

İotlu Organik İlaçların Kromatografik Muayeneleri I

The Chromatographic Study of Some Iodinated Organic Compounds I

Öznur ATEŞ ve Hayriye AMAL*

GİRİŞ

İotlu ilaçlarda doğrudan doğruya madde veya preparat haline getirilmiş şekillerde (veya biyolojik vasatlarda) kromatografik muayeneler en önce iodo-tironinlerle yapılmış ve bir seri araştırmalarda kâğıt kromatografisi kullanılmıştır.

İlaçlarda yapılan kromatografilerin çoğunda maddenin Rf değerinin tâyini, teşhisi ve miktarının tahmini ön görülmüş olup pek az araştırıcı bozulma mahsulleri veya değişik orandaki iotlu türevler üzerinde durmuştur.

Stahl ve Pfeifle⁽¹⁾ diasetrizoik asit, ipodik asit, iodipamid, osbil, iodo-L-tirozin, 3,5-diiodo-4-piridon-N-asetik asit ile bunun propil esteri ve diğer iotlu ilaçlarda yaptıkları muayenelerde kullandıkları altı solvent sisteminde yalnız osbil [N-(3-amino-2,4,6-triiodobenzoil)-N-fenil-β-aminopropionik asit] ve iodo-L-tirozin için iki leke bulmuşlar, diğerlerini ise tek leke halinde tesbit etmişlerdir. Turula⁽²⁾ iopanoik asit, sodium diasetrizoat, iodo-klorhidroksikin, triiodotironin, tiroksin vs. ile çalışmış ve bu ilaçlarla tedavi gören hastaların serumunda bunlardan bilhassa, iopanoik asidin çok az serumda dahi teşhis edilebileceğini söylemiştir. Harwart ve arkadaşları⁽³⁾ Schering firmasının ipodik asidinin kâğıt kromatografisini yapmış metanol veya potasium klorürü (% 20) mobil faz olarak kullanmışlardır. Gerek Turula gerek Harwart ve arkadaşları kromatografisini yaptıkları bu ilaçlarda tek leke bulmuşlardır.

Çalışmalarımızın bu bölümünde iodoalfionik asit, iodoftalein sodium, iopanoik asit, diasetrizoik asit ve ipodik asidin kâğıt ve in-

* Farmasötik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Üniversite, İstanbul.

ce tabaka kromatografisi ile saf madde veya preparat haline getirilmiş ilaçlarda aktif maddenin teşhisi yapılmış ve şartları ayarlıyarak bazılarında esas madde yanında bulunabilen diğer türevler ayrılabilmiştir.

Bütün maddelerde lekelerin tesbiti için serik reaktif kullanılmıştır. Bu reaktif ile iotlu organik maddenin sürüklendiği yerde sarı zeminde husule gelen beyaz lekeler zamanla kaybolduğundan Dragúnová⁽⁴⁾ ferroini, Flether⁽⁵⁾ o-fenilendiamini ve Mandel, Block⁽⁶⁾ metilen mavisini kullanarak lekeleri uzun zaman solmadan muhafaza etmek ve daha seçkin bir hale getirmeği başarmışlardır. Aynı şekilde lekelerin çabuk solmasını önlemek için bu buluşlar ve bunların yanında Wenger ve Duckert⁽⁷⁾, Shemyakin ve Belokon⁽⁸⁾ ın çalışmalarından istifade edilerek antranilik asit, p-fenetidin, o-toluidin gibi reaktifler ve bunlara benzeyen yapıdaki bazı primer aromatik aminler kromatogramlara püskürtülmüş ve memnuniyet verici sonuçlar alınmıştır.

Kromatografik muayenede birden fazla leke bulduğumuz maddelerde bu lekelerle ait fraksiyonları kazanmak için preparatif kalın tabaka kromatografisi yapılmış ve ayrılan fraksiyonların elüsyonundan sonra UV spektrumları tâyin edilmiştir.

DENEL KISIM

Kâğıt kromatografisinde numune tatbik ettiğimiz 2.5×30 cm ebadındaki Whatman No. 3 kâğıdı, 1 saat solvent sisteminde doyurulmuş, sonra sisteme batırılmış ve her seferinde yükselen usul ile çalışılmıştır.

İnce tabaka kromatografisinde silikajel kaplanmış 5×20 ve 10×20 cm lik plâklar 80, 100, 110 ve 120 derecelerde aktive edilmiştir; değişik suhnetlerdeki aktivasyon, netice üzerine tesir etmemiştir; ayrıca adsorban olarak sellüloz tozu kullanılmıştır.

