

Ultrases Uygulama Süresi ve Genliğinin Naproksen Sodyumun Parçacık Boyutu ve
Çözünübilirliğine Etkisi

Aygün Ceren İldaşer

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fizik Anabilim Dalı

Ocak 2016

The Effect of The Exposure Time and Amplitude of Ultrasound on Particle Size and Solubility of Naproxen Sodium

Aygün Ceren İldaşer

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Physics

January 2016

Ultrases Uygulama Süresi ve Genliğinin Naproksen Sodyumun Parçacık Boyutu ve
Çözünürlüğüne Etkisi

Aygün Ceren İldaşer

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Fizik Anabilim Dalı
Genel Fizik Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof.Dr. Gökhan Savaroğlu

Bu tez BAP tarafından 201319007 nolu proje çerçevesinde desteklenmiştir.

Ocak 2016

ONAY

Fizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Aygün Ceren İldaşer'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Ultrases Uygulama Süresi ve Genliğinin Naproksen Sodyumun Parçacık Boyutu ve Çözünübilirliğine Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof.Dr. Gökhan SAVAROĞLU

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof.Dr. Gökhan SAVAROĞLU

Üye : Prof.Dr. Lütfi GENÇ

Üye : Yard. Doç. Dr. İsmail ÖZKAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Gökhan Savaroğlu danışmanlığında hazırlamış olduğum “Ultrases Uygulama Süresi ve Genliğinin Naproksen Sodyumun Parçacık Boyutu ve Çözünübilirliğine Etkisi” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı, kaynak gösterdiğimi, bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 21/01/2016

Aygün Ceren İldaşer

İmza

ÖZET

Bu çalışmanın amacı naproksen sodyum (NapNa) etken maddesinin partikül boyutuna ultrases şiddeti ve süresinin etkisi zeta potansiyel, UV, taramalı elektron mikroskopu (SEM), X-ışınları kırınımı (XRD), fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve diferansiyel tarama kalorimetri (DSC) ölçümleri kullanılarak araştırılmasıdır. Farklı ultrases şiddeti ve süresinin ilaç etken maddelerinin yüzey morfolojisinde ve kristal yapısında değişikliğe sebep olduğu belirlenmiştir. Ultrases uygulama süresini ve genliği ile yüzey alan artırımını ve kristal boyuttaki küçülme ile lineer bir ilişki olmadığı bunun yerine optimum ultrases süresi ve şiddetinin etken maddelerinin partikül boyutunu küçültmede, yüzey alanını ve dolayısı ile çözünürlüğü artırmada oldukça etkin olduğu gözlenmiştir. Çekirdeklenme, polimorf oluşumu ve istenen polimorf yapıyı elde etmek için optimum ultrases uygulanma şiddeti ve süresi belirlenmiş ve etken maddenin uygun polimorfik yapısının elde edilmesi için önemli bilgiler elde edilmiştir. Bulunan sonuçlara göre değişik şiddet ve sürelerde ultrases uygulanmasının, polimorfik kontrol, eleme ve uygun polimorfik yapı elde etmede büyük potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. Polimorfik kontrol, eleme ve uygun yapı elde etme yeni ilaç geliştirme ve keşfi için oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Ultrases etkisi, Naproksen Sodyum, partikül boyutu, partikül dağılımı.

SUMMARY

The purpose of this study is, to investigate the effect of ultrasound intensity and expose time to the particle size of naproxen sodium (NapNa) active ingredient by using zeta potential, UV, scanning electron microscope (SEM), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and differential scanning calorimetry (DSC) measurements. It has been determined that, different ultrasound intensity and expose time duration has changed the surface morphology and crystal structure of the drug active substances. It has been observed that, ultrasonic intensity and duration doesn't have a linear correlation with the increase on the surface area and decrease on the particle size. On the contrary, it has been detected that optimum ultrasound intensity and duration has a great effect on decreasing the particle size of drug active substances and increasing the surface area, therefore increasing the solubility.

In this study, optimum ultrasound intensity and expose time values have been detected to acquire the nucleation, polymorph formation and desired polymorph structure. According to the obtained results, different ultrasound intensity and duration application has a great potential to acquire polymorphic control, elimination and appropriate polymorphic formation. The polymorphic control, elimination and obtaining appropriate polymorphic formation are very important on discovery and development of new drugs.

Keywords: Ultrasound effect, Naproxen Sodium, particle size, particle distribution.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın planlanması, araştırılması ve tamamlaması sırasında bilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, tez dışı bilimsel faaliyetlere teşvik eden danışmanım Sayın Prof. Dr. Gökhan Savaroğlu'na teşekkür ederim.

Yönlendirme önerileriyle çalışmamı şekillendiren, Sayın Prof. Dr. Lütfi Genç'e, Sayın Prof. Dr. Müjdat Çağlar'a ve Prof. Dr. Evrim Hür'e teşekkür ederim.

Bu çalışmada sağladıkları destekten dolayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (Proje no: 201319007) teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca destekleriyle yanımda olan eşime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	2
2.1. Naproksen Sodyum.....	3
2.2. Ultrases ve Etkisi	4
2.3. İlaç Etken Maddelerinin Karakterizasyonu.....	9
2.3.1. Zeta potansiyeli	10
2.3.2. Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (FT-IR)	11
2.3.3. X-ışını kırınım tekniği	14
2.3.4. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Kullanılan ultrases sistemi.....	18
3.2.2. Çözünürlüğün belirlenmesi.....	20
3.2.3. Zeta potansiyeli ölçümleri.....	21
3.2.4. Numunelerin dondurarak kurutması.....	22
3.2.5. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ölçümleri.....	22
3.2.6. SEM kullanılarak numunelerin yüzey morfolojilerinin belirlenmesi.....	23
3.2.7. X-ışını kırınım tekniği ile numunelerin kristal yapılarının belirlenmesi.....	23
3.2.8. Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (FT-IR) ölçümleri.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. NapNa İçin Yapılan Zeta Potansiyeli Ölçümleri	26

İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa**

4.2. Numunelerin UV-VIS Spektrometre İle Çözünürlük Belirlenmesi	28
4.3. Numunelerin Yüzey Morfolojileri	29
4.4. Numunelerin XRD Ölçümleri.....	39
4.5. Numunelerin DSC Çalışmaları.....	45
4.6. Numunelerin FTIR Spektrum Ölçümleri.....	51
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR DİZİNİ	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. NapNa'nın kimyasal yapısı	4
2.2. Ses hareketinin gösterimi	5
2.3. Sesin frekans spektrumu	5
2.4. Ultrasonik su banyosu (indirekt güç ultases)	7
2.5. Ultrasonik prob (direk güç ultasesi)	8
2.6. Birkaç akustik döngüde baloncuk oluşumu, gelişimi, sönüşü ve kristal oluşumunun grafiksel özeti	8
2.7. Kristal boyutları, (a) sürekli ultrases uygulandığında, (b) çok kısa süre ultrases uygulandığında, (c) pals ultrases uygulandığında	9
2.8. Bir çözeltilde iyonlarla çevrelenmiş yüklü parçacıkların dağılımının şematik gösterimi (Hunter, 2013)	10
2.9. Spektrofotometre düzeneği	11
2.10. Spektrofotometre esas bileşenlerinden oluşan düzeneği	12
2.11. Maddenin 1 molar çözeltisinin çeşitli dalga boyuna karşı absorbands değerleri	13
2.12. Kalibrasyon doğrusu (Skoog & West, 1980)	13
2.13. hkl düzlemlerinin düzlem içi yerleşimi ve Miller indeksi ile oran açısı arasındaki ilişki gösteren Bragg eşitliği	14
2.14. DSC deneysel düzeneği	16
3.1. Soğuk su sirkülasyonlu ultrases uygulama deney düzeneği	17
3.2. Yüksek şiddete ultrases uygulama düzeneğinin fotoğrafı	18
3.3. Shimadzu UV-VIS 2550 Spektrofotometre cihazının fotoğrafı	20
3.4. NapNa standart çözeltilerinin 242 nm dalga boyunda konsantrasyona karşı absorbands grafiği	21
3.5. Zeta potansiyeli ölçüm düzeneği	22
3.6. DSC ölçüm düzeneği	23
3.7. FTIR ölçüm düzeneği	24
4.1. Ultrases uygulama düzeneği	25
4.2. NapNa'nın ultrases ile kristalleşme deneysel şeması	26
4.3. Saf NapNa ve ultrases uygulanmamış liyofilize edilerek kurutulan NapNa'nın SEM mikrofotografı	29
4.4. Genlik %10 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10, 15 ve 30 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotografı	30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.5. Genlik %30 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 15 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	31
4.6. Genlik %50 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10, 15 ve 30 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	32
4.7. Genlik %70 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 15 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	33
4.8. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup ultrases genliği 10, 30, 50 ve 70 uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	34
4.9. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup ultrases genliği 10, 30, 50 ve 70 uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	35
4.10. 5 dakika %70 genlik uygulanan numunenin x3.01k, x6.02k ve x30.10k büyütmelemlerindeki SEM fotoğrafları	36
4.11. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	37
4.12. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	38
4.13. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup 10 ve 50 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	38
4.14. Yüzeyde oyuklar oluşan numunelerin SEM mikrofotoğrafları	39
4.15. Saf NapNa ultrases uygulanmamış NPS1, NPS6, NPS7, NPS8 ve NPS9 XRD kırınım desenleri	40
4.16. Genlik %10 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	40
4.17. Genlik %30 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	41
4.18. Genlik %50 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	41
4.19. Genlik %70 sabit olup ultrases süresi 1, 5 ve 10 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	42
4.20. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	43
4.21. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	43
4.22. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	44

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.23. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	44
4.24. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup %10 ve %50 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri	45
4.25. NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış NapNa'nın DSC spektrumu	46
4.26. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları	47
4.27. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları	47
4.28. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları	48
4.29. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları	48
4.30. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup %10 ve %50 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları	49
4.31. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları	51
4.32. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları	52
4.33. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları	52
4.34. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları	53
4.35. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup %10 ve %50 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. NapNa çözeltisine ultrases uygulama süresi ve genlikleri	19
4.1. Değişik genliklerde ve sürelerde ultrases uygulanan NapNa süpansiyonları için ZP değerleri	27
4.2. Numunelerin % kümülatif çözünürlük değerleri	28
4.3. NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış liyofize edilmiş NapNa'nın DSC sonuçları	46
4.4. Ultrases uygulanmış liyofilize edilmiş NapNa'nın DSC sonuçları	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler**

PA

f

PA,max

v

Q_{us}A_{us}Y_y

A

Açıklama

Akustik basınç

Frekans

Maksimum akustik basınç

Ultras ses hızı

Sıvıya transfer edilen güç

Kaynağın yüzey alanı

Yoğunluk

Absorbans

Kısaltmalar

API

NapNa

NSAII

UV/VIS

SEM

XRD

DSC

FT-IR

ZP

NPS

Açıklama

Aktif farmasötik bileşen

Naproksen sodyum

Non-steroidal anti-enflamatuvar ilaç

Ultraviyole görünür bölge

Taramalı elektron mikroskobu

X-ışını kırınımı

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi

Zeta potansiyeli

Naproksen sodyum numune

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yeni ilaçların geliştirilmesinde artan bir problem 0.1mg/mL'den daha düşük suda çözünürlüğe sahip olan çok sayıda ilaç keşfedilmesidir (Chaubal, 2004, Wong vd., 2008). Bu ilaçların birçoğu organik çözücülerde de çözünmemektedir (Heimbach vd., 2007, Merisko-Liversidge & Liversidge, 2008, Shegokar & Müller, 2010). Zayıf çözünürlüğe sahip etken maddeler oral düşük biyoyararlanımları, tok/aç farkı, daha yavaş etki başlangıcı, düzensiz emilim ve yüksek hasta değişkenliği gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Merisko-Liversidge vd., 2003, Merisko-Liversidge & Liversidge, 2008, Shegokar & Müller, 2010).

Partikül boyutunun küçültülmesi, çözünürlük oranının iyileştirilmesi ve dolayısıyla suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların biyoyararlanımının iyileştirilmesi için uygun bir formülasyon stratejisidir (Liversidge & Cundy, 1995, Chaubal, 2004).

Bariz şekilde küçük partikül boyutundan dolayı, nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri mikropartiküllerden farklıdır. Yüzey alanındaki büyük artıştan dolayı, ilaç nanokristalleri daha fazla çözünme oranına ve yüksek doygunluk çözünürlüğüne sahiptir. Nihayetinde bu, sorunlu bileşiklerin biyoyararlanımının iyileştirilmesini sağlayacaktır (Rabinow, 2004, Müller vd., 2011).

Bu proje kapsamında NapNa etken maddesinin parçacık boyutlarını azaltmada ve yüzey alanını artırımında ultrases şiddet ve sürenin etkisi incelenmiştir. İlaç etken maddelerinin dispersiyonlarına ultrases uygulandıktan sonraki topaklanma oluşumları incelenerek ultrases şiddet ve süresinin yüzey alanı artırımı ve parçacık boyutunu azaltmanın yanında topaklanmaya etkisi de araştırılmıştır.

Farklı süre ve şiddetlerde ultrases uygulayarak parçacık boyutu küçültülerek ve yüzey alanı artırarak ilaç etken maddelerinin kolay disperse edilebilmeleri, karışabilmeleri (topaklanma ve tekdüzelik) ve çözünürlüklerinin artırılması gibi hem formülasyon hem de ilacın emiliminde etkili olabilecek parametreler belirlenmiştir

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

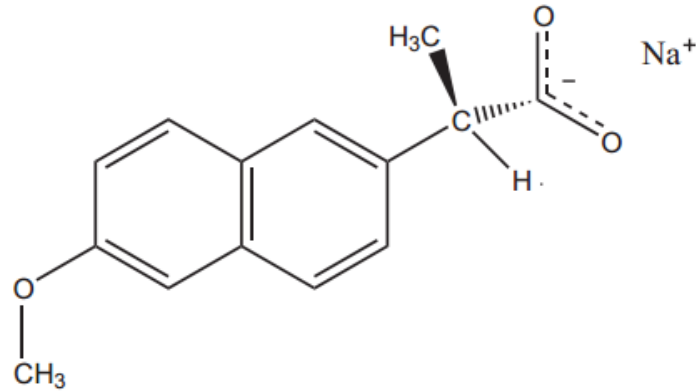
İlaç etken maddelerinin imalinde, kristalleşme bir kritik birim işlemidir. Yani, bir aktif farmasötik bileşen (API) sentezinde, genellikle kilit bir izolasyon adımı ya da saflaştırma işlemidir. Bir API kristalleşmesi, kimyasal saflık ve doğru polimorfik form gibi ürün kaliteleri için bazen kritik bir hal alabilir, ki bu nedenle istenen özelliklerin elde edilebilmesi için çok sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekebilir (Mullin, 2001). Bir API için kristalleşme işleminin optimizasyonu, sadece yukarıda bahsi geçen temel ürün gerekliliklerinin sağlanması için değil, aynı zamanda işlemin verimliliği için de önemlidir. API kristalleşme işlemi, takip eden işlemleri de belirgin şekilde etkiler. Örneğin, aşırı ince veya kalın partikül boyut dağılımı, yavaş süzülme ve verimsiz kurumaya sebep olabilir, ki bu da imalat sürecinin tümünde büyük bir darboğaz yaratabilir. Takip eden işlemleri rahatlatmak maksadıyla, partikül özelliklerini kontrol etmek için çoğu kez kristalleşme işlemini modifiye etmek gerekir (Lipinski, 2002). Bu nedenle partikül boyutu ve partikül boyut dağılımını (PSD) kontrol etmek ve kararlılığı iyileştirmek için, çekirdeklenme oranını arttırmak, partikül büyümesini engellemek, sterik veya elektrostatik sabitleme ile partikül yığılmasını kontrol etmek gereklidir (Mosharraf & Nyström, 1995, Mersmann, 1999, Müller vd., 2001, Dalvi & Dave, 2009). Partikül oluşumu işlemindeki iki ana basamak, aşırı doyunluk oluşturmak için solüsyon ve antisolven akışların karıştırılması ve partiküllerin çökmesidir ki bu da karıştırma zamanı ve çökme veya indüksiyon zamanı adını alan iki temel zaman ölçeğinin oluşumuna yol açar (Johnson & Prud'homme, 2003, Gradl vd., 2006, Matteucci vd., 2006). Eğer elde edilen aşırı doyunluk yüksek olursa ve bu kısa bir zaman aralığında elde edilmiş olursa, kararlılık bölgesi hızla aşılar, çekirdeklenme işlemi kristalleşme işlemine hakim olur (Cano vd., 2005) ve çok ince parçacık çökmesine sebep olan çok sayıda çekirdekler oluşur. Partikül boyutu, kristalleşme yapısı ve yüzey özellikleri gibi fiziksel özellikler API ürün kalitesinin önemli yönleridir ve API kristalleşme işleminin gerçekleşmesinde büyük dikkat ve özen ile takip edilmelidir (Kim vd., 2005). Kristallerin fiziksel özelliklerinin değişimine etki etmek için kristalleşme işleminin değiştirilmesi çalışması genellikle partikül mühendisliği olarak isimlendirilir (Liversidge & Cundy, 1995). Küçük parçacık boyutu, çözünmez veya sınırlı çözünen ilaç maddelerinde, biyoyararlanımı arttırmak için yüzey alanının maksimize edilmesinde gereklidir (Noyes & Whitney, 1897). Noyes-Whitney eşitliğine göre, çözünme oranı, çözünme ortamına maruz kalan yüzey alanı

ile orantılıdır (Kesisoglou vd., 2007). Kristalleşme işlemi, aktif farmakolojik içeriklerin üretiminde çok önemli bir aşamadır. Soğutma kristalleşme bazlı metot (Mullin & Nývlt, 1971, Gabas & Laguerie, 1992), süperkritik akışkan bazlı metotlar (Reverchon, 1999, Charoenchaitrakool vd., 2000, Türk vd., 2002), çökelme bazlı metotlar (Sarkari vd., 2002, Hu vd., 2003, Bilati vd., 2005) ve mikroemülsiyon teknikleri (Debuigne vd., 2001, Trotta vd., 2003) gibi pek çok farklı kristalleşme metotları vardır. Bunlar arasında soğutma kristalleşme, genellikle tüm kristallerin çözülmesi için tüm sistemin yüksek sıcaklıklara ısıtılmasını gerektiren ve yaygın kullanılan bir metottur. Öte yandan, bazı farmakolojik bileşenler ısıya karşı duyarlı olduğu için, yüksek sıcaklıklar bileşenlerin ayrışmasına ve hatalı yığınlara sebep olabilir. Antisolven kristalleşme, genellikle ısıya duyarlı bileşenlerde ve sıcaklıkla çözünebilirliğinde önemsiz değişiklikler vuku bulan bileşenlerde kullanılır (Howard vd., 2009). Bu metot, çözünenin eriyeceği solüsyona zayıf bir çözücü (antisolven) ilavesini gerektirir, böylece bileşenin nano boyutlu kristalleşmesini sağlayan bir süper doymuş çözelti elde edilir (O'Grady vd., 2007, Nagy vd., 2008). Pek çok yeni ilaç, zayıf çözünürlüğe sahiptir ve partikül boyutu azaltılması ile çözünürlükleri iyileştirilebilir (Overhoff vd., 2006). Partikül boyutu küçültülmesi yüzey alanını artırır ki bu da bu tarz ilaçların, vücut sıvıları gibi su içeren ortamlardaki çözünme oranının artmasını sağlar.

Özellikle zayıf çözünürlüğe sahip ilaçların düşük biyoyararlanımları en büyük problemlerden birisidir. Çözünürlüğü artırmak için tuz oluşturma, inklüzyon bileşiği hazırlama, ön ilaç oluşturma, parçacık boyutu küçültme, vb. yöntemler kullanılmaktadır (Pillai & Panchagnula, 2001).

2.1. Naproksen Sodyum

Naproksen bir non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçtır (NSAİİ). Hafiften orta seviyeye kadarki ağrı, ateş, enflamasyon ve osteoartrit, romatoid artrit, psoriyatik artrit, gut, yaralanma, aybaşı krampları ve tendinit gibi durumların yol açtığı sertliklerin tedavisinde kullanılır. Vücutta ağrı ve enflamasyona neden olan mediatörleri azaltarak çalışır. Naproksen NSAİİ'lerin arilasetik asit ailesinin bir üyesidir.



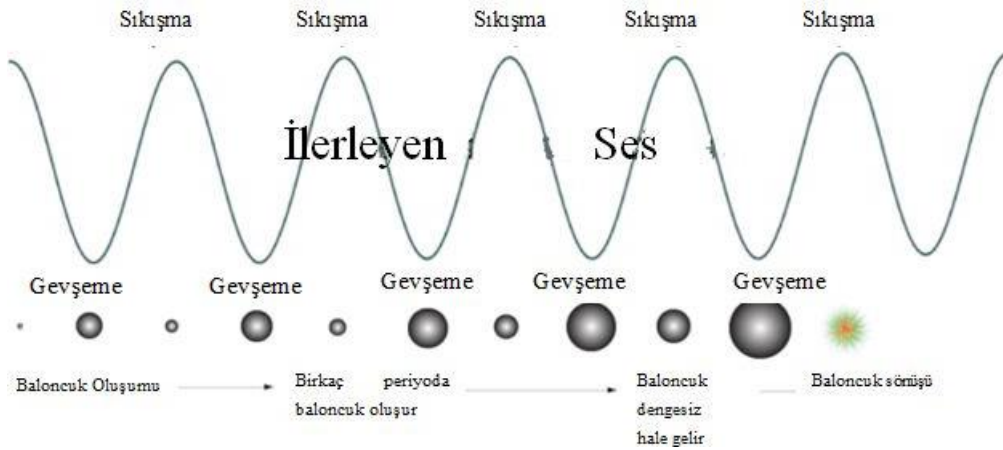
Şekil 2.1. NapNa'nın kimyasal yapısı.

