ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜPERKRİTİK AKIŞKAN ORTAMINDA FARMASÖTİK MADDELERİN TANECİK OLUŞUMUNUN İNCELENMESİ

Şebnem TUNA

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2006

Her hakkı saklıdır

Canım annem, babam ve kardeşim Burçin'e

Doç. Dr. Nuray YILDIZ danışmanlığında, Şebnem TUNA tarafından hazırlanan bu çalışma 09/03/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Afife GÜVENÇ

Üye : Doç. Dr. Nihal AYDOĞAN

Üye : Doç. Dr. Nuray YILDIZ

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SÜPERKRİTİK AKIŞKAN ORTAMINDA FARMASÖTİK MADDELERİN TANECİK OLUŞUMUNUN İNCELENMESİ

Şebnem TUNA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr.Nuray YILDIZ

İlaç etken maddelerinin vücut sıvısındaki çözünürlüğü çözünürlük hızına etki ederek ilacın gastrointestinal bölgede absorpsiyonunu azaltır ve ilacın biyouygulanabilirliğinin düşmesine neden olur. Tanecik büyüklüğü ilacın çözünürlüğünü belirleyen ve biyouygulanabilirliğine önemli ölçüde etki eden kritik bir parametredir. Bu nedenle vücut sıvısında çözünmeyen ilaçların biyouygulanabilirliği tanecik büyüklüğü düşürülerek artırılabilir. Günümüzde, kırma, öğütme, püskürterek ve dondurarak kurutma, sıvı anti-çözücüler kullanılarak çözeltilerden çözünen taneciklerin geri kristallendirilmesi gibi klasik yöntemlere alternatif olarak süperkritik akışkanlar tanecik tasarımında kullanılmaktadır. Süperkritik Akışkanların Ani Genleşmesi prensibine dayalı olan "**R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **F**luids, RESS" prosesi tanecik tasarımında süperkritik akışkanları kullanan yöntemlerden biridir.

Bu çalışmada, farmasötik endüstrisinin önemli girdilerinden olan salisilik asit (ağrı kesici, ateş düşürücü, akne tedavisi ve nasır ilaçlarında girdi maddesi) ve taksolun (kemoterapötik ilaç etken maddesi) RESS yöntemi ile tanecik oluşumu incelenmiştir.

Deneyler ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve RESS sisteminde gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak CO_2 ve CO_2+etanol karışımı kullanılmıştır. Çalışmalarda, süperkritik CO_2 ile salisilik asit tanecik büyüklüğüne etki eden temel işletme parametrelerinden ekstraksiyon sıcaklığı (45, 50, 55, 60^oC), basıncı (150, 200, 250 bar), öngenleşme (80, 100, 120, 130, 140^oC) ve genleşme odası sıcaklığı (0, 10, 20^oC), yardımcı çözücü etkisi (etanol, % 1, 2, 3), gaz dağıtıcı türü (kapiler ve orifis gaz dağıtıcı) ve taksol için ise tanecik büyüklüğüne ekstraksiyon basıncı (250, 300, 350 bar) ve yardımcı çözücü (etanol, %2, 5, 7) etkisi incelenmiştir. Elde edilen taneciklerin karakterizasyonu (büyüklük ve morfolojisi) ışık ve Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM), yapısında bozunma olup olmadığı UV, RAMAN spektrofotometresi ve LC-MS analizi ile belirlenmiştir.

Orijinal salisilik asitin tanecik büyüklüğü L/D:171/29–34/14 µm/µm arasında iken RESS ile elde taneciklerin, işletme parametrelerine bağlı olarak L/D:15.73/4.06 µm/µm'nin altına düştüğü bulunmuştur. Beyaz kristal toz şeklindeki taksolün tanecik büyüklüğünün ise 0.6-17 µm'den 0.3-1.7 µm'ye düştüğü belirlenmiştir. Sonuç olarak, salisilik asit ve taksolün RESS prosesi ile elde edilen tanecik büyüklüklerinin orijinale göre daha düşük olduğu ve işletme parametrelerinin tanecik büyüklüğünü etkilediği saptanmıştır.

2006, 133 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Süperkritik akışkanlar, RESS, tanecik büyüklüğü, salisilik asit, taksol

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION of PARTICLE SIZE of PHARMACEUTICAL AGENTS
in SUPERCRITICAL FLUIDS

Şebnem TUNA

Ankara Universitiy
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Solubility of the drugs in a biological fluids effects on the rate of dissolution. Their absorptions in the gastrointestinal tract are limited by their dissolution rates. Particle size is a critical parameter affecting solubility of a drug and bioavailability. Therefore, the bioavailabilty of the biological media insoluble drugs can be improved by reduction in their particle size.

Supercritical fluids have been employed to design the particles as alternative conventional techniques for reduction of particle size such as crushing, grinding, milling, spray drying, freeze-drying and recrystallization of the solute particles from solutions using liquid antisolvents. The RESS process is based on **R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **F**luids is one of the process using in particle design of supercritical fluids.

In this work, salicylic acid (analgesic, antipyretic, treatment of acne and corn) and taxol (chemotherapy) important pharmaceutical substances in the pharmaceutical industry, was investigated by RESS process.

In this study, Isco-Sitec modified SFX 220 supercritical fluid extraction and RESS system was used. Supercritical CO_2 and CO_2+ethanol mixture was used as solvent. In experimental study salicylic acid and taxol were micronized by RESS process and effects of the process parameters such as the extraction temperature (45, 50, 55, 60^oC) and pressure (150, 200, 250 bar), pre-expansion temperature (80, 100, 120, 130, 140^oC), expansion temperature (0, 10, 20^oC), spray distance (6, 9, 13 cm), co-solvent concentration (ethanol, 1, 2, 3%) and nozzle configuration (capillary and orifice nozzle) on the size of the precipitated salicylic acid were investigated. For taxol, the effects of extraction pressure (150, 200, 250 bar) and co-solvent concentration (ethanol, 2, 5, 7%) was investigated. The characterization of the particles is carried out using scanning electron microscopy (SEM), optical microscopy, UV, RAMAN spectroscopy and LC-MS analysis.

The particle size of the original salicylic acid particles was found L/D:171/29–34/14 μm/μm. Depending upon of the different experimental conditions, smaller particles (L/D:15.73/4.06 μm/μm) were obtained. The particle size of taxol like white crystal powders was reduced from 0.6-17 μm to 0.3-1.7 μm. The results show that the size of the precipitated salicylic acid and taxol particles was smaller than that of original particles and RESS parameters affect the particle size.

2006, 133 Pages

Key Words: Supecritical fluids, RESS, particle size, salicylic acid, taxol

ÖNSÖZ

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü ‘‘Süperkritik Akışkan Teknolojisi ile Nanoyapıdaki Farmasötik İlaç Etken Maddelerin Tasarımı’’ başlıklı ve A.Ü/BT-77 kodlu proje tarafından desteklenmiştir.

Tez çalışmamda farmasötük endüstrisinin önemli girdilerinden olan salisilik asit ve taksolun süperkritik akışkan ortamında tanecik oluşum süreci incelendi. Her çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da karşılaşılan zorluklar oldu. Bunların başında öndenemeler sırasında salisilik asitin sistemi tıkamasıydı. Bunun nedeni, salisilik asit etanol içinde çözüp sisteme çözelti şeklinde verilmesi ve bunun sonucunda da salisilik asitin çamurlaşarak hatları tıkamasıydı. Bu yöntemden vazgeçilip salisilik asiti destek maddesine emdirerek sistemde çalışıldı. Sonuçta sistemde tıkanmalar oluşmadığı görüldü. Önemli olan bir diğer nokta ise sistemin her deneyden sonra yıkanmasıydı. Sistemde karşılaştığım her bir sorun bana hem bir deneyim oldu hem de sistemi daha iyi tanımama sebep oldu. Soğutucu ile yaşadığım problem bana belli zamanlarda soğutucunun suyunun ve her deneye başlamadan soğutucu hortumlarının kontrol edilmesi gerektiğini gösterdi. Karşılaştığım en büyük sorun ise CO_2’in sisteme verildiği hatta bulunan vananın bozulmasıydı. Bu konuda ve sistemle ilgili bir sorun olduğunda hiçbir zaman bizi geri çevirmeyen TETRA (Teknolojik Sistemler, LTD. ŞTİ)’dan Raşit Bey’in (Bıyıklı) yardımlarını unutamam.

Yüksek lisans çalışmam süresince çalışmalarımda bana yol gösteren, yardımcı olan, bilgilerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nuray Yıldız’a, fikirleri ve tecrübeleriyle çalışmama ve hayatıma olumlu şeyler katıp bir adım daha ileri gitmemi sağlayan Sayın Prof. Dr. Ayla Çalımlı’ya, laboratuvardaki cihazların kullanımında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Murat Erol’a, deney sisteminin kurulmasını sağlayan, sistemi öğrenmemde ve deneylerime başlamamda katkısı olan, sorularıma uzaktayken bile her zaman cevap verebilen Dr. Uğur Salgın’a, çalışmamda karşılaştığım sorunları çözmeme yardımcı olan Araş.Gör. Onur Döker’e, araştırma grubu arkadaşlarımdan Öğre. Gör. Nuray Çelebi’ye, Araş.Gör. Atike Özcan’a, Araş. Gör. Aylin Geçer’e, yüksek lisans yaparken tanıştığım, zaman geçtikçe iyi bir dost olan, sıkıntılarımda ve mutlu olduğum zamanlarda yanımda olup paylaşan Mihrican Aydoğmuş’a ve grubumuza sonradan katılan, kısa zamanda sempatisi, güler yüzü ile arkadaşlığını gösteren Burcu Cengiz’e, çalışmalarım sırasında RAMAN spektrofotometresi ile analiz yapmamızı sağlayan Sayın Doç.Dr. Burhanettin Çiçek’e, A.Ü. Biyoloji bölümü Palinoloji laboratuvarında mikroskoplarını kullandığım Sayın Prof.Dr. Münevver Pınar’a, bu konuda bana yardımcı ve destek olan biyolog Araş.Gör. Şenol Alan’a, yakınlıklarını ve dostluklarını her zaman hissettiren Zeynebime (Özer), Gül Akdoğan’a, Ayşegül Namuslu’ya, Mehmet Bozdemir’e ve Ali Kemal Kul’a, evden daha çok zamanımın geçtiği okuldaki yüksek lisans çalışmam süresince bana karşı anlayışlı, sabırlı ve yanımda olan, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, değerli aileme bütün içtenliğimle teşekkürler ediyorum.

Şebnem TUNA
Ankara, Mart 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ iii
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
ÇİZELGELER DİZİNİ xiii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1 Süperkritik Akışkanlar 3
2.2 Süperkritik Akışkan Teknolojisi 5
2.2.1 Süperkritik akışkanların ani genleşmesi sistemi (Rapid Expansion of Supercritical Solutions, RESS) 6
2.2.2 Süperkritik anti çözücü sistemleri 10
2.3 Tanecik Tasarımı Sistemlerinin Karşılaştırılması 16
2.4 Farmasötik Endüstrisinde Tanecik Büyüklüğünün Önemi 18
2.5 Salisilik asit 20
2.6 Taksol® (Paklitaksel) 22
2.7 Kaynak Araştırması ve Kaynak Araştırması Bulgularının Değerlendirilmesi 27
2.7.1 Kaynak araştırması 27
2.7.2 Kaynak araştırması bulgularının değerlendirilmesi 55
3. MATERYAL ve YÖNTEM 59
3.1 Materyal 59
3.2 Yöntem 59
3.2.1 RESS yöntemi ile taneciklerin oluşturulması 59
3.2.2 Tanecik morfoloji ve büyüklüğünün belirlenmesi 62
3.2.3 Tanecik analizi 63
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 64
4.1 Salisilik Asitin Tanecik Büyüklüğüne RESS İşletme Parametrelerinin Etkisi 64
4.1.1 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi 66

4.1.2 Ekstraksiyon basıncının etkisi 70
4.1.3 Öngenleşme sıcaklığının etkisi 73
4.1.4 Genleşme odası sıcaklığının etkisi 77
4.1.5 Püskürtme uzaklığı 81
4.1.6 Yardımcı çözücü etkisi 84
4.1.7 Gaz dağıtıcı türü 88
4.2 Salisilik Asit Taneciklerinin Analizi 90
4.2.1 UV spektrofotometresi ile analizi 91
4.2.2 RAMAN spektrofotometresi ile analizi 91
4.2.3 LC-MS analizi 93
4.3 Taksol Tanecik Büyüklüğüne RESS İşletme Parametrelerinin Etkisi 96
4.4 Taksol Taneciklerinin LC-MS Analizi 100
5. SONUÇLAR 103
6. ÖNERİLER 105
KAYNAKLAR 106
EKLER 111
EK 1. RESS ile elde edilen salisilik kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi .. 111
EK 2. Salisilik asitin UV spektrofotometresi ile analizi 113
EK 3. Salisilik asitin RAMAN spektrofotometresi ile analizi 115
ÖZGEÇMİŞ 116

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Saf bir maddenin sıcaklık-basınç faz diyagramı (http://www.eiffeltechnologies.com.au/html) 3
Şekil 2.2 CO_2 basınç-sıcaklık diyagramı (www2.kobeu.ac.jp/~minamihi/work/studya3S2.html) 5
Şekil 2.3 RESS sistemi (Jung and Perrut 2001) 7
Şekil 2.4 RESS genleşme yolu (Hirunsit *et al.* 2005) 8
Şekil 2.5 RESS genleşme yolu boyunca hız ve yoğunluk profilleri (Kapiler gaz dağıtıcı L/D=1/50 cm/µm, $T_{öngen}$=318 K, $P_{öngen}$=16 MPa) (Hirunsit *et al.* 2005) 9
Şekil 2.6 RESS genleşme yolu boyunca sıcaklık ve basınç profilleri (Kapiler gaz dağıtıcı L/D=1/50 cm/µm gaz dağıtıcı, $T_{öngen}$=318 K, $P_{öngen}$=16 MPa) (Hirunsit *et al.* 2005) 9
Şekil 2.7 GAS sistemi (www.crnnt.bham.ac.uk/Particles) 12
Şekil 2.8 SAS sistemi (Fages *et al*. 2004) 13
Şekil 2.9 ASES sistemi (Jung and Perrut 2001) 14
Şekil 2.10 SEDS sistemi (Jung and Perrut 2001) 15
Şekil 2.11 PGSS Sistemi (Jung and Perrut 2001) 16
Şekil 2.12 Salisilik asitin yapısı (http://chemfinder.com) 20
Şekil 2.13 Salisilik asitin türevleri (http://chemfinder.com) 21
Şekil 2.14 *Taxus brevifolia* 23
Şekil 2.15 Taksolun yapısı (http://gc.discussing.info/whoiam/others/taxol.html) 23
Şekil 2.16 Taksolun fonksiyonel grupları (http://gc.discussing.info/whoiam/others/taxol.html) 24
Şekil 2.17 a. Klasik yöntem ile, b. Süperkritik akışkan teknoloji ile elde edilen Steroit tanecikleri (http://www.phasex4scf.com/supercritical markets) 27
Şekil 2.18 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi a. $T_{öngen}$=110^oC, b. $T_{öngen}$=130^oC 28
Şekil 2.19 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine genleşme odası sıcaklığının etkisi a. T_{gen}=10^oC (iğne), b. T_{gen}=0^oC (küresel) 28

Şekil 2.20 RESS ile elde edilen progesteron taneciklerine ekstraksiyon basıncının etkisi a. P_{eks}=130 bar, b. P_{eks}=150 bar (T_{eks}=60^{o}C, T_{gen}=40^{o}C, P_{gen}=1 bar).. 29
Şekil 2.21 RESS ile elde edilen progesteron taneciklerine genleşme odası basıncının etkisi a. P_{gen}=1 bar, b. P_{gen}=50 bar (T_{eks}=60^{o}C, T_{gen}=40^{o}C, P_{eks}=150 bar) ... 30
Şekil 2.22 Progesteron tanecikleri a. RESS (T_{eks}=60^{o}C, P_{eks}=150 bar, T_{gen}=40^{o}C, P_{gen}=1 bar), b. Öğütme ... 31
Şekil 2.23 RESS ile elde edilen naftalin kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi a. $T_{öngen}$=87^{o}C, b. $T_{öngen}$=105^{o}C, c. $T_{öngen}$=125^{o}C ... 32
Şekil 2.24 RESS ile elde edilen naftalin, fenantren optik mikroskop görüntüsü a. Saf naftalin, b. Saf fenantren, c. X_{na}=0.86, d. X_{na}=0.42, e. X_{na}=0.24 (T_{eks}=35^{o}C, P_{eks}=14 MPa, $T_{öngen}$=135^{o}C, T_{gen}=35^{o}C, P_{gen}=2.5 MPa) ... 34
Şekil 2.25 Fenantren taneciklerinin SEM görüntüleri a. Kapiler gaz dağıtıcı, b. 5 μm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı ... 36
Şekil 2.26 Salisilik asit a. Kapiler gaz dağıtıcı, b. 5 μm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı Aspirin c. Orijinal, d. kapiler gaz dağıtıcı kristallerinin SEM görüntüleri ... 36
Şekil 2.27 5 μm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı kullanılarak üretilen benzoik asit kristallerinin SEM görüntüleri a. G=0.1g/s, b. G=0.3 g/s ... 37
Şekil 2.28 a.Orijinal benzoik asit, b. SC-CO_2'de RESS ile elde edilen benzoik asit tanecikleri ($P_{öngen}$=20 MPa, T_{eks}=317 K, $T_{öngen}$=350 K, $T_{gazdağ}$=373 K) ... 39
Şekil 2.29 SC-CHF_3'de RESS ile elde edilen benzoik asit tanecikleri ($P_{öngen}$=13 MPa, T_{eks}=325 K, $T_{öngen}$=351 K, $T_{gazdağ}$=373 K) ... 40
Şekil 2.30 Değişik öngenleşme koşullarında CHF_3/Griseofulvin ve CO_2/β-sitosterol tanecik büyüklüğü ... 41
Şekil 2.31 RESS ile üretilmiş a. Griseofulvin, b. β-sitosterol tanecikleri ... 41
Şekil 2.32 Değişik öngenleşme koşullarında CO_2/benzoik asit tanecik büyüklüğü ... 42
Şekil 2.33 Değişik şekillerde üretilmiş griseofulvin taneciklerinin çözünme oranı (pH=7.4 yapay bağırsak ortamı) ... 43
Şekil 2.34 Orijinal ibuprofen parçacıklarının SEM görüntüsü a. Ultrasonik titreşimden önce, b. Ultrasonik titreşimden sonra, c. TBD ... 44

Şekil 2.35 RESS ile çöktürülen ibuprofen parçacıklarının SEM görüntüsü a. Ultrasonik titreşimden önce, b. Ultrasonik tireşimden sonra, c. TBD (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=20 mm, Çarpma açısı=90^{o}, $T_{gazdağ}$=125^{o}C, $T_{öngen}$=88^{o}C) 45
Şekil 2.36 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne öngenleşme sıcaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C). 46
Şekil 2.37 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne ekstraksiyon basıncının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=60 mm, Çarpma açısı=90^{o}) 46
Şekil 2.38 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne püskürtme uzaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, Çarpma açısı=90^{o}) 47
Şekil 2.39 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne çarpma açısının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=35 mm) 47
Şekil 2.40 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne kapiler gaz dağıtıcı uzunluğunun etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{püs}$=35 mm, Çarpma açısı=90^{o}) 48
Şekil 2.41 Ibuprofenin XRD analizi a. Orijinal, b. RESS ile elde edilmiş tanecikler 48
Şekil 2.42 Orijinal aspirin taneciklerinin optik mikroskop görüntüsü..... 49
Şekil 2.43 RESS ile elde edilen aspirin taneciklerinin SEM görüntüleri ve tanecik büyüklüğü dağılımı a. T_{eks}=50^{o}C, b. T_{eks}=60^{o}C (P_{eks}=160 bar, $D_{gazdağ}$=60 μm) 50
Şekil 2.44 RESS ile elde edilen aspirin taneciklerinin SEM görüntüleri ve tanecik büyüklüğü dağılımı a. Jet merkezi, b. Jet sonu (P_{eks}=160 bar, T_{eks}=70^{o}C, $D_{gazdağ}$=350 μm), c. Tanecik büyüklüğü dağılımı 51
Şekil 2.45 a. Orijinal titanyum diklorür, b. RESS ile elde edilen titanyum diklorür taneciklerinin SEM görüntüleri (T_{eks}=403.15 K, P_{eks}=20 MPa, gaz dağıtıcı L/D=83)..... 52
Şekil 2.46 İbuprofenin farklı öngenleşme basınçlarında genleşme yolu boyunca a. Çekirdeklenme hızı, b. Tanecik büyüklüğü, c. Çekirdek derişimi ($T_{öngen}$=318 K, $D_{gazdağ}$=50 μm, $L_{gazdağ}$=1 cm)..... 54

Şekil 2.47 Ibuprofenin farklı öngenleşme sıcaklıklarında genleşme yolu boyunca a. Çekirdeklenme hızı, b. Tanecik büyüklüğü ($P_{öngen}$=16 MPa, $L/D_{gazdağ}$=1/50 cm/μm) 55
Şekil 2.48 Benzoik asitin CO_2 ve CHF_3'deki denge mol kesrinin sıcaklık ve basınca göre değişimi (Helfgen *et al.* 2000)..... 57
Şekil 3.1 ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve RESS sistemi 59
Şekil 3.2 ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyon ünitesi 60
Şekil 3.3 Thoma lamının şematik gösterimi..... 62
Şekil 4.1 Salisilik asitin SC-CO_2'deki çözünürlüğü (Reverchon *et al.* 1993)..... 64
Şekil 4.2 Orijinal Salisilik asitin SEM görüntüsü..... 65
Şekil 4.3 Farklı işletme sürelerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı..... 66
Şekil 4.4 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/min)..... 67
Şekil 4.5 Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 68
Şekil 4.6 Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 69
Şekil 4.7 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine ekstraksiyon basıncının etkisi (T_{eks}=50^oC, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/ min) 70
Şekil 4.8 Farklı ekstraksiyon basınçlarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 71
Şekil 4.9 Farklı ekstraksiyon basınçlarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 72
Şekil 4.10 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=150 bar, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/ min)..... 74
Şekil 4.11 Farklı öngenleşme sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 75
Şekil 4.12 Farklı öngenleşme sıcaklıklarındaRESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 76

Şekil 4.13 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine genleşme odası sıcaklığının etkisi 78
Şekil 4.14 Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 79
Şekil 4.15 Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 80
Şekil 4.16 Salisilik asitin CO_2'deki çözünürlüğü (T=330 K) (Ksibi, 2004) 81
Şekil 4.17 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine püskürtme uzaklığının etkisi 82
Şekil 4.18 Farklı püskürtme uzaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 83
Şekil 4.19 Farklı püskürtme uzaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 84
Şekil 4.20 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine yardımcı çözücü (etanol) derişiminin etkisi 85
Şekil 4.21 Farklı yardımcı çözücü derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 86
Şekil 4.22 Farklı yardımcı çözücü derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı 86
Şekil 4.23 Salisilik asit 87
Şekil 4.24 Salisilik asitin SC-CO_2-etanol'deki çözünürlüğü (Ke *et al*. 1996) 87
Şekil 4.25 Salisilik asit-CO_2-etanol sistemi için yoğunluğun basınç ile değişimi 88
Şekil 4.26 SC-CO_2'de RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 89
Şekil 4.27 SC-CO_2-%2 etanol'de RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı 89
Şekil 4.28 Farklı öngenleşme sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. orijinal, b. 80^oC, c. 100 ^oC, d. 120 ^oC, e.130 ^oC, f. 140^oC 91
Şekil 4.29 Orijinal salisilik asitin RAMAN spektrumu 92
Şekil 4.30 SC-CO_2'de RESS ile elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumu. (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm) 93

Şekil 4.31 Salisilik asitin LC-MS analizi a. Orijinal, b. SC-CO_2'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm) 94
Şekil 4.32 Salisilik asitin kütle spektrumları a. Orijinal, b. SC-CO_2'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm) 95
Şekil 4.33 Taksolun SC-CO_2'deki çözünürlüğü (Vandana ve Teja 1997) 96
Şekil 4.34 Orijinal Taksolun SEM görüntüsü 97
Şekil 4.35 RESS ile elde edilen taksol kristallerine ekstraksiyon basıncının etkisi (T_{eks}=50^oC, $T_{öngen}$=90^oC, T_{gen}=10^oC, q=4.5 ml/min)..... 98
Şekil 4.36 RESS ile elde edilen taksol kristallerine yardımcı çözücü etkisi (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110^oC, T_{gen}=10^oC, q=4.5 ml/min) 99
Şekil 4.37 Taksolun LC-MS analizi a. Orijinal, b. SC-CO_2-%3 Etanol'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm) 101
Şekil 4.38 Taksolun kütle spektrumları a. Orijinal, b. SC-CO_2-%3 Etanol'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm) 102
Ek 1 Şekil 1. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=100^oC)……..….111
Ek 1 Şekil 2. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=120^oC)……..111
Ek 1 Şekil 3. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=130^oC)…….……..…112
Ek 2 Şekil 1. Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 0^oC, c. 10 ^oC, d. 20 ^oC….....113
Ek 2 Şekil 2. Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 45^oC, c. 50 ^oC, d. 55^oC, e. 60 ^oC…….....….113
Ek 2 Şekil 3. Farklı ekstraksiyon basıncında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 150 bar, c. 200 bar, d. 250 bar…….....114

Ek 2 Şekil 4. Farklı etanol derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. % 1, c. % 2, d. % 3.....114
Ek 3 Şekil 1. SC-CO_2-etanol'de RESS ile elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumu (%Etanol=3, T_{eks}=50^oC, P_{esk}=250 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC.....115

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Bazı süperkritik akışkanlar ve kritik değerleri (Tom and Debenedetti 1991) 4
Çizelge 2.2 Tanecik üretiminde kullanılan süperkritik akışkan teknolojilerinin avantaj ve dezavantajları (Jung and Perrut 2001) 18
Çizelge 2.3 Salisilik asitin fiziksel ve kimyasal özelikleri (http://chemfinder.com) 21
Çizelge 2.4 Salisilik asitin kullanım yerleri ve yan etkileri (http://www.inchem.org/documents/pims/pharm, http://encyclopedia.thefreedictionary.com/salicylic+acid) 22
Çizelge 2.5 Taksolun fiziksel ve kimyasal özelikleri (http://chemfinder.com) 25
Çizelge 2.6 Taksolun kullanım yerleri ve yan etkileri (www.pslgroup.com/dg/fabde.htm, http://www.cancerbacup.org.uk/info/taxol.htm) 26
Çizelge 3.1 Salisilik asit için kapiler gaz dağıtıcı ile (L=3-4 mm, D=50 μm) RESS süreci işletme parametreleri 61
Çizelge 3.2 Salisilik asit için orifis gaz dağıtıcı (300 μm 24^{o}) ile RESS süreci işletme parametreleri 61
Çizelge 3.3 Taksol için orifis gaz dağıtıcı (300 μm, 24^{o}) ile RESS süreci işletme parametreleri 62
Çizelge 4.1 Ekstraksiyon sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 68
Çizelge 4.2 Ekstraksiyon basıncının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 71
Çizelge 4.3 Öngenleşme sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 77
Çizelge 4.4 Genleşme odası sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 79
Çizelge 4.5 Püskürtme uzaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 83
Çizelge 4.6 Yardımcı çözücü derişiminin salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 85

Çizelge 4.7 Farklı gaz dağıtıcı türlerinde yardımcı çözücü derişiminin salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi 90

1. GİRİŞ

Son yıllarda ilaç endüstrisinde ilaçların doz miktarları artırılmadan vücut içerisindeki aktivitesini geliştirmek amacı ile nano ya da mikro yapıda taneciklerden yararlanılmaktadır. Örneğin aerosol olarak vücuda gönderilen bazı ilaçların akciğerlerdeki etkinliğinin artırılması ve doz miktarının düşürülmesi için büyüklüklerinin genel olarak 1–5 μm arasında dağılım göstermesi istenmektedir; ancak birçok araştırma grubuna göre de bu büyüklüğün 1– 3 μm aralığında olması gerektiğidir (Reverchon and Spada 2004, Reverchon and Adami 2006).

Vücut sıvısı içinde çözünürlüğü düşük olan ilaçların biyouygulanabilirliğinin artırılması için tanecik büyüklüğünün düşürülmesi önem taşımaktadır. Birçok ilaç etken maddesinin vücut sıvısı içindeki çözünürlüğü zayıftır. Çözünürlüğün düşük olması çözünürlük hızına etki ederek ilacın gastrointestinal bölgede absorpsiyonunu azaltır ve ilacın biyouygulanabilirliğinin zayıflamasına neden olur. İlacın biyolojik kullanılabilirliği anlamına gelen biyouygulanabilirlik vücut tarafından hedef bölgede adsorplanan etken madde miktarının vücuda gönderilen etken madde miktarına oranı olarak tanımlanmaktadır. Vücuda gönderilen ilaç öncelikle vücut sıvısı içinde çözünmeli sonra vücut tarafından absorbe olmalıdır. Bir maddenin bir çözücü içindeki çözünürlüğü; çözücünün çözme gücüne dolayısı ile ortamın sıcaklık ve basınç değerlerine ve çözünenin tanecik büyüklüğüne bağlıdır. Vücut içinde sıcaklık ve basınç değerleri değiştirilemeyeceğine göre çözücünün çözme gücü de değiştirilemez. Bu nedenle vücut sıvısında çözünmeyen ilaçların biyouygulanabilirliği tanecik büyüklüğünün düşürülmesi, dolayısıyla yüzey alanının artırılması ile geliştirilebilir. Bu sayede ilaçların dozunu azaltmak da mümkündür (Türk *et al.* 2002a, Kayrak *et al.* 2003, Vasukumar and Bansal 2003).

İlaç endüstrisinde mikro ya da nano yapıda tanecik elde etmek için kırma, öğütme, spray kurutucu, dondurarak kurutma ve sıvı anti-çözücüler kullanılarak çözeltilerde çözünen taneciklerin geri kristallendirilmesi gibi çeşitli klasik teknikler kullanılmaktadır. Yüksek enerji tüketimi, üründe çözücü atığı kalması, yüksek miktarda

çözücü kullanımı, çözücü uzaklaştırma problemleri, geniş tanecik büyüklük dağılımı ve ürünlerin ısıl ve kimyasal bozunması bu klasik tekniklerin dezavantajlarıdır. Klasik yöntemlerin bu dezavantajları nedeniyle son yıllarda süperkritik akışkanlar kullanılarak tanecik üretimi üzerine çalışmalar artmıştır (Kayrak *et al*. 2003).

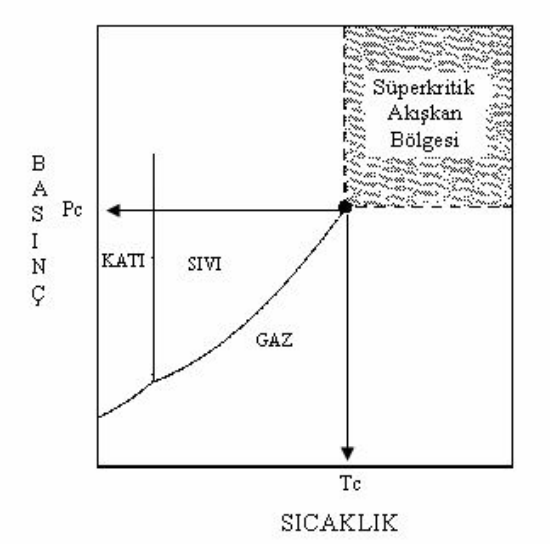
Süperkritik Akışkanların Ani Genleşmesi prensibine dayalı olan "**R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **F**luids, RESS" prosesi tanecik tasarımında süperkritik akışkanları kullanan yöntemlerden biridir. RESS ile elde edilen taneciklerin büyüklük ve dağılımı RESS işletme parametreleri (genleşme odası sıcaklığı ve basıncı, püskürtme uzaklığı, gaz dağıtıcısı geometrisi, ön genleşme sıcaklığı, ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı) ile kontrol edilmektedir (Jung and Perrut 2001).

Bu yüksek lisans çalışmasının amacı, kemoterapötik ilaç etken maddesi olan taksol ve iltihap giderici, ağrı kesici, ateş düşürücü, akne tedavisi ve nasır ilaçlarında girdi maddesi olarak kullanılan salisilik asitin süperkritik akışkan ortamında RESS prosesi ile tanecik oluşumunun incelenmesidir. RESS süreci ile elde edilen salisilik asit tanecik büyüklüğüne temel işletme parametrelerinden ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı, öngenleşme ve genleşme odası sıcaklığı, gaz dağıtıcısı geometrisi ve yardımcı çözücü (etanol) etkisi, taksol tanecik büyüklüğüne ise ekstraksiyon basıncı ve yardımcı çözücü (etanol) etkisi belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Süperkritik Akışkanlar

Her maddenin bir kritik sıcaklığı (T_c) ve basıncı (P_c) vardır. Maddenin kritik sıcaklığı ve basıncı, gaz ve sıvı fazların bir arada bulunabildiği en yüksek sıcaklık ve basınçtır. Maddeye, kritik sıcaklığının ve kritik basıncının üzerinde koşullar uygulandığında "SÜPERKRİTİK AKIŞKAN (SKA)"lar elde edilir. Kritik nokta maddenin gaz ve sıvı fazlarının bir arada bulunduğu en yüksek sıcaklık ve basınçtır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Saf bir maddenin sıcaklık-basınç faz diyagramı
(http://www.eiffeltechnologies.com.au/html)

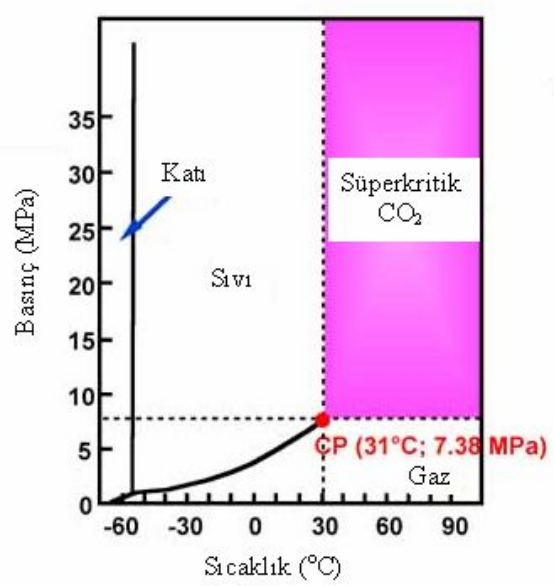
Süperkritik akışkanların özelikleri gazlarla sıvılar arasındadır. Genellikle yoğunlukları sıvılarınkine, viskoziteleri gazlarınkine yakınlık gösterir. Süperkritik akışkan bölgesinde sıvı ve gaz faz arasındaki farklılık ortadan kalkar ve bu bölgede akışkanın en önemli özeliği yoğunluk, viskozite, yayınırlık gibi fiziksel özeliklerinin sıcaklığa ve basınca oldukça duyarlı olmasıdır. Basınçtaki küçük bir artış akışkanın yoğunluğunu artırarak çözme gücünü sıvılardan daha kolay kontrol edilebilir hale getirir. Diğer yandan süperkritik akışkanın sıvılara göre yayınırlık katsayısı daha yüksek, viskozitesi ve yüzey

gerilimleri ise daha düşüktür. Bu durum kütle aktarımının daha kolay olmasını sağlar. Akışkanın yoğunluğu ve çözme gücü arasındaki yakın ilişki ve kütle aktarım özelikleri süperkritik akışkanları ekstraksiyon, ayırma prosesleri ve tanecik üretme prosesleri için uygun hale getirir.

Süperkritik akışkan proseslerinde değişik çözücüler kullanılmaktadır (Çizelge 2.1). Genelde kullanılan çözücü ise CO_2'dir. CO_2'in kritik sıcaklığı (T_c=31.0^oC) ve kritik basıncı (P_c=73.8 bar) oldukça düşüktür (Şekil 2.2). Polar olmayan bir çözücü olan CO_2, inert, zehirli, yanıcı ve patlayıcı değil, ucuz, gıda ve farmasötik maddeler için zararsızdır (Sihvonen *et al*. 1999, Vasukumar and Bansal 2003).

Çizelge 2.1 Bazı süperkritik akışkanlar ve kritik değerleri (Tom and Debenedetti 1991)

Çözücü	P_c (bar)	T_c (^oC)	Kritik Yoğunluk (g/ml)
Karbon dioksit	**73.8**	**31.0**	**0.468**
Propan	42.5	96.8	0.217
n-Pentan	33.7	196.6	0.237
Propilen	46.0	91.8	0.232
Etanol	61.4	240.8	0.276
Su	221.2	374.1	0.315



Şekil 2.2 CO_2 basınç-sıcaklık diyagramı (www2.kobeu.ac.jp/~minamihi/work/studya3S2.html)

2.2 Süperkritik Akışkan Teknolojisi

Kimyasal ve biyokimyasal süreçlerde bir çok uygulama alanına alternatif olarak gösterilen teknolojilerden biri de süperkritik akışkan teknolojisidir. Süperkritik akışkan teknolojisi ilaç etken maddelerinin ekstraksiyonu, sentezi, mikrokapsüllemesi ve nanoyapıdaki taneciklerinin oluşturulmasında potansiyel ve etkin bir teknolojidir. Bunlardan tanecik tasarımı, süperkritik akışkan uygulamalarının en önemli gelişimidir ve temel olarak ilaç, kozmetik ve kimya endüstrilerinde uygulanmaktadır (Jung and Perrut 2001).

Süperkritik akışkanlar ile tanecik oluşumunda dar büyüklük dağılımı ile mikro ya da nano yapıda tanecikler elde edilir. Proses koşulları kolaylıkla ayarlanabilir ve organik çözücü nadiren kullanılır. Bunların yanında, yüksek saflıkta ürün, kristal büyüklüğü ve morfolojisinin kontrolü mümkündür (Vasukumar and Bansal 2003, Fages *et al*. 2004).

Süperkritik akışkanlar ile mikro ya da nano taneciklerin sentezinde geliştirilen yöntemler şunlardır:

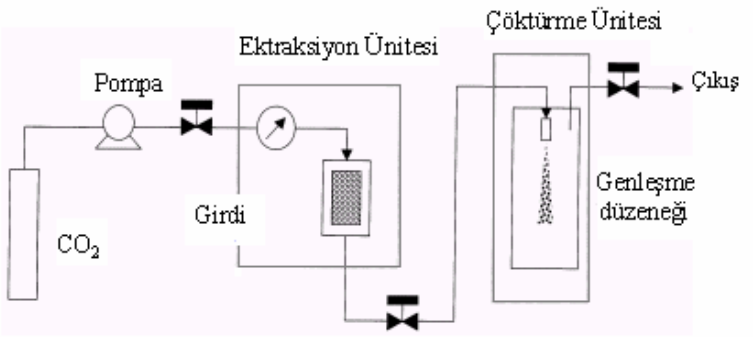
1. Süperkritik akışkanların ani genleşmesi sistemi (**R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **S**olutions, RESS)
2. Süperkritik anti-çözücü sistemleri
   - Gaz ya da süperkritik akışkan anti-çözücü (**G**as **A**nti-**S**olvent/**S**upercritical **A**nti-**S**olvent, GAS/SAS)
   - Aerosol çözücü ekstraksiyon sistemi (**A**erosol **S**olvent **E**xtraction **S**ystem, ASES)
   - Süperkritik akışkanlarla dağılımı yükseltilmiş çözelti (**S**olution **E**nhanced **D**ispersion by **S**upercritical Fluids, SEDS)
3. Gazla doyurulmuş çözeltiden ya da süspansiyondan tanecik oluşumu (**P**articles from **G**as-**S**aturated **S**olutions/ Suspensions, PGSS) (Jung and Perrut 2001).

2.2.1 Süperkritik akışkanların ani genleşmesi sistemi (Rapid Expansion of Supercritical Solutions, RESS)

RESS sistemi, ekstraksiyon ve çöktürme (genleşme) olmak üzere iki üniteden oluşur (Şekil 2.3). Ekstraksiyon ünitesinde, SKA girdiyi belli bir sıcaklık ve basınçta çözer. Oluşan süperkritik çözelti genleşme ünitesinde gaz dağıtıcıdan (nozzle) geçerek atmosfer koşullarına ani genleşmesi ile mikro ya da nano yapıda tanecikler çökelir. Genleşme sırasında basınçtaki düşme, SKA'nın yoğunluğunu ve çözme gücünü azaltarak aşırı doygun hale gelen girdinin çökmesini sağlar. Çöktürülen tanecikler dar büyüklük dağılımına sahip olur. Tanecik büyüklüğü ve dağılımı RESS çalışma parametreleri (genleşme odası sıcaklığı ve basıncı, püskürtme uzaklığı, gaz dağıtıcısı geometrisi, öngenleşme sıcaklığı, ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı) ile kontrol edilir (Sihvonen *et al*. 1999, Jung and Perrut 2001, Vasukumar and Bansal 2003).

Girdinin SKA'nda çözünürlüğünün düşük olması, fazla akışkan tüketimi ve sistemin pahalı olması RESS prosesini sınırlayan etkenlerdir. Bundan dolayı süperkritik CO_2'de

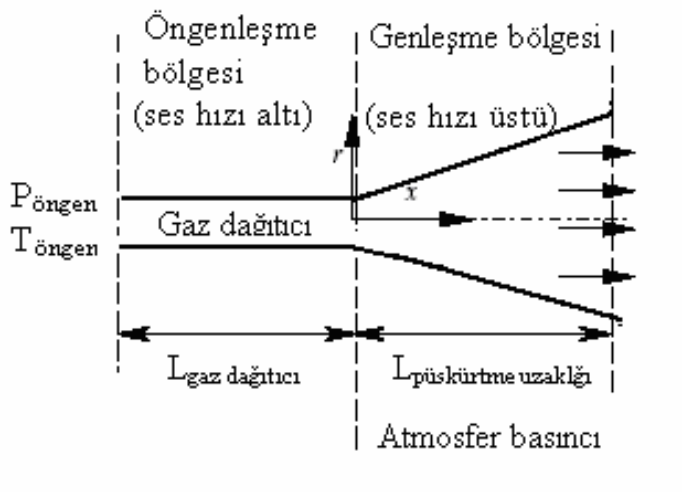
çözünürlüğü düşük maddelerin çözünürlüğünü artırmak için yardımcı çözücü (etanol, aseton vb.) kullanılabilir. Fakat üründen çözücü uzaklaştırılması RESS prosesini sınırlayabilir (Knez and Weidner 2003, Fages *et al.* 2004)



Şekil 2.3 RESS sistemi (Jung and Perrut 2001)

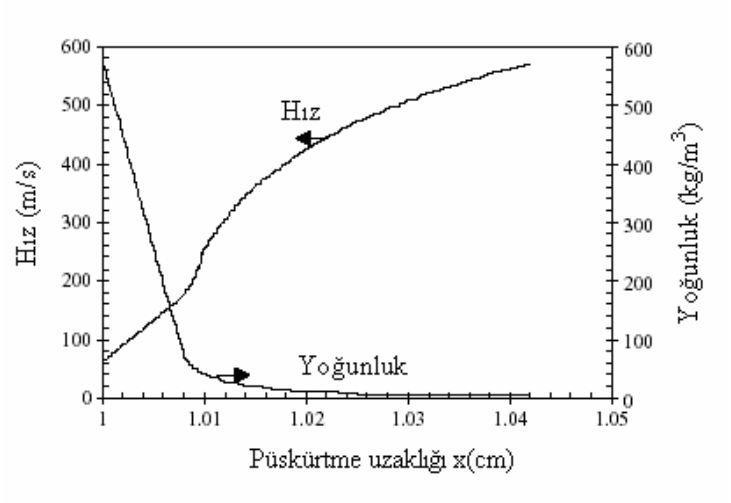
RESS prosesinde tanecik oluşumu iki adımda gerçekleşir. Girdinin ekstraksiyon ünitesinde çözünmesi ve oluşan süperkritik çözeltinin bir gaz dağıtıcıdan ani genleşerek çok hızlı çekirdeklenme ile tanecik oluşmasıdır. Ses hızından düşük bir hızla gaz dağıtıcısına gelen SKA'nın hızı püskürtme esnasında ses hızının üstüne çıkar (Şekil 2.4). Süperkritik çözeltilerin ani genleşmesi çok kısa bir sürede ($<10^{-5}$s) meydana gelir ve gaz dağıtıcı çıkışında (jet bölgesinde) uniform koşullarda dar büyüklük dağılımında tanecikler oluşur (Hirunsit *et al.* 2005).