Lekelerin meydana çıkarılması aşağıdaki reaktifler yardımıyla yapılmış ve bunlardan serik reaktif, ileride anlatıldığı gibi özel bir usulle kâğıda tatbik edilmiştir. Develope olmuş kromatogramların güneş ışığında 1-2 gün bekletilmesi veya 10-20 dakika UV ışınlarına (254 veya 366 m μ) maruz bırakılması sonunda leke yerleri sararmıştır. Bu sarı lekeler UV de mor renkte görülür ve böyle renklenmiş bir

lekeye nişasta eriyiği püskürtülecek olursa sarı lekeler derhal maviye döner; mavi renk kâğıtta sabit kalmakla beraber ince tabakada geçicidir ve kısa zaman sonra soluk pembe renge döner.

Reaktifler

Serik reaktif *. a) 10 g hidrate serik sülfata $[Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O]$ 0—5°C ye soğutulmuş 100 ml N H_2SO_4 ilâve edilir; buz dolabında bir saat bekletilip, süzülür⁽⁹⁾. Bu çözelti buz dolabında saklanır.

b) 5 g arsenik trioksit 20 ml % 30 luk NaOH de, gerekirse ısıtarak çözülür, 0—5°C ye soğutulur, aynı suhunetteki 80 ml 2N H_2SO_4 içine damla damla ve karıştırarak ilâve edilir. Bu çözelti kullanılacağı zaman hazırlanır. Kullanılırken a ve b çözeltileri 2/3 (a/b) oranında karıştırılır.

Serik reaktife yardımcı reaktifler :

- 1) Benzokain. Benzokainin etanoldeki % 2.5 luk çözeltisi.
- 2) Prokain hidroklorür. Prokain hidroklorürün sudaki % 1 lik çözeltisi.
- 3) p-Aminobenzoik asit. PABA nın etanoldeki % 2 lik çözeltisi.
- 4) α -Naftilamin. α -Naftilaminin etanoldeki % 1 lik çözeltisi.
- 5) p-Fenetidin. p-Fenetidin'in etanoldeki % 1 lik çözeltisi.
- 6) Sodium p-aminosalisilat PAS sodium tuzunun sudaki % 1 lik çözeltisi.
- 7) p-Fenilendiamin. p-Fenilendiaminin asetondaki % 1 lik çözeltisi.
- 8) Ferroin. 0.7 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ nın 70 ml sudaki çözeltisine 1.5 g o-fenantrolin ilâve edilir ve su ile 100 ml ye tamamlanır.

Dragendorff reaktifi⁽¹⁰⁾. 0.350 g bazik bizmut nitrat 60 g sitrik asidin 65 ml sudaki çözeltisinde eritilir; 10 g potasium iodyür ilâve edilir.

Ferri klorür - potasium ferri siyanür⁽¹¹⁾. a) Ferri klorürün sudaki % 1 lik çözeltisi. b) $K_3Fe(CN)_6$ nın sudaki % 5 lik çözeltisi.

* Hazırlanmasında bidistile su kullanılmıştır.

a ve b den eşit oranlarda karıştırılır ve kullanılır:

Ferri klorür. Ferri klorürün sudaki % 1 lik çözeltisi.

İot⁽¹²⁾. İodun kloroformdaki % 0.5 lik çözeltisi.

Sodium hidroksid. NaOH ın sudaki % 10 luk çözeltisi.

Iodoalfionik asit

Maddenin sudaki ve etanoldeki % 0.05 ve % 0.1 lik çözeltilerinden 3-5 μ l, kâğıt veya ince tabakanın alt ucundan 2 cm yukardaki tatbik çizgisine tatbik edilmiş ve aşağıda bahsedilecek değişik solvent sistemleri ile developman yapıldıktan ve kromatogramlar havada kurutulduktan sonra reaktif yardımı ile lekeler meydana çıkarılmış veya reaktif püskürtülmeden (silikajel HF ile) UV 366 veya 254 m μ de 2-3 dakika sonra husule gelen hafif morumsu leke yeri işaretlenmiştir.

Kâğıt kromatografisi. Solvent sistemi : benzen-n-butanol-kloroform (50 : 1 : 5); temperatur : 22°C.; developman süresi : 55 dakika; Rf₁ 0.90, Rf₂ 0.