Şekil 2.1'de gösterilen NapNa'nın sudaki çözünürlüğü, serbest asit formundan çok daha yüksektir. Bu özelliği sayesinde, farmakolojik piyasadaki üretimi hızla artmıştır. NapNa imalatında kullanılan alışagelmış yöntem, tolüen içinde çözünmüş naproksenin, sulu sodyum hidroksit çözeltisi ile reaksiyone sokulması ve ortaya çıkan suyun uzaklaştırılmasıdır. Ortaya çıkan bileşik, 30µm ila 70µm aralığında ortalama partikül boyutuna sahip susuz NapNa'dır. Bileşiğin kristal formu, yaklaşık 10 boy oranına sahip iğneye benzer küçük partiküllerdir.

İlaç bileşiklerinin üretilmesinde kristalleşme kritik bir işlemdir. Kristalleşme ilaç etken madde sentezinde kritik ayırma adımı ya da saflaştırma sürecidir. Aktif ilaç etken madde kristalleşmesi kimyasal saflık ve doğru polimorfik şekil gibi ürün kalitesinde kritiktir. Doğru polimorfik yapıyı ve kimyasal saflığı elde etmek için optimum kristalleşme süreci oluşturmalıdır.

2.2. Ultrases ve Etkisi

Ses dalgaları sıvı ve gazda boyuna, katılarda ise boyuna veya enine dalgalar şeklinde yayılan bir titreşim enerjisidir. Ses dalgaları mekaniksel dalgalar olup oluşması ve ilerlemesi için fiziksel bir ortama ihtiyaçları vardır. Bu dalgalar belirli frekans, genlik ve dalga boyuna sahip olan sinüzoidal dalgalardır ve bir ortam boyunca sıkışma - genişleme şeklinde ilerler. Ses dalgaları bir ortam boyunca ilerlerken ortamdaki moleküllerin yerlerinin değişmesi ile basınçta değişimler olur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Ses hareketinin gösterimi

Ses dalgalarının fizikte basınç değişimi ile gösterilmesi daha uygundur çünkü insan kulağı basınç değişimlerine duyarlıdır. İnsan kulağı $20\mu\text{Pa}$ ve yukarıdaki ses basınçlarını işitebilmektedir. İnsan kulağının işitebildiği ses frekans aralığı 20 Hz'den 20 kHz'dir. Bu aralığın altındaki bölge infrases ve 20 kHz'den 10MHz kadar bölge ise ultrases bölgesi ve 10MHz'den büyük frekanstaki seslere ise hiperses denir. Şekil 2.3' de bu bölgeler gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Sesin frekans spektrumu.

Ses dalgalarının oluşturduğu basınç değişimini akustik basınç olarak adlandıırırsak, akustik basıncın (PA) belirli bir frekansta (f) zamana (t) göre değişimi eşitlik (2.1) ifadesiyle verilebilir.

$$P_A = P_{A,max} \sin(2\pi ft) \quad (2.1)$$

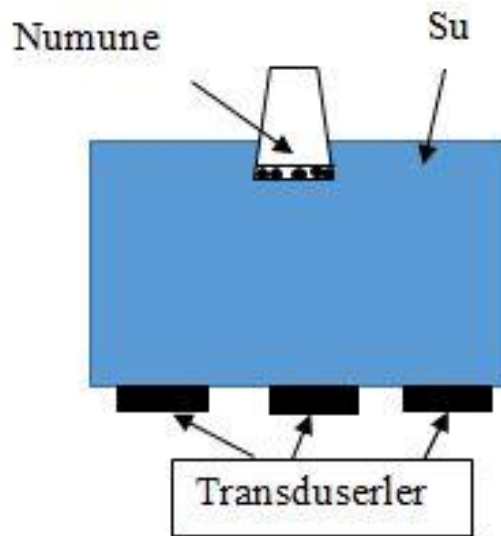
Burada $P_{A,max}$ maksimum akustik basınçtır. Ortamdaki v ; ultrases hızı, ρ ; ortamın yoğunluğu, Q_{us} ; sıvıya transfer edilen güç ve A_{us} ; kaynağın yüzey alanı olmak üzere $P_{A,max}$ eşitlik (2.2) ifadesiyle verilir (Mason, 1999).

$$P_{A,max} = (2\rho v Q_{us} / A_{us})^{1/2} \quad (2.2)$$

Ultrases 1880'de Curie'lerin piezoelektrik etkiyi keşfiyle başlar. Yüksek frekanslarda piezoelektrik elemanlar elektrik enerjisini mekanik enerjiye yani ultrasese dönüştürürler. Ultrasenin bu önemli uygulamalarının fark edilmesine rağmen piezoelektrik dönüştürücülerin seri olarak üretimine yani 1950'lere kadar ultrases detaylı olarak araştırılmamıştır (Mason, 1999).

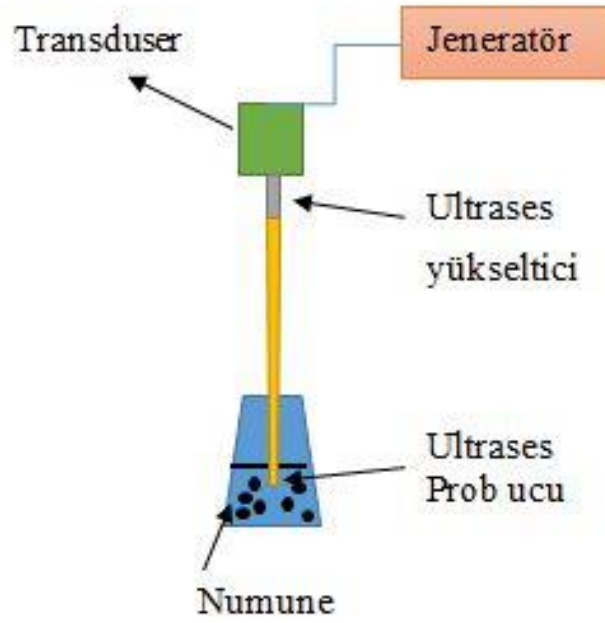
Yüksek frekanslı, yüksek şiddetli ultrases akustik dalgalanma ve kavitasyon gibi iki ana mekanizma ile kimyasal reaksiyonları ve taşınım olaylarını etkilemektedir. 20 kHz - 1 MHz frekans aralığındaki ultrases, temel olarak kavitasyon adı verilen olayla bir maddede fiziksel ve kimyasal değişimler oluşturabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı ultrases fizikte, kimyada, teknolojiye kullanılmaktadır ve bu uygulamalara sonofizik - sonokimya adı verilmektedir (Crum, 1994). Bir sıvıya ultrases uygulanma (sonikasyon) süreci, basınç ve molekül başına enerji bakımından ısı, ışık, nükleer radyasyon gibi geleneksel enerji kaynaklarından farklıdır. Ultrasenin kimyasal etkileri moleküllerle direkt etkileşimden kaynaklanmaz bunun yerine sonokimya ve sonofizik temel olarak kavitasyon denilen olaydan kaynaklanır. Son yıllarda sonokimya - sonofizik alanında yapılan çalışmalar artmış ve geniş uygulama alanları bulmuştur. Kavitasyon oluşturan sonokimya ve sonofizikte genellikle kullanılan güç ultrasesi olarak da adlandırılan 16 kHz-40 kHz arasındaki frekans aralığında ultrases kaynakları kullanılmaktadır. Son zamanlarda, güç ultrasesi kristalleşme, karbon oranının minimum seviyeye indirilmesi, kurutma, ekstraksiyon, süzme, dondurma, homojenisasyon, sterilizasyon, vb. gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Pinfield vd., 1995, Ichitsubo vd., 2005, Mason, 2007). Uygulanan ultrases dalgasının genliğine ve frekansına bağlı olarak ilerlediği ortamda fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal etkiler meydana getirir (Mason vd., 1996, Got vd., 1999, Knorr vd., 2004). Düşük frekansta (20kHz-100kHz) ve yüksek şiddetli güç ultrasesi bir ortam

içinde ilerlerken kavitasyon oluşturur. Kavitasyon, ultrases dalgaları ortamdaki partiküllerde seyrelme meydana getirdiği anda boşluk biçiminde bir kesilme olur. Bu boşluk ise ortam sıvısının doymuş buharı ile doludur. Sıkıştırma esnasında buhar yoğunlaşır ve boşluk artan basıncın etkisi ile bozulur. Sıkışma son bulduğunda ortamda hızla buharlaşan etrafı çevrili sıvı içinde, saniyelik şok dalgaları oluşur. “Kavitasyon” olarak adlandırılan bu olay sonucunda 1000 atm'nin üzerinde basınç ve büyük bir enerji açığa çıkar. Bu enerji, kabarcıkların bulunduğu bölgeyi ısıtır ve kimyasal reaksiyonlara neden olur. Kavitasyon baloncuklarında, patlama anında yapılarında çok yüksek derecede sıcaklık (yaklaşık olarak 5000 K) ve basınç (tahminen 500 MPa) oluşur. Sıcaklık, frekans ve genlik kavitasyonu etkileyen en önemli parametrelerdir. Sıvı numunelere ultrases doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki farklı teknikle uygulanmaktadır. Direkt ultases uygulanması ultases probunun direk sıvıya daldırılarak yüksek şiddetle enerjiyi sıvıya aktardığında kısa sürede kavitasyon oluşturmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar kavitasyonun kristal yapı üzerine önemli etkisi olduğu göstermiştir.



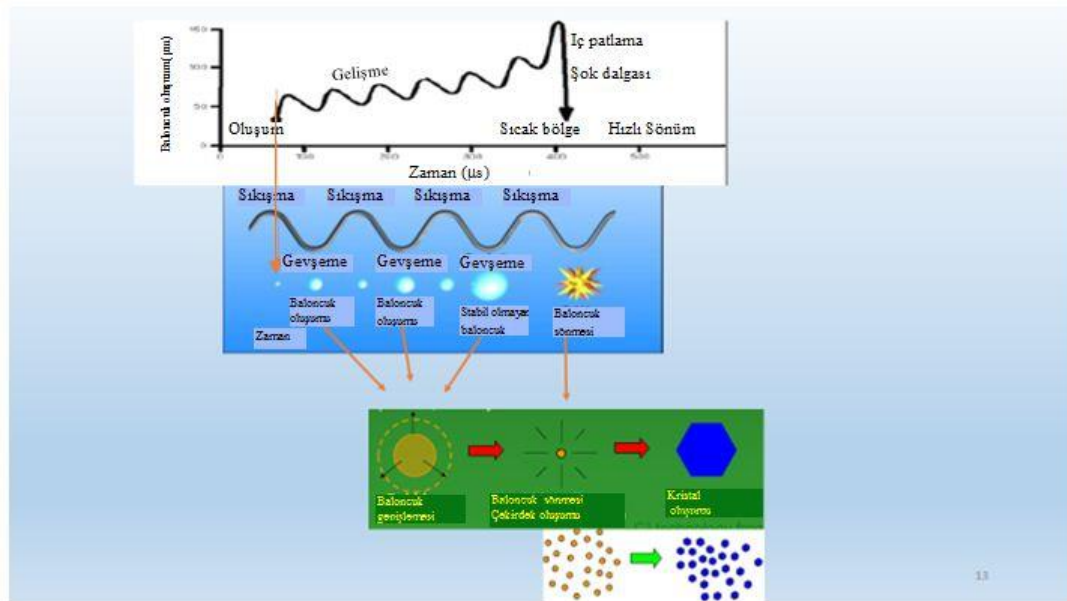
Şekil 2.4. Ultrasonik su banyosu (indirekt güç ultases).

Yüksek şiddetli ultrases kaynağı olarak direkt ve indirekt olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Ultrasonik prob (direk güç ultrasesi)

Ultrases bir ortamda ilerlerken sıkışıp gevşemeler oluşturarak ilerlemektedir. Birkaç akustik devirde baloncuklar oluşur, gelişir ve yükselmektedir. Bu baloncuk yükselmesi ise mümkün olduğu en erken sürede çekirdeklenme sürecinin oluşumuna enerji sağlamaktadır (Şekil 2.6).

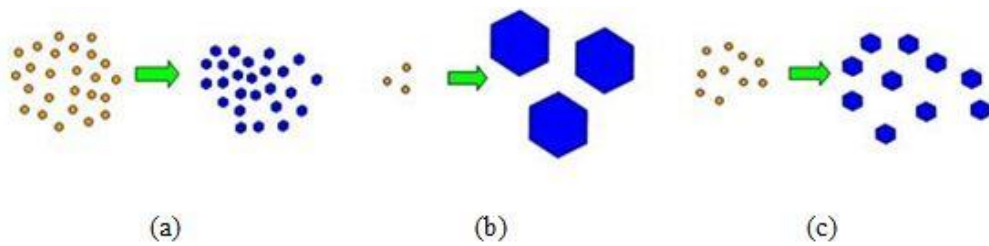


Şekil 2.6. Birkaç akustik döngüde baloncuk oluşumu, gelişimi, sönüşü ve kristal oluşumunun grafiksel özeti.

Kristalleşmede ultrases uygulayarak;

- Dispersiyon/Süspansiyon içinde yeniden çözünmenin gerçekleştiği kristalleşmenin meydana geldiği en düşük süper satürasyondaki çekirdeklenme
- Metastabil bölge genişliği daralması
- Dar parçacık boyutu dağılımı
- Kristalleşmenin meydana gelmesi için gerekli soğuma seviyesinin azalması (bu yüzden kristal parçalanma engellenmiş olur)
- Kristalleşmenin yüksek tahmini ve tekrarlana bilirliliği
- Polimorfik kontrol, gerçekleştirilebilir (Varshney & Chatterjee, 2012).

Sürekli ultrases uygulandığında Şekil 2.7.(a)'da görüldüğü gibi çok sayıda ve çok küçük boyutta kristaller oluşmaktadır (Bu proje kapsamında uyguladığımız sürekli ultrases uygulanarak elde edilmiştir.). Şekil 2.7.(b)'de görüldüğü gibi çok kısa süre ultrases uygulamak büyük ve sınırlı sayıda çekirdek oluşturur. Şekil 2.7.(c)'de belirli aralıklarla ultrases uygulandığında çok farklı kristal boyutları oluşmaktadır. Pals ultrases özel (isteğe göre) kristal boyutu oluşur.



Şekil 2.7. Kristal boyutları, (a) sürekli ultrases uygulandığında, (b) çok kısa süre ultrases uygulandığında, (c) pals ultrases uygulandığında.

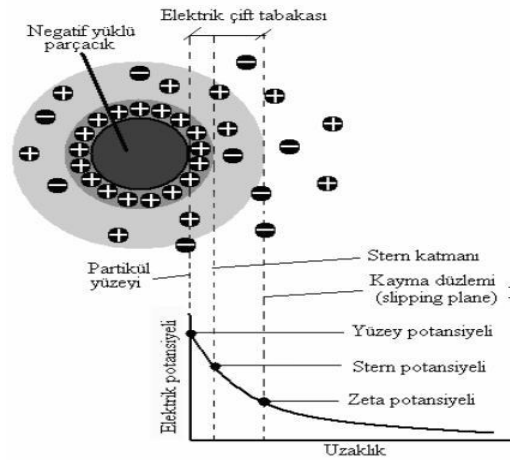
2.3. İlaç Etken Maddelerinin Karakterizasyonu

Gerek ultrases uygulanmış numunelerin gerekse saf NapNa'nın yapısı, fiziksel özellikleri ve yapı- fiziksel özellik ilişkisini belirlemek için zeta potansiyelli , UV/VIS spektrofotometre cihazı ile absorban spektrumları , SEM analizleri, XRD desenleri, DSC

termogramları ve Infrared spektrumları (FT-IR) alınmış ve incelendiği için bu ölçüm teknikleri kullanılmıştır.

2.3.1. Zeta potansiyeli

Zeta potansiyeli (ZP) bir akışkan ortamdaki parçacıkların ve hücrelerin elektrostatik etkileşimlerini tanımlar. Parçacıkları saran sıvı katman, iyonların güçlü bağ yaptığı iç bölge (katı katman) ve daha az etkileşmenin olduğu dış kısım (dağınık) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.8) (Hunter, 2013). Dağınık katman içerisinde bağlı sınırlarda iyon ve parçacıklar istikrarlı şekildedir. Bir parçacık hareket ettiği zaman (ağırlığı nedeniyle) sınırlar içerisindeki iyonları hareket ettirir. Sınır ötesindeki iyonlar hacim dağılımı içinde kalır. Bu sınırdaki potansiyel (hidrodinamik makaslama yüzeyi) zeta potansiyelidir. Yani, partikülün yüzeyi ile bu nötral bölge arasındaki potansiyel farkına ZP denir. ZP makaslama hidrodinamik düzlemdeki elektriksel potansiyeldir. ZP, partikülün yüzeyi üzerindeki net etkili yükü gösterir. Zetametre ile ölçülür, birimi milivolttur (mV). ZP sadece parçacıkların yüzey özelliklerine bağlı değil aynı zamanda çözeltinin doğasında (yani iyonik gerilme, pH, vb.) bağlıdır. ZP parçacıkların yüzey potansiyelinden oldukça farklı olabilir. pH ve iyonik gerilimdeki küçük değişimler ZP’de büyük etkiler oluşturabilir. ZP parçacıkların mono-dispersliğini (ya da toplasımalarını) belirlemede kullanılabilir. Yüksek ZP (ya negatif ya da pozitif) (>30mV) monodispersiteye yol açar. Düşük ZP (<5mV) toplasımaya neden olabilir (Hunter, 2013).



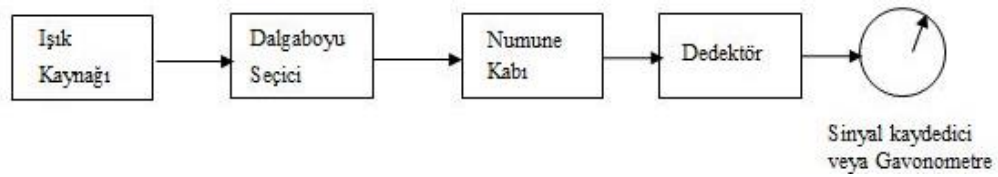
Şekil 2.8. Bir çözeltide iyonlarla çevrelenmiş yüklü parçacıkların dağılımının şematik gösterimi (Hunter, 2013).

2.3.2. Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (FT-IR)

Çözelti içindeki madde miktarını çözülden geçen veya çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme işlemine fotometri, bu tip ölçümde kullanılan cihazlara da fotometre denir. Fotometrik ölçümde, renksiz çözeltilerin konsantrasyonu da ölçülebilir.

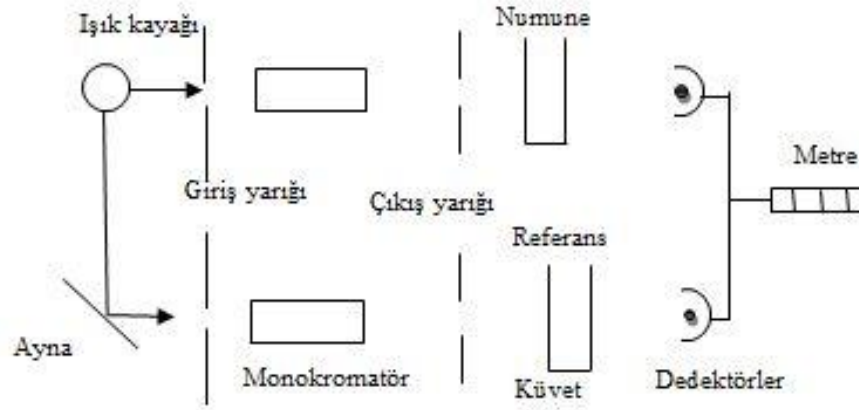
Analiz edilen örnek, üzerine ışık demetinin bir kısmını filtreler kullanarak ayıran ve gönderen aletler kolorimetre veya fotometre olarak adlandırılırken, yarıklar ya da prizmalar aracılığı ile bu seçiciliği yapan aletler spektrofotometre olarak adlandırılırlar.

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneği, başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi (monokromatör), dedektörden oluşur; dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Spektrofotometre düzeneği

Ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrede ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddet ile göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri, giriş ve çıkış aralıkları vardır. Kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına (küvet) konularak ışık yoluna yerleştirilir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Spektrofotometre esas bileşenlerinden oluşan düzeneği

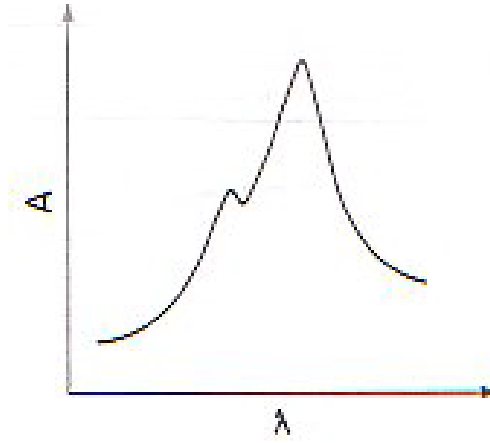
UV-görünür bölgede Tungsten flaman lambası, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambaları, Xe ark lambası ve civa buhar lambaları kullanılmaktadır.

Tungsten flaman lambası, görünür ve yakın IR bölgede (320-3000 nm) ışık yayar. Tungsten lambasının içinde bir miktar iyot veya brom buharı bulunursa lambanın ömrü artar ve bu lamba tungsten-halojen lambası olarak adlandırılır.

UV bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Bu lambalar 180-380 nm arasında ışık yayar. Daha pahalı ve daha uzun ömürlü olan D2 lambasının yaydığı ışığın şiddeti H2 lambasına göre çok daha fazladır. Xe ark lambası, UV-görünür bölgenin tümünde (150-700 nm) kullanılabilir şiddetli ve sürekli ışık kaynağıdır.

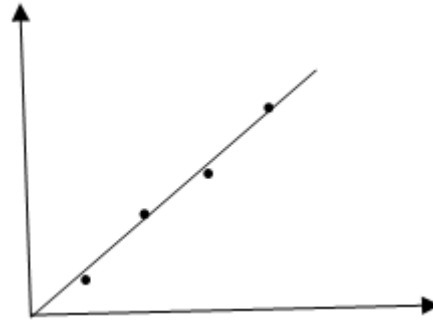
Civa buhar lambası, her iki bölgede ışığa yapabilen bir ışık kaynağıdır; sürekli spektruma ek olarak kesikli hatlar da içerir.

