Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова
Российской академии наук

На правах рукописи

Воробей Антон Михайлович

Влияние условий переосаждения гидрохлорида левофлоксацина на морфологию и размер частиц, получаемых методом сверхкритического антисольвентного осаждения

1.4.4. – Физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

кандидат химических наук
Паренаго Ольга Олеговна

Москва – 2026

Введение 5
1. Литературный обзор 11
1.1. Пересыщение в растворах как основа формирования микрочастиц 11
1.2. Формирование микрочастиц 13
1.2.1. Нисходящие методы микронизации («top down»методы) 14
1.2.2. Восходящие методы микронизации («bottom up» методы) 15
1.3. СКФ технологии микронизации 18
1.3.1. Быстрое расширение сверхкритических растворов (RESS) 19
1.3.2. СКФ – растворённое вещество (PGSS) 22
1.3.3. СКФ - сорастворённое вещество (SAA, CAN-BD, DELOS) 23
1.3.4. СКФ –антирастворитель (SAS, GAS, ASES, SEDS, PCA) 26
1.4. Влияние параметров SAS на форму и размер осаждаемых частиц 32
1.4.1. Фазовое равновесие системы растворитель - антирастворитель - растворённое вещество в методе SAS 32
1.4.1.1. Частичная смешиваемость растворителя и антирастворителя 36
1.4.1.2. Полная смешиваемость растворителя и антирастворителя 38
1.4.2. Растворимость осаждаемых веществ в смеси растворитель - антирастворитель 39
1.4.3. Роль давления и температуры в SAS 41
1.4.4. Гидродинамические параметры SAS 44
1.4.5. Влияние состава распыляемого раствора на форму частиц 46
1.4.6. Получение методом SAS кристаллических частиц 47
1.5. Выводы из литературного обзора 48
2. Экспериментальная часть 50
2.1. Исходные вещества и реагенты 50
2.1.1. Микронизуемые вещества 50
2.1.2. Используемые реагенты 51
2.2. Методы 51

2.2.1. Проведение процедуры сверхкритического антисольвентного осаждения 51
2.2.2. Разработка и апробация метода для измерения растворимости субстанций в многокомпонентных флюидах 53
2.2.3. Исследование фазового состава двухкомпонентных и трёхкомпонентных систем 57
2.2.4. Модификация хроматографической установки для измерения вязкости смесей СК CO_2 – растворитель 59
2.2.5. Измерение плотности смесей СК CO_2 – растворитель, используемых при SAS осаждении, методом пикнометрии 60
2.2.6. Определение вязкости смесей СК CO_2 – растворитель 62
2.2.7. Физико-химические методы исследования 64
2.2.7.1. Сканирующая электронная микроскопия 64
2.2.7.2. Рентгенофазовый анализ 64
2.2.7.3. Инфракрасная спектроскопия 65
2.2.7.4. Элементный анализ 65
2.2.7.5. Сверхкритическая флюидная хроматография 66
2.2.7.6. Поляриметрия 67
2.2.7.7. ЯМР 67
3. Результаты и обсуждение 68
3.1. Разработка и апробация метода для измерения растворимости субстанций в многокомпонентных флюидах 68
3.2. Влияние числа фаз на размер и морфологию частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS 73
3.2.1. Исследование фазовых равновесий систем CO_2 - ацетон и CO_2 – ацетон –гидрохлорид левофлоксацина 73
3.2.2. Исследование фазовых равновесий систем CO_2 - диметилформамид и CO_2 – диметилформамид – гидрохлорид левофлоксацина 76

3.3. Микронизация методом SAS из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – растворитель-микронизуемое вещество 78
3.3.1 Микронизация гидрохлорида левофлоксацина из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – ацетон 78
3.3.2. Микронизация гидрохлорида левофлоксацина из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – диметилформамид 82
3.4. Зависимости плотности и вязкости смесей СК CO_2 – растворитель от их состава 85
3.5. Влияние микронизации методом SAS на молекулярную и кристаллическую структуру гидрохлорида левофлоксацина 89
3.6. Влияние вязкости смесей CO_2-растворитель и растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель на морфологию и размер осаждаемых частиц 94
Заключение и выводы 99
Список сокращений и условных обозначений 101
Список работ, опубликованных по теме диссертации 102
Список цитируемой литературы 104
Приложение 1. Расчёт мольной доли микронизуемого вещества в смеси CO_2 – растворитель при микронизациии методом SAS 124
Приложение 2. Влияние SAS с использованием уксусной кислоты на молекулярную и кристаллическую структуру гидрохлорида левофлоксацина 126

Введение

Получение частиц с заданными характеристиками является актуальной задачей в различных сферах промышленности и науки: при создании катализаторов, красителей, энергонасыщенных материалов, в фармацевтической и пищевой промышленности и т.д. Чаще всего требуется получить частицы заданной морфологии с определённым распределением по размеру; к продукту могут также предъявляться дополнительные требования и по другим характеристикам, например, степени кристалличности, полиморфному составу, структуре поверхности и др.

Благодаря ряду уникальных свойств сверхкритических флюидов (СКФ) в последнее время их всё чаще используют для микронизации различных веществ. Основное преимущество сверхкритических флюидных технологий связано с возможностью проведения процесса без использования токсичных органических растворителей либо с простотой удаления их остатков при очистке получаемого продукта. Кроме того, дополнительным преимуществом СКФ методов являются широкие возможности по гибкому управлению характеристиками получаемых частиц. Последнее особенно характерно для метода сверхкритического антисольвентного осаждения (**S**upercritical **A**nti-**S**olvent, SAS), который сочетает параметры как традиционных растворных методов, так и специфические, характерные для технологий высокого давления. Среди сверхкритических флюидных методов получения микрочастиц SAS является наиболее универсальным, так как обладает наиболее широкой сферой применения.

Для полноценного использования возможностей метода SAS необходимо знание о том, как его многочисленные и связанные друг с другом физико-химические параметры влияют на характеристики получаемых частиц. Для аморфных частиц качественные представления о таком влиянии хорошо описаны, существуют количественные предсказательные модели. Для кристаллических субстанций такое целостное понимание пока отсутствует [1]. Таким образом, исследование влияния физико-химических параметров SAS на морфологию и размер осаждаемых частиц является актуальной задачей.

В качестве модельного объекта исследования выбран гидрохлорид левофлоксацина. Он является хорошим модельным объектом, на примере которого могут быть изучены особенности решения задачи микронизации методом SAS. Кроме того, фарминдустрия нуждается в создания лекарственной формы левофлоксацина пролонгированного действия. Левофлоксацин - широко используемый препарат, применяемый для лечения ряда бактериальных инфекций, в том числе туберкулёза.

Целью настоящей работы являлось установление влияния физико-химических параметров сверхкритического антисольвентного осаждения на морфологию и размер получаемых частиц левофлоксацина. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. определить значения растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель;
2. определить значения вязкости смесей CO_2-растворитель при типичных условиях проведения процесса SAS;
3. установить закономерности влияния растворителя на морфологию и размер осаждаемых методом SAS частиц левофлоксацина;
4. установить закономерности влияния числа фаз системы CO_2 - растворитель - левофлоксацин на размер и морфологию осаждаемых частиц.

Для верификации предложенного метода определения растворимости микронизуемого вещества в системах CO_2 – растворитель в качестве объекта исследования была выбрана ацетилсалициловая кислота. Основными критериями выбора были следующие. Во-первых, необходимо наличие литературных данных о растворимости объекта в бинарных флюидах при максимально широких значениях температуры, давления для нескольких растворителей. Во-вторых, значения растворимости выбранной субстанции в исходных растворителях и в системах CO_2 - растворитель должны лежать в определённых пределах. С одной стороны, слишком высокая растворимость в смесях CO_2 – растворитель и слишком низкая растворимость в исходном растворителе может принципиально

не обеспечить возможность проведения процесса SAS. В таких условиях смешение исходного раствора с CO_2 не приведёт к пересыщению, и, следовательно, раствор в бинарном флюиде нельзя будет считать насыщенным. С другой стороны, слишком низкие значения растворимости в смесях CO_2 – растворитель могут привести к невозможности детектирования определяемого вещества: концентрация в бинарном флюиде будет ниже предела обнаружения.

Научная новизна

В диссертационной работе

- предложен новый метод измерения растворимости в многокомпонентных флюидах, основанный на совмещении SAS и ультрафиолетовой спектроскопии;

- получены новые данные о растворимости левофлоксацина в смесях CO_2 – растворитель при давлении 100 и 150 бар и температуре 40 °C;

- впервые измерена вязкость смесей CO_2 – растворитель (метанол, этанол, ацетон, ДМСО, ДМФА, этилацетат, хлороформ, ацетонитрил) при давлении 150 бар и температуре 40 °C, что является типичными условиями проведения процесса SAS и может быть использовано для интерпретации данных другими исследователями.

В работе впервые показана мономодальность и бимодальность распределения по размеру осаждаемых методом SAS частиц в зависимости от проведения процесса из одной или двух фаз смеси CO_2-растворитель-растворённое вещество.

Практическая значимость

Полученные значения растворимости левофлоксацина в смесях CO_2 – растворитель и вязкости смесей CO_2 – растворитель позволяют качественно предсказать морфологию и размер получаемых методом SAS частиц.

Обнаружение факта бимодальности и мономодальности распределения по размеру частиц, осаждаемых методом SAS, в зависимости от числа фаз системы CO_2 – растворитель – растворённое вещество открывает возможность

существенной оптимизации методик при получении микрочастиц методом SAS, а также является необходимым для дальнейшего масштабирования.

На защиту выносятся следующие положения:

1) результаты определения растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель (растворители) при давлении 100 и 150 бар и температуре 40 °С;

2) результаты определения вязкости смесей CO_2-растворитель (метанол, этанол, ацетон, ДМСО, ДМФА, этилацетат, хлороформ, ацетонитрил) при давлении 150 бар и температуре 40 °С;

3) установленные закономерности влияния вязкости смесей CO_2-растворитель и растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель на морфологию и размер осаждаемых частиц левофлоксацина;

4) наличие мономодальности и бимодальности распределения частиц левофлоксацина по размеру при проведении SAS из однофазной и двухфазной систем CO_2 – растворитель соответственно.

Апробация работы

Основные результаты работы представлены на 2-х российских и 5-и международных конференциях: X Научно-практическая конференция (с международным участием) «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» Ростов-на-Дону – 2019, XI Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» - Иваново – 2021; XIII Всероссийская школа-конференция молодых учёных имени В.В. Лунина «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем». – Архангельск – 2022; XII Научно-практическая конференция с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» - Тверь – 2023; XII Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» - Иваново – 2023; XV Всероссийская школа-конференция молодых учёных имени В.В. Лунина

«Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем». – Иваново – 2024; XIII Научно-практическая конференция с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации». Кострома – 2025.

Публикации

По результатам работы опубликовано 7 статей в профильных рецензируемых зарубежных и российских журналах, рекомендованных ВАК, 7 тезисов докладов.

Достоверность результатов

Результаты диссертации получены с использованием современных взаимно дополняющих физико-химических методов анализа и согласуются с имеющимися литературными данными и общими закономерностями, присущими системам в сверхкритическом состоянии. Результаты экспериментов по кристаллизации методом SAS находятся в соответствии с литературными данными и современными представлениями о зародышеобразовании и росте частиц. Анализ результатов был проведён в соответствии с существующими теоретическими концепциями физической химии.

Личный вклад соискателя состоял в самостоятельном выполнении экспериментальных работ по сверхкритическому антисольвентному осаждению, разработке нового метода определения растворимости микронизуемого вещества в смесях CO_2 – растворитель, анализу образцов методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и рентгенофазового анализа (РФА), участии в обсуждении полученных результатов, подготовке статей по тематике работы и выступлении на научных конференциях и семинарах.

Теоретическая значимость

Результаты диссертационной работы расширили научные знания в области сверхкритического антисольвентного осаждения. Полученные в ходе работы данные (значения вязкости смесей CO_2 – растворитель, значения растворимости левофлоксацина в смесях CO_2 – растворитель, а также информация относительно фазовых равновесий исследуемых систем) открывают возможность для прогнозирования результатов микронизации и проведения направленной кристаллизации методом SAS.

Методология и методы исследования

Методологическими основами работы являются экспериментальные исследования в области физической химии и сверхкритических флюидных технологий.

Структура и объём диссертации

Работа состоит из введения, 3 глав (литературный обзор, экспериментальная часть, результаты и обсуждение), полученных результатов и выводов, списка цитируемой литературы и 2 приложений. Диссертация изложена на 131 странице, содержит 39 рисунков, 10 таблиц и список цитируемой литературы из 209 наименований.

Благодарности

Автор диссертации выражает искреннюю благодарность:

Научному руководителю к.х.н. Паренаго О. О.; коллегам группы сверхкритических флюидов ИОНХ РАН: академику РАН Лунину В. В., О. И., Устиновичу К. Б., Костенко М. О., Зуеву Я. И. и Рубцову Я. П. за помощь в работе и обсуждение полученных экспериментальных данных;

сотрудникам ИОНХ РАН к.х.н. Гаврикову А. В., к.х.н. Фатюшиной Е. В., Япрынцеву А. Д., к.ф.-м.н. Привалову В. И. за помощь в анализе образцов и интерпретацию полученных данных.

1. Литературный обзор

1.1. Пересыщение в растворах как основа формирования микрочастиц

Подавляющее большинство методов селективного создания частиц заданной морфологии и размера предполагают растворение микронизуемого вещества в подходящем растворителе и дальнейшую кристаллизацию из полученного раствора. При этом, фундаментальные основы процессов, в которых предполагается образование твёрдых продуктов из растворов, в том числе и сверхкритическое антисольвентное осаждение, описаны в работах Рогинского и Тодеса [2, 3, 4]. Процесс изотермической кристаллизации рассматривается в предположении, что зародышеобразование кристаллов описывается уравнениями классической термодинамической теории, а последующий рост образовавшихся кристаллов протекает через моно- и полинуклеарное зародышеобразование на собственной подложке. Весь процесс спонтанной кристаллизации можно разбить на две стадии: образование зародышей кристаллов и рост из образовавшихся зародышей. При этом считают, что пересыщение в растворе на первой стадии почти не снижается, а число кристаллов, образовавшихся в первоначальный период, остаётся неизменным в течение всего процесса кристаллизации. Рост кристаллов подчиняется уравнению первого порядка относительно пересыщения раствора. При принятых допущениях, общая поверхность растущих в растворе кристаллов будет определяться уравнением 1.1:

$$S = 3\sqrt[3]{\frac{4\pi}{3}} * \frac{N^{\frac{1}{3}}\nu^{\frac{2}{3}}}{\rho_T^{\frac{2}{3}}}(C_{\text{исх}} - \text{C})^{2/3} \qquad (1.1)$$

S – общая площадь поверхности кристаллов в растворе (предполагается, что кристаллы имеют шарообразную форму), м^2;

C – массовая концентрация растворённого вещества в растворе, кг/м^3;

$C_{исх}$ – начальная массовая концентрация пересыщенного раствора соли, кг/м^3;

ρ_T – плотность кристаллов соли, кг/м^3;

ν – объём раствора, м^3;

N – общее число кристаллов соли в растворе.

Скорость снятия пересыщения в растворе при не очень высокой степени пересыщения в общем случае описывается известным эмпирическим уравнением 1.2:

$$-\frac{dC}{d\tau} = \frac{S\rho_T}{\nu} k_g (C - C_0)^z = \frac{S}{\nu} K (C - C_0)^z \quad (1.2)$$

τ – время, с;

k_g – средний коэффициент скорости роста кристаллов;

z – порядок уравнения роста кристалла (обычно равен 1-2);

C_0 – массовая концентрация насыщенного раствора соли, кг/м^3;

K – коэффициент массопереноса.

Модель Рогинского и Тодеса [4], а также предложенная чуть позже ячеистая модель процесса спонтанной кристаллизации [5, 6] предполагают одинаковую скорость роста кристаллов в растворе. Это должно приводить к монодисперсности образующихся кристаллов, что противоречит имеющимся экспериментальным данным. Для устранения недостатков такой модели, Хариным был внесён ряд изменений [7]. Было принято, что концентрация растворённого вещества в процессе кристаллизации изменяется равномерно во всём объёме раствора. Кроме того, если ранее масса кристалла определялась только продолжительностью его роста и не зависела от времени зарождения кристалла, то теперь она стала зависеть и от момента зародышеобразования. Авторы более поздних моделей [8, 9] для объяснения вида кривых распределения кристаллов по размерам учитывали флуктуации скоростей роста кристаллов.

В дальнейшем было признано, что важным фактором, влияющим на размер осаждаемых кристаллов, являются процессы агрегации и агломерации кристаллов

в процессе кристаллизации. На сегодняшний день, среди исследователей нет единого мнения о том, как такие процессы происходят и от чего зависит кинетика этих процессов. Существует два основных подхода. Первый из них основан на теории, предложенной Полаком [10]. По его мнению, срастание кристаллов происходит в результате образования между ними контактов срастания в виде зародышей-мостиков. Второй подход предполагает, что кристаллы срастаются между собой в результате простого роста их граней в пересыщенном растворе. Данный механизм срастания был подтвержден экспериментально [11]. Долгое время считалось, что подход Полака не реализуется при массовой кристаллизации из растворов при непрерывном движении в растворе. Однако исследования последних лет показывают, что это не так, и такой механизм вполне может выполняться в условиях массовой кристаллизации из растворов [12].

1.2. Формирование микрочастиц

Методы микронизации можно разделить на два основных подхода нисходящие ("top down") и восходящие ("bottom up"). Первый подход представляет собой прямое измельчение исходных частиц большого размера, в основном, механическими способами. Второй подход предполагает растворение микронизуемой субстанции в подходящем растворителе, и кристаллизацию микрочастиц из этого раствора. К традиционным методам подхода "bottom up" относятся распылительная сушка, криосушка, эмульсионные методы и осаждение жидким антирастворителем. Несмотря на обилие традиционных технологий микронизации, все они имеют существенные недостатки и ограничения, связанные с термической и механической деструкцией микронизуемого вещества, использованием токсичных растворителей, большими потерями при обработке и т.д. По этой причине, в последние десятилетия в рамках подхода "bottom up" активно развиваются альтернативные технологии, связанные с использованием сверхкритических флюидов (СКФ). Они характеризуются отсутствием или ограниченным использованием растворителей, расширенными возможностями по

контролю процесса, а также возможностью эффективно получать микро-, субмикро- и наночастицы с узким распределением по размеру [13].

1.2.1. Нисходящие методы микронизации («top down»методы)

К группе нисходящих методов микронизации можно отнести прежде всего механические методы. Методы механического измельчения можно разделить на сухие и мокрые. В случае сухого помола существует достаточно большое количество методов, например, измельчение в режущей мельнице, дробильной машиной, молотковой мельницей и др. Однако, по мнению авторов [14, 15] большая часть этих методов не позволяет получать частицы менее 10 мкм, и тем более контролировать морфологию получаемых частиц. Для получения частиц меньшего размера используют в основном измельчение в струйной либо шаровой мельнице.

Измельчение в струйной мельнице наиболее часто используется для микронизации фармацевтических препаратов. При этом в камеру измельчения подаётся поток сжатого воздуха (давление 3-10 бар), который при расширении достигает сверхзвуковых скоростей, вызывая активное столкновение частиц микронизуемого материала. Преимуществом метода является то, что несмотря на передачу большого количества энергии, термическая нагрузка на материал низка [16].

Измельчение в шаровой мельнице предполагает использование вращающегося сосуда, который частично наполнен шариками. Измельчение сырья достигается за счёт трения и соударений. В отличие от измельчения в струйной мельнице, таким методом можно передавать гораздо меньшее количество энергии [17].

В случае мокрого помола микронизуемая субстанция предварительно диспергируется в нерастворяющей её жидкости. Таким образом, можно предотвратить образование пыли и агломерацию частиц. Одной из разновидностей метода мокрого помола является гомогенизация высокого

давления. В данном методе суспензия микронизуемого вещества проходит до 10 циклов обработки при давлении около 1000 бар. Благодаря быстрому расширению, измельчение материала происходит за счёт кавитации [18]. Гомогенизация высокого давления является одним из немногих механических методов, позволяющих получать частицы субмикронного размера [19, 20]. Главным недостатком такого вида помола является частичное растворение субстанции, которое может вызвать неконтролируемую рекристаллизацию (особенно во время сушки) или изменения химической структуры вещества. Кроме того, в отличие от методов сухого помола, возникает необходимость проведения дополнительной стадии - удаления растворителя, что дополнительно усложняет процесс.

Методы механического измельчения привлекают своей относительной простотой и детальной отработанностью, однако все они характеризуются рядом существенных недостатков. Прежде всего, это большие потери вещества при обработке. Это связано и с многостадийностью обработки, и с широким распределением по размерам при измельчении, и с возможностью слипания частиц, вследствие накопления на их поверхности электростатического заряда [21, 22]. Последнее обстоятельство не только приводит к увеличению потерь, но также ухудшает пересыпаемость материала, что затрудняет фасовку, и может негативно сказываться на аэродинамических характеристиках [23].

1.2.2. Восходящие методы микронизации («bottom up» методы)

Распылительная сушка

В методе распылительной сушки раствор микронизуемого вещества распыляется в виде капель в поток нагретого газа (например, сжатый воздух). За счёт большой площади контакта капли быстро высушиваются, формируя аэрозоль. Микрочастицы отделяют от потока воздуха с помощью циклонных сепараторов или фильтров [23]. К преимуществам распылительной сушки относится возможность получения частиц, гораздо меньших и с более узким

распределением, чем позволяет получать большая часть механических методов микронизации [24]. С другой стороны, ей свойственен ряд собственных ограничений [25]. Во-первых, она плохо применима для термолабильных веществ, так как часто необходимо использовать достаточно высокие температуры. Во-вторых, эффективность сепаратора при улавливании частиц размером менее 2 мкм достаточно низка [26]. Обычно выход продукта в процессе распылительной сушки составляет 20 - 50% [27].

Распылительная криосушка

Суть метода распылительной криосушки (**S**pray **F**reeze-**D**rying, SFD) заключается в распылении раствора микронизуемого вещества в сосуд, содержащий криогенную жидкость, такую как азот, кислород или аргон. Капли, образующиеся при распылении, быстро замораживаются. Лиофильная сушка таких замороженных капель приводит к образованию пористых микрочастиц [28]. Одним из основных недостатков метода является то, что он требует длительного времени: полное проведение процесса распылительной криосушки может занимать около 3-х дней. Кроме того, использование низких температур делает процесс чрезвычайно энергозатратным [29].

Эмульсионные методы

Одним из наиболее простых и хорошо изученных эмульсионных методов является инкапсуляция типа «масло в воде» (O/W encapsulation). В данном методе растворяют, либо диспергируют активный фармацевтический ингредиент в растворе полимера (например, полилактида или полилактогликолида) в подходящем органическом растворителе (хлороформ, дихлорметан и др.), и диспергируют данную фазу в водной фазе. При этом две фазы подбирают так, чтобы они не смешивались. В водную фазу часто добавляют эмульгирующие компоненты, такие как полисорбат-80 или желатин. Перемешивание производят до тех пор, пока органический растворитель не испарится из системы. После испарения растворителя образуются сферические микрочастицы, содержащие полимер и микронизуемое вещество [30].

Для диспергирования фазы масла в водной фазе используют различные методы. Наиболее широко применяемым методом является использование пропеллерной мешалки, снабжённой мотором, обеспечивающим варьирование скорости перемешивания. Увеличение скорости перемешивания уменьшает размер диспергируемых капель. Кроме того, применяют микрофлюидайзер [31], обработку ультразвуком [32], потенциометрическое диспергирование [33] и т.д.

Для водорастворимых субстанций метод инкапсуляции типа «масло в воде» чаще всего не применим, так как приводит к быстрому вымыванию целевого вещества из фазы полимерного раствора и растворению в водной фазе. Для таких веществ более актуально использование инкапсуляции типа «масло в масле» (O/O encapsulation). В такой разновидности метода в качестве фазы, заменяющей водную, используют минеральные и пищевые масла [34, 35]. Кроме того, существуют методы создания двойных или множественных эмульсий, например, инкапсуляция типа «вода в масле в воде» (W/O/W encapsulation). В этом методе создают эмульсию водного раствора целевого вещества в полимерном растворе, а затем полученную эмульсию диспергируют в другой водной фазе [36].

Несмотря на кажущуюся простоту процесса, эмульсионные методы характеризуются времязатратностью и многостадийностью, в основном связанной с отделением полученных твёрдых частиц от многочисленных компонентов системы, в которой производили процесс.

Жидкостное антисольвентное осаждение

В методе жидкостного антисольвентного осаждения к раствору целевого вещества добавляют компонент (антирастворитель), в котором микронизуемая субстанция нерастворима. Растворяющая способность смеси растворитель - антирастворитель оказывается гораздо ниже, чем в случае чистого растворителя, что приводит к резкому пересыщению в растворе и выпадению в осадок целевого вещества. За счёт высоких степеней пересыщения скорость зародышеобразования существенно превосходит скорость роста осаждаемых частиц, что позволяет получать этим методом частицы микронного [37, 38], субмикронного [39, 40] и нано- размера [41, 42]. Для интенсификации процесса антисольвентного

осаждения широко применяются различные устройства смешения, такие как статический смеситель, вихревой смеситель, Y-образный микроканальный реактор, Т-образный смеситель и др. Они позволяют уменьшить время смешения до милли- и микросекунд [43]. В некоторых устройствах смешения предусмотрена также передача дополнительной внешней энергии, например ультразвуковое воздействие [44].

Преимуществом метода жидкостного антисольвентного осаждения является относительная простота проведения процесса: отсутствует необходимость использования повышенной температуры, процесс проводят при атмосферном давлении. По сравнению с другими "bottom up" методами такой процесс легко масштабируется, а стоимость оборудования достаточно низка. Метод жидкостного антисольвентного осаждения применяется для широкого круга материалов, таких как фармацевтические препараты, полимеры, белки, неорганические субстанции [45]. Основным недостатком метода является то, что конечный продукт представляет собой суспензию микрочастиц в смеси растворитель - антирастворитель. Для получения продукта в сухом виде необходимы дополнительные стадии выделения и очистки частиц от растворителя.

1.3. СКФ технологии микронизации

Методы микронизации, основанные на использовании сверхкритических флюидов, можно разделить в соответствии с ролью, которую играет сверхкритический флюид в процессе. В подавляющем большинстве случаев сверхкритический флюид может являться растворителем, антирастворителем или растворённым веществом.

1.3.1. Быстрое расширение сверхкритических растворов (RESS)

Метод быстрого расширения сверхкритических растворов (RESS - The **R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **S**olutions) основан на способности сверхкритического флюида (чаще всего СК-CO_2) растворять твёрдые вещества. Принципиальная схема, иллюстрирующая типичную установку для проведения процесса RESS, приведена на рис. 1.1. Суть подхода RESS заключается в растворении микронизуемого твёрдого субстрата в СК-флюиде с последующим распылением получаемого раствора в сосуд с низким давлением (7). Сброс получаемого истинного раствора через нагретое сопло в сосуд с низким давлением приводит к потере растворяющей способности флюида. Растворённое вещество быстро кристаллизуется в виде частиц малого размера, которые собирают из газового потока. Морфология получаемого материала, степень кристалличности, а также размер частиц зависят от химической структуры вещества и параметров RESS (температура, скорость сброса давления, геометрия сопла и др.) [46]

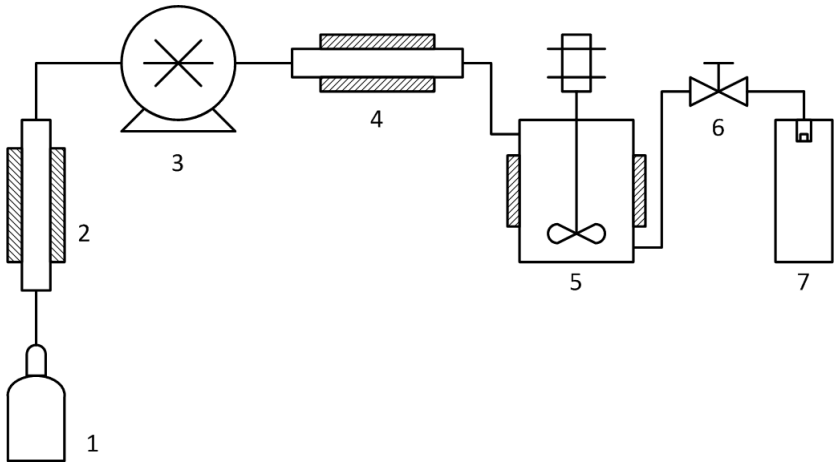


Рис. 1.1. Типичная схема установки для проведения процесса RESS:
1- источник CO_2; 2 - охлаждающий теплообменник; 3 - насос CO_2; 4 – нагреватель; 5 – сосуд с мешалкой (для растворения в сверхкритическом флюиде); 6 – кран; 7 – сосуд-сборник

Концепция метода RESS впервые описана Ханнеем и Хогартом [47], почти 140 лет назад. Однако, активное применение и разработка этого метода начались только после работ Крукониса [48] и, в особенности, научной группы института

Баттеля [49, 50, 51, 52, 53], которые описали и моделировали характер расширения сверхкритического флюида и процесс нуклеации.

Метод RESS позволяет получать не только нано- [54, 55] и микрочастицы [56, 57], но и волокна [58] и плёнки [59]. Кроме того, при получении плёнок существует разновидность RESS, в которой распыление сверхкритического раствора производят на нагретую подложку. При этом осаждающийся из раствора в сверхкритическом флюиде субстрат разлагается. Этот метод применяли для получения плёнок серебра, меди, никеля [60]. В качестве растворителя, помимо наиболее широко распространённого в СКФ-технологиях CO_2, в методе RESS используют N_2O, пентан, диэтиловый эфир [60], пропан [52], этанол, воду [50], трифторметан [61], дифторхлорметан [62], аммиак, метанол, ацетон [63].

Очевидным преимуществом метода RESS в его классическом варианте является полное отсутствие растворителя в получаемом продукте. Однако, растворяющей способности сверхкритического флюида для большего числа веществ может быть недостаточно, что обуславливает необходимость использования сорастворителя [64]. Альтернативой может являться использование метода RESS-SC (**R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **S**olution with **S**olid **C**osolvent – быстрое расширение сверхкритического раствора с твёрдым сорастворителем). Суть метода RESS-SC состоит в том, что помимо микронизуемого вещества в сверхкритическом флюиде растворяют также твёрдый сорастворитель (например, ментол), который приводит к увеличению растворимости микронизуемой субстанции в получаемом сверхкритическом растворе [65]. В работе [66] показано, что при использовании ментола в качестве сорастворителя можно увеличить растворимость гризеофульвина в сверхкритическом CO_2 в 28 раз. Кроме того, твёрдый сорастворитель не только увеличивает растворимость в СК-CO_2, но и препятствует росту образующихся частиц за счёт подавления агломерации. RESS-SC позволяет получать микронизованные частицы гризеофульвина размером 50 - 250 нм, что в 10 раз меньше чем при использовании RESS без твёрдого сорастворителя.

Интересной модификацией метода RESS является RESOLV (**R**apid **E**xpansion of supercritical solution into liquid **SOLV**ent - быстрое расширение сверхкритического раствора в жидкий растворитель), который основан на распылении сверхкритического раствора в жидкость, содержащую стабилизатор. Использование стабилизатора позволяет, во-первых, замедлить рост осаждаемых частиц. Во-вторых, открывается возможность совмещения процесса RESS и химической реакции за счёт взаимодействия между получаемыми частицами и веществами в жидкой фазе. В работе [67] в раствор Na_2S в этаноле или воде проводили распыление раствора $Cd(NO_3)_2$ в сверхкритическом аммиаке. Таким способом получали частицы CdS размером 3,3 нм. Раствор, в который производили распыление, также содержал поли (N-винил-2-пирролидон), который играл роль стабилизатора наночастиц. Аналогично, в работе [63] при использовании $Pb(NO_3)_2$ в сверхкритическом аммиаке получены частицы PbS размером 4 нм.

Близок по своей сути к процессу RESS метод CPF (**C**oncentrated **P**owder **F**orm technology – технология концентрирования с помощью порошкообразных форм) [68]. На рис. 1.2 приведена схема процесса CPF. В методе CPF жидкость и сверхкритический флюид смешиваются с помощью статического смесителя (1), и сформированный таким образом раствор распыляется через сопло в сосуд с пониженным давлением (2). Одновременно через этот же сосуд пропускают аэрозоль вещества-носителя в потоке инертного газа. При расширении жидкость рассеивается в виде очень мелких капель, которые смешиваются с порошком [69]. Процесс CPF позволяет получать порошки, наполненные жидкостью, с концентрацией жидкости вплоть до 80-90 масс. % [70, 71]. Такая технология уже применяется в пищевой промышленности, например, в производстве специй с помощью метода CPF распыляются экстракты сельдерея, лавра, орегано, паприки и т.д. [72].

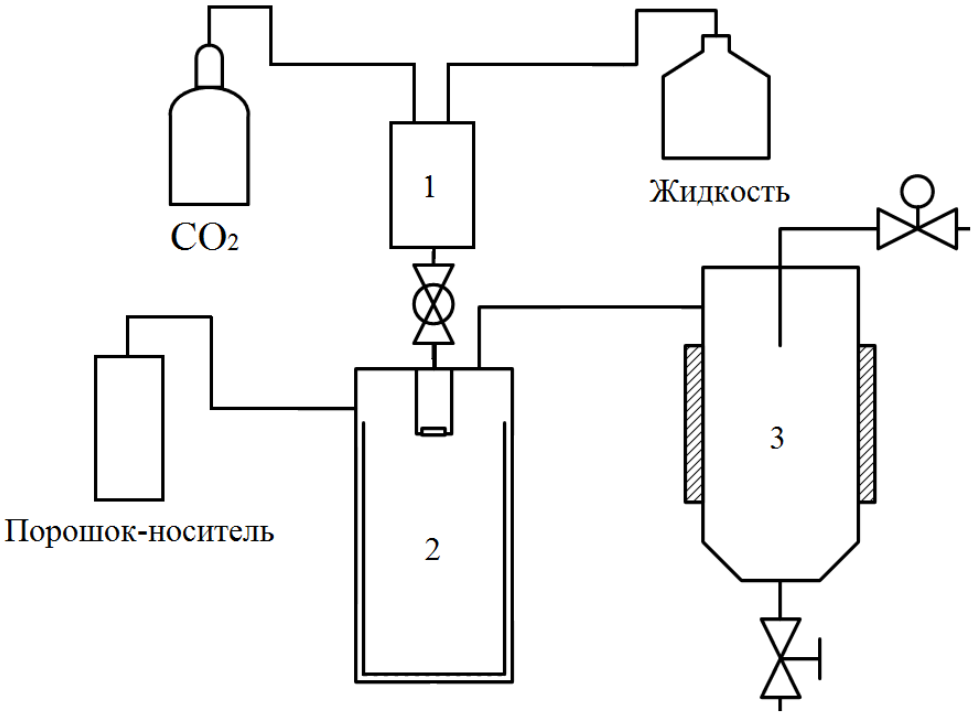


Рис. 1.2. Схема метода CPF:
1- смеситель; 2 – сосуд распыления; 3 - сепаратор

Главным ограничением метода RESS является то, что он применим только к веществам, которые достаточно хорошо растворимы в выбранном сверхкритическом флюиде. К сожалению, большая часть полярных и/или высокомолекулярных веществ имеют пренебрежимо малую растворимость в СК-CO_2, который наиболее часто используется в качестве СКФ. Использование же сорастворителя в RESS, также как и RESOLV, приводит к потере основного преимущества RESS: отсутствию растворителя в конечном продукте. Соответственно, данные методы требуют дополнительных трудозатратных стадий очистки продукта от растворителя [73].

1.3.2. СКФ – растворённое вещество (PGSS)

В методе PGSS (**P**articles from **G**as **S**aturated **S**olution – частицы, формируемые из насыщенного газом раствора) сжатый газ (например, CO_2) растворяют в расплавленном веществе, и затем через распылительное сопло быстро сбрасывают давление, что приводит к формированию частиц. В отличие

от метода RESS, PGSS не требует полного растворения вещества в сверхкритическом флюиде, что даёт возможность проводить процесс PGSS для гораздо большего числа веществ. Особенно актуально его использование для полимеров, которые поглощают большие количества CO_2 (10–40 масс. %!), что приводит либо к набуханию, либо к разжижению полимера при существенно меньшей температуре плавления, чем при обычных условиях (на ~ 10–50 °C меньше) [74, 75].