Ani genleşme ile süperkritik akışkanın yoğunluğu azalır, bu nedenle süperkritik akışkanın çözme gücü düşer, girdinin çözünürlüğü azalır ve aşırıdoygun hale gelen girdi kristallenmeye başlar. Süperkritik çözelti ani genleşme sırasında maksimum genleşme ($\approx 9x10^7$ s^{-1}) ve soğuma hızına ($\approx 7x10^9$ $K.s^{-1}$) ulaşır (Türk 2000).

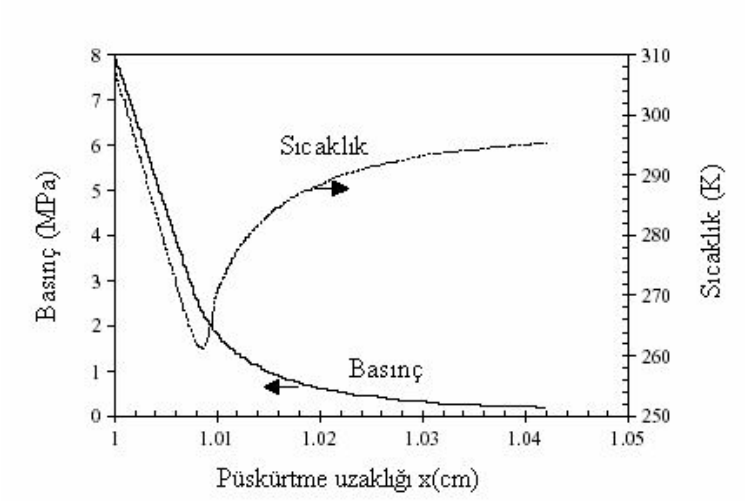


Şekil 2.4 RESS genleşme yolu (Hirunsit *et al.* 2005)

Süreli yayınlarda, RESS yöntemi ile kapiler gaz dağıtıcı (L=1 cm, D=50 μm) kullanılarak ibuprofenin mikronizasyonu sırasında süperkritik akışkanın genleşme bölgesinde hız ve yoğunluğundaki değişim incelenmiş ve Şekil 2.5'te verilmiştir. Kapiler gaz dağıtıcı boyu 1 cm olduğu için, püskürtme uzaklığı kapiler girişinden itibaren alınmıştır. Ani genleşme, kapiler gaz dağıtıcı çıkışı 1 cm'den sonra olmaktadır. Akışkanın maksimum hızı kapiler gaz dağıtıcı girişinden ≅1.042 cm uzaklıkta 570 m/s'dir. Gaz dağıtıcı çıkışından sonra akışkanın sıcaklık ve basıncındaki ani düşme Şekil 2.6'da verilmiştir. Basınç, atmosfer koşullarına ulaşıncaya kadar düşmeye devam ederken, sıcaklık gaz dağıtıcıdan 0.008 cm uzaklıkta yaklaşık 260 K'de minimum değerine ulaşır. Bu değerden sonra sıcaklık çevredeki ısı değişimleri ile artma eğilimi gösterir. Gaz dağıtıcı çıkışından genleşme bölgesine geçişte sıcaklık ve basınçtaki her iki artış akışkanın yoğunluğunda düşmeye neden olur ve akışkan gaz özeliği göstermeye başlar (Hirunsit *et al.* 2005).



Şekil 2.5 RESS genleşme yolu boyunca hız ve yoğunluk profilleri (Kapiler gaz dağıtıcı L/D=1/50 cm/µm, $T_{öngen}$=318 K, $P_{öngen}$=16 MPa) (Hirunsit *et al.* 2005)



Şekil 2.6 RESS genleşme yolu boyunca sıcaklık ve basınç profilleri (Kapiler gaz dağıtıcı L/D=1/50 cm/µm gaz dağıtıcı, $T_{öngen}$=318 K, $P_{öngen}$=16 MPa) (Hirunsit *et al.* 2005)

Genleşme sırasında kristal oluşumu ve girdinin çekirdeklenmesi için yürütücü kuvvet aşırı doygunluktur. Yüksek aşırı doygunluk değerlerinde çok sayıda küçük çekirdek oluşur ve genleşme sırasında çekirdeklenme hızının (J, tanecik/cm^3.s) artmasına neden olur. Örneğin çekirdeklenme hızı $1*10^{+2}$ tanecik.cm^{-3}.s^{-1} ise her 10 milisaniyede 1 cm^3'de bir çekirdek oluşur iken, çekirdeklenme hızı $1*10^{+13}$ tanecik.cm^{-3}.s^{-1}olduğunda her mikro saniyede 10^{+7} tane çekirdek oluşur. Çekirdeklenme hızı ne kadar yüksek

olursa çekirdeklerin büyüme için zamanı olmaz ve bunun sonucunda tanecik büyüklüğü düşer (Türk 2000).

Süreli yayınlarda aşırı doygunluk şu şekilde tanımlanmıştır (Hirunsit *et al.* 2005);

$$S = \frac{y_E(T_E, P_E)}{y^*(T, P)} > 1.0 \quad \text{.....(1)}$$

Burada;

S : Aşırı doygunluk

$y_E(T_E,P_E)$: Çözünenin ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncında denge mol kesri

$y^*(T,P)$: Çözünenin genleşme sıcaklığı ve basıncında denge mol kesri

RESS yöntemi nano ya da mikro yapıdaki taneciklerin üretilmesinde etkin bir yöntemdir. Organik çözücü kullanılmaması ve proses parametrelerinin değiştirilmesi ile tanecik büyüklüğü dağılımının kontrol edilebilmesi RESS prosesinin avantajıdır. RESS prosesi, bir çok farmasötik madde (griseofulvin, karbamazepin, fitesterol, ibuprofen, β-sitosterol gibi) için uygun olsa da süperkritik akışkanda çözünürlüğü olmayan (polimer gibi) maddelere uygulanmasında problem olabilir (Hakuta *et al.* 2003).

2.2.2 Süperkritik anti çözücü sistemleri

RESS prosesi, SKA'nda çözünebilen maddelerin tanecik oluşumu için uygun bir yöntemdir. Fakat bazı bioaktif ve farmasötik maddelerin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü düşüktür. Bu tür maddelerin nano ya da mikro yapıdaki taneciklerin elde edilmesinde daha yaygın kullanılan süperkritik anti çözücü sistemlerinde süperkritik akışkan, anti çözücü gibi davranır ve girdi öncelikle organik çözücüde çözünür. Kristalizasyon, girdi içeren çözeltinin içine süperkritik akışkanın eklenmesiyle, çözünen maddenin çöktürülmesini temel alır. Girdi SKA'nda çözünmezken, kristalizasyon

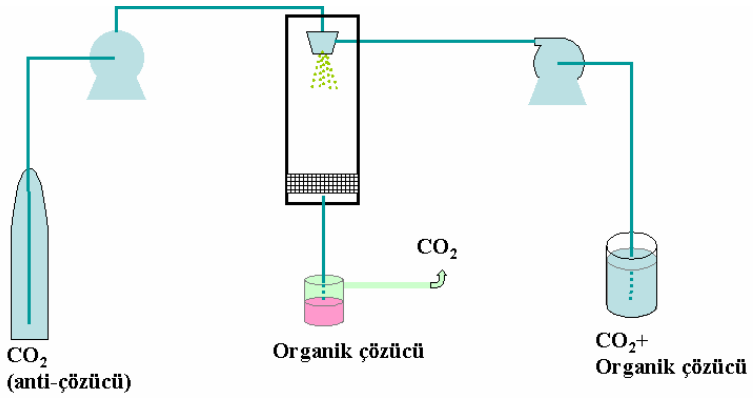
sıcaklık ve basıncında çözücü SKA ile tamamen karışır. Bunun sonucunda çözücü fazın yoğunluğu azalır ve girdi kristallenir. Kristalizasyon 2 yöntemle gerçekleştirilir. Bunlar;

1. Gaz anti çözücü sistemi (**G**as **A**nti-**S**olvent, GAS)
2. Püskürtme sistemleri
   - Süperkritik akışkan anti-çözücü sistemi (**S**upercritical **A**nti-**S**olvent, SAS)
   - Aerosol çözücü ekstraksiyon sistemi (**A**erosol **S**olvent **E**xtraction **S**ystem, ASES)
   - Süperkritik akışkanlarla dağılımı yükseltilmiş çözelti (**S**olution **E**nhanced **D**ispersion by **S**upercritical Fluids, SEDS) dir (Sihvonen *et al*. 1999).

1. Gaz anti-çözücü sistemi (Gas Anti-Solvent, GAS)

GAS sistemi Şekil 2.7'de görülmektedir. Kesikli bir proses olan GAS sisteminde, girdi bir organik çözücüde çözünür. Anti çözücü olarak davranan süperkritik akışkanın çözeltiye eklenmesi ile organik çözücünün yoğunluğu düşerek çözme gücü zayıflar ve girdinin sıvı fazdaki çözünürlüğü azalır. Bunun sonucunda çözelti aşırı doygun hale gelir ve mikro yapıda taneciklerin çökmesine neden olur. Katı tanecikler filtrede toplanır ve yeniden çözünmeyi engellemek için yüksek derişimde anti-çözücü ile yıkanır. Çözücü CO_2 ile uzaklaştırılır (Sihvonen *et al*. 1999, Jung and Perut 2001).

GAS prosesinde önemli kriter, girdinin anti-çözücüde çözünmemesi ve anti-çözücünün çözücü ile karışmasıdır. GAS işletme parametrelerinden sıcaklık, basınç, anti-çözücünün eklenme oranı ve organik çözücü-girdi derişimi tanecik büyüklüğü ve dağılımını etkiler. GAS prosesinde tanecik büyüklüğü kontrol edilebilir ve geniş uygulama alanına sahiptir, organik çözücü kullanımı ve gaz ile çözücünün ayrılma problemi dezavantajıdır (Hakuta *et al.* 2003).



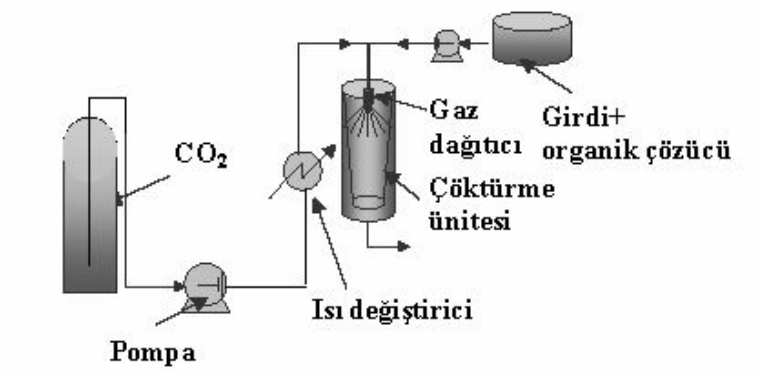
Şekil 2.7 GAS sistemi (www.crnnt.bham.ac.uk/Particles)

2. Püskürtme sistemleri

Bu yöntemler, GAS sisteminden farklı olarak girdi içeren çözelti, süperkritik akışkan içine bir gaz dağıtıcıdan geçerek püskürtülür.

- **Süperkritik akışkan anti-çözücü sistemi (Supercritical fluid Anti-Solvent, SAS)**

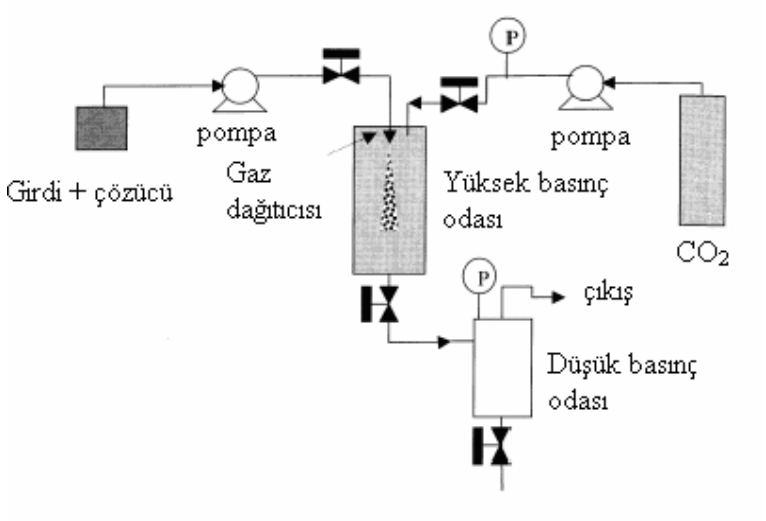
SAS yönteminde, girdi süperkritik akışkanla karışabilen bir çözücüde çözünür (Şekil 2.8). Çözelti, süperkritik akışkan bulunan yüksek basınç odasına gaz dağıtıcısından gönderilir. Tanecik oluşumu yüksek basınç odasında (çöktürme ünitesi) gerçekleşir. Sıvı çözelti ile süperkritik akışkanın teması, çözücünün yoğunluğu düşürerek girdinin aşırı doygunlukla çökmesine neden olur. Tanecikler yüksek basınç odasında filtrede toplanır. Süperkritik akışkan çözücüyü ekstrakte ederek uzaklaştırır (Shariati and Peters 2003, www.eiffeltechnologies.com.au/html).



Şekil 2.8 SAS sistemi (Fages *et al*. 2004)

- **Aerosol çözücü ekstraksiyon sistemi (Aerosol Solvent Extraction System, ASES)**

Çalışma prensibi olarak SAS yöntemine benzeyen ASES sisteminde, süperkritik akışkan yüksek basınç pompası ile yüksek basınç odasına pompalanır (Şekil 2.9). Sistem istenilen sıcaklık ve basınç koşullarına geldikten sonra girdi içeren çözelti yüksek basınç odasından daha yüksek basınçta (~20 bar) gaz dağıtıcıdan geçerek yüksek basınç odasına püskürtülür. SKA, çözücünün çözme gücünü düşürür ve sıvı karışımda aşırı doygunluk oluşarak küçük taneciklerin çökmesi sağlanır. Tanecikler yüksek basınç odasının altında bulunan bir filtrede toplanır.

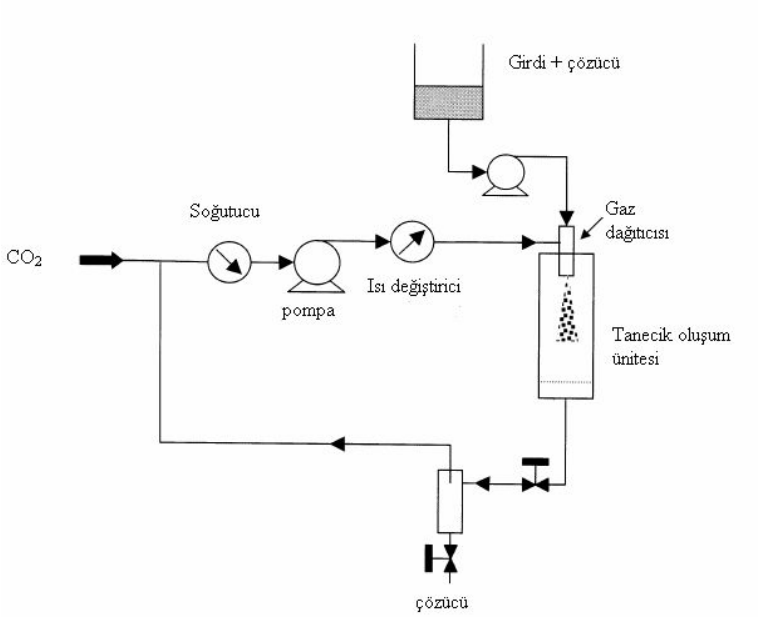


Şekil 2.9 ASES sistemi (Jung and Perrut 2001)

Süperkritik akışkan ve çözücü karışımı yüksek basınç odasından düşük basınç odasına gönderilerek sıcaklık ve basınç azalması ile gaz-sıvı ayrılması sağlanır. Yeterli miktarda tanecik toplandıktan sonra, sıvı çözeltinin pompalaması durdurulur ve CO_2 taneciklerden atık çözücüyü uzaklaştırmak için gönderilmeye devam edilir (Jung and Perrut 2001).

- **Süperkritik akışkanlarla dağılımı yükseltilmiş çözelti (Solution Enhanced Dispersion by Supercritical Fluids, SEDS)**

SAS yönteminden farklı olarak, SEDS sisteminde ise (Şekil 2.10), süperkritik akışkan ve girdiyi içeren çözelti iki geçişe sahip eşeksenli (two coaxial passages) gaz dağıtıcıdan sıcaklık ve basıncın kontrol edildiği tanecik oluşum ünitesine gönderilir. Süperkritik akışkanın yüksek hızı, çözeltiyi çok küçük damlacıklara dağıtır. Süperkritik akışkanın çözeltiden çözücüyü ekstrakte etmesiyle çözücü uzaklaştırılır (Jung and Perrut 2001).



Şekil 2.10 SEDS sistemi (Jung and Perrut 2001)

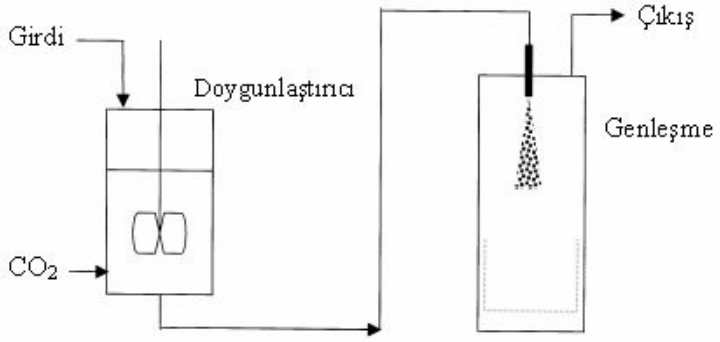
Anti çözücü çöktürme sistemleri genellikle süperkritik akışkanda çözünmeyen farmasötik maddelerin mikronizasyonu için kullanılır. Bu sistemlerde önemli olan çözücü seçimidir. Kullanılan çözücü, girdiyi çok iyi çözmeli, anti-çözücü akışkan ile çok iyi karışabilmeli ve zararsız olmalıdır. Bu sistemlerde yaygın olarak etanol, DMSO, etil asetat, aseton gibi çözücüler kullanılmaktadır. Dar büyüklük dağılımında mikron altından birkaç mikrona kadar tanecik büyüklükleri elde edilir. Püskürtme proseslerinde, tanecik oluşumu GAS tekniğine göre daha hızlıdır, tanecik büyüklüğü ve morfolojisi püskürtme hızına ve gaz dağıtıcı geometrisine bağlıdır. Bunun yanında püskürtme prosesleri ilacın, polimer mikro kapsüllere (polylactideco-glycolide, PLGA ve hyaluronic acid ester, HVAFF gibi) yüklenmesinde de kullanılır (Sihnoven *et al*. 1999, Hakuta *et al*. 2003, Fages *et al*. 2004).

2.2.3 Gazla doyurulmuş çözeltiden ya da süspansiyondan tanecik oluşumu sistemi (Particles from Gas-Saturated Solutions/ Suspensions, PGSS)

Süperkritik akışkan, bazı polimerleri kolaylıkla çözmezken, erimiş polimerleri çözebilmektedir. PGSS prosesi (Şekil 2.11), süperkritik akışkanda çözünmeyen

polimerler (polietilen glikol, polyetherurethanes, polmetil-metakrilat (PMMA)), vakslar ve reçineler (montavaks, polietilen vaks), doğal ürünler (baharatlardan, fosfolipitlerden ve mentolden ekstrakte edilen ürünler), yağ türevleri (gliserid, yağ asidi alkolleri, yağ asitleri), sentetik antioksidantlar, UV stabilizatörleri gibi maddeler için uygundur. Polimerler ilk önce bir otoklavda eritilir, sonra sisteme süperkritik akışkan gönderilir. Doygun polimer çözeltisi ani olarak çöktürme ünitesine gaz dağıtıcıdan geçerek püskürtülür, çözelti genleşir ve çok küçük polimer tanecikleri elde edilir. Çözelti yüksek genleşme hızı ve soğuma derecesine sahiptir.

PGSS prosesinin, az miktarda akışkan kullanımı, düşük basınçlı çalışma koşulları, çözücüsüz ürün oluşumu ve düşük maliyet, geniş kullanım alanı gibi avantajları vardır ve sadece değerli ürünlere değil ticari ürünlere de uygulanır (Hakuta *et al*. 2003, Knez and Weidner 2003).



Şekil 2.11 PGSS Sistemi (Jung and Perrut 2001)

2.3 Tanecik Tasarımı Sistemlerinin Karşılaştırılması

Tanecik tasarımı için proses seçiminde, göz önünde bulundurulması gereken en önemli parametre süperkritik akışkanda girdinin çözünürlüğüdür. Bunun yanında, tanecik büyüklüğü, şekli ve yapısı, prosesin maliyeti ve ürün ölçeği de önemlidir. Tanecik üretiminde, girdinin süperkritik akışkanda çözünürlüğü düşük olsa bile, RESS ilk tercih edilen yöntemdir. RESS yöntemi ile birçok farmasötik maddenin (ibuprofen, griseofulvin, β-stesterol gibi) nano ya da mikro yapıdaki tanecikleri elde edilmiştir. Dar

büyüklük dağılımında tanecik elde edilebilmesi ve organik çözücü kullanılmaması bu yöntemin avantajıdır. Süperkritik akışkanda çözünürlüğü zayıf olan maddeler için, çözünürlüğü artırmak için yardımcı çözücü kullanılabilir; ancak bu durumda çözücü uzaklaştırma problemi RESS prosesini sınırlayabilir.

Anti-çözücü sistemler ise süperkritik akışkanda çözünmeyen maddeler daha yaygın olarak kullanılır. Bu sistemlerde yüksek saflıkta ürün elde edilirken, organik çözücü kullanımı ve gaz ile çözücünün ayrılma problemi bu yöntemleri sınırlar. Bu prosesler yüksek maliyetli ve büyük ölçekte çalışılması zor olmalarına rağmen, tanecik büyüklüğünü, şeklini ve yapısını, nano-taneciklerden mikro-taneciklere ya da küresellere kadar geniş bir aralıkta kontrolünü sağlar. PGSS prosesi ise, büyük parçacıklar ve daha az değerli materyaller için tercih edilirler (Jung and Perrut 2001).

Tanecik üretiminde kullanılan süperkritik akışkan avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Tanecik üretiminde kullanılan süperkritik akışkan teknolojilerinin avantaj ve dezavantajları (Jung and Perrut 2001)

SKA'da girdinin çözünürlüğü	**Uygulanabilir proses**	**Avantajlar**	**Dezavantajlar**
✓	RESS	• Tanecik büyüklüğü kontrol edilir. • Organik çözücü kullanılmaz. • Mikro/nano tanecikler	➢ Büyük moleküllerin düşük çözünürlüğü ➢ Yüksek akışkan tüketimi
x	Anti-çözücü (GAS/SAS, ASES,SEDS	Tanecik büyüklüğü kontrol edilir.	• Organik çözücü kullanılır. • Akışkan/çözücü ayrılması ve akışkan geri kazanımı zor. • Basınçlı ekipmanın büyük hacmi
	PGSS	• Az miktarda akışkan tüketimi • Düşük ortam basıncı • Basınçlı ekipmanın küçük hacmi	Mikron altı parçacıkların üretiminin ve tanecik büyüklüğünün kontrolünün zor olması

2.4 Farmasötik Endüstrisinde Tanecik Büyüklüğünün Önemi

Bazı farmasötik maddelerin biyolojik ortamdaki çözünürlükleri düşüktür. İngiltere'de son yıllarda yapılan çalışmalarda, geliştirilen yeni ilaçların % 41'nin suda ve vücut sıvısında çözünürlüğünün olmaması nedeni ile zayıf biofarmasötik özelik gösterdiği ortaya çıkmıştır. İlacın çözünürlüğünün düşük olması gastrointestinal bölgede absorpsiyonunu azaltarak ilacın biyouygulanabilirliğinin azaltması yanında enjeksiyon noktasında çökme riski ve serumda yavaş çözünme gibi problemlere de yol açabilmektedir. Vücuda gönderilen ilacın ancak %35-40'ının etkiyeceği bölgeye

ulaşabildiği, geri kalanının ise ya başka bölgelere taşındığını ya da vücuttan kullanılmadan dışarıya atılmaktadır. İlacın biyolojik kullanılabilirliği anlamına gelen biyouygulanabilirlik, vücutta tarafından hedef bölgede adsorplanan etken madde miktarının, vücuda gönderilen etken madde miktarına oranı olarak tanımlanmaktadır. İlaç etken maddeleri taneciklerinin küçük boyutta olması, yüzey alanını ve buna bağlı olarak da ilacın vücut sıvısında çözünme hızını artırmaktadır. Böylece ilacın farmasotik aktivitesi dolayısı ile biyouygulanabilirliği artmaktadır (Kayrak *et al.* 2003, Perrut *et al.* 2005).

Mikro ya da nano yapıdaki tanecikler, hastalıkların tedavi edilmesinde umut verici olarak görülmektedir. Bu yapıdaki tanecikler, tedavi etkinliğinin artması, toksikliğin düşmesi, doz miktarının azalması ve vücutta dağılımının yüksek olmasına neden olmaktadırlar. Ayrıca nano/mikro yapıdaki tanecikler hastalıklı bölgenin tedavi edilmesinde etkindir, çok küçük boyutlarından dolayı, oral olarak alınan kemoterapatik ilaçların kullanımında da büyük önem taşımaktadır. Çünkü özellikle nanotanecikler, tüm vücut sistemi (systemic), ağız yolu, akciğerler, deri geçişi (transdermal) ve ilacın hedeflediği diğer sistemler için uygundur. Bunun yanında mikro ya da nano yapıdaki taneciklerle biyobozunabilir polimerler kullanılarak mikro kapsülleme yöntemi uygulanabilir. Bu yöntemle ilacın bioaktifliği ve stabilitesi korunarak biouygunluğu artırılabilir. Hücre ve doku geçişi için kılcal damarlarda tıkanıklık yapmadan hedeflenen dokulara ulaşımını sağlar. Biyolojik bariyerler arasından rahatlıkla geçerek ilacın aktarımını geliştirir ve antikanser ajanlar için yararlıdır. Bazı çalışmalar, nanotanecikle sınırlı antikanser ajanlarının tümörde alıkonma süresini artırarak tümörlü hayvanlarda hayatta kalma süresini uzattığını ve tümörün büyümesini engellediğini de göstermiştir (Mu and Feng 2003, http://www.thartech.com).

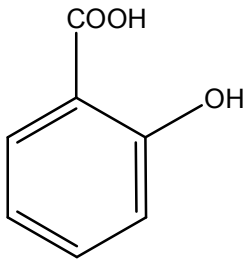
Süreli yayınlarda tanecik büyüklüğünün önemini göstermek amacı ile çalışmalar yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda Atkinson *et al.* (1962) Griseofulvin'in kandaki derişimini test etmiştir. Bunun için gönüllü hastalara ilaç verildikten sonra kan örnekleri alınmıştır. Testin sonucunda tanecik büyüklüğü 2.7 μm olan ilacın absorpsiyonunun 10 μm'ye göre 2 kat olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Türk *et al*. (2002b), RESS ile

elde edilmiş Griseofulvin'in (ağızdan alınan antifungal ilaç) biyouygulanabilirliğini kanıtlamak için çözünme deneyleri yapmıştır. Sulu ortamdaki çözünürlüğü düşük olan Griseofulvin'in, klasik bir yöntem olan öğütme ve RESS ile elde edilmiş tanecikleri kıyaslandığında, RESS ile üretilmiş taneciklerin çözünme oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Frank and Ye (2000), RESS ile küresel yapıda ve ortalama tanecik büyüklüğü 100 nm olan Lidocaine taneciklerini elde etmişlerdir. RESS ile elde edilen taneciklerin 37^{o}C'de sudaki çözünürlüğü, tanecik büyüklüğü 5-7 μm olan orijinal Lidocaine taneciklerine göre daha yüksek olduğunu bulmuştur.

2.5 Salisilik asit

Salisilik asit, ilk kez 1828 yılında Johann Andreas Buchner (Münih) tarafından akça söğüt kabuğu ekstraktından salisin maddesinin saflaştırılması ile elde edilmiştir. Bir yıl sonra Leroux (Fransa) salisini kristal formunda geliştirmiş, daha sonra bir İtalyan kimyageri olan Raffaele Piria (1814-1865) salisinden aktif madde olan salisilik asiti elde etmiş ve 1874 yılında Frederic von Heyden tarafından piyasaya çıkarılmıştır (http://web.deu.edu.tr/noroloji/TND1996(3,4)aspirintammetin.htm)

Salisilik asitin yapısı Şekil 2.12'de, fiziksel ve kimyasal özelikleri Çizelge 2.3'te verilmiştir.

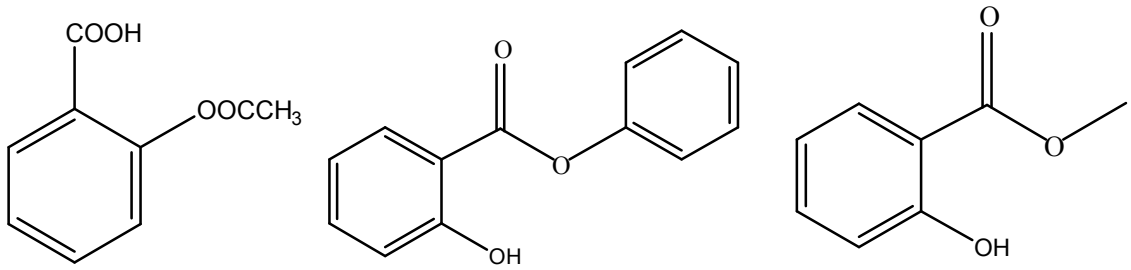


Şekil 2.12 Salisilik asitin yapısı (http://chemfinder.com)

Çizelge 2.3 Salisilik asitin fiziksel ve kimyasal özelikleri (http://chemfinder.com)

Kimyasal adı	2-hidroksibenzoik asit
Kayıtlı adı	Salisilik asit
Moleküler ağırlığı	$C_7H_6O_3$
Molekül formülü	138 g/gmol
Fiziksel görünümü	Renksiz katı iğne kristaller şeklinde

Salisilik asitin, aspirin (ağrı kesici, iltihap giderici, ateş düşürücü), fenil salisilat (antiseptik bir madde, bağırsak dezenfektanı) ve metil salisilat (aromatik kokulu dıştan sürülen romatizma ağrılarında) olmak üzere üç türevi vardır (Şekil 2.13) (Tüzün 1996).



Aspirin Fenil salisilat Metil salisilat

Şekil 2.13 Salisilik asitin türevleri (http://chemfinder.com)

Salisilik asit, ateş düşürücü, ağrı kesici, nasır, akne, siğil, keratoz (saç derisi hastalığı) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlarda girdi maddesi olarak, ayrıca gıda endüstrisinde yiyeceklerin bozulmasını önlemek amacıyla katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Çizelge 2.4)
(http://encyclopedia.thefreedictionary.com/salicylic+acid).

Çizelge 2.4 Salisilik asitin kullanım yerleri ve yan etkileri (http://www.inchem.org/documents/pims/pharm, http://encyclopedia.thefreedictionary.com/salicylic+acid)

Kullanım Yerleri	Ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak
	Nasır, akne, siğil, keratoz tedavisinde kullanılan ilaçlara girdi olarak
	Gıda endüstrisinde çeşitli kullanım yerleri vardır
Yan etkileri	Mide şikayetleri
	Cilde sürülen türlerinde toksik etki yapabilir.

2.6 Taksol® (Paklitaksel)

1950'lerde National Kanser Enstitüsü, kemoterapötik tedavi etken maddelerinin bitkilerden ektraksiyonunu amaçlayan yeni bir çalışma programı belirlemiş ve bu program çerçevesinde Kuzeybatı pasifiğin iç kısmındaki dağlar ve kıyıları boyunca yetişen *Taxus brevifolia* ağaç kabuğundan ekstraksiyon ile elde edilen ürünün tümörü inhibe ettiğini saptamıştır. Fakat ağaç kabuğundaki taksol miktarının düşük olması nedeniyle çalışmalar kısıtlanmıştır. 1 kg kuru ağaç kabuğundan 50-150 mg saf taksol elde edilmekte, 1g madde temini için 3 ya da 4 adet 60 yıllık ağacın kabuğu gerekli olmaktadır (Erdemoğlu ve Şener 1999, http://www.usm.maine.edu/~newton/Chy251-253/Lectures/NaturalProducts/Taxol.htm).

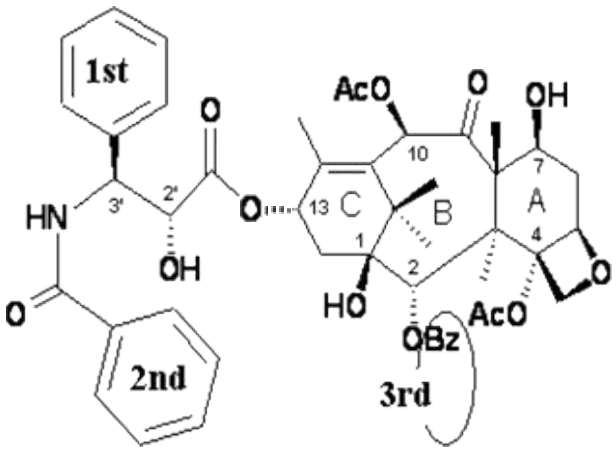
Taksolun yapısı Wani *et al.* tarafından 1971'de aydınlatılmıştır. Diğer *Taxus* türlerinin de taksol ihtiva ettiği belirlenmiştir. *Taxus* türleri yavaş büyüyen, her zaman yeşil olan ve yeryüzünde seyrek bir yayılış gösteren ağaçlardır (Şekil 2.14). *Taxus* ağaçlarında bulunan taksolün çok düşük miktarlarda olması ve ağaçların kesilmesiyle çevreye verilen tahrip nedeniyle, ilacın temini için alternatif kaynaklar araştırılmıştır. Bu amaçla çeşitli araştırmacılar tarafından taksolün yarısentetik, sentetik ve biyolojik (genetik,

doku ve hücre kültürü, mikroorganizmalardan elde etme) yollarla elde edilmesi yönünde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir (Erdemoğlu ve Şener 1999).

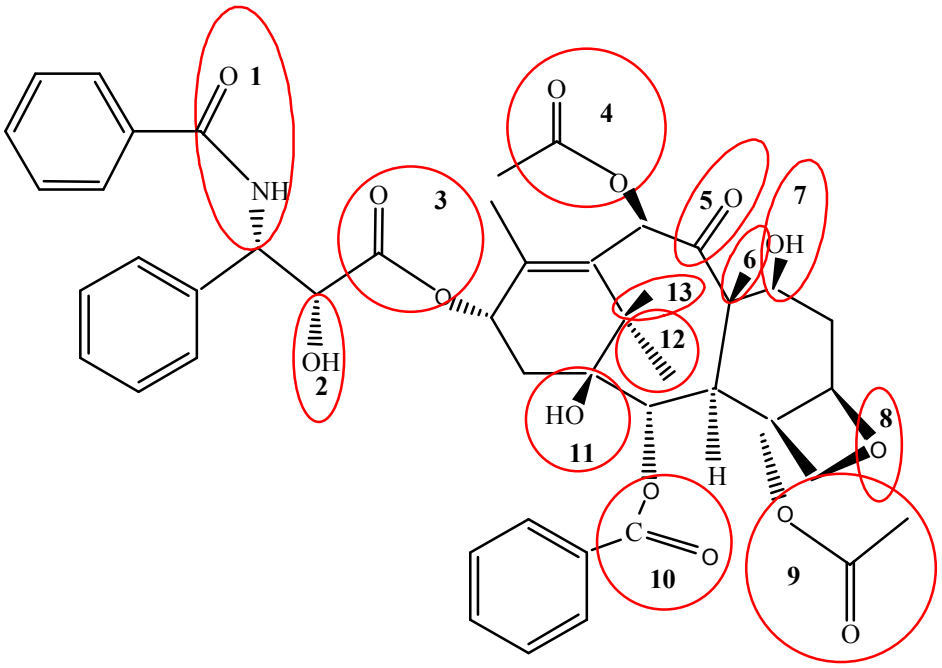


Şekil 2.14 *Taxus brevifolia*

Taksol, yan zincir ve taksol iskeleti olmak üzere iki kısımdan oluşan (Şekil 2.15) çok sayıda fonksiyonel gruba sahip polar yapıda kompleks bir bileşiktir (Şekil 2.16)



Şekil 2.15 Taksolun yapısı (http://gc.discussing.info/whoiam/others/taxol.html)



Şekil 2.16 Taksolun fonksiyonel grupları
(http://gc.discussing.info/whoiam/others/taxol.html)

1. Amid
2. Alkol
3. Ester
4. Ester
5. Keton
6. Metil grubu
7. Alkol
8. Eter
9. Ester
10. Ester
11. Alkol
12. Metil grubu
13. Metil grubu

Doğal antikanser bileşiklerden birisi olan taksol, ovaryum, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Baş, boyun, gastrointestinal sistem ve mesane kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde de ümit verici görülmektedir. Elde edilmesindeki ve formüle edilmesindeki güçlükler nedeniyle bileşiğin klinikte uygulanması için çalışmalar uzun yıllar almıştır.

Holton (1994), Nicolaou (1994) ve Danıshefsky (1996) tarafından üç ayrı yolla total sentezi gerçekleştirilmiştir; ancak yüksek maliyet nedeni ile bu yaklaşımlar ticari olarak değerlendirilememiştir. *Taxus baccata* L.'nın ağaca zarar vermeden toplanabilen ve yenilebilir kısmı olan yapraklarından yüksek oranda (%0.1) elde edilen 10-deasetilbakkatin III ve bakkatin III'den hareketle yarı sentez sonucu taksol ve bugün tedavide kullanılan taxotere (docetaxel) sentezlenmiştir. Son yıllara kadar ilaç

hazırlanmasında yarısentez sonucu elde edilen taksol kullanılmıştır. Günümüzde *Taxus baccata* yapraklarından elde edilen baccatin III ve 10-deasetil türevinden biyotransformasyon yoluyla elde edilen taksol de ilaç hazırlanmasında kullanılmaktadır.

Taxus türlerinden taksol ve diğer taksanları bitki hücre ve doku kültürü metotları ile üretmek için çeşitli gruplar çalışmaktadır. Bu yolla taksol üretimi sağlanmış ve *Taxus brevifolia*'dan elde edilen endofitik bir mantar olan *Taxomyces andreana*'nın da taksol benzeri taksanları ürettiği, diğer Taxus türlerinde de taksol üreten mikroorganizmaların varlığı belirlenmiştir; ancak bu üretim alternatifleri henüz ticari olarak uygulanabilir değildir (Erdemoğlu ve Şener 1999).

Ovaryum, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılan taksol'ün artan ihtiyacı ve üretiminin biyolojik metotlar üzerine kurulması, taksol biyosentezinin ayrıntılı açıklamasını gerektirmiştir. Bu nedenle dünyada birçok grubu tarafından taksolün biyosentez basamakları araştırılmıştır. Taksol'ün biyosentez basamakları ile ilgili bilgiler, açıklanmayan bazı ara basamaklar olmakla birlikte ancak son yıllarda belirlenebilmiştir (Erdemoğlu ve Şener 1999).

Taksolun fiziksel ve kimyasal özelikleri, kullanım yerleri ve yan etkileri Çizelge 2.5 ve Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.5 Taksolun fiziksel ve kimyasal özelikleri (http://chemfinder.com)

Kimyasal adı	Paclitaxel
Kayıtlı adı	Taksol
Moleküler ağırlığı	854 g/gmol
Molekül formülü	$C_{47}H_{51}NO_{14}$
Fiziksel görünümü	Saf halde beyaz kristal toz şeklinde.

Çizelge 2.6 Taksolun kullanım yerleri ve yan etkileri
(www.pslgroup.com/dg/fabde.htm,
http://www.cancerbacup.org.uk/info/taxol.htm)

Kullanım Yerleri	Göğüs, yumurtalık, cilt, akciğer kanseri tedavisinde kullanılır.
	Damar içine enjekte edilir.
	Kanser hücrelerinin bölünmesini inhibe eder.
Yan Etkileri	Kırmızı kan hücrelerinin üretimini geçici olarak azaltır.
	Ağızda tat değişikliği
	Diare
	Saç dökülmesi
	Deri dökümü
	Eklem yerlerinde acı veya ağrı
	Baş ağrısı, mide bulantısı, kusma
	Düşük kan basıncı

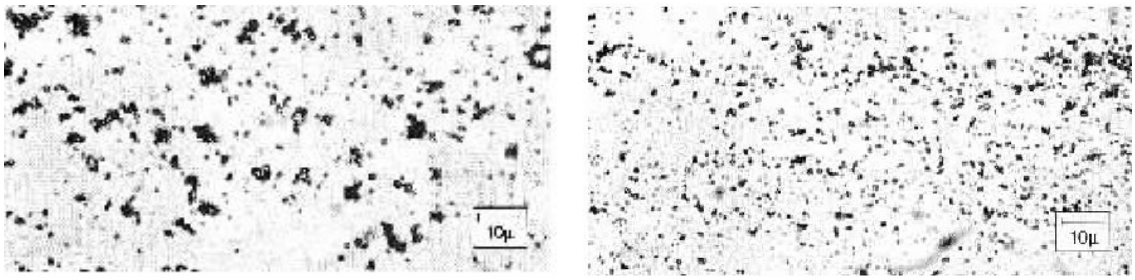
Taksolun sudaki çözünürlüğü çok düşüktür. Ticari olarak kullanılan Taksol, yüzey aktif maddesi olan Cremopher EL® (polioxoethylated castor oil) ve dehidrat etanol karışımında (50:50 v/v) oranında çözünmüş paklitakseli içerir. Cremopher EL®, yüksek duyarlı reaksiyonlar göstererek (hypersensitivity), böbreklere, sinir sistemine ve kalbe ciddi yan etkileri vardır. Cremopher EL®'in bu yan etkilerinden dolayı paklitaksel için alternatif yollar araştırılmıştır. Bunlar, miselleme, nanotanecikler, lipozomlar, yardımcı çözücü sistemleri ve emülsiyonlardır (Mu and Feng 2003, Koziara *et al*. 2004).

2.7 Kaynak Araştırması ve Kaynak Araştırması Bulgularının Değerlendirilmesi

2.7.1 Kaynak araştırması

İlaç endüstrisinde, tanecik büyüklüğünü düşürmek için çeşitli klasik tekniklerden yararlanılır. Klasik yöntemlerden biri olan öğütme ve süperkritik akışkan teknolojisi ile elde edilmiş göz merheminde kullanılan steroit tanecikleri Şekil 2.17'de görülmektedir.