Spektrofotometre ile bir maddenin nicel analizinin yapılacağı dalga boyunu kararlaştırmak için, örneğin absorpsiyon spektrumunu bilmek gerekir. Bunun için, maddenin 1 molar çözeltisinin çeşitli dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülür (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Maddenin 1 molar çözeltisinin çeşitli dalga boyuna karşı absorbans değerleri

Çözücünün ve çözeltide bulunan başka türlerin ışığı absorplamadığı, Lambert-Beer eşitliğine uyulduğu ve nicel analizin en duyarlı bir biçimde yapılabileceği dalga boyu değeri saptandıktan sonra analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimler bilinen bir dizi standart çözelti ile bu dalga boyundaki absorbans (A) değerleri ölçülür. A değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir. Standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı A değerlerini grafiğe geçirmek suretiyle elde edilen doğruya kalibrasyon doğrusu denir (Şekil 2.12) (Skoog & West, 1980).



Şekil 2.12. Kalibrasyon doğrusu (Skoog & West, 1980).

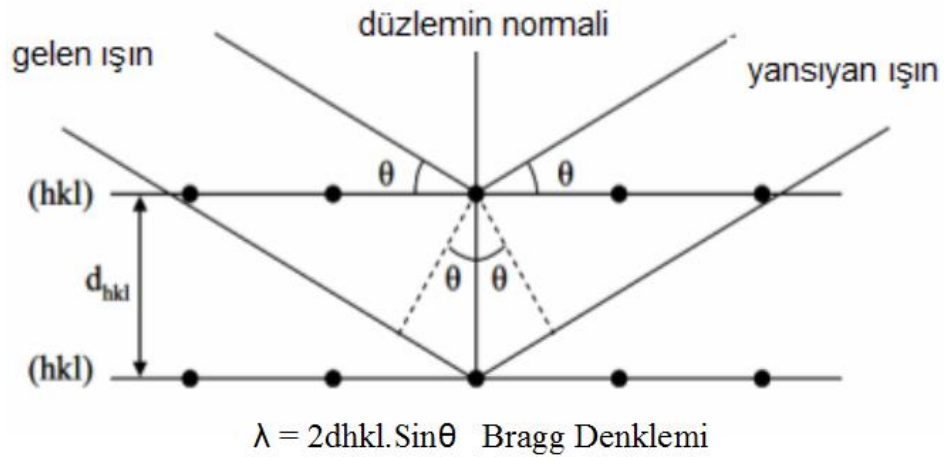
Nicel analiz, kalibrasyon doğrusunun doğrusal olduğu bölgede yapılır. Derişimi bilinmeyen örneğin A değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşılık gelen derişim saptanır.

Molar absorpsiyon katsayısının değerinin bilindiği durumlarda, Lambert-Beer (2.3) eşitliğinin analizde doğrudan kullanılması da m¼mk¼nd¼r (Skoog & West, 1980).

$$\text{Absorbans}(A)=\epsilon \cdot c \cdot l \quad (2.3)$$

2.3.3. X-ışını kırınım tekniği

X-ışınları, 1895 yılında Alman fizikçisi Röntgen tarafından keşfedilmiştir. 1912’de von Laue’nin ¼nderlięinde, Friedrich ve Knipping, yayılan ışınları kaydetmek üzere deneyler d¼zenlemiřtir. W. L. Bragg, Laue deneyini analiz etmiş ve yayılma için gerekli olan koşulları, von Laue’ninkinden çok daha sade bir matematiksel yapı ile izah edebilmiştir. şekil 2-13’te, d¼zlem içi yerleşimi ve ortaya çıkan ışının açısı arasındaki ilişki Bragg’ın eşitliği ile tanımlanmıştır.



şekil 2-13. hkl d¼zlemlerinin d¼zlem içi yerleşimi ve Miller indeksi ile oran açısı arasındaki ilişki g¼steren Bragg eşitliği.

Bragg eşitliği, toz X-ışını yayınım modelini anlamak için kolay bir yol sunmaktadır. Kristalin ¼rnekleri ¼zerinde toplanan toz X-ışınımı verisi, tepe yoğunluk ve tepe pozisyonlar gibi bilgiler içermektedir.

Bir katının atomlarının d¼zenli bir şekilde dizilmeleri sonucunda oluşan yapıya kristal yapı denir. D¼zenli diziliş tekrarlı karakterdedir. G¼r¼n¼r ışığın dalga boyu kristalde atomlar arası uzaklığa kıyasla oldukça b¼y¼k olması nedeniyle kristalin iç yapısı

hakkında bilgiler elde edilemez. Kristal yapıları inceleyebilmek için dalga boyları görünür ışığa göre çok daha küçük olan ve atomlar arası mesafe ile kıyaslanabilir olan, dalga boyları 0.1-100 Å aralığında olan elektromanyetik dalga olan X-ışınları kullanılmaktadır. Dalga boylarının atomlar arası mesafe ile kıyaslanabilir olması kristal hakkında bilgi edinmeyi sağlamaktadır. Katıların kristal yapılarının incelenmesinde kullanılan en önemli tekniklerden biri X-ışını kırınımı (XRD) tekniğidir. XRD büyüklüğü 10⁻⁸ cm mertebesinde olan içyapının detaylarını dolaylı olarak ortaya koyabilmektedir. Kırınım tekniği başta fizik, kimya gibi temel bilimler olmak üzere metalürjide ve pek çok mühendislik alanlarında da kullanılmaktadır (Özyetiş, 2005).

Malzemelerin kristal yapılarının incelenmesi toz kırınım desenlerinden yapılmaktadır. XRD ile elde edilen desenler malzemenin karakteristik bir özelliğidir ve her malzeme için farklı bir kırınım deseni elde edilir.

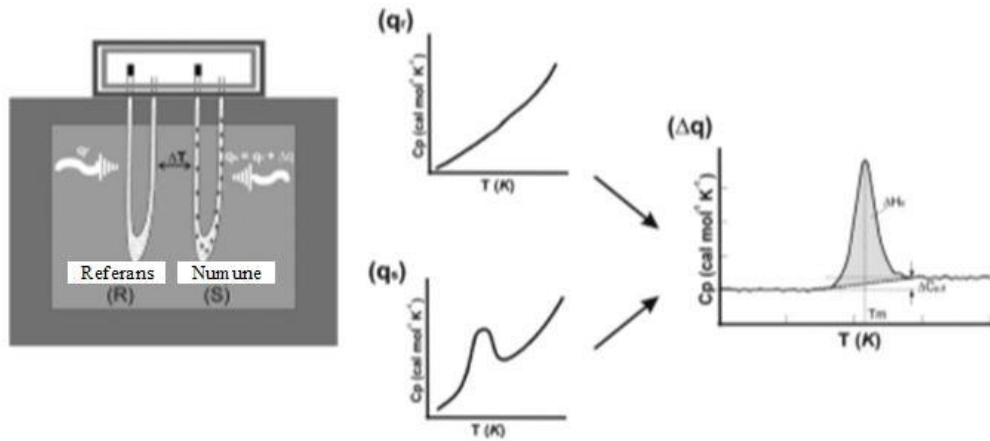
Polikristal malzemelerin incelenmesinde oldukça yaygın kullanılan XRD tekniği olan toz yöntemidir (Cullity, 1996). Bu yöntemde, incelenecek kristal numune toz haline getirilir ve monokromatik X-ışınları demeti maruz bırakılır. Tozun her zerresi gelen demete göre keyfi şekilde yönelmiş küçük bir kristal gibi davranır. Katı numune üzerine gönderilen X-ışını demeti, Bragg kanununa göre belirli açılarda kırınıma uğrar (Askeland & Erdoğan, 1998).

2.3.4. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Kalorimetre malzemelerin özellikli fiziksel özellikleri ile sıcaklık arasında bir ilişki kurmak için malzemelerin termal özelliklerini ölçmede kullanılan temel tekniktir. Farklı kalorimetreler arasında en fazla kullanılan diferansiyel taramalı kalorimetredir (DSC). DSC ekzotermik ve endotermik süreçler aşamasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimlerle ilgili niteleyici ve niceleyici bilgi veren analiz yöntemidir. DSC faz geçiş değişimlerin belirlemede ve katılarda, çözeltilerde, karışımlarda ve süspansiyon olan numunelerin termal geçiş sıcaklıklarını (erime noktaları) belirlemede kullanılmaktadır (Cooper vd., 2000, Van Holde vd., 2006).

DSC ölçümünde, enerji numune hücreesine (ilgilenilen moleküllerin bulunduğu çözelti) ve referans hücreye (sadece çözücünün bulunduğu) eş zamanlı gönderilmektedir (Cooper, 2000, Cooper vd., 2000, Cooper vd., 2001, Kennedy, 2004). Her iki hücrenin sıcaklıkları zamanla aynı artmaktadır. Numunenin sıcaklığı referansa kıyasla oluşan enerji farkı, numunedeki moleküller tarafından yayılan veya absorbe edilen ısı miktarıdır (sırasıyla endotermik ya da ekzotermik süreç, sırasıyla). İncelenen molekülün yapısı nedeniyle, numunenin sıcaklığını referansın sıcaklığına getirmek için daha fazla enerji gerekir bu yüzden ısı fazlalığı kavramı Şekil 2.14'te görülmektedir.

Numunedeki moleküller tarafından absorbe edilen fazla ısı nedeniyle numunenin bulunduğu hücreyi aynı sıcaklığa çıkarabilmek için gereken ısı miktarı referans hücreninkinden fazladır. DSC taraması ile numuneden referans çıkarılarak sıcaklığın fonksiyonu olarak fazla ısı değişiminin nasıl olduğu görülür (Şekil 2.14).

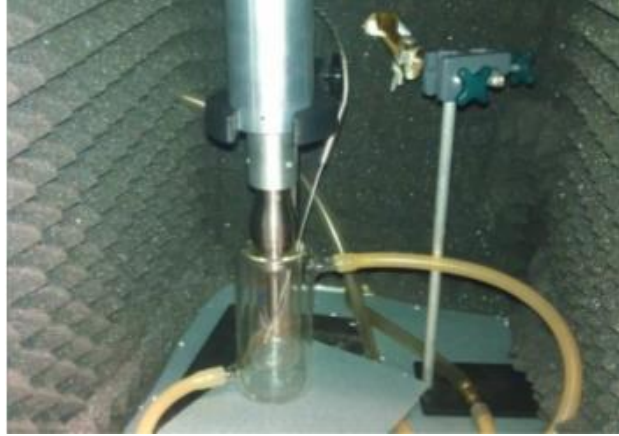


Şekil 2.14. DSC deneysel düzeneği.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

NapNa saflaştırma ve ekstra işlem yapmadan alındığı gibi deneyde kullanılmıştır. 1.0 gr NapNa etanolde çözülerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Ayrıca başka bir balon joje içerisine 0.1 gr Stearik asit etanolde çözülerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Şekil 3.1'de görülen soğuk su sirkülasyonu olan bir kaba önce 5 mL NapNa çözeltisinden alınarak 40 mL buzdolabında 4°C'de bekletilmiş saf su konularak ultrases uygulanmaya başlanmış ve ultrases uygulama süresinin yarısında 5 mL 0.1 gr stearik asit çözeltisinden eklenmiştir.



Şekil. 3.1. Soğuk su sirkülasyonlu ultrases uygulama deney düzeneği

3.2. Yöntem

NapNa'nın su ve etanoldeki dispersiyonlarına değişik sürelerde ve şiddetlerde ultrases uygulanarak bu ilaçların parçacık ve/veya kristal boyutu küçültülerek ve yüzey alanını artırarak çözünürlüklerini iyileştirilmesi üzerine araştırma/geliştirme yaptığımız bu çalışmada;

- İlaçlara değişik şiddet ve sürelerde ultrases uygulanarak elde edilen numunelerin zeta potansiyelleri belirlenmiştir.

- Bu numunelerin UV/VIS spektrofotometre cihazı ile absorban spektrumları alınmış ve elde edilen doğru denklemi kullanılarak çözünürlükleri hesaplanmıştır.
- Numunelerin SEM analizleri yapılmıştır.
- Numunelerin XRD desenleri alınmış ve yapısal özellikleri incelenmiştir.
- DSC termogramları alınarak termal davranışları incelenmiş ve ilaç etken maddesi ve stabilizör arasındaki etkileşim hakkında bilgi edinilmeye çalışılmış ayrıca saf ilaç etken maddeleri ve ultrases uygulanmış numunelerin erime noktası ve entalpi değerleri belirlenmiştir.
- Numunelerin Infrared spektrumları (FT-IR) alınmış ve ilaç etken maddesi, stabilizör ve çözücü arasındaki etkileşimler incelenmiştir.

3.2.1. Kullanılan ultrases sistemi

Ultrasonik banyolar endirekt ultrases kaynakları olarak kullanılmaktadır. Ultrases problemleri direkt olarak ultrases uygulanacak sıvı içerisine daldırılarak reaksiyon kabı ve ara ortam aradan çıkarılmış olur. Bu proje kapsamında alınan direkt olarak çalışılacak sıvıya daldırılabilen 20kHz 700kW (Q700 Osonica) yüksek şiddetli ultrases kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Yüksek şiddete ultrases uygulama düzeneğinin fotoğrafı.

Bu çalışmada hazırlanan NapNa'nın su ve etanoldeki dispersiyonlarına 1dk, 5dk, 10dk, 20dk ve 30dk sürelerde ve %10, %30, %50 ve %70 genliklerde ultrases uygulanmıştır.

Bu çalışmada, NapNa'nın kristalleşme sürecinde kristal boyutu dağılımı ve polimorfizimi üzerine ultrases dalgasının etkisini incelemek için etanol ve su oranı 1/5 olan NapNa çözeltisine değişik şiddette ve sürelerde ultrases uygulanmıştır. 1/5 oranında (etanol/su oranında) hazırlan numunelere uygulanan ultrases süresi ve genlikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. NapNa çözeltisine ultrases uygulama süresi ve genlikleri

No (NPS)	Uygulama süresi (dakika)	Genlik %
1	0	0
2	1	10
3	1	30
4	1	50
5	1	70
6	5	10
7	5	30
8	5	50
9	5	70
10	10	10
11	10	30
12	10	50
13	10	70
14	15	10
15	15	30
16	15	50
17	15	70
18	30	10
19	30	50

3.2.2. Çözünürlüğün belirlenmesi

Bu projede absorpsiyon (A) değerleri Shimadzu UV-VIS 2550 Spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Shimadzu UV-VIS 2550 Spektrofotometre cihazının fotoğrafı.

Shimadzu UV-VIS spektrometre kullanılarak referans ve numunelerin absorpsiyon spektrumu 10 mm kuarts küvetlerde 242 nm de ölçülmüştür.

Standart çözelti hazırlanması

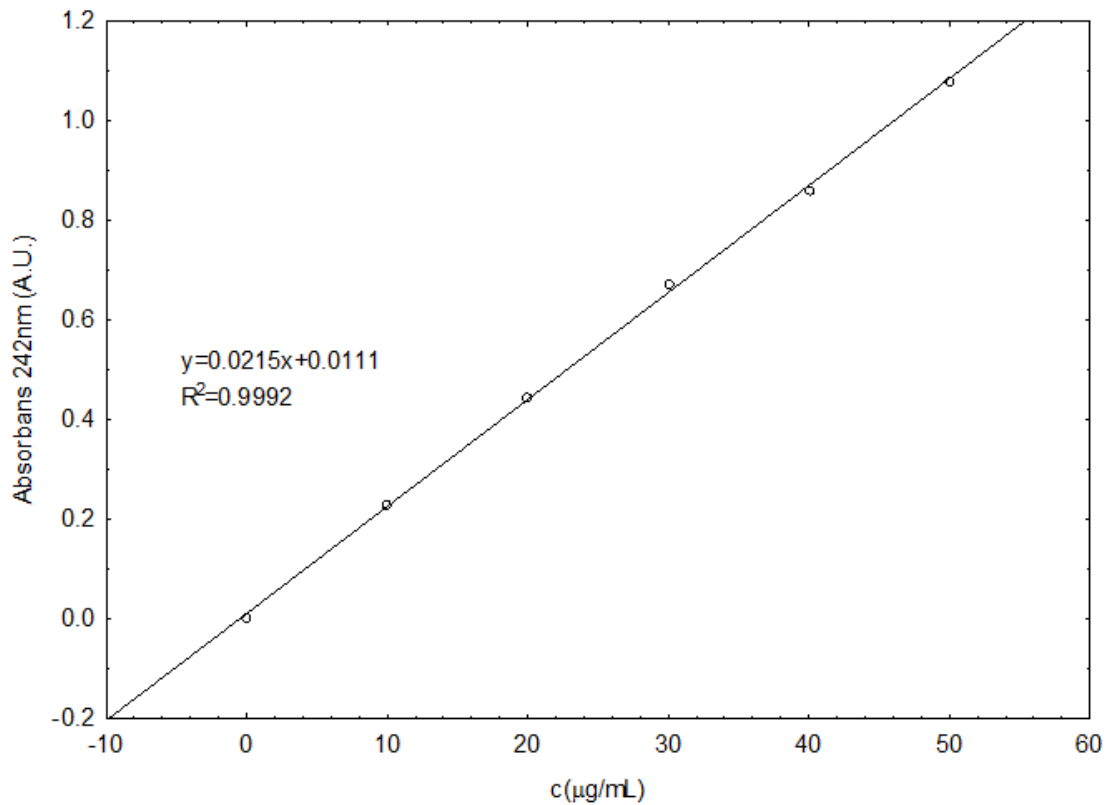
50 mg NapNa'ya 100 mL etanol: su karışımı (1:4) ilave edilir ve saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak stok çözelti hazırlanır. Stok çözeltilerden hareketle 10, 20, 30, 40 ve 50 µg/mL NapNa'nın sulu çözeltileri hazırlanır.

Maksimum absorpsiyonun λ_{max} belirlenmesi

Standart çözeltilerden yaklaşık 3 mL alınır ve Shimadzu UV-VIS spektrometrede 200-400 nm taranır. Kör'e (referansa) saf su konulmuştur. Maksimum absorpsiyon 242 nm gözlenmiştir.

Kalibrasyon Doğrusu

Standart çözeltilerden 10-50 µg/mL-1 konsantrasyon aralığında 5 farklı konsantrasyonda seri çözeltiler hazırlanarak 242 nm absorban değerleri UV-VIS spektrometrede ölçüldü ve bu ölçümler üç kez tekrar edilip kalibrasyon doğrusu çizilir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. NapNa standart çözeltilerinin 242 nm dalga boyunda konsantrasyona karşı absorban grafiği.

3.2.3. Zeta potansiyeli ölçümleri

ZP, koloidal dağılımların, süspansiyonların ve emülsiyonların stabilitesinin değerlendirilmede önemlidir. Bu proje kapsamında ölçülen ZP değerleri Malvern Zetasizer nano-ZS kullanılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Zeta potansiyeli ölçüm düzeneği

3.2.4. Numunelerin dondurarak kurutması

Kristaller gece boyunca vakum ortamda kurutularak, kristallerin yüzeyindeki fazlalık çözücünün uzaklaştırılması sağlanır. Tüm solüsyon dondurulur (yaklaşık $-10 - 15^{\circ}\text{C}$). Liyofilizer (Lyovac 612 leybold – Heraeus) kullanılarak dondurarak kurutulur. Donmuş solüsyon bir gün boyunca -25°C 'lik Shell sıcaklığında, -80°C kondansatör sıcaklığında, 0.1 mBar basınç altında liyofilize edilir. Bir sonraki gün, basınç kademeli olarak 0.05 mBar'a düşürülür. Sonrasında, sıcaklık kademeli olarak 25°C 'ye yükseltilir.

3.2.5. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ölçümleri

Numunelerin DSC termogramları DSC 6200 SII (Exstar) diferansiyel taramalı kalorimetre ile elde edilmiştir (Şekil 3.6). DSC nin sıcaklık eksenini ve hücre sabiti indiyum kullanılarak kalibre edilmiştir. Numuneler 10mg kütlelerinde hassas terazide tartılarak ayarlanmıştır. Ölçümler $22-290^{\circ}\text{C}$ sıcaklık aralığında yapılmıştır. DSC ölçümler kuru havada ve ağzı açık 7mm çapında alüminyum kaplarda $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ artırılarak yapılmıştır.



Şekil 3.6. DSC ölçüm düzeneği

3.2.6. SEM kullanılarak numunelerin yüzey morfolojilerinin belirlenmesi

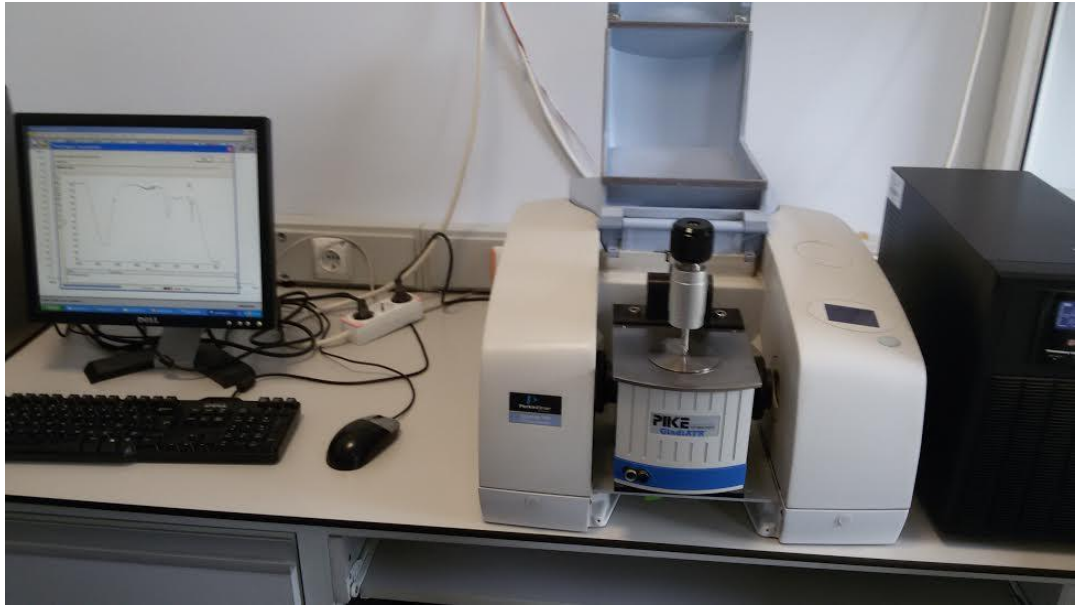
Saf NapNa ve dondurularak kurutulan numuneler ZEISS Ultraplus model taramalı elektron mikroskopu kullanılarak analiz edilmiştir. Toz numuneler çift taraflı iletken karbon tip üzerine sabitlenmiştir ve 25nm kalınlığında altın kaplanmıştır. Numuneler 20kV ivmelendirici voltaj altında incelenmiştir.