Метод PGSS впервые описан Грейзером [76] и применён для рекристаллизации красителей из тонкоизмельчённых необработанных органических пигментов. Сфера применимости метода PGSS ограничена, так как он фактически применим лишь для полимеров, способных набухать в CO_2. Однако, даже для полимеров, способных набухать в CO_2, PGSS часто оказывается неприменим, так как не всегда удаётся достичь существенного понижения температуры плавления. Кроме того, для проведения процесса PGSS часто нужна повышенная температура, которая может приводить к изменениям химической структуры микронизуемых веществ. Таким образом, для термолабильных веществ метод PGSS также малоприменим [77, 78]. К недостаткам метода также можно отнести достаточно большой разброс получаемых частиц по размерам и трудность контроля над этой характеристикой.

Тем не менее, метод имеет ряд достоинств по сравнению с другими методами, основанными на использовании сверхкритических флюидов. Так, расход углекислого газа в методе PGSS значительно меньше, чем в RESS. Кроме того, возможно непрерывное проведение процесса PGSS, в отличие от RESS. В отличие от метода SAS (см. ниже), метод PGSS не требует использования органических растворителей.

1.3.3. СКФ - сорастворённое вещество (SAA, CAN-BD, DELOS)

Методы, в которых CO_2 используется в качестве сорастворённого вещества, имеют много общего с микронизацией распылительной сушкой: СКФ и раствор

смешиваются и затем распыляются в высушивающую среду. Такие методы очень привлекательны, так как могут быть применены к водорастворимым веществам, которые сложно обработать другими СКФ-методами в отсутствие органических растворителей. Распылению также содействует инертный газ (чаще всего азот), широко используемый в распылительной сушке.

Для микронизации гидрофильных веществ Сиверсом [79, 80, 81, 82] был предложен метод CAN-BD (**C**arbon dioxide **A**ssisted **N**ebulization-**B**ubble **D**ryer - распылительная сушка с использованием диоксида углерода). В процессе CAN-BD в тройнике малого объёма (< 0.1 мкл) путём смешения сверхкритического CO_2 и водного раствора микронизуемой субстанции создают двухфазную смесь. Двухфазная система проходит через короткий капилляр (50-70 мм) и быстро распыляется в сосуд с близким к атмосферному давлением. Через тот же сосуд одновременно пропускают поток подогретого инертного газа, который испаряет растворитель из образующихся капель, и приводит к образованию микрочастиц. К недостаткам метода относятся плохая воспроизводимость, по всей видимости, связанная со значительными перепадами давления внутри распылительного капилляра и тройника малого объёма. Используемая в методе CAN-BD конфигурация прибора обеспечивает малое время смешения потоков флюида и раствора (0,01 – 0,1 с).

Учитывая описанный недостаток метода CAN-BD, Ревершоном и др. был разработан процесс SAA (Supercritical Assisted Atomization – распыление с помощью сверхкритического флюида) [83, 84]. На рис. 1.3 приведена схема процесса SAA. Вместо тройника малого объёма в процессе SAA используется термостатируемая камера насыщения (6), обеспечивающая не только лучшую степень смешивания потоков, но и растворение CO_2 до равновесной концентрации в растворе. Такой процесс широко применяется для микронизации фармацевтических препаратов [85, 86, 87], катализаторов [88], полимеров [89, 90, 91], красителей [92]. В качестве растворителя микронизуемых веществ применяют воду, метанол, ацетон. Существуют примеры реализации SAA на пилотном оборудовании [93].

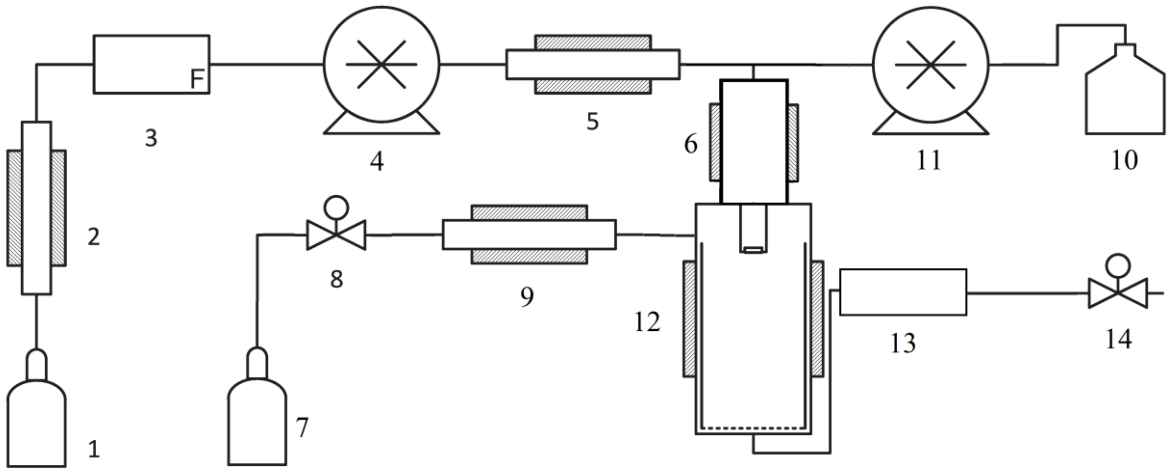


Рис. 1.3. Схема установки для проведения процесса SAA:
1- источник CO_2; 2 - охлаждающий теплообменник; 3 – измеритель потока; 4 - насос CO_2; 5 – нагреватель; 6- сосуд насыщения; 7 – источник инертного газа; 8 – кран; 9 – нагреватель; 10 – раствор микронизуемого вещества; 11 – растворный насос; 12 –сосуд осаждения; 13 – конденсатор; 14 – регулятор давления

Распыление в SAA является двухстадийным. На первой стадии протекает формирование капель на выходе из форсунки, вызванное пневматическим эффектом. На второй стадии происходит распыление за счёт расширения СК-флюида из капель, образованных на первой стадии. Таким образом, происходит образование вторичных капель [94].

Ограничением метода SAA является то, что для термолабильных веществ он малоприменим. Если сброс давления производят в сосуд, находящийся при атмосферном давлении, то требуются достаточно высокие температуры для полного удаления растворителя из продукта. По этой причине, для термолабильных веществ может быть уместно применение модификации SAA, в которой сосуд осаждения подключён к вакуумному насосу. Это позволяет проводить процесс при давлении ниже атмосферного, что даёт возможность существенно уменьшить температуру. Тем самым становится возможным применение метода SAA для полимеров с низкой температурой стеклования и белков [95].

Разработана также модификация метода SAA-HCM (**S**upercritical fluid **A**ssisted **A**tomization introduced by **H**ydrodynamic **C**avitation **M**ixer – распыление с помощью сверхкритического флюида со встроенным кавитационным

смесителем). Данное устройство используется для интенсификации массообмена между раствором и СК-флюидом, что приводит к осаждению частиц меньшего размера с более узким распределением [96, 97, 98, 99].

Ещё одним процессом, в котором CO_2 играет роль сорастворённого вещества, является DELOS (**D**epressurization of an **E**xpanded **L**iquid **O**rganic **S**olution – сброс давления в расширенном растворе в органическом растворителе) [100]. Суть метода состоит в том, что раствор микронизуемого вещества насыщают углекислым газом, а затем резко сбрасывают полученную смесь в сосуд с атмосферным давлением. Расширение CO_2 за счёт перехода из СК-флюида в газообразное состояние при сбросе давления приводит к очень быстрому, но равномерному по объёму, охлаждению. Как следствие, раствор находится в состоянии очень высокого пересыщения, при котором наблюдается образование частиц субмикронного и микронного размера. Процесс DELOS успешно применялся для микронизации красителей [101] и фармацевтических препаратов [102].

1.3.4. СКФ –антирастворитель (SAS, GAS, ASES, SEDS, PCA)

СКФ используется в качестве антирастворителя (осадителя) в достаточно большом количестве различных процессов, однако по своей сути они схожи во всех случаях. Необходимым условием всех таких процессов является нерастворимость в сверхкритическом флюиде растворённого вещества и растворимость в нём жидкого растворителя. По этой причине смешивание раствора с сверхкритическим флюидом приводит к пересыщению раствора и выпадению в осадок растворённого вещества. Благодаря высоким скоростям массопереноса, взаимное растворение растворителя и сверхкритического флюида происходит очень быстро, что обеспечивает формирование микро-, субмикро- и наночастиц. Наиболее существенным отличием в проведении процессов, в которых СКФ используют в качестве антирастворителя, является то, как проводят процесс – в полунепрерывном режиме или стационарно.

Стационарный процесс сверхкритического антисольвентного осаждения (GAS)

В стационарном процессе (GAS: **G**as **A**nti**S**olvent precipitation – осаждение в газофазном антирастворителе) осадительный сосуд заполняют определённым количеством раствора микронизуемого вещества. К данному раствору добавляют сверхкритический антирастворитель до необходимого давления, что приводит к объёмному расширению жидкости и быстрому уменьшению плотности. Происходит резкое пересыщение и формирование малых частиц с узким распределением по размеру. На рис. 1.4 приведена схема, иллюстрирующая процесс GAS. Антирастворитель может подаваться сверху либо снизу осадительного сосуда.

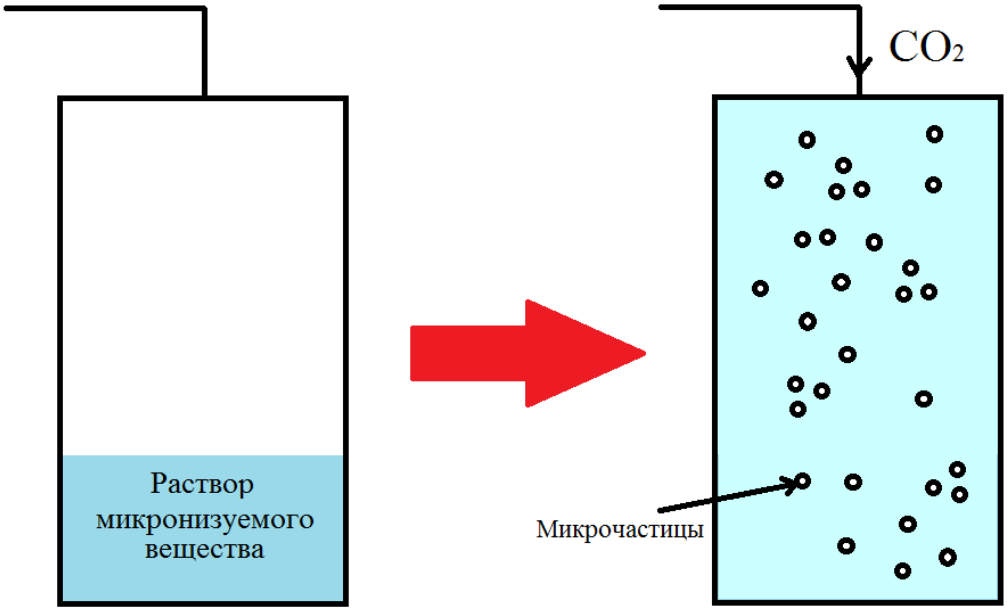


Рис. 1.4. Схема проведения процесса GAS

Важным преимуществом процесса GAS является то, что, изменяя скорость добавления антирастворителя, исходную концентрацию субстанции в растворе и температуру, можно контролировать скорость зародышеобразования и роста частиц, и таким образом морфологию и размер осаждаемых частиц. В процессе GAS объёмное расширение жидкости зависит от температуры, давления, типа растворителя и антирастворителя, и скорости перемешивания. Объёмное расширение жидкости в свою очередь напрямую определяет степень

пересыщения и, соответственно, распределение частиц по размеру [103]. Метод GAS позволяет получать частицы от сотен нанометров [104] до сотен микрон [105].

Помимо ввода антирастворителя в раствор, возможно также проведение процесса GAS, в котором сначала заполняют камеру осаждения антирастворителем, а затем производят (не непрерывно, в отличие от SAS) распыление раствора. Ключевым отличием между данными разновидностями метода GAS состоит в том, что в первом случае осаждение происходит в фазе, насыщенной жидкостью, тогда как во втором – сверхкритическим флюидом [106].

Недостатком метода GAS, во-первых, является то, что процесс не проводится при фиксированных неизменяющихся параметрах, поэтому сложно оценить влияние каждого параметра на свойства конечного продукта. Во-вторых, для промышленного использования периодические процессы, к которым можно отнести GAS, часто менее приемлемы по сравнению с непрерывными. Кроме того, в отличие от RESS и PGSS, в методе GAS необходимо использование органических растворителей. Соответственно, после проведения процесса осаждения сосуд промывают дополнительным количеством антирастворителя для удаления остатков растворителя из осаждённого порошка. Если стадия промывки отсутствует или время промывки недостаточно, то остатки растворителя могут приводить к перерастворению получаемых частиц.

Полунепрерывный процесс сверхкритического антисольвентного осаждения (SAS)

В полунепрерывном режиме раствор и антирастворитель постоянно смешивают в осадительном сосуде в параллельных потоках или противотоком. Наиболее часто используемое на сегодняшний день название данного метода - SAS (**S**upercritical **A**nti**S**olvent precipitation, сверхкритическое антисольвентное осаждение). Однако, часто используют аббревиатуру ASES (**A**erosol **S**olvent **E**xtraction **S**ystem – экстракция растворителя из аэрозолей). Суть ASES аналогична методу SAS [107, 108, 109].

Метод SAS широко применяется для микронизации различных фармацевтических субстанций [110, 111, 112, 113], при создании частиц катализаторов [114, 115, 116, 117], энергонасыщенных материалов [118, 119], прекурсоров сверхпроводников [120], полимеров [121, 122], пигментов [92, 123] и т.д. В случае некоторых процессов микронизации методом SAS проведено успешное масштабирование на пилотном оборудовании [124, 125, 126].

Важную роль в полунепрерывном варианте метода сверхкритического антисольвентного осаждения играют различные способы интенсификации массообмена между антирастворителем и раствором микронизуемого вещества. Так, Робертсон и др. [127] использовали устройство предварительного смешения, в котором раствор микронизуемого вещества смешивается с сверхкритическим CO_2 перед вводом в распылительный сосуд.

Во многих случаях при реализации метода SAS используют различные модификации распылительного сопла. Оно предназначено для разбивания струи жидкости и формирования маленьких капель. Наиболее широко применяют метод SEDS (**S**olution **E**nhanced **D**ispersion by **S**upercritical fluids – Диспергирование раствора, усовершенствованное сверхкритическими флюидами), представляющий собой модификацию метода SAS, в которой для распыления раствора используют коаксиальное сопло [128]. Типичная схема коаксиального сопла приведена на рис. 1.5. Коаксиальное сопло представляет собой два соосно расположенных капилляра, расположенных один в другом. Обычно, по внутреннему капилляру пропускают поток раствора микронизуемого вещества, а по внешнему - поток антирастворителя [129, 130]. Однако, используют и более сложные конфигурации сопел, включающие более двух капилляров [129], а также дополнительные приспособления внутри капилляров [131, 132].

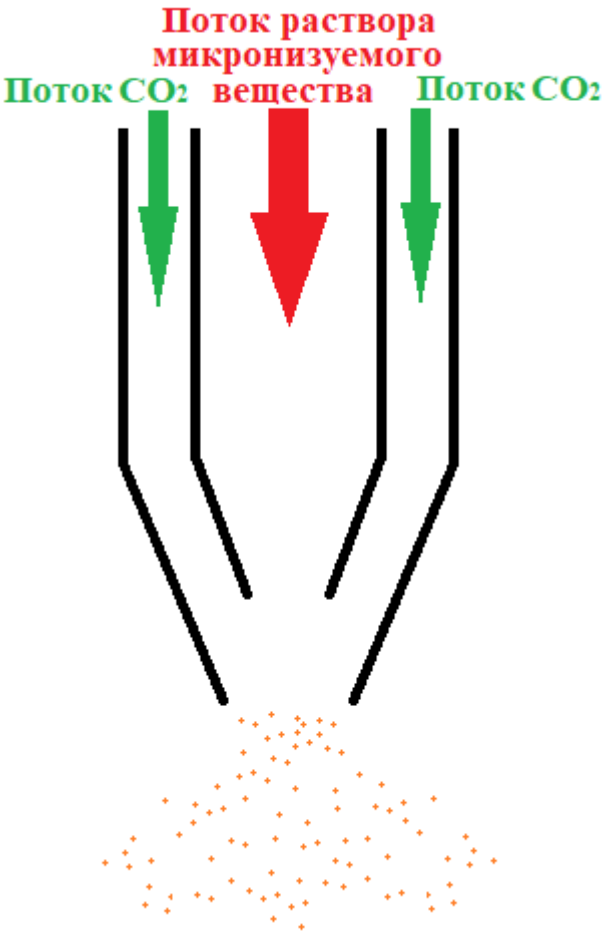


Рис. 1.5. Схема потоков в методе SEDS

Для дополнительного уменьшения размера получаемых методом SAS частиц используют также метод SAS-EM (Supercritical AntiSolvent with Enhanced Mass transfer - сверхкритическое антисольвентное осаждение с улучшенным массопереносом), в котором к сосуду осаждения прикладывают ультразвуковое воздействие. Впервые метод предложен для микронизации в стационарном режиме (GAS). Таким образом получали частицы гризеофульвина и лизоцима размером менее 130 нм и около 190 нм соответственно [133, 134]. В дальнейшем, метод SAS-EM применяли и в полунепрерывном режиме [135], в том числе и в варианте совмещения с коаксиальным соплом (SEDS-EM) [136].

Наиболее широко используемым антирастворителем для реализации метода сверхкритического антисольвентного осаждения является CO_2. Преимуществами данного флюида являются возможность проведения осаждения при относительно низких температурах и давлениях (критическая температура – 31 °C, критическое давление – 73 бар), дешевизна, инертность, а также негорючесть. Помимо CO_2 в

литературе известны немногочисленные примеры использования в качестве антирастворителя этана [137], аммиака [138], 1,1,1,2-тетрафторэтана [139, 140] или смеси CO_2 и N_2 [141]. Однако, применение данных флюидов имеет собственные ограничения. Например, несмотря на перспективность использования низших алканов (этан, пропан) для ряда приложений, они характеризуются высокой пожароопасностью. СК-аммиак обладает высокой реакционной способностью, что далеко не всегда желательно, а также остро неприятным запахом и токсичностью. СК-N_2 обладает очень низкой растворяющей способностью.

В качестве растворителя в методе SAS можно использовать различные вещества, имеющие сродство с СК-CO_2. Выбор растворителя сильно влияет на характеристики конечного продукта. Наиболее оптимальными растворителями, исходя из их сродства к СК-CO_2, являются диметилсульфоксид (ДМСО) и N-метилпирролидон (NMP). Кроме того, широко применяются метанол, ацетон, толуол, и этилацетат. Воду не используют в качестве растворителя из-за относительно малой растворимости в СК-CO_2. Следовательно, методом SAS трудно проводить микронизацию гидрофильных веществ. Более того при добавлении даже незначительных количеств воды к выбранному растворителю равновесие растворитель - антирастворитель существенно меняется. Однако, существуют подходы, позволяющие при определенных условиях использовать SAS гидрофильных веществ. Так, были найдены многие системы растворитель – антирастворитель, позволяющие обойти ограничение, связанное с низкой растворимостью воды в CO_2 [142, 143, 144].

Для нерастворимых ни в CO_2, ни в органических растворителях субстанций, возможно применение суспензионного варианта метода SAS. Такая модификация метода SAS прекрасно подходит для получения гибридных органо-неорганических материалов и других композитов, в состав которых входят нерастворимые компоненты [145, 146].

1.4. Влияние параметров SAS на форму и размер осаждаемых частиц

Одним из центральных преимуществ метода SAS является богатый арсенал возможностей управления размером и формой получаемых частиц, которое достигается путём варьирования многочисленных физико-химических параметров процесса. Помимо параметров, традиционных для растворных методов, таких как тип растворителя и концентрация микронизуемой субстанции в растворе, метод SAS обладает рядом специфических параметров, характерных для сверхкритических флюидных технологий (давление). Для полноценного использования этого потенциала требуется детальное понимание того, как параметры процесса SAS осаждения влияют на результаты микронизации. При этом число параметров процесса велико, и многие из них сложным образом зависят друг от друга. Эта сложность делает оптимизацию методики в SAS непростой процедурой, однако она же и является источником гибкости и многозадачности метода.

1.4.1. Фазовое равновесие системы растворитель - антирастворитель - растворённое вещество в методе SAS

Одним из факторов, который оказывает наибольшее влияние на форму и размер осаждаемых частиц в методе SAS, является фазовый состав системы, в которой производится осаждение. Необходимо учитывать, что данная система состоит из трёх компонентов: антирастворителя, растворителя и растворённого вещества. Определение фазового равновесия в такой трёхкомпонентной системе представляется затруднительным, поэтому чаще всего пренебрегают влиянием растворённого вещества на фазовое равновесие растворитель - антирастворитель, и рассматривают двухкомпонентную систему [147]. Однако, существуют примеры работ, в которых показано, что растворённое вещество может существенно расширять двухфазную область на фазовой диаграмме

двухкомпонентной системы, смещая критическую кривую в область более высоких давлений [148, 149, 150].

Как уже было отмечено выше, в роли антирастворителя в процессе SAS в подавляющем большинстве случаев выступает CO_2. Фазовые диаграммы двухкомпонентных смесей CO_2 и растворителей, наиболее широко применяемых в методе SAS, известны по литературным данным [151, 152, 153, 154, 155]. Если литературные данные отсутствуют, моделируют фазовые диаграммы с помощью уравнения Пенга-Робинсона [156, 157, 158] или строят их экспериментально.

Уравнение Пенга-Робинсона 1.3:

$$P = \frac{RT}{\nu - b} - \frac{a(T)}{\nu(\nu + b) + b(\nu - b)} \tag{1.3}$$

T - температура

P - давление

R - универсальная газовая постоянная

ν - молярный объём

Параметры уравнения Пенга-Робинсона для чистых компонентов являются комбинациями критических давлений и температур:

$$a(T) = \alpha(T)a(T_{кр}) \tag{1.4}$$

$$a(T_{кр}) = 0.45724\frac{R^2T_{кр}^2}{P_{кр}} \tag{1.5}$$

$$b(T_{кр}) = 0.0778\frac{RT_{кр}}{P_{кр}} \tag{1.6}$$

$$\alpha(T) = \left[1 + (0.37464 + 1.54226\omega - 0.26992\omega^2)\left(1 - \sqrt{T/T_{кр}}\right)\right]^2 \tag{1.7}$$

$T_{кр}$ - критическая температура вещества

$P_{кр}$ - критическое давление вещества

ω – фактор ацентричности молекул вещества

Это же уравнение в кубической форме может быть представлено в виде полинома:

$$z^3 - (1 - B)z^2 + (A - 2B - 3B^2)z - (AB - B^2 - B^3) = 0 \tag{1.8}$$

$$A = \frac{aP}{(RT)^2} \tag{1.9}$$

$$B = \frac{bP}{RT} \tag{1.10}$$

В соответствии с принятым законом смешивания и правилом комбинирования Мухопадхьяи и Рао [159] определяют величины a и b для смеси

$$a = \sum_i \sum_j y_i\, y_j a_{ij} \left(b/b_{ij}\right)^{m_{ij}} \tag{1.11}$$

$$b = \sum_i y_i b_i \tag{1.12}$$

$$a_{ij} = \sqrt{a_i a_j} \tag{1.13}$$

$$b_{ij} = \sqrt{b_i b_j} \tag{1.14}$$

где y_i и y_j – мольные доли i-го и j-го компонентов смеси в любой из равновесных фаз, m_{ij} – эмпирический коэффициент бинарного взаимодействия, учитывающий особенности парного взаимодействия разнородных молекул и определяющийся в рамках правила комбинирования Мухопадхьяи и Рао [160, 161].

CO_2 и органические растворители, в основном, формируют системы I-го типа по классификации, предложенной Ван Коненбургом и Скоттом [162, 163]. Фазовая диаграмма такой системы изображена на рис. 1.6. При температуре, меньшей, чем критические температуры компонентов, кривые состава жидкой и газовой фаз занимают всю область составов. При температуре выше критической температуры более летучего компонента в системе начинаются критические явления. Кривые «отрываются» от ординаты более летучего компонента и образуют петлю, очерчивающую область гетерогенного равновесия между жидкой и газовой фазами. По мере увеличения температуры область гетерогенного равновесия уменьшается и «стягивается» в точку в критической точке менее летучего компонента. При еще больших температурах оба компонента смешиваются в газовом состоянии во всех отношениях. Таким образом, в области между критическими температурами компонентов каждой

температуре соответствует давление, при котором «смыкаются» кривые растворимости газа в жидкости и жидкости в газе. Это «смыкание» происходит в точке, которая называется критической точкой двухфазного равновесия. Ряд таких точек в трёхмерном пространстве образует критическую кривую K_1K_2 двухфазного равновесия, которая может соединять критические точки чистых компонентов [164].

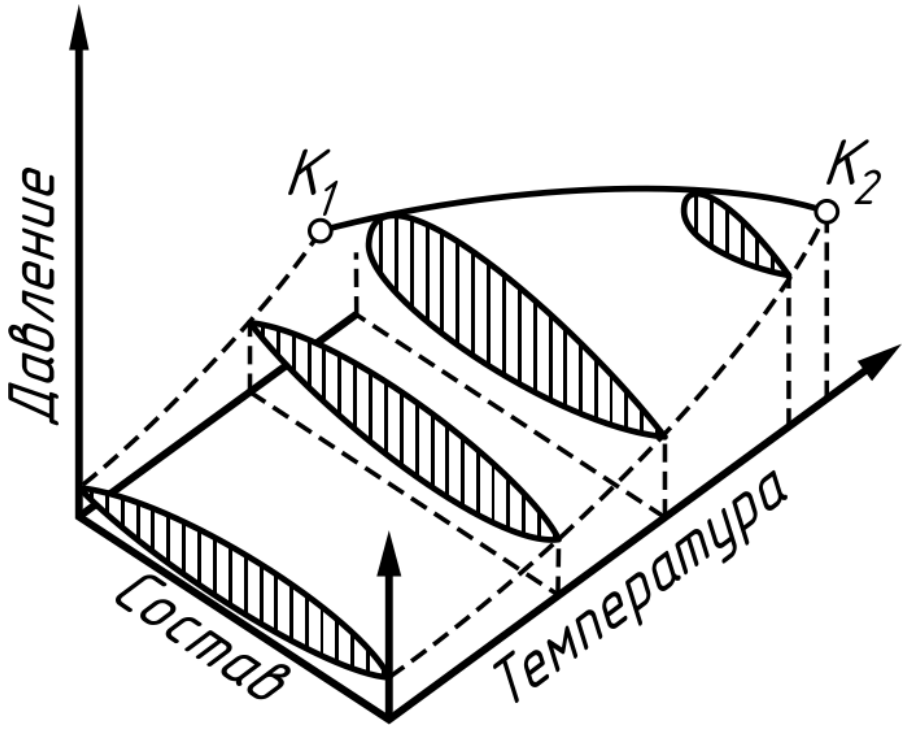


Рис. 1.6. Диаграмма равновесия жидкость-газ в двухкомпонентной системе I-го типа

Обычно при реализации метода SAS работают при зафиксированной температуре, превышающей критическую температуру CO_2. Рассмотрим такую P-x диаграмму (рис. 1.7). В зависимости от параметров состояния антирастворителя процесс SAS может проходить в двух принципиально различающихся режимах - абсолютной и частичной смешиваемости.

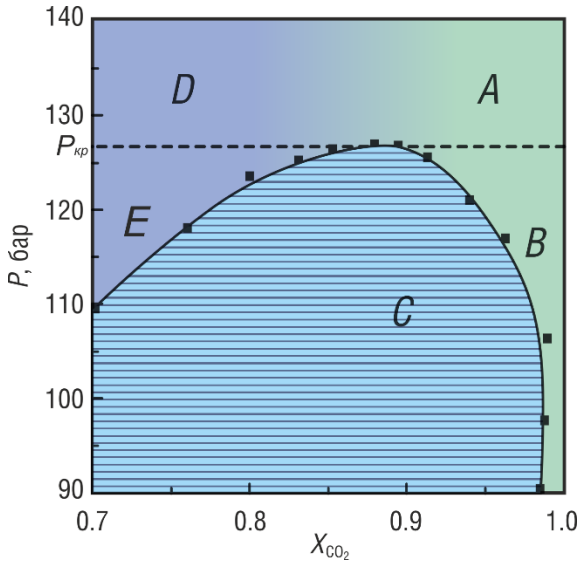


Рис. 1.7. Типовая фазовая диаграмма для системы CO_2 - органический растворитель. A - область сверхкритического флюида, абсолютная смешиваемость растворителя и CO_2. B - область так называемого «субкритического флюида», однофазная область с ограниченной взаимной растворимостью растворителя и CO_2. C - двухфазная область. D - однофазная область с высокой мольной долей растворителя в смеси, часто называемая областью жидкости высокой подвижности (enhanced fluidity liquid), E - однофазная область - раствор CO_2 в органическом растворителе, часто называемый газорасширенная жидкость (gas expanded liquid) [1].

1.4.1.1. Частичная смешиваемость растворителя и антирастворителя

При давлениях ниже критического смешиваемость существует не при любых соотношениях CO_2 и растворителя (рис. 1.7). При работе в этой области используют только такие мольные соотношения потоков растворителя и антирастворителя, которые в равновесии соответствовали бы однофазному состоянию (область B на рис. 1.7). В противном случае несмешавшиеся капли растворителя будут выносить большую часть целевого вещества из системы без осаждения. Процесс смешения потоков имеет определённую протяжённость во времени, при этом локальное соотношение раствора и антирастворителя соответствует переходу из области E в область B через область C. Область C соответствует двухфазной системе, в которой существует межфазное натяжение. Принято говорить о наличии так называемого «остаточного межфазного натяжения» в ходе смешения потоков при работе в субкритических условиях. Это

остаточное натяжение исчезает по мере перехода локального состава смеси из области С в область В.

После распыления раствора в CO_2 начинают происходить два процесса: 1) смешение, сопровождающееся эволюцией остаточного межфазного натяжения и 2) гидродинамический разрыв струи. Для характеризации этих процессов в SAS предложено два характеристических времени [165]. Первое время $t_{рс}$ (время разрыва струи) представляет собой время, за которое распыляемый раствор проходит расстояние от выхода из сопла до прохождения места разрыва струи. Второе характеристическое время $t_{имн}$ (время исчезновения межфазного натяжения) - время, за которое полностью исчезает граница раздела фаз между распыляемой жидкостью и сверхкритическим флюидом. Как правило, в условиях частичной смешиваемости растворителя и антирастворителя время исчезновения остаточного межфазного натяжения существенно больше времени разрыва струи ($t_{имн} \gg t_{рс}$). Поэтому формирование частиц происходит внутри капель, образующихся при разрыве струи до завершения смешения.

Капли раствора, образовавшиеся после разрыва струи, вступают во взаимодействие с антирастворителем. CO_2 диффундирует в капли, что вызывает их расширение и приводит к появлению градиента концентраций и степени пересыщения микронизуемых веществ по капле. В случае осаждения методом SAS аморфных веществ при работе в этой области чаще всего формируются полые сферические частицы микронного размера [166, 167, 168, 169]. При расширении капли максимум пересыщения приходится на границы капли, поэтому там идёт наиболее интенсивное осаждение, приводящее к формированию внешней оболочки частицы. Эта оболочка может быть как монолитной, так и сложенной из множества наночастиц, в зависимости от того, какой процесс является более медленным - массообмен между фазами или зародышеобразование [170, 171]. Если лимитирующей стадией является массообмен, то зародышеобразование успевает произойти во многих точках на границе капли, и образующаяся в результате частица состоит из множества наночастиц, скреплённых между собой. Если лимитирующей стадией является

зародышеобразование, то нужная степень пересыщения успеет сформироваться вдоль всей поверхности капли, и получится монолитная полая частица [1].

1.4.1.2. Полная смешиваемость растворителя и антирастворителя

При давлении выше критического двухфазная система не может существовать ни при каком соотношении растворителя и антирастворителя (рис. 1.7, область D-A). Однако остаточное межфазное натяжение в системе растворитель - антирастворитель также исчезает не мгновенно после распыления, и в зависимости от параметров процесса могут реализовываться два различных сценария смешения [172]. Если разрыв струи происходит быстрее, чем успевает исчезнуть межфазное натяжение ($t_{имн} > t_{рс}$), то осаждение идёт по сценарию, аналогичному субкритическому, с той разницей, что формирования полых частиц не происходит. Как правило, в случае аморфных веществ в таких условиях образуются сферические частицы микронного или субмикронного размера [173, 174, 175, 176]. CO_2, проникая в капли, вызывает падение растворяющей способности, приводящее к одновременному началу образования твёрдой фазы во многих точках внутри капли. Возникшие центры по мере роста срастаются воедино, поскольку они удерживаются рядом друг с другом межфазным натяжением, и размеры получающейся в результате частицы задаются размерами капли.

Если межфазное натяжение исчезает быстрее, чем происходит разрыв распыляемой струи ($t_{имн} < t_{рс}$), и чем, успевает начаться осаждение, то в таком случае смешение раствора и антирастворителя происходит газоподобным образом, и осаждение частиц идёт из однофазной смеси в условиях высокой степени пересыщения. На фазовой диаграмме такому сценарию соответствует движение из области D в область A без формирования неравновесного раздела фаз за счёт остаточного межфазного натяжения. При реализации этого сценария чаще всего в случае аморфных веществ образуются наноразмерные частицы нерегулярной формы, поскольку формирование твёрдой фазы идёт в условиях

высокой степени пересыщения и в большом объёме. Примеры получения таких наночастиц показаны в работах [177, 178, 179, 180, 181].

Повышение давления приводит к существенному увеличению скорости исчезновения межфазного натяжения. Первоначально считалось, что осаждение в первом режиме ($t_{имн} > t_{рс}$) может происходить только при давлении ненамного выше критического (до ~120 бар при 40 °C) для подавляющего большинства растворителей в SAS. Для некоторых растворителей с низкой вязкостью (ацетон) условие $t_{имн} > t_{рс}$ не выполняется практически сразу при превышении критического давления смеси [182, 183]. Однако, в дальнейшем было показано, что область давлений, в которой кристаллизация происходит в короткоживущих каплях раствора, может быть гораздо более широкой (выше 160 бар при 40 °C). Такой эффект характерен в особенности для вязких растворителей, например, ДМСО и в случае высоких концентраций микронизуемого вещества в растворе, что также может заметно увеличивать вязкость раствора [184]. Экспериментально микрочастицы, образующиеся при выполнении условия $t_{имн} > t_{рс}$, были получены при 180 бар (40 °C) [185].

1.4.2. Растворимость осаждаемых веществ в смеси растворитель - антирастворитель

Ещё одной важной термодинамической характеристикой SAS-системы является зависимость растворимости осаждаемых веществ в смеси растворитель - антирастворитель от содержания растворителя. Кинетика зародышеобразования и роста твёрдых частиц микронизуемых веществ определяется степенью пересыщения раствора, возникающего при смешении. На рис. 1.8 схематически представлены зависимости содержания, растворимости осаждаемых веществ в смеси растворитель - антирастворитель и степени пересыщения от мольной доли растворителя.