Klasik yöntem ile elde edilen taneciklerin %92'si 3 μm'den küçük olur iken, süperkritik akışkan teknolojisi ile %100'ü 3 μm'nin altında olmuştur. Süperkritik akışkan ile elde edilen steroit tanecikleri çözücüsüz ve homojen olduğundan göz merheminde kullanılması daha uygun olmaktadır (http://www.phasex4scf.com/supercriticalmarkets).



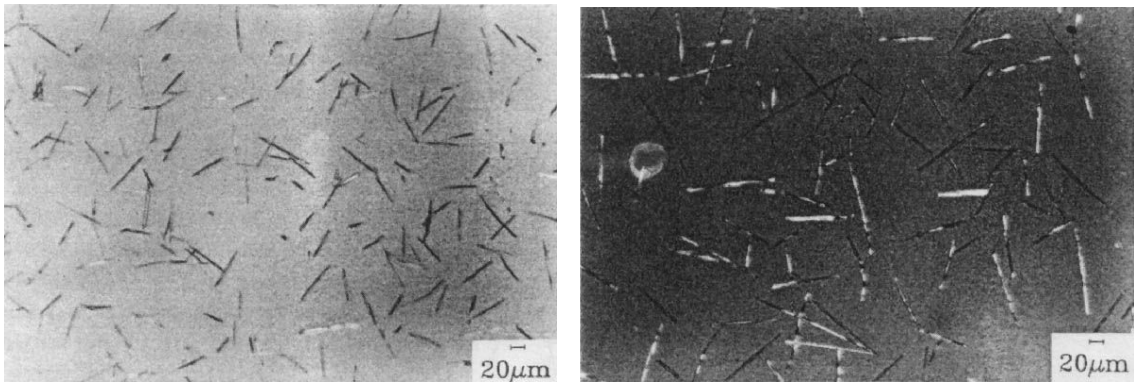
(a) (b)

Şekil 2.17 a. Klasik yöntem ile, b. Süperkritik akışkan teknoloji ile elde edilen Steroit tanecikleri (http://www.phasex4scf.com/supercritical markets)

Reverchon *et al.* (1993) salisilik asitin süperkritik karbondioksitte çözünürlüğünü ve öngenleşme sıcaklığı, genleşme odası sıcaklığı ve ekstraksiyon basıncı gibi RESS parametrelerinin tanecik büyüklüğüne etkisini incelemişlerdir.

Lazerle delinmiş orifis gaz dağıtıcı (L=800 μm, D=40 μm) kullanılarak RESS ile elde edilen taneciklerin büyüklükleri optik mikroskopta belirlenmiştir. Basıncın 100 bar'dan 350 bar'a artması ile çözünürlüğün önce arttığını daha sonra ise sabit kaldığını bulmuşlardır.

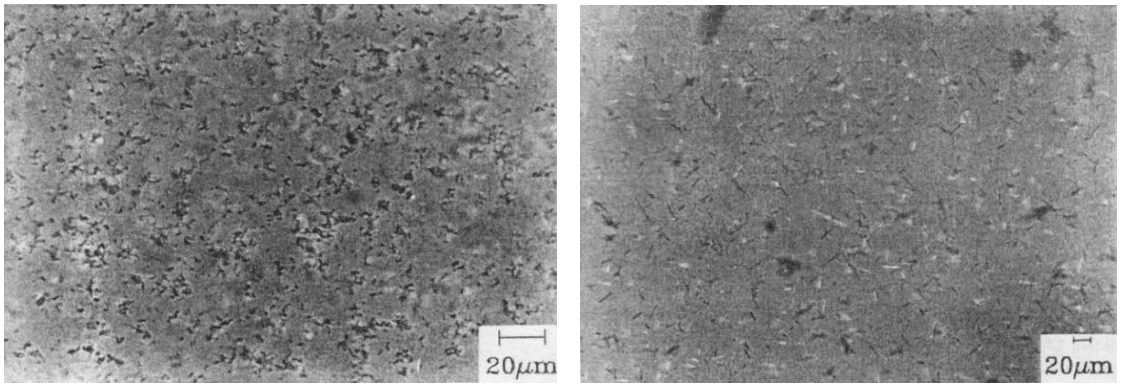
Öngenleşme sıcaklığı 110°C'de iğnemsi yapıdaki salisilik asit tanecik büyüklüğü L/D:10-50/2-3 μm/μm iken sıcaklığın 130°C'ye çıkarılması ile L/D:25-130/5-7 μm/μm'ye arttığı bulunmuştur (Şekil 2.18).



(a) (b)

Şekil 2.18 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi a. $T_{öngen}$=110°C, b. $T_{öngen}$=130°C

Genleşme odası sıcaklığının 10°C'den 0°C'ye düşmesi ile tanecik büyüklüğü L/D:5-12/1 μm/μm olan küçük iğnemsi görünümden L/D:1-5/1 μm/μm arasında değişen küresele yakın bir yapıya dönüştüğünü bulmuşlardır (Şekil 2.19).



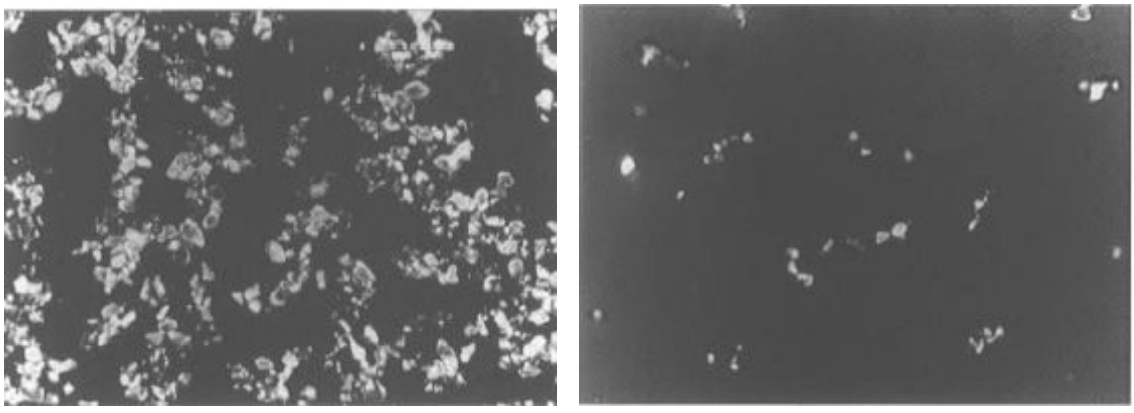
(a) (b)

Şekil 2.19 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine genleşme odası sıcaklığının etkisi a. T_{gen}=10°C (iğne), b. T_{gen}=0°C (küresel)

Ekstraksiyon basıncının artması ile (200–260 bar) tanecik büyüklüğünün arttığı ve L/D=4-35/1-2 μm/μm arasında değiştiği saptanmıştır. Bununla birlikte ekstraksiyon basıncının tanecik büyüklüğü üzerine etkisi ile ilgili kesin bir yargıya varılamamıştır.

Alessi *et al*. (1996), steroit tipi ilaçların (progesteron ve medroksiprogesteron) süperkritik CO_2'de RESS ile tanecik oluşumu ve proses parametrelerinden, kapiler gaz dağıtıcı çapı, ekstraksiyon basıncı, genleşme odası sıcaklığı ve basıncının tanecik büyüklüğü üzerine etkisini incelemişlerdir. Deneysel çalışmalarda öngenleşme sıcaklığı sabit tutulmuştur. Tanecikler optik mikroskop ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile analiz edilmiştir. RESS ile elde edilen progesteron ve medroksiprogesteron tanecikleri proses parametrelerinin değişimi ile benzer sonuçlar gösterdiğinden dolayı sadece progesteron için bulgular verilmiştir.

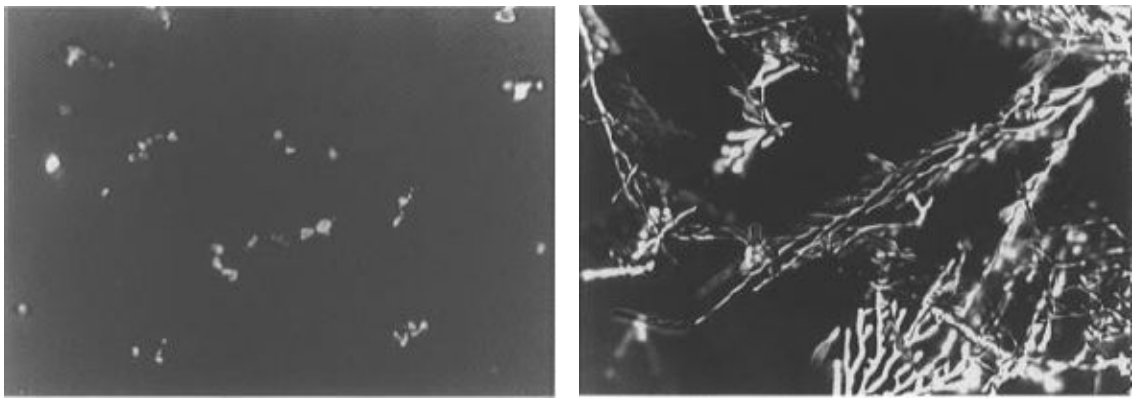
Gaz dağıtıcı çapının 100 μm'den 30 μm'ye değişmesi ile ortalama tanecik büyüklüğü 7.5 μm'den 4.1 μm'ye düşmüştür. Ekstraksiyon basıncının 130 bar'dan 150 bar'a çıkması ile progesteronun süperkritik CO_2'deki çözünürlüğü $4.55*10^{-5}$'ten $1.35*10^{-4}$'e artmıştır. Bunun sonucunda aşırı doygunluk artarak tanecik büyüklüğü 7.5 μm'den 6.0 μm'ye düşmüştür (Şekil 2.20)



(a) (b)

Şekil 2.20 RESS ile elde edilen progesteron taneciklerine ekstraksiyon basıncının etkisi a. P_{eks}=130 bar, b. P_{eks}=150 bar (T_{eks}=60°C, T_{gen}=40°C, P_{gen}=1 bar)

Genleşme odası basıncının 50 bar'dan 20 bar'a düşürülmesi ile tanecik büyüklüğü 9.1 μm'den 7.5 μm'ye düşmüş ve taneciklerin morfolojisi değişmiştir (Şekil 2.21) Genleşme odası basıncı 50 barda olduğunda aşırı doygunluk oranı ve çekirdeklenme hızı, 1 ve 20 bara göre daha düşüktür. Bundan dolayı basıncın artması ile daha büyük yapıda tanecikler elde edilmiştir. Morfolojinin değişmesi ise tanecikler arasında birleşmeler olması olarak açıklanmıştır.

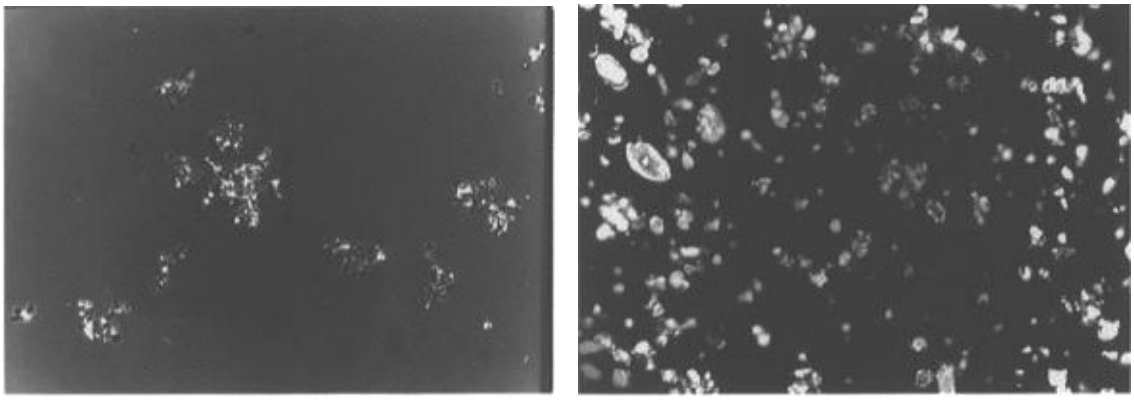


(a) (b)

Şekil 2.21 RESS ile elde edilen progesteron taneciklerine genleşme odası basıncının etkisi a. P_{gen}=1 bar, b. P_{gen}=50 bar (T_{eks}=60°C, T_{gen}=40°C, P_{eks}=150 bar)

Genleşme odası basıncı 1 bar'da tutularak genleşme odası sıcaklığı değişiminin etkisi incelenmiştir. Sıcaklığın artması (40-60°C) ile taneciklerin büyüme süresi artmasından dolayı tanecik büyüklüğünün arttığı bulunmuştur.

RESS yöntemi ve klasik yöntemlerden biri olan öğütmeden elde edilen tanecik büyüklükleri karşılaştırılmış ve homojen bir dağılım gösteren RESS yönteminde ortalama tanecik büyüklüğü 4.5 μm iken öğütme yöntemi ile 7.5 μm olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.22)

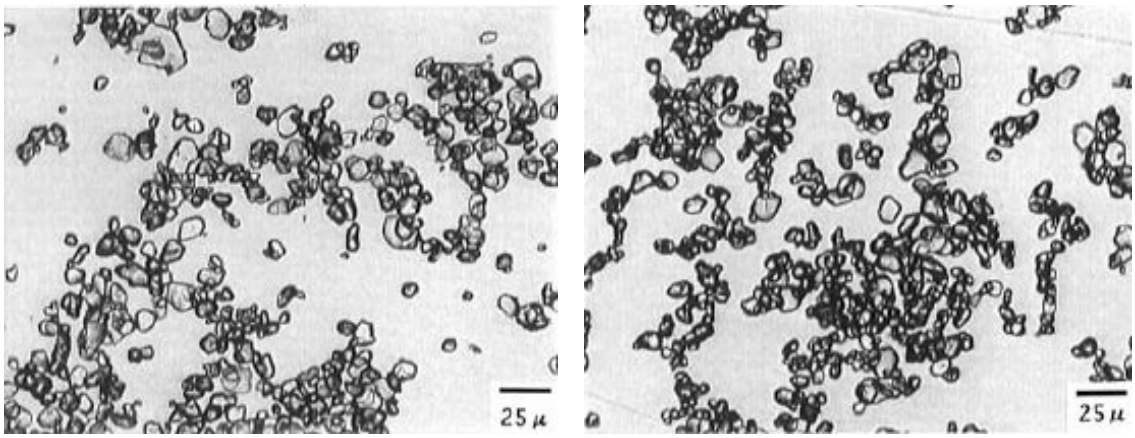


(a) (b)

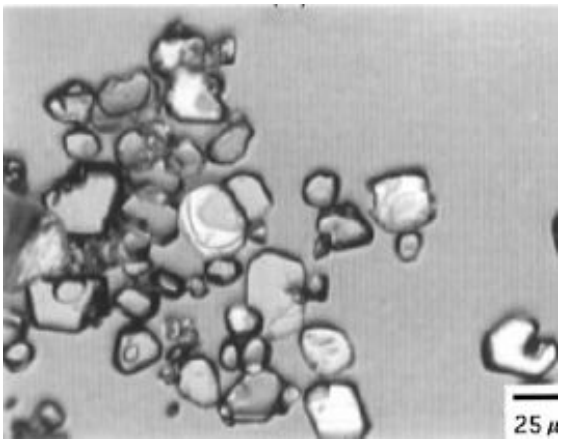
Şekil 2.22 Progesteron tanecikleri a. RESS (T_{eks}=60^{o}C, P_{eks}=150 bar, T_{gen}=40^{o}C, P_{gen}=1 bar), b. Öğütme

Liu and Nagahama (1996), naftalin ve fenantrenin tanecik büyüklüğüne orifis gaz dağıtıcı (L/D:280/35 μm/μm) ile öngenleşme sıcaklığı, genleşme odası sıcaklığı ve basıncı, ekstraksiyon basıncı ve orifis çapı gibi RESS parametrelerinin tanecik büyüklüğü üzerine etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen taneciklerin büyüklük dağılımları optik mikroskopta belirlenmiştir.

Öngenleşme sıcaklığının artması ile (87-125^{o}C), naftalinin tanecik büyüklüğü 5–8 μm'den 15–25 μm'ye arttığı belirlenmiştir (Şekil 2.23). Genleşme odası sıcaklığının 45^{o}C'den 15^{o}C'ye düşürülmesi ile naftalin tanecik büyüklüğünün 15–25 μm'den 5–10 μm'ye düştüğü belirlenmiştir. Bu çalışmadaki genleşme odası basınçlı bir ortamdır ve 2.50 MPa'da tutulmuştur. Ani genleşmesi sırasında süperkritik CO_2 gaz faza geçmekte; ancak naftalinin gaz fazdaki CO_2'de çözünürlüğü $\cong 2.5*10^{-5}$ (mol/mol)'dir (T=49.5^{o}C). Genleşme odası sıcaklığı 45^{o}C'den 15^{o}C'ye düşürülmesi ile naftalinin CO_2'deki çözünürlüğü azalmakta ve aşırı doygunluk oranı artmaktadır (Eşitlik 1). Bu nedenle genleşme odası sıcaklığının düşmesi ile tanecik büyüklüğünün düştüğü belirlenmiştir.



(a) (b)

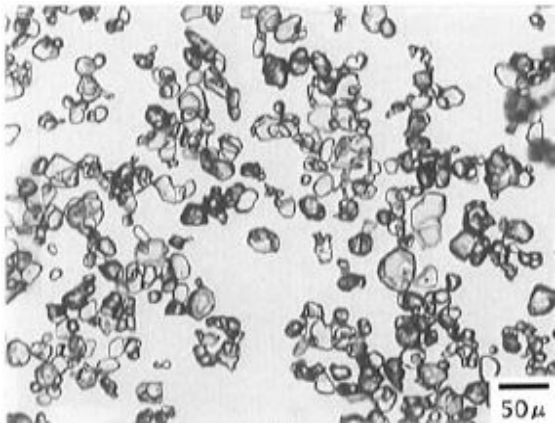


(c)

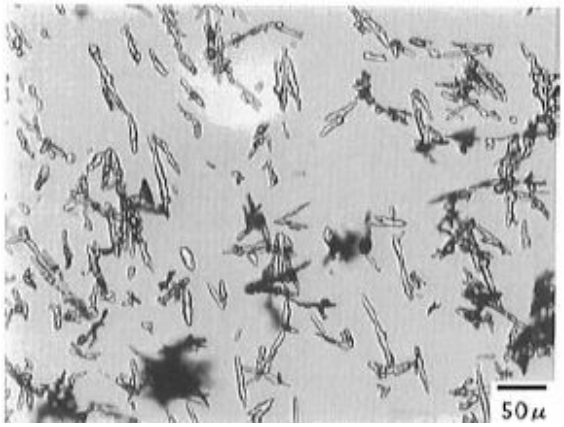
Şekil 2.23 RESS ile elde edilen naftalin kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi a. $T_{öngen}$=87°C, b. $T_{öngen}$=105°C, c. $T_{öngen}$=125°C

Genleşme odası basıncının 4.36 MPa'dan 2.5 MPa'a azalması ile tanecik büyüklüğünün 3-7 μm'den 5-8 μm'ye değiştiği; ancak basıncın 0.1 MPa'a düşmesi ile tanecik büyüklüğünün değişmediği gözlenmiştir. Ekstraksiyon basıncının (20.5–15–10.9 MPa) düşmesi ile tanecik büyüklüğünün 8–13 μm'den 15–25 μm'ye arttığı bulunmuştur. Ekstraksiyon basıncındaki düşme çözücü yoğunluğundaki düşmeye bağlı olarak hem çözücünün çözme gücünü hem de naftalinin çözünürlüğünü düşüreceği ve genleşme odasında aşırı doygunluğun azalmasına neden olacağından tanecik büyüklüğünün arttığı vurgulanmıştır. Orifis gaz dağıtıcı çapının artması ile naftalin morfolojisinde belirgin bir değişim olmadığı bulunmuştur..

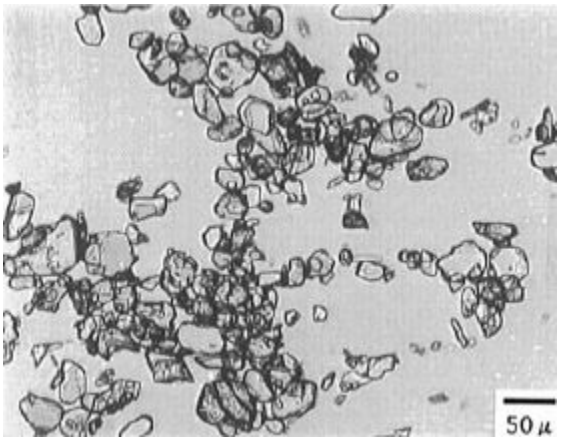
Ayrıca, RESS ile çöktürülen naftalin-fenantren katı karışımlarının morfolojisinin değişimini araştırmak amacıyla, tanecik büyüklüğü ve morfolojisi ile ilgili olarak çalışmalar yapılmıştır. Naftalin-fenantren karışımın süperkritik CO_2 ile RESS ile elde edilen taneciklerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 2.24'de verilmiştir. Saf naftalin düz plaka görüntüsünde (Şekil 2.24.a) ve saf fenantren çok küçük iğne şeklindedir (Şekil 2.24.b). Katı karışım içindeki naftalin mol kesri (X_{na}) azaldıkça, düz plakaya benzer naftalin ve az miktarda iğnemsi fenantren tanecikleri ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.24.c). X_{na}'nın daha da azalması ile iğnemsi görünümde aglomera olmuş naftalin ve fenantren tanecikleri oluşmuştur (Şekil 2.24.d,e). RESS ile elde edilen naftalin ve fenantren karışımının X-ray örnekleri, bu maddelerin üst üste bindiğini göstermiştir.



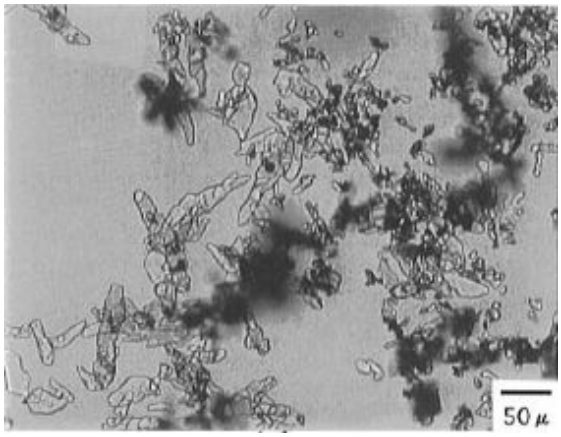
(a)



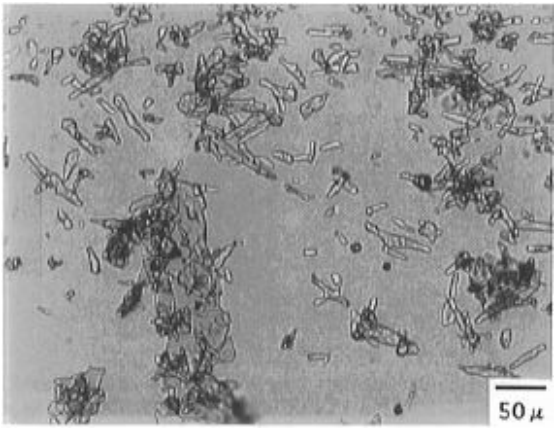
(b)



(c)



(d)



(e)

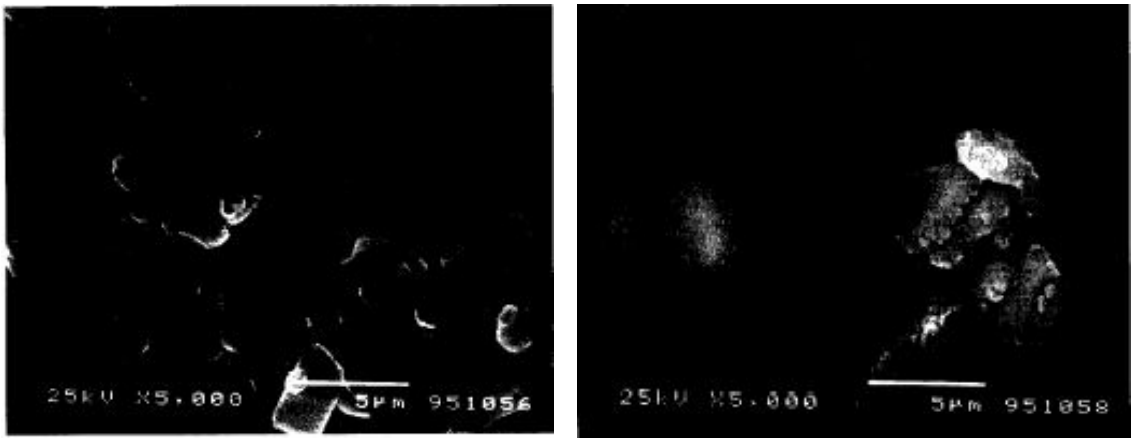
Şekil 2.24 RESS ile elde edilen naftalin, fenantren optik mikroskop görüntüsü a. Saf naftalin, b. Saf fenantren, c. X_{na}=0.86, d. X_{na}=0.42, e. X_{na}=0.24 (T_{eks}=35°C, P_{eks}=14 MPa, $T_{öngen}$=135°C, T_{gen}=35°C, P_{gen}=2.5 MPa)

Domingo *et al.* (1997), benzoik asit, salisilik asit, aspirin ve fenantrenin tanecik büyüklüğü üzerine ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı, gaz dağıtıcı sıcaklığı, kütle akış

hızı ve gaz dağıtıcı konfigürasyonu (tip, çap) gibi RESS parametrelerinin etkisini incelemişlerdir.

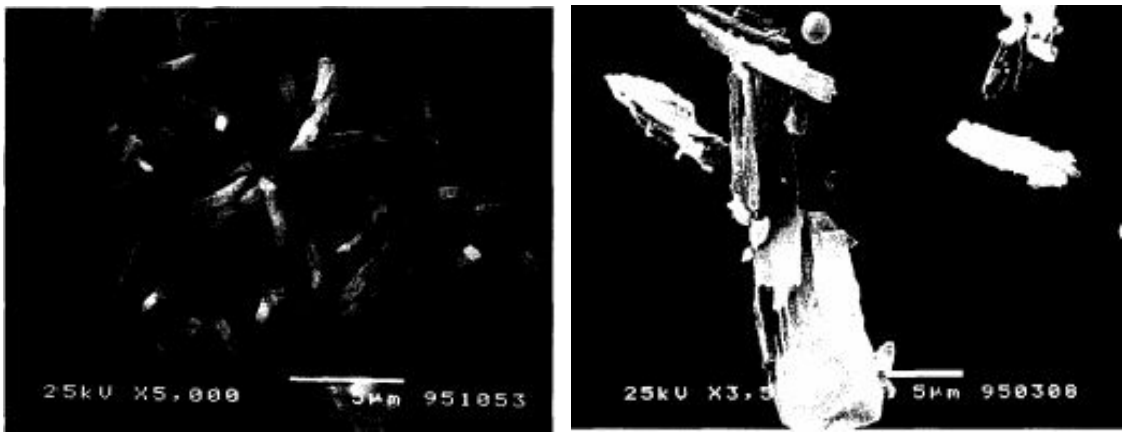
Ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı bileşenlerin yüksek çözünürlüğüne göre ve sabit basınçta sıcaklığın artması ile çözünürlüğün arttığı bölgeden seçilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı salisilik asit, aspirin ve fenantren için 318 K'de sabit tutulur iken benzoik asit için ekstraksiyon sıcaklığı (308–318–338 K) değişiminin tanecik büyüklüğüne etkisi incelenmiştir. Sıcaklığın 308 K'den 338 K'e artması ile benzoik asitin çözünürlüğü artmış; ancak çözünürlükteki bu artışın çöktürülen kristallerin büyüklüğünü etkilemediği bulunmuştur. Ekstraksiyon basıncı değişiminin benzoik asit (16-20 MPa) ve aspirin (16-20 MPa) tanecik büyüklüğünü etkilemediği belirlenir iken salisilik asit ve fenantren için ekstraksiyon basıncı 20 MPa'da tutulmuştur.

Frit ya da kapiler tipi gaz dağıtıcı türüne göre elde edilen taneciklerin büyüklükleri değişmektedir. Salisilik asit ve benzoik asit için kapiler gaz dağıtıcı yerine frit gaz dağıtıcı kullanıldığında tanecik büyüklüğü düşer iken fenantren için tanecik büyüklüğü (1-5 μm) değişmemiştir (Şekil 2.25). Aspirin için ise frit gaz dağıtıcında tıkanmalar meydana geldiğinden sadece kapiler gaz dağıtıcı kullanılmıştır. Kapiler gaz dağıtıcıdan elde edilen benzoik asit kristallerin tanecik büyüklüğü 2-8 μm arasında değişir iken, frit gaz dağıtıcı da gözenek çapına 0.5 μm olduğunda tanecik büyüklüğü 0.1 μm, gözenek çapı 2.0 μm'de ise 0.2 μm olarak belirlenmiştir. Frit gaz dağıtıcı çapının artması ile, elde edilen kristallerin büyüklüğünün arttığı bulunmuştur.

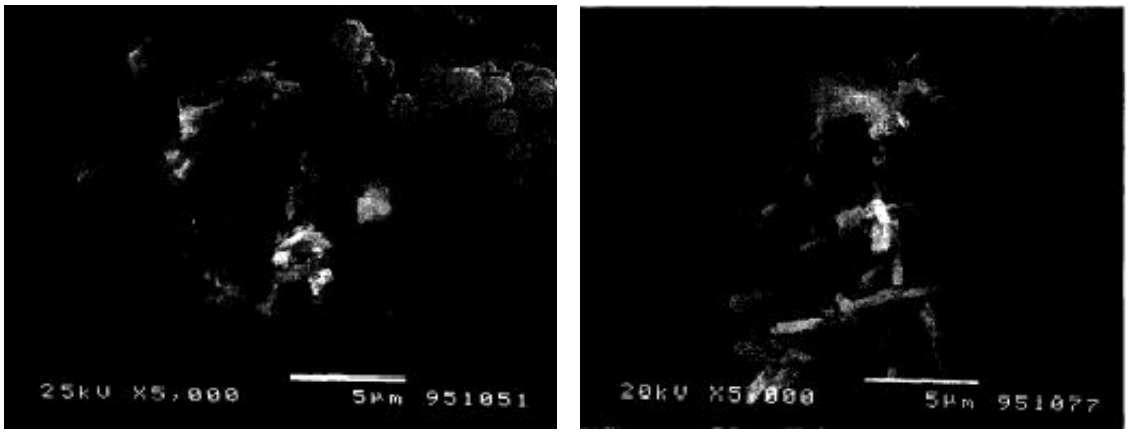


(a) (b)

Şekil 2.25 Fenantren taneciklerinin SEM görüntüleri a. Kapiler gaz dağıtıcı, b. 5 µm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı



(a) (b)



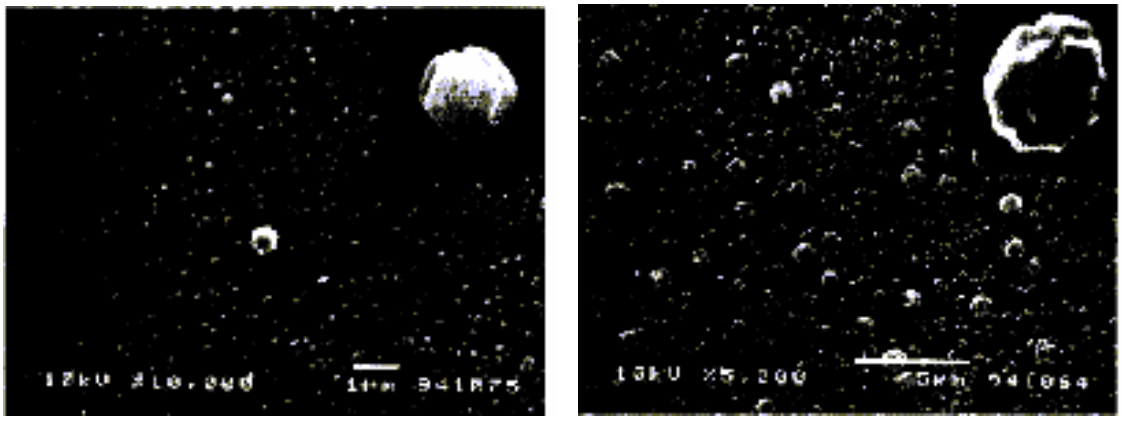
(c) (d)

Şekil 2.26 Salisilik asit a. Kapiler gaz dağıtıcı, b. 5 µm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı Aspirin c. Orijinal, d. kapiler gaz dağıtıcı kristallerinin SEM görüntüleri

Aspirin ve salisilik asit için de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 2.26). Kapiler gaz dağıtıcı kullanılarak elde edilen iğnemsi yapıdaki salisilik asit kristallerinin tanecik çapı 1 μm ve boyu 2-4 μm iken (Şekil 2.26.a), 5 μm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcıda tanecik çapı 1 μm ve boyu 2 μm olan iğnemsi kristaller bulunmuştur (Şekil 2.26.b). Kapiler gaz dağıtıcı ile çöktürülen aspirinin 2-5 μm büyüklüğünde iğnemsi görünümde taneciklerden oluştuğu saptanmıştır (Şekil 2.26.d)

Kapiler gaz dağıtıcı kullanılarak gaz dağıtıcı sıcaklığının (öngenleşme sıcaklığı) etkisi incelenmiştir. Gaz dağıtıcı sıcaklığı benzoik asit için 343–383–403 K, salisilik asit, aspirin ve fenantren için 373–403 K olarak değiştirilmiştir. Kapiler gaz dağıtıcı kullanılarak, sıcaklığın değişmesi ile elde edilen tanecik büyüklüğü benzoik asit için 2-8 μm, salisilik asit için 2-5 μm, aspirin için 2-5 μm, fenantran için ise 1-5 μm olduğu ve tanecik büyüklüğünü etkilemediği belirlenmiştir.

Frit nozzle kullanılarak çöktürülen kristaller için akış hızının 0.1 g/s'den 0.3 g/s'ye artması ile kristal büyüklüğünün 0.2-0.3 μm'den 0.5-1.2 μm'ye arttığı gözlenmiştir (Şekil 2.27).



(a) (b)

Şekil 2.27 5 μm gözenek çaplı frit gaz dağıtıcı kullanılarak üretilen benzoik asit kristallerinin SEM görüntüleri a. G=0.1g/s, b. G=0.3 g/s

Genleşme odası sıcaklığı, gaz dağıtıcı sıcaklığı ve kütle akış hızı ile değiştirilmiştir. Buna göre yüksek gaz dağıtıcı sıcaklığı ve düşük akış hızı genleşme odası sıcaklığının

artmasına neden olduğu ve akış hızının artması ile genleşme odası sıcaklığının düştüğünü bulmuşlardır. Düşük genleşme odası sıcaklığı, genleşmede doygunluğa erken ulaşmaya sebep olacağından, tanecik büyüme süresini artırarak daha büyük tanecikler elde edildiği sonucuna varmışlardır.

Türk (1999), süperkritik CO_2'de naftalin, kolesterol ve benzoik asitin RESS ile tanecik oluşumu incelemiş, kapiler gaz dağıtıcı içinde ve jet bölgesinde prosesin modellemesini yapmıştır. Lazerle delinmiş kapiler gaz dağıtıcı (D=45 μm, L=350 μm) kullanılarak çalışma parametrelerinden öngenleşme sıcaklığı ve basıncının tanecik büyüklüğüne etkisi incelemiştir. Taneciklerin büyüklük ve morfolojisi taramalı elektron mikroskobunda (SEM) ve tanecik büyüklüğü dağılımı online olarak 3-wevelenght-extinction measurement (3-WEM) tekniği ile belirlemiştir.

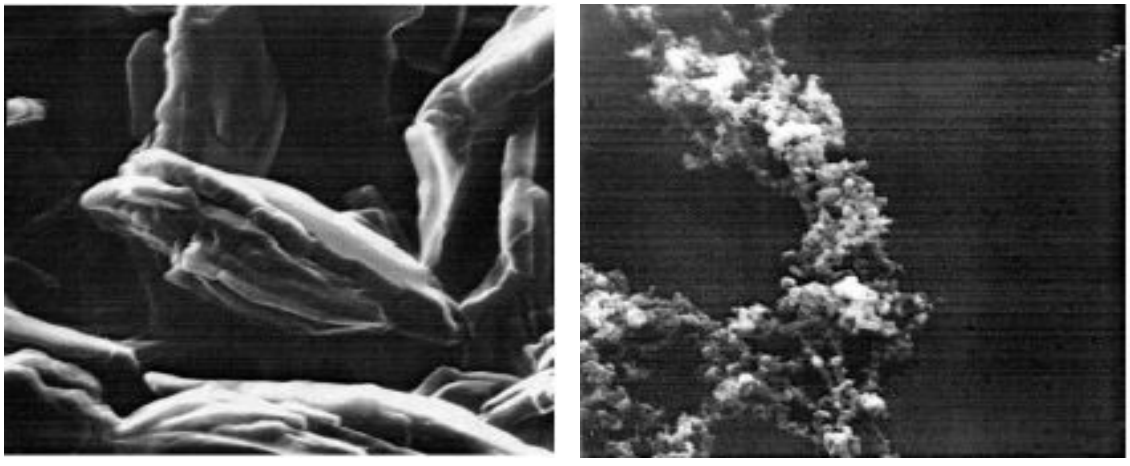
Naftalin/CO_2 için öngenleşme sıcaklığının 348 K'den 366 K'e artması ile ($P_{öngen}$=12.8 MPa, $T_{gazdağ}$=448 K, $D_{gazdağ}$=45 μm) tanecik büyüklüğü 2.24 μm'den 1.46 μm'ye düşer iken öngenleşme basıncının 12.8 MPa'dan 20 MPa'a çıkarılması ile 2.24 μm'den 2.91 μm'ye ($T_{öngen}$=348 K, $T_{gazdağ}$=448 K, $D_{gazdağ}$=45 μm) artmıştır. Kolesterol/CO_2 için ise tanecik oluşumu öngenleşme sıcaklığı (353-420 K) ve basıncına (20.2-30.6 MPa) bağlı olmayarak 117 ile 342 nm arasında bulunmuştur. Benzoik asit/CO_2 sistemi için öngenleşme sıcaklığının 350 K'den 408 K'e artması ile ($P_{öngen}$=13.2 MPa, $T_{gazdağ}$=448 K, $D_{gazdağ}$=45 μm) tanecik büyüklüğü 1.01 μm'den 1.23 μm'ye artar iken öngenleşme basıncının 13.2 MPa'dan 20 MPa'a çıkarılması ile tanecik büyüklüğünde belirgin bir değişim olmamıştır; ayrıca bu sistem için gaz dağıtıcı sıcaklığının ve çapının tanecik büyüklüğüne etkisi de incelenmiştir. Buna göre gaz dağıtıcı sıcaklığının 448 K'den 373 K'e düşmesi ile tanecik büyüklüğünün 1.01 μm'den 0.517 μm'ye düştüğü, gaz dağıtıcı çapının 45 μm'den 140 μm'ye çıkarılması ile tanecik büyüklüğünün 1.01 μm'den 0.309 μm'ye azaldığı bulunmuştur.

Gaz dağıtıcı çıkışında aşırı doygunluğun kolesterol/CO_2 sistemi için $\approx 10^8$, benzoik asit/CO_2 için $\approx 10^6$ ve naftalin/CO_2 için $\approx 10^5$ değerlerinde olduğu bulunmuştur.

Benzoik asit ve naftaline göre kolesterolun aşırı doygunluk değeri daha büyük olduğundan tanecik büyüklüğü diğerlerinden düşük elde edilmiştir.

Helfgen *et al.* (2000), kolesterol ve benzoik asitin süperkritik CO_2 ve CHF_3'de RESS ile tanecik oluşumu ve proses parametrelerinden öngenleşme sıcaklığı ve basıncı, kapiler gaz dağıtıcı (L=350 μm, D=45 μm) sıcaklığının tanecik büyüklüğü üzerine etkisini inceleyerek kapiler gaz dağıtıcıda ve jet bölgesinde prosesi tanımlayan modeli geliştirmişlerdir.

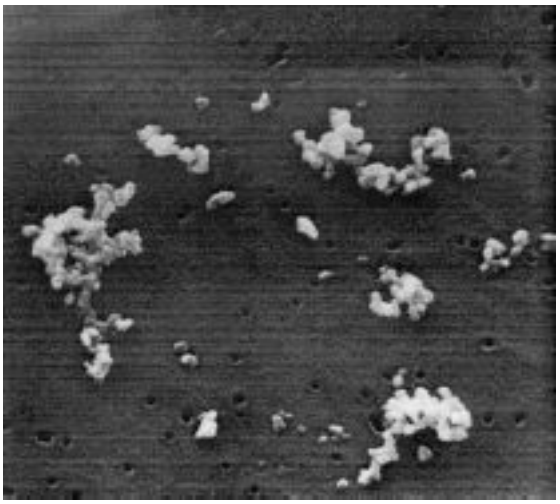
Kolesterol/CO_2 için tanecik büyüklüğü öngenleşme koşullarına bağlı olmadan 117-246 nm arasında değiştiği bulunmuştur. Orijinal benzoik asite göre RESS ile elde edilen tanecikler küreye benzer yapıda ve ortalama tanecik büyüklüğü 393 nm olduğu bulunmuştur (Şekil 2.28). Benzoik asit/CO_2 için tanecik büyüklüğü öngenleşme sıcaklığının 351 K'den 415 K'e artması ile ($P_{öngen}$=20 MPa, $T_{gazdağ}$=448 K, $D_{gazdağ}$=45 μm) 500 nm'den 1104 nm'ye artar iken öngenleşme basıncının 4 MPa'dan 20 MPa'a çıkarılması ile tanecik büyüklüğü 990 nm'den 752 nm'ye düşmüştür ($T_{öngen}$=382-385 K, $T_{gazdağ}$=448 K, $D_{gazdağ}$=45 μm). Gaz dağıtıcı sıcaklığı 448 K'de tanecik büyüklüğü 576 nm, sıcaklık 373 K'de düşürüldüğünde 239 nm olarak bulunmuştur ($T_{öngen}$=349 K, $P_{öngen}$=13.2 MPa, $D_{gazdağ}$=45 μm).



(a) (b)

Şekil 2.28 a.Orijinal benzoik asit, b. SC-CO_2'de RESS ile elde edilen benzoik asit tanecikleri ($P_{öngen}$=20 MPa, T_{eks}=317 K, $T_{öngen}$=350 K, $T_{gazdağ}$=373 K)

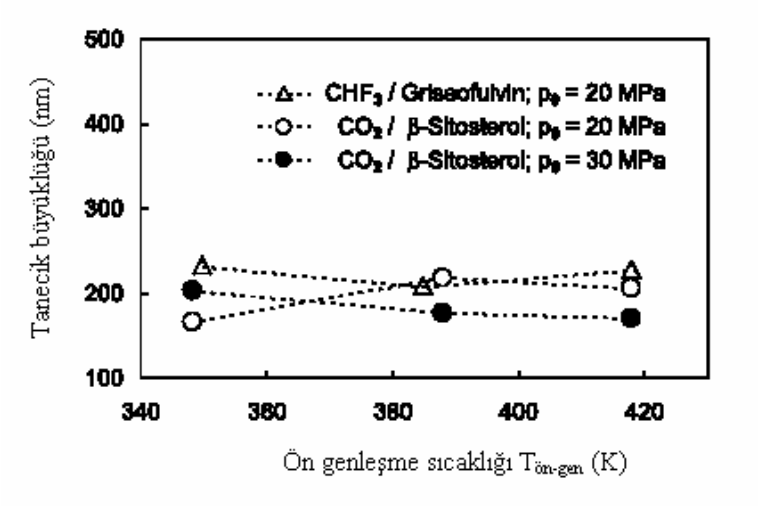
Süperkritik akışkan olarak CO_2 yerine CHF_3 kullanıldığında benzoik asit tanecikleri morfolojinin değişmediği ve çözücü türüne bağlı olmadan tanecik büyüklüğünün 594-1362 nm arasında değiştiği belirlenmiştir ($P_{öngen}$=13 MPa, T_{eks}=325 K, $T_{öngen}$=351 K, $T_{gazdağ}$=373 K) (Şekil 2.29).