3.2.7. X-ışını kırınım tekniği ile numunelerin kristal yapılarının belirlenmesi

Saf NapNa ve dondurularak kurutulan numunelerin kristalleri x-ışınları difraktometre (BRUKER D8 Advance) kullanılarak analiz edilmiş ve aydınlatılmıştır. Yaklaşık 1ile 2gr kristal kullanılmıştır. Bakır K_{α} ışınımı kullanılmıştır. Bakır K_{α} için ışınım 1.54056\AA . X ışını kırınım desenleri kırınım açısı (2θ) $10-80^{\circ}\text{C}$ arasında 0.02°C derece adımlarla ve her adım 1 saniye olacak şekilde elde edilmiştir.

3.2.8. Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (FT-IR) ölçümleri

Saf ve dondurularak kurutulan numunelerin FT-IR spektrumları, polistren ve CO₂ bandları ile kalibre edilen Perkin-Elmer 100 FT-IR spektrometresi (Şekil 3.7) ile 4000-400 cm⁻¹ (çözünürlüğü 4cm⁻¹) dalgasayısı aralığında KBr (potasyum bromür) peletler haline getirilip alınmıştır.



Şekil 3.7. FTIR ölçüm düzeneği

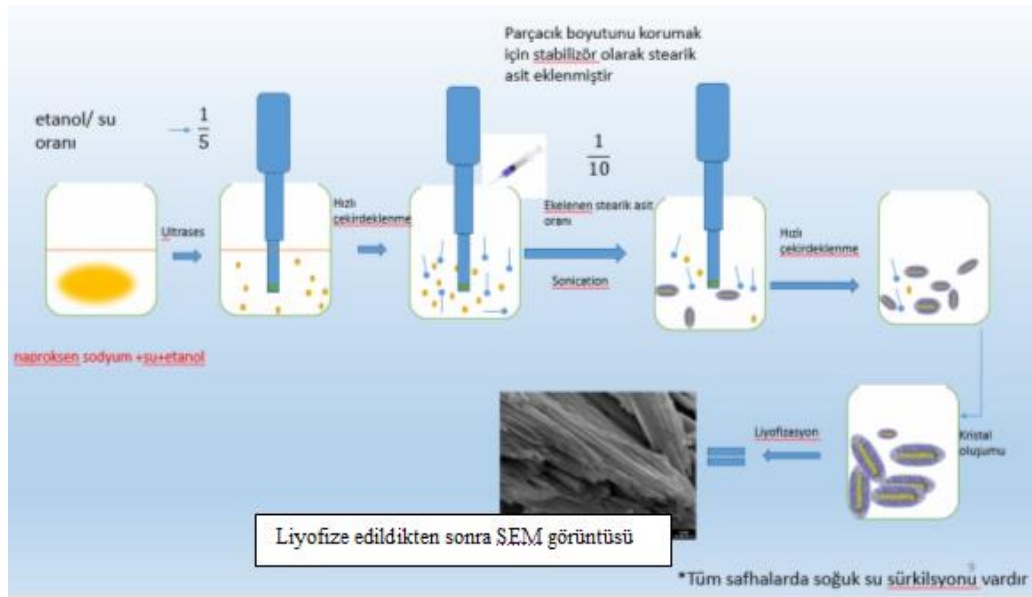
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada NapNa'nın kristalleşme sürecine değişik genlik ve sürelerde ultrases uygulanarak ultrasesin kristal boyut dağılımı ve morfolojisi üzerine etkileri incelenmiştir. Ultrases uygulandığı süre içerisinde numune sıcaklığını sabit ($25^{\circ}\text{C}\pm 5$) tutmak için cam kap içerisinde soğuk su devir daim yaptırılmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ultrases uygulama düzeneği

Deneysel prosedürü Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kaviteasyon kuvvetleri, makaslama kuvvetleri ve ultrases uygulandığında oluşan parçacıkların şiddetli çarpışması ile parçacık boyutlarında azalma ve yüzey morfolojisindeki değişimler olmaktadır. Kristal boyut dağılımındaki ve parçacık boyutundaki değişimler de ilaç etken maddesinin fiziksel özelliklerini değiştirecek ve bu değişimler Zeta sizer, FTIR, UV XRD ve SEM ile incelenmiştir.



Şekil 4.2. NapNa'nın ultrases ile kristalleşme deneysel şeması

4.1. NapNa için yapılan zeta potansiyeli ölçümleri

Değişik genlik ve sürelerde ultrases uygulanması NapNa'nın kristal yapısında farklı değişmelere yol açmıştır. Kristal yapısının yeniden düzenlenmesi ile parçacık yüzeyi üzerinde yükler meydana gelmiştir. Yüzeydeki yük değişimleri ZP'si ölçülerek analiz edilmiştir. Zetasizer kullanılarak ultrases uygulanan ve uygulanmayan NapNa numunelerin ZP'leri ölçülmüştür.

Süspansiyonların ölçülen ZP değerleri -35.8 ile -60.33mV aralığındadır (Çizelge 4.1). Farklı sürelerde ve genliklerde ultrases uygulandığında farklı şekillerde toplarımların oluşması nedeniyle bu yüzeyler üzerinde farklı negatif yük değerlerinin oluşmasına yol açmıştır. Bu değerler toplarımların koloidal kararlılık (stabilite) sağladığını göstermektedir.

Çizelge 4.1. Değişik genliklerde ve sürelerde ultrases uygulanan NapNa süpansiyonları için ZP değerleri

No NPS	Ultrases süresi min	Genlik %	ZP (mV)
1	0	0	-39.73
2	1	10	-35.80
3	1	30	-38.37
4	1	50	-38.07
5	1	70	-41.33
6	5	10	-42.77
7	5	30	-60.33
8	5	50	-46.47
9	5	70	-53.47
10	10	10	-40.00
11	10	30	-37.17
12	10	50	-36.63
13	10	70	-39.03
14	15	10	-37.20
15	15	30	-41.17
16	15	50	-41.00
17	15	70	-39.17
18	30	10	-36.27
19	30	50	-39.00

4.2. Numunelerin UV-VIS Spektrometre İle Çözünürlük Belirlenmesi

Liyofilize edilmiş süspansiyonlar suda çözeltileri hazırlanarak oda sıcaklığında 100 rpm'de bir gün karıştırılıyor. Sonra numuneler 0.2 µm membran filtreden (Orange Scientific) geçiriliyor. Numunelerin % kümülatif çözünürlük değerleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2'den görüldüğü gibi 5 dakika ve %70 genlikte ultrases uygulanış numunenin (NPS9) ve uygulanmamış numunenin (NPS1) % kümülatif çözünürlüğünden 1.8 kez büyük bulunmuştur. Bu büyük değer kristalleşmedeki azalma ve yüzey alanının artmasından kaynaklanmaktadır.

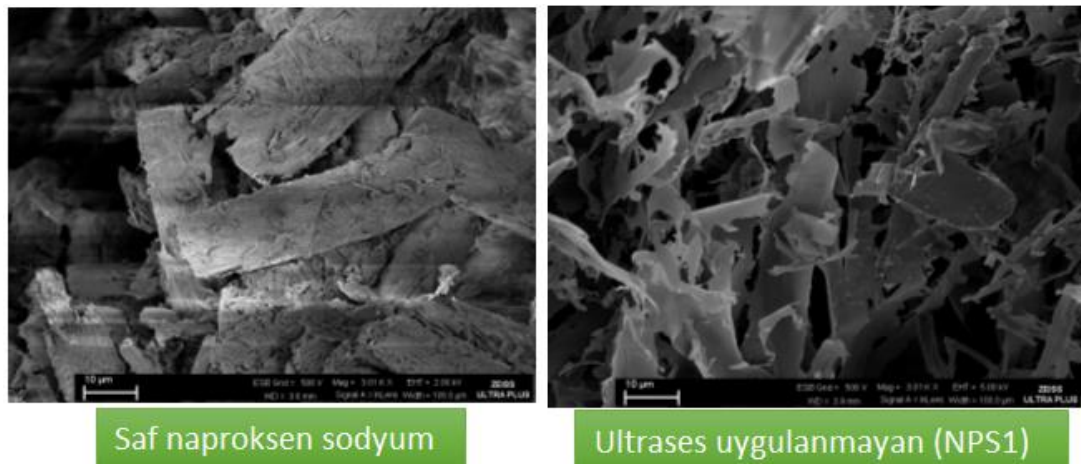
Çizelge 4.2. Numunelerin % kümülatif çözünürlük değerleri

Numara	Zaman	Genlik %	% Kümülatif Çözünürlük
1	0	0	18.50
2	1	10	14.88
3	1	30	17.80
4	1	50	19.52
5	1	70	17.80
6	5	10	20.64
7	5	30	21.88
8	5	50	21.88
9	5	70	28.62
10	10	10	22.74
11	10	30	18.76
12	10	50	21.52
13	10	70	21.54
14	15	10	17.16
15	15	30	17.02
16	15	50	16.66
17	15	70	19.20
18	30	10	20.20
19	30	50	23.44

4.3. Numunelerin Yüzey Morfolojileri

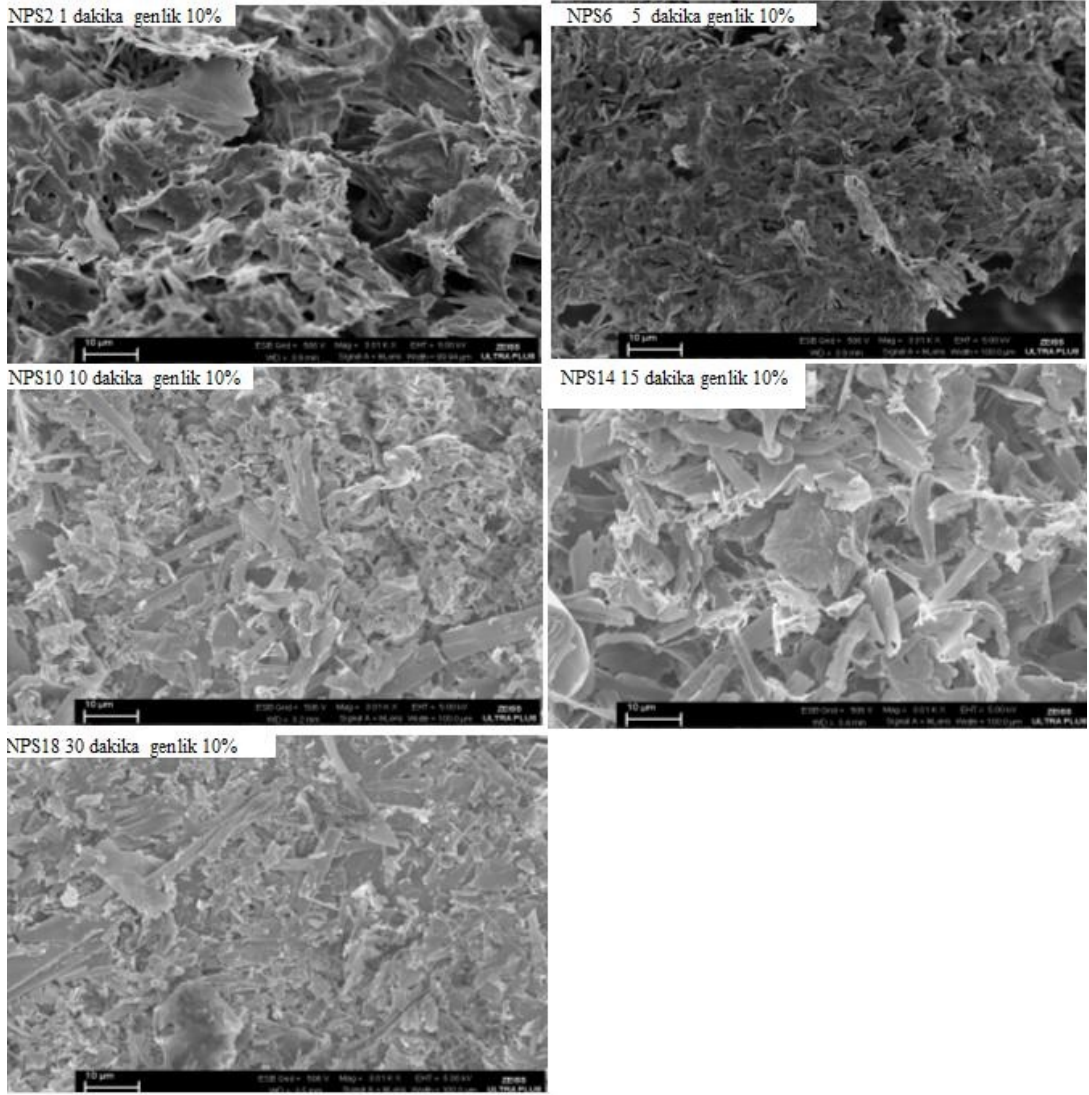
Ultras ses uygulanmayan ve uygulanan numunelerin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Ölçümden önce toz şeklindeki numuneler bakır sürülen yüzeye tutturulmuş ve sonra altınla kaplanmıştır. Saf NapNa, ultras ses uygulanmamış ve uygulanmış numunelerin liyofilize edilerek elde edilen tozlarının SEM görüntüleri Şekil 4.3'te görülmektedir.

Seçilen görüntüler kristal yapı ve yüzeyini yakından incelenmesini sağlamıştır. SEM görüntülerini kullanarak farklı yapı ve görünümü hakkında yorum yapılmıştır.



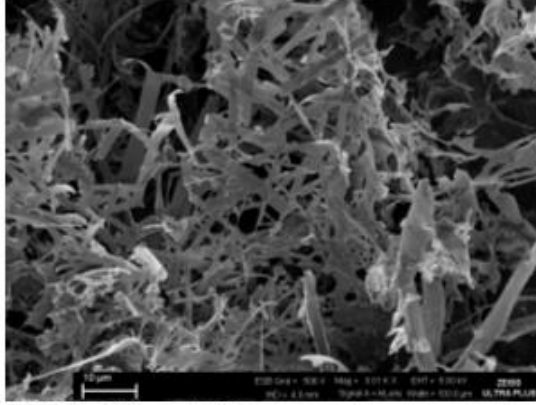
Şekil 4.3. Saf NapNa ve ultras ses uygulanmamış liyofilize edilerek kurutulan NapNa'nın SEM mikrofotografı

Şekil 4.3 – 4.7'deki SEM görüntüleri incelendiğinde uygulanan ultras sesin genliği sabit tutulup ultras ses süresi değiştirildiğinde NapNa'nın farklı morfolojik yapıların oluştuğu görülmektedir. Belirli ultras ses süresinde parçacık boyutunu azaltmada oldukça etkilidir. Ultras ses süresi artıkça daha fazla kavite baloncuğu oluşmasına ve parçacıklar arasındaki çarpışma olasılığını artırmaktadır. Çarpışma meydana geldiğinde daha fazla sayıda çekirdek oluşur ve parçacık boyutlarının azalmasına neden olur. Parçacıkların çarpışma olasılığının artması topaklanma oluşumunu artırır.

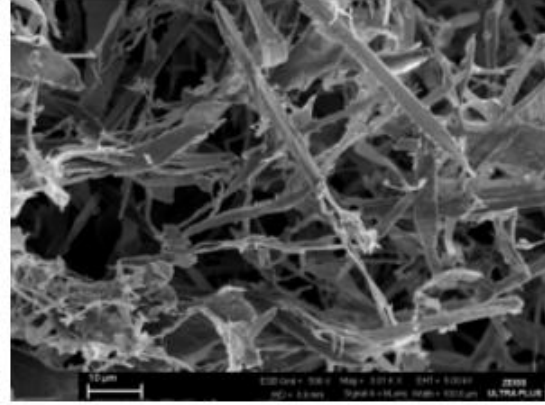


Şekil 4.4. Genlik %10 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10, 15 ve 30 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları.