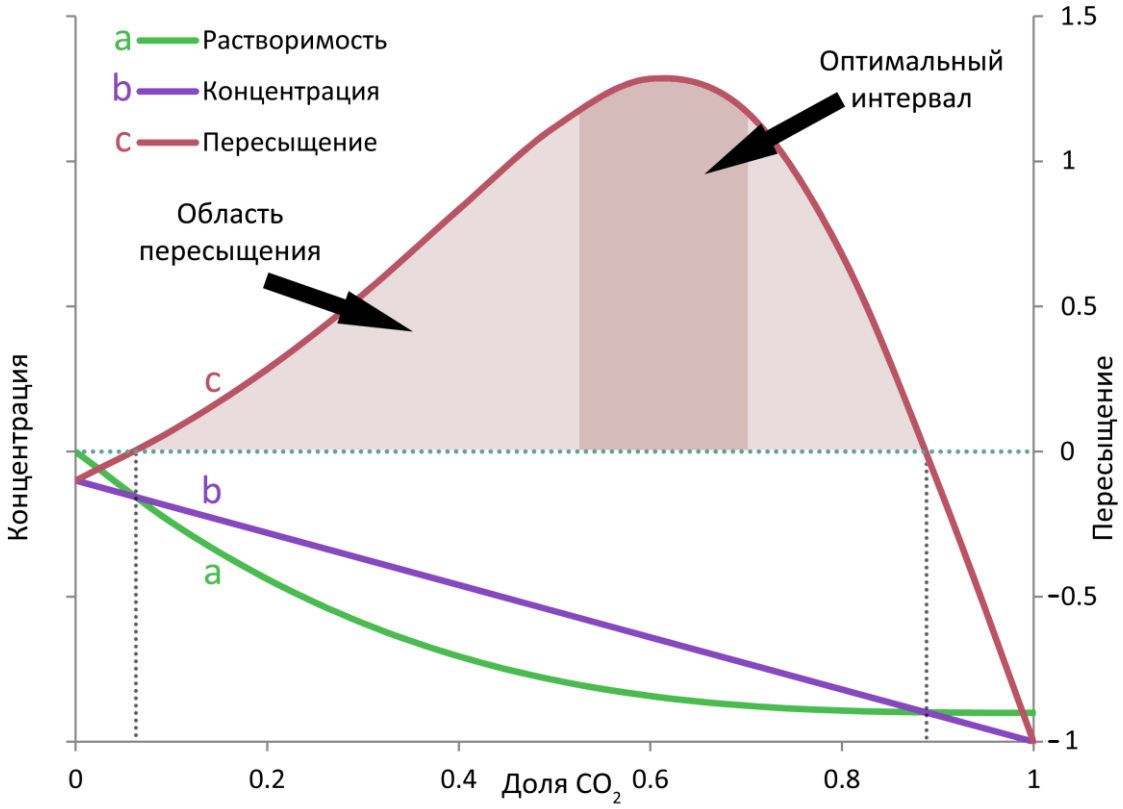


Рис. 1.8. Схематичные зависимости суммарной концентрации микронизуемого компонента, его растворимости в бинарной смеси растворитель - антирастворитель и степени пересыщения раствора от мольной доли растворителя

При смешении раствора с антирастворителем растворяющая способность смеси резко падает, вследствие чего возникает пересыщение. Принципиальная возможность проведения антисольвентного осаждения существует во всей области пересыщения. Однако, наибольшая эффективность осаждения достижима в оптимальном интервале, в котором степень пересыщения максимальна. При меньших степенях пересыщения процесс SAS может характеризоваться большими потерями микронизуемого вещества из-за его остаточной растворимости в смеси растворитель - CO_2. Фактором, который изменяет как растворяющую способность смеси растворитель - антирастворитель, так и концентрацию осаждаемого вещества в объёме, является соотношение скоростей потока CO_2 и растворителя. По мере увеличения соотношения скоростей потоков антирастворителя и раствора (движение вдоль оси абсцисс на рис. 1.8) доля растворителя в смеси падает, растворяющая способность продолжает уменьшаться, что ведёт к росту степени пересыщения. Однако поскольку концентрация микронизуемого вещества в исходном распыляемом растворе

является постоянной, то с ростом соотношения скоростей потоков падает не только доля растворителя в системе, но и общее содержание в ней осаждаемого вещества. При больших долях антирастворителя это содержание становится столь мало, что степень пересыщения начинает падать, в какой-то момент обращаясь в ноль.

Ещё одним фактором, который влияет на степень пересыщения, является исходная концентрация микронизуемого вещества в растворе. При недостаточной концентрации большая часть вещества может растворяться в смеси CO_2 – антирастворитель, что приводит к потерям микронизуемой субстанции. Помимо зависимости от типа растворителя, конкретный вид кривой пересыщения также сильно зависит от химической природы осаждаемых веществ.

1.4.3. Роль давления и температуры в SAS

Давление и температура антирастворителя как рабочие параметры, контролирующие размер и морфологию частиц, являются особенностью процесса SAS, отличающей его от других растворных методов синтеза микрочастиц. Влияние давления и температуры складывается из нескольких факторов и, в общем случае, не всегда можно предсказать, какой из факторов будет превалировать и к какому результату приведёт изменение параметров состояния антирастворителя.

Прежде всего, рабочие P и T определяют характер смешения растворителя и антирастворителя. Как указывалось выше, смешения при давлениях ниже критического, около критического и существенно выше критического могут проходить по качественно разным сценариям, которые, в сочетании с гидродинамическими характеристиками системы, «задают» размер частиц. Чем больше рабочее давление превышает критическое, тем меньше время существования динамического (остаточного) межфазного натяжения и, следовательно, тем выше вероятность, что формирование твёрдой фазы будет происходить в однофазной системе при высокой степени пересыщения. В таких

условиях для аморфных веществ, как правило, получаются частицы размером от десятков до сотен нанометров. Следовательно, повышение давления должно приводить к уменьшению размеров получаемых частиц.

Повышение температуры, как правило, приводит к повышению критического давления смеси, поэтому для обеспечения работы в однофазном режиме в SAS стараются работать при невысоких температурах (40 – 45 °C).

Кроме того, изменение P и T приводит к изменению плотности антирастворителя, что оказывает влияние на следующие аспекты процесса. С одной стороны, с ростом плотности антирастворителя растёт его гидродинамическое сопротивление, что уменьшает длину пробега струи раствора и уменьшает время разрыва струи. Это способствует более эффективному смешению растворителя и антирастворителя при однофазном смешении, либо образованию более мелких капель при двухфазном смешении, то есть приводит к уменьшению размера частиц. С другой стороны, с ростом плотности флюида растёт его растворяющая способность, что уменьшает степень пересыщения. Это должно приводить к увеличению среднего размера частиц и к росту степени их асимметричности. Влияние последнего фактора очень сильно различается для разных веществ. Для веществ с высокой полярностью, таких как неорганические соли или белки, этот фактор пренебрежимо мал, поскольку их растворимость в СК-CO_2 ничтожна даже при больших значениях плотности флюида. Для таких объектов, как нейтральные органические соединения или полимеры с относительно низкой молекулярной массой, этот фактор может оказывать решающее влияние на кинетику осаждения.

Также существует ряд дополнительных факторов помимо вышеописанных, которые оказывают влияние на процесс образования частиц в SAS и которые изменяются при изменении давления и температуры. Это коэффициенты летучести всех компонентов системы, вязкость растворителя и антирастворителя, скорости массообмена на микроскопическом уровне, определяемые диффузией, степень набухания целевых продуктов в СК-CO_2, конформационное поведение нежёстких молекул и, как следствие, конформационный полиморфизм

получаемых кристаллов. Влияние параметров состояния флюида на эти факторы изучено в гораздо меньшей степени, чем на плотность и фазовое состояние, и поэтому, к сожалению, пока не может быть учтено при разработке SAS- методик.

На практике из-за того, что давление изменяет очень большое число факторов, которые оказывают различное, часто противоположное, воздействие на морфологию и размер получаемых частиц, существуют примеры как уменьшения, так и увеличения среднего размера частиц при изменении давления [173]. В ряде случаев изменение давления не приводит к существенному изменению размера получаемых частиц [122, 177] (рис. 1.9).

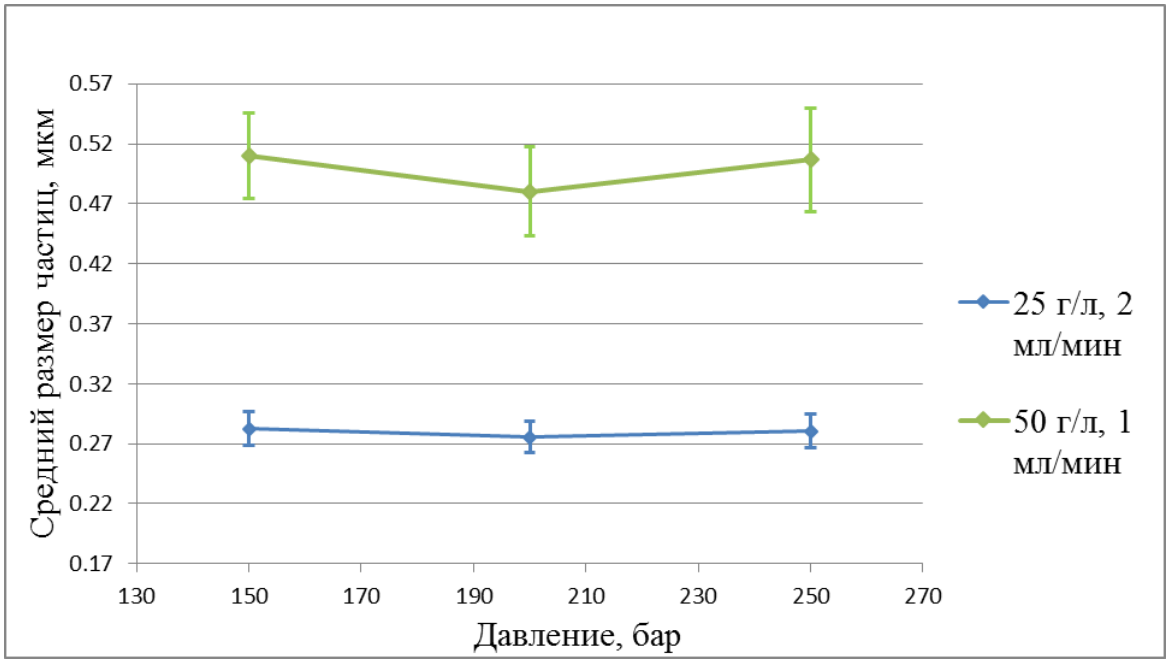


Рис. 1.9. Зависимость среднего размера частиц гидроксипропилметилцеллюлозы от давления SAS-осаждения для двух скоростей потока раствора и исходных концентраций целевого вещества в растворе. Растворитель – метанол, температура – 40 ºС, скорость потока CO_2 – 50 г/мин. [177]

Следует отметить сложность учёта влияния температуры в SAS, связанную со слабой контролируемостью этого параметра в процессе. Нагрев камеры осаждения осуществляется с помощью внешних нагревательных элементов, при этом точному контролю поддаётся только внешняя температура стенки реактора, а собственно температурный профиль антирастворителя часто остаётся неизвестным. Дополнительным фактором неопределённости является температура распыляемого раствора. В стандартных SAS-системах

термостатируется лишь камера осаждения, раствор же подаётся на вход камеры при комнатной температуре, что приводит к определённому изменению температуры в области образования кристаллов. Учётом этого обстоятельства обычно пренебрегают. Известны лишь единичные примеры работ, в которых осуществлялось термостатирование распыляемого раствора перед его вводом в камеру осаждения [186].

1.4.4. Гидродинамические параметры SAS

Эта тема относится к области наиболее изученных сторон метода SAS. Гидродинамические параметры SAS - это параметры, которые определяют поведение потока струи раствора после её распыления через сопло в камеру осаждения. К ним относятся прежде всего геометрические параметры сопла, кинематическая вязкость растворителя и скорость потока раствора. Также на гидродинамику распыления оказывают влияние конфигурация системы SAS, плотность и вязкость антирастворителя, концентрация микронизуемых веществ в растворе, температура.

В зависимости от названных параметров распыление раствора может проходить в одном из 4-х типовых режимов [187, 188, 189, 190]:

- просачивание;
- осесимметричный ламинарный поток;
- асимметричный ламинарный поток;
- турбулентный поток.

В режиме просачивания струи не образуется, раствор попадает в камеру осаждения в виде отдельных капель. Это может происходит при очень низких значениях числа Рейнольдса (Re). Такой режим не годится для проведения процесса SAS, поскольку в нём не происходит достаточно интенсивного перемешивания раствора и антирастворителя. В случае аморфных веществ при работе в таком режиме наиболее вероятно формирование не микрочастиц, а макроскопических наростов осаждаемых веществ на распылительном сопле.

Пример такого нароста приведён на рис. 1.10. В случае кристаллических веществ на распылительной форсунке может наблюдаться образование сходных по форме, но чаще всего меньших по размеру, макроскопических наростов, которые, однако, не представляют собой целостной структуры и которые обычно рассыпаются при попытке их извлечения из камеры осаждения.

Рис. 1.10. Макроскопический нарост гидроксипропилметилцеллюлозы, образующийся в SAS при низких значениях Re.

Аналогичным образом для SAS плохо подходит режим осесимметричного ламинарного потока. Устойчивость этого потока такова, что велика вероятность его сохранения вплоть до выхода струи из камеры осаждения. При этом большая часть микронизуемых веществ просто выносится из камеры в растворе, а осаждение может происходить только на поверхности контакта струи и антирастворителя.

В режиме асимметричного потока время разрыва струи уменьшается с ростом линейной скорости потока. При правильно подобранной скорости распыления возможно достижение таких времени и длины разрыва струи, которые бы обеспечивали возможность протекания SAS-процесса в данной системе. Размер образующихся при этом капель сильно зависит от соотношения

линейных скоростей потока растворителя и антирастворителя, а также от соотношения их плотностей.

В турбулентном режиме, благодаря вкладу турбулентных явлений в разрыв струи, происходит не просто разрыв, а так называемая атомизация потока. В отличие от ламинарных режимов атомизация происходит фактически сразу после выхода струи из форсунки, и при этом образуются капли диаметром намного меньше диаметра форсунки [190].

Режим течения оказывает непосредственное влияние на размер частиц при работе в условиях частичной смешиваемости растворителя и антирастворителя. При осаждении из капель растворителя размер получаемых частиц диктуется размером этих капель, который определяется режимом течения и числом Рейнольдса. Чем более турбулентный режим реализуется, тем меньше размер капель и соответствующих частиц. В режиме же полной смешиваемости влияние гидродинамических параметров процесса на размер и морфологию частиц опосредовано. В основном оно сводится к влиянию на скорость смешения и, следовательно, на локальную степень пересыщения раствора. При недостаточно эффективном перемешивании локальная степень пересыщения во многих участках струи будет низкой. В таком случае скорость роста частиц превышает скорость зародышеобразования, и образуются крупные асимметричные частицы. При высокой турбулентности распыления раствора скорость смешения высокая, что приводит к возникновению высокой степени пересыщения, более высокой скорости зародышеобразования и формированию более симметричных частиц [189].

1.4.5. Влияние состава распыляемого раствора на форму частиц

Для аморфных веществ влияние состава раствора на морфологию и размер частиц при получении их методом SAS представляет собой достаточно хорошо изученную тему. Большое влияние на размер частиц оказывает начальная концентрация целевого вещества в растворе. Как правило, в случае аморфных

веществ наблюдается прямая линейная корреляция между начальной концентрацией вещества в распыляемом растворе и средним размером частиц [178]. В частности, это утверждение почти всегда справедливо для микрочастиц полимеров, получаемых методом SAS. На рис. 1.11 приведены зависимости среднего размера частиц гидроксипропилметилцеллюлозы от исходной концентрации полимера в растворе. Важно отметить, что тип растворителя не оказывает сильного влияния на размер и морфологию получаемых частиц. Для всех опробованных растворителей частицы имели форму, близкую к сферической. Размер частиц в подавляющем большинстве случаев был субмикронный.

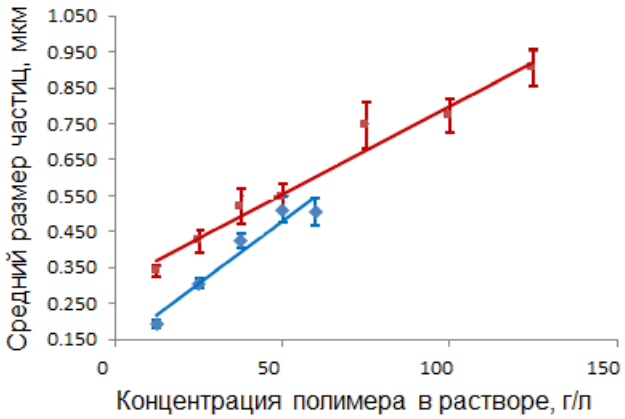


Рис. 1.11. Зависимость среднего размера частиц гидроксипропилметилцеллюлозы от начальной концентрации в растворе. Давление – 150 бар, температура – 40 °С, скорость потока раствора – 1 мл/мин, скорость потока CO_2 – 50 г/мин. ♦ - метанол, ■ - ДМСО [177].

1.4.6. Получение методом SAS кристаллических частиц

Использование аморфных частиц может быть полезно для повышения скорости растворения фармацевтических препаратов. Однако, часто такие частицы могут быть нестабильны и склонны к перекристаллизации, в особенности под действием влаги воздуха. Поэтому для применения, например, в фармацевтике зачастую, наоборот, актуально получение кристаллических частиц [191]. Долгое время считалось, что образование кристаллических частиц характерно только при осаждении из двухфазной системы (при $t_{имн} \gg t_{рс}$) [173]. Однако, в дальнейшем была показана возможность получения кристаллических

частиц и при полной смешиваемости растворителя и CO_2 [192, 193]. Во многих работах продемонстрировано, что метод SAS обладает широкими возможностями по варьированию морфологии получаемых кристаллических частиц, а также их полиморфного состава [194, 195, 196, 197]. В частности, за счёт того, что при микронизации методом SAS кристаллизация происходит очень быстро, открываются возможности получения метастабильных полиморфных форм [198]. Особенно привлекательным это является для фармацевтических применений, так как разные полиморфы обладают разными свойствами, в частности характеризуются разной кинетикой растворения [199].

Отдельные наблюдения о зависимости размера и морфологии кристаллических частиц, получаемых в SAS, неоднократно публиковались и обсуждались в литературе, однако столь же стройного видения влияния различных параметров процесса на их формирование, как для аморфных частиц, в настоящий момент ещё нет [1].

1.5. Выводы из литературного обзора

Несмотря на разнообразие методов микронизации, для решения задачи направленного формирования кристаллических частиц с заданными формой и распределением по размеру, выбор методов достаточно ограничен. Механические методы, во-первых, часто просто не позволяют получать микронные и меньшего размера частицы. Во-вторых, для них характерен ряд проблем, связанных с большими потерями вещества при микронизации. «Восходящие» методы характеризуются гораздо лучшей контролируемостью процессов, и как следствие, характеристик получаемых частиц. Главные недостатки восходящих методов связаны с необходимостью удаления органических растворителей из конечного продукта. В случае СКФ технологий есть возможность решения данной проблемы наиболее эффективным образом. Если СКФ используется в качестве растворителя, то удаление его происходит самопроизвольно при сбросе давления за счёт перехода в газовую фазу. К сожалению, большая часть веществ, особенно

интересных для фармацевтических приложений, нерастворима в приемлемых для проведения такого процесса СКФ.

Гораздо более универсальным является подход SAS, в котором СКФ является антирастворителем. В случае метода SAS очистка от растворителя достигается путём промывки дополнительным количеством флюида получаемого продукта сразу после осаждения. Однако, для полноценного использования возможностей метода SAS необходимы данные о том, как его многочисленные и связанные друг с другом физико-химические параметры влияют на характеристики получаемых частиц. Для аморфных частиц качественные представления о таком влиянии существуют. Для кристаллических субстанций такое целостное понимание пока отсутствует, несмотря на наличие разрозненных работ в этой области. Таким образом, на сегодняшний день исследование влияния физико-химических параметров SAS на форму и размер осаждаемых частиц является актуальной задачей.

2. Экспериментальная часть

2.1. Исходные вещества и реагенты

2.1.1. Микронизуемые вещества

Левофлоксацин в форме гидрохлорида, «Sansh Biotech Pvt Ltd», Индия. Левофлоксацин представляет собой антибактериальный препарат 3-го поколения группы фторхинолонов, применяемый для лечения туберкулёза. Структурная формула левофлоксацина приведена на рис. 2.1. Помимо энантиомерно чистого левофлоксацина в работе также использовали офлоксацин, который представляет собой рацемическую смесь двух энантиомеров.

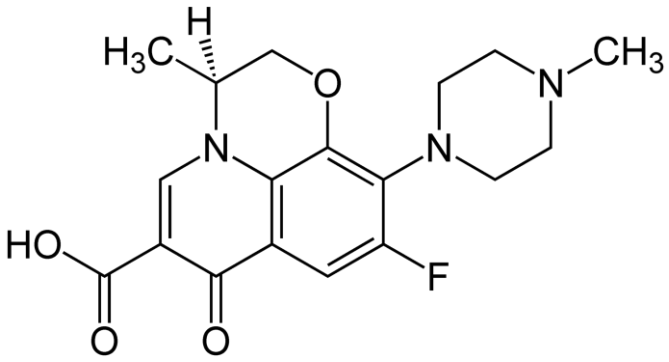


Рис. 2.1. Структурная формула левофлоксацина

Ацетилсалициловая кислота (аспирин) (99%, Acros Organics, Франция) использована без дополнительной очистки и характеризации. Структурная формула приведена на рис. 2.2.

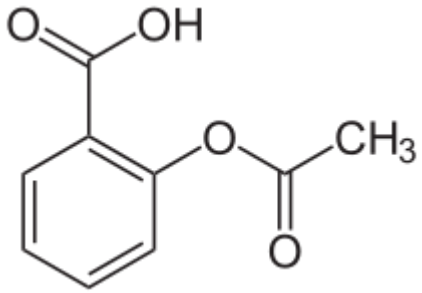


Рис.2.2. Структурная формула ацетилсалициловой кислоты

2.1.2. Используемые реагенты

В качестве антирастворителя для проведения осаждения методом SAS использовали углекислый газ марки пищевой, соответствующий ГОСТ 8050-85 (Linde Gas).

Для растворения микронизуемых субстанций методом SAS использовали:

Метанол для ВЭЖХ (99,9%) производства Lab-Scan (Польша, г. Гливице).

Этанол, 95%, производства ОАО «МЕДХИМПРОМ»

Ацетон, ОСЧ производства «Химмед», Россия

Этилацетат, для спектроскопии производства «Компонент-Реактив», Россия

Диметилформамид, ХЧ производства «Химмед», Россия

Диметисульфоксид, 99,5% производства Lab-Scan (Польша, г. Гливице).

Ацетонитрил для ВЭЖХ (99,9%) производства «Macron Fine Chemicals» (Польша, г. Гливице).

Хлороформ, ХЧ производства «Химмед», Россия

Уксусная кислота, ХЧ производства «Химмед», Россия

2.2. Методы

2.2.1. Проведение процедуры сверхкритического антисольвентного осаждения

Опыты по сверхкритическому антисольвентному осаждению проводили с использованием установки RESS/SAS производства компании «Waters Corporation» (США). На рис. 2.3 представлена схема установки для проведения сверхкритического антисольвентного осаждения.

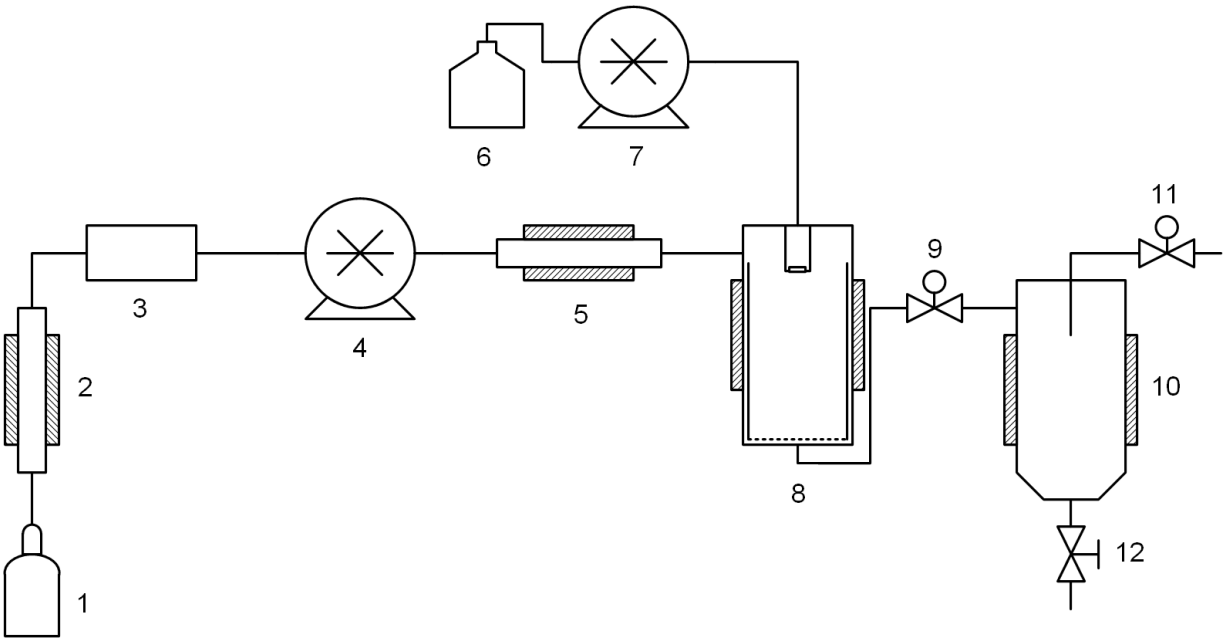


Рис. 2.3. Схема установки для проведения сверхкритического антисольвентного осаждения: 1 - источник CO_2; 2 - охлаждающий теплообменник; 3 - расходомер Кориолиса; 4 - насос CO_2; 5 – нагреватель; 6 – раствор микронизуемого вещества; 7 – растворный насос; 8 – осадительный сосуд; 9 – автоматический регулятор давления; 10 – циклонный сепаратор; 11 – ручной регулятор давления; 12 - сливной кран

Процесс микронизации проводили следующим образом. Готовили раствор микронизуемого вещества в выбранном растворителе при комнатной температуре. Для увеличения скорости растворения использовали ультразвуковую ванну. В установке задавали рабочие параметры давления, температуры всех термостатируемых блоков и скорость потока СК-CO_2 до их выхода на заданные значения. Жидкостной насос *7* заполняли чистым растворителем и проводили распыление 10 мл чистого растворителя с рабочей скоростью в осадительный сосуд *8* с целью уравновешивания состава флюида в сосуде. После этого входную линию насоса перемещали в ёмкость с раствором выбранного вещества в органическом растворителе и проводили распыление раствора с той же объёмной скоростью. После распыления всего объёма раствора на распылительную форсунку подавали дополнительно 15 мл чистого органического растворителя для промывки линии подачи раствора, предшествующей распылительному соплу. По окончании распыления дополнительно выдерживали поток СК-CO_2 в осадительном сосуде *8* в течение 20 минут для вымывания остатков органического растворителя из продукта. Затем

останавливали поток CO_2 и с помощью автоматического регулятора давления *9* осуществляли плавный сброс давления до атмосферного. Полученный порошок извлекали из осадительного сосуда *8* с использованием встроенной в него корзины.

Все опыты проводили при скорости потока CO_2 50 г/мин (по данным массового расходомера). Диаметр распылительного сопла составлял 100 мкм. Остальные условия проведения экспериментов указаны в Табл. 2.1.

Табл. 2.1. Условия проведения микронизации методом SAS

Микронизуемое вещество	Давление, бар	Скорость потока раствора, мл/мин	Температура, °С	Концентрация вещества в исходном растворе, г/л
Ацетилсалициловая кислота	120 - 200	1,43 - 2.05	45; 55	150
Левофлоксацин	80 - 150	0,5 - 2	40	6,25 - 25

2.2.2. Разработка и апробация метода для измерения растворимости субстанций в многокомпонентных флюидах

Опыты по измерению растворимости ацетилсалициловой кислоты проводили методом совмещения сверхкритического антисольвентного осаждения и УФ спектрофотометрии. Метод предложен в качестве нового способа измерения растворимости фармацевтических субстанций в многокомпонентных флюидах. Микронизацию ацетилсалициловой кислоты методом SAS проводили с использованием модифицированной авторами установки RESS-SAS производства компании «Waters Corporation» (США). Схема используемой установки приведена на рис. 2.4. Спектрофотометр СФ-56, используемый в работе произведён компанией ОКБ-Спектр (Россия, г. Санкт Петербург).

Измерение растворимости методом сверхкритического антисольвентного осаждения с УФ спектрофотометрией (SAS-УФС) ацетилсалициловой кислоты в смесях CO_2 – метанол и CO_2 – этанол и левофлоксацина в смесях CO_2 – растворитель (метанол, этанол, ДМФА, ДМСО, хлороформ, ацетонитрил, этилацетат, ацетон) проводили аналогично описанному выше осаждению методом SAS. Однако, для пробоотбора использовали специальную петлю (10, рис. 2.4).

Пробоотборная петля представляет собой трубку из нержавеющей стали внешним диаметром 0,25”. На концах трубки установлены игольчатые вентили для возможности удержания пробы под давлением перед этапом переноса пробы в жидкий растворитель. Внутренний эффективный объём петли определяли заполнением её растворителем с известной плотностью при 25 °С и последующим взвешиванием. Рассчитанный на основании измерений с использованием дистиллированной воды, метанола и гексана объём петли составлял 5,55 ± 0,05 мл. Петлю подключали в разрыв линии после осадительного сосуда с возможностью отсоединения без остановки процесса микронизации за счёт вспомогательных игольчатых вентилей (9, рис. 2.4).

Опыты проводили при скорости потока CO_2 50 г/мин (по данным массового расходомера). Для микронизации использовали сопло с диаметром 100 мкм. Точность измерения давления составляла ±1 бар. Скорость потока раствора варьировали от 1,45 мл/мин до 2,05 мл/мин в случае ацетилсалициловой кислоты и от 0,5 мл/мин до 2 мл/мин в случае левофлоксацина. Давление составляло 100, 150, 200 бар и 100, 150, а температура 45°С, 55°С и 40 °С в случае ацетилсалициловой кислоты и левофлоксацина соответственно.

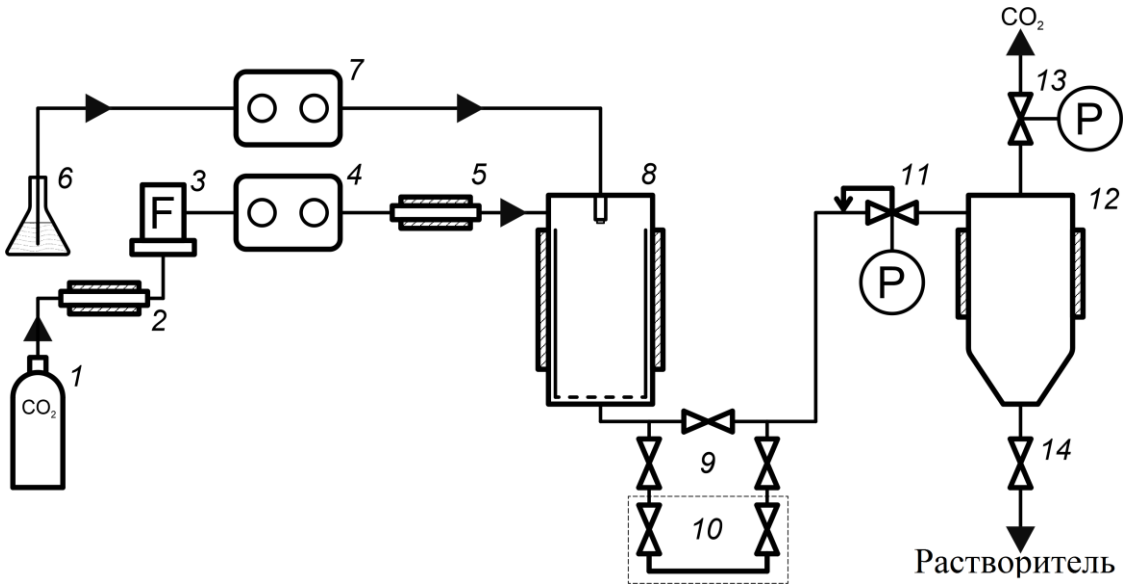


Рис. 2.4. Схема установки для проведения SAS с пробоотбором для измерения растворимости микронизуемой субстанции: 1 - источник CO_2; 2 - охлаждающий теплообменник; 3 - кориолисов расходомер; 4 - насос CO_2; 5 - нагреватель; 6 - раствор микронизуемого вещества; 7 - насос раствора; 8 - осадительный сосуд; 9 – вспомогательные игольчатые вентили для подключение петли; 10 - петля отбора раствора микронизуемого вещества; 11 - автоматический регулятор давления; 12 - циклонный сепаратор;13 - ручной регулятор давления; 14 - сливной кран.

При проведении микронизации методом SAS (непосредственно при подаче раствора микронизуемого вещества в осадительный сосуд), поток из осадительного сосуда направляли в петлю (10, рис. 2.4) и выдерживали его в течение 3 минут. Далее закрывали краны петли, отсоединяли ее от установки и к концам через переходники присоединяли шприц, заполненный растворителем, и спускной капилляр. Проводили медленный сброс давления до атмосферного из петли в колбу под слой метанола через кран ***b*** (Рис. 2.5). Далее открывали кран ***a*** и петлю тщательно промывали растворителем при помощи шприца для вымывания остатков исследуемого вещества в ней. После этого, полученную пробу разбавляли в мерной колбе до 50 мл. Отбирали 3 мл, переносили в кювету с длиной оптического пути 10 мм и снимали спектр поглощения в области 200-340 нм. Максимум пика поглощения ацетилсалициловой кислоты соответствует 275.5 нм, а левофлоксацина – 290 нм. Далее петлю снова присоединяли к установке и проводили еще 3-4 измерения до окончания микронизации. По предварительно построенным калибровкам определяли растворимость микронизуемого вещества в органическом растворителе.

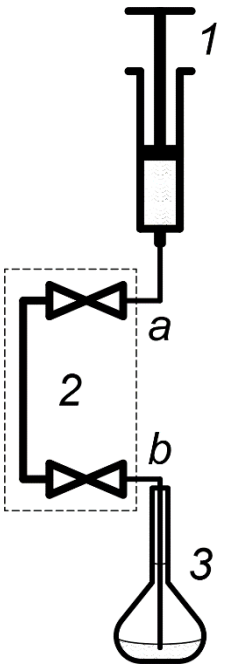


Рис. 2.5. Схема извлечения пробы из петли: 1 – шприц с метанолом, 2 – петля, 3 – мерная колба с метанолом.

Полученные результаты измерения растворимости сравнивали с литературными данными для верификации предложенного в работе метода. Метод SAS-УФС позволяет получать растворимость в г/л. Для сравнения с литературными данными проводили пересчёт г/л в мольную долю, используя следующие уравнения:

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{S_m}}{\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}((\mathbf{1}-\boldsymbol{X})\boldsymbol{\rho_{CO_2}} + \boldsymbol{X}\boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}})} \quad (2.1)$$

S – растворимость вещества в смеси CO_2 – растворитель (мольное отношение)

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{\nu}_{\text{CO}_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}} \quad (2.2)$$

$\boldsymbol{S_m}$ – растворимость вещества в смеси CO_2 – растворитель, г/л

$$\boldsymbol{S_m} = \frac{\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{V}_{\text{растворителя}+\,\boldsymbol{CO_2}}} \quad (2.3)$$

$\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}$ – молярная масса микронизуемого вещества

$\boldsymbol{X}$ – мольная доля растворителя в смеси CO_2 – растворитель

$\boldsymbol{\rho_{CO_2}}$ - молярная плотность CO_2, моль/л

$\boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}}$ – молярная плотность растворителя, моль/л

$\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}$ – количество микронизуемого вещества, моль

$\boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}}$ – количество вещества растворителя, моль

$\boldsymbol{\nu}_{\boldsymbol{CO_2}}$ – количество вещества CO_2, моль

$\boldsymbol{V}_{\text{растворителя+ }\boldsymbol{CO_2}}$ – объём смеси растворителя и CO_2

$\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}$ – масса микронизуемого вещества, г/л

Подробный вывод вышеприведённой формулы (2.1) представлен в Приложении 1.

Данные о плотности CO_2 при определенных давлениях и температуре были взяты из базы данных NIST [200]. Органический растворитель считали несжимаемым, поэтому в расчетах использовались значения плотности при атмосферном давлении при комнатной температуре. Литературные данные о растворимости ацетилсалициловой кислоты в бинарных смесях CO_2-сорастворитель были взяты из работ [201, 202].

2.2.3. Исследование фазового состава двухкомпонентных и трёхкомпонентных систем

Для изучения фазовых равновесий систем CO_2 – ацетон, CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина, CO_2 – диметилформамид и CO_2 – диметилформамид – гидрохлорид левофлоксацина в работе использовали установку, представленную на рис. 2.6. Наблюдение за изучаемой системой вели в цилиндрической смотровой ячейке, снабжённой двумя сапфировыми окнами, электрическим нагревательным элементом и внутренней термопарой. Объём ячейки (с учётом якоря магнитной мешалки) составлял 25,9 ± 0,1 мл. Диоксид углерода в ячейку подавали насосом Supercritical-24 (Teledyne SSI, США). Измерение давления в системе осуществляли электронным преобразователем APZ-3420 (PIEZUS,

Россия), подсоединённым к измерителю ТРМ200 (Овен, Россия). Термостатирование ячейки осуществляли измерителем-регулятором ТРМ210 (Овен, Россия) по показаниям термопары. Для устранения температурных градиентов внутри ячейки и интенсификации процессов массообмена использовали магнитную мешалку C-MAG HS 7 (IKA, Германия). Взвешивания ячейки проводили на весах WA50002Y (W&J Instrument Co., ltd., Китай).