Şekil 2.29 SC-CHF_3'de RESS ile elde edilen benzoik asit tanecikleri ($P_{öngen}$=13 MPa, T_{eks}=325 K, $T_{öngen}$=351 K, $T_{gazdağ}$=373 K)

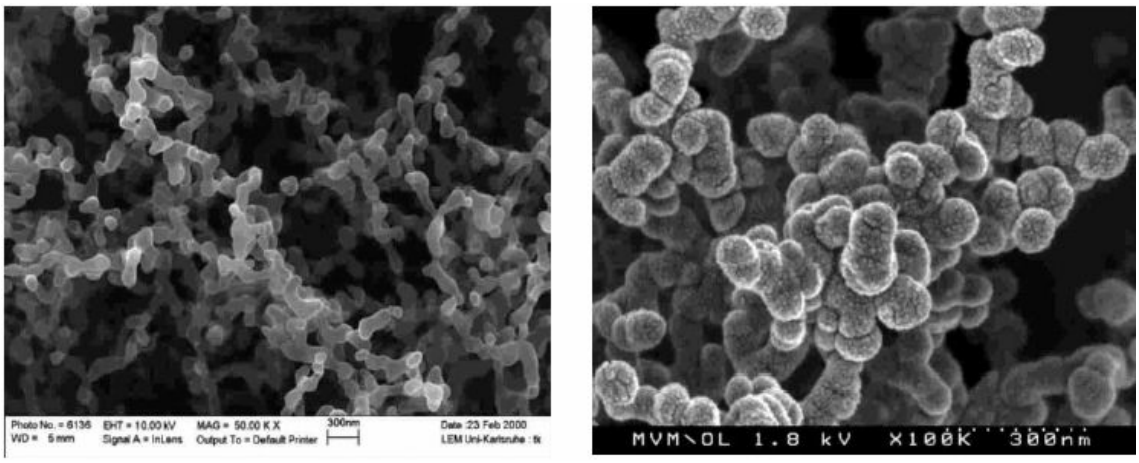
Türk *et al.* (2002b), kapiler gaz dağıtıcı kullanılarak (D ve L=50 μm) RESS ile elde edilen griseofulvinin ve β-sitosterolün taneciklerine öngenleşme sıcaklığı ve basıncının etkisini incelemişlerdir. Taneciklerin büyüklük ve morfolojisi taramalı elektron mikroskobunda (SEM) belirlenmiştir.

RESS deneyleri üç değişik ön genleşme sıcaklığında ($T_{öngen}$=348, 388 ve 418 K) ve iki farklı öngenleşme basıncında ($P_{öngen}$=20 ve 30 MPa) yapılmıştır. Öngenleşme koşulları, kapiler gaz dağıtıcı içinde tanecik çökelmesini önleyecek şekilde seçilmiştir. Tüm deneylerde ekstraksiyon koşulları T_{eks}=326 K ve P_{eks}=$P_{öngen}$ olarak belirlenmiştir. RESS deneylerinde elde edilen ürünlerin tanecik büyüklüklerinin değişimi Şekil 2.30'da verilmiştir. Öngenleşme koşullarından bağımsız olarak SC-CHF_3/Griseofulvin ve SC-CO_2/β-sitosterol çözeltisinin ortalama tanecik büyüklüğü 200±50 nm olarak elde edilmiştir.



Şekil 2.30 Değişik öngenleşme koşullarında CHF_3/Griseofulvin ve CO_2/β-sitosterol tanecik büyüklüğü

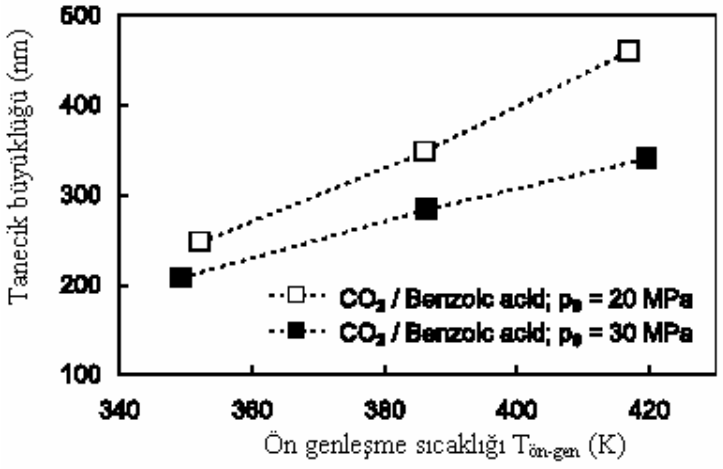
Reverchon *et al.* (1995) tarafından da griseofulvinin RESS ile tanecik oluşumu incelenmiş ve iki farklı morfolojide yapı elde edilmiştir. Öngenleşme sıcaklığı 333 K'de iğnemsi, 333–373 K arasında iğnemsi ve küresel, 373–423 K'de ise sadece küresel yapıda tanecikler elde edilmiş; ancak Türk *et al.* (2002) öngenleşme sıcaklığı 348 K ve 418 K'de griseofulvin morfolojisinin değişmediğini bulmuşlardır (Şekil 2.31).



(a) (b)

Şekil 2.31 RESS ile üretilmiş a. Griseofulvin, b. β-sitosterol tanecikleri

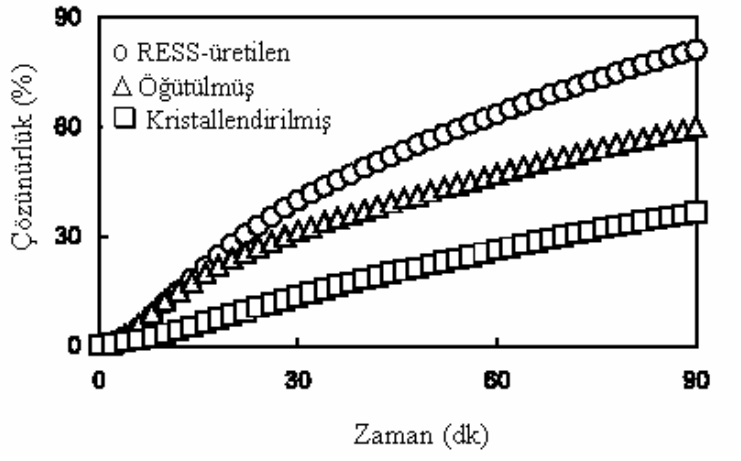
CO_2/benzoik asit için tanecik büyüklüğünün öngenleşme koşullarına bağlı olarak 210 nm'den 410 nm'ye kadar değiştiği bulunmuştur (Şekil 2.32). Öngenleşme basıncının artması ya da öngenleşme sıcaklığının düşürülmesi ile daha küçük tanecikler elde edilmiştir.



Şekil 2.32 Değişik öngenleşme koşullarında CO_2/benzoik asit tanecik büyüklüğü

Griseofulvin ve β-sitosterol farmasötik maddeleri ile benzoik asit arasındaki fark, benzoik asitin CO_2'deki çözünürlüğüne kıyasla, griseofulvinin CHF_3'teki ve β-sitosterolün CO_2'deki çözünürlüklerinin daha düşük olmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır. Ekstraksiyon koşullarında benzoik asitin çözünürlüğü, griseofulvin ve β-sitosterolün çözünürlüklerinin 50 katı daha fazladır.

RESS ile üretilmiş griseofulvinin biyolojik kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla çözünme deneyleri yapılmıştır. Sonuç olarak öğütülmüş ve kristallendirilmiş örneğe kıyasla RESS ile üretilmiş griseofulvinin çözünme oranının ve derişiminin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 2.33). RESS ile üretilmiş taneciklerin biyolojik sistemlerdeki çözünme oranının ve biyolojik kullanılabilirliğinin arttığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 2.33 Değişik şekillerde üretilmiş griseofulvin taneciklerinin çözünme oranı (pH=7.4 yapay bağırsak ortamı)

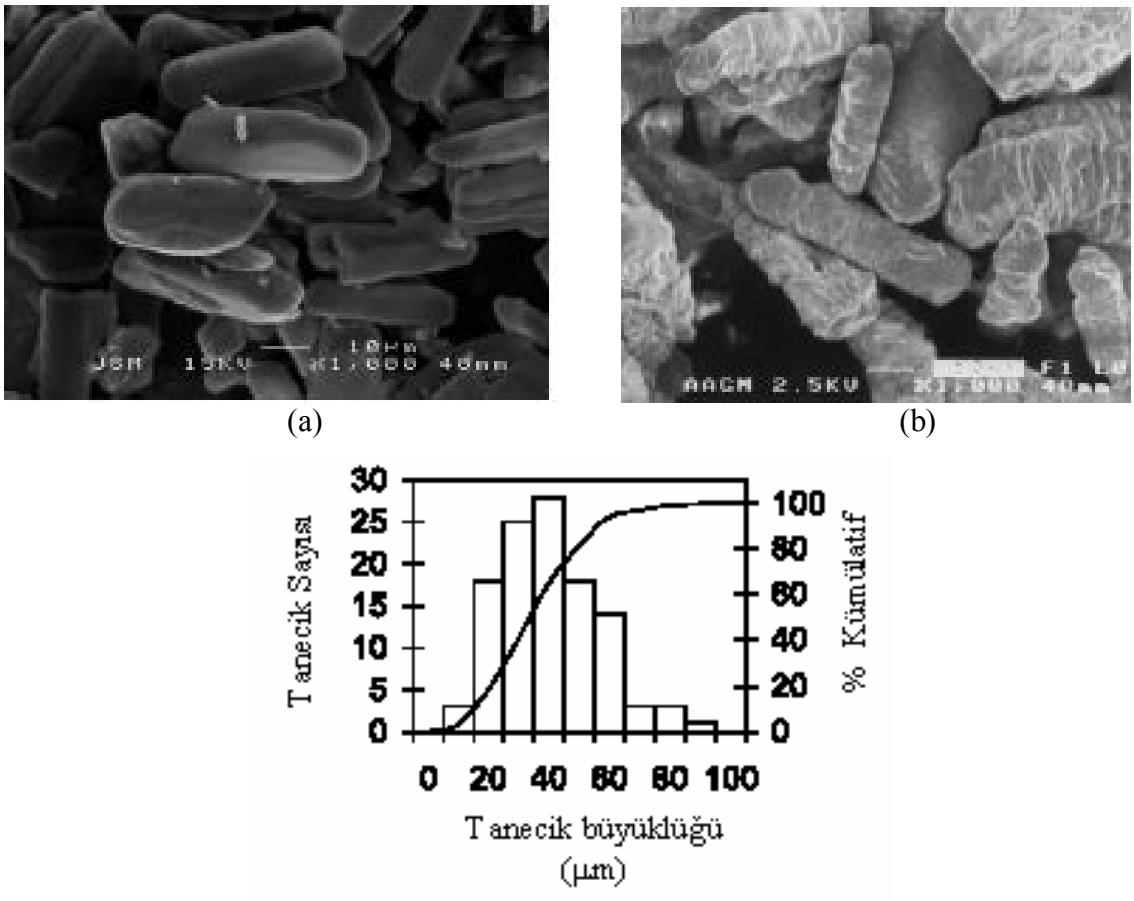
Deneysel çalışmaların yanında kapiler gaz dağıtıcı içinde jet bölgesinde modelleme çalışmaları yapılmış ve tanecik büyüklüğü 2-8 nm arasında değiştiği bulunmuştur. Ayrıca taneciklerin jet bölgesinde oluştuğu ve genleşme odası koşullarının tanecik büyüklüğü kontrolünde önemli olduğu belirlenmiştir. Taneciklerin genleşme odasında büyümelerini önlemek amacı ile süperkritik çözelti doğrudan sulu yüzey aktif (sodyumdodesilsülfat) maddenin içine püskürtülmüştür. Sulu çözelti 0.5 ya da 5 g yüzey aktif madde/dm^3 yüzey aktif maddeden oluşmuştur. Yüzey aktif madde derişimi 0.5 g yüzey aktif madde/dm^3 olduğunda tanecik büyüklüğü dağılımı 7-50 nm arasında değişir iken derişimin 5 g yüzey aktif madde/dm^3 artması ile dağılım 5-36 nm olarak değişmiştir.

Kayrak *et al*. (2003), ibuprofenin kapiler gaz dağıtıcı kullanılarak (L=8-12 mm, D=180 μm) RESS ile tanecik oluşumu üzerine, öngenleşme sıcaklığı (gaz dağıtıcı sıcaklığı), ekstraksiyon basıncı, ve püskürtme uzaklığı, çarpma açısı ve kapiler gaz dağıtcıcı uzunluğunun etkisini incelemişlerdir. Elde edilen tanecikler taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışını difraktogramında (XRD) analiz edilmiştir.

Orijinal ibuprofen taneciklerinin ortalama büyüklüğü 45 μm iken, uygulanan deneysel koşullara bağlı olarak RESS süreci sonunda 2.85 μm ile 7.48 μm arasında tanecik

büyüklüğü elde edilmiştir. Kümeleşen parçacıklar 3 dk ultrasonik titreşime tabi tutularak ayrılmaları sağlanmıştır.

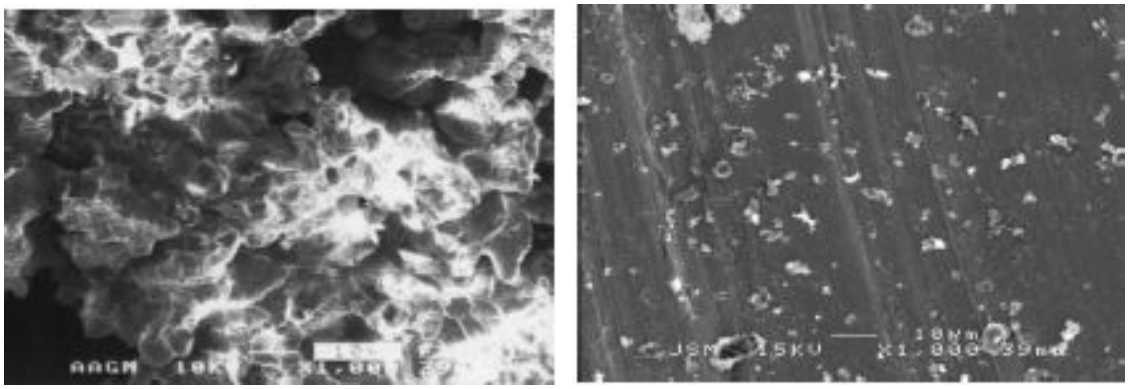
Orijinal ibuprofen taneciklerinin SEM görüntüsü ve tanecik büyüklüğü dağılımı (TBD) Şekil 2.34'de verilmiştir. Dikdörtgen biçimindeki taneciklerin %95'i 70 μm'den küçük olduğu; ancak 15 μm'den küçük taneciklerin olmadığı bulunmuştur (Şekil 2.34.c).



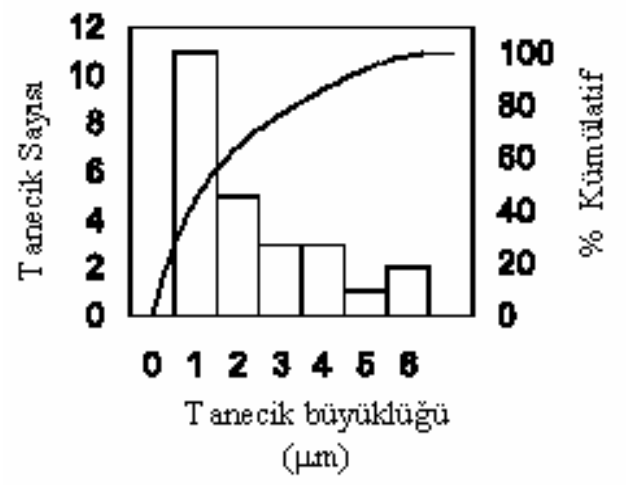
(c)

Şekil 2.34 Orijinal ibuprofen parçacıklarının SEM görüntüsü a. Ultrasonik titreşimden önce, b. Ultrasonik titreşimden sonra, c. TBD

RESS ile elde edilen ibuprofen taneciklerinin SEM görüntüleri Şekil 2.35'te verilmiştir. Ortalama tanecik büyüklüğü 2.85 μm, taneciklerin %45'i 2 μm'den ve %88'inin 5 μm'den küçük olduğu bulunmuştur (Şekil 2.35.c).



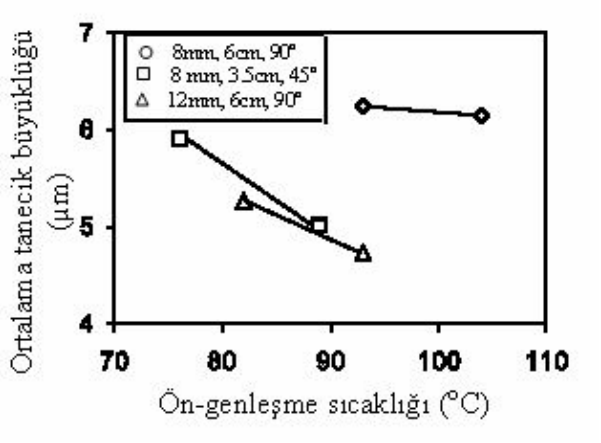
(a) (b)



(c)

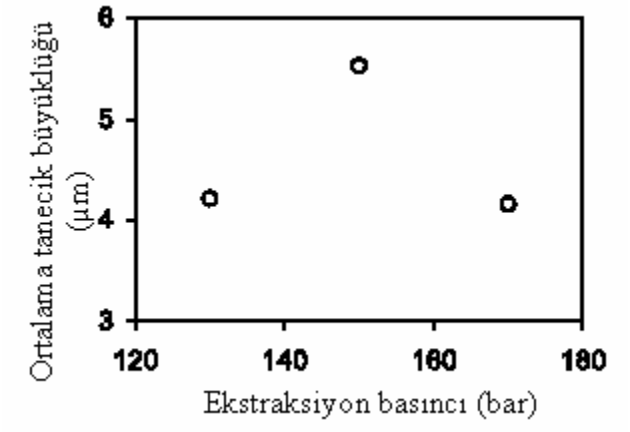
Şekil 2.35 RESS ile çöktürülen ibuprofen parçacıklarının SEM görüntüsü a. Ultrasonik titreşimden önce, b. Ultrasonik tireşimden sonra, c. TBD (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=20 mm, Çarpma açısı=90^{o}, $T_{gazdağ}$=125^{o}C, $T_{öngen}$=88^{o}C)

Öngenleşme sıcaklığının 76^{o}C'den 104^{o}C'ye artması ile, ortalama tanecik büyüklüğünün azaldığı bulunmuştur (Şekil 2.36). Sıcaklığın yükselmesi ile süperkritik akışkan doymamış olur. Doymamış çözelti genleşme öncesinde gaz dağıtıcı içinde tanecik oluşumunu önler ve çekirdek büyüme süresini kısaltır. Buna bağlı olarak tanecik büyüklüğünün düştüğü bulunmuştur.



Şekil 2.36 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne öngenleşme sıcaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C).

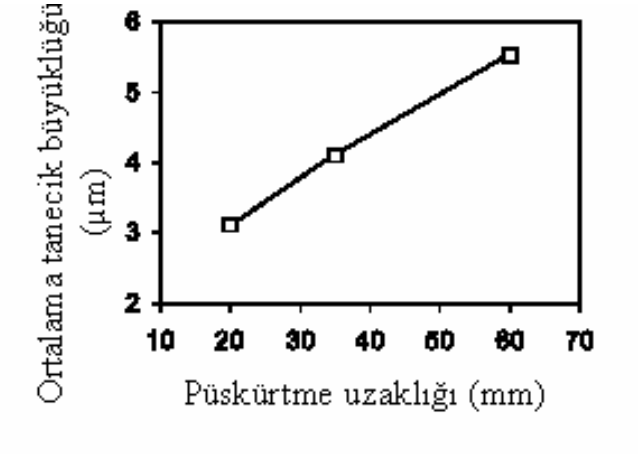
Deneylerde ekstraksiyon sıcaklığı 35^{o}C'de tutulmuştur. Ekstraksiyon basıncının (130, 150, 170 bar) değişiminin taneciklerin morfolojisi ve büyüklüğü üzerine etkileri incelenmiş ve ortalama tanecik büyüklüğünün ekstraksiyon basıncına bağlılığının çok açık olmadığı görülmüştür (Şekil 2.37). Sonuç, ibuprofenin CO_2'deki çözünürlüğünün 35^{o}C ve 130-170 barda önemli ölçüde değişmemesine bağlanmıştır.



Şekil 2.37 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne ekstraksiyon basıncının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=60 mm, Çarpma açısı=90^{o})

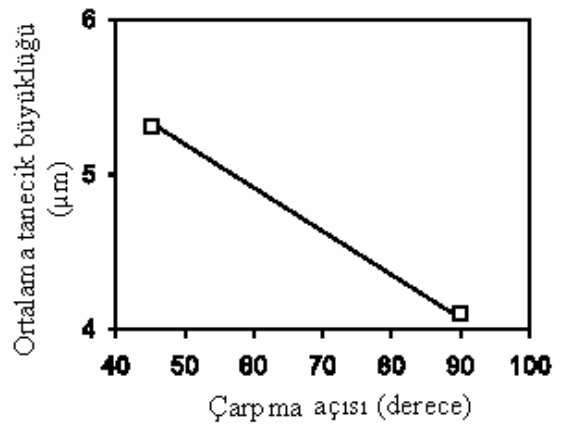
İncelenen bir diğer parametre ise püskürtme uzaklığıdır. Püskürtme uzaklığı kısa olduğu zaman, taneciklerin genleşme bölgesinde kalma süreleri de kısa olmaktadır. Bu nedenle

püskürtme uzaklığı 20 mm'den 35 ve 60 mm'ye değiştiği zaman ortalama tanecik büyüklüğü artmıştır (Şekil 2.38).



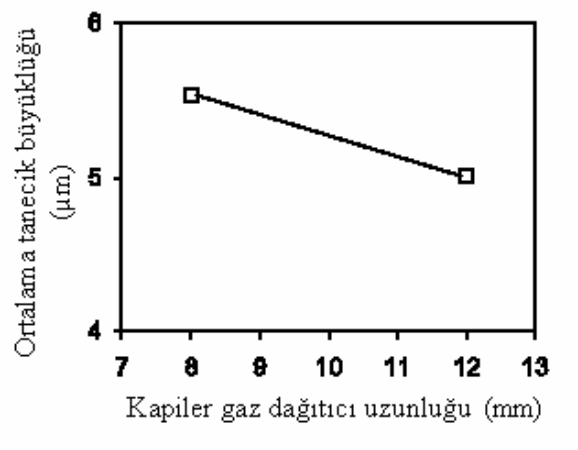
Şekil 2.38 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne püskürtme uzaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, Çarpma açısı=90^{o})

Deneylerde tanecikleri toplama yüzeyi 45^{o}'den 90^{o}'ye değiştirilerek taneciklerin yüzeye çarpma açısının etkisi incelenmiştir. Yüzeye çarpma açısının düşmesi taneciklerin yüzeye yumuşak olarak çarpmasını sağladığından tanecik büyüklüğü artmıştır (Şekil 2.39).



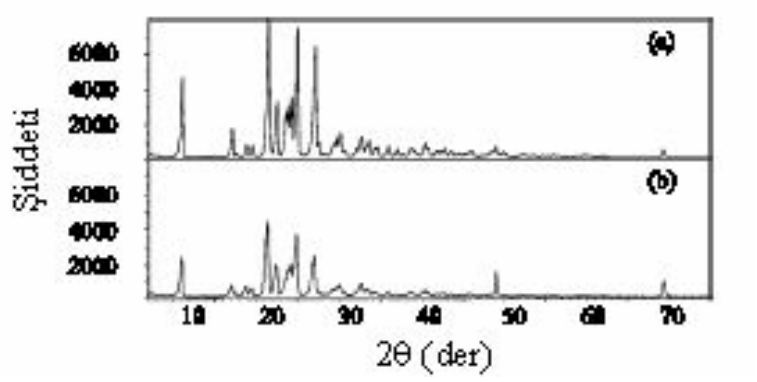
Şekil 2.39 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne çarpma açısının etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{gazdağ}$=8 mm, $L_{püs}$=35 mm)

Tanecik büyüklüğü üzerine incelenen son parametre ise kapiler gaz dağıtıcı uzunluğu değişiminin etkisi olmuştur. Kapiler uzunluk kısa olduğu zaman daha büyük taneciklerin oluştuğu bulunmuştur (Şekil 2.40).



Şekil 2.40 RESS ile elde edilen ibuprofen ortalama tanecik büyüklüğüne kapiler gaz dağıtıcı uzunluğunun etkisi (P_{eks}=150 bar, T_{eks}=35^{o}C, $L_{püs}$=35 mm, Çarpma açısı=90^{o})

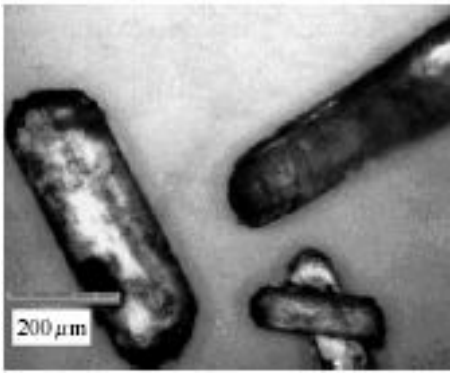
RESS ile elde edilen taneciklerin XRD analizi yapılarak orijinal ibuprofen ile karşılaştırılmıştır (Şekil 2.41). Buna göre orijinal ve RESS ile elde edilen tanecikler aynı dalga boyunda pik vermiş; ancak RESS sonucu oluşan taneciklerin şiddeti orijinale göre azalmıştır. Bu azalmanın nedeni olarak, RESS ile üretilen taneciklerin büyüklüğünün düşük olmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır.



Şekil 2.41 Ibuprofenin XRD analizi a. Orijinal, b. RESS ile elde edilmiş tanecikler

Huang *et al*. (2005), aspirinin süperkritik karbondioksitte lazerle delinmiş orifis gaz dağıtıcı çapı (L=5000 μm, D=60-350 μm), ekstraksiyon sıcaklığı (50-90^{o}C) ve basıncı (160-210 bar), öngenleşme sıcaklığı (81-140^{o}C) gibi RESS işletme parametrelerinin tanecik büyüklüğüne etkisini incelemişlerdir. Elde taneciklerin analizi optik mikroskop, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışınları difraktogramı (XRD), termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)'de yapılmıştır.

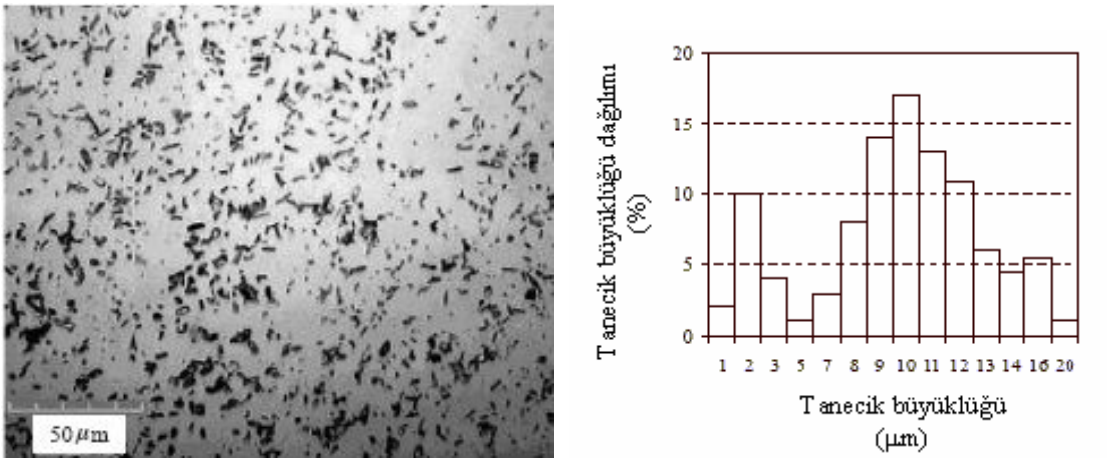
Ortalama tanecik büyüklüğü ve tanecik büyüklüğü dağılımı rasgele seçilen en az 50 adet taneciğin sayılması ile belirlenmiştir. Orijinal aspirinin ortalama tanecik büyüklüğü 560 μm'dir (Şekil 2.42). Gaz dağıtıcı çapı değişiminin (60 ve 350 μm) aspirin tanecik büyüklüğü ve morfolojisine etkisini incelemişlerdir. Sabit ekstraksiyon sıcaklığında (T_{eks}=50^{o}C), gaz dağıtıcı çapı 60 ve 350 μm'de ortalama tanecik büyüklüğü sırası ile 8.77 μm ve 8.87 μm olarak bulunmuş ve bu parametrenin tanecik büyüklüğü ve morfolojisine belirgin bir etkisinin olmadığı vurgulanmıştır. Deneylerde 60 μm çaplı gaz dağıtıcının kolayca tıkanması riskine karşı 350 μm çaplı gaz dağıtıcı kullanılmıştır.



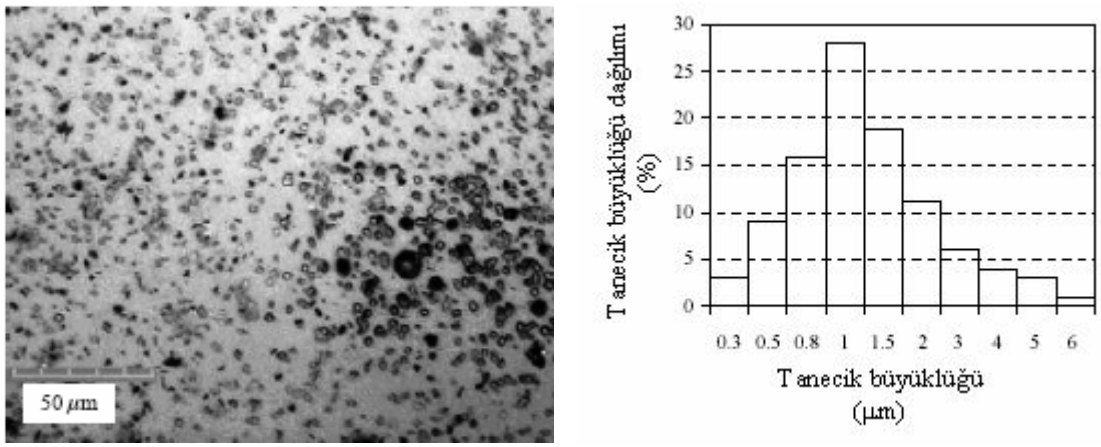
Şekil 2.42 Orijinal aspirin taneciklerinin optik mikroskop görüntüsü

Ekstraksiyon sıcaklığının 50^{o}C'den 70^{o}C'ye değişmesi ile tanecik büyüklüğü düşer iken sıcaklığın 90^{o}C'ye çıkarılması ile tanecik büyüklüğü artmıştır. 50^{o}C'de boyu 7–15 μm ve çapı 2–3 μm olan iğnemsi tanecikler ile az sayıda küresel taneciklerin olduğu (Şekil 2.43.a); ancak 60^{o}C'de ortalama tanecik büyüklüğü 1.34 μm (Şekil 2.43.b) ve 70^{o}C'de ortalama tanecik büyüklüğü 0.36 μm olan küresele benzeyen tanecikler elde

edilmiştir (Şekil 2.44). Elde edilen taneciklerin dağılım oranının 0.1-0.3 μm arasında yoğunlaştığı belirlenmiştir (Şekil 2.44.c) Taneciklerin genleşme jetinin merkezinde kolaylıkla biriktiği (Şekil 2.44.a); ancak jet sonunda taneciklerin aglomera olduğunu ve rasgele dağıldığı (Şekil 2.44.b) bulunmuştur. Akış hızı genleşme jetinin merkezinde çok yüksek olur iken jetin ucunda daha düşüktür. Süperkritik akışkan ani genleştiği zaman girdinin büyük çoğunluğu genleşme bölgesinin merkezinde toplanmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığının 80°C ve 90°C'ye çıkarılması ile ortalama tanecik büyüklüğü 1.47 μm ve 2.04 μm'ye arttığı belirlenmiştir.

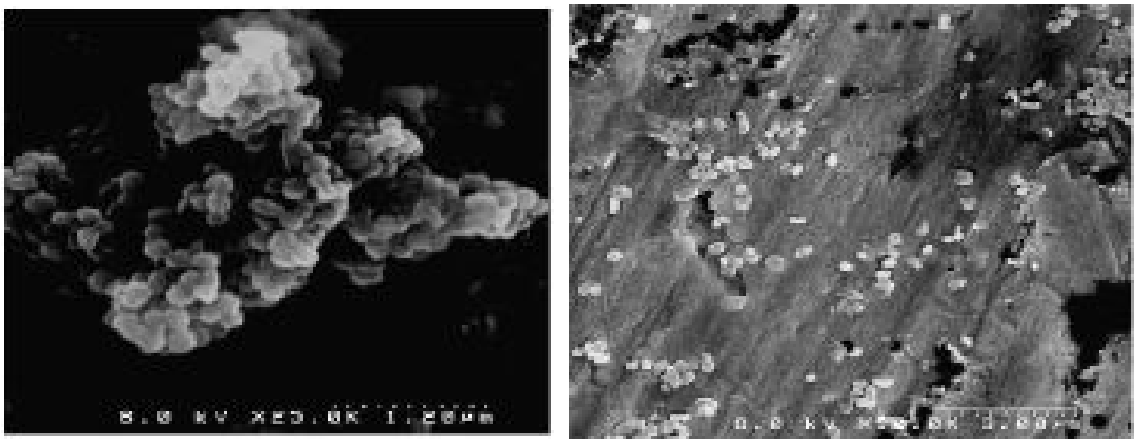


(a)

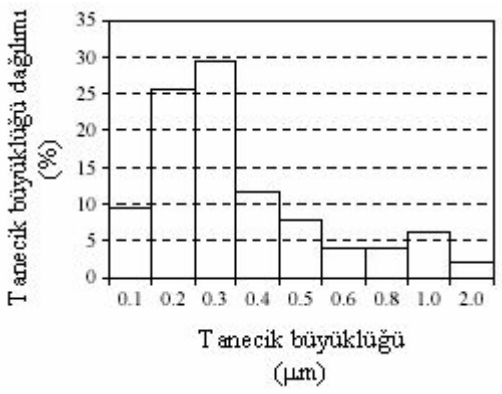


(b)

Şekil 2.43 RESS ile elde edilen aspirin taneciklerinin SEM görüntüleri ve tanecik büyüklüğü dağılımı a. T_{eks}=50°C, b. T_{eks}=60°C (P_{eks}=160 bar, $D_{gazdağ}$=60 μm)



(a) (b)



(c)

Şekil 2.44 RESS ile elde edilen aspirin taneciklerinin SEM görüntüleri ve tanecik büyüklüğü dağılımı a. Jet merkezi, b. Jet sonu (P_{eks}=160 bar, T_{eks}=70^{o}C, $D_{gazdağ}$=350 μm), c. Tanecik büyüklüğü dağılımı

Sabit ekstraksiyon sıcaklığında (70^{o}C), ekstraksiyon basıncının 160 bar'dan 180 bar'a artması ile tanecik büyüklüğü 0.33 μm'den 0.12 μm'ye düşer iken basıncın 210 bar'a çıkarılması ile ortalama tanecik büyüklüğü 1.92 μm'ye artmıştır.

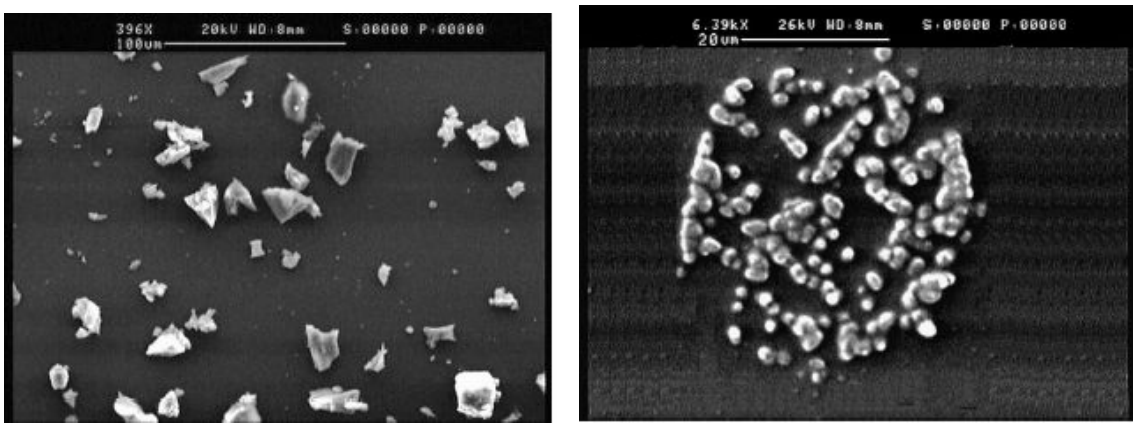
Öngenleşme sıcaklığı 100^{o}C'de ortalama tanecik büyüklüğü 0.12 μm iken 119^{o}C'de 0.11 μm ve 140^{o}C'de 0.13 μm olarak bulunmuş ve sıcaklık değişiminin aspirin tanecik büyüklüğü üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

RESS ile elde edilen aspirin taneciklerinin XRD analizinin orijinale göre şiddetinin daha düşük olduğu ve belirgin pikin 2θ=15'de çıktığı bulunmuştur. Bu azalışın RESS

ile elde edilen tanecik büyüklüğünün daha düşük olmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır. DSC sonuçlarına göre orijinal aspirinin erime noktası 138^{o}C iken RESS ile elde edilenin 134^{o}C olduğu saptanmıştır. Buna göre RESS ile daha küçük tanecikler oluştuğundan dolayı yüzey alanı artarak orijinaline göre erime noktası düşük bulunmuştur. TGA sonuçlarına göre RESS ile elde edilen taneciklerde orijinale göre daha düşük sıcaklıklarda kütle kaybının oluştuğu bulunmuştur.

Wang *et al*. (2005) yaptıkları çalışmada titanyum diklorürün süperkritik propandaki çözünürlüğünü ve RESS ile elde edilen taneciklerin büyüklük ve morfolojisi üzerine girdi derişimi (ekstraksiyon sıcaklığı etkisi), öngenleşme sıcaklığı ve basıncı, lazerle delinmiş kapiler gaz dağıtıcı konfigürasyonu (uzunluk ve çap), püskürtme uzaklığı, akış hızı ve genleşme odası ortamının etkisini incelemişlerdir. Taneciklerin analizi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve optik mikroskop ile yapılmıştır.

Orijinal titanyum diklorür taneciklerine göre RESS ile daha küçük tanecikler elde edilmiştir (Şekil 2.45).



(a) (b)

Şekil 2.45 a. Orijinal titanyum diklorür, b. RESS ile elde edilen titanyum diklorür taneciklerinin SEM görüntüleri (T_{eks}=403.15 K, P_{eks}=20 MPa, gaz dağıtıcı L/D=83)

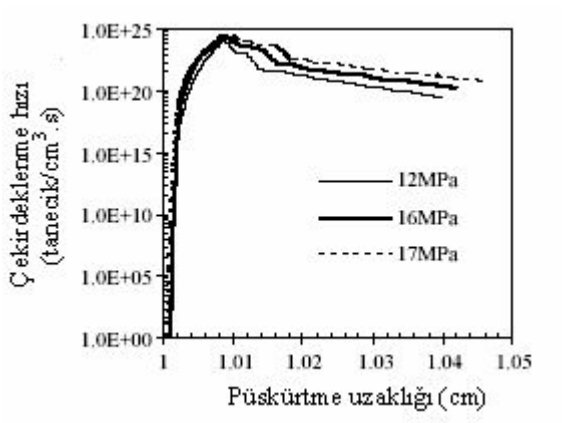
Kapiler gaz dağıtıcı (L/D=5/60 mm/μm) ile sabit ekstraksiyon basıncı (20 MPa) ve öngenleşme sıcaklığında (443.15 K), ekstraksiyon sıcaklığının 383.15 K'den

408.15 K'e çıkarılması ile titanyum diklorürün süperkritik C_3H_8'deki molkesri $3.01*10^{-5}$'den $9.99*10^{-5}$'e artmakta ve ortalama tanecik büyüklüğü 5.833 μm'den 3.776 μm'ye düşmektedir. Öngenleşme sıcaklığının 403 K'den 483 K'e artırılması ile tanecik büyüklüğünün 3.359 μm'den 4.244 μm'ye arttığını belirlemişlerdir (T_{eks}=403.15 K, P_{eks}=20 MPa, kapiler gaz dağıtıcı L/D=83). Öngenleşme basıncı 11 MPa'da tanecik büyüklüğünün 4.797 μm olduğu, 34.9 MPa'da ise 3.231 μm'ye düştüğü bulunmuştur (T_{eks}=403.15 K, $T_{öngen}$=443.15 K, kapiler gaz dağıtıcı L/D=83).

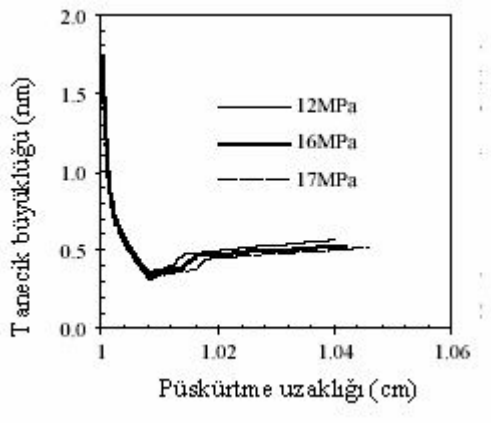
Kapiler gaz dağıtıcı çapının 80 μm'den 25 μm'ye azalması ile tanecikler arasında aglomerasyonun artması sonucunda tanecik büyüklüğü 3.785 μm'den 4.888 μm'ye artmıştır. Gaz dağıtıcı uzunluğunun 3 mm'den 15 mm'ye artması ile gaz dağıtıcı içinde çekirdeklenmenin başlaması ile taneciklerin büyüme süresi uzadığından tanecik büyüklüğü 3.813 μm'den 5.406 μm'ye artmıştır. Püskürtme uzaklığının 2 mm'den 95 mm'ye çıkarılması ile genleşme odasında taneciklerin kalma süresi artacağından tanecik büyüklüğü 3.424 μm'den 8.509 μm'ye artmıştır. Akış hızının artması ile gaz dağıtıcı içinde taneciklerin kalma süresi azalarak tanecik büyüme süresi düşmüş ve daha küçük büyüklükte tanecikler elde edilmiştir. RESS deneyleri genleşme odası atmosfer koşullarında gerçekleşmiştir. Tanecikler deiyonize su içeren genleşme odasına gaz dağıtıcıdan püskürtüldüğünde deiyonize suyun taneciklerin aglomerasyonunu önlemesi ile tanecik büyüklüğü 4.214 μm'den 0.739 μm'ye düştüğü bulunmuştur (T_{eks}=403.15 K, P_{eks}=20 MPa, gaz dağıtıcı L/D=83).