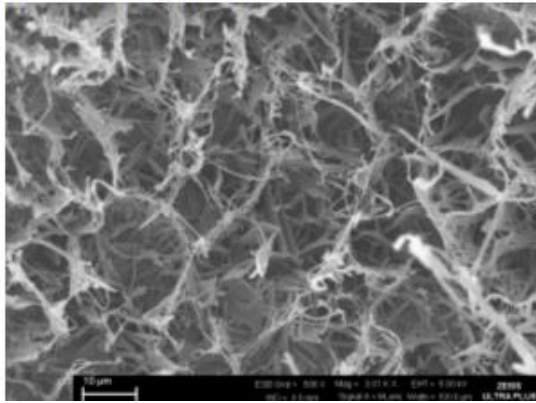
NPS3 1 dakika genlik 30%



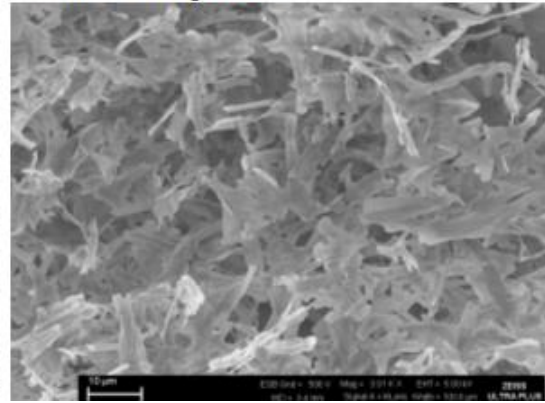
NPS7 5 dakika genlik 30%



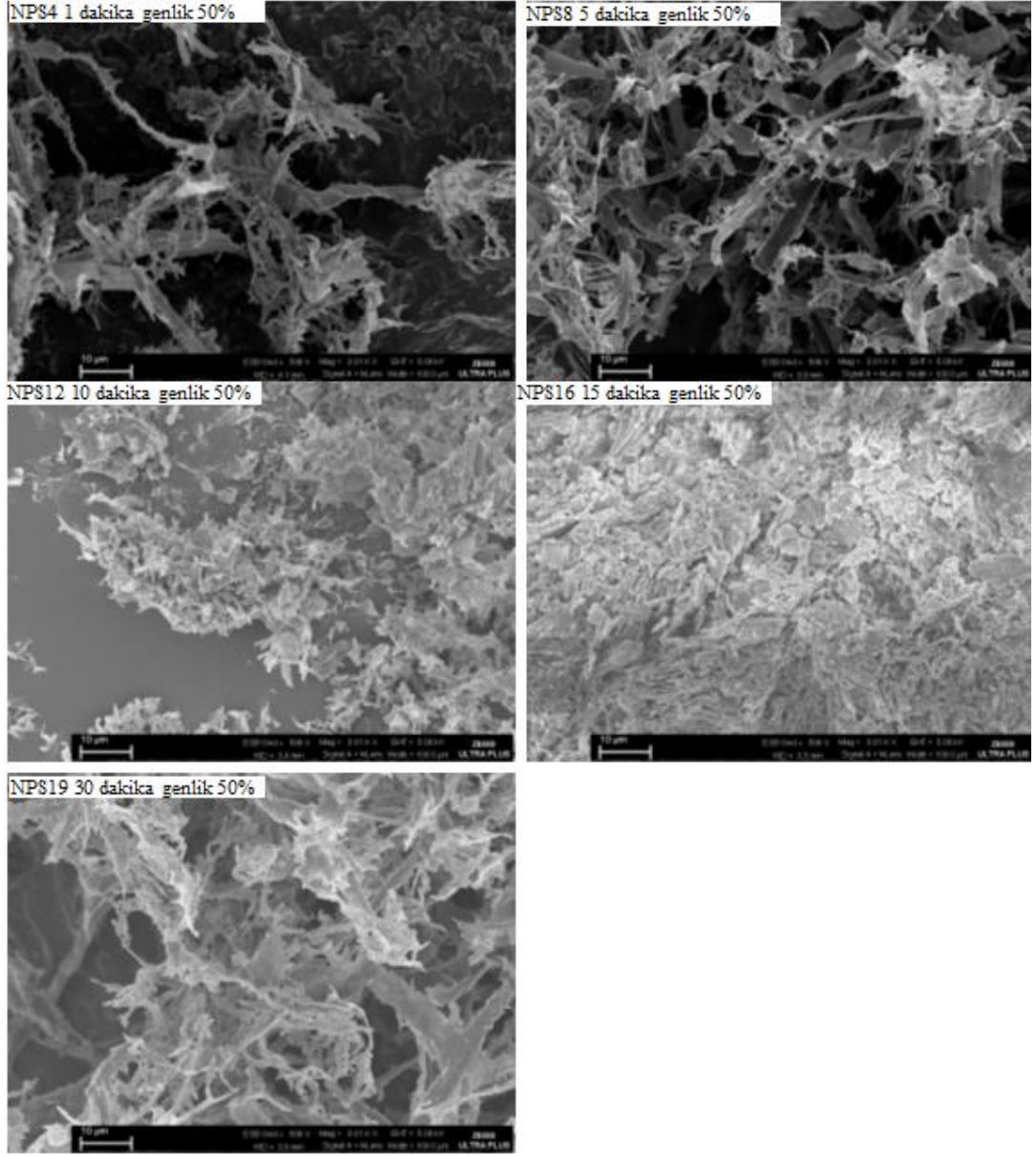
NPS11 10 dakika genlik 30%



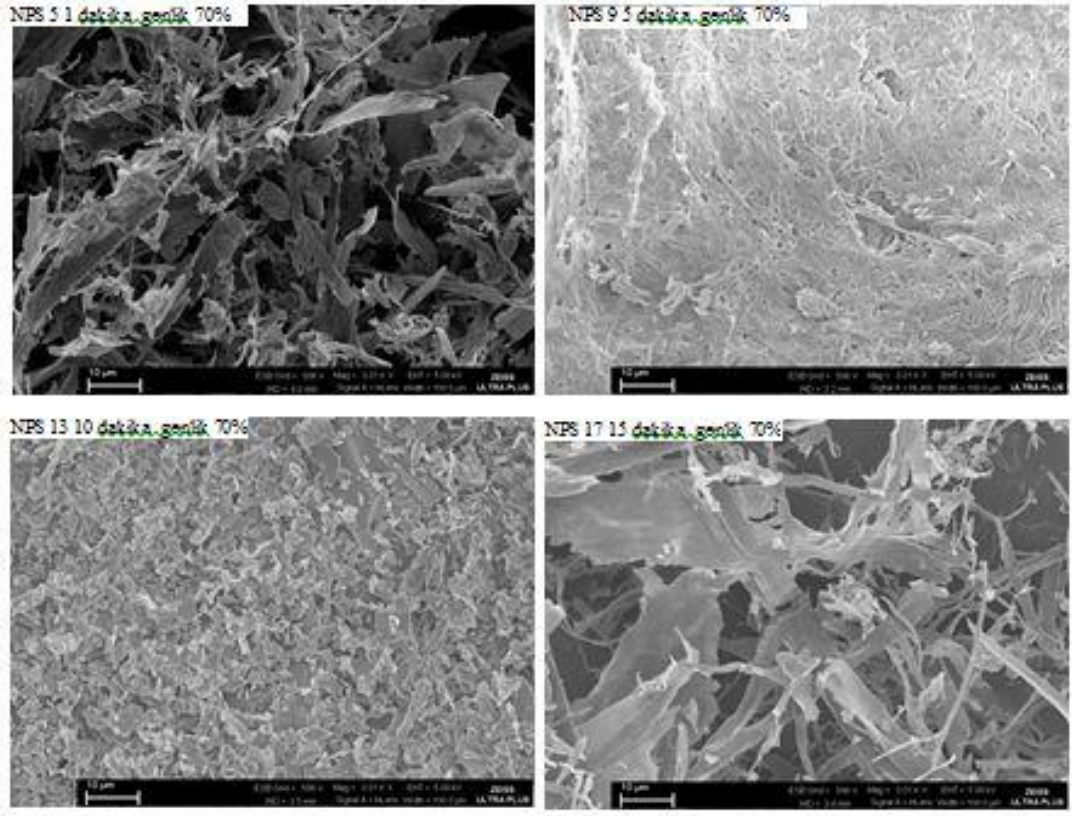
NPS15 15 dakika genlik 30%



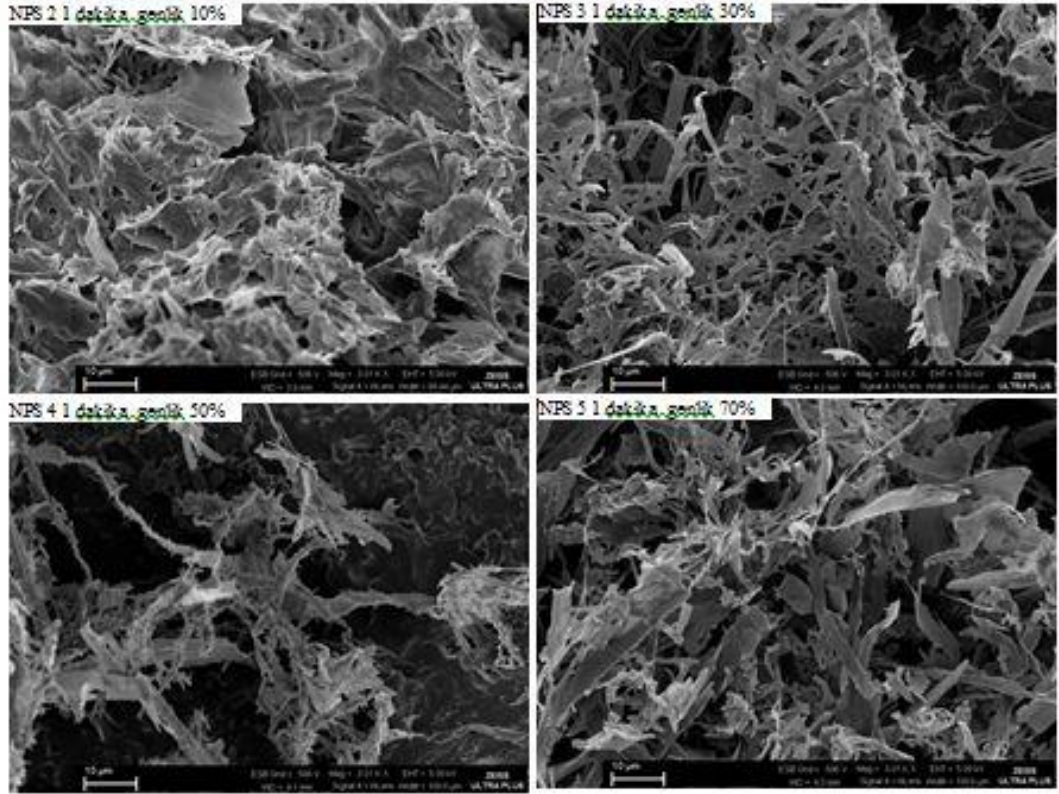
Şekil 4.5. Genlik %30 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 15 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları.



Şekil 4.6. Genlik %50 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10, 15 ve 30 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları.

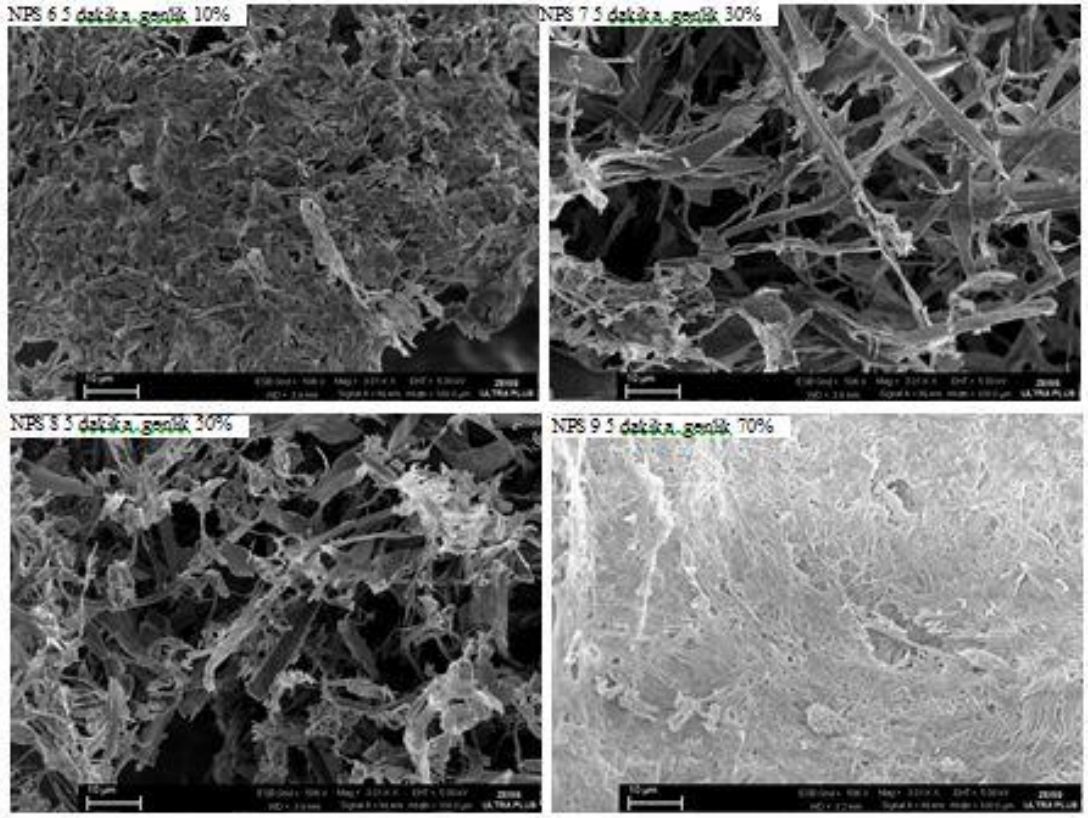


Şekil 4.7. Genlik %70 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 15 dakika uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları.



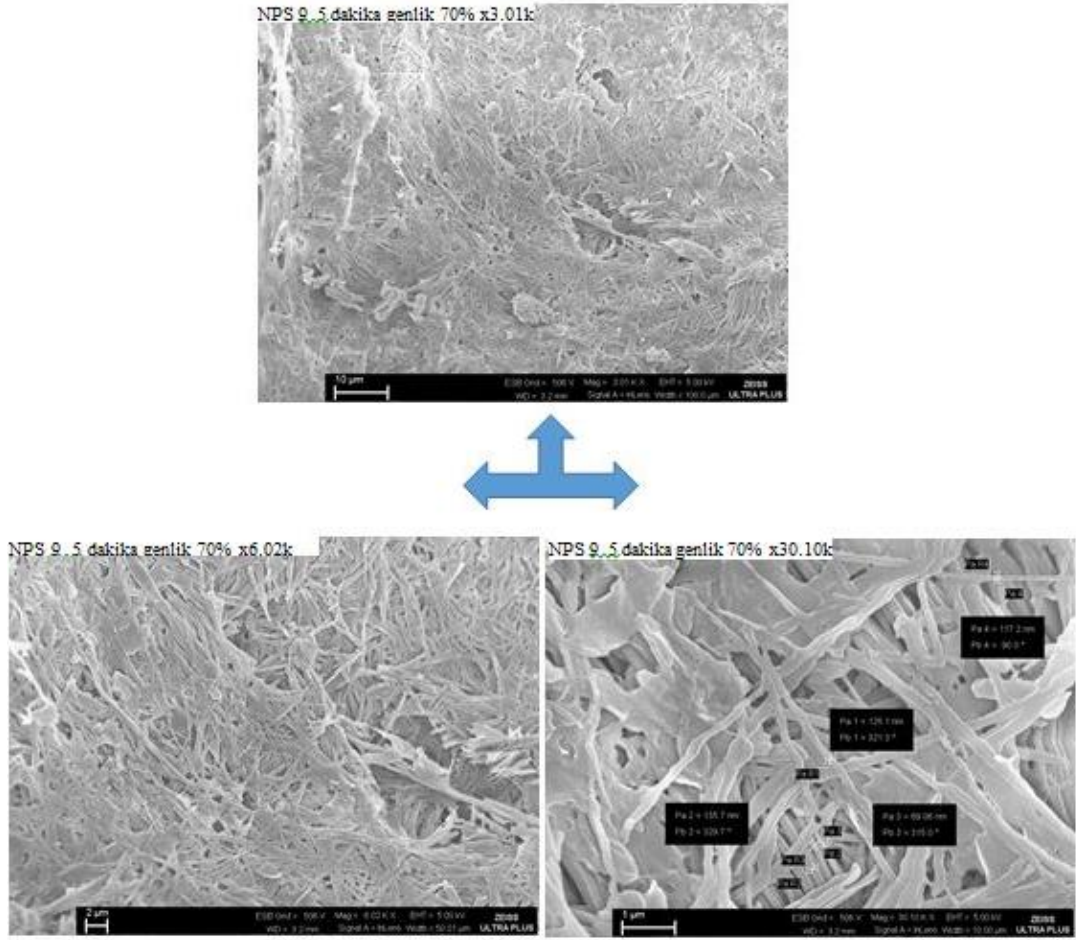
Şekil 4.8. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup ultrases genliği 10, 30, 50 ve 70 uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları

Şekil 4.8 – 4.13 incelendiğinde uygulama süresi sabit tutularak ultrases uygulandığında parçacık boyutunun azaltılmasında oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ultrases süresi arttıkça daha fazla kavitasyon baloncuğu oluşmasına neden olmakta ve parçacıklar arasındaki çarpışma olasılığını artırmaktadır. Çarpışma meydana geldiğinde daha fazla sayıda çekirdek oluşur ve parçacık boyutlarının azalmasına neden olur. Parçacıkların çarpışma olasılığının artması topaklanma oluşumunu artırır. Ultrases süresinin değişmesiyle yaprak benzeri kristal yapılar görülmekte fakat 5 dakika ve %50 genlikte (NPS9) iğne benzeri kristal yapılar görülmektedir.



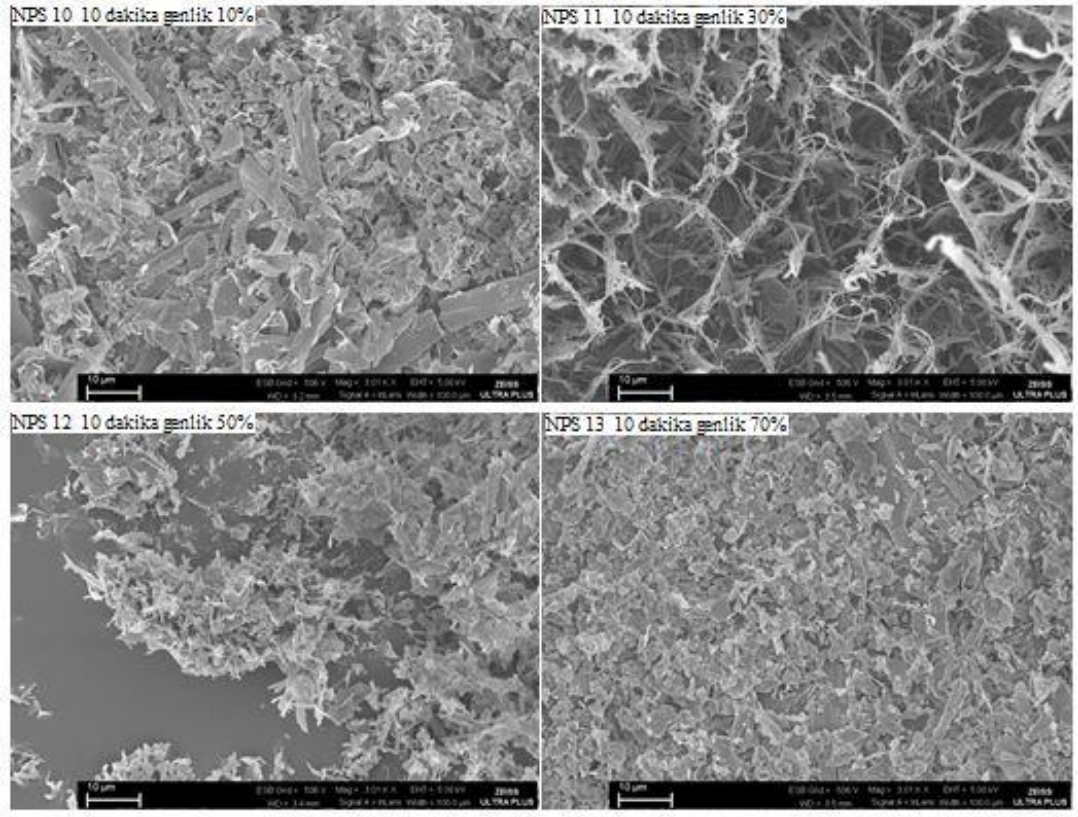
Şekil 4.9. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup ultrases genliği 10, 30, 50 ve 70 uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları

Ultrases uygulama süresi sabit tutulup genlik değiştirildiğinde de kristal gelişimi ve yüzey morfolojisinin oldukça değiştirdiği görülmektedir.

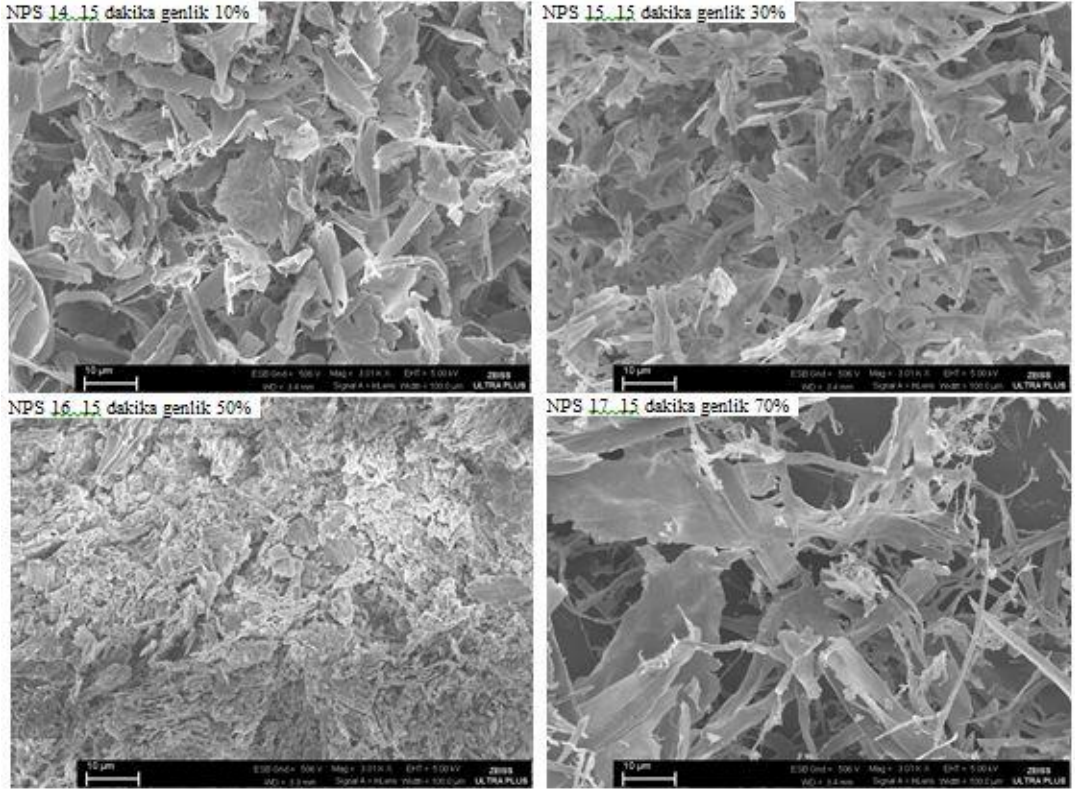


Şekil 4.10. 5 dakika %70 genlik uygulanan numunenin x3.01k, x6.02k ve x30.10k büyütmelerindeki SEM fotoğrafları

Şekil 4.10’da görüldüğü gibi 5 dakika %70 genlik uygulanan numunede (NPS9) daha sıkı yüzey yapısı yani yüzey alanı büyük bir yapı oluştuğu görülmektedir. Yüzey alanını artırmada oldukça başarılı olduğu görülmüştür, bu da çözünürlüğü artmasına sebep olmuştur. Optimum genlik (% 70) ve süre (5 dakika) ultrases uygulandığında en ideal sonuçlar elde edilmiştir.

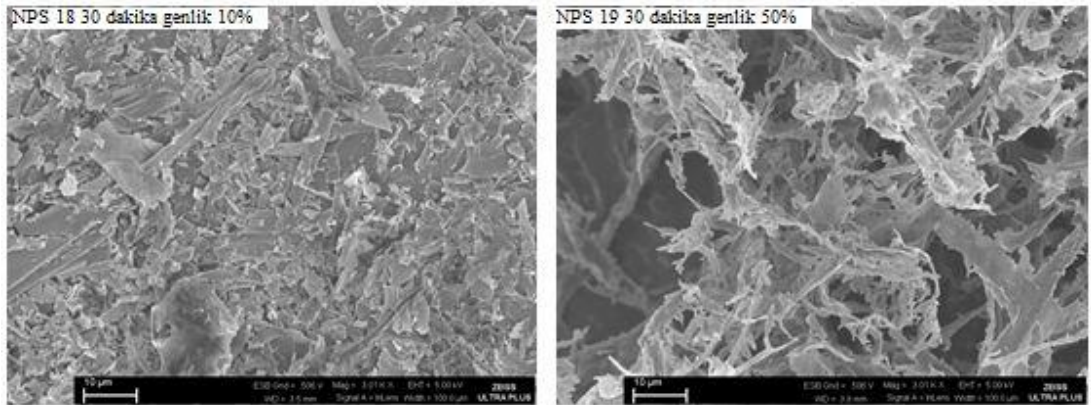


Şekil 4.11. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotografaları



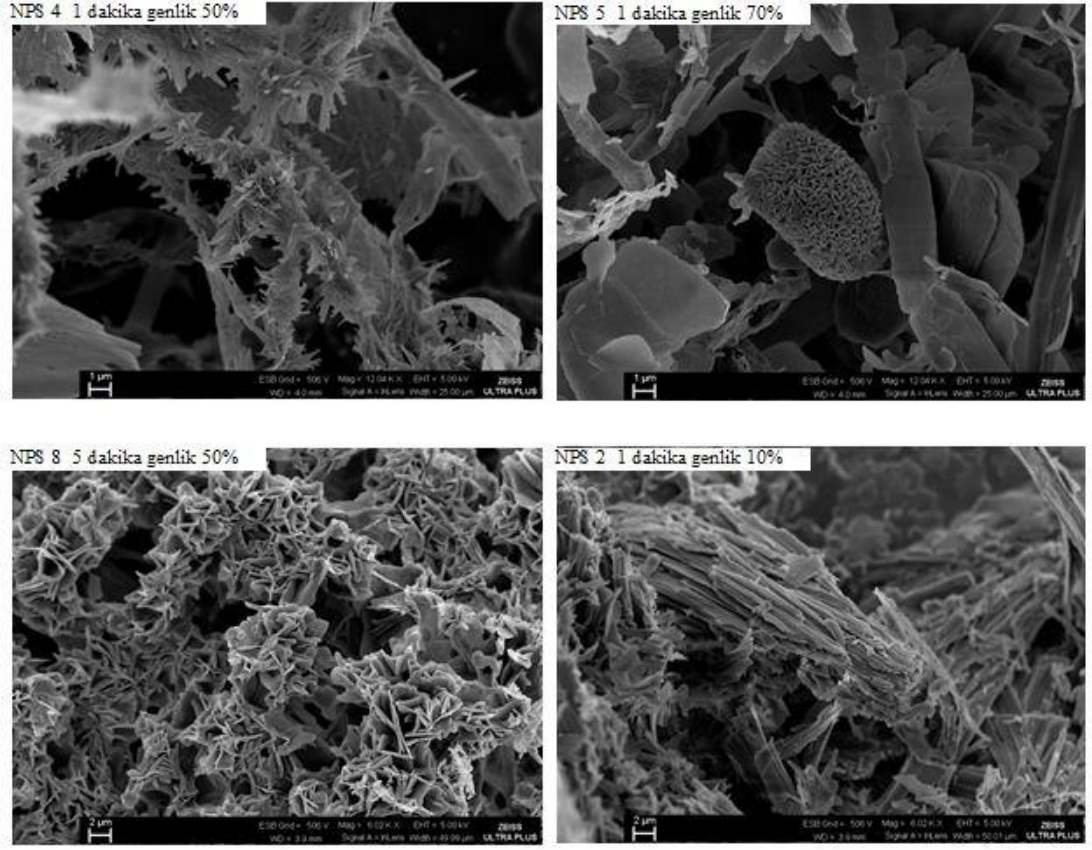
Şekil 4.12. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotografarı

Şekil 4.11-4.13'teki SEM görüntüleri incelendiğinde ultrases genliğindeki artışla kristal yüzey üzerinde erozyon etkisinin de arttığı gözlenmiştir.