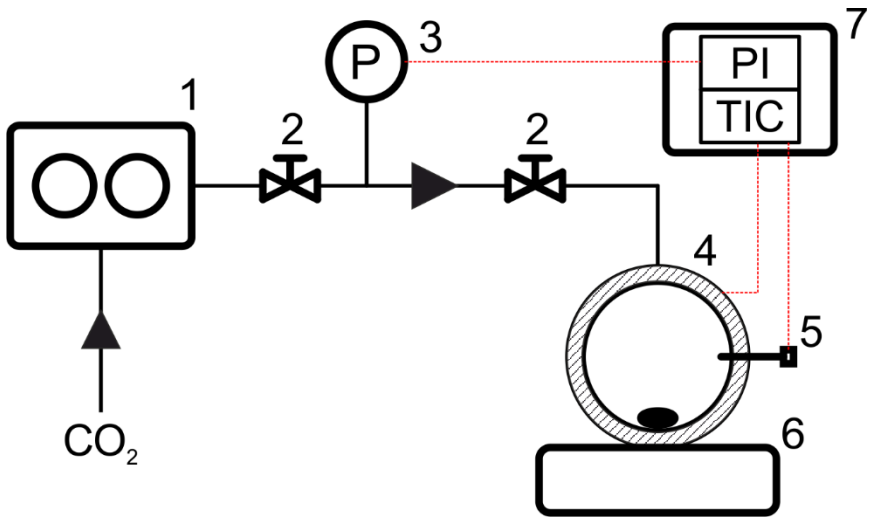


Рис. 2.6 – Схема экспериментальной установки: 1 – насос CO_2, 2 – игольчатые вентили, 3 – датчик давления, 4 – смотровая ячейка с электрической нагревательной рубашкой, 5 – термопара, 6 – магнитная мешалка, 7 – электронный блок контроля температуры и давления.

Перед проведением эксперимента пустую ячейку взвешивали на весах. Далее в ячейку при помощи механических дозаторов Ленпипет Лайт (Ленпипет, Россия) помещали необходимый объём предварительно приготовленного раствора субстанции в растворителе. Ячейку повторно взвешивали, закрывали и подсоединяли к установке. При включенном термостатировании и перемешивании в ячейку подавали CO_2 порциями не более 1 г, между добавлениями ожидали 10-15 минут для достижения равновесия. Подачу проводили до исчезновения последнего пузырька газовой фазы. После чего записывали давление в системе, ячейку отсоединяли от установки и регистрировали её массу. После проведения опыта среду из ячейки сбрасывали, ячейку тщательно промывали ацетоном и высушивали.

2.2.4. Модификация хроматографической установки для измерения вязкости смесей СК CO_2 – растворитель

Определение вязкости двухкомпонентных смесей диоксид углерода – органический растворитель представляет собой отдельную задачу, требует создания специального оборудования для проведения таких исследований, или модифицирования имеющегося в наличии.

Для измерения вязкости смесей CO_2-растворитель был модифицирован сверхкритический флюидный хроматограф «Acquity UPC^2» («Waters», США), в следующей комплектации:

1. Насос подачи CO_2 и сорастворителя Acquity ccBSM;
2. Регулятор обратного давления Acquity Convergence Manager.

Для управления прибором и обработки полученных данных использовали программное обеспечение Empower 3 («Waters», США). Модифицированная установка для измерения вязкости смесей CO_2-растворитель приведена на рис. 2.7.

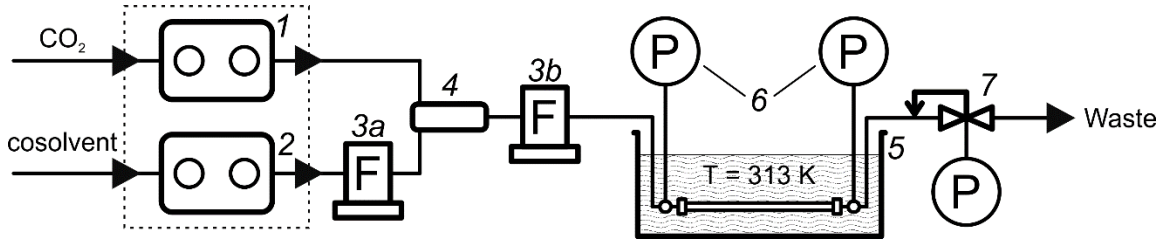


Рис. 2.7 – Схематическое изображения установки для измерения вязкости: 1 – насос CO_2, 2 – насос сорастворителя, 3 – кориолисов расходомер, 4 – статический смеситель потоков, 5 – хроматографическая колонка в жидкостном термостате, 6 – преобразователи давления, 7 – регулятор обратного давления.

Воздушный термостат колонок, идущий в комплектации хроматографа, был заменён на жидкостной для большей равномерности и точности поддержания температуры колонки во время экспериментов. В работе использовали погружной термостат M02 (Termex, Россия) в комплекте с самодельной водяной ванной объёмом 10 л. Помимо этого из комплектации хроматографа были исключены автосамплер и диодно-матричный детектор, а также была проведена минимизация

длины капилляров для уменьшения внеколоночного гидравлического сопротивления установки.

В работе использовалась хроматографическая колонка Luna C18-2 (Phenomenex, США), размерами 4,6 х 150 мм, диаметр частиц сорбента 3 мкм. Перепад давлений на колонке измеряли парой электрических преобразователей давления APZ-3420 (PIEZUS, Россия), присоединенных в линию при помощи тройников Valco ZT1C (VICI AG International, Швейцария). Тройники располагались максимально близко к концам колонки для минимизации влияния гидравлического сопротивления присоединительных капилляров на измеряемый перепад давления.

2.2.5. Измерение плотности смесей СК CO_2 – растворитель, используемых при SAS осаждении, методом пикнометрии

В используемом методе SAS рабочим растворителем является смесь диоксида углерода в сверхкритическом состоянии и органического растворителя.

Определение значения вязкости флюида из уравнения Дарси требует использования параметра объемного потока. Для измерения массовых потоков в системе хроматографа использовали кориолисовый расходомер mini CORI‑FLOW M12 (Bronkhorst High-Tech B.V., Рюрло, Нидерланды). Для преобразования измеренных значений массовых потоков в объемные использовали экспериментально найденные значения плотностей смесей CO_2 - сорастворитель. Измерения плотности смесей проводили пикнометрическим способом, используя самостоятельно собранную установку (рис. 2.8).

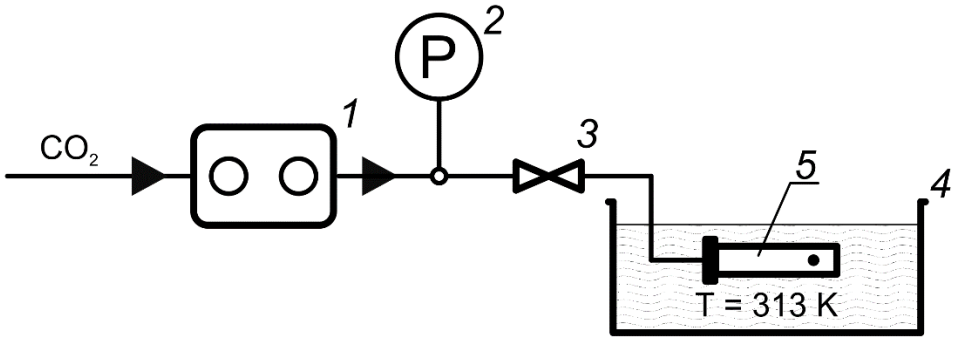


Рис. 2.8 – Схема пикнометрической установки. 1 – насос CO_2, 2 – манометр, 3 – игольчатый кран, 4 термостатирующая ванна, 5 – автоклав с мешалкой.

Методика эксперимента описана ниже.

Автоклав объемом 20 мл, соединённый с игольчатым краном стальным капилляром устанавливали на лабораторные весы WA50002Y (W&J Instrument Co., ltd., Китай) и взвешивали, после чего в автоклав помещали необходимую навеску выбранного сорастворителя. Крышку автоклава закрывали, и подключали его через кран к насосу CO_2 Supercritical-24 (SSI Teledyne, США). Автоклав погружали в термостатирующую ванну и выдерживали в течение 5 минут для достижения необходимой температуры его корпуса, после чего кран открывали и в систему со скоростью 3 мл/мин подавали CO_2 до достижения необходимого давления. Во время набора CO_2 содержимое автоклава регулярно перемешивали вручную встряхиванием при помощи металлического якоря-мешалки. Систему выдерживали в течение 20 минут для полного смешения CO_2 и сорастворителя и установления термодинамического равновесия в системе. Кран закрывали и отсоединяли его от насоса, после чего автоклав извлекали из термостата, высушивали от воды и взвешивали на весах. Исходя из масс пустого и заполненного автоклава, а также его объёма рассчитывали плотность среды. Перед следующим опытом кран открывали и сбрасывали среду из автоклава в специальный сборник, подключённый к вытяжной вентиляции, далее автоклав тщательно очищали от остатков растворителя.

2.2.6. Определение вязкости смесей СК CO_2 – растворитель

Плотность суб- и сверхкритических флюидов существенно зависит от давления и температуры, в связи с этим реальные значения потоков смесей CO_2-растворитель в колонке, могут отличаются от задаваемых в программе. Это приводит к необходимости тщательного контроля величины массового потока как CO_2, так и жидких растворителей в хроматографической системе с последующим расчётом объёмного потока для конкретных условий.

В нашем распоряжении имелся один расходомер, по этой причине опыты по измерению вязкости проводили дважды в двух конфигурациях установки. В первой конфигурации расходомер устанавливали в линию между жидкостным насосом и смесителем потоков для измерения потока сорастворителя. Во второй конфигурации расходомер устанавливали после смесителя потоков для измерения общего потока. Это позволило получить данные о реальном мольном составе смеси CO_2-сорастворитель, подаваемой в колонку, а также проконтролировать воспроизводимость результатов.

Перед проведением основных опытов по измерению вязкости было необходимо удостовериться в ламинарности потоков в изучаемых условиях (ламинарность потоков является одним из необходимых условий действия закона Дарси, см. ниже), для этого при различных составах смеси CO_2-сорастворитель строили графики зависимости перепада давления на концах колонки от величины установленного потока. Отклонение таких зависимостей от линейности указывает на возникновение турбулентностей потока в системе. При проведении всех опытов среднее давление в колонке поддерживали постоянным (равным 150 бар) при помощи ручной подстройки величины противодавления на выходе из системы.

Порядок проведения эксперимента:

1) Включали жидкостной термостат и устанавливали значение температуры равное 40 ^{0}C. Подготавливали хроматограф: включали блок насосов

и регулятор обратного давления, промывали жидкостной насос выбранным растворителем.

2) Расходомер подключали в положение ***3a*** и промывали систему потоком чистого CO_2.

3) При помощи программы управления варьировали объемное содержание сорастворителя в смеси в интервале 0 – 100 % с шагом 2,5 – 10 %. На каждом шаге систему выдерживали около 15 мин для выхода на стационарный режим (неизменность показания датчиков давления на концах колонки), после чего вручную корректировали величину противодавления на выходе из системы для получения среднего давления в колонке 150 бар, и фиксировали значения массового расхода жидкого растворителя и перепада давления на концах колонки.

4) Систему останавливали, переключали расходомер в положение ***3b***, и повторяли измерения аналогично пункту 3, при этом фиксировали значения общего потока смеси в системе.

Обработка экспериментальных данных заключалась в нахождении неизвестных параметров уравнения Дарси. Перепад давлений получали непосредственно из данных опыта, площадь сечения и длину колонки, а также диаметр частиц сорбента - из паспортных данных. Средний объемный поток смеси через колонку вычисляли из общего массового потока и средней плотности среды в колонке. Определение фактора сопротивления колонки, φ, проводили через уравнение Дарси с использованием известных данных вязкости для чистого CO_2, которые получали из базы данных NIST Chemistry Webbook. Имея все необходимые данные, подставляли их в уравнение Дарси для получения вязкости среды при заданных условиях 2.4.

$$\eta = \frac{\Delta P \cdot A \cdot d^2}{\varphi \cdot L \cdot F} \tag{2.4}$$

где η – динамическая вязкость среды, ΔP – перепад давления на концах хроматографической колонки, A – площадь сечения колонки, d – диаметр частиц

сорбента, φ – фактор сопротивления колонки потоку, L – длина колонки, F – объемная скорость потока среды в колонке.

2.2.7. Физико-химические методы исследования

2.2.7.1. Сканирующая электронная микроскопия

Анализ микронизованных образцов и исходных веществ проводили методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с помощью микроскопа NVision 40 (Карл Цейс, Германия), входящим в состав Центра коллективного пользования физико-химическими методами исследования ИОНХ РАН. Исследуемые образцы помещали на проводящую (углеродную) клейкую ленту, на которую затем методом плазменного напыления наносилась тонкая (~ 0,05 – 0,1 мкм) пленка золота, обеспечивающая требуемую электропроводность их поверхности. Для ряда образцов, размер частиц которых составлял более десятков микрон, съёмку на микроскопе производили без напыления. Ускоряющее напряжение подбирали в зависимости от образца от 1 до 5 кВ. Анализ размеров частиц проводили с использованием программного обеспечения IP3. Для этого вручную измеряли видимую диагональ каждой отличимой частицы на нескольких СЭМ-фотографиях каждого исследуемого образца. Из полученных данных вычисляли среднее арифметическое. В дальнейшем для вычисленного таким образом значения употребляли термин «средний размер частиц». Кроме того, для некоторых образцов вычисляли степень вытянутости частицы (соотношение длины и ширины частицы, *aspect ratio*).

2.2.7.2. Рентгенофазовый анализ

Рентгенофазовый анализ проводили на дифрактометре Bruker D8 Advance (Германия). Съёмку осуществляли в режиме на отражение (геометрия Брегга-

Брентано) с использованием Cu Kα. излучения (ср. длина волны λ=1,54183 Å). Параметры работы генератора: ускоряющее напряжение 40 кВ, ток трубки 40 мА. Параметры съёмки: интервал углов 2θ = 3 – 70 °, шаг по 2θ 0,015 °, скорость регистрации спектров 3 °/мин.

2.2.7.3. Инфракрасная спектроскопия

ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) регистрировали в диапазоне 400-4000 $см^{-1}$ на приборе Bruker ALPHA (алмазная приставка).

2.2.7.4. Элементный анализ

Элементный CHNS-анализ выполняли на приборе фирмы Euro Vector EA 3000 (Италия), оснащенном газохроматографической колонкой длиной 2 м, температура колонки 115 °C. В основе действия элементного анализатора лежит принцип динамического сжигания пробы на катализаторе окисления в потоке гелия при введении порции кислорода с последующим восстановлением окислов азота до молекулярного азота и утилизацией избытка кислорода на гранулированной меди. Температура реактора 980 °C. Давление He 80 кПа (поток около 120 мл/мин), давление кислорода 30 кПа. Хроматографическое разделение образующихся газообразных продуктов (CO_2, SO_2, H_2O, N_2) и их детектирование проводили при помощи катарометра. Для проведения калибровки и контроля стабильности результатов измерений использовали стандартные образцы ацетанилида и сульфаниламида по 4 навескам. Расчет содержаний элементов (масс. %) проводили с помощью программы Callidus, поставляемой вместе с анализатором.

2.2.7.5. Сверхкритическая флюидная хроматография

Анализ энантиомерного состава образцов левофлоксацина после микронизации и офлоксацина, проводили на аналитическом сверхкритическом флюидном хроматографе Acquity UPC^2 производства компании Waters (США). Управление прибором и обработка полученных данных осуществляли при помощи программного обеспечения Empower 3 (Waters, США).

В качестве основного компонента подвижной фазы использовали CO_2 пищевой чистоты, а в качестве сорастворителя – метанол. В качестве динамического модификатора использовали изопропиламин в концентрации 0,5% в сорастворителе. Разделение проводили с использованием колонки CHIRALPAK IG (4,6 х 150 мм, Daicel, Япония). Неподвижная фаза представлена иммобилизованным на 5 мкм частицах силикагеля трис-(3-хлоро-5-метилфенилкарбаматом) амилозы.

Были приготовлены растворы офлоксацина и левофлоксацина в метаноле с концентрацией 1 г/л. Во всех опытах температура колоночного термостата составляла 35°С, выходное давление в системе было равным 200 бар, скорость потока подвижной фазы 3,5 мл/мин (при температуре 13°С, которая создаётся на аккумулирующей голове насоса CO_2, и давлении, необходимом для подачи растворителя в систему с заданной скоростью). Детектирование вели диодно-матричным спектрофотометрическим детектором в области длин волн от 190 до 700 нм, в двумерных хроматограммах выбирали канал 225 нм. Количество сорастворителя было равно 25% об. Перед началом работы в метаноле растворяли необходимое количество выбранного динамического модификатора, затем полученным раствором в течение 5 минут при скорости 4 мл/мин промывали участки капилляров до жидкостного насоса. Далее для подготовки системы к вводу пробы пускали поток подвижной фазы через колонку и выдерживали его до выхода в стационарный режим в течение не менее 10 минут. Объем пробы раствора исследуемых веществ, вводимой в систему, был равен 1 мкл.

2.2.7.6. Поляриметрия

Предварительно готовили растворы левофлоксацина в метаноле. Концентрация вещества в растворе составляла 1,5 г/л. Измерения проводили с помощью поляриметра Jasco P-2000 с использованием программного обеспечения Spectra Manager. Длина кюветы составляла 50 мм. Перед проведением измерений поляриметр прогревали в течение 30 мин. Для каждого образца измерения проводили по 5 раз.

2.2.7.7. ЯМР

Для записи спектров ЯМР предварительно готовили растворы левофлоксацина в дейтерированном ДМСО d_6. Для этого навески 40 мг образцов левофлоксацина растворяли в 700 мкл ДМСО. Спектры ЯМР ^{1}H получены по стандартной одноимпульсной программе на спектрометре ЯМР “AVANCE-300” (Bruker, Германия) при комнатной температуре +26 ^{0}C. Параметры записи спектров следующие: 1) резонансная частота ЯМР ^{1}H- 300, 21 МГц., длительность импульсов возбуждения- 6 мкс (40-градусный импульс), 3) период следования импульсов- 4 с, 4) числа накопленных сканов - 32. Настройка однородности магнитного поля и ядерная стабилизация резонансных условий осуществлялись по сигналу дейтерия растворителя DMSO d_6 по стандартной процедуре [203].

3. Результаты и обсуждение

3.1. Разработка и апробация метода для измерения растворимости субстанций в многокомпонентных флюидах

Проведено измерение растворимости ацетилсалициловой кислоты в смесях CO_2 – метанол и CO_2 –этанол при различных условиях осаждения с помощью предложенного метода для сравнения с литературными данными. На рис. 3.1 представлена калибровочная зависимость сигнала УФ-спектрофотометра от концентрации ацетилсалициловой кислоты в растворе метанола.

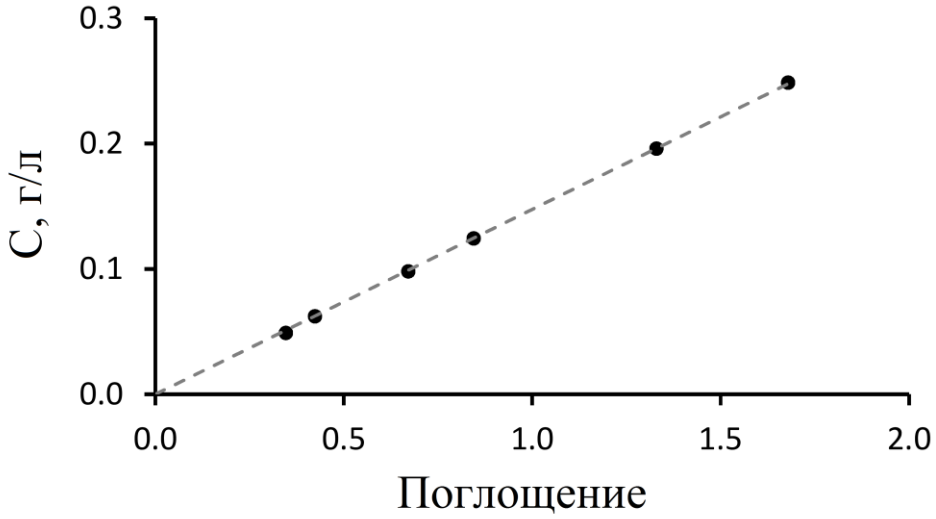


Рис. 3.1 График зависимости сигнала УФ-спектрофотометра от концентрации ацетилсалициловой кислоты в растворе.

В табл. 3.1. приведены данные по растворимости ацетилсалициловой кислоты в смесях CO_2 - спирт, измеренные с помощью метода SAS-УФС, и данные из литературы, полученные с помощью динамического метода [201] и метода совмещения SAS и сверхкритической флюидной хроматографии (SAS-СФХ) [202]. Мольный процент растворителя в смеси CO_2 - растворитель составлял 3%. Измерения методом SAS-СФХ были проведены двумя сериями для оценки воспроизводимости получаемых результатов. Разница между сериями

состояла лишь во временном промежутке между опытами, проведёнными в одинаковых условиях.

Табл. 3.1. Растворимость ацетилсалициловой кислоты в смесях CO_2-растворитель, измеренная с помощью метода SAS-УФС в сравнении с литературными данными

Номер опыта	Растворитель	Давление, бар	Температура, °C	SAS + УФ спектрофотометрия	Динамический метод [201]	SAS + СФХ (первая серия) [202]	SAS + СФХ (вторая серия) [202]
				Растворимость в смеси CO_2-растворитель, мольная доля ∗ 104			
1	метанол	100	45	10,1 ± 0,4	6,8	23 ± 1	24 ± 4
2	метанол	100	55	9,8 ± 0,9	2,8	14 ± 2	17 ± 3
3	метанол	150	45	11,8 ± 2,8	11,7	17,6 ± 0,8	16 ± 1
4	метанол	150	55	11,2 ± 0,6	11,5	18,0 ± 0,8	18,4 ± 0,3
5	метанол	200	45	8,8 ± 1,8	15,4	17,0 ± 0,4	16,0 ± 0,1
6	метанол	200	55	11,8 ± 1,9	16,1	17,4 ± 0,5	16,8 ± 0,2
7	этанол	100	45	9,8 ± 1	6,8	11,0 ± 0,4	12,4 ± 0,9
8	этанол	100	55	6,4± 0,5	3,2	6,8 ± 0,6	4,5 ± 0,5
9	этанол	200	45	14,7 ± 1	15,2	15,9 ± 0,3	14,2 ± 0,3
10	этанол	200	55	15,4 ± 0,2	16,4	16,9 ± 0,6	17,2 ± 0,7

Данные по растворимости ацетилсалициловой кислоты, полученные методом SAS-УФС, в целом согласуются с литературными данными: порядок полученных значений одинаковый во всех условиях. Для подавляющего большинства опытов значения растворимости, получаемые методом SAS-УФС лежат между значениями, полученными динамическим методом и SAS – СФХ. Такие результаты косвенно свидетельствуют о корректности получаемых данных по следующей причине. Значения растворимости, полученные с помощью динамического метода, используемого в работе [201], могут быть занижены, так

как расчёт растворимости проводится исходя из массы собранной в сепараторе ацетилсалициловой кислоты. В условиях динамического метода часто наблюдаются потери вещества при улавливании в сепараторе, что приводит к заниженным значениям растворимости. Метод SAS-СФХ может давать систематически завышенные результаты, так как в нём измеряется остаточное содержание вещества в растворе в ходе процесса осаждения. Поскольку вследствие кинетических ограничений в момент пробоотбора термодинамическое равновесие часто не достигается, раствор остаётся пересыщенным; следовательно, логично предположить, что измеренное в этих условиях значение растворимости будет несколько выше равновесного.

В некоторых случаях (опыты 5, 6, 10, табл 3.1) предложенный в работе метод показывает несколько заниженные результаты даже относительно динамического метода. Примечательно то, что во всех экспериментах, в которых наблюдались заниженные результаты метода SAS-УФС, давление было максимальным (из исследуемого диапазона) – 200 бар. При этом максимальное отклонение наблюдали в случае более низкой температуры 45 °С (опыт 5). Таким образом, плотность смесей CO_2-спирт была максимальна в этих условиях. По всей видимости, отклонение связано со сложностью поддержания стабильных условий проведения микронизации методом SAS: в ходе опытов с метанолом (опыты 5,6) наблюдались перепады давления в сосуде микронизации. В опыте с этанолом (опыт 10) перепадов давления не наблюдали и именно для него характерно минимальное отклонение от результатов динамического метода (около 4%, что с учётом погрешностей двух методов можно рассматривать как идентичный результат).

Наибольшее расхождение между значениями, полученными динамическим методом и методом SAS-УФС (опыты 8 и 2, табл. 3.1) также может быть связано с плотностью смесей CO_2-спирт и интерпретироваться аналогично наблюдаемым в работе [202]. Так, условия проведения обоих описываемых опытов – 55 °С и 100 бар. Из всех исследованных условий для них характерна наименьшая плотность

смесей CO_2-спирт. При увеличении давления или уменьшении температуры расхождение снижается.

Предположительно, такая тенденция имеет место, так как давление, при котором проводят микронизацию, может влиять на степень завершённости осаждения. При низких давлениях (100 бар) плотность СК-CO_2 относительно мала, и соответственно антирастворитель оказывает слабое гидродинамическое сопротивление распыляемому раствору микронизуемого вещества. В таких условиях может происходить неполное смешение двух потоков, и соответственно, в выходном потоке концентрация микронизуемого вещества будет завышенной по сравнению с термодинамически равновесной растворимостью в бинарном флюиде. Кроме того, определяемое количество вещества будет растворено в бинарной смеси иного состава, что может быть ещё одним источником погрешности измерения. При более высоких давлениях (150 и 200 бар) (или более низких температурах (45 °С)) плотность СК-CO_2 выше, и, следовательно, система оказывается ближе к термодинамическому равновесию, что приводит к более точным результатам определения остаточной концентрации.

Для минимизации погрешности рассмотренного способа возможно выполнить оптимизацию системы, в частности, провести термостатирование петли отбора пробы, оптимизировать геометрию осадительного сосуда и т.д. Однако, даже с учётом выявленных недостатков, очевидно, что предложенный метод SAS-УФС можно эффективно использовать для оценки растворимости, а, следовательно, и пересыщения при проведении процесса SAS.

На следующем этапе работы предложенный метод измерения растворимости в многокомпонентных флюидах был применён для систем CO_2-растворитель-левофлоксацин. В табл. 3.2 представлены данные по растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель (этанол, метанол, ацетон, ДМФА, хлороформ, этилацетат, ДМСО, ацетонитрил) при температуре 40 °С и давлениях 100 и 150 бар.

Табл. 3.2. Растворимость гидрохлорида левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель при различном соотношении CO_2 и растворителя в смесях. Поток CO_2 – 50 г/ мин, температура – 40 °С

Растворитель	Массовая доля растворителя в смеси CO_2-растворитель, %	Растворимость в смеси CO_2-растворитель, г/л	
		100 бар	150 бар
Этанол	0,8	0,037±0,003	0,034±0,004
	1,6	0,12±0,04	0,04±0,02
	3,1	0,10±0,02	0,06±0,03
Метанол	0,8	0,03±0,01	0,04±0,01
	1,6	0,05±0,01	0,09±0,02
	3,1	0,2±0,1	0,10±0,02
Ацетон	0,8	0,04±0,01	0,05±0,03
	1,6	0,04±0,02	0,09±0,04
	3,1	0,052±0,003	0,08±0,02
ДМФА	0,9	0,022±0,002	0,05±0,01
	1,9	0,16±0,04	0,13±0,02
	3,6	0,13±0,01	0,14±0,02
Хлороформ	1,5	0,007±0,001	0,02±0,01
	2,9	0,015±0,003	0,18±0,03
	5,6	0,023±0,004	0,08±0,04
Этилацетат	1,8	0,12±0,01	0,13±0,01
	3.5	-	0,14±0,03
Ацетонитрил	1.5	0,1±0,02	0.09±0,02
ДМСО	1,1	0,12±0,02	0,19±0,04
	2,2	0,40±0,05	0,33±0,03

Из данных табл. 3.2 хорошо видна тенденция увеличения растворимости с повышением доли растворителя в смеси CO_2-растворитель-микронизуемое вещество. Это ожидаемый результат, так как гидрохлорид левофлоксацина – полярная субстанция и увеличение доли растворителя должно приводить к

повышению полярности смеси CO_2 - растворитель, что в свою очередь связано с увеличением растворимости субстанции в такой смеси.

Впоследствии данные по растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель применялись для интерпретации результатов микронизации.

3.2. Влияние числа фаз на размер и морфологию частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS

3.2.1. Исследование фазовых равновесий систем CO_2 - ацетон и CO_2 – ацетон –гидрохлорид левофлоксацина

В ходе экспериментов по микронизации методом SAS было установлено, что давление, при котором проводят осаждение, может существенно влиять на морфологию и размер получаемых частиц. Одним из факторов, на который оказывает влияние давление микронизации является число фаз (однофазность либо двухфазность) системы CO_2 – растворитель – микронизуемое вещество. Соответственно, смешение CO_2 и раствора и осаждение из этих систем будет проходить по разным механизмам. При этом известно, что добавка растворённого вещества к системам CO_2-растворитель может смещать кривые равновесия жидкость – газ (чаще в область более высоких давлений) [150]. Для детального исследования кривых равновесия жидкость – газ и влияния на них добавки левофлоксацина были проведены опыты по наблюдению фазовых равновесий в ячейке высокого давления.

На рис. 3.2 а и 3.2 б представлены кривые равновесия жидкость-газ систем CO_2 – ацетон и CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина при температуре 40 °С. Для исследования влияния концентрации левофлоксацина в системе CO_2 – ацетон - левофлоксацин использовали два раствора с разной концентрацией левофлоксацина в исходном растворе в ацетоне: 1 и 10 г/л.

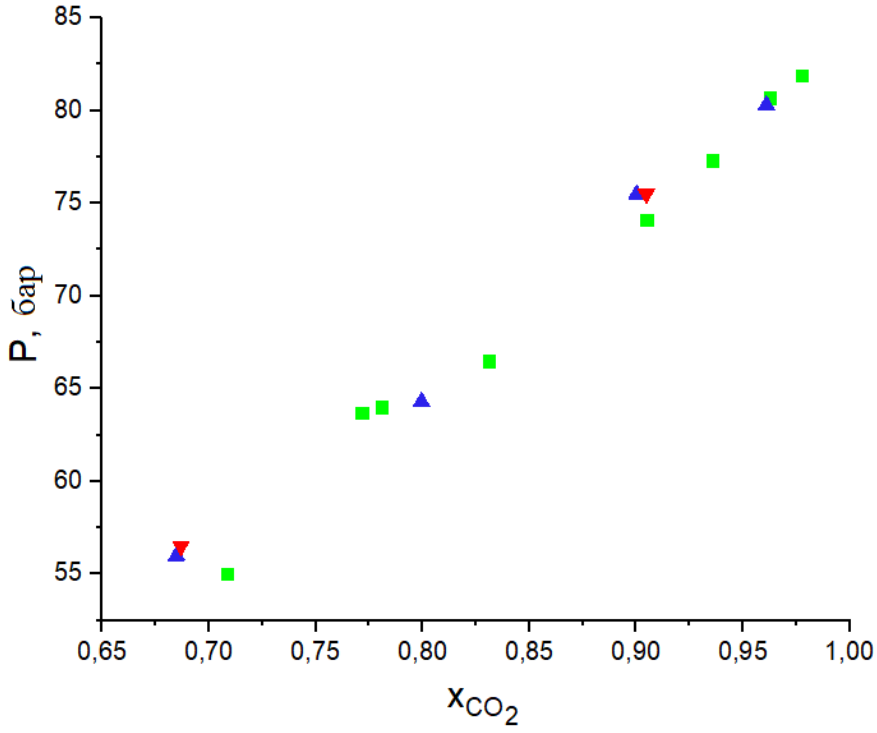
P – давление в системе (бар),

$\boldsymbol{X}_{CO_2}$ – мольная доля CO_2 (безразмерная величина)

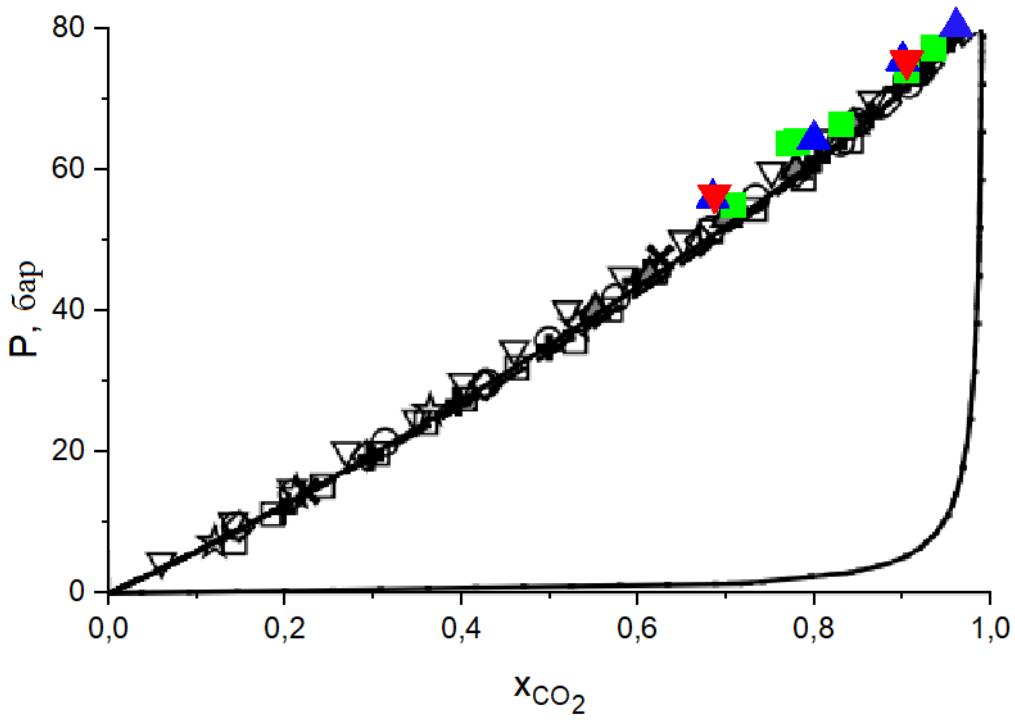
$$\boldsymbol{X}_{CO_2} = \frac{\boldsymbol{\nu}_{CO_2}}{\boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{ацетона}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{левофлоксацина}}} \quad (3.1)$$

$\boldsymbol{\nu}$ – количество вещества компонента системы, моль

Точки на рис. 3.2 а соответствуют полученным в настоящей работе экспериментальным значениям. На рис. 3.2 б они совмещены с экспериментальными данными, известными из литературы (двухцветные чёрно-белые точки). Чёрная кривая на рис. 3.2 б соответствует литературным данным для системы CO_2 – ацетон [158], полученным путём моделирования с использованием уравнения состояния Пенга-Робинсона [156].



а



б

Рис. 3.2. Экспериментальные данные по равновесию жидкость-газ систем: ■ CO_2 – ацетон, ▲ CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина (1 г/л), ▼ CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина (10 г/л) при температуре 40 °C. Чёрная кривая, а также чёрно-белые точки на рис. 3.2 б соответствует литературным данным для системы CO_2 – ацетон [158].

Учитывая приборную погрешность ± 1 бар для давления и ± 0.2 °С для температуры, используемой в работе установки, данные системы CO_2 - ацетон соответствуют уже полученным ранее. Показано, что добавка гидрохлорида левофлоксацина не приводит к значительному смещению кривой равновесия жидкость – газ, вне зависимости от концентрации гидрохлорида левофлоксацина в системе. В области, ограниченной чёрной кривой, система CO_2 – ацетон является двухфазной, вне – однофазной. Максимальное давление, при котором возможно существование двух фаз в системе CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина составляет 80,3 бар. Соответственно, одно из используемых для последующей микронизации методом SAS давлений было выбрано ниже 80,3 бар и составляло 75 бар.

3.2.2. Исследование фазовых равновесий систем CO_2 - диметилформамид и CO_2 – диметилформамид – гидрохлорид левофлоксацина

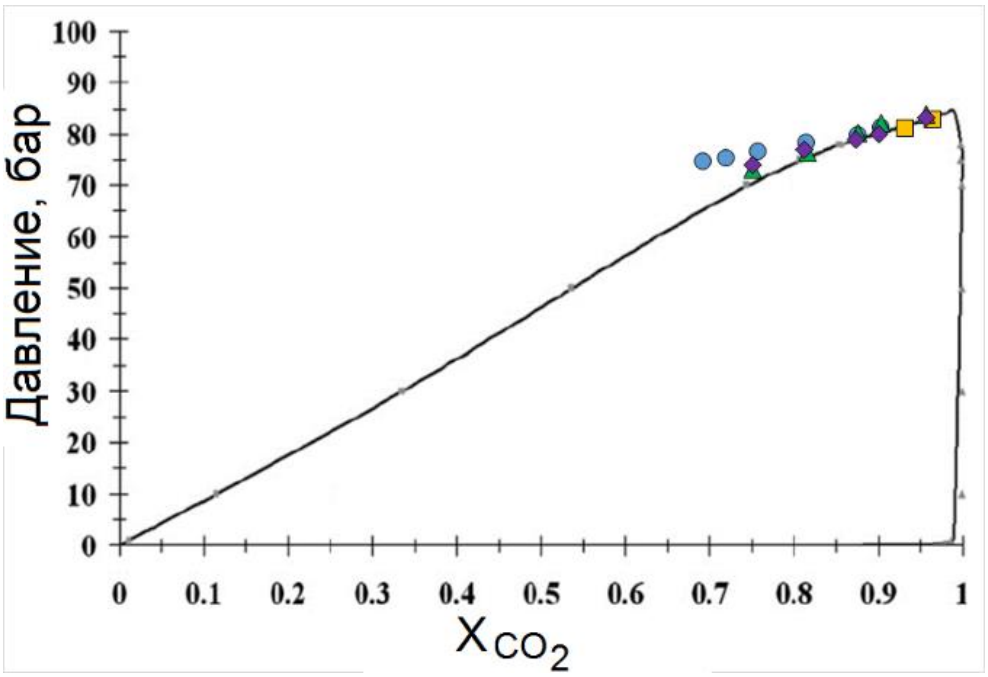
На рис. 3.3 представлены кривые равновесия жидкость-газ систем CO_2 – ацетон и CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина при температуре 40 °С. На рис. 3.3 а чёрная кривая и точки наименьшего размера соответствуют литературным данным для системы CO_2 – ДМФА. Кривая получена моделированием с помощью уравнения Соаве-Редлиха — Квонга [204]. Для исследования влияния концентрации левофлоксацина в системе CO_2 – ДМФА - левофлоксацин использовали три раствора с разной концентрацией левофлоксацина в исходном растворе: 2,5; 5; 7,5 г/л.