Hirunsit *et al.* (2005), süreli yayınlardan elde edilen ibuprofenin süperkritik CO_2'de RESS ile tanecik oluşumu ve çözünürlük deneysel verilerini kullanarak proses parametrelerinin (öngenleşme sıcaklığı ve basıncı, kapiler gaz dağıtıcı uzunluğu) etkisini araştırarak RESS genleşme yolunda (kapiler içi ve jet bölgesinde) modelleme çalışmaları yapmışlardır.

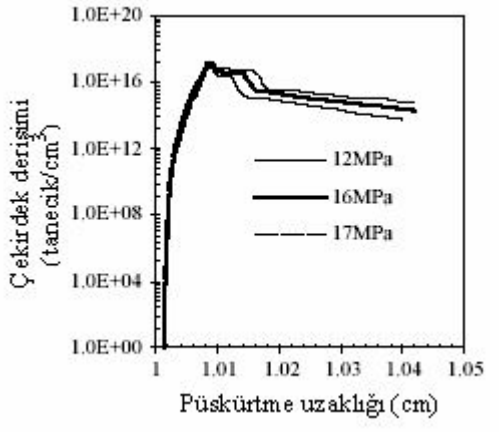
Öngenleşme basıncının 12 MPa'dan 17 MPa'a artması çekirdeklenme hızını, çekirdek büyüklüğünü ve çekirdek derişimlerini çok az etkilediği belirlenmiştir (Şekil 2.46).



(a)



(b)

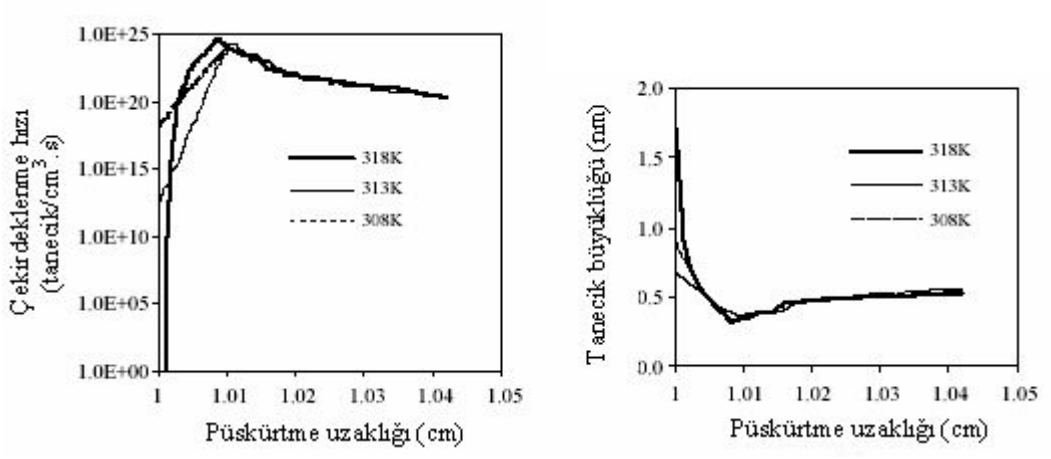


(c)

Şekil 2.46 İbuprofenin farklı öngenleşme basınçlarında genleşme yolu boyunca a. Çekirdeklenme hızı, b. Tanecik büyüklüğü, c. Çekirdek derişimi ($T_{öngen}$=318 K, $D_{gazdağ}$=50 μm, $L_{gazdağ}$=1 cm)

Öngenleşme sıcaklığı düşük olduğu zaman gaz dağıtıcı çıkışında çekirdeklenme hızının daha yüksek olduğu, 308 ve 313 K'de çekirdeklenme hızları 10^8 ve 10^{12} (tanecik/cm^3.s) olur iken 318 K'de çekirdeklenme gözlenmediği belirlenmiştir (Şekil 2.47.a). 308 ve 313 K'de tanecik oluşumu gaz dağıtıcı içinde başlamakta ve bu durumun daha büyük tanecikleri üretmesi beklenirken, çekirdeklenme hızının yüksek olması tanecik büyümesi için alıkonma süresinin çok kısa olmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı tanecik büyüklüğü 313 K için 0.9 nm, 308 K için 0.7 nm olarak bulunmuştur. Püskürtme uzaklığı 1.01 cm'de farklı öngenleşme sıcaklıklarında çekirdeklenme hızları aynı değere ulaşmış ve tanecik büyüklüğü 0.3 nm'ye düşmüştür. Püskürtme uzaklığı

artıkça tanecik büyüklüğü sıcaklıkla değişmeyerek 0.5 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 2.47.b).



(a) (b)

Şekil 2.47 Ibuprofenin farklı öngenleşme sıcaklıklarında genleşme yolu boyunca a. Çekirdeklenme hızı, b. Tanecik büyüklüğü ($P_{öngen}$=16 MPa, $L/D_{gazdağ}$=1/50 cm/μm)

Gaz dağıtıcı uzunluğu 1 cm olduğu zaman gaz dağıtıcı çıkışında aşırı doygunluk değeri 25, 2 cm için 50 olduğu ve tanecik büyüklüğünün 1 cm için 1.7 nm, 2 cm için 1.4 nm bulunmuştur.

2.7.2 Kaynak araştırması bulgularının değerlendirilmesi

Kaynak araştırmasından elde edilen bulgulardan RESS ile kapsamlı çalışmalar olmasına rağmen elde edilen tanecik büyüklüğü ve morfoloji üzerine çalışma parametrelerinin etkisi hakkında kesin bir yargı elde edilememiştir. Proses parametrelerinin etkisinin anlaşılmasına yardımcı olmak amacı ile deneysel çalışmaların yanında genleşme yolu boyunca (gaz dağıtıcı içinde ve jet bölgesinde) modelleme çalışmaları da yapılmıştır. Taneciklerin büyüklüğü ve morfolojisi, girdinin özeliklerine ve süperkritik akışkan ile etkileşimine, deney koşullarına, kullanılan deney sistemine, gaz dağıtıcının özeliklerine ve RESS çalışma parametrelerine (genleşme odası sıcaklığı ve basıncı, püskürtme

uzaklığı, gaz dağıtıcısı geometrisi, öngenleşme sıcaklığı, ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı) bağlı olarak değişebilmektedir.

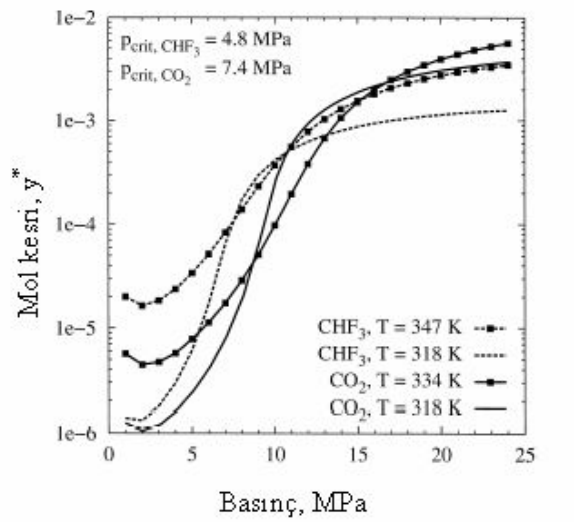
RESS prosesi, homojen dağılımlı, mikro ya da nano yapıdaki taneciklerin oluşmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Süperkritik akışkanların ani genleşmesi ile süperkritik akışkanın çözme gücü azalarak yüksek aşırı doygunlukla inorganik ya da organik girdi çökmektedir.

Süreli yayınlarda tanecik oluşumunda önemli parametrelerin aşırı doygunluk ve çekirdeklenme hızı (tanecik/cm^3.s) olduğu belirtilmiştir. Genleşme sırasında kristal oluşumu ve girdinin çekirdeklenmesi için yürütücü kuvvet, aşırı doygunluk olarak vurgulanmıştır. Aşırı doygunluğun azalması ile çekirdeklenme hızı düşmekte tanecik büyüklüğü artmaktadır.

RESS işletme parametrelerinden genleşme odası sıcaklığının düşmesi ile tanecik büyüklüğünün azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Genleşme odası basınçlı ya da atmosfer koşullarında olabilmektedir. Sıcaklığın düşürülmesi ile girdinin çözünürlüğü azalmakta ve aşırı doygunluğun artması ile daha küçük tanecikler oluşmaktadır.

Öngenleşme sıcaklığının değişimine bağlı olarak tanecik büyüklüğü artabilir, azalabilir ya da değişim göstermez. Öngenleşme sıcaklığı süperkritik akışkanın fizikokimyasal özeliklerini değiştirir. Sıcaklığının artması, süperkritik akışkanın yoğunluğunun düşmesine ve girdinin kısmi basıncının artmasına neden olur. Çözücü yoğunluğunun düşmesi çözme gücünü ve çözünürlüğü azaltırken, girdinin buhar basıncının artması girdi çözünürlüğünü arttırır. Birbiri ile yarışmalı olan bu iki olay tanecik büyüklüğünü etkiler. Çekirdeklenme ve taneciklerin birleşerek büyümesi gaz dağıtıcı içinde ve genleşme bölgesinde gerçekleşebilmektedir. Genleşme öncesinde çekirdeklenmenin olmaması genleşme sonrasında tanecik büyüklüğünü düşürür iken taneciklerin birleşmesi büyüklüğünün artmasına neden olur.

Tanecik büyüklüğünü etkileyen bir diğer parametre ise ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncıdır. Süreli yayınlarda ekstaksiyon koşullarına bağlı olarak tanecik büyüklüğünün azaldığını, arttığını ya da değişmediğini gösteren çalışmalar vardır. Ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı girdinin süperkritik akışkandaki çözünürlüğünü etkileyen parametrelerdir. Çünkü sıcaklığa bağlı olarak girdinin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü, çözücü yoğunluğu ve girdi buhar basıncının birbiriyle yarışmalı olayının sonucuna göre değişmektedir. CO_2/benzoik asit için (Şekil 2.48) 8.5 MPa ile 16 MPa arasında sabit basınçta sıcaklığın artması ile çözünürlük azalmakta, bu bölgenin dışında ise sıcaklığın artması ile çözünürlük artmaktadır (Helfgen *et al.* 2000). Süreli yayınlarda ekstraksiyon parametreleri genelde sıcaklığın artması ile çözünürlüğün arttığı koşullara göre seçilmiştir.



Şekil 2.48 Benzoik asitin CO_2 ve CHF_3'deki denge mol kesrinin sıcaklık ve basınca göre değişimi (Helfgen *et al.* 2000)

Ekstraksiyon sıcaklığının artması ile süperkritik akışkanın yoğunluğu düşer ve girdinin buhar basıncı artar. Çözücü yoğunluğunun düşmesi, çözücünün çözme gücünün azalmasına yol açarken, girdinin buhar basıncının artması girdi çözünürlüğünün artmasına neden olur. Birbiriyle yarışmalı olan bu iki etkinin sonucunda girdi buhar basıncının baskın olduğu durum için sabit ekstraksiyon basıncında sıcaklığın artması ile girdinin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü artarak, genleşme sırasında aşırı doygunluğun artmasına neden olur. Yüksek aşırı doygunluk değerlerinde çok sayıda

çekirdek oluşur ve çekirdeklenme hızı artar. Çekirdeklenme hızının artması ile çekirdeklerin büyüme için zamanı olamayacağından tanecik büyüklüğü küçülür; ancak ekstraksiyon sıcaklığının artması ile çözünürlüğün artması sonucunda çok yüksek derişimlere ulaşılması tanecikler arasında aglomerasyon nedeniyle tanecik büyüklüğünü artırabilir.

Benzer şekilde sabit ekstraksiyon sıcaklığında ekstraksiyon basıncının yükseltilmesi, süperkritik akışkan yoğunluğunun artmasına neden olur ve buna bağlı olarak süperkritik akışkanda girdi çözünürlüğü artarak, aşırı doygunluğun artmasına neden olur. Bu durum genleşme boyunca çekirdeklenme hızının artmasına yol açarak, tanecik büyüklüğünü düşürür. Bunun yanında ekstraksiyon basıncının artması ile süperkritik akışkanda girdi çözünürlüğünün artması, girdi derişimini arttıracağından tanecikler arasında daha sık birleşmeler olabilir ve tanecik büyüklüğü artabilir, ayrıca kullanılan gaz dağıtıcı özeliğine göre (kapiler gibi) çözelti derişiminin artması çekirdeklenmenin daha erken olmasına ve gaz dağıtıcı içinde tanecik oluşum süresini uzatabilmektedir. Bu etkinin sonucunda da tanecik büyüklüğü artmaktadır. Birbiriyle yarışmalı olan bu olaylardan baskın olan, tanecik büyüklüğünü etkilemektedir.

Gaz dağıtıcı çapının küçülmesi, tanecikler arasında aglomerasyona neden olarak tanecik büyüklüğünü artırır. Kapiler gaz dağıtıcı uzunluğunun artması ile gaz dağıtıcı içinde çekirdeklenme erken başlayarak taneciklerin büyüme süresi uzamakta ve tanecik büyüklüğü artmaktadır. Püskürtme uzaklığı artması ile taneciklerin genleşme odasında kalma süresi daha fazla olacağından tanecikler büyür. Süperkritik akışkan hızının artması ile tanecik büyüklüğü azalır. Süperkritik akışkan, yüksek akış hızında gaz dağıtıcıdan ani genleştiği zaman, tanecikler büyüme için gerekli süreyi bulamaz ve tanecik büyüklüğü düşer.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, salisilik asitin (iltihap giderici, ağrı kesici, ateş düşürücü, akne tedavisi ve nasır ilaçlarında girdi maddesi) ve taksol (kemoterapötik ilaç etken maddesi) süperkritik akışkan ortamında tanecik büyüklüğü oluşumu RESS süreci ile incelenmiştir.

3.1 Materyal

Salisilik asitin (Scharlau AC2002) ve Taksol (Sigma, T7402) tanecik büyüklüğü üzerine RESS çalışma parametrelerinin etkisi araştırılmıştır.

3.2 Yöntem

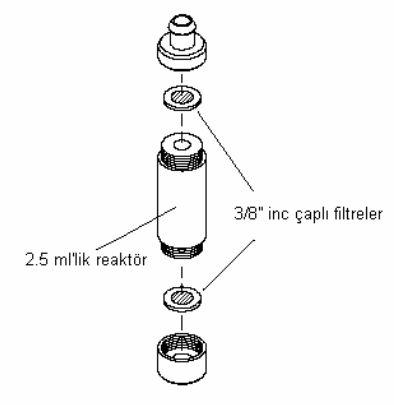
3.2.1 RESS yöntemi ile taneciklerin oluşturulması

Deneysel çalışmalarda kullanılan ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve RESS istemi Şekil 3.1'de görülmektedir.



1. CO_2 tüpü
2. Soğutucu (CO_2 için)
3. Şırınga pompa
4. Katkı maddesi ekleme ünitesi
5. Kontrol birimi
6. Ekstraktör
7. Öngenleşme hattı
8. Genleşme odası
9. Soğutucu (Genleşme odası için)
10. Restriktör

Şekil 3.1 ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve RESS sistemi



Şekil 3.2 ISCO-Sitec modifiye SFX 220 süperkritik akışkan ekstraksiyon ünitesi

RESS Sistemi, süperkritik akışkan ekstraktörü (Model SFX™ 220, ISCO Inc., Lincoln, NE, USA), iki şırınga pompa (Model 100 DX™, Isco Inc., Lincoln, NE, USA), kontrol ünitesi (Model SFX™ 200, Isco Inc., Lincoln, NE, USA) ve genleşme odasından oluşmaktadır.

Deneylerde, alt ve üst kısımlarına 0.2 μm filtreler yerleştirilen 2.5 ml'lik reaktörler (ISCO paslanmaz çelik reaktör) kullanılmıştır. Salisilik asit ve taksol, tıkanıklığı önlemek ve kontrollü çözünmeyi sağlamak için etanolde çözünerek destek maddesine (ISCO wet support) emdirilmiştir. Bu işlem aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

1 g salisilik asit 40 ml etanolde (Scharlau 0006, absolute) ve 25 mg/paket taksol 20 ml etanolde manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünmüştür. Daha sonra çözeltiye salisilik asit için 5 g, taksol için 2 g destek maddesi eklenerek tekrar karıştırılmıştır. Çözeltiden etanol etüvde (40^oC) uzaklaştırılmıştır.

Deneylerde 0.2 g destek maddesine emdirilmiş salisilik asit ve taksol Şekil 3.2'de gösterilen reaktöre doldurularak ekstraktöre (4) yerleştirilir. CO_2, yüksek basınçlı şırınga pompasıyla (2) istenilen basınca sıkıştırılarak sisteme gönderilir. Yüksek-basınç şırınga pompası ile süperkritik akışkan ekstraktörü arasındaki vana açılarak süperkritik akışkan reaktöre girer. Burada girdiyi çözer ve oluşan süperkritik akışkan ekstraktörden öngenleşme hattına gelir. Öngenleşme hattı tıkanıklığı önlemek amacıyla ısıtıcı band

(Thermolyne BrishHeat-Flexible Electric Heating Tape, BWH 102-080) yardımıyla ısıtılmıştır. Buradan süperkritik akışkan gaz dağıtıcıdan genleşme odasına atmosfer koşullarında ani genleşerek bir lamın üzerine püskürtülür. Deneysel çalışmalarda kapiler (L=3-4 mm, D=50 μm) ve lazerle delinmiş orifis (D=300 μm, püskürtme açısı 24^o elmas) gaz dağıtıcı kullanılmıştır.

Salisilik asit ve taksol için RESS işletme parametreleri Çizelge 3.1, 3.2 ve 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.1 Salisilik asit için kapiler gaz dağıtıcı ile (L=3-4 mm, D=50 μm) RESS süreci işletme parametreleri

Ekstraksiyon sıcaklığı (^{o}C)	50
Ekstraksiyon basıncı (bar)	150
Genleşme odası sıcaklığı (^{o}C)	Ortam sıcaklığı (≅20)
Öngenleşme sıcaklığı (^{o}C)	100
Yardımcı çözücü %-derişimi (etanol)	2

Çizelge 3.2 Salisilik asit için orifis gaz dağıtıcı (300 μm 24^o) ile RESS süreci işletme parametreleri

Ekstraksiyon sıcaklığı (^{o}C) (P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80^{o}C, T_{gen}=10^{o}C, $h_{püs}$=6 cm)	45, 50, 55, 60
Ekstraksiyon basıncı (bar) (T_{eks}=50^{o}C, $T_{öngen}$=80^{o}C, T_{gen}=10^{o}C, $h_{püs}$=6 cm)	150, 200, 250
Öngenleşme sıcaklığı (^{o}C) (T_{eks}=50^{o}C, P_{eks}=150 bar, T_{gen}=10^{o}C, $h_{püs}$=6 cm)	80, 100, 120, 130, 140
Genleşme odası sıcaklığı (^{o}C) (T_{eks}=50^{o}C, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80^{o}C, $h_{püs}$=6 cm)	0, 10, 20
Püskürtme uzaklığı (cm) (T_{eks}=50^{o}C, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80^{o}C, T_{gen}=10^{o}C)	6, 9, 13
Yardımcı çözücü %-derişimi (etanol) (T_{eks}=50^{o}C, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80^{o}C, T_{gen}=10^{o}C, $h_{püs}$=6 cm)	1, 2, 3

Çizelge 3.3 Taksol için orifis gaz dağıtıcı (300 µm, 24°) ile RESS süreci işletme parametreleri

Ekstraksiyon sıcaklığı (°C)	50
Ekstraksiyon basıncı (bar)	250, 300, 350
Genleşme odası sıcaklığı (°C)	10
Öngenleşme sıcaklığı (°C)	90
Püskürtme uzaklığı (cm)	6
Yardımcı çözücü %-derişimi (etanol) (T_{eks}=50°C, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm)	2, 5, 7

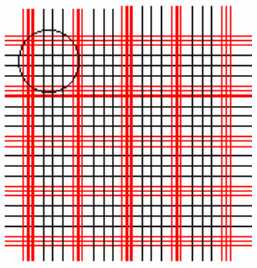
3.2.2 Tanecik morfoloji ve büyüklüğünün belirlenmesi

RESS yöntemi ile oluşturulan mikro yapıdaki ilaç etken maddelerinin tanecik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobunda (Scanning Electron Microscopy, Jeol JSM-6400, SEM) yapılmış ve elde edilen taneciklerin büyüklükleri ışık mikroskobu (Olympus, CHK 2-F-GS) ile belirlenmiştir.

SEM analizleri ODTÜ Metalurji ve Malzeme mühendisliği bölümünde, optik mikroskoptaki incelemeler ise Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Palinoloji laboratuvarında yapılmıştır.

Tanecik büyüklükleri optik mikroskopta 640 (16x40) büyütme ile thoma lamı kullanıllarak belirlenmiştir. Thoma lamının şematik gösterimi Şekil 3.3'de verilmiştir.

Büyük kare içerisinde alanı 0,0025 mm^2 olan 25 küçük kare bulunmaktadır. →



Şekil 3.3 Thoma lamının şematik gösterimi

Thoma lamı üzerinde toplam 256 kare bulunmakta ve bu karelerin 25 tanesi sayılarak tanecik büyüklükleri belirlenmiş, tanecik büyüklüğü dağılımları ve sayılan taneciklerin aritmetik ortalamaları ile ortalama tanecik büyüklüğü saptanmıştır.

3.2.3 Tanecik analizi

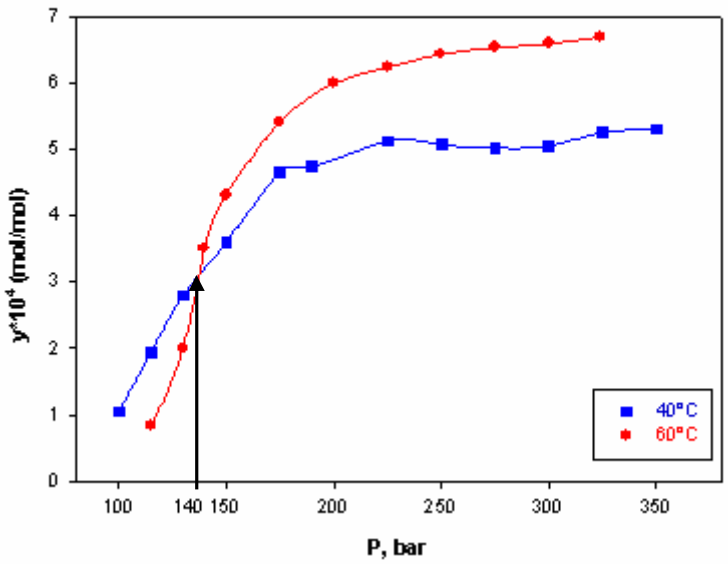
RESS ile elde edilen tanecikler analizlenerek yapısında bozunma olup olmadığı belirlenmiştir. Analizler UV spektrofotometresi (Schimadzu 1601), RAMAN spektrofotometresi (HRC-10HT Raman Analyzer) ve LC-MS (Waters 2695 Alliance Micromass ZQ) ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Salisilik asit ve taksolun tanecik büyüklüğüne RESS işletme parametrelerinin etkisi araştırılmıştır. Salisilik asit tanecik büyüklüğüne ekstraksiyon sıcaklığı, basıncı, öngenleşme ve genleşme odası sıcaklığı, püskürtme uzaklığı, gaz dağıtıcı konfigürasyonu (tip, genleşme açısı ve çapı), yardımcı çözücü (etanol) etkisi ve taksol tanecik büyüklüğüne ise ekstraksiyon basıncı ve yardımcı çözücü (etanol) etkisi incelenmiştir.

4.1 Salisilik Asitin Tanecik Büyüklüğüne RESS İşletme Parametrelerinin Etkisi

Deneysel çalışmalarda ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı değerleri süreli yayınlardan elde edilen bilgilere göre seçilmiştir. Salisilik asitin süperkritik CO_2'deki çözünürlüğünün basınç ve sıcaklık ile değişimi Şekil 4.1'de verilmiştir.

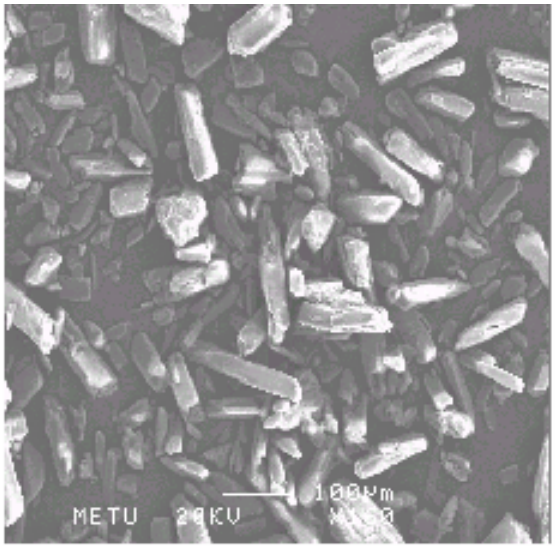


Şekil 4.1 Salisilik asitin SC-CO_2'deki çözünürlüğü (Reverchon *et al.* 1993)

Buna göre basıncın artması ile salsililik asitin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü artmaktadır. Sıcaklığın artması ile süperkritik akışkanın yoğunlu azalmakta ve girdinin

buhar basıncı artmaktadır. Yoğunluğun azalması çözücünün çözme gücünü düşürürek girdinin süperkritik akışkandaki çözünürlüğünün azalmasına, girdi buhar basıncının artması ise girdi çözünürlüğünün artmasına neden olmaktadır. Birbiri ile yarışmalı olan bu iki olaydan baskın olanına göre salisilik asitin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü değişmektedir. ≈140 bara kadar sabit basınçta sıcaklığın artması ile çözünürlüğün azalması, bu bölgede yoğunluğun baskın olduğunu, ≈140 bardan sonra sıcaklığın artması ile çözünürlük artması ise girdi buhar basıncının baskın olduğunu göstermektedir. Deneysel çalışmalarda ekstraksiyon basıncı, girdi buhar basıncının baskın olduğu bölgeden seçilmiştir (P_{eks}>150 bar). Ekstraksiyon sıcaklığı ise süreli yayınlardan salisilik asit için yapılan çözünürlük çalışmalarından yararlanılarak seçilmiştir (T_{eks}=45-60^{o}C) (Reverchon *et al.*1993, Ke *et al*. 1996)

Deneysel çalışmalarda kullanılan orijinal salisilik asitin SEM görüntüsü Şekil 4.2'de verilmiştir. Salisilik asit tanecik büyüklüğü L/D:171/29–34/14 µm/µm arasında değişen renksiz katı iğne kristal yapısındadır.

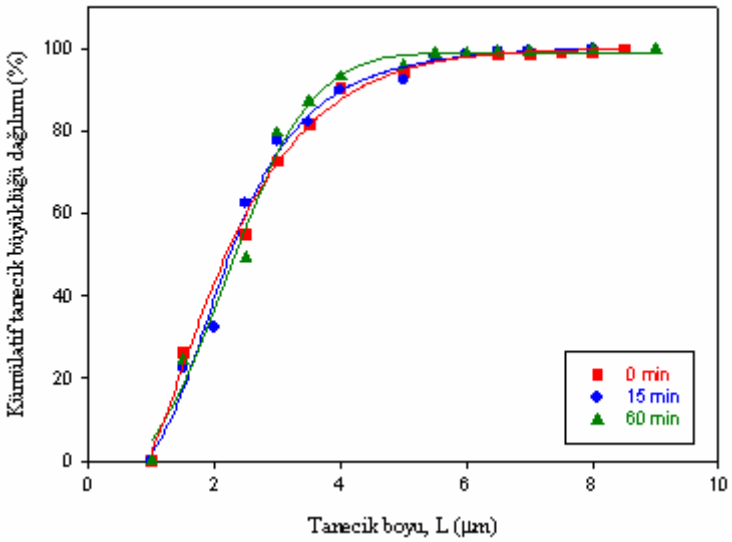


Şekil 4.2 Orijinal Salisilik asitin SEM görüntüsü

Deneysel çalışmalarda salisilik asitin ekstraktörde statik olarak bekleme süresini belirlemek amacı ile sabit ekstraksiyon sıcaklığı (50^{o}C), basıncı (150 bar), öngenleşme sıcaklığı (80^{o}C) ve püskürtme uzaklığında (6 cm) üç farklı işletme süresinin

(0, 15, 60 dakika) tanecik büyüklüğüne etkisi incelenmiştir. Girdinin ekstraktörde statik bekleme süresinin değişmesi sonucu ile RESS elde edilen taneciklerin büyüklüklerinin L/D:1.06/0.53-8.78/2.66 µm/µm arasında değiştiği görülmektedir (Şekil 4.3).

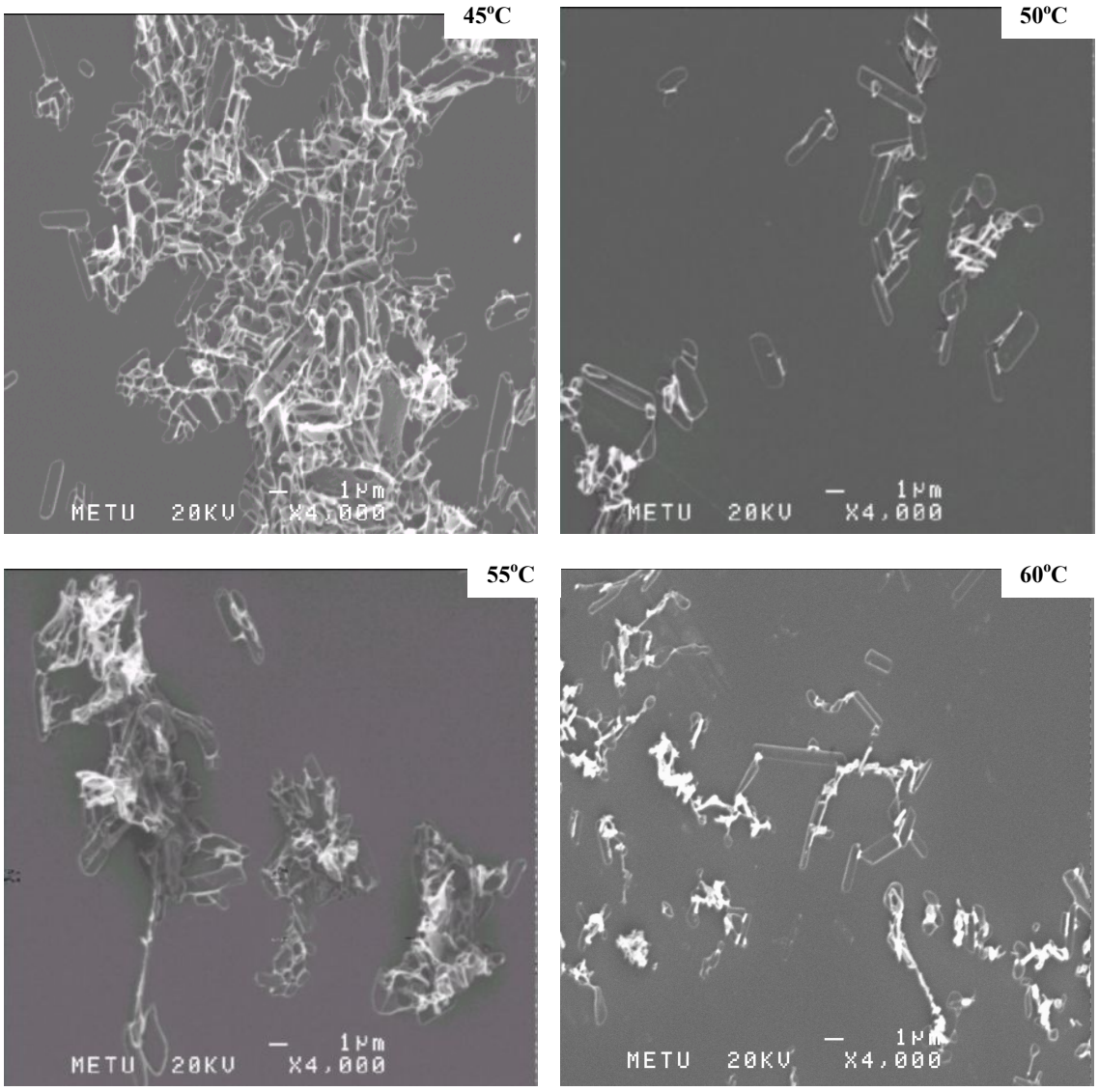
Ortalama tanecik büyüklüğü dinamik durumda (ekstraktörde bekletilmeden) L/D:2.6/1.2 µm/µm, 15 dakikada L/D:2.48/1.23 µm/µm, 60 dakikada L/D:2.54/1.24 µm/µm olarak bulunmuştur. İşletme süresinin tanecik büyüklüğü üzerine belirgin bir etkisi olmadığından deneysel çalışmalarda girdinin ekstraktörde statik olarak bekletme süresi 15 dakika olarak seçilmiştir.



Şekil 4.3 Farklı işletme sürelerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

4.1.1 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi

Sabit ekstraksiyon basıncı (150 bar), işletme süresi (15 dakika), öngenleşme sıcaklığı (80^{o}C), genleşme odası sıcaklığı (10^{o}C) ve püskürtme uzaklığı (6 cm) değerlerinde salisilik asit tanecik büyüklüğüne ekstraksiyon sıcaklığının (45-60^{o}C) etkisi incelenmiştir. Elde edilen taneciklerin SEM görüntüleri Şekil 4.4'de verilmiştir.

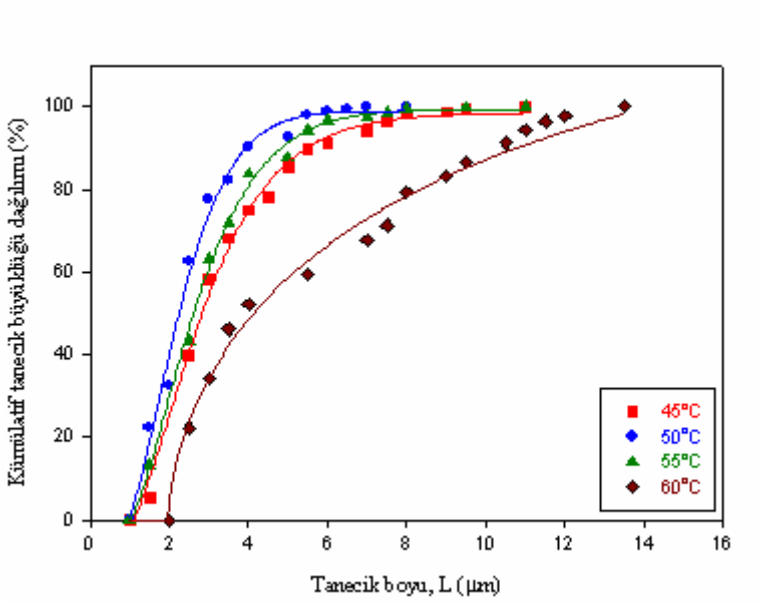


Şekil 4.4 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi (P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/min)

Sıcaklığın 45°C'den 50°C'ye artmasıyla ortalama tanecik büyüklüğü L/D:3.39/1.39 µm/µm'den L/D:2.48/1.23 µm/µm'ye azalmış, sıcaklığın 60°C'ye artırılmasıyla ortalama tanecik büyüklüğü (L/D:5.41/1.52 µm/µm) artmıştır (Çizelge 4.1). 50°C'de taneciklerin %63'ü, sıcaklığın 60°C'ye çıkarılmasıyla %22'si L/D:2.5/1.33 µm/µm'den küçük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

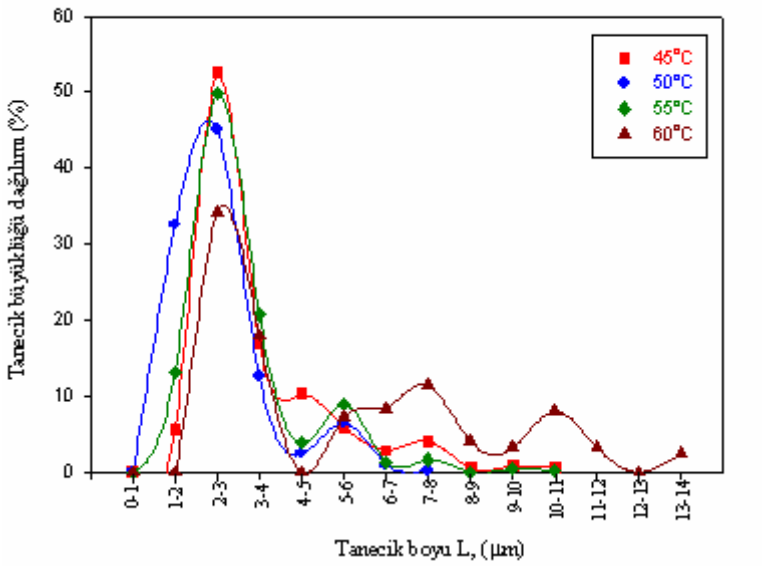
Çizelge 4.1 Ekstraksiyon sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

Ekstraksiyon sıcaklığı (^oC)	Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (µm/µm)	Sayılan tanecik sayısı
45	3.39/1.39	392
50	2.48/1.23	548
55	3.04/1.29	493
60	5.41/1.52	251



Şekil 4.5 Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

Elde edilen taneciklerin büyüklüklerine karşı % dağılımları grafiğe geçirilerek Şekil 4.6'da verilmiştir. Buna göre ekstraksiyon sıcaklığı 45^{o}C'de tanecik büyüklüğü L/D:1.33/0.8-10.64/2.66 µm/µm arasında, sıcaklığın 50^{o}C'ye artmasıyla L/D:1.06/0.53-7.98/2.66 µm/µm arasında değiştiği bulunmuştur. Sıcaklığın 60^{o}C'ye çıkarılmasıyla ise salisilik asitin tanecik büyüklüğünün L/D:13.30/2.7 µm/µm'ye ulaştığı belirlenmiştir. Boyu 1-2 µm arasında değişen taneciklerin dağılımının, sıcaklığın 45^{o}C'den 50^{o}C'ye çıkarılması ile arttığı, sıcaklığın 55 ve 60^{o}C'ye getirilmesi ile azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.6 Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

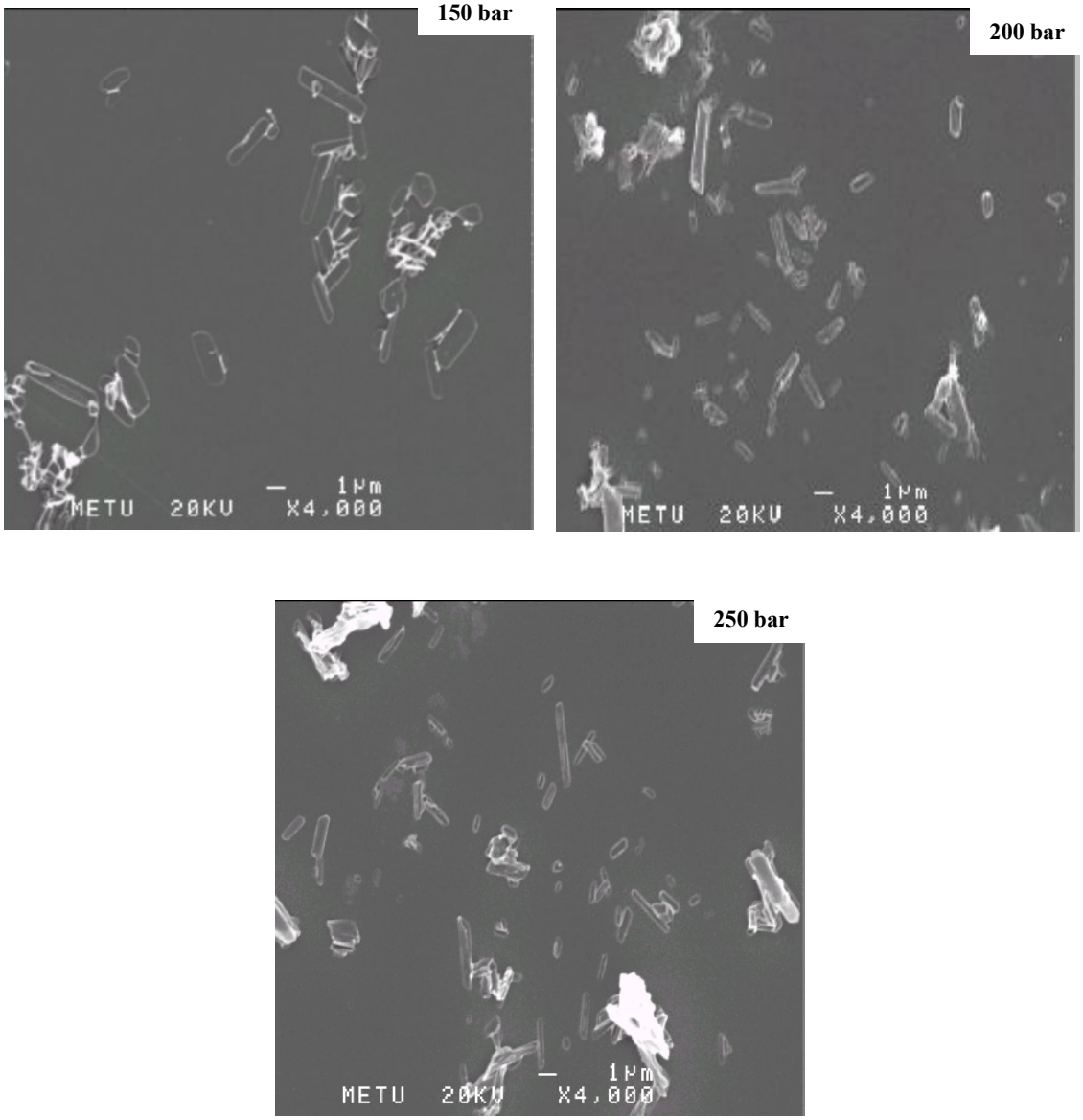
Ekstraksiyon sıcaklığının artması ile CO_2'in yoğunluğu düşmekte ve aynı zamanda salisilik asitin buhar basıncı artmaktadır. Çözücü yoğunluğunun düşmesi çözme gücünün azalmasına yol açarken, girdi buhar basıncının artması girdinin süperkritik akışkandaki çözünürlüğünün artmasına neden olmaktadır. Birbiriyle yarışmalı olan bu iki etkinin sonucunda ≈140 bardan sonrası (Şekil 4.1) için sabit ekstraksiyon basıncında sıcaklığın artması ile süperkritik akışkanda girdinin çözünürlüğü ($y_{E\ (TE,PE)}$) artarak, genleşme sırasında aşırı doygunluğu (Eşitlik 1) arttırır. Yüksek aşırı doygunluk değerlerinde çok sayıda çekirdek oluşmakta ve çekirdeklenme hızı artmaktadır. Ekstraksiyon sıcaklığının 45°C'den 50°C'ye artması ile tanecik büyüklüğündeki düşme, çekirdeklenme hızının artması sonucu çekirdeklerin büyüme için yeterli sürenin olmaması ile açıklanabilir. Ekstraksiyon sıcaklığının daha da artması (60°C) ile çok yüksek derişimler elde edileceğinden tanecikler arasında aglomerasyon sonucu tanecik büyüklüğü artmıştır.

Huang *et al.* (2005) tarafından yapılan çalışmada aspirin için benzer sonuçlar bulunmuş; ancak Domingo *et al.* (1997) ise, benzoik asit, salisilik asit, aspirin ve fenantrenin

tanecik büyüklüğü üzerine ekstraksiyon sıcaklığının tanecik büyüklüğüne etkisinin önemli olmadığını belirlemiştir.