Şekil 4.13. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup 10 ve 50 ultrases genliği uygulanan numunelerin SEM mikrofotografarı

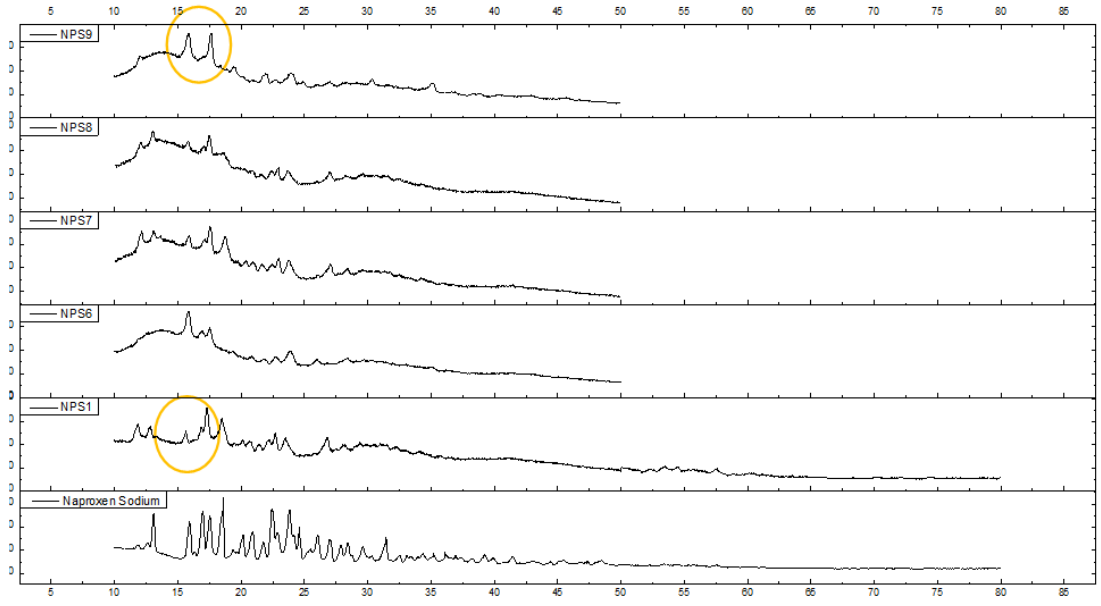
Şekil 4.14'te görüldüğü gibi NPS 2, 4, 5 ve 8 numunelerinde yüzeyde pürüzler ve oyuklar oluşmuştur. Oluşan pürüz ve oyuklar çözünürlüğü düşürdüğü görülmüştür.



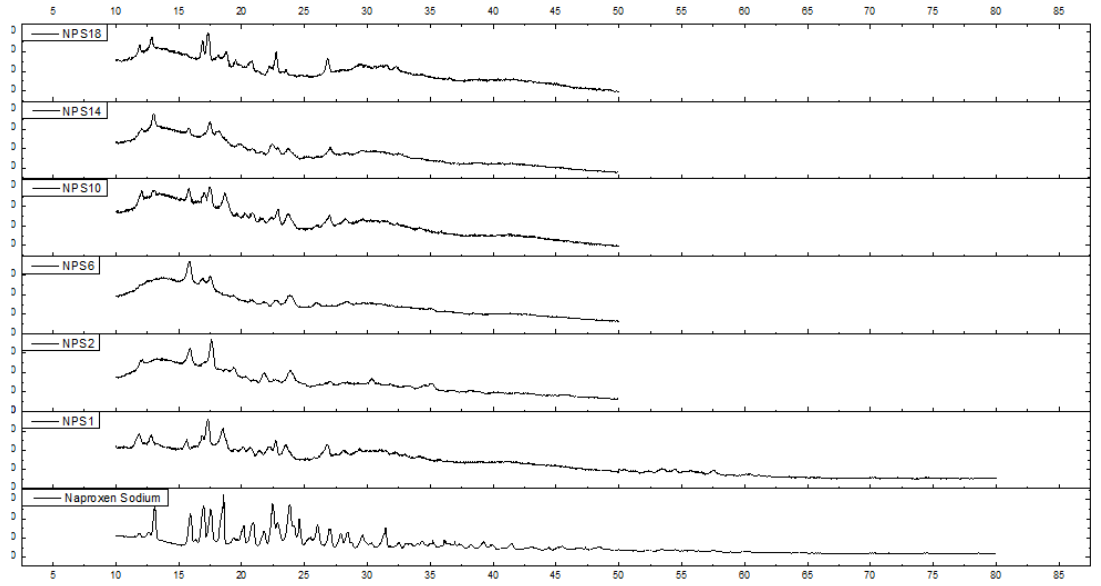
Şekil 4.14. Yüzeyde oyuklar oluşan numunelerin SEM mikrofotografaları

4.4. Numunelerin XRD Ölçümleri

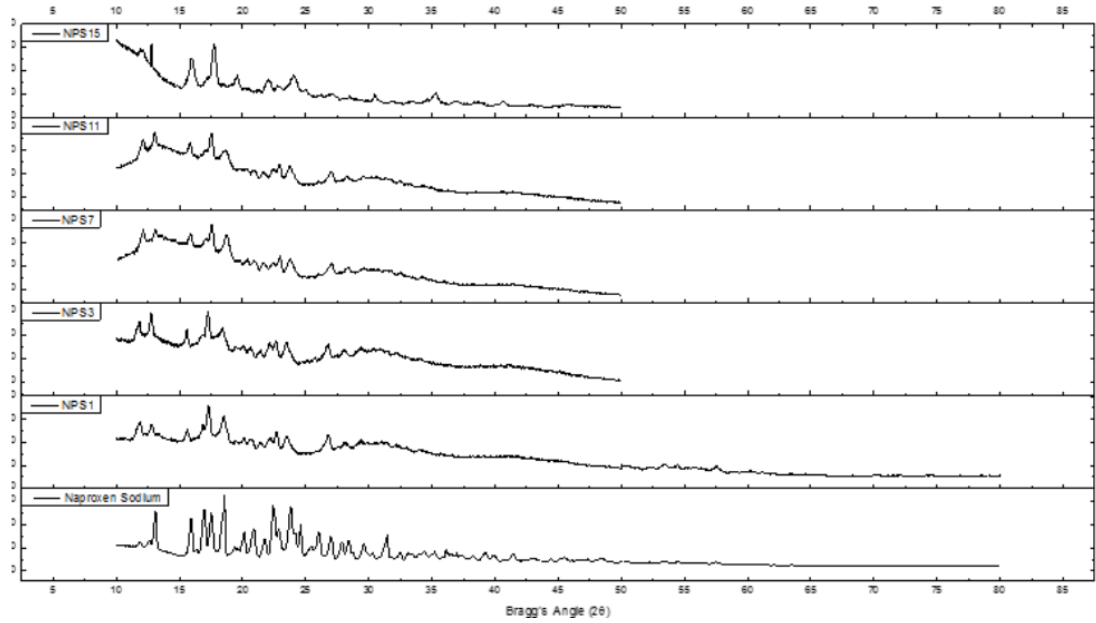
Parçacıkların yapısını ve iç davranışını incelemek için X-ışınları kırınımı (XRD) uygulanmıştır. Şekil 4.15'teki XRD desenleri incelendiğinde saf NapNa kristal yapıdadır. NapNa'nın kristal doğası ortaya koyan 2θ açıları 10 ile 15°C'deki arasında görülmektedir. Liyofize edilerek kurutulmuş NapNa karakteristik kristal pikleri yine aynı dereceler de görülmektedir fakat bu karakteristik piklerin bazıları kaybolmuştur (tipik amorf materyaldeki gibi). Yani NapNa Kristal doğası dramatik bir şekilde azalmıştır (bak NPS6 ve NPS9).



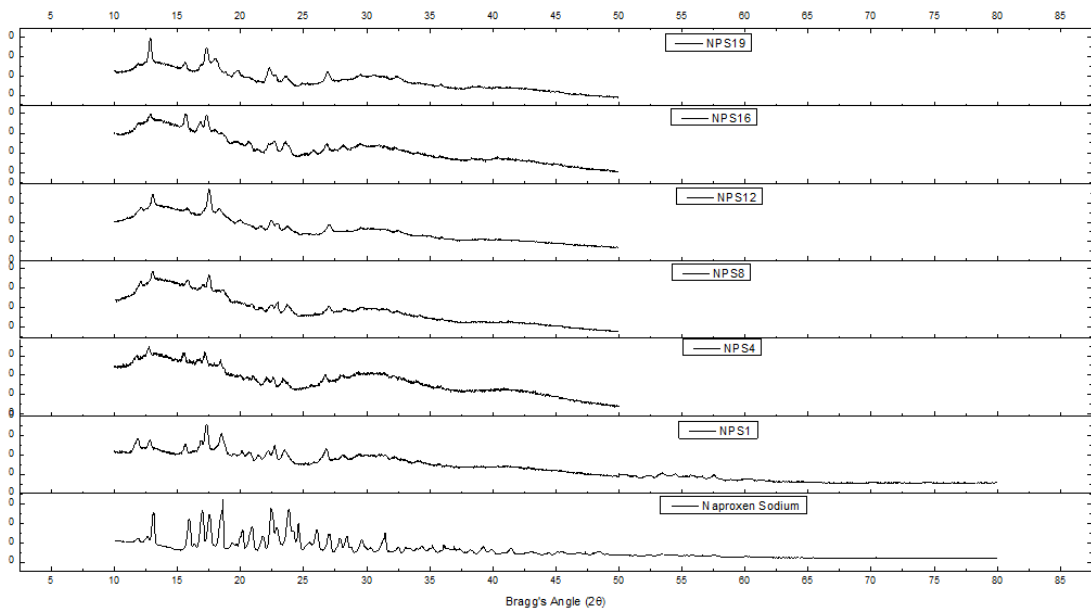
Şekil 4.15. Saf NapNa ultrases uygulanmamış NPS1, NPS6, NPS7, NPS8 ve NPS9 XRD kırınım desenleri



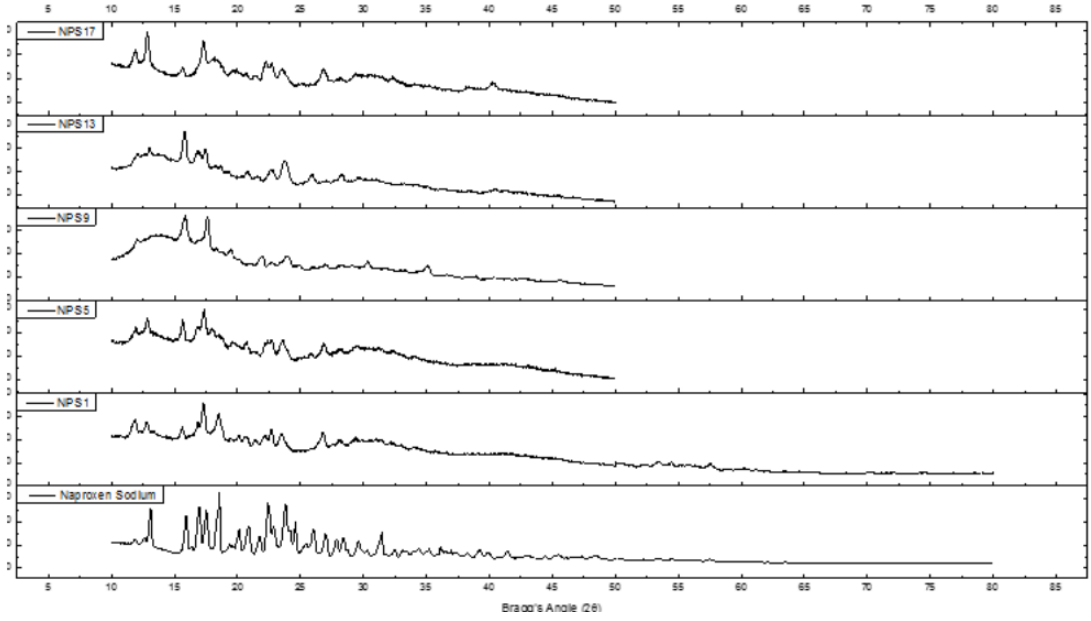
Şekil 4.16. Genlik %10 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



Şekil 4.17. Genlik %30 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



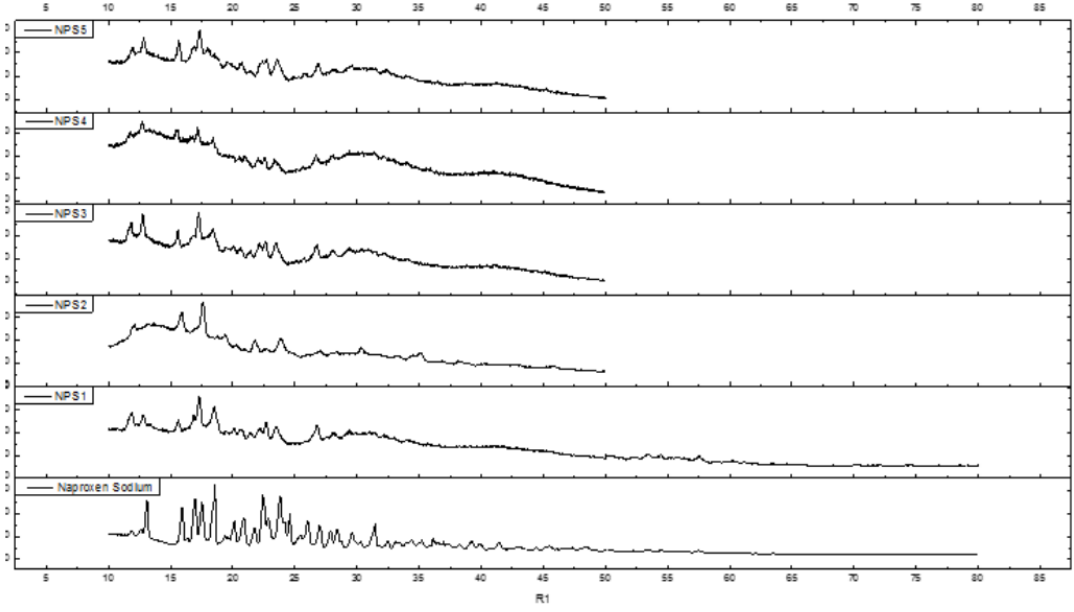
Şekil 4.18. Genlik %50 sabit olup ultrases süresi 1, 5, 10 ve 30 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



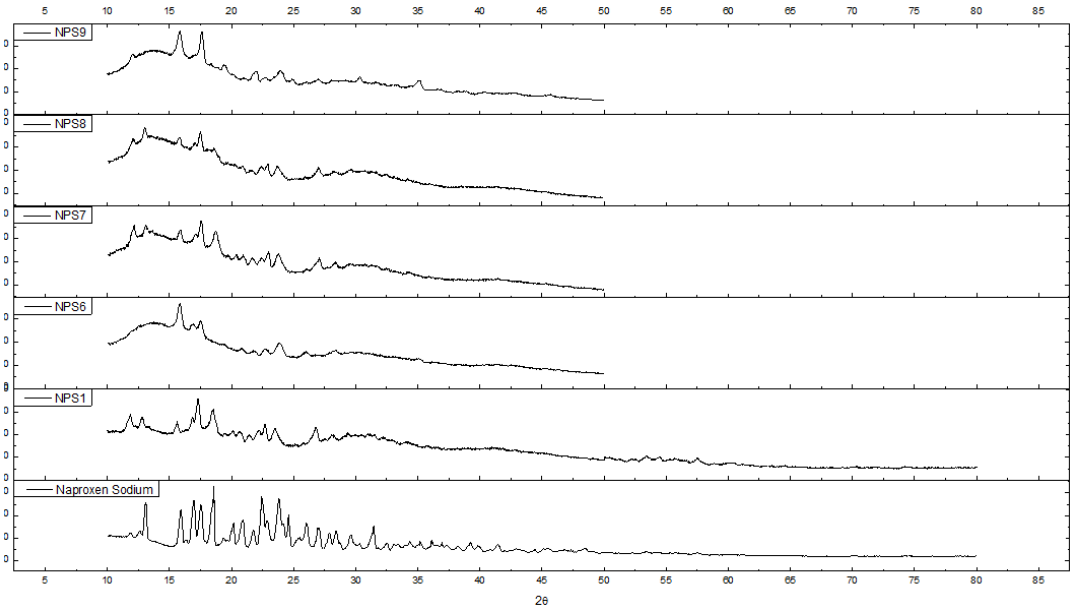
Şekil 4.19. Genlik %70 sabit olup ultrases süresi 1, 5 ve 10 dakika uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri

Şekil 4.16-4.19'daki XRD desenleri incelendiğinde 10-15 arasındaki karakteristik piklerinin ultrases süresinin değişmesi ile değiştiği gözlenmiştir.

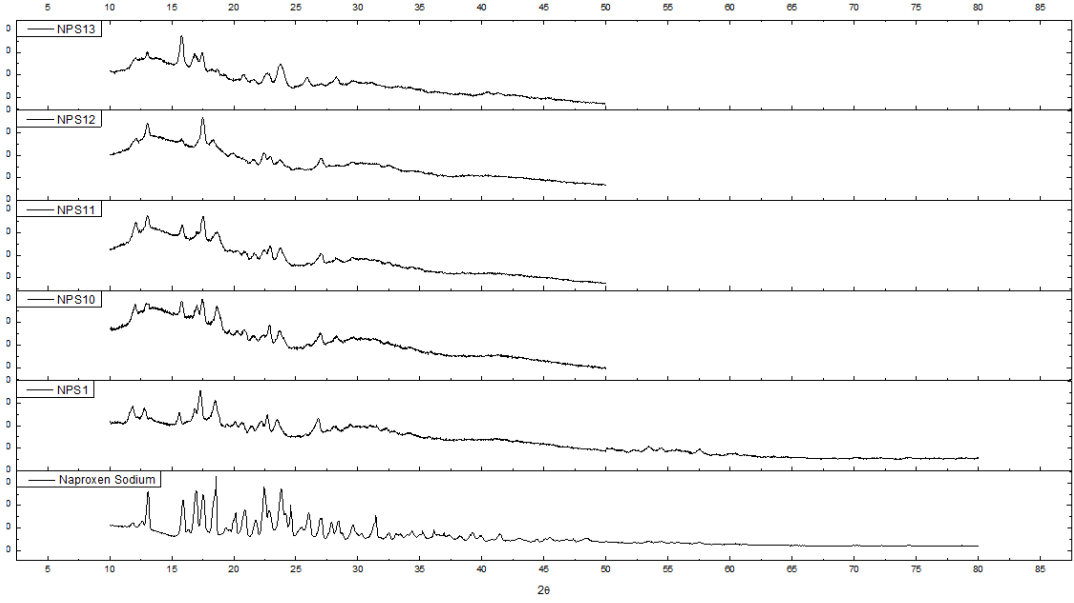
Şekil 4.20-4.24'teki XRD desenleri incelendiğinde 10-15° arasındaki karakteristik pikler incelendiğinde ultrases uygulama süresi sabit tutulup ultrasesin genliği değiştirildiğinde NapNa'nın kristal doğasının azaldığı yani amorf yapıya benzediği görülmektedir.