На рис. 3.3:

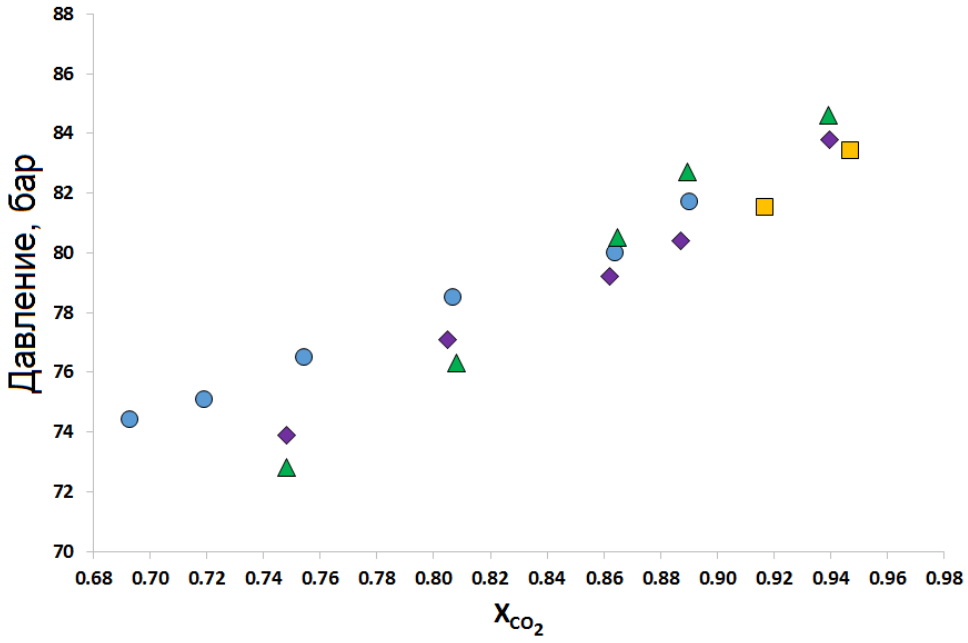
$\boldsymbol{X}_{\mathrm{CO_2}}$ – мольная доля CO_2

$$\boldsymbol{X}_{\mathrm{CO_2}} = \frac{\boldsymbol{\nu}_{\mathrm{CO_2}}}{\boldsymbol{\nu}_{\mathrm{CO_2}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{ацетона}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{левофлоксацина}}} \quad (3.2)$$

$\boldsymbol{\nu}$ – количество вещества компонента системы, моль



а



б

Рис. 3.3. Экспериментальные данные по равновесию жидкость-газ систем: при температуре 40 °С систем ■ CO_2 – ДМФА и ▲ CO_2 – ДМФА – гидрохлорид левофлоксацина (2,5 г/л), ♦ - CO_2 – ДМФА – гидрохлорид левофлоксацина (5 г/л), ● - CO_2 – ДМФА – гидрохлорид левофлоксацина (7,5 г/л). Чёрная кривая на рис. 3.3 б - литературные данные для системы CO_2 – ДМФА [204].

Добавка гидрохлорида левофлоксацина приводит к значительному смещению кривой равновесия жидкость – газ в область более высоких давлений, вплоть до 6 бар. При бОльшем содержании CO_2 влияние левофлоксацина на смещение равновесия жидкость-газ уменьшается. Аналогичные эффекты при

добавке высокополярного компонента к системам CO_2-растворитель уже не раз обсуждались в литературе [150, 205], и они схожи с эффектом высаливания для систем жидкость-жидкость [206]. В области, ограниченной чёрной кривой, система CO_2 – ДМФА двухфазна, вне – однофазна. Максимальное давление, при котором возможно существование двух фаз в системе CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина составляет 85 бар. Соответственно, одно из используемых для микронизации давлений было выбрано ниже значение 85 бар и составляло 75 бар.

3.3. Микронизация методом SAS из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – растворитель-микронизуемое вещество

На основании исследования фазовых равновесий для трёх систем: CO_2 – ацетон – гидрохлорид левофлоксацина и CO_2 – диметилформамид – гидрохлорид левофлоксацина были установлены давления, выше которого система CO_2-растворитель-микронизуемое вещество при любом соотношении CO_2-растворитель существует в виде только одной фазы. Для описываемых систем были проведены опыты по микрониации методом SAS из однофазной и двухфазной областей систем CO_2-растворитель-микронизуемое вещество.

3.3.1 Микронизация гидрохлорида левофлоксацина из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – ацетон

Для исследования влияния давления на размер и морфологию осаждаемых методом SAS частиц была проведена серия опытов, в которой одно из давлений (75 бар) было выбрано так, чтобы микронизация происходила в двухфазной области системы CO_2-растворитель-микронизуемое вещество. В табл. 3.3 приведены данные по среднему размеру частиц левофлоксацина, полученных методом SAS в различных условиях. На рис. 3.4 представлены СЭМ фотографии частиц гидрохлорида левофлоксацина, полученных при давлении 150 бар (рис. 3.4

а, б) - однофазная система и 75 бар (рис. 3.4 в, г) -двухфазная система. Концентрация левофлоксацина в исходном растворе в обоих случаях составляла 6,25 г/л.

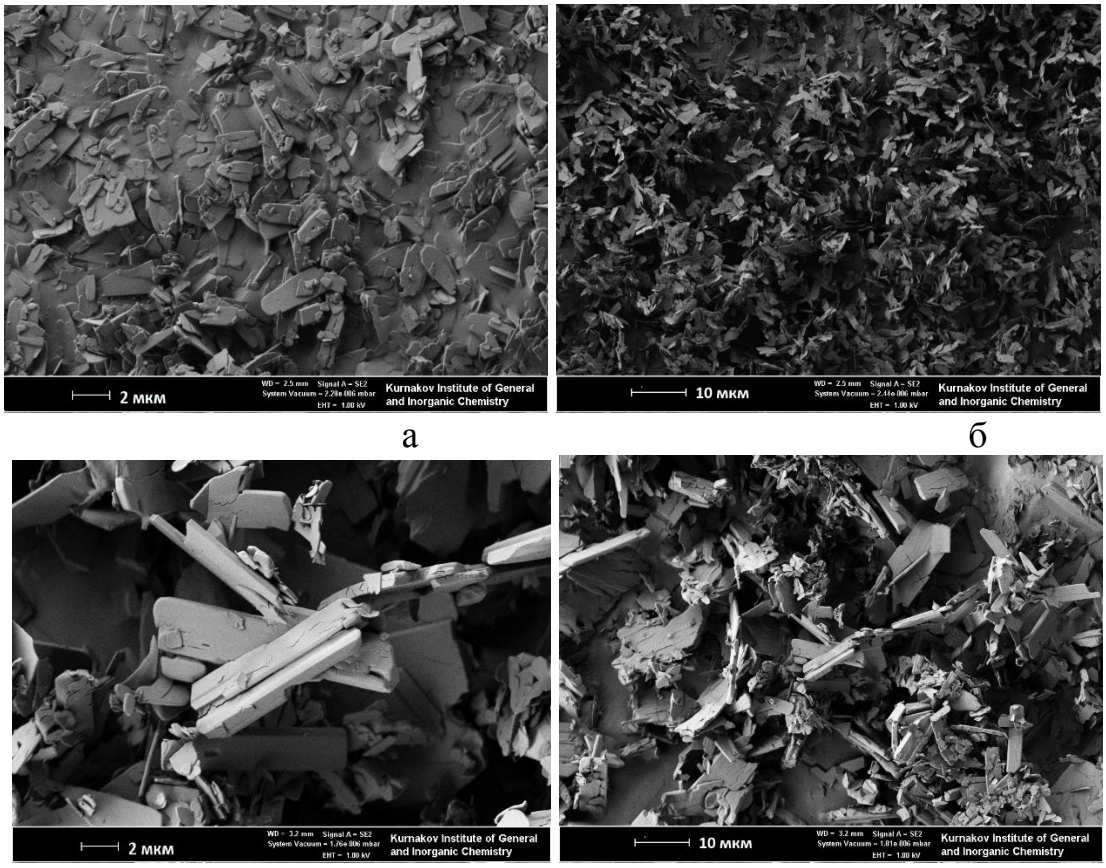


Рис. 3.4. СЭМ фотографии левофлоксацина, микронизованного методом SAS при давлении: а, б – 150 бар, в, г - 75 бар

Табл. 3.3. Средний размер частиц левофлоксацина (мкм), осаждённых методом SAS в различных условиях

Концентрация г/л	Давление, бар		
	150	100	75
6,25	1,6±0,2	2,4±0,3	5,1±0,9 11±2
12,5	2,9±0,3	2,1±0,2	4,7±1,1 20±3
25	6,0±0,8	2,8±0,2	4,1±0,6 13±2

Из табл. 3.3 видно, что средний размер и характер распределения частиц, осаждаемых при давлении 75 бар и при более высоком давлении (150 бар), по размеру сильно отличаются. Во-первых, при бОльших давлениях (100 и 150 бар)

наблюдается образование частиц меньшего размера по сравнению с экспериментом при 75 бар. Во-вторых, в случае микронизации при давлении 75 бар распределение частиц по размеру бимодально: присутствуют как частицы размером 4-5 мкм, так и другая фракция частиц большего размера 11-20 мкм. Тогда как микронизация при 100 и 150 бар приводит к получению частиц только одной фракции, меньшего размера.

Характер распределения частиц по размеру, а также значения среднего размера частиц хорошо коррелируют с однофазным или двухфазным состоянием системы CO_2 – ацетон – левофлоксацин. Размер осаждаемых частиц напрямую определяется локальным пересыщением при смешении раствора микронизуемой субстанции и CO_2. Разница в характере распределения частиц по размеру, получаемых при 75 бар и при более высоких давлениях, связана с различными механизмами смешения CO_2 и раствора микронизуемого вещества, что приводит к различному локальному пересыщению в системе. В зависимости от параметров состояния системы процесс SAS может проходить в двух принципиально различающихся режимах – абсолютной или частичной смешиваемости. После распыления раствора в CO_2 начинают происходить два процесса: смешение, сопровождающееся исчезновением остаточного межфазного натяжения и гидродинамический разрыв струи. Для описания этих процессов в SAS предложено два характеристических времени. Первое - время до разрыва струи представляет собой время, за которое распыляемый раствор проходит расстояние от выхода из сопла до прохождения места разрыва струи. Второе - время исчезновения межфазного натяжения – время, за которое полностью исчезает граница раздела фаз между распыляемым раствором и сверхкритическим флюидом [165].

В области абсолютной смешиваемости при давлении выше критического двухфазная система не может существовать ни при каком соотношении растворителя и антирастворителя. Смешение раствора и CO_2 происходит «газоподобным» образом, и осаждение частиц идет из однофазной смеси в условиях высокой степени пересыщения. При 40 °C такая ситуация для системы

CO_2 - ацетон – левофлоксацин наблюдается выше 80 бар (рис. 3.2). Быстрое «газоподобное» смешение определяет высокую степень пересыщения при осаждении, и соответственно, высокую скорость зародышеобразования, что приводит к меньшему размеру осаждаемых частиц.

Как правило, в условиях частичной смешиваемости раствора и антирастворителя время исчезновения остаточного межфазного натяжения существенно больше времени до разрыва струи, поэтому образование частиц происходит внутри капель, формирующихся при разрыве струи до завершения смешения. Капли раствора, образовавшиеся после разрыва струи, взаимодействуют с антирастворителем. CO_2 диффундирует в капли, что вызывает их расширение и приводит к появлению градиента концентраций и степени пересыщения микронизуемого вещества по капле.

При давлении ниже 80 бар (40 °С), система CO_2 - ацетон – левофлоксацин пересекает двухфазную область (рис. 3.2) и, соответственно, наблюдается частичная смешиваемость раствора и CO_2. Осаждение происходит из капель, в которых скорость смешения раствора и СК-CO_2 лимитирована площадью поверхности соприкосновения двух фаз. При таких условиях, кристаллизация происходит при больших долях растворителя, что определяет меньшее пересыщение и меньшую скорость зародышеобразования. Образующиеся зародыши успевают вырастать до более крупных размеров. При этом необходимо учитывать, что кристаллизация из однофазной системы ниже 80 бар также имеет место, что приводит к образованию второй фракции частиц меньшего размера.

В работе показано, что кристаллизация левофлоксацина из двухфазной системы CO_2-ацетон-левофлоксацин приводит к получению частиц с бимодальным распределением по размеру. Увеличение давления приводит к смене режима осаждения, и как следствие, кристаллизации частиц меньшего размера. Полученные закономерности характерны для минимальной по вязкости системы ацетон – CO_2.

На рис. 3.5 представлены рентгенограммы исходного левофлоксацина и микронизованного методом SAS при различном давлении. Концентрация

левофлоксацина в растворе составляла 6,25 г/л. Хорошо видно, что в случае микронизованных образцов все пики сохраняют своё положение, что свидетельствует о неизменности полиморфного состава левофлоксацина после микронизации. Некоторое отличие в соотношение интенсивностей на рентгенограммах может быть связано с эффектом текстурирования: различным размером частиц разных образцов.

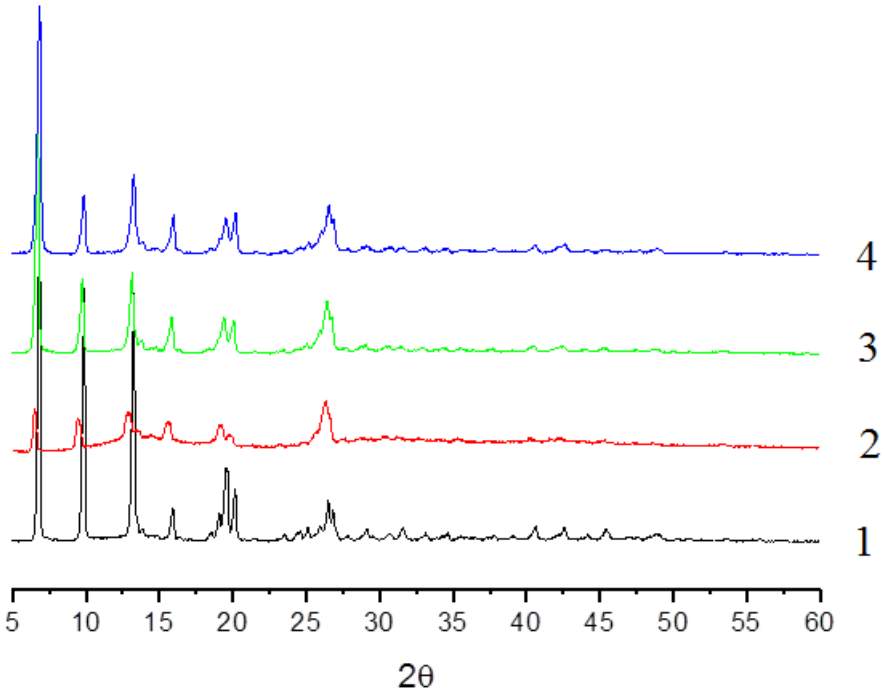
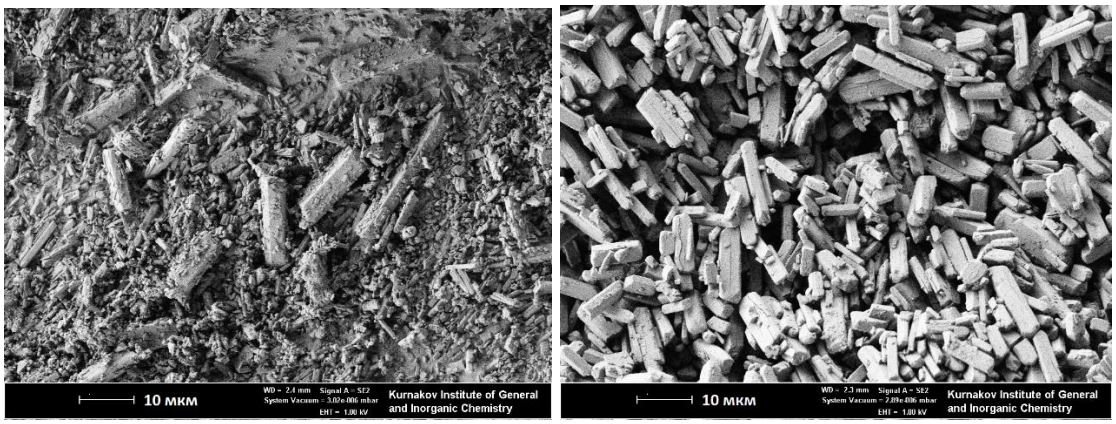


Рис. 3.5. Рентгенограммы исходного левофлоксацина – 1 и микронизованного методом SAS при давлении: 2 – 150 бар, 3 – 100 бар, 4 – 75 бар

3.3.2. Микронизация гидрохлорида левофлоксацина из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – диметилформамид

В табл. 3.4 приведены данные по среднему размеру частиц левофлоксацина, полученных методом SAS в различных условиях. На рис. 3.6 представлены СЭМ фотографии частиц гидрохлорида левофлоксацина, осаждаемых при давлении 75 бар (рис. 3.6 а) и 100 бар (рис. 3.6 б). Концентрация левофлоксацина в исходном растворе в обоих случаях составляла 12,5 г/л.



а б

Рис. 3.6. СЭМ фотографии левофлоксацина, микронизованного методом SAS при давлении: а – 75 бар, б - 100 бар

Табл. 3.4. Средний размер частиц левофлоксацина (мкм), осаждённых методом SAS в различных условиях

Концентрация г/л	Давление, бар		
	150	100	75
6,25	30±5	7±1	0,7±0,1 9±1
12,5	9±2	6±1	1,1±0.3 20±3
25	7±1	2,4±0,3	2±0,5 10±2

Из представленных СЭМ фотографий можно заключить, что распределение частиц по размеру при микронизации при давлении 75 бар бимодально, тогда как при повышении давления до 100-150 бар оно мономодально. В первом случае наблюдается как образование частиц размером 10-20 и более мкм, так и меньшего размера, около 1-2 мкм. При давлениях 100 и 150 бар размер частиц сильно варьируется, в том числе в зависимости от концентрации (от 2 до 40 мкм).

Разница в распределении частиц по размеру, получаемых при (75 бар) и при более высоких давлениях (100 и 150 бар), связана с различными механизмами смешения CO_2 и раствора микронизуемого вещества, что в свою очередь приводит к различному локальному пересыщению в системе. Это более подробно описано выше.

Необходимо отметить, что в случае кристаллизации при давлении 100 и 150 бар (однофазная область системы CO_2-ДМФА-левофлоксацин) частицы при

использовании ДМФА в качестве растворителя оказываются гораздо более крупными по сравнению со случаем использования ацетона. Так, при микронизации из раствора с концентрацией левофлоксацина 6,25 г/л размер частиц, осаждаемых из ДМФА, в 19 раз больше по сравнению с частицами, получаемыми с использованием ацетона при давлении 150 бар. Для интерпретации полученных результатов мы сравнили пересыщение в системах CO_2-ДМФА и CO_2-ацетон. Оказалось, что при 100 и 150 бар растворимость левофлоксацина в системе CO_2-ДМФА сравнима с растворимостью в системе CO_2-ацетон. Соответственно, разница в морфологии и размере частиц должна была быть связана не только с растворимостью левофлоксацина в системе CO_2-растворитель, но и с другими факторами.

Очевидно, что смешение раствора и CO_2 происходит немоментально. В связи с этим для того, чтобы адекватно предсказывать размер осаждаемых в методе SAS частиц, необходимо учитывать именно локальное пересыщение, в определённый момент времени, а не только растворимость микронизуемого вещества, которая определяет пересыщение в системе после полного смешения CO_2 и раствора. На локальное пересыщение, при котором начинает происходить кристаллизация, могут оказывать влияние гидродинамические факторы, которые определяют скорость смешения CO_2 и раствора. На гидродинамические факторы в свою очередь, может влиять вязкость распыляемого раствора. Как показано ниже, вязкость смесей CO_2-ДМФА значительно выше по сравнению с вязкостью смеси CO_2-ацетон (см. ниже, рис. 3.10). Такая разница может объяснять наблюдаемые явления.

Большая вязкость растворителя обуславливает более медленное смешение раствора и CO_2, что приводит к тому, что кристаллизация начинается при большом процентном содержании растворителя. Растворимость левофлоксацина при более высоком процентном содержании растворителя в смеси CO_2-растворитель-микронизированное вещество выше. Это приводит к кристаллизации при меньшем локальном пересыщении и, соответственно, наблюдается образование больших по размеру частиц.

На рис. 3.7 представлены рентгенограммы исходного левофлоксацина и микронизованных методом SAS при различном давлении образцов. Концентрация левофлоксацина в исходном растворе составляла 25 г/л. В случае микронизованных образцов все пики сохраняют свое положение, что свидетельствует о неизменности кристаллической структуры гидрохлорида левофлоксацина после микронизации. Некоторое отличие в соотношениях интенсивности на рентгенограммах может быть связано с различным размером частиц разных образцов (эффект текстурирования).

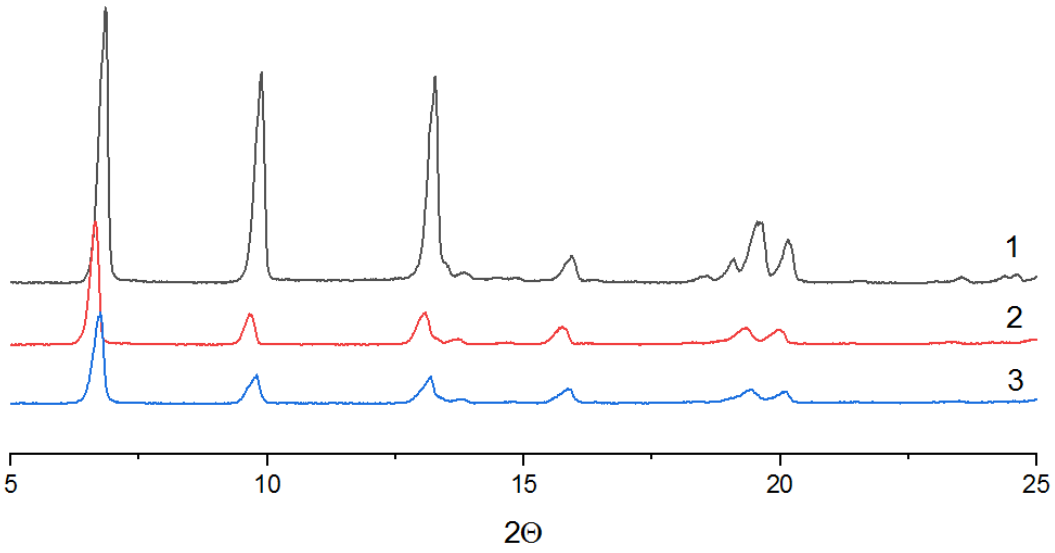


Рис. 3.7. Рентгенограммы исходного левофлоксацина – 1 и микронизованного методом SAS при давлении: 2 – 100 бар, 3 – 75 бар

3.4. Зависимости плотности и вязкости смесей СК CO_2 – растворитель от их состава

Для исследования влияния вязкости смеси CO_2-растворитель на размер и морфологию частиц, осаждаемых методом SAS, необходимо было определить вязкость этих смесей, так как в литературе отсутствует такая информация для используемых в методе SAS условий. Поскольку для определения вязкости среды с помощью уравнения Дарси необходимо использовать объёмный поток среды (см. выше), а кориолисовы расходомеры, используемые в работе, дают

информацию о массовом потоке, то для пересчёта провели серию экспериментов по измерению плотности среды CO_2 – растворитель.

Методом пикнометрии был получен набор изобарно-изотермических зависимостей плотности смесей CO_2-сорастворитель от их состава, результаты представлены на рис. 3.8. Абсолютные значения погрешностей точек, не превышали ±0,005 г/мл. Измеренные значения плотности интерполировали сглаженным кубическим сплайном для дальнейшего использования при расчёте средней объёмной скорости потока в колонке.

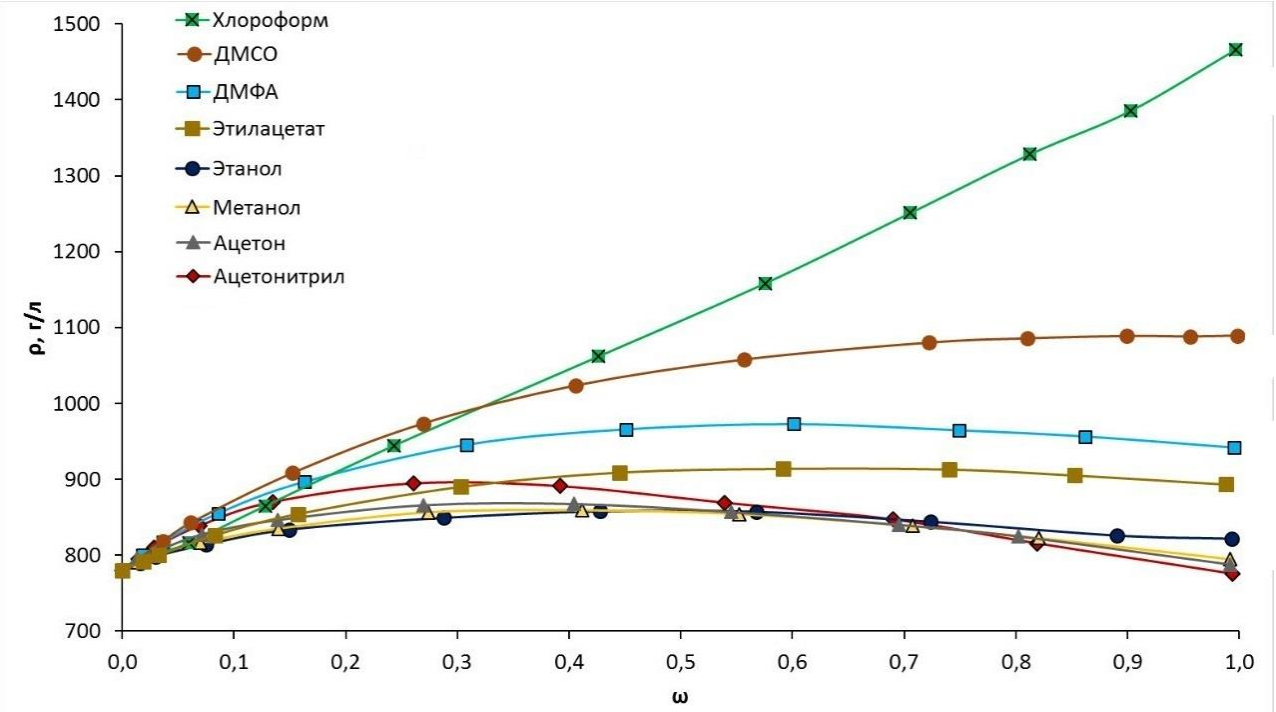


Рис. 3.8. Зависимости плотности смесей CO_2-сорастворитель от мольной доли сорастворителя при 40 ^{0}C и 150 бар.

Эксперименты показали, что в используемых в работе условиях потоки смесей CO_2-сорастворитель в колонке сохраняют ламинарность при средних скоростях более 1 мл/мин. Демонстрация линейности зависимостей перепада давления на колонке от среднего объемного потока на примере некоторых составов флюида представлена на рис. 3.9.

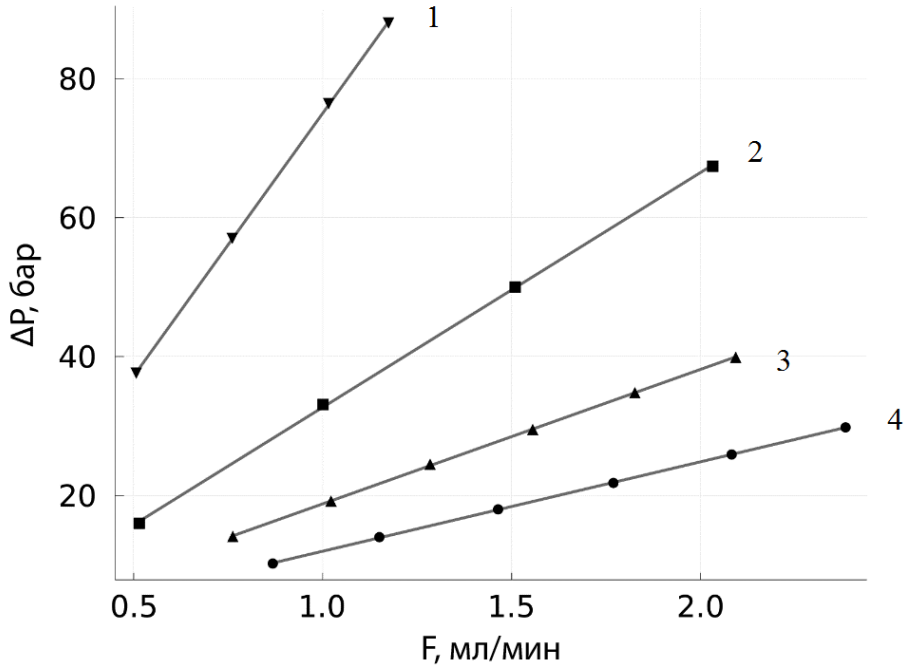


Рис. 3.9. Зависимости перепада давления на колонке от объёмного потока смесей CO_2 – сорастворитель (F). 1 – этилацетат 100 %, 2 - этилацетат 33.3 %, 3 – ацетон 14.5 %, 4 – CO_2

В опытах по измерению вязкости смесей средние скорости потока по колонке обычно составляли 1 ± 0,1 мл/мин. Конструкционные особенности работы регулятора обратного давления в установке не позволяли устанавливать выходное давление в системе ниже 103,5 бар, это ограничило максимальный перепад давления в системе в приблизительно 90 бар при работе со средним давлением в колонке 150 бар. По этой причине в некоторых измерениях использовали меньшие значения потока (вплоть до 0,5 мл/мин), если перепад давления превышал 90 бар. Таким образом все измерения проводили в ламинарном режиме потока, что позволило использовать уравнение Дарси. Результаты расчёта вязкости для описываемых в работе смесей представлены на рис. 3.10.

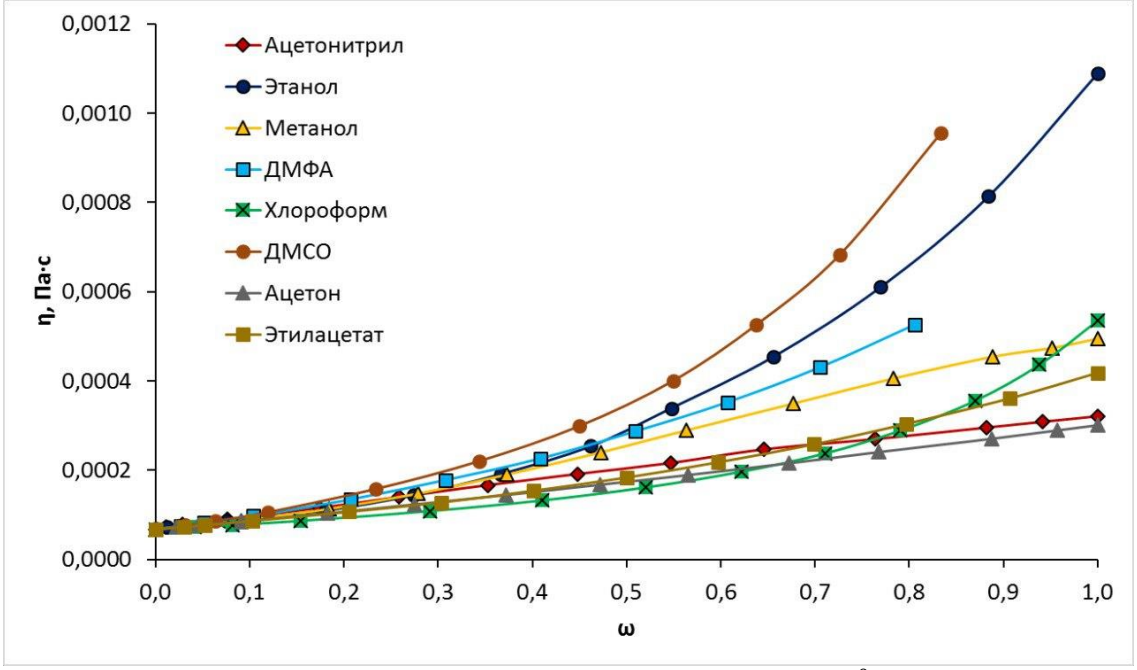


Рис. 3.10. Вязкость смесей CO_2-сорастворитель при 40 ^{0}C и 150 бар.

Опыты показали хорошую воспроизводимость измеренных перепадов давления. Две серии опытов, проведённые с интервалом в одну неделю, дали результаты отличающиеся не более чем на 1 %.

Кривые вязкости для ДМСО и ацетонитрила не были построены в полном интервале концентраций сорастворителя по причине роста перепада давлений более 90 бар даже при скоростях потока подвижной фазы сниженных до 0,5 мл/мин. Дальнейшее уменьшение потока приводило к резкому росту пульсаций потока при работе насоса, и невозможности проведения корректных измерений. При работе с высокими концентрациями ДМФА, исходя из данных расходомера, также наблюдались высокие пульсации потока смеси, по этой причине измерения вязкости в этом случае также не проводили.

Таким образом, были выполнены эксперименты, подтверждающие ламинарность потоков для выбранных условий опытов по определению вязкости, и соответственно, возможность применения уравнения Дарси. Кроме того, для такого расчёта были установлены плотности двухкомпонентных смесей CO_2-растворитель и, соответственно, их вязкость.

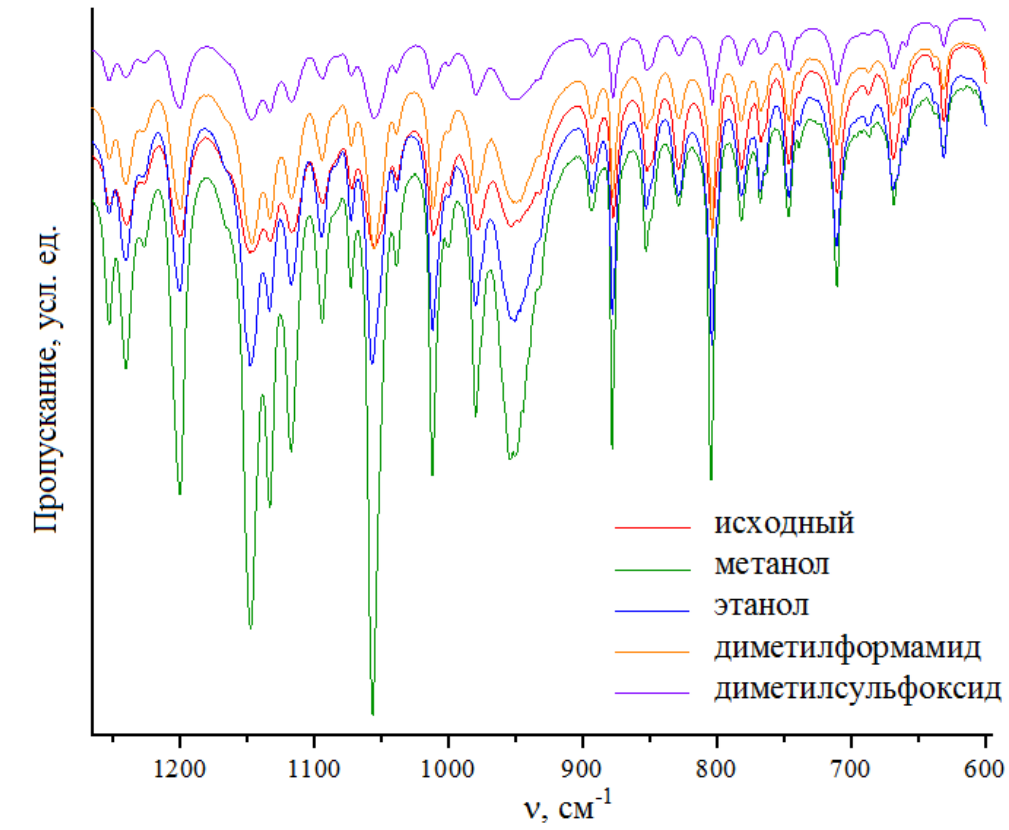
3.5. Влияние микронизации методом SAS на молекулярную и кристаллическую структуру гидрохлорида левофлоксацина

Известно, что осаждение методом SAS может приводить к изменениям химического строения микронизуемых веществ. В ряде случаев химические реакции, сопровождающие перекристаллизацию, могут приводить к получению требуемых продуктов [207]. Однако, в отношении фармацевтических субстанций изменения химического строения нежелательны. Кроме того, для фармацевтических препаратов актуально сохранение энантиомерной чистоты получаемого продукта, так как обычно фармакологической активностью обладает один из энантиомеров. Интересным представляется также исследование полиморфного состава осаждаемых методом SAS активных фармацевтических ингредиентов, так как разные полиморфы обеспечивают разную кинетику растворения вещества. За счёт малого времени перехода микронизуемого методом SAS вещества из жидкой фазы в твёрдую, существует возможность получения метастабильных полиморфных модификаций продукта [192, 198, 208].