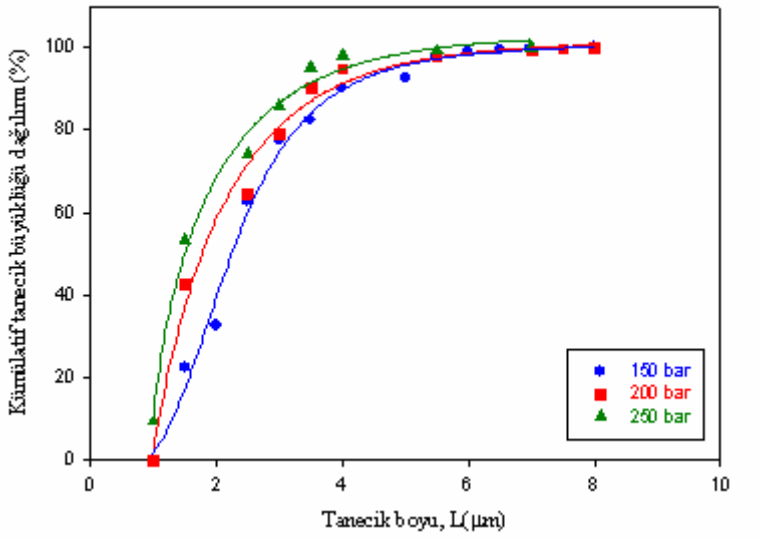
4.1.2 Ekstraksiyon basıncının etkisi

Ekstraksiyon basıncının (150-250 bar) salisilik asit taneciklerine etkisi incelenmiş, SEM görüntüleri, kümülatif ve tanecik büyüklüğü dağılım grafikleri Şekil 4.7-4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.7 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine ekstraksiyon basıncının etkisi (T_{eks}=50°C, $T_{öngen}$=80°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/ min)

Ekstraksiyon basıncı 150 barda taneciklerin %63'ü L/D:2.50/1.33 µm/µm'den küçük, basınç 250 bara çıkarıldığında ise %74'ü L/D:2.50/1.33 µm/µm'den küçük olduğu bulunmuştur (Şekil 4.8). Basıncın 150 bardan 250 bara artması ile ortalama tanecik büyüklüğünün L/D:2.48/1.23 µm/µm'den L/D:1.90/0.98 µm/µm'ye düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

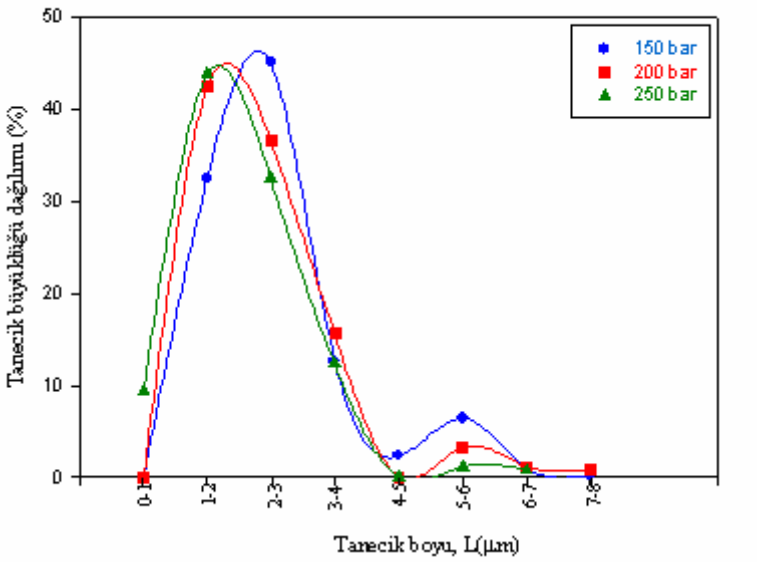


Şekil 4.8 Farklı ekstraksiyon basınçlarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

Çizelge 4.2 Ekstraksiyon basıncının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

Ekstraksiyon basıncı (bar)	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (µm/µm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
150	2.48/1.23	548
200	2.24/1.07	549
250	1.9/0.98	616

200 ve 250 barda boyu 1-2 µm arasında olan taneciklerin oranı % 45 iken, 150 barda boyu 2-3 µm arasında olan taneciklerin oranı %47 bulunmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Farklı ekstraksiyon basınçlarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

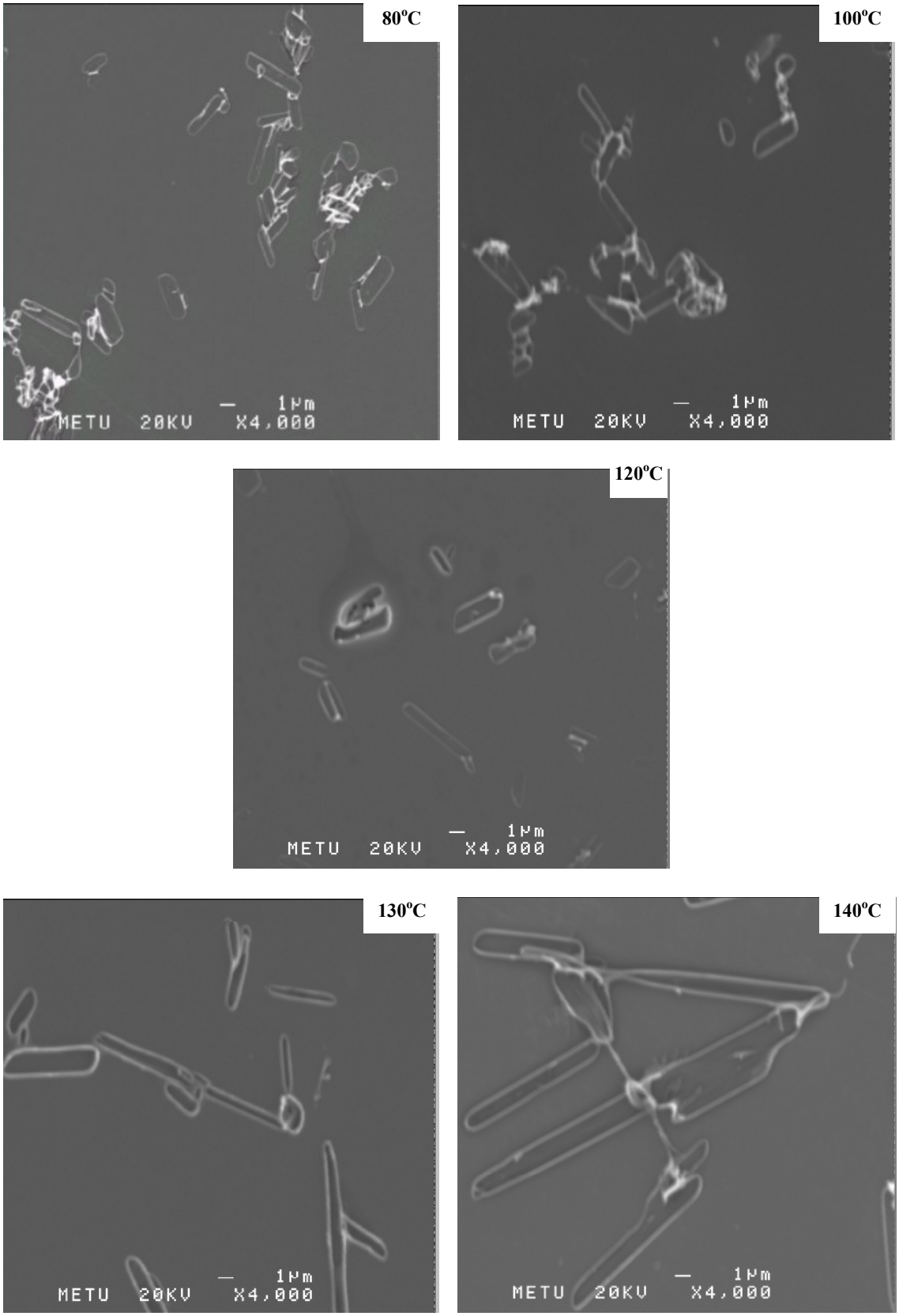
Ekstraksiyon basıncındaki değişimler süperkritik akışkandaki salisilik asit derişimini değiştirir. Sabit ekstraksiyon sıcaklığında basıncın artması süperkritik akışkanın yoğunluğunu, dolayısı ile çözme gücünü arttırır. Bunun sonucunda girdi ile çözücü arasındaki etkileşim artarak süperkritik akışkanda salisilik asitin çözünürlüğünün artmasına neden olur. Ekstraksiyon koşullarında çözünürlüğün artması ani genleşme sırasında aşırı doygunluğu (Eşitlik 1) artırır ve buna bağlı olarak çekirdeklenme hızının yükselmesi sonucunda tanecik büyüklüğü azalır. Ekstraksiyon basıncının artmasıyla genleşme sırasında yüksek aşırı doygunluk nedeniyle salisilik asit tanecik büyüklüğünün azaldığı saptanmıştır. Tanecik büyüklüğündeki azalma, farklı basınç değerlerinde kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımını belirgin olarak etkilememiştir (Şekil 4.8). Bu nedenle bundan sonraki deneylerde ekstraksiyon basıncı ekonomik olması açısından 150 barda sabit tutulmuştur.

Liu and Nagahama (1996) naftalin, Wang *et al.* (2005) titanyum diklorür, Huang *et al* (2005) aspirin için benzer sonuçlar bulmuşlardır. Reverchon *et al.* (1993) ise salisilik asit ile yaptıkları araştırmada bu çalışma ve süreli yayınlardaki diğer çalışmalara zıt bulgular elde etmişlerdir.

Süreli yayınlardan elde edilen bulgulara göre ekstraksiyon basıncına bağlı olarak RESS süreci sonunda taneciklerin büyüklüğü artabilir ya da azalabilmektedir. Bundan dolayı bu çalışmada elde edilen bulgular ekstraksiyon basıncının artması ile tanecik büyüklüğü azaldığı gösteren çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

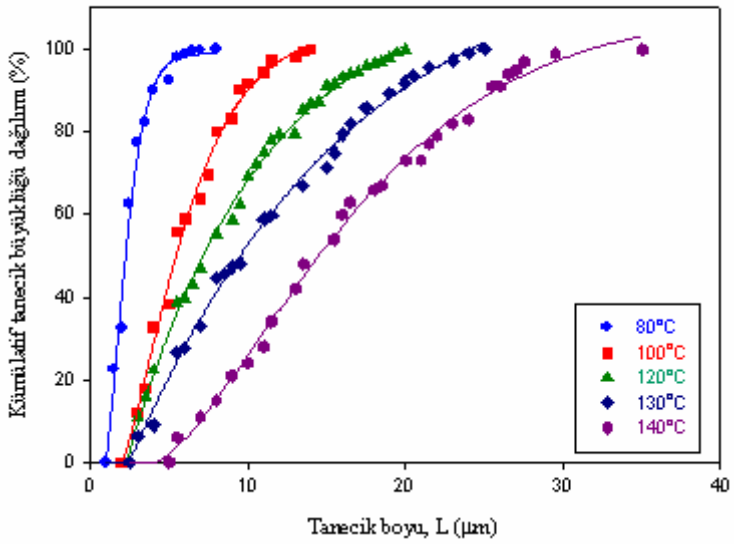
4.1.3 Öngenleşme sıcaklığının etkisi

Ekstraksiyon sıcaklığı (50^{o}C) ve basıncı (150 bar), işletme süresi (15 dakika), genleşme odası sıcaklığı (10^{o}C) ve püskürtme uzaklığı (6 cm) sabit iken öngenleşme sıcaklığının (80-140^{o}C) tanecik büyüklüğüne etkisi incelenmiştir. Genleşme öncesi donma ve tıkanıklıkları önlemek amacıyla öngenleşme sıcaklığı ekstraksiyon sıcaklığından daha yüksek değerde tutulmuştur. Öngenleşme sıcaklığının değişiminin RESS ile edilen taneciklere etkisi Şekil 4.10-4.12'de verilmiştir.

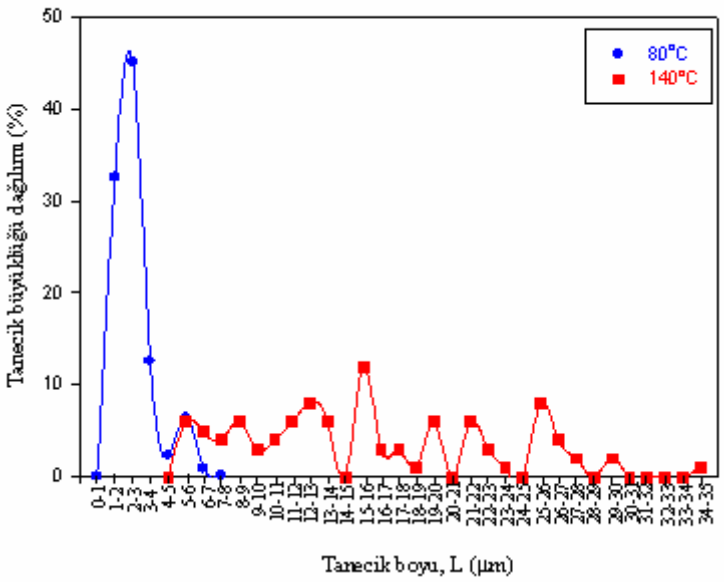


Şekil 4.10 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi (T_{eks}=50°C, P_{eks}=150 bar, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/ min)

Sıcaklığın 80°C'den 140°C'ye artmasıyla tanecik büyüklüğü artmaktadır (Şekil 4.10). 80°C'de taneciklerin %63'ü L/D:2.50/1.33 µm/µm'den küçük iken sıcaklığın 130 ve 140°C'ye çıkarılması ile L/D:2.50/1.33 µm/µm'den küçük tanecik olmadığı bulunmuştur (Şekil 4.11), ayrıca Şekil 4.12'de verilen tanecik büyüklüğü dağılım grafiğine göre, sıcaklığın 80°C'den 140°C'ye artması ile boyu 5-35 µm olan tanecik oranının da arttığı belirlenmiştir. Öngenleşme sıcaklığı 100-130°C için elde edilen tanecik büyüklüğü dağılımları ise Ek 1'de verilmiştir.



Şekil 4.11 Farklı öngenleşme sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı



Şekil 4.12 Farklı öngenleşme sıcaklıklarındaRESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

Öngenleşme sıcaklığı 80°C'de salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğü L/D:2.48/1.23 µm/µm, sıcaklığın 140°C'ye çıkarılması ile ortalama tanecik büyüklüğünün L/D:15.73/4.06 µm/µm'ye arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3) Sıcaklığının artması, süperkritik CO_2'in yoğunluğunun düşmesine ve girdinin buhar basıncının artmasına neden olmaktadır. Çözücü yoğunluğunun düşmesi çözme gücünün ve çözünürlüğün azalmasına neden olur, girdinin buhar basıncının artması ise girdi çözünürlüğünün artmasına yol açmaktadır. Salisilik asit 50°C'de ekstraktörden doygun olarak çıktığı varsayıldığından, öngenleşme hattında sıcaklığın 80°C'den 140°C'ye arttırılması ile (buhar basıncı etkili) süperkritik CO_2'de çözülebilecek salisilik asit miktarı artmaktadır. Ancak ekstraktörden gelen salisilik asit derişimi sabit olduğu için, 140°C'deki süperkritik akışkan, 80°C'ye göre daha doymamış olmaktadır. Genleşme sırasında yüksek sıcaklıklarda süperkritik akışkan doygunluğa daha erken ulaşır ve tanecik büyüme süresi artar. Bundan dolayı sıcaklığın artması ile tanecik büyüklüğü artmıştır.

Çizelge 4.3 Öngenleşme sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

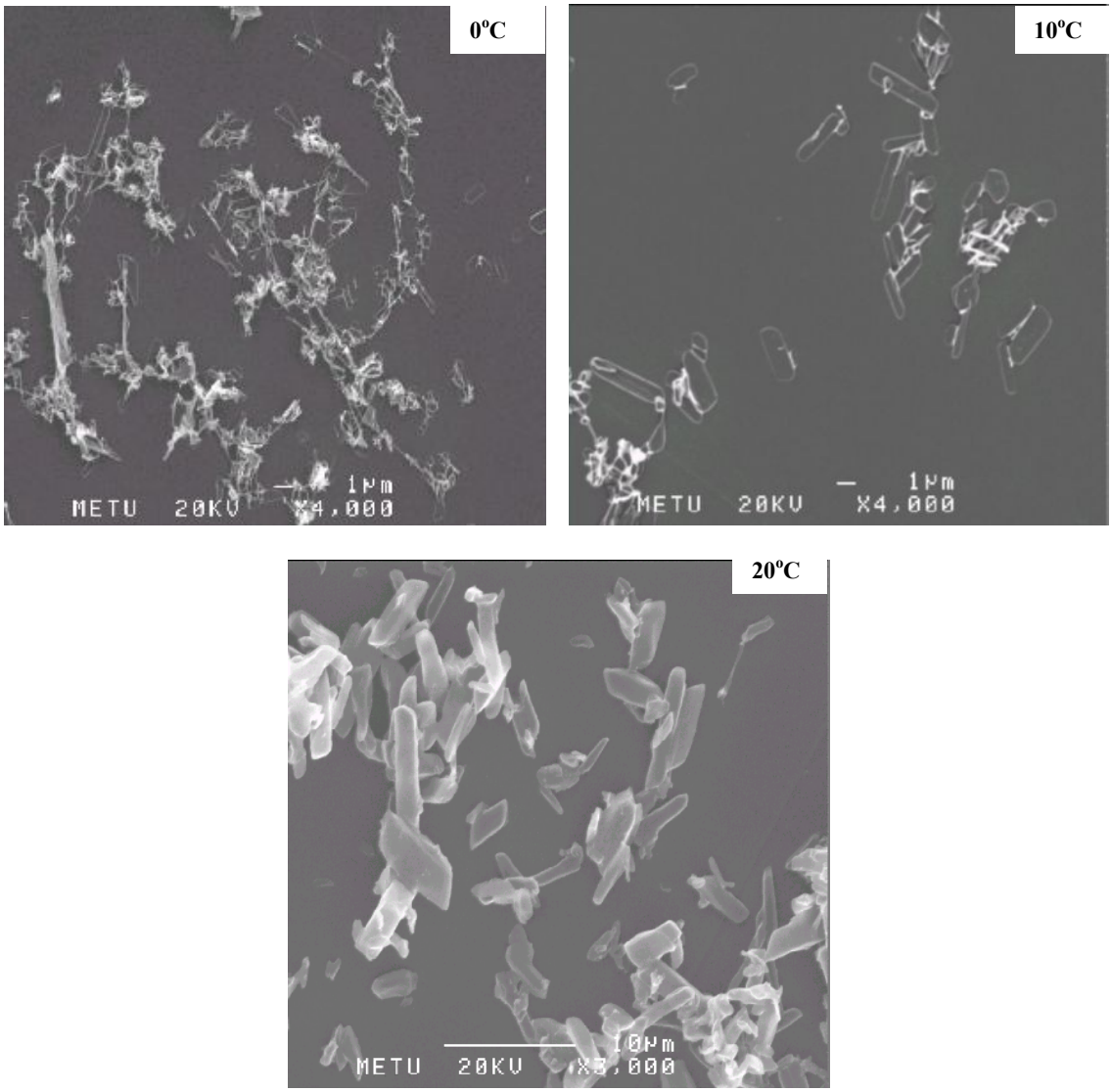
Öngenleşme sıcaklığı (^oC)	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (μm/μm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
80	2.48/1.23	548
100	6.08/1.6	462
120	8.34/2.4	254
130	11.34/3.24	112
140	15.73/4.06	100

Bu çalışmaya benzer olarak Reverchon *et al.* (1993) salisilik asit, Helfgen *et al.* (2000), benzoik asit, Wang *et al.* (2005) titanyum diklorür için öngenleşme sıcaklığının artması ile tanecik büyüklüğünün arttığı bulmuşlardır. Domingo *et al.* (1996), aspirin, benzoik asit, salisilik asit, fenantren ve Kayrak *et al.* (2003) ibuprofen ile yaptıkları araştırmada bu bulguların tersine düşük ön genleşme sıcaklıklarının tanecik büyüklüğünü artırdığını belirlemişlerdir. Huang *et al.* (2005) ise aspirin ile yapmış olduğu çalışmada öngenleşme sıcaklığının tanecik büyüklüğü üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır.

Süreli yayınlarda, yapılan araştırmalarda öngenleşme sıcaklığının değişiminin tanecik büyüklüğüne etkisi konusunda kesin bir yargı elde edilememiş, girdi ile süperkritik akışkan etkileşimine, süperkritik akışkan türüne ve ürünün kimyasal yapısına bağlı olarak tanecik büyüklüğü ve morfolojisinin değiştiği sonucuna varılmıştır.

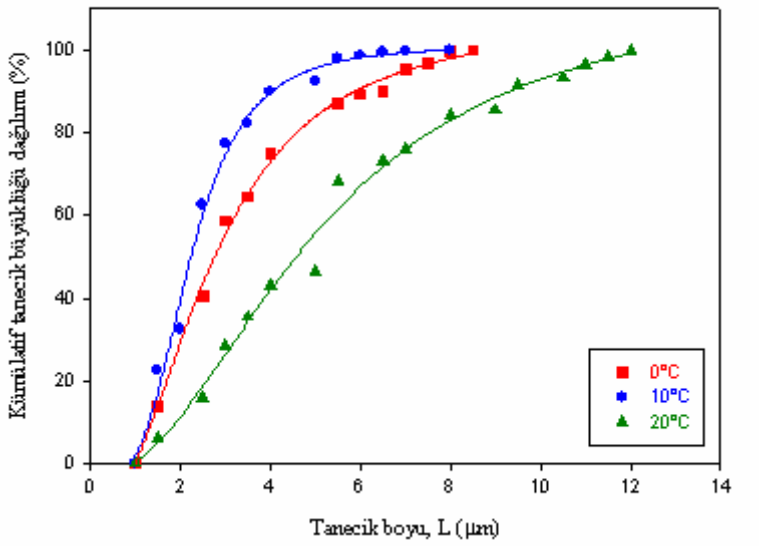
4.1.4 Genleşme odası sıcaklığının etkisi

Sabit ekstraksiyon sıcaklığı (50^oC) ve basıncı (150 bar), işletme süresi (15 min), öngenleşme sıcaklığı (80^oC) ve püskürtme uzaklığı (6 cm) değerlerinde farklı genleşme odası sıcaklıklarında (0, 10, 20^oC) RESS ile elde edilen salisilik asit taneciklerinin SEM görüntüsü Şekil 4.13'de, kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı Şekil 4.14 ve tanecik büyüklüğü dağılımı ise Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.13 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine genleşme odası sıcaklığının etkisi (T_{eks}=50°C, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80°C, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/min)

Genleşme odası sıcaklığı 0°C'de taneciklerin %40'nın, 10°C'de taneciklerin %63'nün, 20°C'de ise taneciklerin %16'sının L/D:2.5/1.33 µm/µm'den küçük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14)

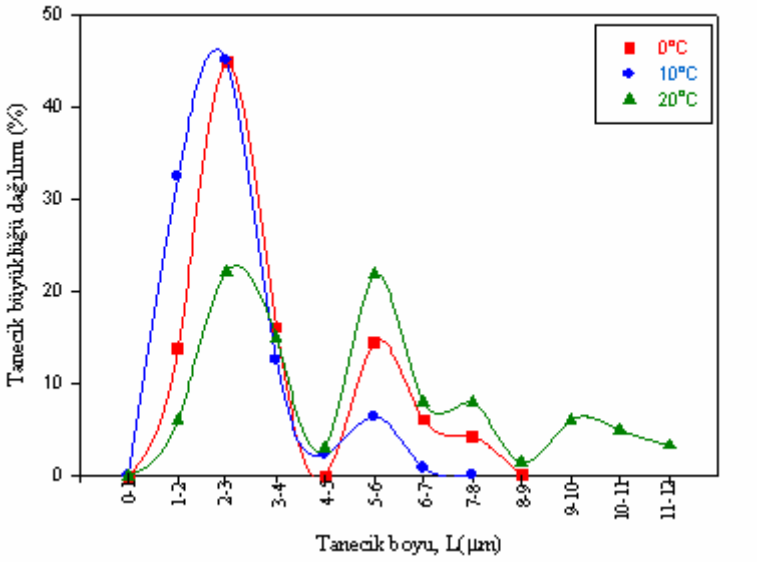


Şekil 4.14 Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

Genleşme odası sıcaklığı 10°C'de ortalama tanecik büyüklüğü L/D:2.48/1.23 µm/µm, 0°C'de L/D:3.41/1.23 µm/µm ve 20°C'de L/D:5.22/1.63 µm/µm olduğu belirlenerek ortalama tanecik büyüklüğünün 10°C'de 0°C ve 20°C'ye göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Boyları 0-4 µm arasında değişen taneciklerin oranı 0 ve 10°C'de birbirine yakın olduğu; ancak sıcaklığın 20°C'ye çıkarılması ile tanecik büyüklüğü dağılım oranının değiştiği saptanmıştır (Şekil 4.15).

Çizelge 4.4 Genleşme odası sıcaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

Genleşme odası sıcaklığı (°C)	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (µm/µm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
0	3.41/1.23	490
10	2.48/1.23	548
20	5.22/1.63	361

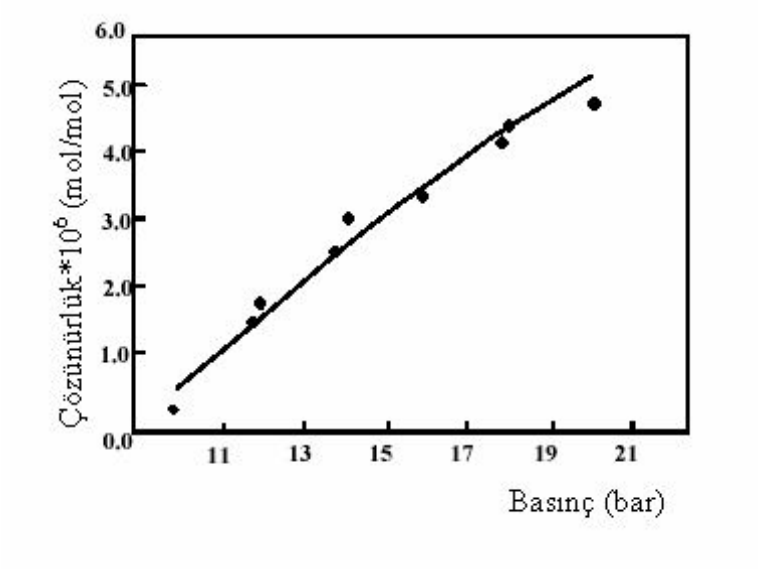


Şekil 4.15 Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

Süreli yayınlarda RESS işletme parametrelerinden genleşme odası sıcaklığının düşmesi ile tanecik büyüklüğünün azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Reverchon *et al*. (1993), süperkritik karbondioksitte RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin genleşme odası sıcaklığının 10°C'den 0'°C'ye düşmesi ile L/D:5-12/1 µm/µm olan küçük iğnemsi görünümden L/D:1-5/1 µm/µm arasında değişen küresele yakın bir yapıya dönüştüğünü bulmuşlardır. Benzer şekilde Liu and Nagahama (1996) naftalin tanecik büyüklüğüne genleşme odası sıcaklığının etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmadaki genleşme odası basınçlı bir ortamdır ve 2.50 MPa'da tutulmuştur. Ani genleşmesi sırasında süperkritik CO_2 gaz faza geçmekte; ancak naftalinin gaz sfazdaki CO_2'de çözünürlüğü $\cong 2.5*10^{-5}$ (mol/mol)'dir (T=49.5°C). Genleşme odası sıcaklığı 45°C'den 15°C'ye düşürülmesi ile naftalinin CO_2'deki çözünürlüğü azalmakta ve aşırı doygunluk oranı artmaktadır (Eşitlik 1). Bu nedenle genleşme odası sıcaklığının düşmesi ile tanecik büyüklüğünün 15-25 µm'den 5-10 µm'ye düştüğü belirlenmiştir.

Bu çalışmada, sıcaklığın 20°C'den 10°C'ye ile düşmesi ile tanecik büyüklüğü azalmakta, sıcaklığın 0°C'ye getirilmesi ile tanecik büyüklüğünde belirgin bir değişim olmazken boyu 5 µm'den büyük taneciklerin oranı artmaktadır (Şekil 4.15). Salisilik asitin genleşmesi atmosfer koşullarında olmaktadır. Süreli yayınlardan salisilik asitin

atmosfer koşullarında gaz fazdaki CO_2'deki çözünürlük verilerine ulaşılamamış; ancak ≅5 bar ve 330 K'deki CO_2'deki çözünürlüğünün $0.5*10^{-6}$ (mol/mol) olduğu bilinmektedir (Şekil 4.16) (Ksibi 2004).



Şekil 4.16 Salisilik asitin CO_2'deki çözünürlüğü (T=330 K) (Ksibi, 2004)

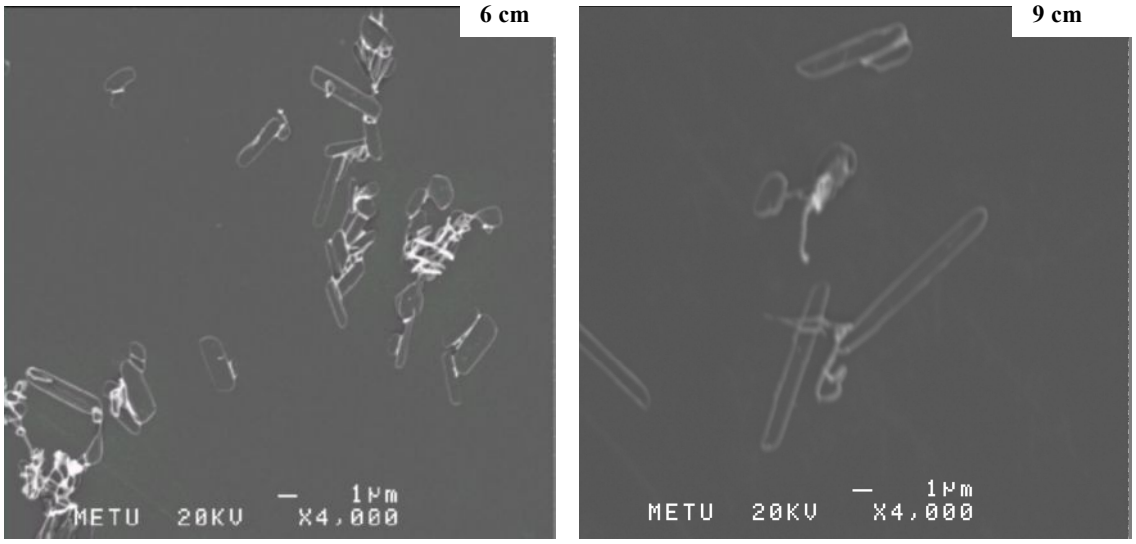
Bu koşullarda CO_2 gaz fazdadır (Şekil 2.2) ve salisilik asitin gaz faz CO_2'de çözünürlüğünün olduğu görülmektedir. Genleşme odası sıcaklığındaki değişime bağlı olarak salisilik asit taneciklerinin büyüklüğünün değişmesi genleşme koşullarında salisilik asit çözünürlüğünün değiştiğini göstermektedir. Sıcaklığın 20°C'den 10°C'ye düşmesi ile genleşme koşullarında salisilik asitin CO_2'deki çözünürlüğü azalmakta ($y^*_{(T,P)}$) ve aşırı doygunluk artarak (Eşitlik 1) tanecik büyüklüğü düşmüştür. Salisilik asit kristalleri tanecik büyüklüğünün genleşme odası sıcaklığı ile değişmesi çözünürlükteki bu değişime bağlı olarak açıklanabilir. Elde edilen sonuçlar süreli yayınlarla uyumludur.

4.1.5 Püskürtme uzaklığı

Sabit ekstraksiyon sıcaklığı (50°C) ve basıncı (150 bar), işletme süresi (15 min), öngenleşme sıcaklığı (80°C) ve genleşme odası sıcaklığı (10°C)'de, püskürtme

uzaklığındaki (6, 9, 13 cm) değişimin salisilik asit taneciklerine etkisi incelenmiş ve bulgular Şekil 4.17-4.19'da verilmiştir.

Püskürtme uzaklığının 6 cm'den 9 cm'ye artması ile salisilik asit tanecik büyüklüğü artmıştır (Şekil 4.17).

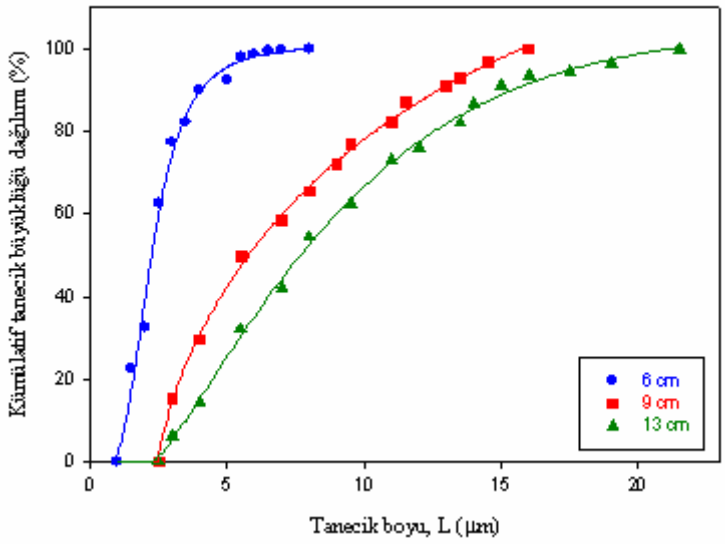


Şekil 4.17 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine püskürtme uzaklığının etkisi (T_{eks}=50°C, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80°C, q=2.5 ml/min)

Püskürtme uzaklığı 6 cm'de ortalama tanecik büyüklüğü L/D:2.48/1.23 µm/µm, püskürtme uzaklığının 13 cm'ye çıkarılması ile L/D:9.07/2.01 µm/µm'ye arttığı bulunmuştur (Çizelge 4.5) Uzaklık 6 cm'de taneciklerin %63'ü L/D:2.5/1.33 µm/µm'den küçük olduğu halde uzaklığın artması ile L/D:2.5/1.33 µm/µm'den küçük taneciklerin olmadığı (Şekil 4.18) ve boyu 0-5 µm arasında olan taneciklerin oranının azaldığı bulunmuştur (Şekil 4.19)

Çizelge 4.5 Püskürtme uzaklığının salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

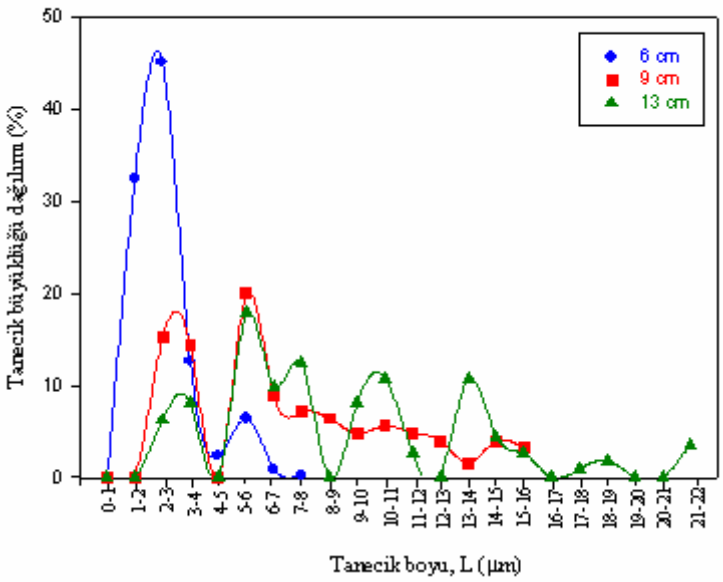
Püskürtme uzaklığı (cm)	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (µm/µm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
6	2.48/1.23	548
9	7.12/1.2	125
13	9.07/2.01	112



Şekil 4.18 Farklı püskürtme uzaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

Püskürtme uzaklığının artması ile taneciklerin genleşme odasında kalma süresi artarak tanecik büyüme süresi artmakta ve bunun sonucunda tanecik büyüklüğü de artmıştır.

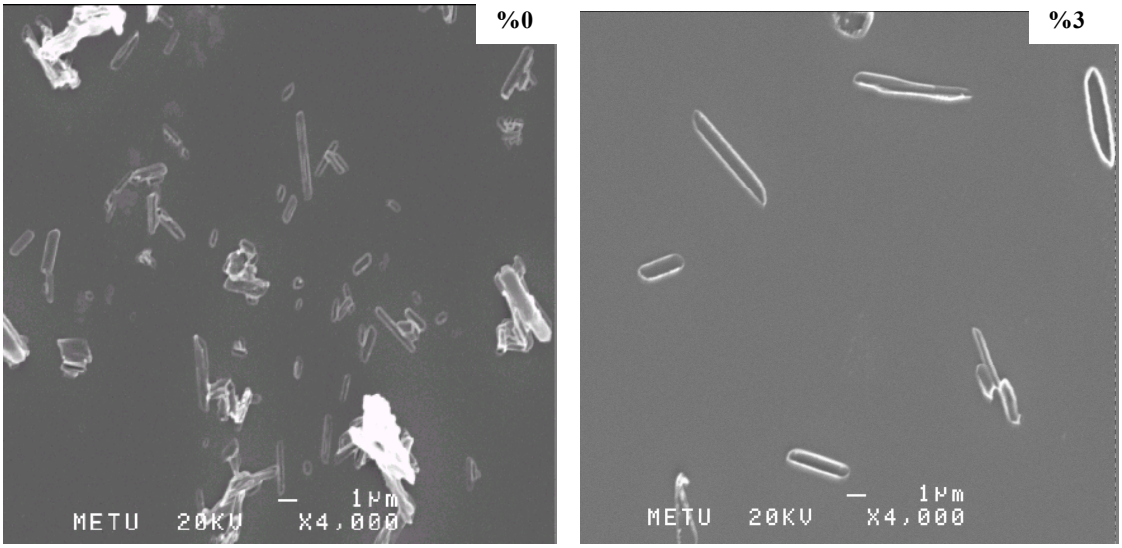
Kayrak *et al*. (2003) ibuprofen ve. Wang *et al*. (2005) titanyum diklorür ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar bulmuşlardır.



Şekil 4.19 Farklı püskürtme uzaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

4.1.6 Yardımcı çözücü etkisi

Salisilik asitin SC-CO_2-yardımcı çözücü (etanol) ortamında RESS ile elde edilen taneciklere etanol derişiminin (%1, 2, 3) etkisi Şekil 4.20-4.22'de verilmiştir. Sabit ekstraksiyon sıcaklığı (50^{o}C), ve basıncı (250 bar), öngenleşme sıcaklığı (80^{o}C), genleşme odası sıcaklığı (10^{o}C) ve püskürtme uzaklığında (6 cm) SC-CO_2 ortamında ortalama tanecik büyüklüğü L/D:1.90/0.98 µm/µm olduğu; ancak etanol eklenmesi ile ortalama tanecik büyüklüğünün arttığı bulunmuştur (Çizelge 4.6).

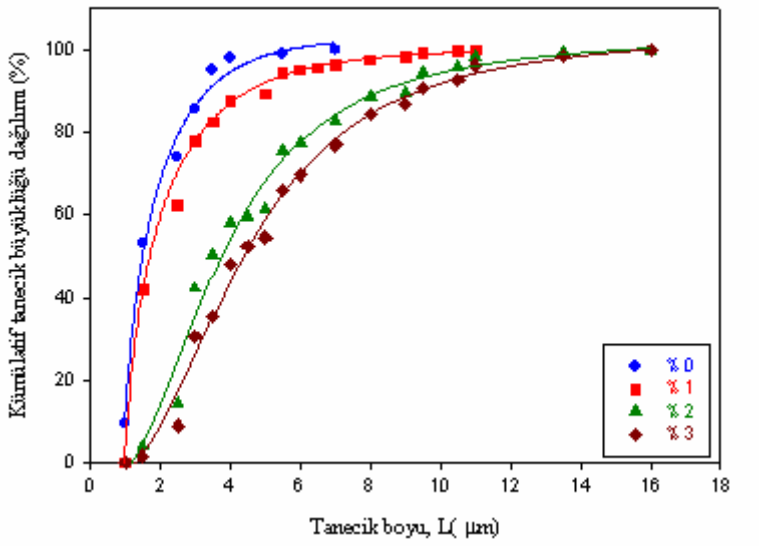


Şekil 4.20 RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerine yardımcı çözücü (etanol) derişiminin etkisi (T_{eks}=50°C, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80°C, $h_{püs}$=6 cm, q=2.5 ml/min)

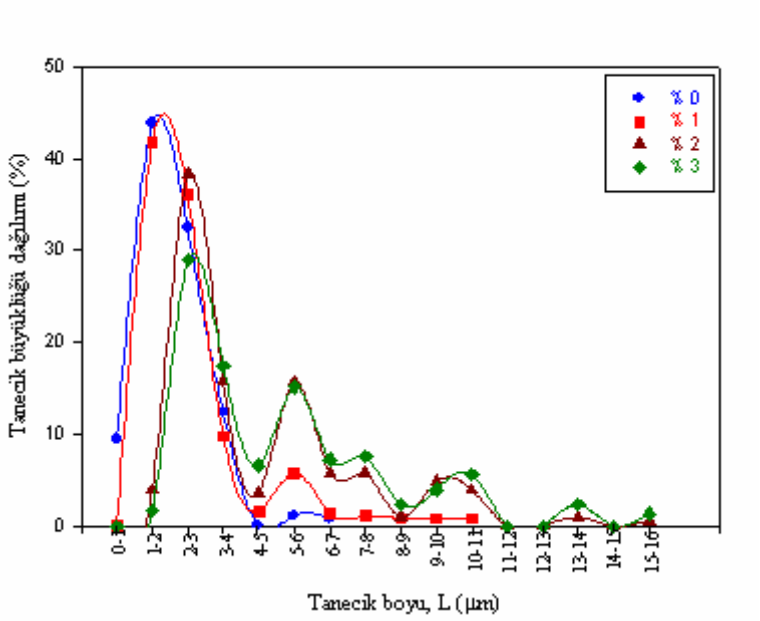
Çizelge 4.6 Yardımcı çözücü derişiminin salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

Yardımcı çözücü derişimi (%-Etanol)	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L/D (µm/µm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
0	1.90/0.98	616
1	2.53/1.19	368
2	4.59/1.39	331
3	5.28/1.48	304

SC-CO_2 ortamında taneciklerin %74'ü, etanol derişimi %3 olduğunda %9'nun L/D:2.5/1.33 µm/µm'den düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21). Boyları 0-5 µm arasında olan taneciklerin oranı etanol derişimin artması ile azalmıştır (Şekil 4.22).



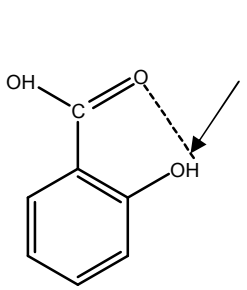
Şekil 4.21 Farklı yardımcı çözücü derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı



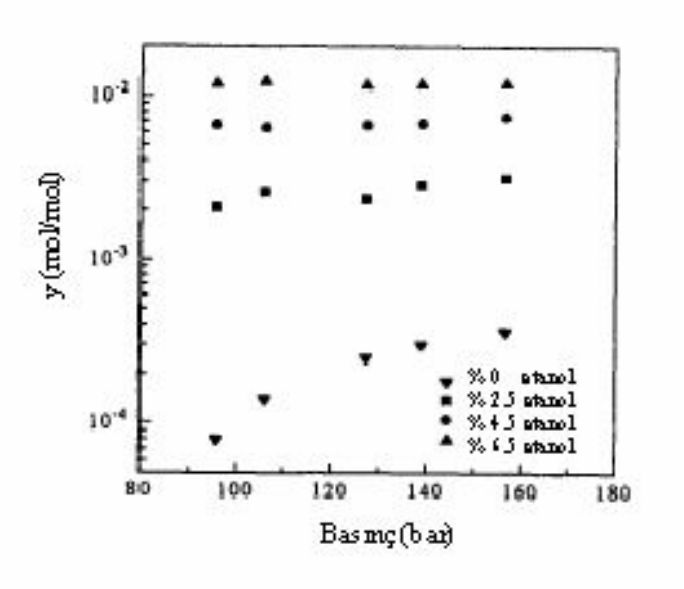
Şekil 4.22 Farklı yardımcı çözücü derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı

Salisilik asit polar, CO_2 ise apolar bir bileşiktir. Salisilik asit molekülünde hidrojen bağının olması (Şekil 4.23), süperkritik CO_2 ortamına yardımcı çözücü olarak etanol eklenmesi ile salisilik asitin çözünürlüğünün artmasına neden olur (Şekil 4.24).