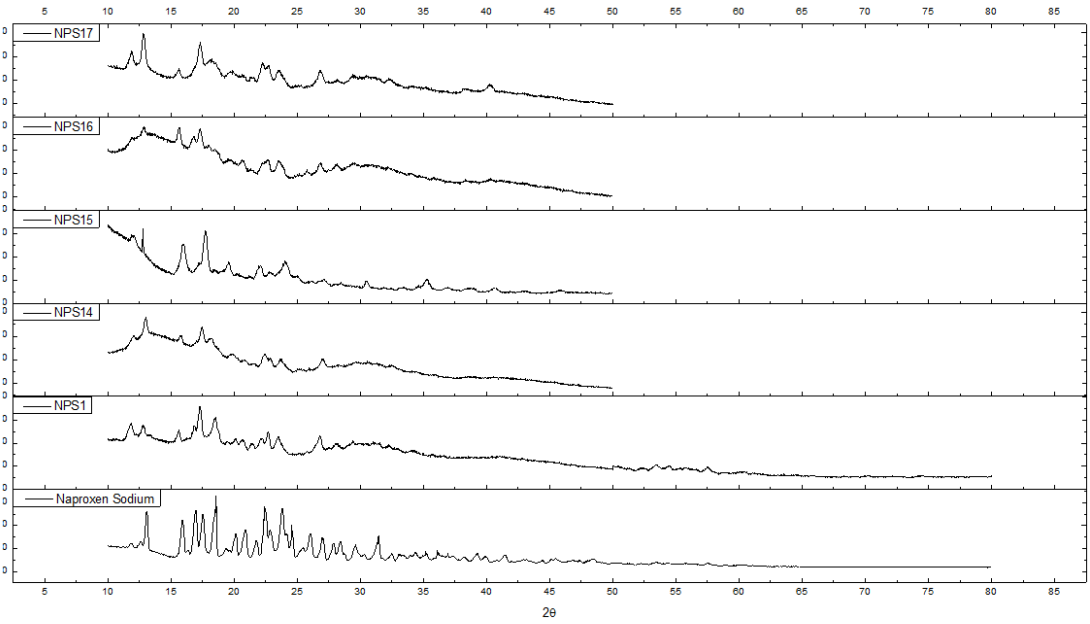
Şekil 4.20. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



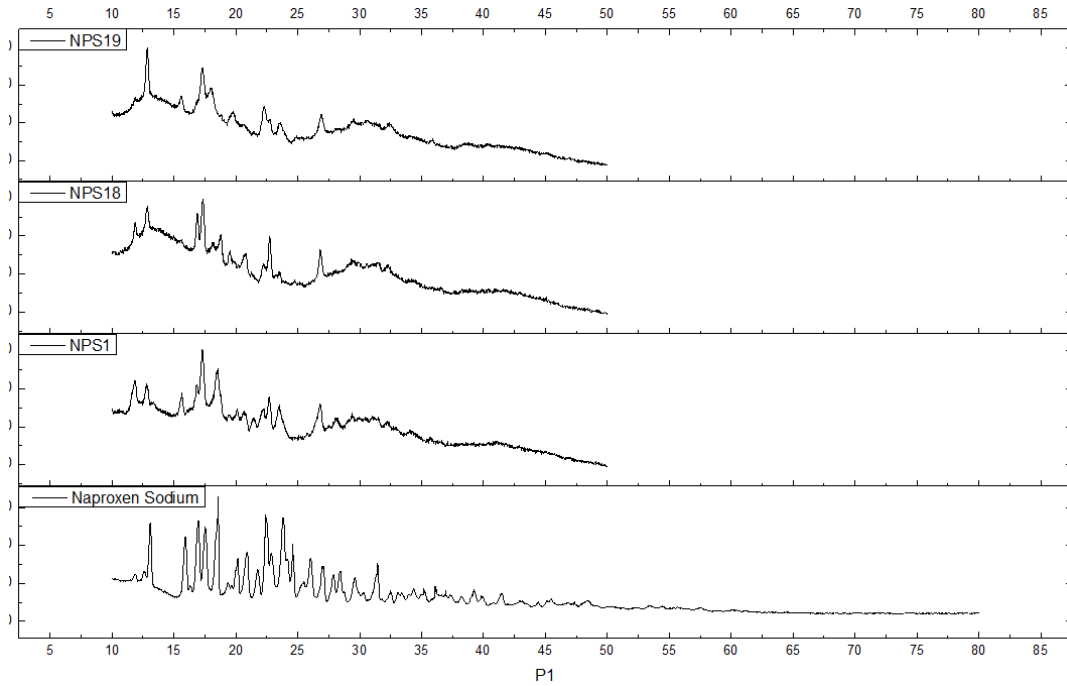
Şekil 4.21. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



Şekil 4.22. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri



Şekil 4.23. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup 10, 30, 50 ve 70 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri

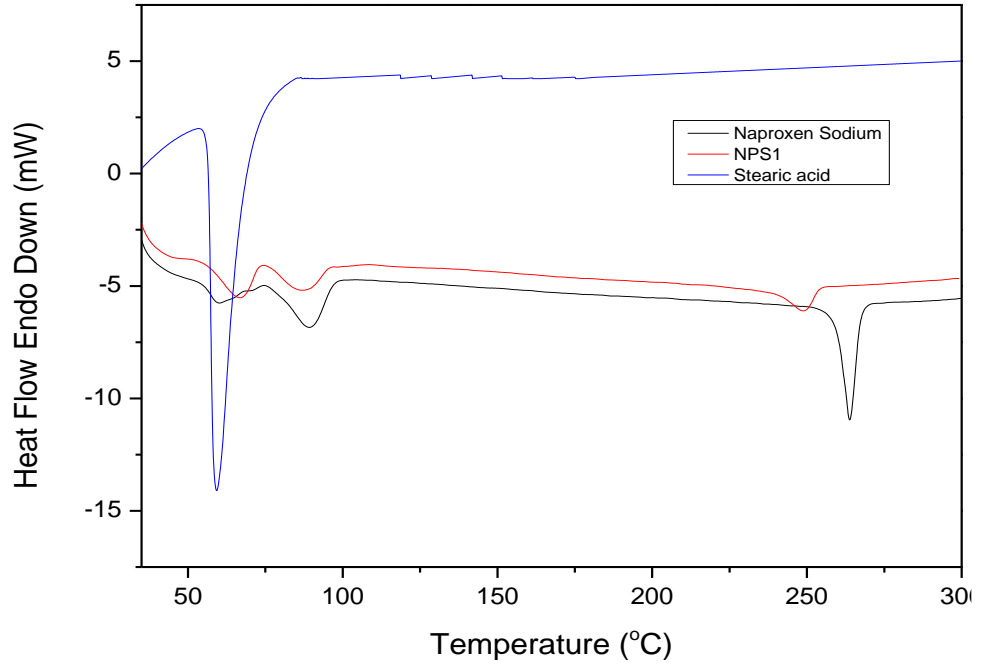


Şekil 4.24. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup 10 ve 50 ultrases genliği uygulanan numunelerin XRD kırınım desenleri

4.5. Numunelerin DSC Çalışmaları

DSC termogramlar stearik asit ve NapNa arasındaki kimyasal etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır. Ayrıca DSC termogramlar NapNa'nın ve toplarımların kristal durumunu belirlemek içinde kullanılmıştır. NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış NapNa'nın fiziksel durumu gösteren DSC termogramı şekil 4.25'te gösterilmiştir.

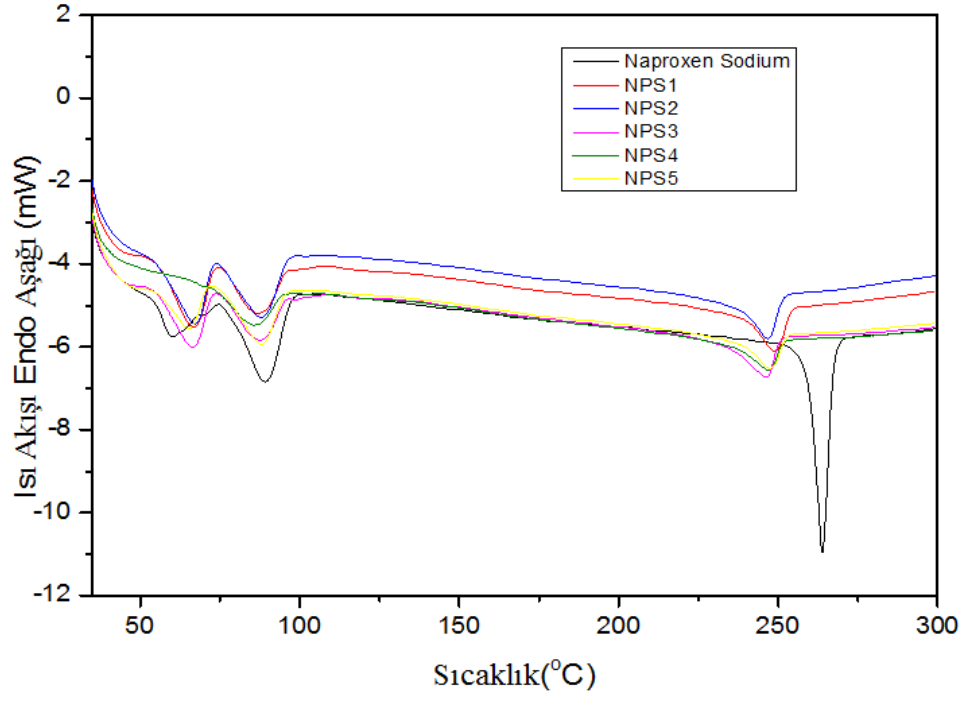
NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış NapNa'nın erime noktası ve entalpi değerleri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Saf NapNa'nın erime noktası ve entalpi değeri sırasıyla 264.00 ± 0.05 (°C) ve 41.03 ± 0.91 (J/g), stearik asitin erime noktası ve entalpi değeri sırasıyla 59.29 ± 0.04 (°C) ve 165.67 ± 0.92 (J/g), ultrases uygulanmamış NapNa'nın liyofize edilmiş numunenin erime noktası ve entalpi değeri ise sırasıyla 248.17 ± 0.03 (°C) ve 17.17 ± 0.30 (J/g) dir. Sonuçlar NapNa ve stearik asit arasında etkileşim olmadığı görülmüştür.



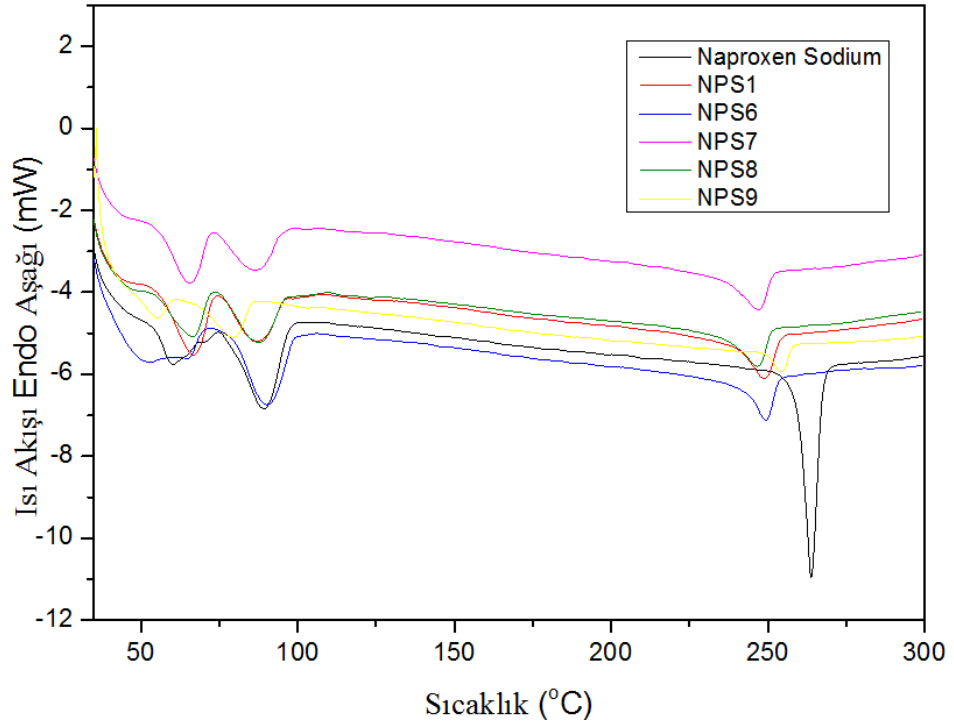
Şekil 4.25. NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış NapNa'nın DSC spektrumu

Çizelge 4.3. NapNa, stearik asit ve ultrases uygulanmamış liyofize edilmiş NapNa'nın DSC sonuçları

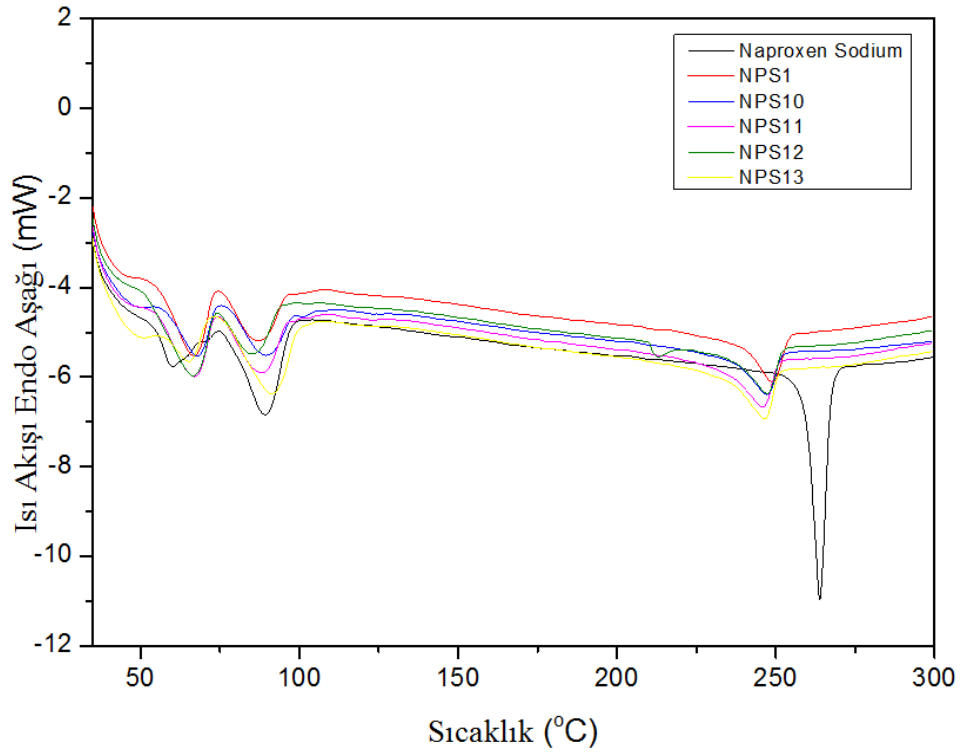
No	Zaman (dakika)	% Genlik	Erime noktası (°C)	Entalpi (J/g)
Saf NapNa	0	0	264.00±0.05	41.03±0.91
Saf stearik asit	0	0	59.29±0.04	165.67±0.92
NPS1	0	0	248.17±0.03	17.17±0.30



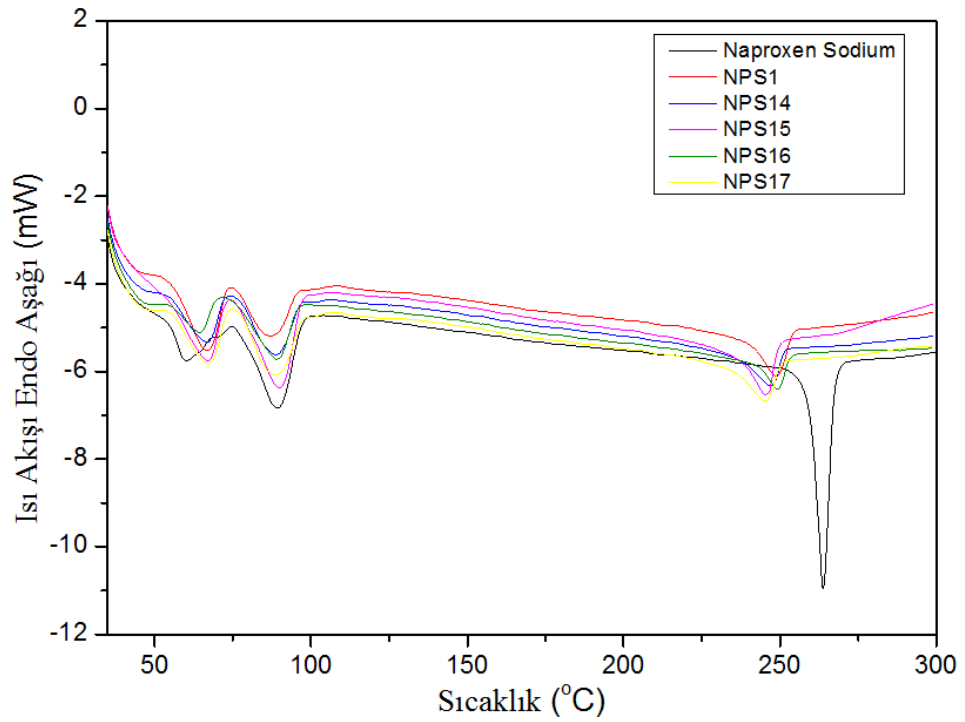
Şekil 4.26. Ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları



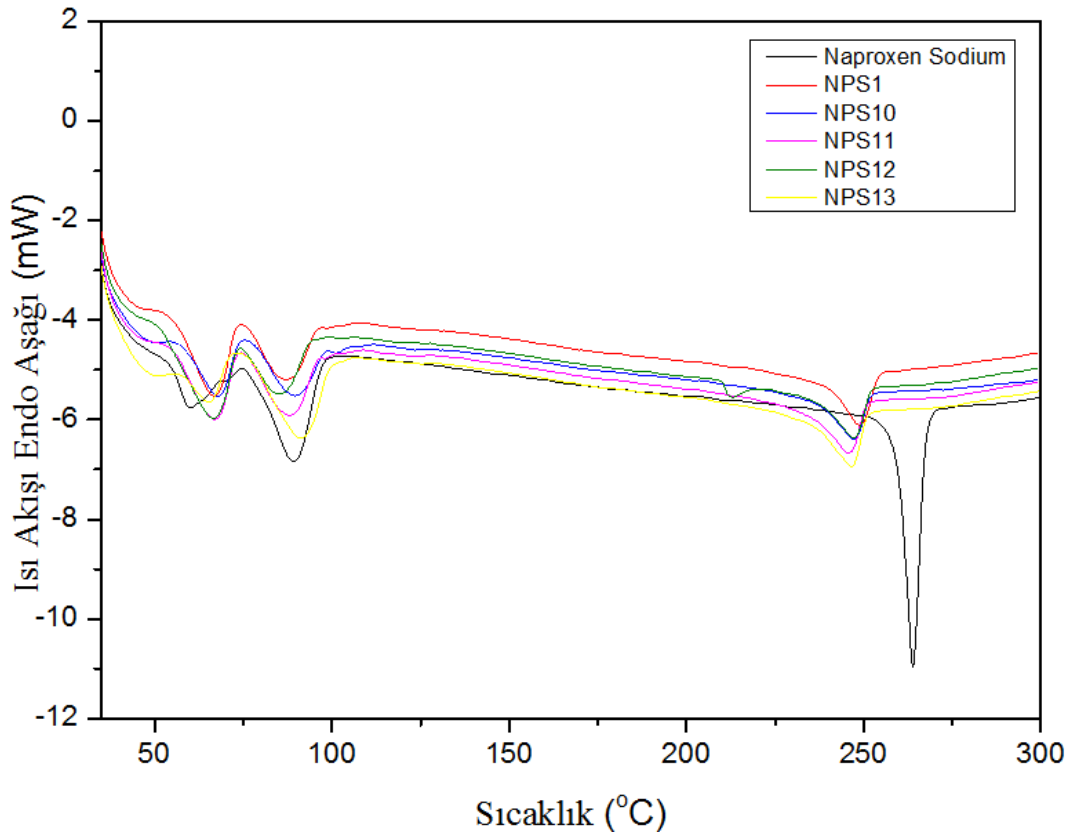
Şekil 4.27. Ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları



Şekil 4.28. Ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları



Şekil 4.29. Ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları



Şekil 4.30. Ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup %10 ve %50 ultrases genliği uygulanan numunelerin DSC spektrumları

Saf, ultrases uygulanmamış ve çeşitli süre ve genliklerde ultrases uygulanmış ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerin DSC spektrumları Şekil 4.25'te gösterilmiştir.

Şekil 4.26 ve 4.30 incelendiğinde tüm ultrases uygulanmış ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin endotermik pikleri ile saf NapNa endotermik piki kıyaslandığında, ultrases uygulanmış numunelerin endotermik piki saf NapNa'nın endotermik pikine göre önemli bir kayma olduğu görülmektedir. Ultrases uygulanmış numunelerde endotermik pik 264.00°C 'den daha düşük değerlerdedir.