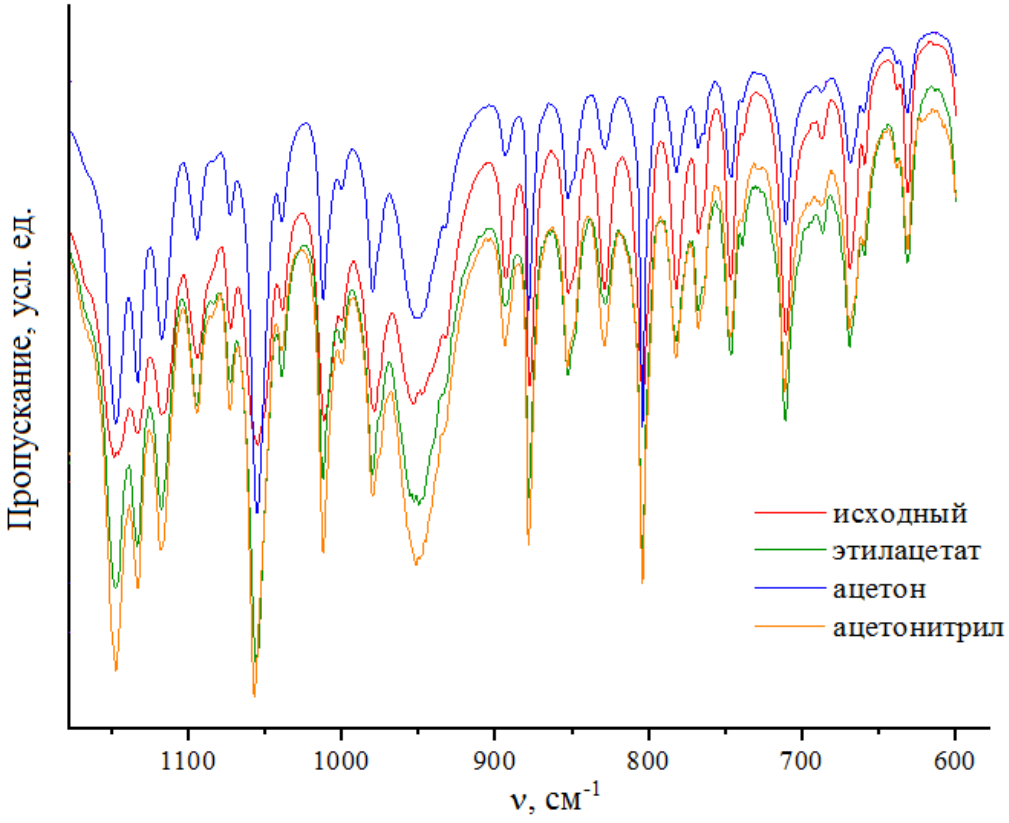
На рис. 3.11 представлены ИК-спектры исходного левофлоксацина, а также микронизованных с использованием различных растворителей образцов.

Было установлено, что микронизация методом SAS не приводит к изменению химической структуры левофлоксацина в случае использования большинства растворителей. Исключением является уксусная кислота (см. приложение 2), которую не использовали в дальнейшем для предотвращения изменения химической структуры левофлоксацина.

Полиморфный состав левофлоксацина после микронизации также сохраняется (рис. 3.12) и соотвествует известному из литературных данных полиморфу моногидрату гидрохлорида левофлоксацина [209].



а



б

Рис. 3.11. ИК спектры гидрохлорида левофлоксацина до обработки (исходный) и образцов, обработанных методом SAS с использованием различных растворителей: метанол, этанол, ДМФА, ДМСО (а); ацетон, ацетонитрил, этилацетат (б).

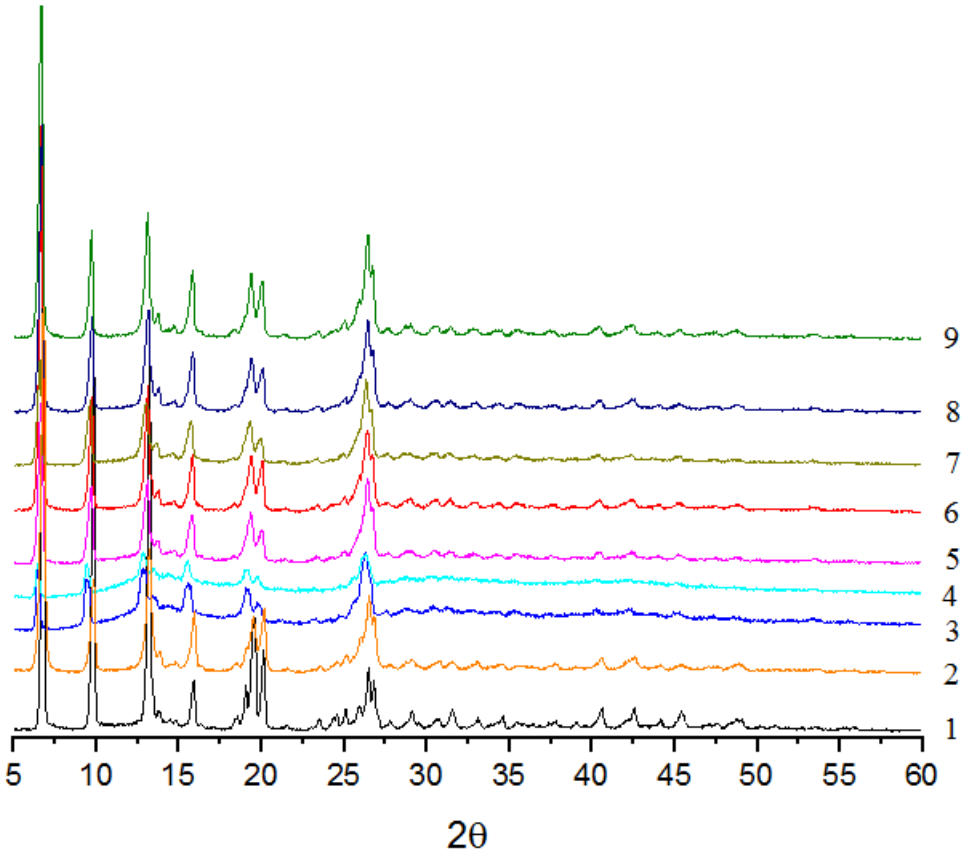
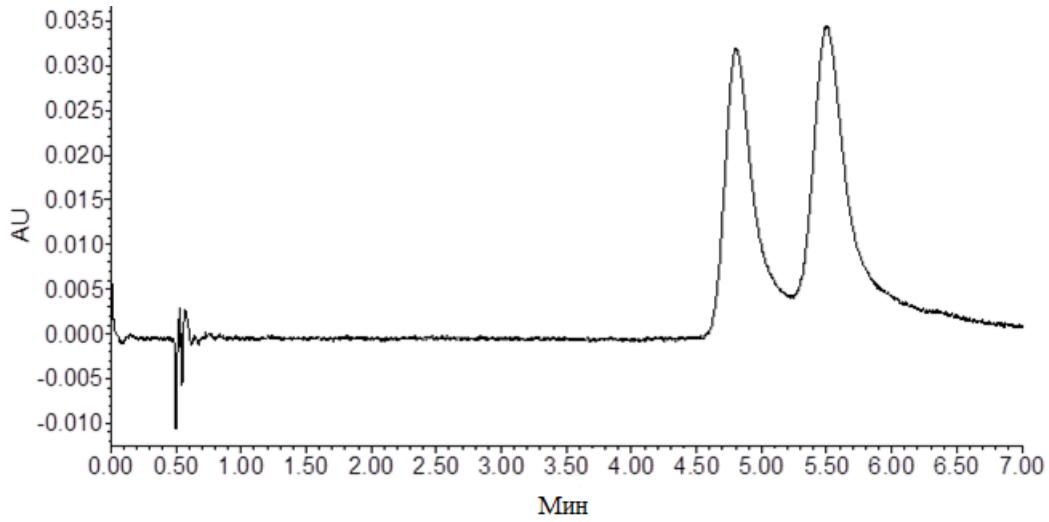


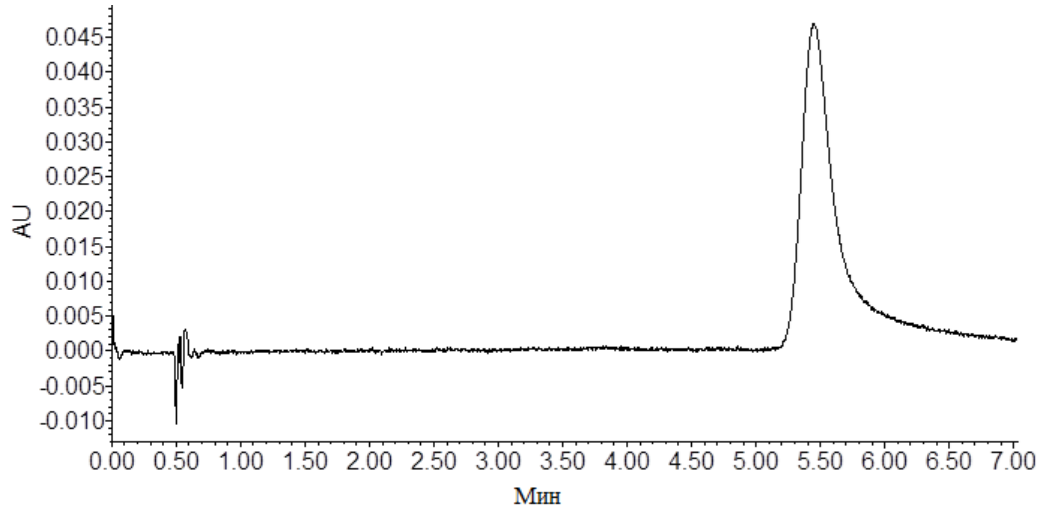
Рис. 3.12. Рентгенограммы исходного левофлоксацина и образцов, микронизованных с использованием различных растворителей: 1 – исходный левофлоксацин, 2 - ацетон, 3 – хлороформ, 4 – этилацетат, 5 – ацетонитрил, 6 – ДМФА, 7 – ДМСО, 8 - этанол, 9 – метанол.

Для подтверждения энантиомерной чистоты образцов левофлоксацина после микронизации были проведены исследования методом сверхкритической флюидной хроматографии, а также более распространённым методом поляриметрии. В качестве образца сравнения был выбран офлоксацин, представляющий собой рацемическую смесь.

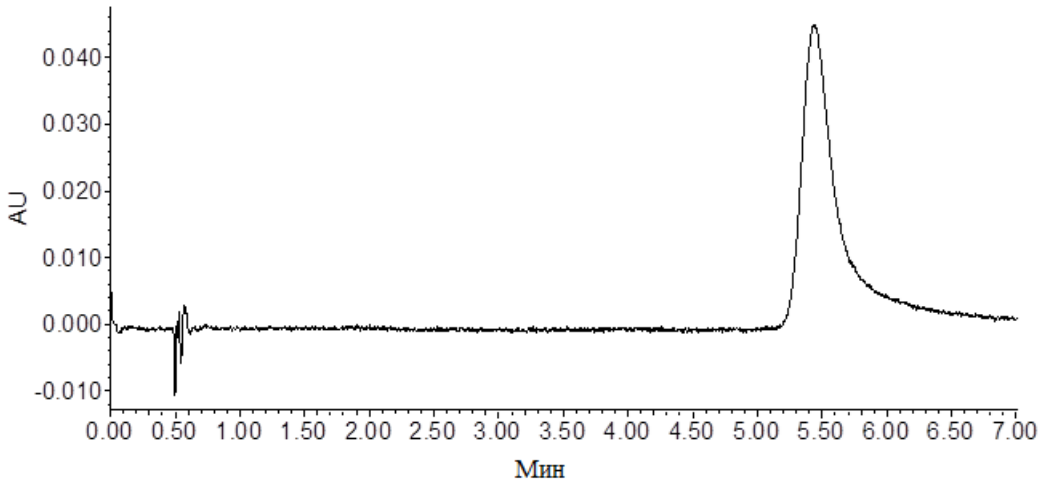
На рис. 3.13 приведены хроматограммы офлоксацина (а), исходного левофлоксацина (б) и левофлоксацина, микронизованного методом SAS (в). Осаждение последнего образца проводили с ипсользованием хлороформа.



а



б



в

Рис. 3.13. Хроматограммы офлоксацина (а), левофлоксацина до (б) и после обработки методом SAS (в)

На хроматограмме офлоксацина (рис. 3.13 а) присутствуют два пика с временами удерживания 4,8 и 5,5 мин, соответствующие двум энантиомерам. В исходном энантиомерно чистом левофлоксацине (рис. 3.13 б) наблюдается один

пик со временем удерживания 5,5 мин. В образце, осаждённом из хлороформа методом SAS, наблюдается один пик со временем удерживания 5,5 мин (рис. 3.13 в), что свидетельствует о неизменности энантиомерной чистоты левофлоксацина после микронизации методом SAS. Для таких растворителей, как ДМФА, метанол, уксусная кислота на хроматограммах также присутствует только один пик со временем удерживания 5,5 мин. Таким образом, вне зависимости от растворителя микронизация методом SAS не изменяет оптическую чистоту левофлоксацина.

В табл. 3.5 приведены результаты измерения угла преломления методом поляриметрии исходного левофлоксацина, а также левофлоксацина, микронизованного методом SAS из различных органических растворителей.

Табл. 3.5. Результаты измерения угла преломления исходного и микронизованных образцов левофлоксацина методом поляриметрии

Образец/растворитель осаждения	Угол преломления, °
Исходный левофлоксацин	-128
ДМФА	-126
Хлороформ	-127
Метанол	-127

В случае всех микронизованных образцов угол преломления одинаковый в рамках погрешности измерений, что дополнительно подтверждает неизменность энантиомерного состава левофлоксацина после проведения микронизации методом SAS.

Таким образом микронизация левофлоксацина методом SAS не приводит к изменениям его химической структуры и не изменяет его энантиомерную чистоту. Полиморфный состав левофлоксацина после переосаждения методом SAS также остаётся неизменным.

3.6. Влияние вязкости смесей CO_2-растворитель и растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель на морфологию и размер осаждаемых частиц

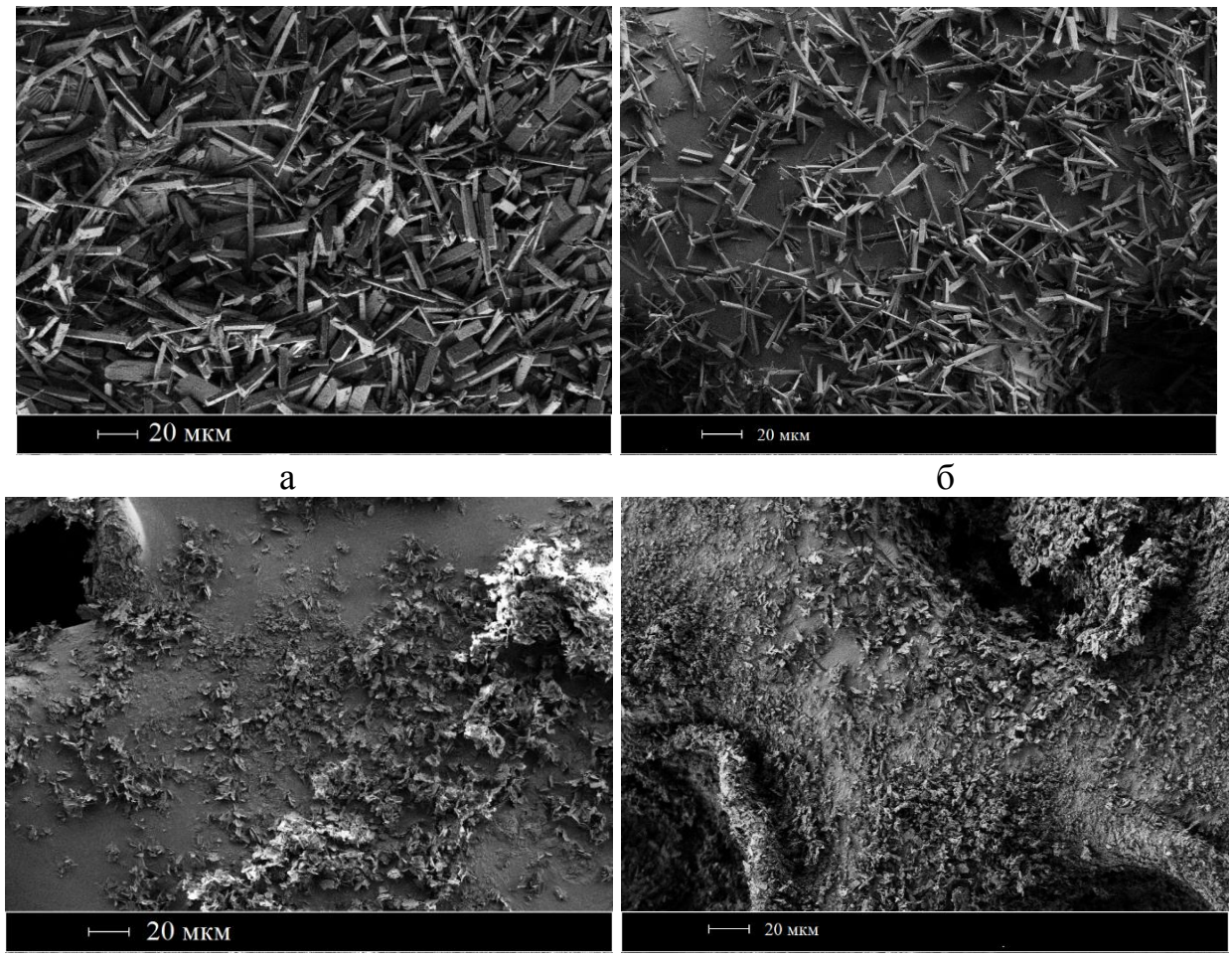
В табл. 3.6 представлены средний размер и морфология полученных методом SAS частиц левофлоксацина. При этом, для корректности сопоставления растворителей, характеризующихся разной вязкостью, растворимость левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель, определённая методом совмещения сверхкритического антисольвентного осаждения и ультрафиолетовой спектроскопии, в представленных первых четырёх опытах была одинаковой (в пределах погрешности метода). Растворители расположены по убыванию вязкости их смесей с CO_2. Концентрация левофлоксацина в растворе составляла 6,25 г/л для всех микронизованных образцов. Микронизацию проводили при давлении 150 бар, температуре 40˚C, скорости потока CO_2 – 50 г/мин, скорости потока раствора 2 мл/мин.

Табл. 3.6 Морфология и размер частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS: скорость потока раствора 2 мл/мин

	Растворитель	**Растворимость левофлоксацина в смеси CO_2-растворитель, г/л**	**Размер частиц, мкм**	**Морфология частиц**
Вязкость смесей растворитель – CO_2 ↓	этанол	0,06±0,03	25±8	игольчатые частицы
	метанол	0,10±0,02	20±5	вытянутые частицы
	хлороформ	0,08±0,02	2±0,2	пластинки
	ацетон	0,08±0,02	2±0,4	пластинки
	ДМФА	0,14±0,02	30±5	игольчатые частицы
	этилацетат	0,14±0,03	2,5	пластинки

Из данных табл. 3.6 видно, что вязкость смесей CO_2-растворитель оказывает достаточно сильное влияние на морфологию и размер получаемых частиц. Образование вытянутых и крупных частиц наблюдается в случае использования более вязких смесей CO_2 – растворитель (этанол, метанол, ДМФА) (рис. 3.14 а и б), тогда как осаждение из менее вязких смесей приводит к образованию пластинчатых кристаллов, на порядок меньших по размеру (рис. 3.14 в и г) (хлороформ, ацетон, этилацетат).

Как уже было отмечено, большая вязкость растворителя приводит к более медленному смешению раствора и CO_2, что обуславливает начало кристаллизации при большем процентном содержании растворителя. Растворимость левофлоксацина при более высоком процентном содержании растворителя в смеси CO_2-растворитель-микронизированное вещество соответственно оказывается выше. Это приводит к росту частиц при меньшем локальном пересыщении и, соответственно, к их большему размеру.



а б

в г

Рис. 3.14. Микрофотографии частиц левофлоксацина, полученных методом SAS из раствора в этаноле (а) и метаноле (б), хлороформе (в) и ацетоне (г)

Аналогичные результаты наблюдаются и в случае других скоростей потоков. В табл. 3.7 и 3.8 представлены средний размер и морфология полученных методом SAS частиц левофлоксацина при скорости потока 1 и 0.5 мл/мин. Остальные условия эксперимента соответствовали описанным выше.

Табл. 3.7. Морфология и размер частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS: скорость потока раствора 1 мл/мин

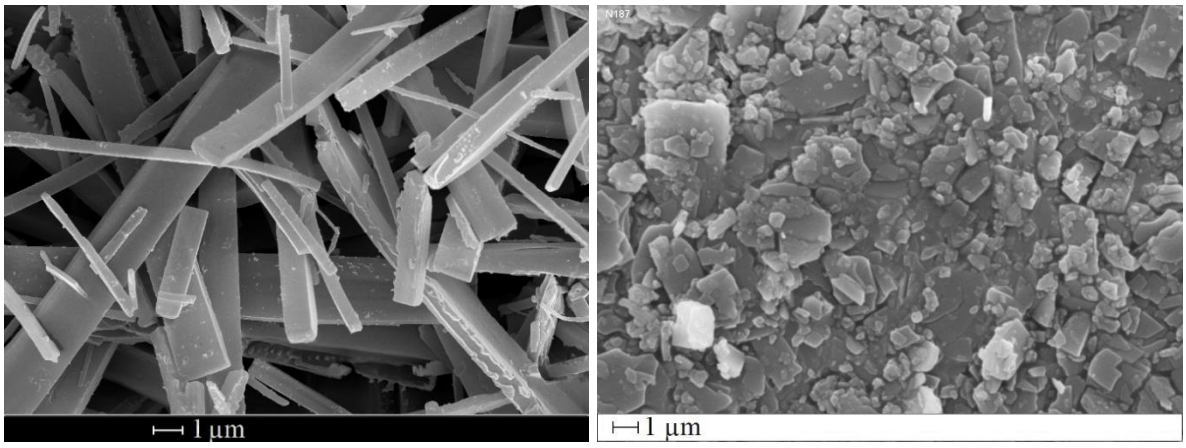
Растворитель	Растворимость левофлоксацина в смеси CO_2-растворитель, г/л	Размер частиц, мкм	Морфология частиц
хлороформ	0,17±0,04	2,8±0,2	пластинки
ДМФА	0,13±0,02	31±2	вытянутые частицы
этилацетат	0,13±0,01	1,6±0,1	пластинки
метанол	0,09±0,02	18±1	вытянутые частицы
ацетонитрил	0,09±0,02	4±0,4	вытянутые частицы/пластинки
ацетон	0,09±0,04	1,6±0,2	пластинки
этанол	0,04±0,02	5,7±0,4	вытянутые частицы

Табл. 3.8. Морфология и размер частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS: скорость потока раствора 0,5 мл/мин

Растворитель	Растворимость левофлоксацина в смеси CO_2-растворитель, г/л	Размер частиц, мкм	Морфология частиц
ДМФА	0,05±0,01	10±1	вытянутые частицы
метанол	0,04±0,01	5±1	вытянутые частицы/пластинки
ацетон	0,05±0,03	1,5±0,2	пластинки
этанол	0,034±0,004	8±1	вытянутые частицы/пластинки
хлороформ	0,02±0,01	1,7±0,2	пластинки

Из данных табл. 3.7 и 3.8 видно, что, как и в случае потока 2 мл/мин, в случае экспериментов, проведённых при равной растворимости левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель, на размер осаждаемых частиц существенно влияет

вязкость этих смесей. В случае более вязких смесей наблюдается образование более вытянутых частиц большего размера (рис. 3.15 а *vs* б)



а б

Рис. 3.15. Микрофотографии частиц левофлоксацина, полученных методом SAS из раствора в метаноле (а) и этилацетате (б)

Растворимость левофлоксацина в смеси CO_2-растворитель также оказывается важным фактором, влияющим на морфологию и размер осаждаемых частиц. Так, образование самых крупных частиц наблюдается именно в случае ДМФА, а не этанола (табл. 3.7, 3.8) (вязкость смесей CO_2 - этанол выше по сравнению с системой CO_2 - ДМФА). По всей видимости, это связано именно с растворимостью левофлоксацина в смеси CO_2-растворитель: так при потоке раствора 1 мл/мин в случае ДМФА она примерно в три раза выше по сравнению с этанолом (табл. 3.7). Аналогичная ситуация наблюдается и в случае метанола: частицы, осаждаемые при его использовании в качестве растворителя меньше по размеру по сравнению с этанолом (табл. 3.7). Однако, при этом, вязкость смесей CO_2-растворитель всё равно является более значимым фактором при осаждении левофлоксацина методом SAS. Так, в случае смеси CO_2-хлороформ, характеризующейся максимальной растворяющей способностью среди всех исследуемых систем, наблюдается образование на порядок меньших частиц по сравнению с ДМФА. Растворимость левофлоксацина в смеси CO_2-ДМФА при этом примерно в 1,5 раза ниже по сравнению с хлороформом (табл. 3.7).

Таким образом, показано, что размер, а также морфология получаемых частиц микронизуемого методом SAS левофлоксацина зависит от вязкости

используемых смесей CO_2 - растворитель, а также растворимости левофлоксацина в смесях CO_2 - растворитель.

Заключение и выводы

1. Показано, что число фаз системы CO_2 – растворитель (ДМФА и ацетон) - левофлоксацин влияет на размер и морфологию осаждаемых частиц. При проведении осаждения методом SAS из одной фазы наблюдается формирование частиц с мономодальным распределением по размеру. Частицы, полученные из однофазных систем CO_2-ацетон и CO_2-ДМФА, как правило, имеют пластинчатую форму и средний размер 2-5 мкм. Частицы, полученные из двухфазных систем CO_2-ацетон и CO_2-ДМФА, обладают бимодальным распределением по размеру (2-3 мкм и 10-20 мкм) и столбчатой морфологией.

2. Показано, что добавка левофлоксацина в системы CO_2 – ацетон и CO_2 – ДМФА оказывает незначительное влияние на равновесие жидкость-газ в этих системах.

3. Установлена зависимость морфологии и размера частиц левофлоксацина, осаждаемых методом SAS, от его растворимости в смесях CO_2 - растворитель и от вязкости этих смесей. В случае растворителей с большей вязкостью, а также смесей CO_2-растворитель, характеризующихся более высокой растворимостью по отношению к левофлоксацину, наблюдается образование более крупных (до 20 микрон) и более удлинённых частиц.

4. Методами ИК-спектроскопии и рентгенофазового анализа показано, что химический состав левофлоксацина после проведения микронизации методом SAS не изменяется. С использованием сверхкритической флюидной хроматографии и поляриметрии показано, что полиморфный состав левофлоксацина после микронизации методом SAS также остаётся неизменным.

5. Разработан и апробирован новый метод измерения растворимости субстанций в многокомпонентных флюидах, основанный на определении концентрации субстанции, микронизуемой методом SAS, в смесях CO_2-растворитель с помощью УФ-спектроскопии. Применимость метода показана сопоставлением с литературными данными.

6. Определена растворимость левофлоксацина в смесях CO_2 – растворитель (этанол, метанол, ацетон, ДМФА, хлороформ, этилацетат, ДМСО, ацетонитрил), предложенным методом измерения растворимости в многокомпонентных флюидах, основанном на совмещении SAS и ультрафиолетовой спектроскопии при температуре 40 °С и давлении 100 и 150 бар.

7. Для установления влияния вязкости смесей CO_2 – растворитель (метанол, этанол, ацетон, ДМСО, ДМФА, этилацетат, хлороформ, ацетонитрил) на морфологию и размер осаждаемых частиц измерена вязкость этих смесей при давлении 150 бар и температуре 40 °С.

Список сокращений и условных обозначений

СКФ	Сверхкритический флюид
СК	Сверхкритический
RESS	Быстрое расширение сверхкритических растворов (The **R**apid **E**xpansion of **S**upercritical **S**olutions)
PGSS	Частицы, формируемые из насыщенного газом раствора **(P**articles from **G**as **S**aturated **S**olution)
SAA	Распыление с помощью сверхкритического флюида (**S**upercritical **A**ssisted **A**tomization)
GAS	Осаждение в газофазном антирастворителе (**G**as **A**nti**S**olvent precipitation)
SAS	Сверхкритическое антисольвентное осаждение **(S**upercritical **A**nti**S**olvent precipitation)
СЭМ	Сканирующая электронная микроскопия
СФХ	Сверхкритическая флюидная хроматография
РФА	Рентгенофазовый анализ
ИК	Инфракрасный
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДМФА	Диметилформамид
$t_{рс}$	Время разрыва струи
$t_{имн}$	Время исчезновения межфазного натяжения
SAS-УФС	Метод сверхкритического антисольвентного осаждения с ультрафиолетовойспектрофотометрией
SAS-СФХ	Метод совмещения SAS и сверхкритической флюидной хроматографии

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1) Кудряшова, Е. В. Микронизация левофлоксацина методом сверхкритического антисольвентного осаждения / Е.В. Кудряшова, **А.М. Воробей** и др. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. - 2015. - Т. 10. - №4. - С.52-66.

2) **Воробей, А.М.** Морфология и размер частиц, получаемых в процессе сверхкритического антисольвентного осаждения / А.М. Воробей, О.И. Покровский, К.Б. Устинович, О.О. Паренаго, В.В. Лунин // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. - 2017. - Т. 1. - № 93. - С. 84-99

3) **Воробей, А. М.** Получение микро- и наночастиц с помощью сверхкритических флюидных технологий / А. М. Воробей, О. О. Паренаго // Журнал физической химии. - 2021. - Т. 95. - № 3. - С. 300 – 311

4) **Vorobei, A. M.** Viscosity Measurement of CO_2–Solvent Mixtures for the Study of the Morphology and Size of Crystalline Particles Obtained Using Supercritical Antisolvent Precipitation / A. M. Vorobei, M. O. Kostenko, O. O. Parenago // Materials. - 2023. Vol. 16. - №. 18. - P. 6151

5) **Воробей, А. М.** Сверхкритическое антисольвентное осаждение гидрохлорида левофлоксацина из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – диметилформамид / А. М. Воробей, Я. П. Рубцов, Я. И. Зуев, О.О. Паренаго // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. - 2022. - Т. 17. - № 3. - С.26 - 36.

6) **Воробей, А. М.** Микронизация гидрохлорида левофлоксацина методом сверхкритического антисольвентного осаждения из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – ацетон / А. М. Воробей, А. Г. Федоровский, М. О. Костенко, Я. И. Зуев, О.О. Паренаго // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. - 2022. - Т. 17. - № 3. - С. 26 – 36

7) **Воробей, А. М.** Совмещение сверхкритического антисольвентного осаждения и УФ-спектроскопии для измерения растворимости в смесях CO_2 – растворитель / А. М. Воробей, Я. И. Зуев, М. О. Костенко, Я. П. Рубцов, О.О.

Паренаго // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. - 2025 - Т. 20. - № 2. - С. 24 – 34

8) **Воробей, А.М.** Управление морфологией и степенью кристалличности частиц, получаемых методом сверхкритического антисольвентного осаждения / А.М. Воробей, К. Б. Устинович, О.И. Покровский, О.О. Паренаго, В.В. Лунин // X Научно-практическая конференция (с международным участием) «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» 30 сентября – 6 октября 2019, г. Ростов-на-Дону, с. 64-65 (устный доклад).

9) **Воробей, А.М.** Сверхкритическое антисольвентное осаждение: влияние вязкости смесей растворитель – CO_2 на размер и морфологию получаемых частиц / А.М. Воробей, М.О. Костенко, О.О. Паренаго // XI Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» 20-24 сентября 2021, Иваново, с. 134 (устный доклад).

10) **Воробей, А.М.** Влияние вязкости смесей растворитель – CO_2 на размер и морфологию частиц, получаемых методом сверхкритического антисольвентного осаждения / А.М. Воробей, М.О. Костенко, О.О. Паренаго // Материалы XIII Всероссийской школы-конференции молодых учёных имени В.В. Лунина «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем», с. 39, Архангельск, 27 июня – 30 июня 2022 года (устный доклад).

11) **Воробей, А.М.** Использование выхода микронизации при сверхкритическом антисольвентном осаждении для оценки растворимости микронизуемой субстанции в смесях CO_2-растворитель / А.М. Воробей, Я. И. Зуев, О. О. Паренаго // XII Научно-практическая конференция с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации». 03 – 08 июля 2023 г., г. Тверь (устный доклад).

12) **Воробей, А.М.** Микронизация левофлоксацина методом сверхкритического антисольвентного осаждения из однофазной и двухфазной смесей CO_2 – растворитель / А.М. Воробей, Я. И. Зуев, О. О. Паренаго // Материалы XII Международной научной конференции «Кинетика и механизм

кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» 18–22 сентября 2023 Иваново, Россия, с. 36-37 (устный доклад).

13) **Воробей, А.М.** Оценка растворимости микронизуемых веществ в смесях CO_2-растворитель при осаждении методом SAS / А.М. Воробей, М.О. Костенко, Я. И. Зуев, О.О. Паренаго // XV всеросссийская школа-конференция молодых учёных «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем» - 01.07 - 03.07.2024, Иваново, Россия. С. 11-12 (устный доклад).

14) **Воробей, А. М.** Исследование растворимости гидрохлорида левофлоксацина в смесях CO_2-растворитель и его микронизация методом сверхкритического антисольвентного осаждения / А. М. Воробей, Я. И. Зуев, М. О. Костенко, Я. П. Рубцов, О.О. Паренаго // XIII Научно-практическая конференция «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации». 29.09 – 04.10 2025 г. Кострома, Россия. С. 90 – 91 (устный доклад).

Список цитируемой литературы

1. Reverchon, E. Mechanisms controlling supercritical antisolvent precipitate morphology / E. Reverchon, I. De Marco // Chemical Engineering Journal. – 2011. – Vol. 169. – № 1. – P. 358-370.

2. Рогинский, С. З. Кинетика роста кристаллов / С. З. Рогинский // Журн. физ. химии.-1939.-XIII. – 1939. – № 8. – С. 1040-1052.

3. Рогинский, С. З. В сб.: Проблемы кинетики и катализа / С. З. Рогинский, О. М. Тодес // М.-Л.: Изд. АН СССР. – 1949. – Т. 6. – В сб. – Р. 27.

4. Рогинский, С. З., Тодес О. М. / С. Рогинский // Изв. АН СССР. Сер. хим. – 1940. – № 4. – С. 475.

5. Gindt, R. Cristallogenese-germination et croissance dans les solutions sursaturees des halogenures alcalins / R. Gindt, R. Kern // Comptes rendus hebdomadaires des seances de l academie des sciences. – 1963. – Vol. 256. – № 21. – P. 4400.

6. Gindt, R. Étude de la germination transitoire en milieu condensé / R. Gindt, R. Kern // Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie. – 1965. – Vol. 69. – № 2. – P. 124-129.

7. Харин, В. М. О кинетике процесса массовой кристаллизации из пересыщенных растворов / В. М. Харин // Коллоидный журнал. – 1974. – Т. 36. – С. 313.

