin HPLC kromatogramı.

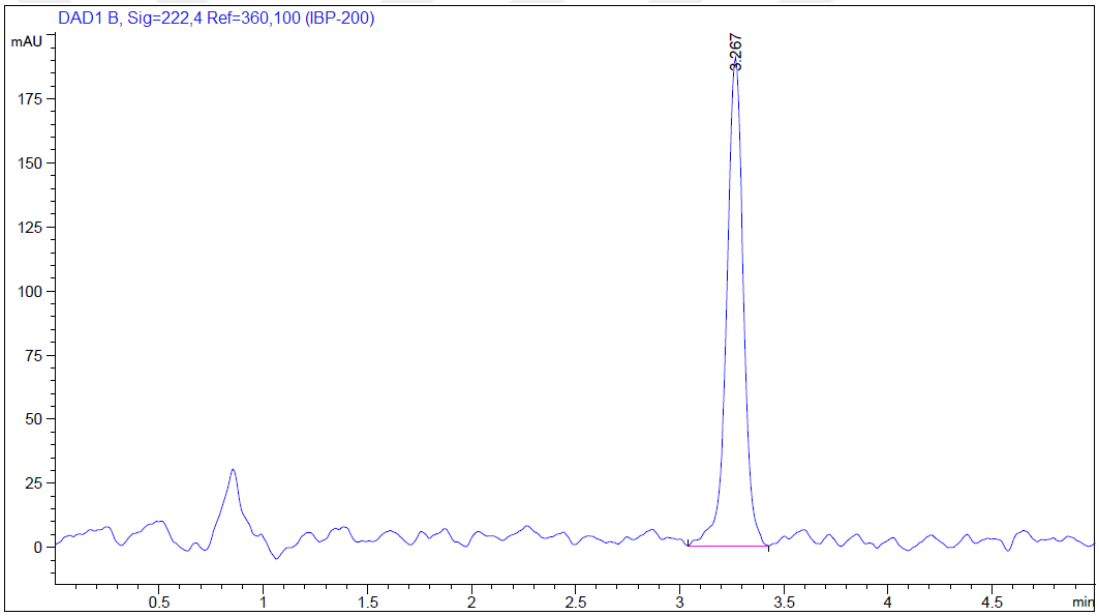


Şekil A.4b. Sülfadiazinin HPLC kromatogramı.

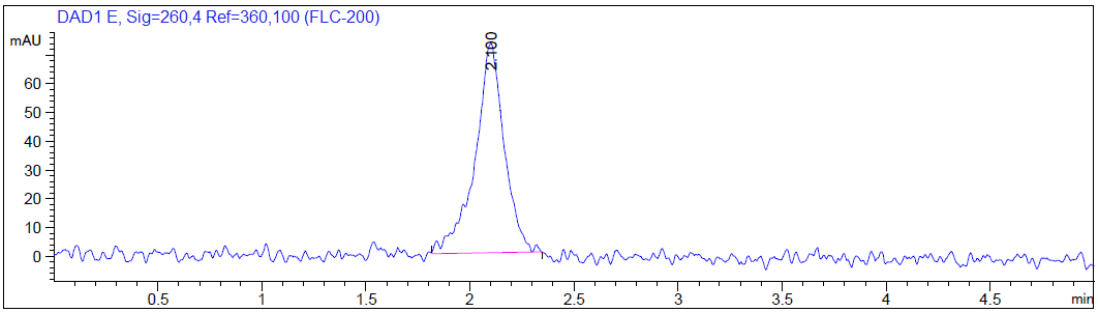


Şekil A.4c. İbuprofenin HPLC kromatogramları.

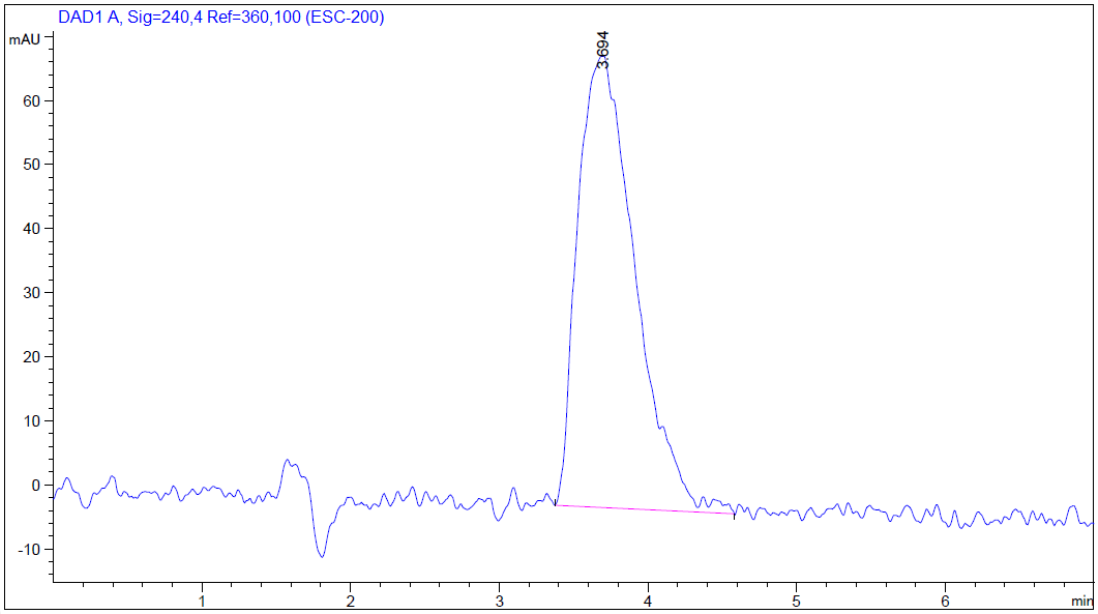




Şekil A.4c (devam). İbuprofenin HPLC kromatogramları.



Şekil A.4d. Flukonazolun HPLC kromatogramı.



Şekil A.4e. Essitalopram okzalatın HPLC kromatogramı.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı **:** Sema Akay

Adres **:** Aksaray/Merkez

E-posta adresi **:** sema.akay7@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2009-2013

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, 2013-2015

Doktora : Aksaray Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, 2016-

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Mercedes Benz-Türk Aksaray Kamyon Fabrikası / Yaz Stajı

2. Sabire Yazıcı Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Birincisi – Başarı Belgesi, Aksaray Üniveristesi, 2012-2013, Aksaray.

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Akay, S., Kayan, B. ve Yang, Y. 2017. Solubility and chromatographic separation of 5-fluorouracil under subcritical water conditions, Journal of Chemical & Engineering Data, 62, 4, 1538−1543.

2. Akay, S., Kayan, B. Cunbin, D., Wang, J. ve Yang, Y. 2018. Research of sulfadiazine using subcritical water and water+alcohol mixtures as the solvent: solubility and thermodynamic property, Journal of Molecular Liquids, 253, 270-276.

3. Akay, S. ve Kayan, B. 2020. Solubility and chromatographic studies of antifungal drug-fluconazole at high temperature conditions, Journal of Supercritical Fluids, *under review.*

4. Akay, S. ve Kayan, B. 2020. Solubility, chromatographic and thermodynamic studies of antidepressant drug-escitalopram at high temperature conditions, Journal of Molecular Liquids, *under review.*



Evrensel düşünen
yereli gözeten...