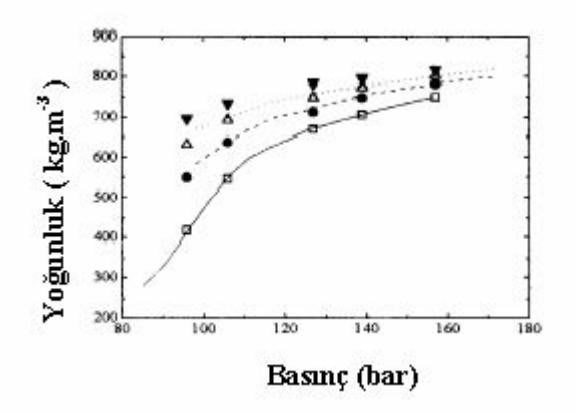
Çözünürlükteki artış, salisilik asitin yapısındaki hidrojen bağı nedeniyle etanol ile etkileşiminin güçlü olması ve Şekil 4.25'te gösterilen etanol derişimi ile karışımın yoğunluğunun artmasından kaynaklanmaktadır (Ke *et al*. 1996). Etanol derişimi ile çözünürlüğün artması salisilik asit derişimini artıracağından, ani genleşme sırasında tanecikler arasında birleşmeler olabilir. Buna bağlı olarak tanecik büyüklüğü artar. Bundan dolayı SC-CO_2 ortamında elde edilen tanecikler SC-CO_2-etanol ortamında elde edilenlere göre daha küçüktür. Süreli yayınlarda RESS ile elde edilen taneciklerin büyüklüğüne yardımcı çözücü etkisini inceleyen çalışmalara rastlanmamıştır.



Şekil 4.23 Salisilik asit



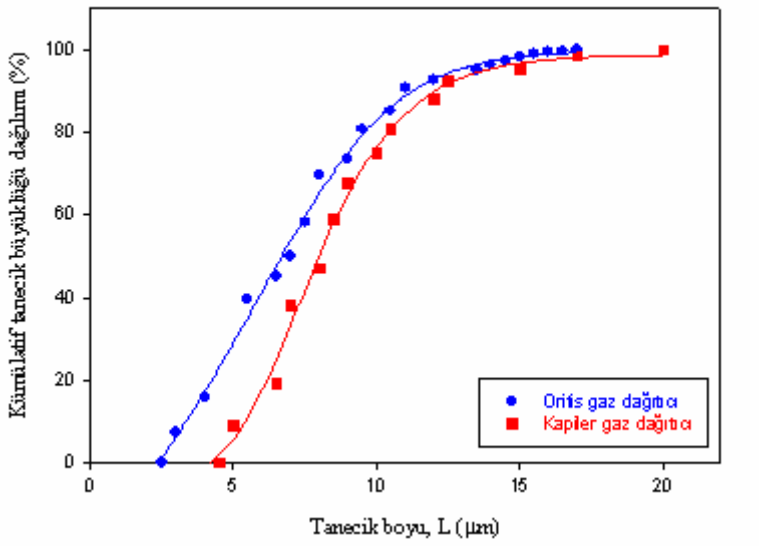
Şekil 4.24 Salisilik asitin SC-CO_2-etanol'deki çözünürlüğü (Ke *et al*. 1996)



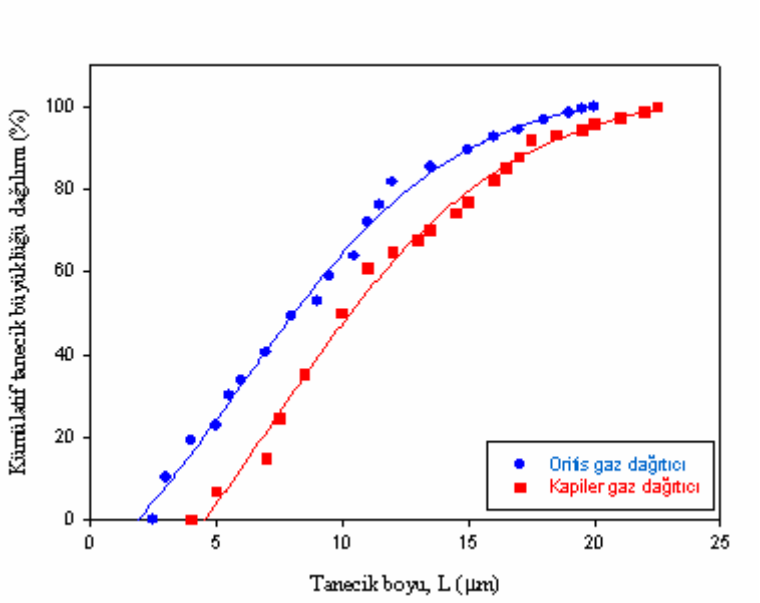
Şekil 4.25 Salisilik asit-CO_2-etanol sistemi için yoğunluğun basınç ile değişimi
□ CO_2-salisilik asit, ● %2.5 mol etanol-CO_2-salisilik asit, △ %4.5 mol etanol-CO_2-salisilik asit, ▼ %6.5 mol etanol-CO_2-salisilik ait; —— CO_2, – – – – – %2.5 mol etanol-CO_2, ····· %6.5 mol etanol-CO_2
(Ke *et al*. 1996)

4.1.7 Gaz dağıtıcı türü

RESS sürecinde elde edilen salisilik asit taneciklerine gaz dağıtıcı türünün etkisinin belirlenmesi amacı ile kapiler ve orifis tipli gaz dağıtıcılar kullanılmıştır. Kapiler gaz dağıtıcı ile deneyler süperkritik akışkan sistemi modifiye edilmeden önce gerçekleştirilmiştir. Kapiler gaz dağıtıcı çapı 50 μm ve boyu 3-4 mm, orifis gaz dağıtıcı çapı ve genleşme açısı 300 μm 24^o, 15 μm 24^o ve 15 μm 8^o olmak üzere üç türdür. Deneyler sırasında 15 μm çapındaki gaz dağıtıcı da tıkanmalar meydana geldiğinden 300 μm 24^o orifis gaz dağıtıcı kullanılmıştır. Sabit ekstraksiyon sıcaklığı (50^{o}C) ve basıncı (150 bar), öngenleşme sıcaklığında (100^{o}C'de) süperkritik CO_2 (Şekil 4.26) ve süperkritik CO_2-etanol (Şekil 4.27) ortamında elde edilen sonuçlara göre, orifis tipli gaz dağıtıcıda kapiler gaz dağıtıcıya göre daha küçük tanecikler elde edilmiştir; ayrıca her iki gaz dağıtıcıda süperkritik akışkan olarak CO_2-etanol kullanıldığında tanecik büyüklüğü artmıştır.



Şekil 4.26 SC-CO_2'de RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı



Şekil 4.27 SC-CO_2-%2 etanol'de RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin kümülatif tanecik büyüklüğü dağılımı

Süperkritik CO_2'de ortalama tanecik büyüklüğü orifis gaz dağıtıcı ile 7.3 µm, kapiler gaz dağıtıcı ile 8.77 µm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Orifis gaz dağıtıcıya göre kapiler gaz dağıtıcıda daha büyük taneciklerin elde edilmesinin nedeni, kapilerin

boyundan dolayı tanecik oluşumunun kapilerin içinde yani gaz dağıtıcı çıkışından önce başlamasıdır. Bunun sonucunda da taneciklerin büyüme süresi artarak tanecik büyüklüğünün artmasına neden olmuştur.

Çizelge 4.7 Farklı gaz dağıtıcı türlerinde yardımcı çözücü derişiminin salisilik asit ortalama tanecik büyüklüğüne etkisi

Gaz dağıtıcı türü	**Süperkritik akışkan**	**Ortalama tanecik büyüklüğü, L (μm)**	**Sayılan tanecik sayısı**
Kapiler	CO_2	8.77	68
	CO_2+%2 etanol	11.35	74
Orifis	CO_2	7.3	390
	CO_2+%2 etanol	8.83	219

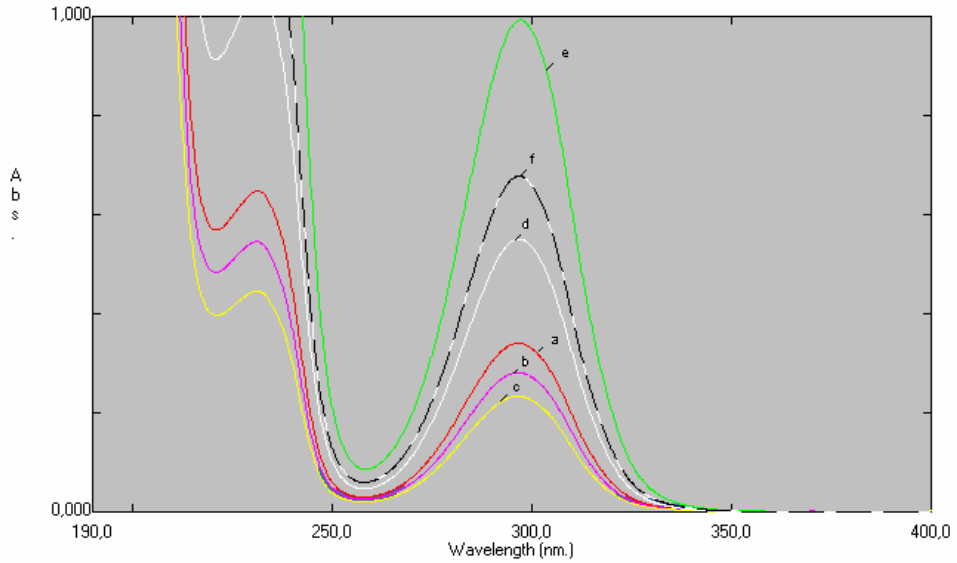
Süreli yayınlarda RESS ile yapılan çalışmalarda genellikle kapiler gaz dağıtıcı kullanılmıştır. Reverchon *et al.* (1993), salisilik asit için boyu 800 μm (0.8 mm) ve çapı 40 μm olan kapiler gaz dağıtıcı ile ekstraksiyon basıncı 200 bar, öngenleşme sıcaklığı 100^{o}C, genleşme odası sıcaklığı 20^{o}C'de çapı 1 μm ve boyu 5-15 μm olan iğnemsi yapıda tanecikler elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise SC-CO_2 ile orifis gaz dağıtıcı (D=300 μm, 24^{o}) ile ortalama tanecik çapı 1.92 μm ve boyu 2.66-16.76 μm arasında, kapiler gaz dağıtıcı ile (L=3-4 mm D=50 μm) tanecik boyu 4.98-19.92 μm arasında değişen iğnemsi yapıda tanecikler elde edilmiştir. Orifis gaz dağıtıcı ile elde edilen tanecik büyüklükleri kapiler gaz dağıtıcı ile elde edilenlere göre daha küçüktür.

4.2 Salisilik Asit Taneciklerinin Analizi

RESS prosesi ile elde edilen salisilik asit taneciklerinin yapısında bozunma olup olmadığının belirlenmesi amacı ile UV ve RAMAN spektrofotometresi ile LC-MS analizleri yapılmıştır.

4.2.1 UV spektrofotometresi ile analizi

Orijinal ve RESS ile elde edilen salisilik asit tanecikleri çözücü olarak su kullanılarak UV'de 190-400 nm dalga boyları arasında spektrum taramaları yapılmıştır. Farklı öngenleşme sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin spektrumu Şekil 4.28'de, diğer koşullar için spektrumlar Ek 2'de verilmiştir. Süreli yayınlarda orijinal salisilik asitin dalga boyu 297 nm olarak verilmiştir (Medina *et al.*, 2001). Bu çalışmada da orijinal ve farklı RESS çalışma koşullarında elde edilen salisilik asit 296.67 nm'de pik verdiği belirlenmiştir. UV analizi sonucunda RESS sürecinde elde edilen taneciklerin yapısında bozunma olmadığı belirlenmiştir.

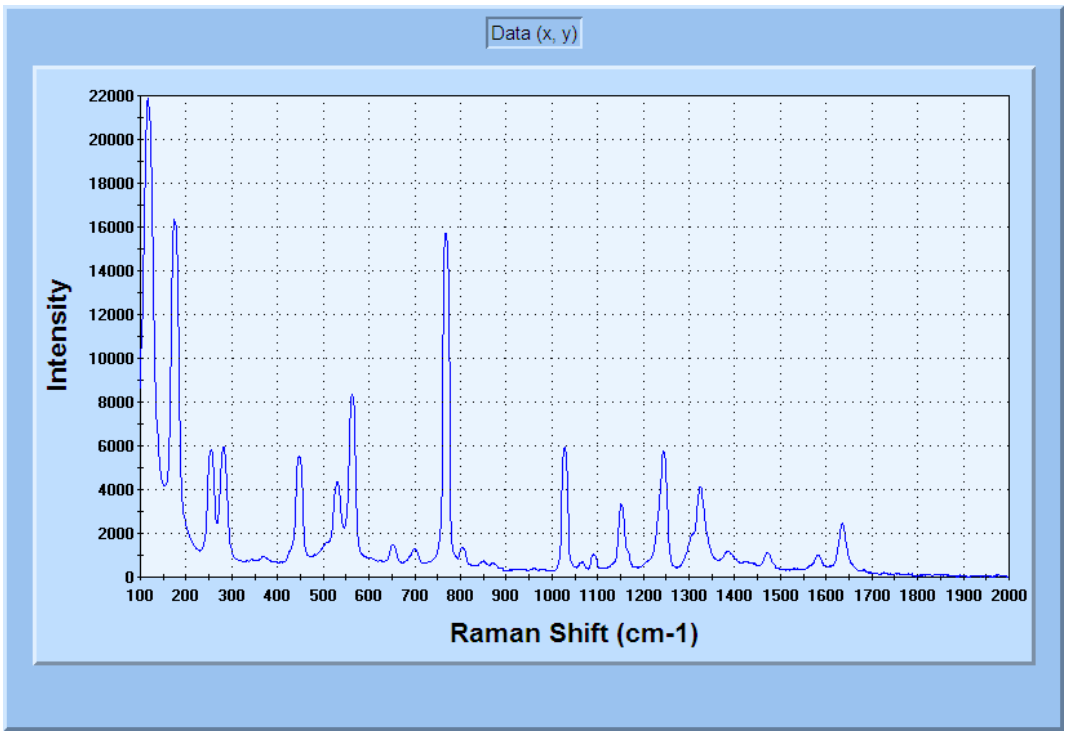


Şekil 4.28 Farklı öngenleşme sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. orijinal, b. 80°C, c. 100 °C, d. 120 °C, e.130 °C, f. 140°C

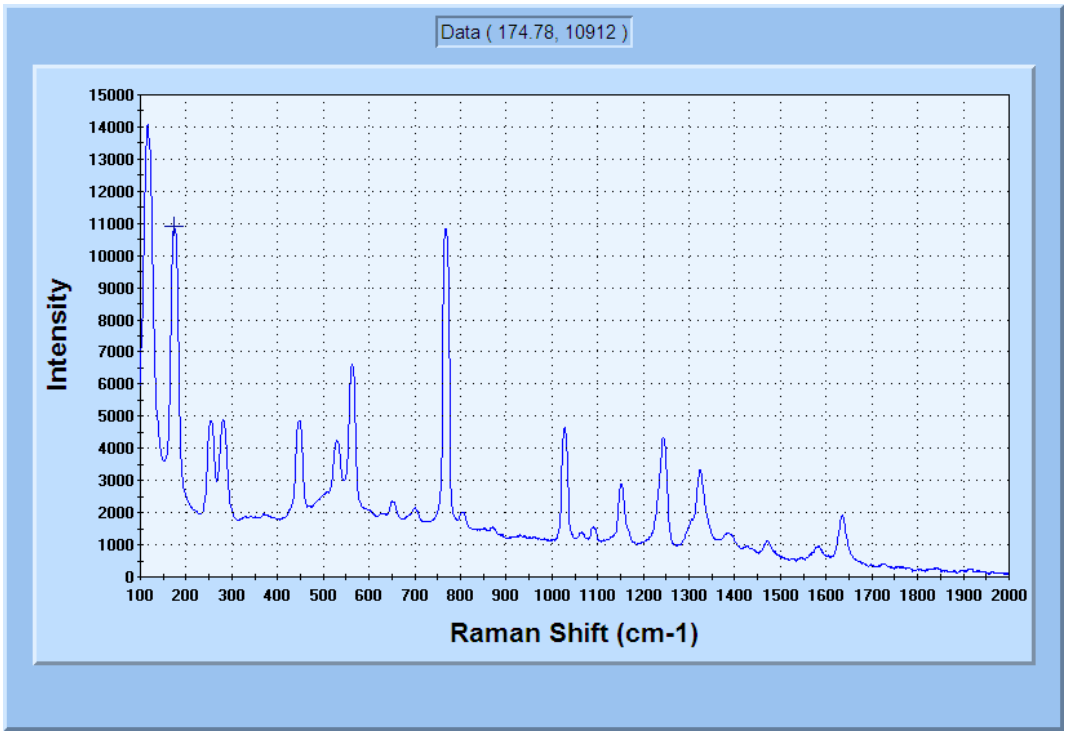
4.2.2 RAMAN spektrofotometresi ile analizi

Orijinal ve RESS ile elde edilen salisilik asit tanecikleri toz numunelerinin RAMAN spektrofotometresi ile spektrumları alınarak birbiri ile karşılaştırılmıştır. Orijinal ve süperkritik CO_2 ortamında ekstraksiyon sıcaklığı 50°C ve basıncı 150 bar, öngenleşme sıcaklığı 80°C, genleşme odası sıcaklığı 10°C, püskürtme uzaklığı 6 cm çalışma

koşullarında RESS ile elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumu Şekil 4.29-4.30'da, süperkritik CO_2-etanol ortamında elde edilen spektrum ise Ek 3'te verilmiştir. Buna göre RESS ile elde edilen ve orijinal salisilik asitin spektrumları ile karşılaştırıldığında aynı yerlerde pik verdiği belirlenmiş ve yapıda bozunma olmadığı anlaşılmıştır. RESS sonucunda elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumunda şiddetinin orijinale göre daha düşük olması, numune miktarının az olması ve lazerle numune arasındaki uzaklığın değişiminden kaynaklanmaktadır. Elde edilen spektrumların süreli yayınlardakiler ile benzer olduğu görülmüştür (Humbert *et al.* 1998).



Şekil 4.29 Orijinal salisilik asitin RAMAN spektrumu

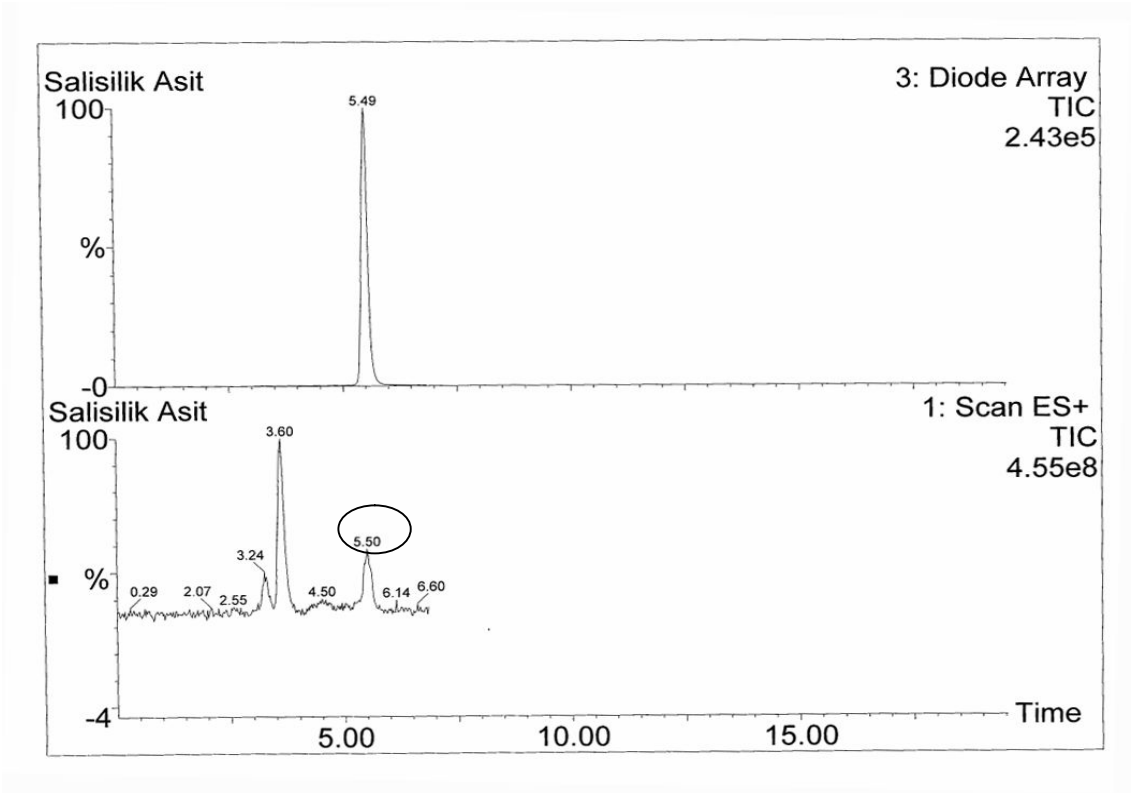


Şekil 4.30 SC-CO_2'de RESS ile elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumu. (T_{eks}=50°C, P_{eks}=150 bar, $T_{öngen}$=80°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm)

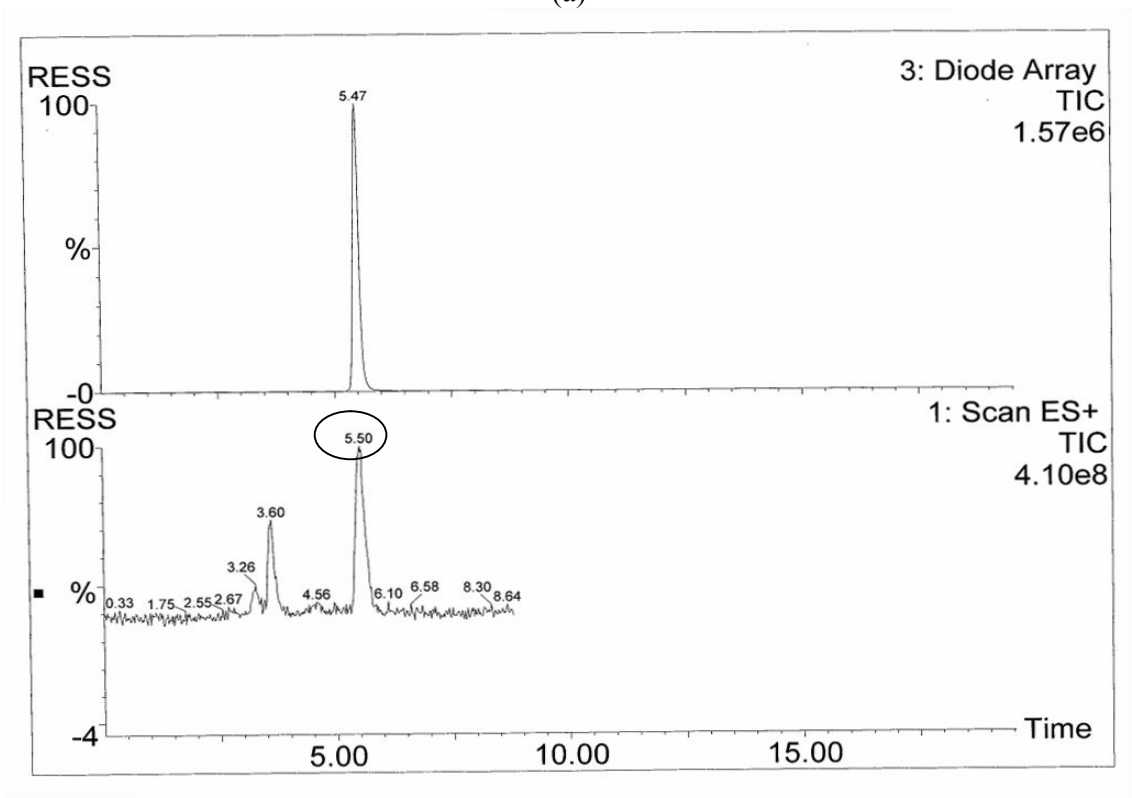
4.2.3 LC-MS analizi

Orijinal ve SC-CO_2 ortamında ekstraksiyon sıcaklığı 50°C ve basıncı 250 bar, öngenleşme sıcaklığı 80ºC, genleşme odası sıcaklığı 10ºC koşullarında RESS ile elde edilen salisilik asit taneciklerinin LC-MS analizleri yapılmıştır. Analizlerden elde edilen kromatogramlar Şekil 4.31-4.32'de verilmiştir. Cihazda Xterra C18 kolon (4.6 x 250 mm), taşıyıcı faz olarak metanol – asetonitril – % 0,1'lik triflorometil asetat çözeltisi (50:35:15) kullanılmıştır.

Orijinal salisilik asit 5.50. dakikada, RESS sürecinden elde edilen salisilik asit ise 5.50. dakikada moleküler pik verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.31.a,b). Ayrıca bu maddelerin kütle spektrumları da Şekil 4.32'de verilmiştir. Salisilik asit $C_7H_6O_3$ kapalı formülüne sahip ve molekül ağırlığı 138 g/gmol olan polar bir bileşiktir. Orijinal ve RESS ile elde edilen salisilik asit taneciklerinin kütle spektrumlarının benzer olduğu ve RESS sürecinde elde edilen salisilik asit taneciklerinin bozunmadığı belirlenmiştir.

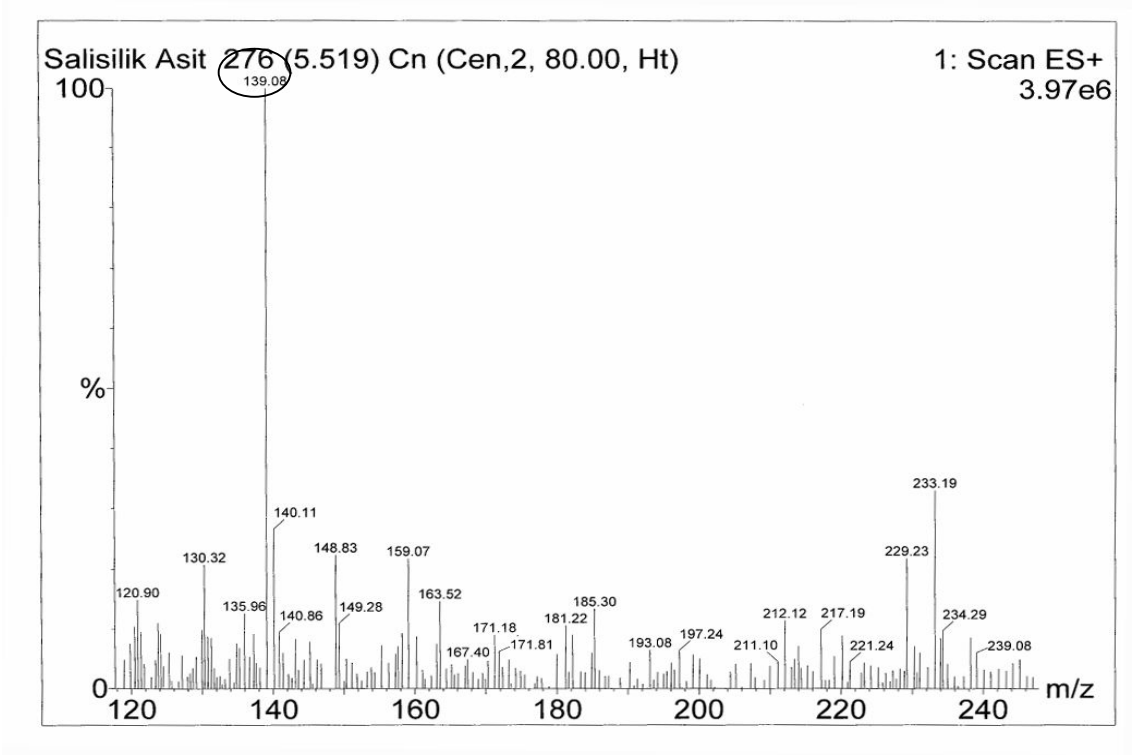


(a)

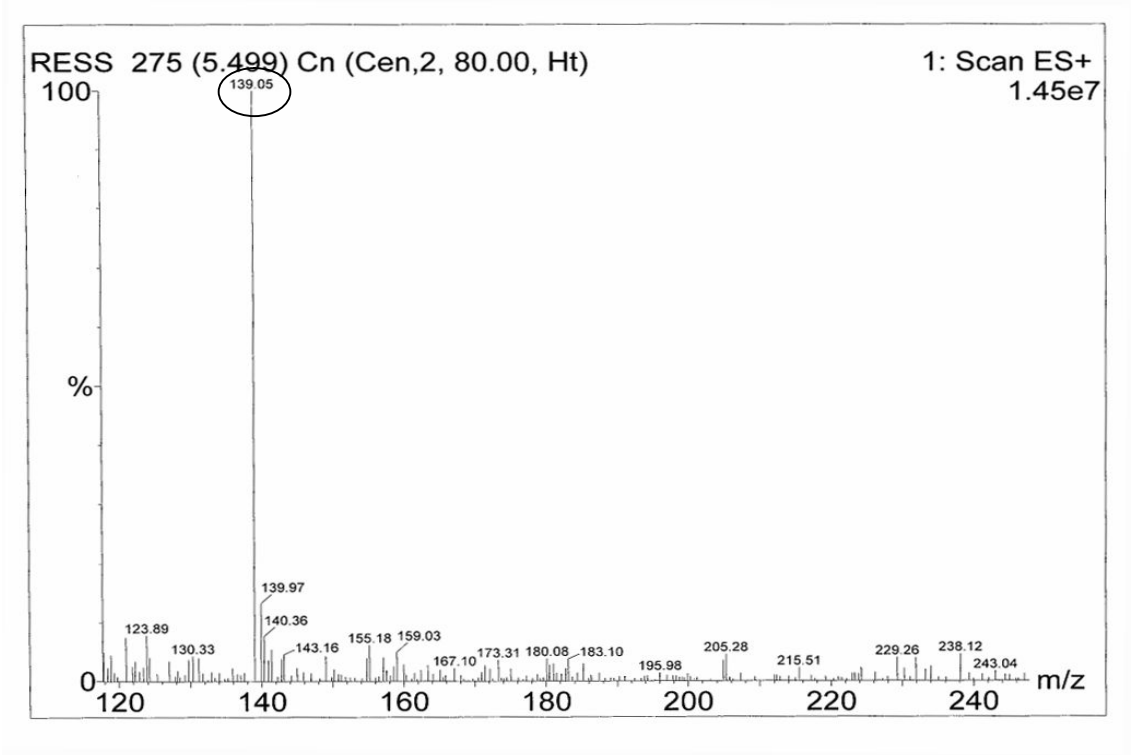


(b)

Şekil 4.31 Salisilik asitin LC-MS analizi a. Orijinal, b. SC-CO_2'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50^oC, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80^oC, T_{gen}=10^oC, $h_{püs}$=6 cm)



(a)



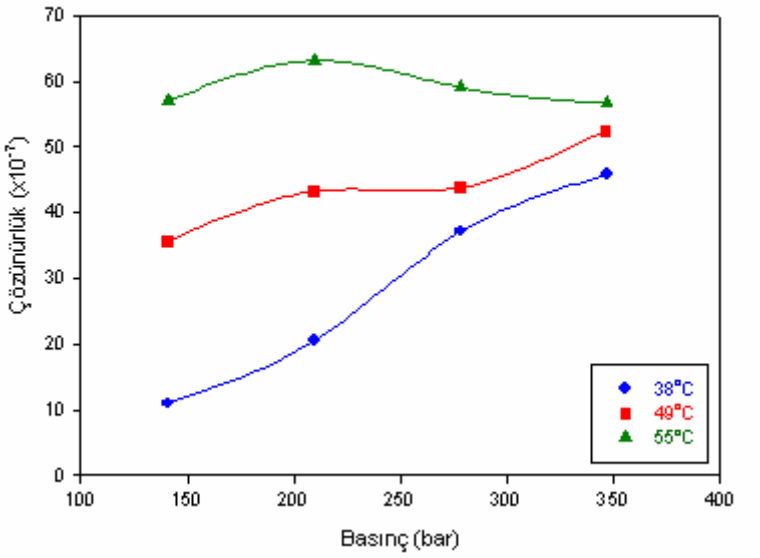
(b)

Şekil 4.32 Salisilik asitin kütle spektrumları a. Orijinal, b. SC-CO_2'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50°C, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm)

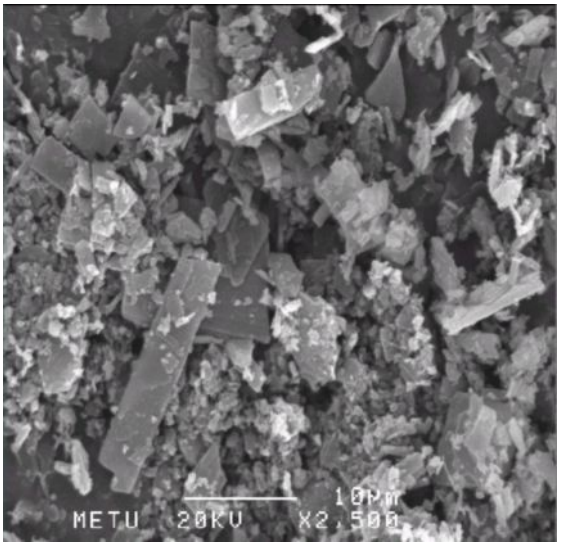
4.3 Taksol Tanecik Büyüklüğüne RESS İşletme Parametrelerinin Etkisi

Taksolun süperkritik CO_2'deki çözünürlüğünün düşük olması nedeni ile (Şekil 4.33) deneyler çözünürlüğün yüksek olduğu koşullarda (ekstraksiyon basıncı, 250, 300, 350 bar) ve yardımcı çözücü (etanol, %2, 5, 7) kullanılarak yapılmıştır.

Orijinal taksolun SEM görüntüsü Şekil 4.34'de verilmiştir. Orijinal taksol tanecik büyüklüğü 0.6-17 μm arasında değişen saf halde beyaz kristal toz şeklindedir.

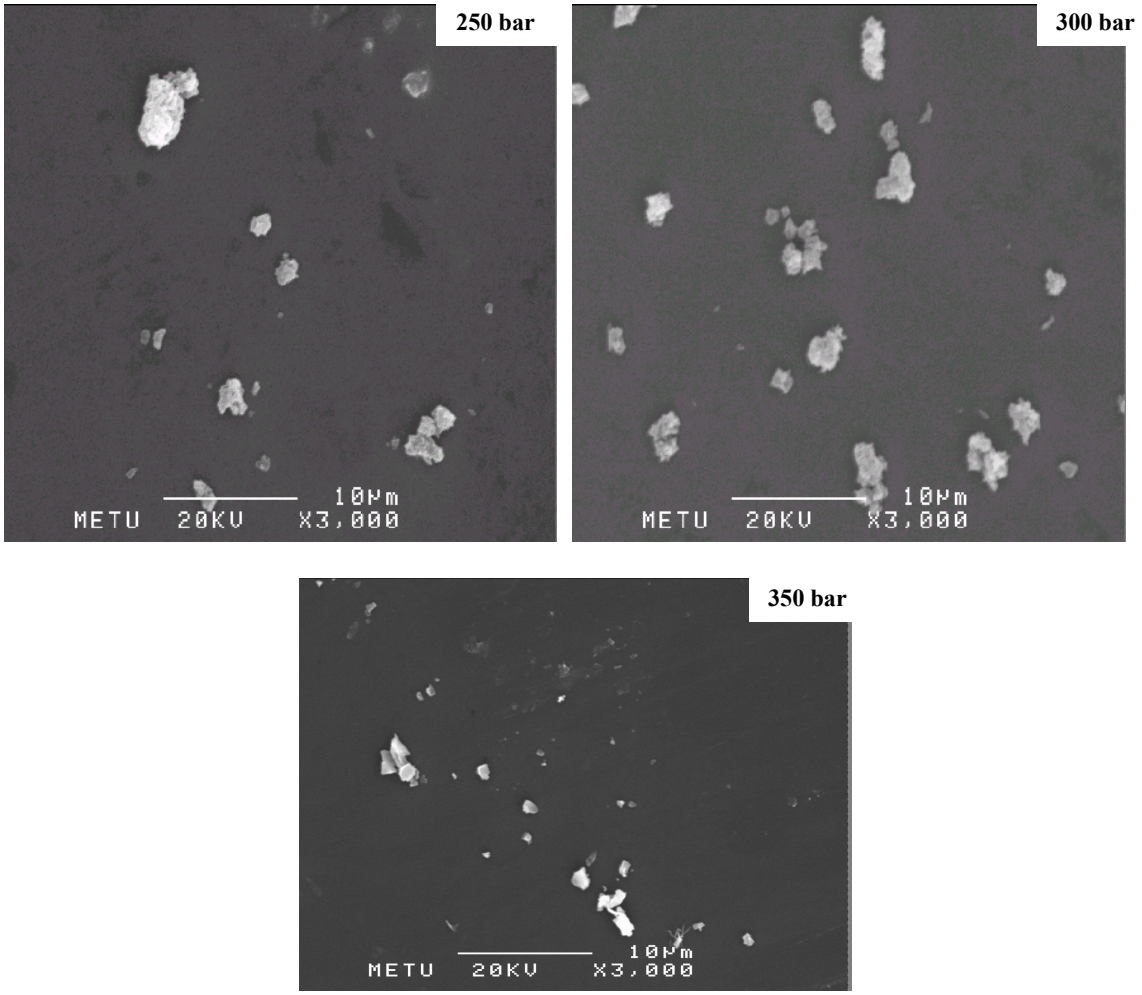


Şekil 4.33 Taksolun SC-CO_2'deki çözünürlüğü (Vandana ve Teja 1997)



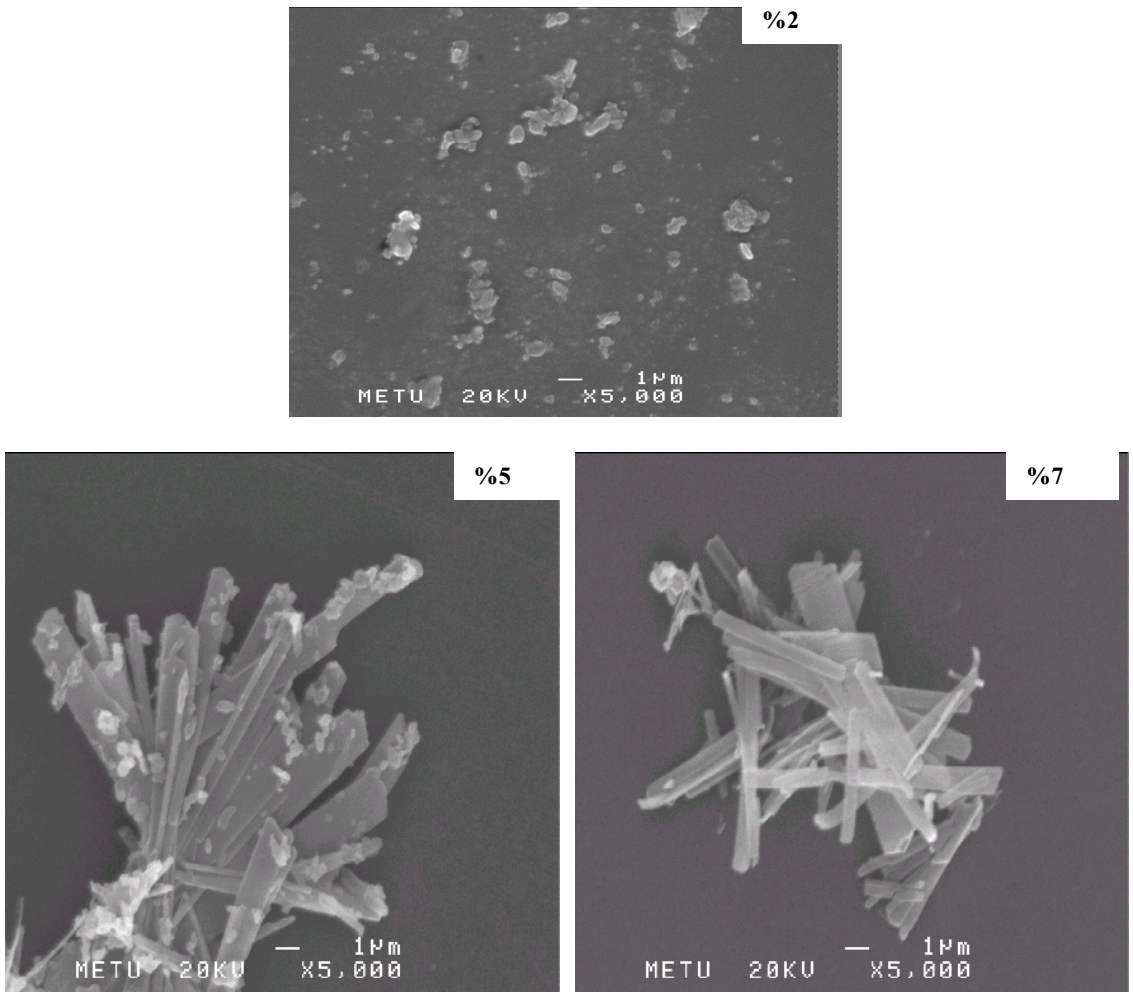
Şekil 4.34 Orijinal Taksolun SEM görüntüsü

Ekstraksiyon basıncının (250-350 bar) artmasıyla elde edilen taksol kristallerinin SEM görüntüsü Şekil 4.35'de verilmiştir. 250 ve 300 barda tanecik büyüklüğü 0.6-2.8 μm arasında olduğu basıncın 350 bara çıkarılmasıyla tanecik büyüklüğünün 0.3-1.7 μm arasında değiştiği gözlenmiştir. Sabit ekstraksiyon sıcaklığında (50^oC) ekstraksiyon basıncının 250 bar'dan 350 bar'a artması ile taksolun SC-CO_2'deki çözünürlüğü artmaktadır (Şekil 4.33). Taksolun çözünürlüğünün artması genleşme sırasında aşırı doygunluğun artmasına neden olmaktadır. Yüksek aşırı doygunluk genleşme sırasında çekirdeklenme hızını artırarak tanecik büyüklüğünün düşmesine neden olmaktadır (Hirunsit *et al*. 2005, Huang *et al*. 2005). Süreli yayınlarda farmasötik endüstrisinin önemli ilaç etken maddesi olan taksolün RESS ile tanecik büyüklüğü üzerine yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır.