8. Мелихов, И. В. Теор. основы хим. технологии. 1985 / И. В. Мелихов, Л. Б. Берлинер // Т. 19. – С. 158-165.

9. Тодес, О. М. Массовая кристаллизация из растворов / О. М. Тодес, В. А. Себалло, А. Д. Гольцикер // Л.: Химия. – 1984.

10. Полак, А. Ф. Твердение мономинеральных вяжущих веществ / А. Ф. Полак // М.: Стройиздат. – 1966. – С. 208.

11. Экспериментальное исследование влияния пересыщения и времени контактирования на срастание отдельных кристаллов / Е. Д. Щукин, Е. А. Амелина, Р. К. Юсупов и др. // Докл. АН СССР. – 1973. – Т. 213. – С. 155-158.

12. Линников, О. Д. Механизм формирования осадка при спонтанной кристаллизации солей из пересыщенных водных растворов / О. Д. Линников // Успехи химии. – 2014. – Т. 83. – № 4. – С. 343-364.

13. Martín, A. Micronization processes with supercritical fluids: Fundamentals and mechanisms : Drug Delivery Applications of Supercritical Fluid Technology / A. Martín, M. J. Cocero // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2008. – Vol. 60. – Micronization processes with supercritical fluids. – № 3. – P. 339-350.

14. Rantakylä, M. Particle production by supercritical antisolvent processing techniques / M. Rantakylä. – Helsinki University of Technology, 2004.

15. Leuenberger, H. Spray Freeze-drying – The Process of Choice for Low Water Soluble Drugs? / H. Leuenberger // Journal of Nanoparticle Research. – 2002. – Vol. 4. – № 1-2. – P. 111-119.

16. Chamayou, A. Chapter 8 Air Jet Milling / A. Chamayou, J. A. Dodds // Handbook of Powder Technology : Particle Breakage / eds. A. D. Salman [et al.]. – Elsevier Science B.V., 2007. – Vol. 12. – P. 421-435.

17. Austin, L. G. Process engineering of size reduction: ball milling. Process engineering of size reduction / L. G. Austin, R. R. Klimpel, P. T. Luckie. – American Institute of Mining, Metallurgical, and Petroleum Engineers, 1984.

18. Müller, R. H. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future : Nanoparticulate Systems for Improved Drug Delivery / R. H. Müller, C. Jacobs, O. Kayser // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2001. – Vol. 47. – Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. – № 1. – P. 3-19.

19. Donsì, F. Effect of Emulsifier Type and Disruption Chamber Geometry on the Fabrication of Food Nanoemulsions by High Pressure Homogenization / F. Donsì, M. Sessa, G. Ferrari // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2012. – Vol. 51. – № 22. – P. 7606-7618.

20. Preparation of Curcumin Sub-micrometer Dispersions by High-Pressure Homogenization / F. Donsì, Y. Wang, J. Li, Q. Huang // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2010. – Vol. 58. – № 5. – P. 2848-2853.

21. Villiers, M. M. An analysis of fine grinding and aggregation of poorly soluble drug powders in a vibrating ball mill / M. M. Villiers, L. R. Tiedt // Pharmazie. – 1996. – Vol. 51. – № 8. – P. 564-567.

22. Villiers, M. M. de. Influence of cohesive properties of micronized drug powders on particle size analysis / M. M. de Villiers // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1995. – Vol. 13. – № 3. – P. 191-198.

23. Rasenack, N. Micron-size drug particles: common and novel micronization techniques / N. Rasenack, B. W. Müller // Pharmaceutical development and technology. – 2004. – Vol. 9. – Micron-size drug particles. – № 1. – P. 1-13.

24. Vehring, R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying / R. Vehring // Pharmaceutical Research. – 2008. – Vol. 25. – № 5. – P. 999-1022.

25. Bohr, A. Preparation of nanoscale pulmonary drug delivery formulations by spray drying / A. Bohr, C. A. Ruge, M. Beck-Broichsitter // Nanomaterial. – Springer, 2014. – P. 183-206.

26. Johnson, K. A. Preparation of peptide and protein powders for inhalation / K. A. Johnson // Advanced drug delivery reviews. – 1997. – Vol. 26. – № 1. – P. 3-15.

27. Protective effect of sucrose on spray drying of oxyhemoglobin / P. Labrude, M. Rasolomanana, C. Vigneron [et al.] // Journal of pharmaceutical sciences. – 1989. – Vol. 78. – № 3. – P. 223-229.

28. Gombotz W. R. et al. Process for producing small particles of biologically active molecules: pat. EP0432232B1 EU. 1994.

29. Shoyele, S. A. Particle engineering techniques for inhaled biopharmaceuticals : Challenges and Innovations in Effective Pulmonary Systemic and Macromolecular Drug Delivery / S. A. Shoyele, S. Cawthorne // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2006. – Vol. 58. – № 9. – P. 1009-1029.

30. O'Donnell, P. B. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique : Biodegradable Microspheres/Therapeutic Peptide Delivery / P. B. O'Donnell, J. W. McGinity // Advanced Drug Delivery Reviews. – 1997. – Vol. 28. – № 1. – P. 25-42.

31. Iwata, M. Preparation of multi-phase microspheres of poly(D,L-lactic acid) and poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) containing a W/O emulsion by a multiple emulsion solvent evaporation technique / M. Iwata, J. W. McGinity // Journal of Microencapsulation. – 1991. – Vol. 9. – № 2. – P. 201-214.

32. Tabata, Y. Controlled Delivery Systems for Proteins Using Polyanhydride Microspheres / Y. Tabata, S. Gutta, R. Langer // Pharmaceutical Research. – 1993. – Vol. 10. – № 4. – P. 487-496.

33. O'donnell, P. B. Properties of multiphase microspheres of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) prepared by a potentiometric dispersion technique / P. B. O'donnell, M. Iwata, J. W. McGinity // Journal of Microencapsulation. – 1995. – Vol. 12. – № 2. – P. 155-163.

34. Preparation of biodegradable poly(lactic-co-glycolic) acid microspheres and their in vitro release of timolol maleate / C. Sturesson, J. Carlfors, K. Edsman, M. Andersson // International Journal of Pharmaceutics. – 1993. – Vol. 89. – № 3. – P. 235-244.

35. Pradhan, R. S. Formulation and in vitro release study on poly (dl-lactide) microspheres containing hydrophilic compounds: glycine homopeptides / R. S. Pradhan, R. C. Vasavada // Journal of Controlled Release. – 1994. – Vol. 30. – Formulation and in vitro release study on poly (dl-lactide) microspheres containing hydrophilic compounds. – № 2. – P. 143-154.

36. Herrmann, J. Somatostatin containing biodegradable microspheres prepared by a modified solvent evaporation method based on W/O/W-multiple emulsions / J. Herrmann, R. Bodmeier // International Journal of Pharmaceutics. – 1995. – Vol. 126. – № 1. – P. 129-138.

37. Beck, C. Controlled liquid antisolvent precipitation using a rapid mixing device : Pharmaceutical Engineering Science- A Key for Tomorrow's Drugs / C. Beck, S. V. Dalvi, R. N. Dave // Chemical Engineering Science. – 2010. – Vol. 65. – № 21. – P. 5669-5675.

38. Stabilizing dispersions of hydrophobic drug molecules using cellulose ethers during anti-solvent synthesis of micro-particulates / X. Meng, Y. Chen, S. R. Chowdhury [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2009. – Vol. 70. – № 1. – P. 7-14.

39. A continuous and highly effective static mixing process for antisolvent precipitation of nanoparticles of poorly water-soluble drugs / Y. Dong, W. K. Ng, J. Hu [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2010. – Vol. 386. – № 1. – P. 256-261.

40. Dalvi, S. V. Analysis of nucleation kinetics of poorly water-soluble drugs in presence of ultrasound and hydroxypropyl methyl cellulose during antisolvent

precipitation / S. V. Dalvi, R. N. Dave // International Journal of Pharmaceutics. – 2010. – Vol. 387. – № 1. – P. 172-179.

41. Ali, H. S. M. Preparation of hydrocortisone nanosuspension through a bottom-up nanoprecipitation technique using microfluidic reactors / H. S. M. Ali, P. York, N. Blagden // International Journal of Pharmaceutics. – 2009. – Vol. 375. – № 1. – P. 107-113.

42. Mixing intensification by chaotic advection inside droplets for controlled nanoparticle preparation / Z. Liu, Y. Huang, Y. Jin, Y. Cheng // Microfluidics and Nanofluidics. – 2010. – Vol. 9. – № 4-5. – P. 773-786.

43. Controlled Liquid Antisolvent Precipitation of Hydrophobic Pharmaceutical Nanoparticles in a Microchannel Reactor / H. Zhao, J.-X. Wang, Q.-A. Wang [et al.] // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2007. – Vol. 46. – № 24. – P. 8229-8235.

44. Dalvi, S. V. Controlling Particle Size of a Poorly Water-Soluble Drug Using Ultrasound and Stabilizers in Antisolvent Precipitation / S. V. Dalvi, R. N. Dave // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2009. – Vol. 48. – № 16. – P. 7581-7593.

45. Thorat, A. A. Liquid antisolvent precipitation and stabilization of nanoparticles of poorly water soluble drugs in aqueous suspensions: Recent developments and future perspective / A. A. Thorat, S. V. Dalvi // Chemical Engineering Journal. – 2012. – Vols. 181-182. – Liquid antisolvent precipitation and stabilization of nanoparticles of poorly water soluble drugs in aqueous suspensions. – P. 1-34.

46. Jung, J. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey / J. Jung, M. Perrut // The Journal of Supercritical Fluids. – 2001. – Vol. 20. – № 3. – P. 179-219.

47. Hannay, J. B. VI. On the solubility of solids in gases / J. B. Hannay, J. Hogarth // Proceedings of the Royal Society of London. – 1879. – Vol. 29. – № 196-199. – P. 324-326.

48. Krukonis, V. J. Supercritical Fluid Nucleation of Difficult-to-Comminute Solids / V. J. Krukonis // AIChE Ann. Meeting. – San Francisco, 1984.

49. Matson, D. W. Formation of Silica Powders from the Rapid Expansion of Supercritical Solutions / D. W. Matson, R. C. Petersen, R. D. Smith // Journal of the American Ceramic Society. – 1986. – Vol. 1. – № 3. – P. 242-246.

50. Rapid expansion of supercritical fluid solutions: solute formation of powders, thin films, and fibers / D. W. Matson, J. L. Fulton, R. C. Petersen, R. D. Smith // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 1987. – Vol. 26. – Rapid expansion of supercritical fluid solutions. – № 11. – P. 2298-2306.

51. Petersen, R. C. Rapid precipitation of low vapor pressure solids from supercritical fluid solutions: the formation of thin films and powders / R. C. Petersen, D. W. Matson, R. D. Smith // Journal of the American Chemical Society. – 1986. – Vol. 108. – Rapid precipitation of low vapor pressure solids from supercritical fluid solutions. – № 8. – P. 2100-2102.

52. Matson, D. W. Production of powders and films by the rapid expansion of supercritical solutions / D. W. Matson, R. C. Petersen, R. D. Smith // Journal of Materials Science. – 1987. – Vol. 22. – № 6. – P. 1919-1928.

53. Petersen, R. C. The formation of polymer fibers from the rapid expansion of supercritical fluid solutions / R. C. Petersen, D. W. Matson, R. D. Smith // Polymer Engineering & Science. – 1987. – Vol. 27. – № 22. – P. 1693-1697.

54. Sakabe, J. Nanoparticle size control of theophylline using rapid expansion of supercritical solutions (RESS) technique / J. Sakabe, H. Uchida // Advanced Powder Technology. – 2022. – Vol. 33. – № 1. – P. 103413.

55. From olive leaves to spherical nanoparticles by one-step RESS process precipitation / A. Montes, E. Merino, D. Valor [et al.] // European Food Research and Technology. – 2023. – Vol. 249. – № 2. – P. 429-440.

56. Zeinolabedini Hezave, A. Crystallization of micro particles of sulindac using rapid expansion of supercritical solution / A. Zeinolabedini Hezave, F. Esmaeilzadeh // Journal of Crystal Growth. – 2010. – Vol. 312. – № 22. – P. 3373-3383.

57. Solid solubility measurement and microparticle production by supercritical process: A case study of pirfenidone / Y. Chang, Y.-C. Yang, C.-M. Hsieh, C.-S. Su // The Journal of Supercritical Fluids. – 2026. – Solid solubility measurement and microparticle production by supercritical process. – P. 106899.

58. Matson, D. W. The preparation of polycarbosilane powders and fibers during rapid expansion of supercritical fluid solutions / D. W. Matson, R. C. Petersen, R. D. Smith // Materials Letters. – 1986. – Vol. 4. – № 10. – P. 429-432.

59. Thin fluoropolymer films and nanoparticle coatings from the rapid expansion of supercritical carbon dioxide solutions with electrostatic collection / J. L. Fulton, G. S. Deverman, C. R. Yonker [et al.] // Polymer. – 2003. – Vol. 44. – № 13. – P. 3627-3632.

60. Supercritical fluid transport-chemical deposition of films / B. N. Hansen, B. M. Hybertson, R. M. Barkley, R. E. Sievers // Chemistry of Materials. – 1992. – Vol. 4. – № 4. – P. 749-752.

61. Micronization of levofloxacin hemihydrate using supercritical trifluoromethane / E. N. Antonov, A. G. Ivanova, L. I. Krotova [et al.] // Russian Journal of Physical Chemistry B. – 2023. – Vol. 17. – № 8. – P. 1555-1560.

62. Lele, A. K. Morphology of polymers precipitated from a supercritical solvent / A. K. Lele, A. D. Shine // AIChE Journal. – 1992. – Vol. 38. – № 5. – P. 742-752.

63. Preparation of Nanoscale Semiconductors through the Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) into Liquid Solution / Y.-P. Sun, R. Guduru, F. Lin, T. Whiteside // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2000. – Vol. 39. – № 12. – P. 4663-4669.

64. Preparation of Erlotinib hydrochloride nanoparticles (anti-cancer drug) by RESS-C method and investigating the effective parameters / M. Bazaei, B. Honarvar, N. Esfandiari [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 14955.

65. Haji Hosseini, M. Micronization of Clozapine Particles Using Rapid Expansion of Supercritical Solution with Solid Cosolvent (RESS-SC) Process / M. Haji Hosseini // Iranian Journal of Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 10. – № 2. – P. 129-137.

66. Thakur, R. Rapid Expansion of Supercritical Solution with Solid Cosolvent (RESS−SC) Process: Formation of Griseofulvin Nanoparticles / R. Thakur, R. B. Gupta // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2005. – Vol. 44. – Rapid Expansion of Supercritical Solution with Solid Cosolvent (RESS−SC) Process. – № 19. – P. 7380-7387.

67. Sun, Y.-P. Preparation of polymer-protected semiconductor nanoparticles through the rapid expansion of supercritical fluid solution / Y.-P. Sun, H. W. Rollins // Chemical Physics Letters. – 1998. – Vol. 288. – № 2. – P. 585-588.

68. Weinreich B. et al. Verfahren zur herstellung eines pulverförmigen produktes aus einem flüssigen stoff oder stoffgemisch: pat. EP1021241A1 EU. 2000.

69. Wehowski, M. Production of powderous emulsions : Frontiers in Formulation Science (Formula V - 2007) / M. Wehowski, E. Weidner, A. Kilzer // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2008. – Vol. 331. – № 1. – P. 143-149.

70. Otto, F. Design of powders with controlled release properties using the CPF-Technology / F. Otto, S. Grüner, B. Weinreich // Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids, Versailles (France). – P. 28-29.

71. Lankes, H. Liquid absorption capacity of carriers in the food technology / H. Lankes, K. Sommer, B. Weinreich // Powder Technology. – 2003. – Vol. 134. – № 3. – P. 201-209.

72. CPF—Concentrated powder form—A high pressure spray agglomeration technique / M. Petermann, E. Weidner, S. Grüner, B. Weinreich // Proceedings of the Spray Drying. – 2001. – Vol. 1.

73. Reverchon, E. Nanomaterials and supercritical fluids / E. Reverchon, R. Adami // The Journal of Supercritical Fluids. – 2006. – Vol. 37. – № 1. – P. 1-22.

74. Wissinger, R. G. Swelling and sorption in polymer–CO2 mixtures at elevated pressures / R. G. Wissinger, M. E. Paulaitis // Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics. – Vol. 25. – № 12. – P. 2497-2510.

75. Nalawade, S. P. Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications / S. P. Nalawade, F. Picchioni, L. P. B. M. Janssen // Progress in Polymer Science. – 2006. – Vol. 31. – Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts. – № 1. – P. 19-43.

76. Graser F., Wickenhaeuser G. Conditioning of finely divided crude organic pigments: pat. US4451654A USA. 1984.

77. Improvement of nifedipine dissolution characteristics using supercritical CO2 / P. Senčar-Božič, S. Srčič, Z. Knez, J. Kerč // International Journal of Pharmaceutics. – 1997. – Vol. 148. – № 2. – P. 123-130.

78. Micronization of drugs using supercritical carbon dioxide / J. Kerč, S. Srčič, Ž. Knez, P. Senčar-Božič // International Journal of Pharmaceutics. – 1999. – Vol. 182. – № 1. – P. 33-39.

79. Supercritical carbon dioxide assisted aerosolization for thin film deposition, fine powder generation, and drug delivery / C. Y. Xu, R. E. Sievers, U. Karst [et al.] // Green Chemistry: Frontiers in Benign Chemical Synthesis and Processes, Oxford University Press, Oxford. – 1998. – P. 312-335.

80. Sievers, R. E. Formation of Aqueous Small Droplet Aerosols Assisted by Supercritical Carbon Dioxide / R. E. Sievers // Aerosol Science and Technology. – 1999. – Vol. 30. – № 1. – P. 3-15.

81. Sievers R. E., Sellers S. P., Carpenter J. F. Supercritical fluid-assisted nebulization and bubble drying: pat. WO2000075281A2 WIPO. 2000.

82. Dry powders of stable protein formulations from aqueous solutions prepared using supercritical CO2-assisted aerosolization / S. P. Sellers, G. S. Clark, R. E. Sievers, J. F. Carpenter // Journal of Pharmaceutical Sciences. – Vol. 90. – № 6. – P. 785-797.

83. Reverchon, E. Supercritical-Assisted Atomization To Produce Micro- and/or Nanoparticles of Controlled Size and Distribution / E. Reverchon // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2002. – Vol. 41. – № 10. – P. 2405-2411.

84. Reverchon E. Process for the production of micro and/or nano particles: pat. WO2003004142A1 WIPO. 2003.

85. Reverchon, E. Micronization of antibiotics by supercritical assisted atomization / E. Reverchon, G. Della Porta // The Journal of Supercritical Fluids. – 2003. – Vol. 26. – № 3. – P. 243-252.

86. Reverchon, E. Terbutaline microparticles suitable for aerosol delivery produced by supercritical assisted atomization / E. Reverchon, G. Della Porta // International Journal of Pharmaceutics. – 2003. – Vol. 258. – № 1. – P. 1-9.

87. Reverchon, E. Erythromycin micro-particles produced by supercritical fluid atomization / E. Reverchon, A. Spada // Powder Technology. – 2004. – Vol. 141. – № 1. – P. 100-108.

88. Reverchon, E. Micro-particles generation by supercritical assisted atomization / E. Reverchon, A. Spada // Proceedings of the Sixth International Symposium on Supercritical Fluids. – 2003. – Vol. 3. – P. 1665.

89. Reverchon, E. Polymer microparticles production by supercritical assisted atomization / E. Reverchon, A. Antonacci // The Journal of Supercritical Fluids. – 2007. – Vol. 39. – № 3. – P. 444-452.

90. Liparoti, S. PEG micronization by supercritical assisted atomization, operated under reduced pressure / S. Liparoti, R. Adami, E. Reverchon // The Journal of Supercritical Fluids. – 2012. – Vol. 72. – P. 46-51.

91. PLA–PEG copolymers micronization by supercritical assisted atomization / R. Adami, S. Liparoti, L. Izzo [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2012. – Vol. 72. – P. 15-21.

92. Pigment Red 60 micronization using supercritical fluids based techniques / E. Reverchon, R. Adami, I. D. Marco [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2005. – Vol. 35. – № 1. – P. 76-82.

93. Reverchon, E. Supercritical assisted atomization: Performance comparison between laboratory and pilot scale : ISSF 2005 7th International Symposium on Supercritical Fluids, Orlando, Florida / E. Reverchon, R. Adami, G. Caputo // The Journal of Supercritical Fluids. – 2006. – Vol. 37. – Supercritical assisted atomization. – № 3. – P. 298-306.

94. Supercritical fluids processing of polymers for pharmaceutical and medical applications : 20th Year Anniversary Issue of the Journal of Supercritical Fluids / E. Reverchon, R. Adami, S. Cardea, G. D. Porta // The Journal of Supercritical Fluids. – 2009. – Vol. 47. – № 3. – P. 484-492.

95. Adami, R. A new supercritical assisted atomization configuration, for the micronization of thermolabile compounds / R. Adami, S. Liparoti, E. Reverchon // Chemical Engineering Journal. – 2011. – Vol. 173. – № 1. – P. 55-61.

96. Supercritical fluid assisted atomization introduced by hydrodynamic cavitation mixer (SAA-HCM) for micronization of levofloxacin hydrochloride / M.-Q. Cai, Y.-X. Guan, S.-J. Yao, Z.-Q. Zhu // The Journal of Supercritical Fluids. – 2008. – Vol. 43. – № 3. – P. 524-534.

97. Microparticle formation of sodium cellulose sulfate using supercritical fluid assisted atomization introduced by hydrodynamic cavitation mixer / Q. Wang, Y.-X. Guan, S.-J. Yao, Z.-Q. Zhu // Chemical Engineering Journal. – 2010. – Vol. 159. – № 1. – P. 220-229.

98. Controllable preparation and formation mechanism of BSA microparticles using supercritical assisted atomization with an enhanced mixer / Q. Wang, Y.-X. Guan, S.-J. Yao, Z.-Q. Zhu // The Journal of Supercritical Fluids. – 2011. – Vol. 56. – № 1. – P. 97-104.

99. Preparation of chitosan microparticles with diverse molecular weights using supercritical fluid assisted atomization introduced by hydrodynamic cavitation mixer / Y.-B. Shen, Z. Du, Q. Wang [et al.] // Powder Technology. – 2014. – Vol. 254. – P. 416-424.

100. Depressurization of an Expanded Liquid Organic Solution (DELOS): A New Procedure for Obtaining Submicron- or Micron-Sized Crystalline Particles / N. Ventosa, S. Sala, J. Veciana [et al.] // Crystal Growth & Design. – 2001. – Vol. 1. – Depressurization of an Expanded Liquid Organic Solution (DELOS). – № 4. – P. 299-303.

101. Ventosa, N. DELOS process: a crystallization technique using compressed fluids: 1. Comparison to the GAS crystallization method : The 6th Conference on Supercritical Fluids and Their Applications / N. Ventosa, S. Sala, J. Veciana // The Journal of Supercritical Fluids. – 2003. – Vol. 26. – DELOS process. – № 1. – P. 33-45.

102. Use of 1,1,1,2-Tetrafluoroethane (R-134a)-Expanded Liquids as Solvent Media for Ecoefficient Particle Design with the DELOS Crystallization Process / M. Gimeno, N. Ventosa, S. Sala, J. Veciana // Crystal Growth & Design. – 2006. – Vol. 6. – № 1. – P. 23-25.

103. Crystallization of phenanthrene from toluene with carbon dioxide by the GAS process / E. M. Berends, O. S. L. Bruinsma, J. D. Graauw, G. M. van Rosmalen // AIChE Journal. – Vol. 42. – № 2. – P. 431-439.

104. Amani, M. Production of dye nanoparticles via a supercritical gas anti-solvent process and optimisation of the process conditions / M. Amani, N. Saadati Ardestani, S. A. Sajadian // Coloration Technology. – 2023. – Vol. 139. – № 6. – P. 703-718.

105. Gas-Antisolvent (GAS) Crystallization of Aspirin Using Supercritical Carbon Dioxide: Experimental Study and Characterization / D. Jafari, I. Yarnezhad, S. M. Nowee, S. H. N. Baghban // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2015. – Vol. 54. – Gas-Antisolvent (GAS) Crystallization of Aspirin Using Supercritical Carbon Dioxide. – № 14. – P. 3685-3696.

106. Reverchon, E. Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles / E. Reverchon // The Journal of Supercritical Fluids. – 1999. – Vol. 15. – № 1. – P. 1-21.

107. Bleich, J. Aerosol solvent extraction system — a new microparticle production technique / J. Bleich, B. W. Müller, W. Waßmus // International Journal of Pharmaceutics. – 1993. – Vol. 97. – № 1. – P. 111-117.

108. Steckel, H. Micronizing of steroids for pulmonary delivery by supercritical carbon dioxide / H. Steckel, J. Thies, B. W. Müller // International Journal of Pharmaceutics. – 1997. – Vol. 152. – № 1. – P. 99-110.

109. Application of aerosol solvent extraction system (ASES) process for preparation of liposomes in a dry and reconstitutable form / S. Kunastitchai, L. Pichert, N. Sarisuta, B. W. Müller // International Journal of Pharmaceutics. – 2006. – Vol. 316. – № 1. – P. 93-101.

110. Franco, P. Supercritical Antisolvent Process for Pharmaceutical Applications: A Review / P. Franco, I. De Marco // Processes. – 2020. – Vol. 8. – Supercritical Antisolvent Process for Pharmaceutical Applications. – № 8. – P. 938.

111. Particle preparation of pharmaceutical compounds using supercritical antisolvent process: current status and future perspectives / R. Kumar, A. K. Thakur, G. Kali [et al.] // Drug Delivery and Translational Research. – 2023. – Vol. 13. – Particle preparation of pharmaceutical compounds using supercritical antisolvent process. – № 4. – P. 946-965.

112. Development of nanoparticles for pharmaceutical preparations using supercritical techniques / T. Islam, A. Al Ragib, S. Ferdosh [et al.] // Chemical Engineering Communications. – 2022. – Vol. 209. – № 12. – P. 1642-1663.

113. Franco, P. Nanoparticles and nanocrystals by supercritical CO2-assisted techniques for pharmaceutical applications: a review / P. Franco, I. De Marco // Applied sciences. – 2021. – Vol. 11. – Nanoparticles and nanocrystals by supercritical CO2-assisted techniques for pharmaceutical applications. – № 4. – P. 1476.

114. High-loaded Ni-based catalysts obtained via supercritical antisolvent coprecipitation in transfer hydrogenation of anisole: Influence of the support / A. A. Philippov, N. N. Nesterov, V. P. Pakharukova, O. N. Martyanov // Applied Catalysis A: General. – 2022. – Vol. 643. – High-loaded Ni-based catalysts obtained via supercritical antisolvent coprecipitation in transfer hydrogenation of anisole. – P. 118792.

115. Zinc Oxide Nanoparticles Obtained by Supercritical Antisolvent Precipitation for the Photocatalytic Degradation of Crystal Violet Dye / P. Franco, O. Sacco, I. De Marco, V. Vaiano // Catalysts. – 2019. – Vol. 9. – № 4. – P. 346.

116. Partial oxidation of methane to syngas over SmCoO3-derived catalysts: the effect of the supercritical fluid assisted modification of the perovskite precursor / A. V. Gavrikov, A. S. Loktev, A. B. Ilyukhin [et al.] // International Journal of Hydrogen Energy. – 2022. – Partial oxidation of methane to syngas over SmCoO3-derived catalysts.

117. Mesoporous aerogel-like Al-Si oxides obtained via supercritical antisolvent precipitation of alumina and silica sols / N. S. Nesterov, A. S. Shalygin, V. P. Pakharukova [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2019. – Vol. 149. – P. 110-119.

118. Extension of the Hansen solubility parameter concept to the micronization of cyclotrimethylenetrinitramine crystals by supercritical anti-solvent process / B. Seo, T. Kim, H. J. Park [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2016. – Vol. 111. – P. 112-120.

119. Supercritical Antisolvent Processing of Nitrocellulose: Downscaling to Nanosize, Reducing Friction Sensitivity and Introducing Burning Rate Catalyst / O. S. Dobrynin, M. N. Zharkov, I. V. Kuchurov [et al.] // Nanomaterials. – 2019. – Vol. 9. – Supercritical Antisolvent Processing of Nitrocellulose. – № 10. – P. 1386.

120. Supercritical Antisolvent Precipitation of Nanoparticles of Superconductor Precursors / E. Reverchon, G. Della Porta, A. Di Trolio, S. Pace // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 1998. – Vol. 37. – № 3. – P. 952-958.

121. Prosapio, V. Polymers' ultrafine particles for drug delivery systems precipitated by supercritical carbon dioxide+organic solvent mixtures / V. Prosapio, E. Reverchon, I. De Marco // Powder Technology. – 2016. – Vol. 292. – P. 140-148.

122. Supercritical antisolvent micronization of some biopolymers / E. Reverchon, G. Della Porta, I. De Rosa [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2000. – Vol. 18. – № 3. – P. 239-245.

123. Precipitation of Microparticulate Organic Pigment Powders by a Supercritical Antisolvent Process / L. Hong, J. Guo, Y. Gao, W.-K. Yuan // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2000. – Vol. 39. – № 12. – P. 4882-4887.

124. Supercritical AntiSolvent micronization of nalmefene HCl on laboratory and pilot scale / R. Adami, E. Reverchon, E. Järvenpää, R. Huopalahti // Powder Technology. – 2008. – Vol. 182. – № 1. – P. 105-112.

125. Jung, J. Gram to kilogram scale-up of supercritical anti-solvent process / J. Jung, J.-Y. Clavier, M. Perrut // Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids. – 2003. – Vol. 3. – P. 1683-1688.

126. Pilot scale micronization of amoxicillin by supercritical antisolvent precipitation : The 6th Conference on Supercritical Fluids and Their Applications / E. Reverchon, I.

De Marco, G. Caputo, G. Della Porta // The Journal of Supercritical Fluids. – 2003. – Vol. 26. – № 1. – P. 1-7.

127. Recrystallization of organic compounds using near critical carbon dioxide / J. Robertson, M. B. King, J. P. K. Seville [et al.] // The 4th International Symposium on Supercritical Fluids. – Sendai, 1997. – P. 47-50.

128. Hanna M., York P. Method and apparatus for the formation of particles: pat. WO1995001221A1 WIPO. 1995.

129. York P., Hanna M. Salmeterol xinafoate with controlled particle size: pat. US5795594A USA. 1998.

130. Encapsulation of olive leaf (Olea europaea) extract using solution-enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS) technique / A. Dalla Rosa, M. C. Secco, A. M. De Cezaro [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2023. – Vol. 198. – P. 105922.

131. Precipitation of ephedrine by SEDS process using a specially designed prefilming atomizer / W. Z. He, Q. L. Suo, Z. H. Jiang [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2004. – Vol. 31. – № 1. – P. 101-110.

132. Micronization of the officinal component baicalin by SEDS-PA process / W. Z. He, Q. L. Suo, Y. X. Li [et al.] // Crystal Research and Technology. – 2007. – Vol. 42. – № 6. – P. 631-638.

133. Chattopadhyay, P. Production of griseofulvin nanoparticles using supercritical CO2 antisolvent with enhanced mass transfer / P. Chattopadhyay, R. B. Gupta // International Journal of Pharmaceutics. – 2001. – Vol. 228. – № 1. – P. 19-31.

134. Chattopadhyay, P. Protein nanoparticles formation by supercritical antisolvent with enhanced mass transfer / P. Chattopadhyay, R. B. Gupta // AIChE Journal. – Vol. 48. – № 2. – P. 235-244.

135. Preparation of thalidomide nano-flakes by supercritical antisolvent with enhanced mass transfer / H. Jin, M. Hemingway, R. B. Gupta [et al.] // Particuology. – 2012. – Vol. 10. – № 1. – P. 17-23.

136. Production of β-Carotene Nanoparticles by the Solution Enhanced Dispersion with Enhanced Mass Transfer by Ultrasound in Supercritical CO2 (SEDS-EM) / H. Y. Jin, M. Hemingway, F. Xia [et al.] // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 2011. – Vol. 50. – № 23. – P. 13475-13484.

137. Finely-divided powders by carrier solution injection into a near or supercritical fluid / W. J. Schmitt, M. C. Salada, G. G. Shook, S. M. Speaker // AIChE Journal. – 1995. – Vol. 41. – № 11. – P. 2476-2486.

138. Foster N. R. et al. Synthesis of small particles: pat. WO2002045690A1 WIPO. 2002.

139. Hsu, R.-Y. Formation of micron-sized cycloolefin copolymer from toluene solution using compressed HFC-134a as antisolvent / R.-Y. Hsu, C.-S. Tan, J.-M. Chen // Journal of Applied Polymer Science. – Vol. 84. – № 9. – P. 1657-1668.

140. Tan, C.-S. Precipitation of Polystyrene from Toluene with HFC-134a by the GAS Process / C.-S. Tan, W.-W. Chang // Industrial & Engineering Chemistry Research. – 1998. – Vol. 37. – № 5. – P. 1821-1826.

141. Ghaderi, R. A new method for preparing biodegradable microparticles and entrapment of hydrocortisone in DL-PLG microparticles using supercritical fluids / R. Ghaderi, P. Artursson, J. Carlfors // European journal of pharmaceutical sciences. – 2000. – Vol. 10. – № 1. – P. 1-9.

142. Micronization of insulin from halogenated alcohol solution using supercritical carbon dioxide as an antisolvent / W. K. Snavely, B. Subramaniam, R. A. Rajewski, M. R. Defelippis // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2002. – Vol. 91. – № 9. – P. 2026-2039.

143. De Marco, I. Supercritical carbon dioxide+ethanol mixtures for the antisolvent micronization of hydrosoluble materials / I. De Marco, E. Reverchon // Chemical Engineering Journal. – 2012. – Vol. 187. – P. 401-409.

144. Palakodaty, S. Supercritical Fluid Processing of Materials from Aqueous Solutions: The Application of SEDS to Lactose as a Model Substance / S. Palakodaty, P. York, J. Pritchard // Pharmaceutical Research. – 1998. – Vol. 15. – Supercritical Fluid Processing of Materials from Aqueous Solutions. – № 12. – P. 1835-1843.

145. The facile synthesis of Ni–Cu catalysts stabilized in SiO2 framework via a supercritical antisolvent approach / N. S. Nesterov, V. P. Paharukova, V. A. Yakovlev, O. N. Martyanov // The Journal of Supercritical Fluids. – 2016. – Vol. 112. – P. 119-127.

146. Formation of Polymer-Carbon Nanotube Composites by Two-Step Supercritical Fluid Treatment / A. M. Vorobei, K. B. Ustinovich, S. A. Chernyak [et al.] // Materials. – 2021. – Vol. 14. – № 23. – P. 7428.

147. Palakodaty, S. Phase Behavioral Effects on Particle Formation Processes Using Supercritical Fluids / S. Palakodaty, P. York // Pharmaceutical Research. – 1999. – Vol. 16. – № 7. – P. 976-985.

148. Reverchon, E. Supercritical antisolvent micronization of Cefonicid: thermodynamic interpretation of results / E. Reverchon, I. De Marco // The Journal of Supercritical Fluids. – 2004. – Vol. 31. – Supercritical antisolvent micronization of Cefonicid. – № 2. – P. 207-215.

149. Reverchon, E. Supercritical antisolvent precipitation of Cephalosporins / E. Reverchon, I. De Marco // Powder Technology. – 2006. – Vol. 164. – № 3. – P. 139-146.

150. Campardelli, R. Dependence of SAS particle morphologies on the ternary phase equilibria / R. Campardelli, E. Reverchon, I. De Marco // The Journal of Supercritical Fluids. – 2017. – Vol. 130. – P. 273-281.

151. Measurement and prediction of high-pressure vapor–liquid equilibria for binary mixtures of carbon dioxide+n-octane, methanol, ethanol, and perfluorohexane : 100th year Anniversary of van der Waals' Nobel Lecture / K. Tochigi, T. Namae, T. Suga [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2010. – Vol. 55. – № 2. – P. 682-689.

152. Stievano, M. High-pressure density and vapor–liquid equilibrium for the binary systems carbon dioxide–ethanol, carbon dioxide–acetone and carbon dioxide–dichloromethane / M. Stievano, N. Elvassore // The Journal of Supercritical Fluids. – 2005. – Vol. 33. – № 1. – P. 7-14.

153. Dohrn, R. High-pressure fluid-phase equilibria: Experimental methods and systems investigated (1988–1993) / R. Dohrn, G. Brunner // Fluid Phase Equilibria. – 1995. – Vol. 106. – High-pressure fluid-phase equilibria. – № 1. – P. 213-282.

154. Dohrn, R. High-pressure fluid-phase equilibria: Experimental methods and systems investigated (2000–2004) / R. Dohrn, S. Peper, J. M. S. Fonseca // Fluid Phase Equilibria. – 2010. – Vol. 288. – High-pressure fluid-phase equilibria. – № 1. – P. 1-54.