Çizelge 4.3 ve 4.4'teki Saf, ultrases uygulanmamış numunelerin, çeşitli süre ve genliklerde ultrases uygulanmış ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerin erime noktası ve entalpi değerleri incelendiğinde en yüksek erime noktasına ve en düşük entalpi ye sahip olan NPS9 numaralı (5 dakika ve %70 genlik ultrases uygulanmış) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.4. Ultrases uygulanmış liyofilize edilmiş NapNa'nın DSC sonuçları

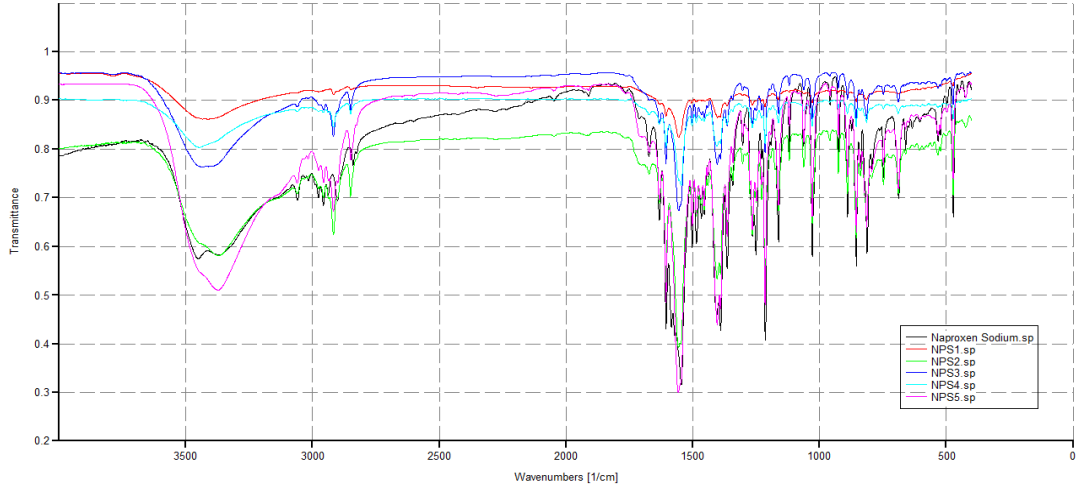
No NPS	Zaman (dakika)	% Genlik	Erime Noktası (°C)	Entalpi (J/g)
2	1	10	246.84±0.05	42.05±0.53
3	1	30	246.30±0.05	20.07±0.91
4	1	50	247.02±0.03	13.48±0.85
5	1	70	247.69±0.04	14.90±0.75
6	5	10	249.31±0.05	15.39±0.57
7	5	30	247.08±0.06	11.81±0.38
8	5	50	246.67±0.05	14.32±0.12
9	5	70	254.43±0.03	11.59±0.10
10	10	10	247.25±0.04	12.30±0.75
11	10	30	245.97±0.05	13.19±0.19
12	10	50	247.32±0.05	13.07±0.18
13	10	70	246.64±0.05	12.98±0.51
14	15	10	247.10±0.05	12.45±0.41
15	15	30	245.49±0.05	13.79±0.09
16	15	50	249.39±0.01	11.92±0.07
17	15	70	245.45±0.05	12.92±0.11
18	30	10	247.97±0.02	11.80±0.15
19	30	50	254.33±0.04	15.66±0.12

DSC ölçümleri farklı polimorf yapıların varlığını göstermektedir. Farklı NapNa'nın polimorfik geçişleri NapNa moleküllerinin tekrar düzenlenmesi ile uyumludur. Daha az kristal düzene ve amorf olan malzemelerin erimesi için gereken enerji mükemmel kristalin erimesi için gereken enerjiye kıyasla daha azdır. Bunun sebebi daha az kristal düzene ve amorf olan malzemelerin örgü kuvvetleri mükemmel kristallerinkine göre daha zayıftır. Bu yüzden düşük erime entalpi değeri malzemenin daha düzensiz örgü yapısına sahip olduğunu gösterir. Bu projede ölçülen düşük entalpi değeri NapNa'nın kristal örgüsünün

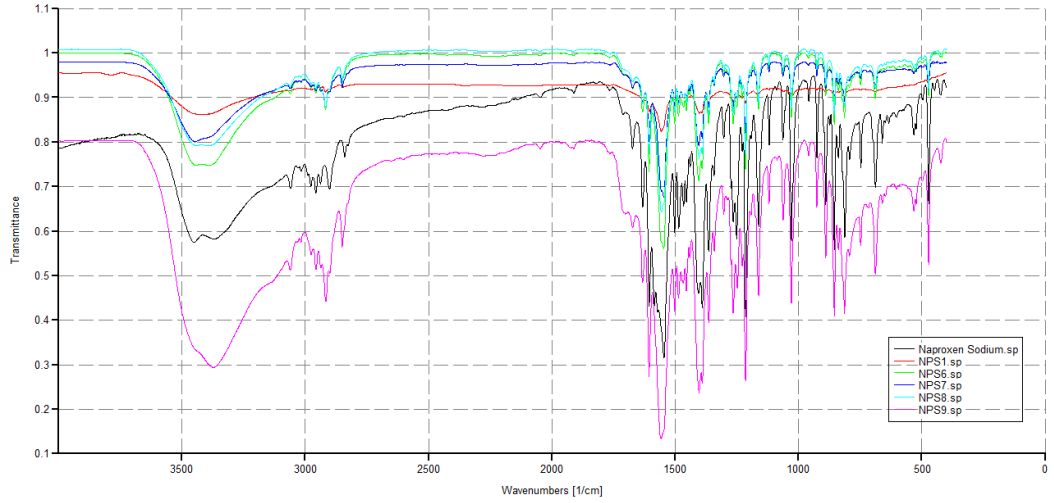
bozduğunu göstermektedir. NPS9 (5 dakika ve %70 genlik ultrases uygulanmış) yukarıda bahsedildiği gibi en düşük entalpi değerine sahip olması nedeniyle kristal örgüsünde bozulma olduğu söylenebilir.

4.6. Numunelerin FTIR Spektrum Ölçümleri

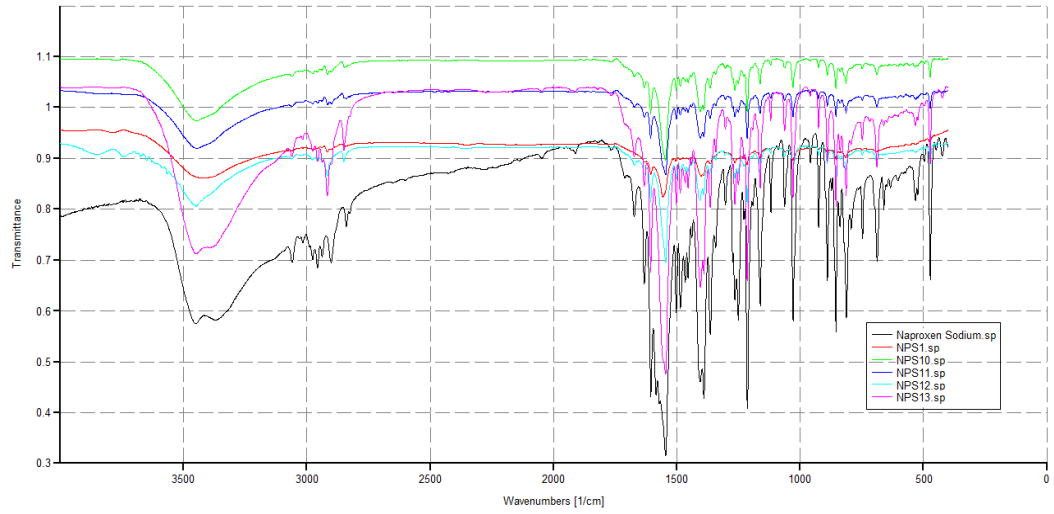
Saf, ultrases uygulanmamış ve çeşitli süre ve genliklerde ultrases uygulanmış ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerin FTIR spektrumları şekil gösterilmiştir. Şekil 4.31-4.35 incelendiğinde tüm ultrases uygulanmış ve liyofilize edilmiş NapNa numuneler ile ultrases uygulanmamış numunenin FTIR spektrumları karşılaştırıldığında NapNa'nın tüm karakteristik absorban piklerinin aynı kaldığı gözlemlendiği için NapNa ve çözücü ve/veya stabilizör arasında etkileşme olmadığını göstermektedir. Bu yüzden NapNa'nın kristalleşme sürecinde ultrases uygulamakla parçacık boyutunun küçülmesi ve kristal boyut dağılımının değişmesi ilacın kimyasal yapısını değiştirmemektedir. Yani çalışma koşullarında NapNa stabildir.



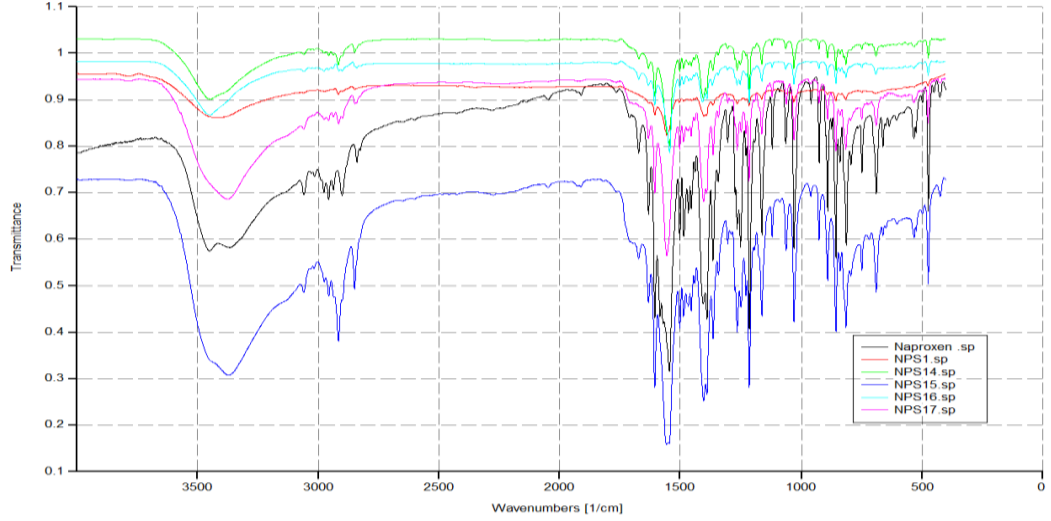
Şekil 4.31. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanmamış ve ultrases uygulama süresi 1 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları.



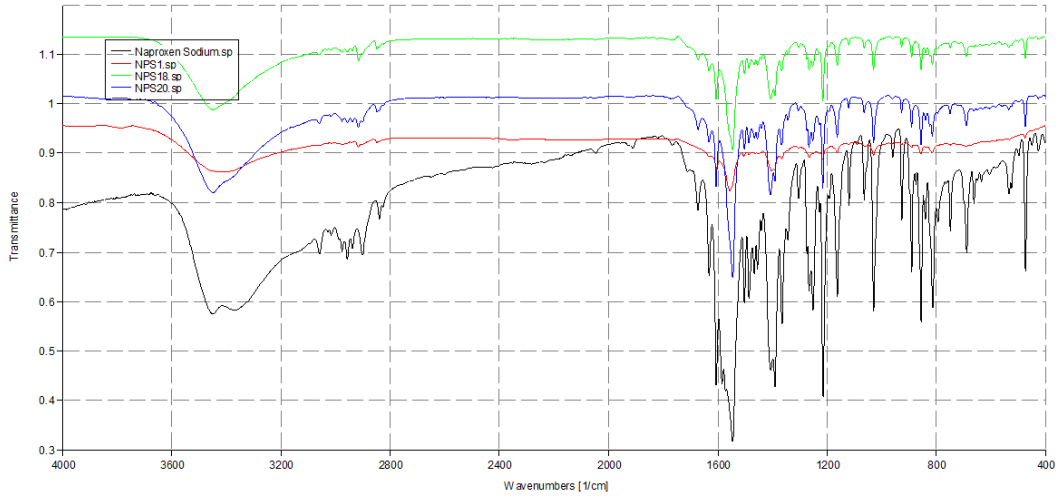
Şekil 4.32. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanamamış ve ultrases uygulama süresi 5 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları



Şekil 4.33. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanamamış ve ultrases uygulama süresi 10 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları



Şekil 4.34. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanamamış ve ultrases uygulama süresi 15 dakika sabit olup %10, %30, %50 ve %70 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları



Şekil 4.35. Saf, liyofilize edilmiş ultrases uygulanamamış ve ultrases uygulama süresi 30 dakika sabit olup %10 ve %50 ultrases genliği uygulanan numunelerin ve liyofilize edilmiş NapNa numunelerinin FTIR spektrumları

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu projede NapNa'nın kristallenme sürecinde değişik genlik ve sürelerde ultrasesin etkisi incelenmiştir. Değişik genlik ve sürelerde ultrases uygulanması kristal boyutundaki azalma, yüzey alanının artmasına ve toplaşmayı engelleme gibi kristalleşme süreci üzerine büyük etkisi olduğu görülmüştür.

İlaç partiküllerinin kristal doğasının ultrases uygulanması ile partikül boyutunun azaldığı gözlenmiştir. Kristal yapının bozulması ve ilaç yüzeyinin artması, ilaç çözünürlüğünü de artırdığı belirlenmiştir. Bazı ultrases uygulanmış numunelerde yüzeyde oyuklar oluştuğu için çözünürlüğünde düşüş gözlenmiştir.

Ultrasesin, çekirdeklenme–kristal oluşumu dengesini kontrol etmede oldukça etkili olduğu ve optimum kristal boyut dağılımı elde etmede başarılı olduğu gözlenmiştir. İlaç çözünürlüğünü artırmada optimum kristal boyut dağılımı ve parçacık özelliği elde etmede ultrases kullanımı oldukça büyük potansiyele sahip olduğu anlaşılmıştır.

Polimorfik oluşum, seçici çekirdeklenme ve istenen polimorfik yapılar elde etmek için bu projede NapNa'nın polimorfik olaylarını anlamak, kontrol etmek ve faydalanmak hedeflenmiştir.

Optimum ultrases uygulama süresi ve genliği uygulandığında yüzey morfolojisi ve Kristal oluşumu modifiye oldukça başarılı olduğu belirlenmiştir. Ultrases uygulama süresi ve genliği polimorfik çekirdeklenme sürecinde oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Bu iki faktörün kristal boyut dağılımı ve yüzey alan artırmada oldukça başarılı olduğu belirlenmiştir.

Bu sonuçlardan kristalleşme sürecinde ultrases uygulamanın; kristal boyut dağılımı, yüzey alanını artırma, polimorfik kontrol, seçme ve ayırma da oldukça başarılı olduğu görülmüştür. Sonuçları literatürlerle karşılaştırarak değerlendirmek daha iyi olur.

Kristal boyut dağılımı, yüzey alan artırmada, polimorfik kontrol, seçme ve ayırmak yeni ilaç geliştirme ve keşfinde oldukça büyük öneme sahip olduğu için optimum ultrases

süresi ve genliği uygulanarak çözünlüğü artırma ve istenen polimorfik yapılar elde edilmesi nedeniyle bu alan da yapılacak çalışmalara büyük ışık tutacaktır. Bu şekilde daha saf ve biyoyararlanımı fazla API'ler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Askeland DR & Erdoğan M., 1998, Malzeme bilimi ve mühendislik malzemeleri. Nobel Yayınları.
- Bilati U., Allémann E. & Doelker E., 2005, Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24: 67-75.
- Cano M., Gimeno M., Sala S., Veciana J., Muntó M. & Ventosa N., 2005, New technologies for the preparation of micro-and nanostructured materials with potential applications in drug delivery and clinical diagnostics. *Contributions to science* 11-18.
- Charoenchaitrakool M., Dehghani F., Foster N. & Chan H., 2000, Micronization by rapid expansion of supercritical solutions to enhance the dissolution rates of poorly water-soluble pharmaceuticals. *Industrial & engineering chemistry research* 39: 4794-4802.
- Cooper A., 2000, Microcalorimetry of protein-DNA interactions. p.^pp. 125-139. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Cooper A., Nutley MA. & Wadood A., 2000, Differential scanning microcalorimetry. p.^pp. 287-318. Oxford University Press, Oxford, NY.
- Cooper A., Johnson CM., Lakey JH. & Nöllmann M., 2001, Heat does not come in different colours: entropy–enthalpy compensation, free energy windows, quantum confinement, pressure perturbation calorimetry, solvation and the multiple causes of heat capacity effects in biomolecular interactions. *Biophysical chemistry* 93: 215-230.
- Crum LA. ,1994, Sonoluminescence. *Phys Today* 47: 22-29.
- Cullity B., 1996, X ışınlarının Difraksiyonu,(Çev. A. Sümer). İstanbul Teknik Üniversitesi Yayınları, İstanbul, Türkiye.
- Dalvi SV. & Dave RN., 2009, Controlling particle size of a poorly water-soluble drug using ultrasound and stabilizers in antisolvent precipitation. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48: 7581-7593.
- Debuigne F., Cuisenaire J., Jeunieu L., Masereel B. & Nagy J., 2001, Synthesis of nimesulide nanoparticles in the microemulsion epikuron/isopropyl myristate/water/n-butanol (or isopropanol). *Journal of colloid and interface science* 243: 90-101.
- Gabas N. & Laguerie C., 1992, Batch crystallization of D-xylose by programmed cooling or by programmed adding of ethanol. *Chemical engineering science* 47: 3148-3152.
- Got F., Culioli J., Berge P., Vignon X., Astruc T., Quideau J. & Lethiecq M., 1999, Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. *Meat Science* 51: 35-42.
- Gradl J., Schwarzer H-C., Schwertfirm F., Manhart M. & Peukert W., 2006, Precipitation of nanoparticles in a T-mixer: coupling the particle population dynamics with hydrodynamics through direct numerical simulation. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 45: 908-916.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Howard K.S., Nagy Z.K., Saha B., Robertson A.L., Steele G. & Martin D., 2009, A process analytical technology based investigation of the polymorphic transformations during the antisolvent crystallization of sodium benzoate from IPA/water mixture. *Crystal Growth and Design* 9: 3964-3975.
- Hu J., Johnston K.P. & Williams R.O., 2003, Spray freezing into liquid (SFL) particle engineering technology to enhance dissolution of poorly water soluble drugs: organic solvent versus organic/aqueous co-solvent systems. *European journal of pharmaceutical sciences* 20: 295-303.
- Hunter R.J., 2013, *Zeta potential in colloid science: principles and applications*. Academic press.
- Ichitsubo T., Matsubara E., Yamamoto T., Chen H., Nishiyama N., Saida J. & Anazawa K., 2005, Microstructure of fragile metallic glasses inferred from ultrasound-accelerated crystallization in Pd-based metallic glasses. *Physical review letters* 95: 245501.
- Johnson B.K. & Prud'homme R.K., 2003, Flash nanoprecipitation of organic actives and block copolymers using a confined impinging jets mixer. *Australian Journal of Chemistry* 56: 1021-1024.
- Kennedy J.F., 2004, *Biophysical Chemistry-A*. Cooper; RSC, London, 2004, v+ 184 pages, *Carbohydrate Polymers* 1: 103.
- Kesisoglou F., Panmai S. & Wu Y., 2007, Nanosizing—oral formulation development and biopharmaceutical evaluation. *Advanced drug delivery reviews* 59: 631-644.
- Kim S., Lotz B., Lindrud M., Girard K., Moore T., Nagarajan K., Alvarez M., Lee T., Nikfar F. & Davidovich M., 2005, Control of the particle properties of a drug substance by crystallization engineering and the effect on drug product formulation. *Organic process research & development* 9: 894-901.
- Knorr D., Zenker M., Heinz V. & Lee D-U., 2004, Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology* 15: 261-266.
- Lipinski C.A., 2002, Poor aqueous solubility-an industry wide problem in ADME screening. *American Pharmaceutical Review* 5: 82-85.
- Liversidge G.G. & Cundy K.C., 1995, Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *International Journal of Pharmaceutics* 125: 91-97.
- Mason T., Paniwnyk L. & Lorimer J., 1996, The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics sonochemistry* 3: S253-S260.
- Mason T.J., 1999, Sonochemistry: current uses and future prospects in the chemical and processing industries. *Philos T R Soc A* 357: 355-369.
- Mason T.J., 2007, Developments in ultrasound—non-medical. *Progress in biophysics and molecular biology* 93: 166-175.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Matteucci M.E., Hotze M.A., Johnston K.P. & Williams R.O., 2006, Drug nanoparticles by antisolvent precipitation: mixing energy versus surfactant stabilization. *Langmuir* 22: 8951-8959.
- Mersmann A., 1999, Crystallization and precipitation. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 38: 345-353.
- Mosharraf M. & Nyström C., 1995, The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of microsized practically insoluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics* 122: 35-47.
- Mullin J. & Nývlt J., 1971, Programmed cooling of batch crystallizers. *Chemical Engineering Science* 26: 369-377.
- Mullin J.W., 2001, *Crystallization*. Butterworth-Heinemann.
- Müller R., Jacobs C. & Kayser O., 2001, Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced drug delivery reviews* 47: 3-19.
- Nagy Z.K., Fujiwara M. & Braatz R.D., 2008, Modelling and control of combined cooling and antisolvent crystallization processes. *Journal of Process Control* 18: 856-864.
- Noyes A.A. & Whitney W.R., 1897, The rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society* 19: 930-934.
- O'Grady D., Barrett M., Casey E. & Glennon B., 2007, The effect of mixing on the metastable zone width and nucleation kinetics in the anti-solvent crystallization of benzoic acid. *Chemical Engineering Research and Design* 85: 945-952.
- Overhoff K.A., Johnston K.P. & WILLIAMS R.O., 2006, Improvement of dissolution rate of poorly water soluble drugs using a new particle engineering process: Spray freezing into liquid. Vol. 924 p.^pp. 305-319. Oxford University Press.
- Özyetiş A., 2005, X-Işınları Toz Difraksiyon Metodu ile Bazı Organik Bileşiklerin Kristal Yapılarının İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 84s.
- Pillai O. & Panchagnula R., 2001, Polymers in drug delivery. *Current opinion in chemical biology* 5: 447-451.
- Pinfield V.J., Povey M.J. & Dickinson E., 1995, The application of modified forms of the Urlick equation to the interpretation of ultrasound velocity in scattering systems. *Ultrasonics* 33: 243-251.
- Reverchon E. 1999, Supercritical antisolvent precipitation of micro-and nano-particles. *The journal of supercritical fluids* 15: 1-21.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sarkari M., Brown J., Chen X., Swinnea S., Williams R.O. & Johnston K.P., 2002, Enhanced drug dissolution using evaporative precipitation into aqueous solution. *International Journal of Pharmaceutics* 243: 17-31.
- Skoog D.A. & West D.M., 1980, *Principles of instrumental analysis*. Saunders College Philadelphia.
- Trotta M., Gallarate M., Carlotti M.E. & Morel S., 2003, Preparation of griseofulvin nanoparticles from water-dilutable microemulsions. *International journal of pharmaceutics* 254: 235-242.
- Türk M., Hils P., Helfgen B., Schaber K., Martin H-J. & Wahl M.A., 2002, Micronization of pharmaceutical substances by the rapid expansion of supercritical solutions (RESS): a promising method to improve bioavailability of poorly soluble pharmaceutical agents. *The Journal of supercritical fluids* 22: 75-84.
- Van Holde K., Curtis Johnson W. & Shing Ho P., 2006 *Thermodynamics and biochemistry. Principles of physical biochemistry* 2nd ed Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall 72-105.
- Varshney H. & Chatterjee A., 2012, Solubility enhancement of poorly hydrophilic drugs by using different newer techniques: A Review. *International Journal of Therapeutic Applications* 6: 8-13.