Şekil 4.35 RESS ile elde edilen taksol kristallerine ekstraksiyon basıncının etkisi (T_{eks}=50°C, $T_{öngen}$=90°C, T_{gen}=10°C, q=4.5 ml/min)

Süperkritik CO_2 ortamında elde edilen taksol taneciklerinin derişimi çok düşük olduğundan taksolun SC-CO_2'deki çözünürlüğünü artırmak için yardımcı çözücü (etanol) eklenmiş ve elde edilen taneciklerin SEM görüntüleri Şekil 4.36'da verilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı 50°C ve basıncı 350 bar, öngenleşme sıcaklığı 110°C ve genleşme odası sıcaklığı 10°C'de, etanol derişimi %2 olduğunda tanecik büyüklüğü 0.4-1.33 µm arasında değişen küresele yakın, %5'te küresele (D=0.7-1.5 µm) yakın ve iğnemsi (L/D=7-9/1-2) yapıda taneciklerin olduğu ve derişimin %7'ye çıkarılması ile sadece iğnemsi yapıda taneciklerin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak etanol derişiminin artmasıyla taneciklerin morfolojisi değişmekte ve tanecik büyüklüğü artmaktadır.

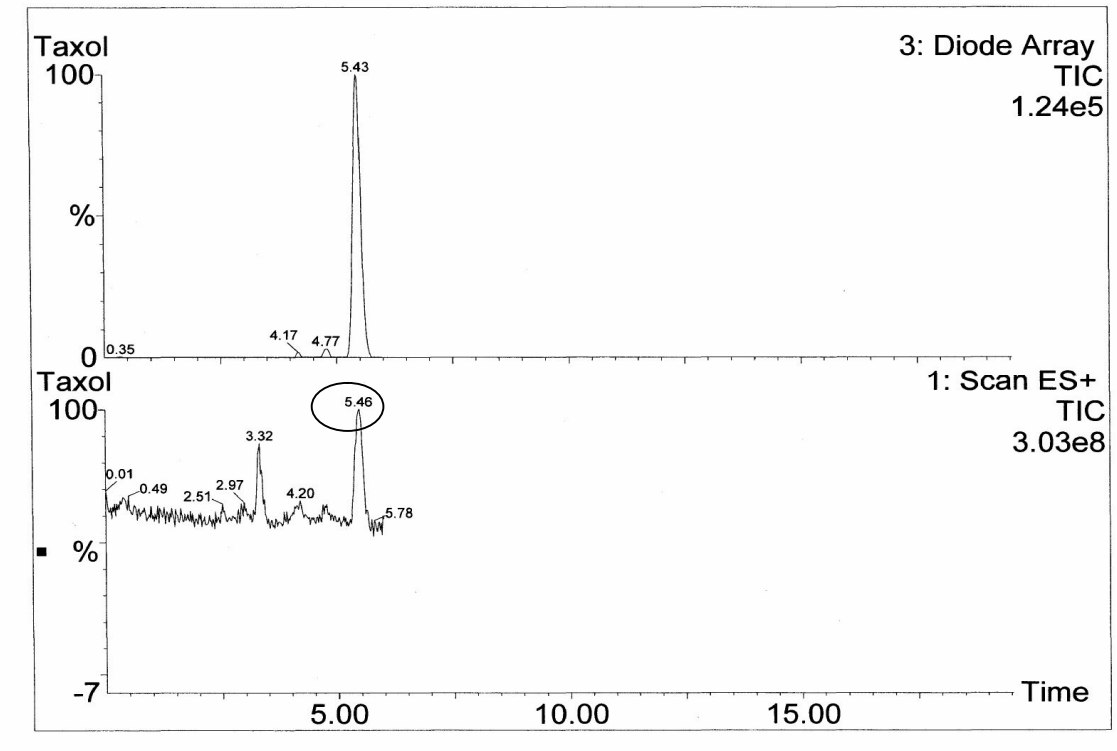


Şekil 4.36 RESS ile elde edilen taksol kristallerine yardımcı çözücü etkisi (T_{eks}=50°C, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110°C, T_{gen}=10°C, q=4.5 ml/min)

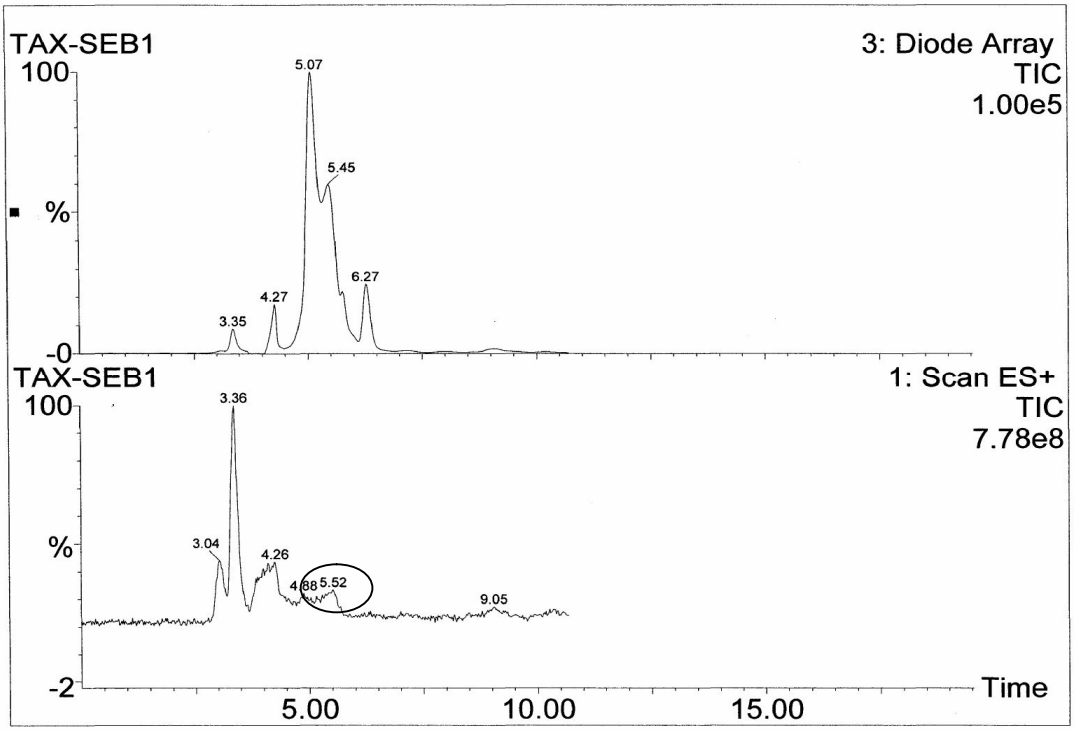
4.4 Taksol Taneciklerinin LC-MS Analizi

Orijinal ve SC-CO_2-%3 etanol ortamında ekstraksiyon sıcaklığı 50^oC ve basıncı 350 bar, öngenleşme sıcaklığı 110ºC, genleşme odası sıcaklığı 10ºC koşullarında RESS ile elde edilen taksol taneciklerinin LC-MS analizleri yapılmıştır. Analizlerden elde edilen kromatogramlar Şekil 4.37-4.38'de verilmiştir. Cihazda salisilik asit ile benzer olarak Xterra C18 kolon (4.6 x 250 mm), taşıyıcı faz olarak metanol–asetonitril–% 0.1'lik triflorometil asetat çözeltisi (50:35:15) kullanılmıştır.

Orijinal taksolun 5.42. dakikada, RESS ile elde edilenin ise 5.52. dakikada moleküler pik verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.37.a,b). RESS süreci sonunda elde edilen taksolun derişiminin çok düşük olmasından dolayı moleküler piki küçük çıkmıştır. Taksol $C_{47}H_{51}NO_{14}$ kapalı formülünde 854 g/gmol molekül ağırlığına sahip polar bir bileşiktir. Orijinal ve RESS süreci sonunda elde edilen taksol kristallerinin kütle spektrumları (Şekil 4.38.a,b) birbirine yakın olduğundan dolayı (≈854 g/gmol) RESS sürecinde elde edilen taksol taneciklerinin bozunmadığı sonucuna varılmıştır.

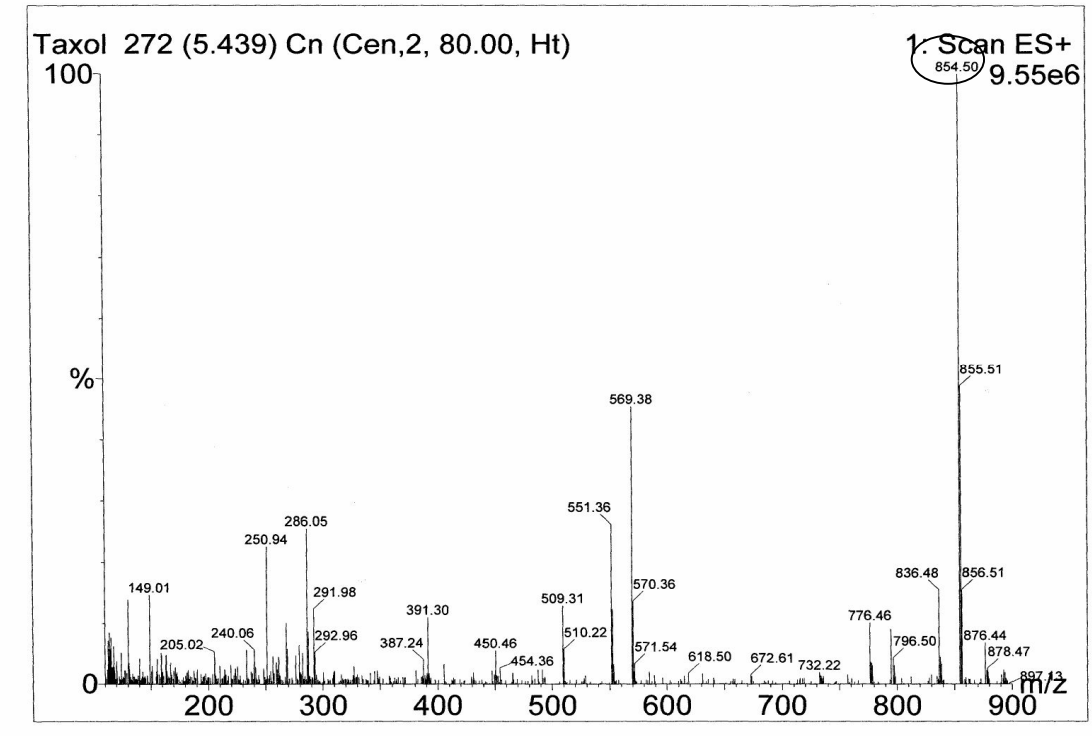


(a)

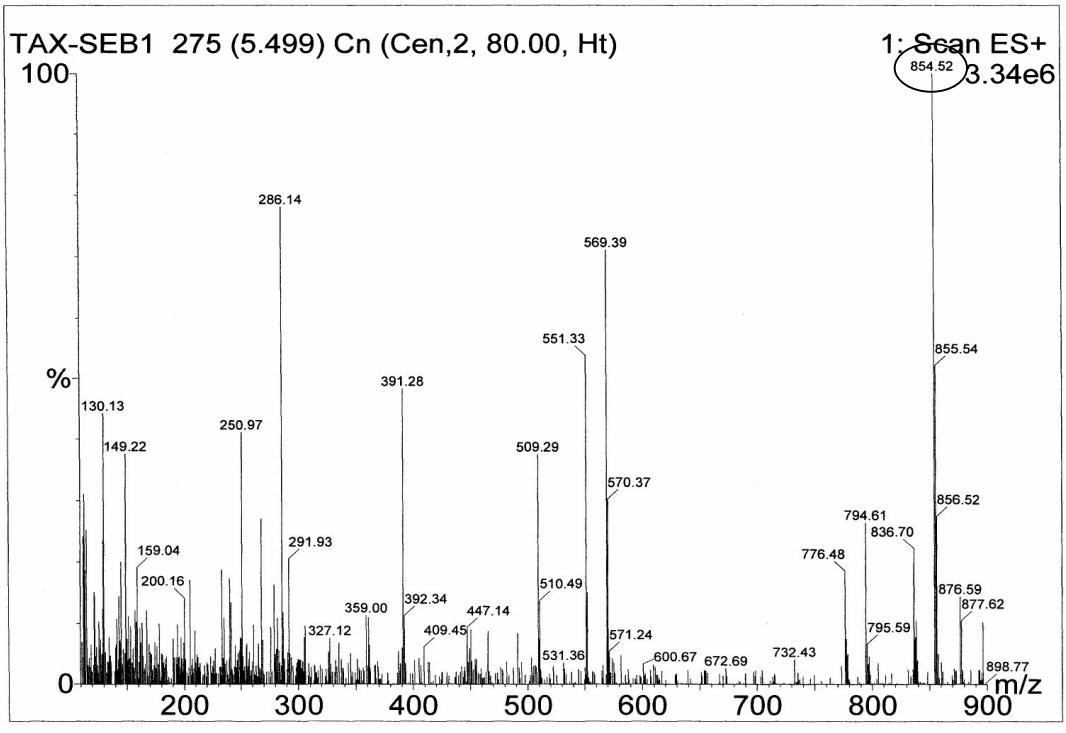


(b)

Şekil 4.37 Taksolun LC-MS analizi a. Orijinal, b. SC-CO_2-%3 Etanol'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50°C, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm)



(a)



(b)

Şekil 4.38 Taksolun kütle spektrumları a. Orijinal, b. SC-CO_2-%3 Etanol'de RESS sürecinde elde edilen (T_{eks}=50°C, P_{eks}=350 bar, $T_{öngen}$=110°C, T_{gen}=10°C, $h_{püs}$=6 cm)

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada salisilik asit ve taksolun RESS süreci ile tanecik oluşumu incelenmiştir.

1. Orijinal salisilik asit tanecik büyüklüğü L/D: 171/29–34/14 μm arasında değişen renksiz katı iğne kristal yapısında iken RESS işletme parametrelerine bağlı olarak ortalama tanecik büyüklüğü L/D:15.73-4.06 μm/μm'nin altına düşürülmüş ve SC-CO_2 ortamında, ekstraksiyon sıcaklığı 50^{o}C ve basıncı 250 bar, öngenleşme sıcaklığı 80^{o}C ve genleşme odası sıcaklığı 10^{o}C, püskürtme uzaklığı 6 cm'de ortalama tanecik büyüklüğü L/D:1.90/0.98 μm/μm olarak bulunmuştur.

2. Ekstraksiyon sıcaklığının 45^{o}C'den 50^{o}C'ye artmasıyla ortalama tanecik büyüklüğü L/D:3.39/1.39 μm/μm'den L/D:2.48/1.23 μm/μm'ye azalmış, sıcaklığın 60^{o}C'ye artırılmasıyla ortalama tanecik büyüklüğü (L/D:5.41/1.52 μm/μm) de artmıştır.

3. Ekstraksiyon basıncı 150 barda taneciklerin %63'ü L/D:2.5/1.33 μm/μm'den küçük, basınç 250 bara çıkarıldığında %74'ü L/D:2.5/1.33 μm/μm'den küçük olduğu bulunmuştur.

4. Öngenleşme sıcaklığı 80^{o}C'de tanecik büyüklüğü L/D:1.06/0.53-7.98/2.13 μm/μm arasında değişirken sıcaklığın 140^{o}C'ye yükseltilmesi ile tanecik büyüklüğünün L/D:5.32/2.66-34.58/5.32 μm/μm arasında değiştiği saptanmıştır.

5. Genleşme odası sıcaklığının 0^{o}C'den 20^{o}C'ye çıkarılması ile ortalama tanecik büyüklüğü L/D:2.48/1.23 μm/μm'den L/D:5.22/1.63 μm/μm'ye artmıştır.

6. Püskürtme uzaklığı 6 cm'de ortalama tanecik büyüklüğü L/D:2.48/1.23 μm/μm iken, püskürtme uzaklığı 13 cm'ye çıkarılması ile L/D:9.07/2.01 μm/μm'ye artmıştır.

7. SC-CO_2 ortamında ekstraksiyon sıcaklığı 50^oC ve basıncı 250 bar, öngenleşme sıcaklığı 80^oC ve genleşme odası sıcaklığı 10^oC, püskürtme uzaklığı 6 cm'de ortalama tanecik büyüklüğü L/D:1.9/0.98 μm/μm iken etanol derişimi ile %1'de L/D:2.53/1.19, %2'de L/D:4.59/1.39 ve %3'te 5.28/1.48 olarak bulunmuştur.

8. Gaz dağıtıcı olarak kapiler kullanıldığında ise tanecik büyüklüğünün arttığı belirlenmiştir.

9. Orijinal taksolün tanecik büyüklüğü 0.6-17 μm arasında değişen saf halde beyaz kristal toz şeklindedir. Süperkritik CO_2 ile ekstraksiyon basıncı 250 ve 300 barda tanecik büyüklüğü 0.6-2.8 μm arasında iken basıncın 350 bara çıkarılmasıyla tanecik büyüklüğü 0.3-1.7 μm arasında değiştiği gözlenmiştir.

10. Taksolun SC-CO_2'deki çözünürlüğünü artırmak için kullanılan yardımcı çözücü (etanol) derişiminin %2'den %7'ye artmasıyla taneciklerin morfolojisi değişmekte ve tanecik büyüklüğü artmıştır.

11. Orijinal ve RESS ile elde edilen salisilik asit ve taksol taneciklerinin UV ve RAMAN spektrofotometresi ile LC-MS analizlerine göre bozunmadığı belirlenmiştir.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmanın devamında, RESS işletme parametrelerinden

- ✓ Akış hızının
- ✓ Püskürtme uzaklığı açısının
- ✓ Daha düşük öngenleşme sıcaklıklarının ($T_{öngen}$<80^{o}C) tanecik büyüklüğüne etkisi incelenebilir.

Ayrıca,

- ✓ Ani genleşmenin sıvı içine olması ile taneciklerin birleşmesini önleyip önleyemeyeceği özellikle yardımcı çözücü kullanıldığı durum için araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Alessi, P., Cortesi, A., Kikic, I., Foster, N. R., Macnaughton, S. J. and Colombo, I. 1996. Particle production of steroid drugs using supercritical fluid processing. Ind. Eng. Chem. Res., 35; 4718-4726.

Atkinson, R. M., Bedford, C., Child, K. J.and Tomich, E. G. 1962. Effect of particle size on blood Griseofulvin-Levels in Man. Nature, 193; 588.

CancerBacup, 2003. Web sitesi. http://www.cancerbacup.org.uk/info/taxol.htm

Chemfinder.com, Database & Internet searching, 2004. Web sitesi. http://chemfinder.com

Danishefsky, S.J., Masters, J.J., Young, W.B., Link, J.T., Snyder, L.B., Magee, T.V., Jung, D.K., Isaacs, R.C.A., Bornmann, W.G., Alaimo, C.A., Coburn, C.A. and Di Grandi, M.J.1996. Total synthesis of Baccatin III and Taxol. J. Am. Chem. Soc, 118; 2843-59

Dicussing Info, Web sitesi. http://gc.discussing.info/whoiam/others/taxol.html

Doctor's Guide, Taxol Improves Breast Cancer Survival When Added To Chemotherapy, 1995. Web sitesi. www.pslgroup.com/dg/fabde.htm

Domingo, C., Berends, E. and Maria van Rosmalen, G. 1997. Precipitation of ultrafine organic crystals from rapid expansion of supercritical solutions over a capillary and a frit nozzle. Journal of Supercritical Fluids, 10; 39-55.

Eiffel Technologies, 2000. Web sitesi. http://www.eiffeltechnologies.com.au/html

Erdemoğlu, N. ve Şener, B. 1999. Taksol ve türevlerinin biyosentezi. Ankara eczacılık fakültesi dergisi, 28 (2); 99-116

Fages, J., Lochard, H., Letourneau, J.J., Sauceau, M. and Rodier, E. 2004. Particle generation for pharmaceutical applications using supercritical fluid technology. Powder Technology, 141; 219- 226

Frank, S.G. and Ye, C. 2000. Small particle formation and dissolution rate enhancement of relatively insoluble drugs using rapid expansion of supercritical solutions (RESS) processing. In: Eckert, C.,Teja, A. (Eds.), Proceedings (CD-ROM)of the Fifth International Symposium on Supercritical Fluids.

Hakuta, Y., Hayashi, H. and Arai, K. 2003. Fine particle formation using supercritical fuids. Current opinion in solid state and material science, 7; 341 –351

Helfgen, B., Turk, M. and Schaber, K. 2000. Theoretical and experimental investigations of the micronization of organic solids by rapid expansion of supercritical solutions. Powder Technology, 110; 22-28

Huang, Z., Sun, G. B., Chiew, Y.C. and Kawi, S. 2005. Formation of ultrafine aspirin particles through rapid expansion of supercritical solutions (RESS). Powder Technology, 160; 127-134

Hirunsit, P., Huang, Z., Srinophakun, T., Charoenchaitrakool, M. and Kawi, S. 2005. Particle formation of ibuprofen-supercritical CO_2 system from rapid expansion of superciritical solutions (RESS): A mathematical model. Powder technology, 154; 83-94

Holton, R.A., Somoza, C., Kim, H., Liang, F., Biediger, J., Boatman, P.D., Shindo, M., Smith, C.C., Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C., Vu, P., Thang, S., Zhang P., Murthi, K.K., Gentile L.N. and Liu, J.H. 1994. First total synthesis of Taxol, 1. functionalization of the B Ring. J. Am. Chem. Soc., 116; 1597-8

Humbert, B., Alnot, M. and Quiles, F. 1998. Infrared and Raman spectroscopical studies of salicylic and salicylate derivatives in aqueous solution. Spectrochimica Acta Part A, 54; 465–476

IPCS Inchem. Web sitesi. http://www.inchem.org/documents/pims/pharm

Jung, J. and Perrut, M. 2001. Particle desing using supercritical fluids: Literature and patent survey. Journal of Supercritical Fluids, 20; 179-219.

Kayrak, D., Akman, U. and Hortaçcu, Ö. 2003. Micronization of ibuprofen by RESS. Journal of Supercritical Fluids, 26; 17-31

Ke, J., Mao, C., Zhong, H. B. and Yan. H. 1996. Solubilities of salicylic acid in supercritical carbon dioxide with ethanol cosolvent. The Journal of Supercritical Fluids,9; 82-87

Kikic, I. and Sist, P. 1998. Applications of supercritical fluids of pharmaceuticals. Controlled Drug Release Systems

Knez, Z. and Weidner, E. 2003. Particle formation and particle design using supercritical fluids. Current opinion in solid state and material science,7; 353-361

Koziara, J.M., Lockman, P.R., Allen, D.D. and Mumper, R.J. 2004. Paclitaxel nanoparticles for the potential treatment of brain tumors. Journal of controlled release, 99; 259-269

Ksibi, H. 2004. The Solvent-Solute Interaction in Supercritical Solution at Equilibrium: Modeling and Related Industrial Applications. Int. J. Thermodynamics, 7 (3); 131-140

Liu, G.T. and Nagahama, K. 1996. Application of rapid expansion of süpercritical solutions in the crystallization separation. Ind. Eng. Chem. Res., 35; 4626-4634.

Mu, L. and Feng, S.S. 2003. A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol ®): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. Journal of controlled release, 86; 33-48

Nicalaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.J., Ueno, H., Nantermet, P.G., Guy, R.K., Claiborne, C.F., Renaud, J., Couladouros, E.A., Paulvannan, K. and Sorensen, E.J. 1994. Total synthesis of Taxol. Nature, 367; 630-4

Perrut, M., Jung, J. and Lebpeuf, F. 2005. Enhancement of dissolution rate of poorly-soluble active ingredients by supercritical fluid processes. Part I: micronization of neat particles. International Journal of Pharmaceutics, 288; 3-10

Pruduction of polymer particles in supercritical carbon dioxide. Web sitesi. www2.kobe-u.ac.jp/~minamihi/ work/studya3S2.html

Reverchon, E., Donsi, G. and Gorgoglione, D. 1993. Salicylic Acid Solubilizations in Supercritical CO_2 and Micronization by RESS. Journal of Supercritical Fluids, 6 (4); 241-248.

Reverchon, E. and Porta, G. D. 1995. Solubility and micronization of griseofulvin in supercritical CHF_3. Ind. Eng. Chem. Res., 34; 4087-4091.

Reverchon, E., ve Spada, A. 2004. Erythromycin Micro-Particles Produced by Supercritical Fluid Atomization. Powder Tech., 141; 100-108.

Reverchon, E. and Adami, R. 2006. Nanomaterials and supercritical fluids. Journal of Supercritical Fluids, 37; 1-22

Shariati, A. and Peters, Cor. J. 2003. Recent developments in particle design using supercritical fluids. Current Opinion in Solid State and Materials Science, 7; 371-383

Sihvonen, M., Jarvenpa, È., Hietaniemis, V. and Huopalahti, R. 1999. Advances in supercritical carbon dioxide technologies. Trends in food sciend and technology, 10; 217-222

Taxol: A Case Study in Natural Products Chemistry. Web sitesi. http://www.usm.maine.edu/~newton/Chy251_253/Lectures/NaturalProducts/Taxol.html

Thar Particle design, 2006. Web sitesi. http://www.thartech.com

The University of Birmingham, Micro and nano particles. Web sitesi. www.crnnt.bham.ac.uk/Particles

The Free Dictionary, 2005. Web sitesi. http://encyclopedia.thefreedictionary.com/salicylic+acid

Tom, J.W. and Debenedetti, P. G. 1991. Particle formation with supercritical fluids-A review. J. Aerosol Science, 22; 555-584

Topçuoğlu M.A. ve Selekler K. Keşfinin 100. Yılında aspirin. Web sitesi. http://web.deu.edu.tr/noroloji/TND1996(3,4)aspirintammetin.htm

Türk, M. 1999. Formation of small organic particles by RESS: experimental and theoretical investigations. Journal of Supercritical Fluids, 15; 79-89

Türk M., 2000. Influence of thermodynamic behaviour and solute properties on homogeneous nucleation in supercritical solutions. Journal of supercritical fluids, 18; 169-184.

Türk, M, Lietzow, R., Hils, P. and Schaber, K. 2002a. Stabilization of pharmaceutical substances by spraying a supercritical solution into aqueous solutions. In: Bertucco A, ed. Chemical Engineering Transactions, AIDIC, Mailand, Italy, 621-626

Türk, M., Hils, P., Helfgen, B., Schaber, K., Martin, H.J. and Wahl, M.A. 2002b. Micronization of pharmaceutical substances by the Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS): a promising method to improve bioavailabilitiy of poor soluble pharmaceutical agents. Journal of Supercritical Fluids, 22; 75-84

Tüzün, C. 1996. Organik kimya. Panel yayın dağıtım, 481, Ankara.

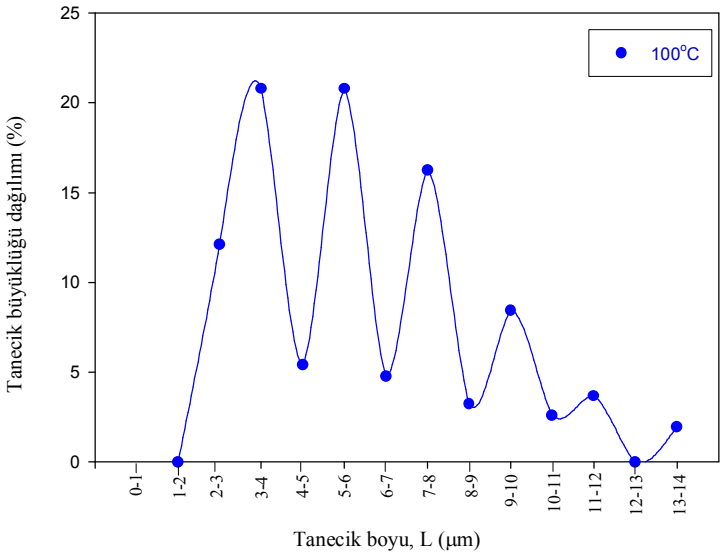
Vandana, V. and Teja, A.S. 1997. The solubility of paclitaxel in supercritical CO_2 and N_2O. Fluid phase equilibria, 135; 83-87

Vasukumar, K. and Bansal, A.K. 2003. Supercritical fluids technology in pharmaceutical research, CRIPS 4 (2); 8-12.

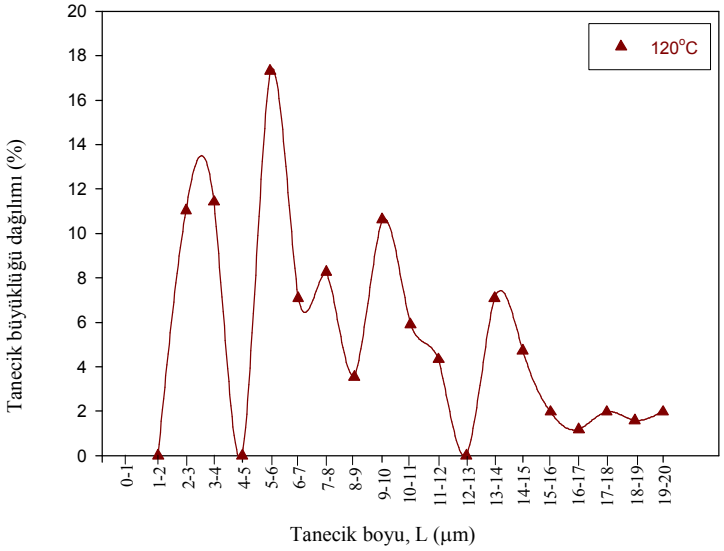
Wang, J., Cheng, J. and Yang, Y. 2005. Micronization of titanocene dichloride by rapid expansion of supercritical solution and its ethylene polymerization. Journal of Supercritical Fluids, 33;159-172

EKLER

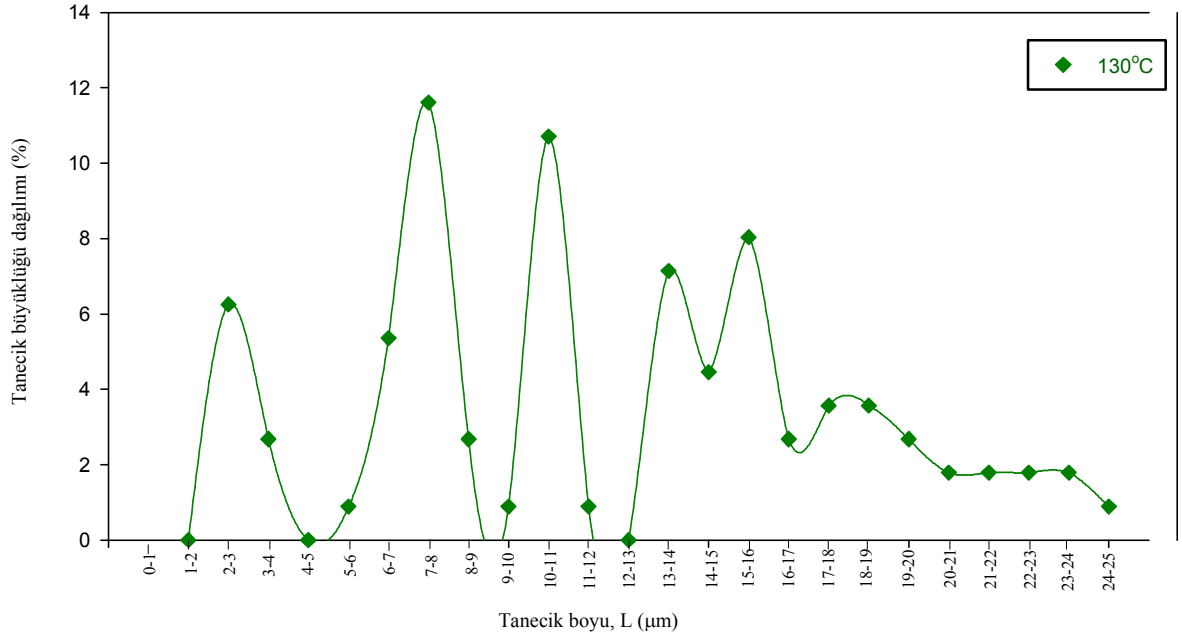
EK 1. RESS ile elde edilen salisilik kristallerine öngenleşme sıcaklığının etkisi



Şekil 1. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=100°C)

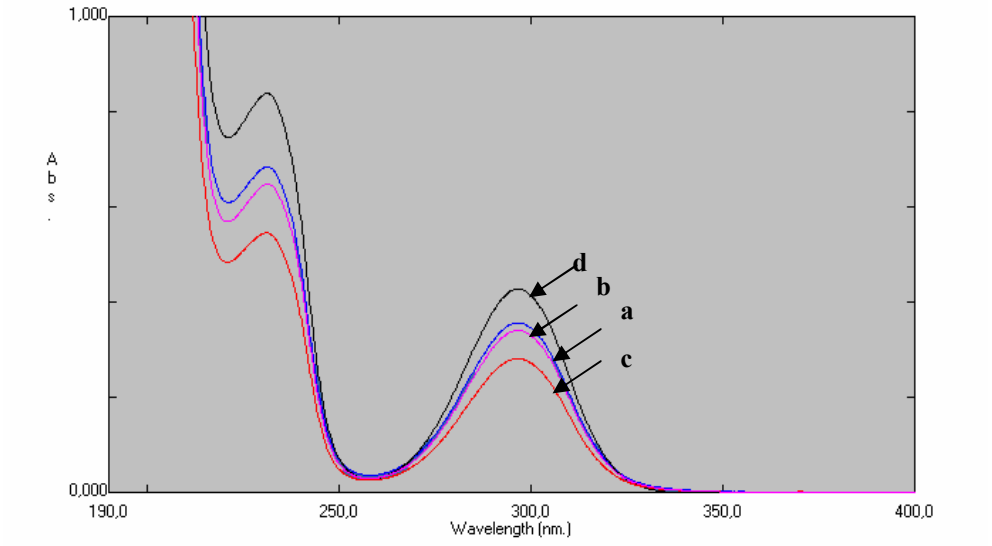


Şekil 2. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=120°C)

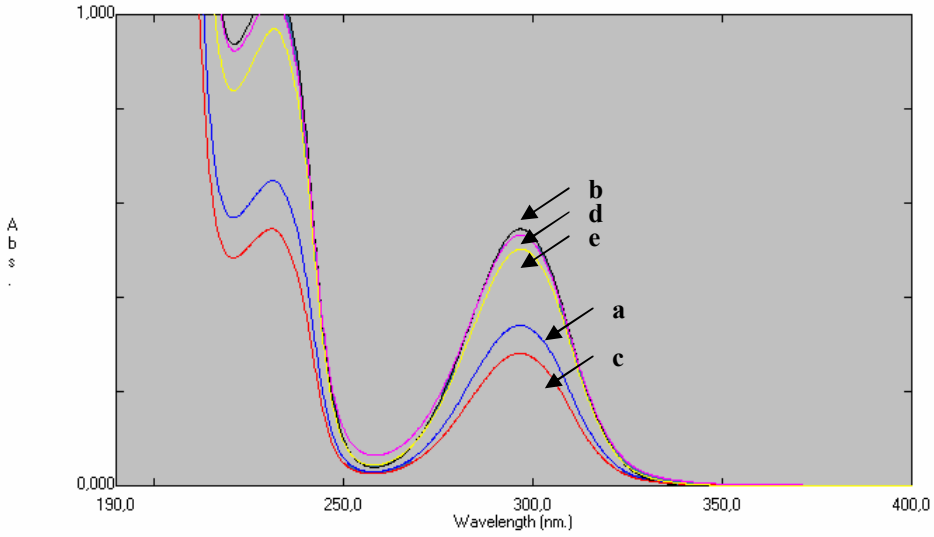


Şekil 3. RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin tanecik büyüklüğü dağılımı ($T_{öngen}$=130°C)

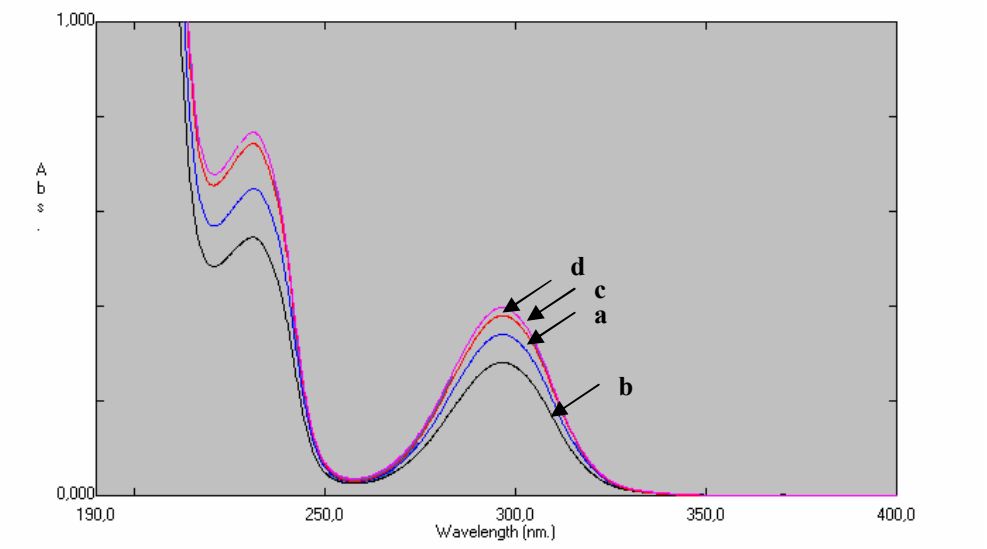
EK 2. Salisilik asitin UV spektrofotometresi ile analizi



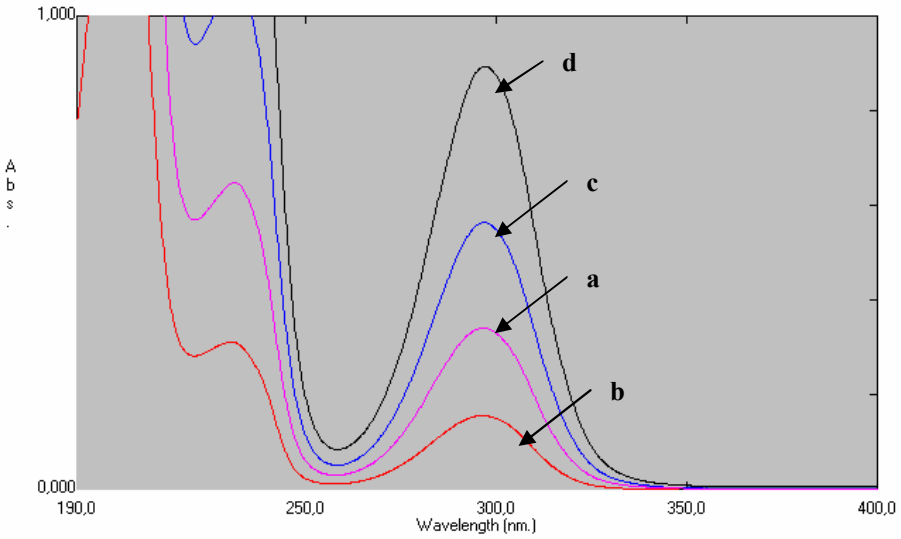
Şekil 1. Farklı genleşme odası sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 0°C, c. 10 °C, d. 20 °C



Şekil 2. Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 45°C, c. 50 °C, d. 55°C, e. 60 °C

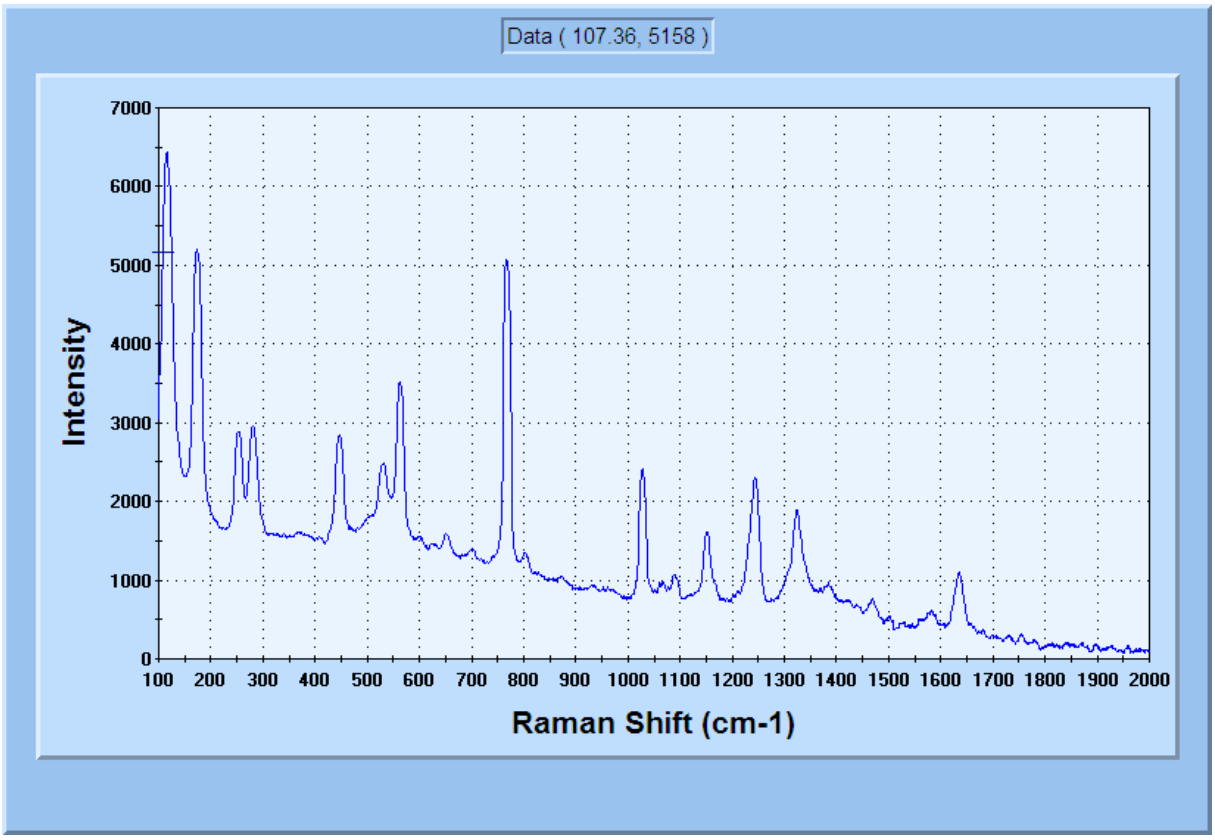


Şekil 3. Farklı ekstraksiyon basıncında RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. 150 bar, c. 200 bar, d. 250 bar



Şekil 4. Farklı etanol derişimlerinde RESS ile elde edilen salisilik asit kristallerinin UV spektrumu a. Orijinal, b. % 1, c. % 2, d. % 3

EK 3. Salisilik asitin RAMAN spektrofotometresi ile analizi



Şekil 1. SC-CO_2-etanol'de RESS ile elde edilen salisilik asitin RAMAN spektrumu (%Etanol=3, T_{eks}=50°C, P_{eks}=250 bar, $T_{öngen}$=80°C, T_{gen}=10°C,)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : ŞebnemTuna

Doğum Yeri : İzmir

Doğum Tarihi : 27.11.1978

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Batıkent Yabancı Dil Ağırlıklı Lise, 1996

Lisans : Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümü, 2002

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 2003-2006

Ulusal ve Uluslararası Tebliğler

Tuna, S., Döker, O., Yıldız, N. and Çalımlı, A., Particle Formation of Salicylic Acid by Rapid Expansion of Supercritical Solution Process (RESS), NanoTR-I Nanoscience and Nanotechnology 2005, Bilkent University

Tuna, S., Döker, O., Salgın, U., Yıldız, N. and Çalımlı, A., Micronization of Salicylic Acid by RESS, Jordan International Chemical Engineering Conference V (JICEC05), 11-15 Eylül 2005, Amman-ÜRDÜN

Tuna, S., Döker, O., Salgın, U., Yıldız, N. ve Çalımlı, A., "Salisilik asit tanecik oluşumunun RESS prosesi ile incelenmesi" 6.Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Ege Üniversitesi, İzmir (7-10 Eylül 2004)