155. Fonseca, J. M. S. High-pressure fluid-phase equilibria: Experimental methods and systems investigated (2005–2008) / J. M. S. Fonseca, R. Dohrn, S. Peper // Fluid Phase Equilibria. – 2011. – Vol. 300. – High-pressure fluid-phase equilibria. – № 1. – P. 1-69.

156. Peng, D.-Y. A New Two-Constant Equation of State / D.-Y. Peng, D. B. Robinson // Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals. – 1976. – Vol. 15. – № 1. – P. 59-64.

157. Effect of precipitation chamber geometry on the production of microparticles by antisolvent process / F. A. R. Cardoso, R. V. P. Rezende, R. A. Almeida [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2018. – Vol. 133. – P. 357-366.

158. Hsieh, C.-M. Vapor–liquid equilibrium measurements of the binary mixtures CO2+acetone and CO2+pentanones / C.-M. Hsieh, J. Vrabec // The Journal of Supercritical Fluids. – 2015. – Vol. 100. – P. 160-166.

159. Mukhopadhyay, M. Thermodynamic modeling for supercritical fluid process design / M. Mukhopadhyay, G. R. Rao // Industrial & engineering chemistry research. – 1993. – Vol. 32. – № 5. – P. 922-930.

160. Некоторые Термодинамические Свойства Смеси "Антрацен-Диоксид Углерода" В Сверхкритической Флюидной Области Состояния / A. J. Ameer,

А. А. Захаров, Т. Р. Билалов [et al.] // Сверхкритические Флюиды: Теория И Практика. – 2015. – Vol. 10. – № 4.

161. Билалов, Т. Р. Фазовая диаграмма системы сверхкритический диоксид углерода - этилкарбитол / Т. Р. Билалов, Н. Б. Завьялова, Ф. М. Гумеров // Сверхкритические Флюиды: Теория И Практика. – 2019. – Vol. 14. – № 4.

162. Konynenburg, P. H. van. Critical lines and phase equilibria in binary van der Waals mixtures / P. H. van Konynenburg, R. L. Scott // Phil. Trans. R. Soc. Lond. A. – 1980. – Vol. 298. – № 1442. – P. 495-540.

163. Page, S. H. Fluid phase equilibria in supercritical fluid chromatography with CO2-based mixed mobile phases: A review / S. H. Page, S. R. Sumpter, M. L. Lee // Journal of Microcolumn Separations. – 1992. – Vol. 4. – Fluid phase equilibria in supercritical fluid chromatography with CO2-based mixed mobile phases. – № 2. – P. 91-122.

164. Циклис, Д. С. Расслоение газовых смесей: Фазовые равновесия в двойных системах при сверхкритических параметрах. Расслоение газовых смесей / Д. С. Циклис. – Химия, 1969.

165. Droplet mass transfer, intradroplet nucleation and submicron particle production in two-phase flow of solvent-supercritical antisolvent emulsion : A collection of papers presented at the International Workshop on Bubble and Drop Interfaces 2004, Genoa (Italy), 25th-28th April, 2004 / S. S. Dukhin, Y. Shen, R. Dave, R. Pfeffer // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2005. – Vol. 261. – № 1. – P. 163-176.

166. Expanded micro-particles by supercritical antisolvent precipitation: Interpretation of results / E. Reverchon, I. De Marco, R. Adami, G. Caputo // The Journal of Supercritical Fluids. – 2008. – Vol. 44. – Expanded micro-particles by supercritical antisolvent precipitation. – № 1. – P. 98-108.

167. Supercritical AntiSolvent micronization of PVA by semi-continuous and batch processing / R. Adami, L. S. Osséo, R. Huopalahti, E. Reverchon // The Journal of Supercritical Fluids. – 2007. – Vol. 42. – № 2. – P. 288-298.

168. De Marco, I. Supercritical antisolvent micronization of cyclodextrins / I. De Marco, E. Reverchon // Powder Technology. – 2008. – Vol. 183. – № 2. – P. 239-246.

169. Dixon, D. J. Microcellular microspheres and microballoons by precipitation with a vapour-liquid compressed fluid antisolvent / D. J. Dixon, G. Luna-Bárcenas, K. P. Johnston // Polymer. – 1994. – Vol. 35. – № 18. – P. 3998-4005.

170. Werling, J. O. Numerical modeling of mass transfer in the supercritical antisolvent process / J. O. Werling, P. G. Debenedetti // The Journal of Supercritical Fluids. – 1999. – Vol. 16. – № 2. – P. 167-181.

171. Werling, J. O. Numerical modeling of mass transfer in the supercritical antisolvent process: miscible conditions / J. O. Werling, P. G. Debenedetti // The Journal of Supercritical Fluids. – 2000. – Vol. 18. – Numerical modeling of mass transfer in the supercritical antisolvent process. – № 1. – P. 11-24.

172. Analysis of the supercritical antisolvent mechanisms governing particles precipitation and morphology by in situ laser scattering techniques / A. Braeuer, S. Dowy, E. Torino [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2011. – Vol. 173. – № 1. – P. 258-266.

173. Spherical microparticles production by supercritical antisolvent precipitation: interpretation of results / E. Reverchon, R. Adami, G. Caputo, I. De Marco // The Journal of supercritical fluids. – 2008. – Vol. 47. – № 1. – P. 70-84.

174. Mangiferin nanoparticles precipitation by supercritical antisolvent process / A. Montes, L. Wehner, C. Pereyra, E. J. M. de la Ossa // The Journal of Supercritical Fluids. – 2016. – Vol. 112. – P. 44-50.

175. Prosapio, V. Formation of PVP/nimesulide microspheres by supercritical antisolvent coprecipitation / V. Prosapio, E. Reverchon, I. De Marco // The Journal of Supercritical Fluids. – 2016. – Vol. 118. – P. 19-26.

176. Control of particle size, at micrometric and nanometric range, using supercritical antisolvent precipitation from solvent mixtures: Application to PVP / I. De Marco, M. Rossmann, V. Prosapio [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2015. – Vol. 273. – Control of particle size, at micrometric and nanometric range, using supercritical antisolvent precipitation from solvent mixtures. – P. 344-352.

177. Preparation of hydroxypropylmethylcellulose microparticles using supercritical antisolvent precipitation / A. M. Vorobei, K. B. Ustinovich, O. I. Pokrovskiy [et al.] // Russian Journal of Physical Chemistry B. – 2015. – Vol. 9. – № 8. – P. 1103-1108.

178. Reverchon, E. Nanoparticles production by supercritical antisolvent precipitation: A general interpretation / E. Reverchon, I. De Marco, E. Torino // The Journal of Supercritical Fluids. – 2007. – Vol. 43. – Nanoparticles production by supercritical antisolvent precipitation. – № 1. – P. 126-138.

179. Development of megestrol acetate solid dispersion nanoparticles for enhanced oral delivery by using a supercritical antisolvent process / E.-S. Ha, J.-S. Kim, I. Baek [et al.] // Drug Design, Development and Therapy. – 2015. – Vol. 9. – P. 4269-4277.

180. Tetracycline nanoparticles precipitation using supercritical and liquid CO2 as antisolvents / T. J. Yoon, W.-S. Son, H. J. Park [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2016. – Vol. 107. – P. 51-60.

181. Preparation of Cefquinome Nanoparticles by Using the Supercritical Antisolvent Process / X. Kefeng, W. Weiqiang, H. Dedong [et al.] // J. Nanomaterials. – 2016. – Vol. 16. – № 1. – P. 392:392-392:392.

182. Interactions of phase equilibria, jet fluid dynamics and mass transfer during supercritical antisolvent micronization: The influence of solvents / I. De Marco, O. Knauer, F. Cice [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2012. – Vol. 203. – Interactions of phase equilibria, jet fluid dynamics and mass transfer during supercritical antisolvent micronization. – P. 71-80.

183. Interactions of phase equilibria, jet fluid dynamics and mass transfer during supercritical antisolvent micronization / E. Reverchon, E. Torino, S. Dowy [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2010. – Vol. 156. – № 2. – P. 446-458.

184. Marra, F. Numerical analysis of the characteristic times controlling supercritical antisolvent micronization / F. Marra, I. De Marco, E. Reverchon // Chemical Engineering Science. – 2012. – Vol. 71. – P. 39-45.

185. De Marco, I. Influence of pressure, temperature and concentration on the mechanisms of particle precipitation in supercritical antisolvent micronization / I. De Marco, E. Reverchon // The Journal of Supercritical Fluids. – 2011. – Vol. 58. – № 2. – P. 295-302.

186. Кротова, Л. И. СКФ микронизация поли-3-гидроксибутирата методом антисольвентного осаждения / Л. И. Кротова, А. В. Миронов, В. К. Попов // Сверхкритические Флюиды: Теория И Практика. – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. 36-45.

187. Mechanism Governing Microparticle Morphology during Precipitation by a Compressed Antisolvent: Atomization vs Nucleation and Growth / C. S. Lengsfeld, J. P. Delplanque, V. H. Barocas, T. W. Randolph // The Journal of Physical Chemistry B. – 2000. – Vol. 104. – Mechanism Governing Microparticle Morphology during Precipitation by a Compressed Antisolvent. – № 12. – P. 2725-2735.

188. Sterling, A. M. The instability of capillary jets / A. M. Sterling, C. A. Sleicher // Journal of Fluid Mechanics. – 1975. – Vol. 68. – № 3. – P. 477-495.

189. Role of hydrodynamics in supercritical antisolvent processes / T. Petit-Gas, O. Boutin, I. Raspo, E. Badens // The Journal of Supercritical Fluids. – 2009. – Vol. 51. – № 2. – P. 248-255.

190. Kerst, A. W. Flow regimes of free jets and falling films at high ambient pressure / A. W. Kerst, B. Judat, E.-U. Schlünder // Chemical Engineering Science. – 2000. – Vol. 55. – № 19. – P. 4189-4208.

191. Influence of Supercritical Antisolvent Micronization Parameters on Nalmefene HCl Powder Characteristics / R. Adami, E. Järvenpää, L. S. Osséo, R. Huopalahti // Advanced Powder Technology. – 2008. – Vol. 19. – № 6. – P. 523-540.

192. Manipulating the size, the morphology and the polymorphism of acetaminophen using supercritical antisolvent (SAS) precipitation / M. Rossmann, A. Braeuer, A. Leipertz, E. Schluecker // The Journal of Supercritical Fluids. – 2013. – Vol. 82. – P. 230-237.

193. Solute solubility as criterion for the appearance of amorphous particle precipitation or crystallization in the supercritical antisolvent (SAS) process : Special Edition on the Occasion of Gerd Brunner's 70th Birthday / M. Rossmann, A. Braeuer, S. Dowy [et al.] // The Journal of Supercritical Fluids. – 2012. – Vol. 66. – P. 350-358.

194. Polymorphism in Pharmaceutical Drugs by Supercritical CO2 Processing: Clarifying the Role of the Antisolvent Effect and Atomization Enhancement / M. A. Rodrigues, J. M. Tiago, A. Duarte [et al.] // Crystal Growth & Design. – 2016. – Vol. 16. – Polymorphism in Pharmaceutical Drugs by Supercritical CO2 Processing. – № 11. – P. 6222-6229.

195. New polymorphs of 9-nitro-camptothecin prepared using a supercritical anti-solvent process / Y. Huang, H. Wang, G. Liu, Y. Jiang // International Journal of Pharmaceutics. – 2015. – Vol. 496. – № 2. – P. 551-560.

196. Investigation of crystallization mechanisms for polymorphic and habit control from the Supercritical AntiSolvent process : Special Issue of the 16th European Meeting on Supercritical Fluids / S. Clercq, A. Mouahid, P. Gérard, E. Badens // The Journal of Supercritical Fluids. – 2018. – Vol. 141. – P. 29-38.

197. Clercq, S. Atypical crystal growth within the supercritical antisolvent process: Experimental and molecular modeling approach with sodium bicarbonate / S. Clercq, C. Crampon, E. Badens // The Journal of Supercritical Fluids. – 2024. – Vol. 207. – Atypical crystal growth within the supercritical antisolvent process. – P. 106188.

198. Crystallization of Caffeine by Supercritical Antisolvent (SAS) Process: Analysis of Process Parameters and Control of Polymorphism / G. Weber Brun, Á. Martín, E. Cassel [et al.] // Crystal Growth & Design. – 2012. – Vol. 12. – Crystallization of Caffeine by Supercritical Antisolvent (SAS) Process. – № 4. – P. 1943-1951.

199. Brittain, H. G. Polymorphism in Pharmaceutical Solids / H. G. Brittain. – CRC Press, 2016. – 654 p.

200. Lemmon, E. W. Thermophysical Properties of Fluid Systems / E. W. Lemmon, M. O. McLinden, D. G. Friend // NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69 / eds. P. J. Linstrom, W. G. Mallard. – Gaithersburg MD, USA : National Institute of Standards and Technology, .

201. Solubility of aspirin in supercritical carbon dioxide/alcohol mixtures / Z. Huang, Y. C. Chiew, W.-D. Lu, S. Kawi // Fluid Phase Equilibria. – 2005. – Vol. 237. – № 1. – P. 9-15.

202. A method for measuring solubility in multi-component sub- and supercritical fluids using an online hyphenation of supercritical antisolvent precipitation and supercritical fluid chromatography / A. M. Vorobei, O. I. Pokrovskiy, K. B. Ustinovich [et al.] // Journal of Molecular Liquids. – 2019. – Vol. 280. – P. 212-217.

203. Воловенко, Ю. М. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса для химиков / Ю. М. Воловенко. – 2011.

204. Electrochemical determination of ferrocene diffusion coefficient in liquid media under high CO2 pressure: Application to DMF–CO2 mixtures / S. Chanfreau, P. Cognet, S. Camy, J.-S. Condoret // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2007. – Vol. 604. – Electrochemical determination of ferrocene diffusion coefficient in liquid media under high CO2 pressure. – № 1. – P. 33-40.

205. Микронизация сульфата сальбутамола методом сверхкритического антисольвентного осаждения: влияние параметров процесса на размер и морфологию частиц / А. М. Воробей, О. И. Покровский, К. Б. Устинович и др. // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2018. – Т. 13. – № 1. – С. 64-76.

206. Ильин, К. К. Высаливающее действие нитратов щелочных металлов на двойную систему вода диэтиламин / К. К. Ильин, Д. Г. Черкасов, В. Ф. Курский // Журнал физической химии. – 2011. – Т. 85. – № 1. – С. 74-77.

207. Fomichev, V. V. Synthesis of nanoscale titanium dioxide by precipitation using supercritical anti-solvent / V. V. Fomichev, B. N. Mavrin, N. A. Prokudina // Russian Chemical Bulletin. – 2016. – Vol. 65. – № 12. – P. 2795-2800.

208. Didanosine polymorphism in a supercritical antisolvent process / R. Bettini, R. Menabeni, R. Tozzi [et al.] // Journal of pharmaceutical sciences. – 2010. – Vol. 99. – № 4. – P. 1855-1870.

209. Effect of Dehydration on the Formation of Levofloxacin Pseudopolymorphs / H. Kitaoka, C. Wada, R. Moroi, H. Hakusui // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. – 1995. – Vol. 43. – № 4. – P. 649-653.

Приложение 1. Расчёт мольной доли микронизуемого вещества в смеси CO_2 – растворитель при микронизациии методом SAS

Вывод формулы (2.1)

Формула (2.1) для расчёта мольной доли микронизуемого вещества в смеси CO_2 – растворитель (**S**) выведена следующим образом:

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}} \quad \text{(П1.1)}$$

S – растворимость вещества в смеси CO_2 – растворитель (мольная доля)

$\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}$ – количество микронизуемого вещества, моль

$\boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}}$ – количество вещества растворителя, моль

$\boldsymbol{\nu}_{CO_2}$ – количество вещества CO_2, моль

Учитывая что $\boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}} \gg \boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}$, справедливо:

$$\boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}} + \boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}} \approx \boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}}$$

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{\nu}_{CO_2} + \boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}}} \quad \text{(П1.2)}$$

$$\boldsymbol{\nu}_{\text{вещества}} = \frac{\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}} \quad \text{(П1.3)}$$

$$\boldsymbol{\nu}_{\text{растворителя}} = \boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}} \boldsymbol{X}\, \boldsymbol{V}_{\text{растворителя}+\, \boldsymbol{co_2}} \quad \text{(П1.4)}$$

$$\boldsymbol{\nu}_{CO_2} = \boldsymbol{\rho}_{\boldsymbol{CO_2}} (\mathbf{1} - \boldsymbol{X})\, \boldsymbol{V}_{\text{растворителя}+\, \boldsymbol{co_2}} \quad \text{(П1.5)}$$

$\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}$ – молярная масса микронизуемого вещества, г/моль

$\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}$ – масса микронизуемого вещества, г

$\boldsymbol{\rho}_{\boldsymbol{CO_2}}$ - молярная плотность CO_2, моль/л

$\boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}}$ – молярная плотность растворителя, моль/л

$\boldsymbol{X}$ – мольная доля растворителя в смеси CO_2 – растворитель

$\boldsymbol{V}_{\text{растворителя+ }\boldsymbol{CO_2}}$ – объём смеси растворителя и CO_2

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}\boldsymbol{V}_{\text{растворителя+ }\boldsymbol{CO_2}}(\boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}}\boldsymbol{X} + \boldsymbol{\rho}_{\boldsymbol{CO_2}}(\mathbf{1} - \boldsymbol{X}))} \quad \text{(П1.6)}$$

Так как $\boldsymbol{S_m}$ – растворимость вещества в смеси CO_2 – растворитель – вещество, г/л:

$$\boldsymbol{S_m} = \frac{\boldsymbol{m}_{\text{вещества}}}{\boldsymbol{V}_{\text{растворителя+ }\boldsymbol{CO_2}}} \quad \text{(П1.7)}$$

То получаем формулу (2.1):

$$\mathbf{S} = \frac{\boldsymbol{S_m}}{\boldsymbol{M}_{\text{вещества}}((\mathbf{1} - \boldsymbol{X})\boldsymbol{\rho}_{\boldsymbol{CO_2}} + \boldsymbol{X}\boldsymbol{\rho}_{\text{растворителя}})} \quad \text{(2.1)}$$

Приложение 2. Влияние SAS с использованием уксусной кислоты на молекулярную и кристаллическую структуру гидрохлорида левофлоксацина

На рис. П2.1 представлены ИК спектры образцов гидрохлорида левофлоксацина, полученных методом SAS с использованием различных органических растворителей. ИК спектры необработанного гидрохлорида левофлоксацина (**1** на рис. П2.1) и образцов, полученных методом SAS с использованием хлороформа, метанола и ДМФА (**3-5** на рис. П2.1) оказываются практически идентичными.

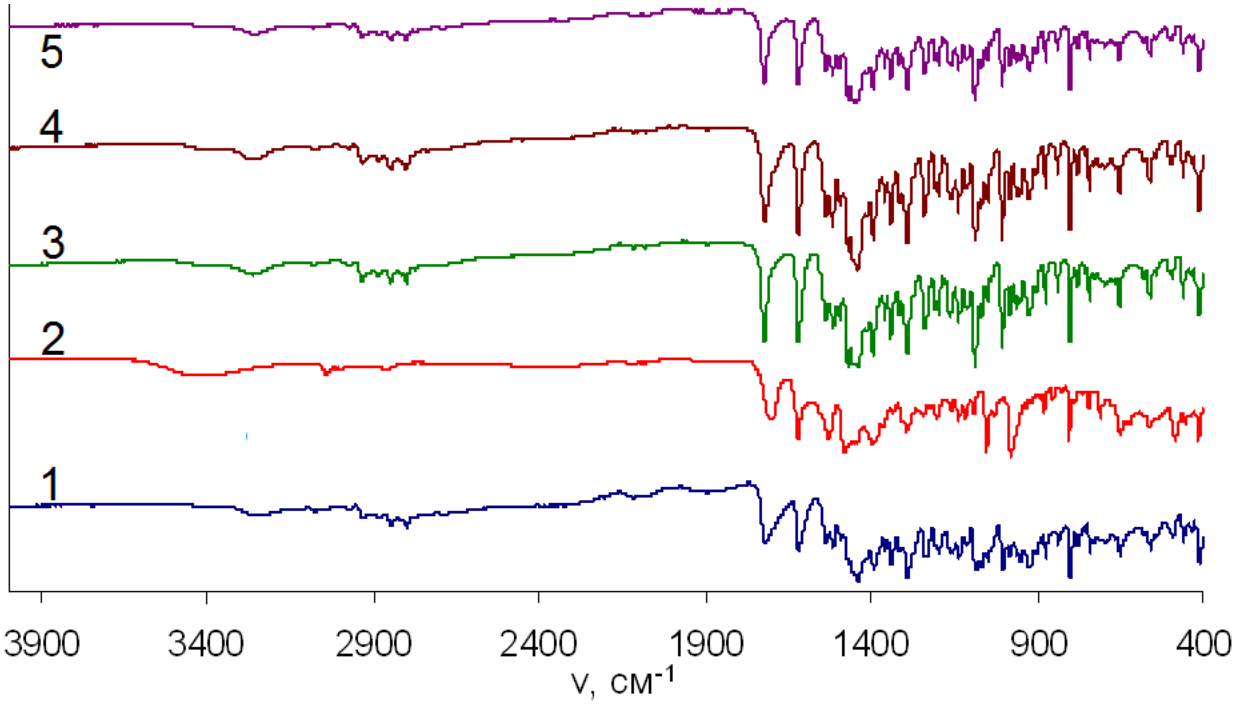


Рис. П2.1. ИК спектры гидрохлорида левофлоксацина до обработки (1) и образцов, обработанных методом SAS с использованием различных растворителей: уксусная кислота (2), хлороформ (3), метанол (4), ДМФА (5).

В то же время, в ИК спектре образца, обработанного методом SAS с использованием уксусной кислоты, фиксируются заметные различия (рис. П2.2):

1. Увеличивается интенсивность и ширина полосы в области 3420-3400 $см^{-1}$;
2. Практически исчезают полосы при ≈3250 $см^{-1}$;
3. Появление отчетливой полосы в области 3030 $см^{-1}$;

Полоса при 3420-3400 $см^{-1}$ отвечает валентным колебаниям гидроксогрупп, ν(OH). Изменения этой полосы, вероятно, связаны с присутствием в обработанном образце как собственных карбоксильных (а, значит, и гидроксильных) групп, так и молекул уксусной кислоты, “захваченных” из жидкой фазы при быстром формировании осадка. Такие молекулы, очевидно, способны длительно удерживаться в структуре исследуемого соединения за счет образования системы водородных связей с различными функциональными группами – например, аминогруппами пиперидинильных заместителей, карбоксильными группами и т.д.

Поскольку осаждение проводится в присутствии большого избытка ледяной уксусной кислоты, увеличение степени протонирования аминогрупп в структуре исходного соединения также представляется вполне возможным. Исчезновение полосы при 3250 $см^{-1}$, наиболее вероятно, связано с протонированием =NH групп пиперидинильных заместителей, а наличие отчетливой полосы в области 3030 $см^{-1}$ позволяет предположить частичное протонирование даже третичных аминогрупп. Косвенным подтверждением участия молекул уксусной кислоты в протонировании аминогрупп является изменение в ИК спектре осажденного образца в области 1600-1400 $см^{-1}$ (рис. П2.2 б) – возникновение новых интенсивных полос, валентных колебаний депротонированной карбоксильной группы – составных частот $\nu_{as}(COO^-)$ и $\nu_{sym}(COO^-)$ с максимумами при 1530 и 1475 $см^{-1}$, соответственно.

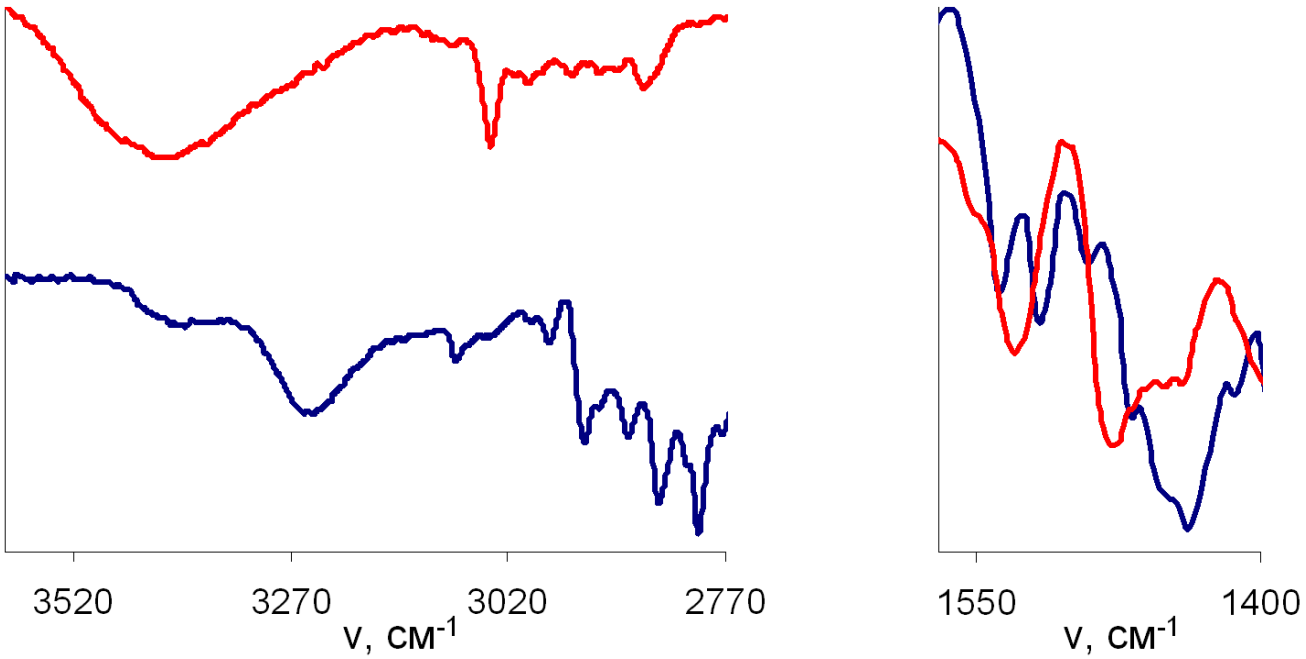


Рис. П2.2. ИК спектры гидрохлорида левофлоксацина до обработки (синяя линия) и образца, обработанного методом SAS с использованием уксусной кислоты (красная линия) в области 3600-2770 $см^{-1}$ (а) и 1600-1400 $см^{-1}$ (б).

На рис. П2.3 приведено семейство спектров ЯМР ^1H исходного и осаждённых методом SAS образцов левофлоксацина. Группы сигналов образцов исходного и микронизованных левофлоксацина совпадают по значениям химсдвигов и по интенсивностям. Однако, в образце, осаждённом из уксусной кислоты, наблюдаются дополнительные сигналы: 2 м.д., связанные с метильной группой уксусной кислоты и 4.25 м.д., также связанный с обработкой уксусной кислотой. Такие изменения спектра ЯМР свидетельствуют о достаточно сильном загрязнении микронизованного образца уксусной кислотой. Кроме того, уширенный сигнал на 15.3 м.д. в исходном левофлоксацине также заметно изменяется в случае образцов, обработанных методом SAS. В случае уксусной кислоты он дополнительно уширяется (рис. П2.4). Скорее всего, это связано с усилением протонного обмена. В случае использования метанола в качестве растворителя при осаждении методом SAS, наоборот, исходный сигнал оказывается более уширенным. Данный факт может быть связан с загрязнением исходного левофлоксацина водой и её вымыванием при обработке методом SAS.

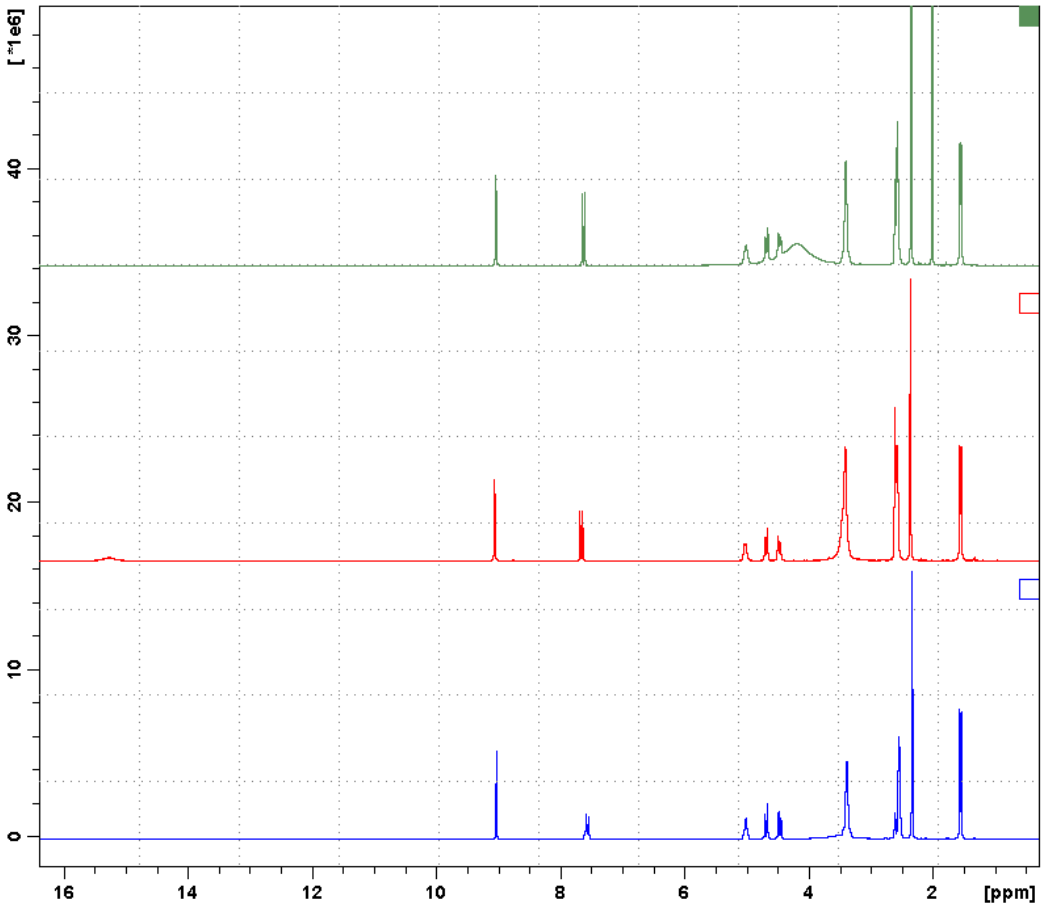


Рис. П2.3. Обзорные спектры ЯМР ^{1}H (300.21 МГц.) растворов в DMSO d_6 (снизу вверх) образцов: 1) исходного левофлоксацина, и осаждённых методом SAS из 2) метанола, и 3) уксусной кислоты.

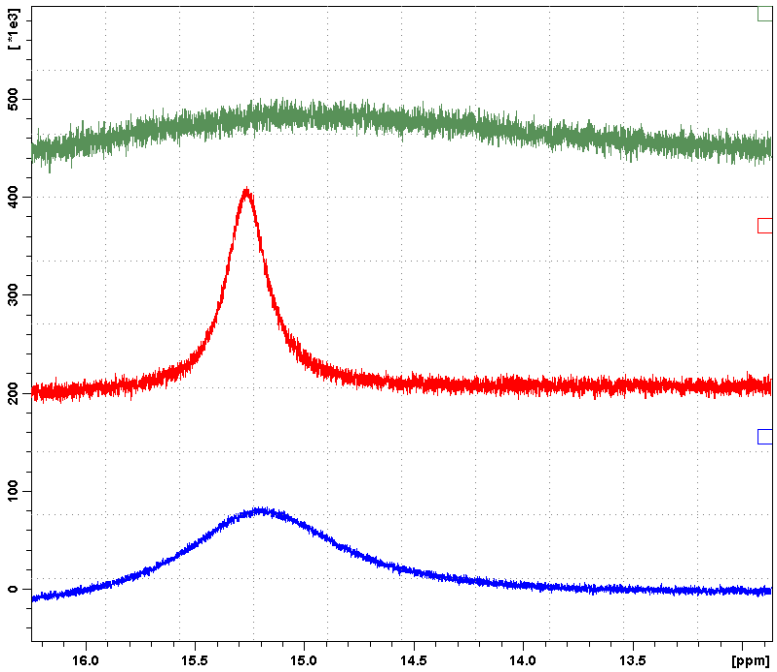


Рис. П2.4. Растянутая часть спектров ЯМР ^{1}H (300,21 МГц.) растворов в DMSO d_6 (снизу вверх)- образцов: 1) исходного левофлоксацина, и осаждённых методом SAS из 2) метанола, и 3) уксусной кислоты.

Таким образом, реализация методики SAS с использованием ледяной уксусной кислоты приводит к некоторым изменениям исследуемого вещества – гидрохлорида левофлоксацина. Эти изменения могут быть связаны с загрязнением конечного продукта уксусной кислотой, молекулы которой потенциально способны удерживаться в структуре как физически – за счет образования системы водородных связей – так и химически, т.е. за счет частичного протонирования аминогрупп исходного вещества.

В табл. П2.1 приведены данные элементного анализа исходного левофлоксацина и образцов, микронизованных из различных растворителей. Изменения элементного состава левофлоксацина после проведения микронизации методом SAS из метанола, хлороформа и ДМФА не установлено, тогда как образец, осаждаемый из уксусной кислоты характеризуется пониженным содержанием азота и углерода, что также может свидетельствовать о сильном загрязнении уксусной кислотой.

Табл. П2.1. Элементный состав левофлоксацина до обработки и после микронизации методом SAS из различных органических растворителей

Образец/растворитель осаждения	% N	% C	% H
Исходный	11.4±0.1	58.5±0.3	5.8±0.1
Метанол	11.2±0.2	58.7±0.4	6.1±0.2
Хлороформ	11.2±0.1	58.4±0.3	5.9±0.1
ДМФА	11.3±0.2	58.4±0.2	6.1±0.1
Уксусная кислота	9.5±0.1	54.5±0.4	5.4±0.2

На рис. П2.5 представлены рентгенограммы исходного левофлоксацина и образцов, полученных осаждением методом SAS.

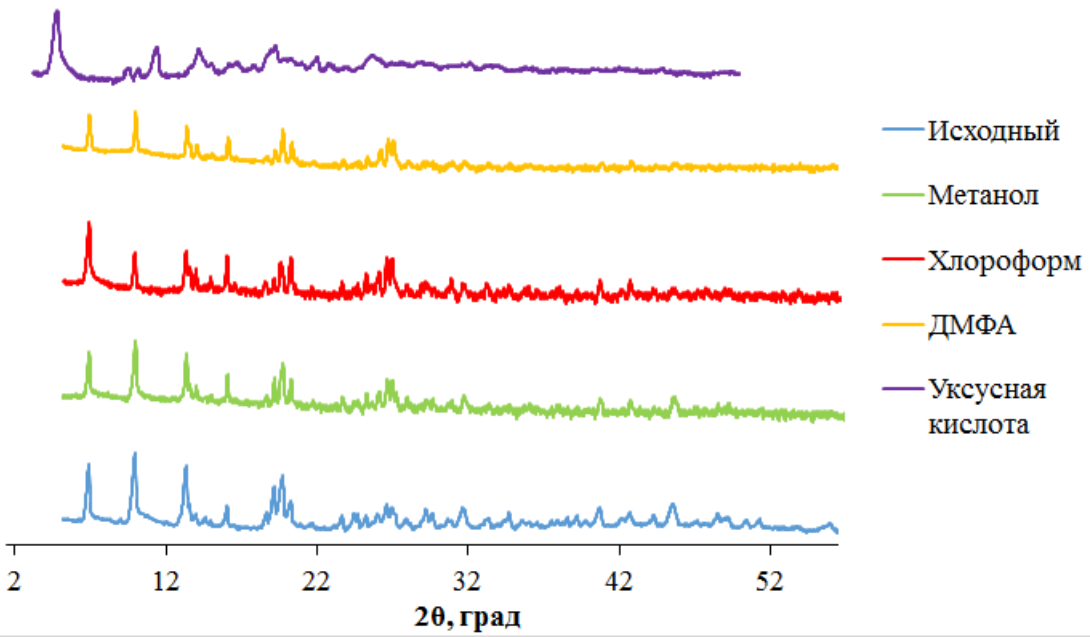


Рис. П2.5. Рентгенограммы исходного и микронизованных образцов левофлоксацина

Рентгенограммы как исходного, так и образцов, микронизованных из метанола, хлороформа и ДМФА, соответствуют моногидрату гидрохлорида левофлоксацина [164]. Все основные пики сохраняют своё положение, что свидетельствует о том, что полиморфный состав при микронизации методом SAS из перечисленных растворителей не изменяется. Микронизация же из уксусной кислоты приводит к существенному изменению кристаллической структуры.