Serik reaktifin kâğıda tatbiki: 10 \times 40 cm ebadında cam bir levha, hafif meyilli olarak yatırılır, üzerine 2.5 \times 30 cm ebadındaki Whatman No. 3 kâğıdı yayılır, kâğıdın üst ucundan yavaşça ikinci bir cam levha, kenarı ile kaydırarak —hava kabarcığı kalmaması için— reaktif akıtılır; cam levha kâğıdın alt ucundan çekilince bütün kâğıt reaktifle ıslanmıştır. Kâğıdı taşıyan birinci cam levha yatay hale getirilir ve reaktifle ıslatılmış kâğıdın üzerine dikkatle, hava kabarcığı kalmayacak şekilde, muayene edilecek kromatogram yerleştirilir. 1-2 dakika sonra sarı zemin üzerinde beyaz renkte lekeler meydana çıkar. Lekelerin daha bariz veya uzun zaman görülebilmesi için kromatograma değişik yardımcı reaktifler tatbik edilir. Serik reaktif tatbik edilmiş kromatograma :

a) Metilen mavisi reaktifi püskürtülüp NH₃ buharına tutulduğunda mavi zeminde beyaz leke görülür.

b) Henüz yaş haldeki kromatograma p-aminobenzoik asidin çözeltisi püskürtülür; derhal mor kahverengi zeminde net beyaz lekeler olur, 15-20 dakika sonra zemin açık mora döner, beyaz lekeler ise beklemede aynı netliği muhafaza eder; 40 saat sonra yaygın bir hal alır, renkte değişiklik olmaz ve bu durum devam eder.

c) Henüz yaş kromatograma α -naftilamin reaktifi püskürtülür; mavimsimor zeminde net, beyaz lekeler görölür. Bu reaktif ile elde edilen renk bozulmadan kalır.

d) Kromatograma p-fenetidin reaktifi püskürtülür; mor zeminde beyaz lekeler olur; 30 dakika sonra zemin kızıl mora döner, lekelerin netliği aynı kalır ve bu durum sebatlıdır.

e) Kromatograma benzokain reaktifi püskürtülür; morumsu kahverengi zeminde beyaz leke olur; 15 dakika sonra zemin kahverengine döner, bu esnada beyaz lekelerin netliği kaybolur.

f) p-Fenilendiamin, kromatogramlarda turuncu zeminde beyaz leke verir. Bu reaktifle elde edilen leke iki saat aynı rengi, aynı netlikle muhafaza eder; 40 saat sonra net sarı bir leke haline geçer; 15 gün sonra sarı lekeler hafifçe solar ve yavaş yavaş kaybolur.

g) Sodyum p-aminosalisilat reaktifi ile kahverengi-mor zeminde beyaz leke olur; yarım saat sonra zemin açık grimsimora döner ve bu durum aynen devam eder, lekelerin netliği kaybolmaz.

h) Prokain hidroklorür kızıl-mor zeminde beyaz lekeler verir, 20 dakika sonra zemin, açık mor ve 1.5 saat sonra açık kahverengi olur, bu esnada lekeler yaygın bir hal alır.

İnce tabaka kromatografisi.

A) a*: silikajel G (Merck) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 22°C; m: 30 dakika; Rf 0.38 (ve tatbik noktasında belli belirsiz leke).

Lekelerin belirtilmesi: serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle kâğıt kromatografisindeki gibi yapılmış ve aynı sonuçlar alınmıştır.

B) a: silikajel HF²⁵⁴⁻³⁶⁶ (Merck) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 25°C; m: 40 dakika; Rf 0.41 (ve tatbik noktasında çok hafif leke).

Lekelerin belirtilmesi: 1) A daki gibi. 2) UV de (366 m μ) mor leke.

* a: adsorban, s: solvent sistemi, t: temperatur, m: developman süresi.

C) a: silikajel HF₂₅₄ (Merck) -0.5 mm-; S₁: isopropanol-% 25 NH₃ (2:1); t: 23°C; m: 1 saat 54 dakika; Rf 0.57; S₂: etanol-% 25 NH₃ (100:30); t: 23°C; m: 80 dakika; Rf 0.65; S₃: metanol-2N asetik asit (100:10); t: 23°C; m: 42 dakika; Rf 0.71.

Lekelerin belirtilmesi: 1) A daki gibi. 2) 10 dakika UV ışınlarına (366 veya 254 m μ) maruz bırakılması sonunda sararan leke yerleri, UV de mor renkte görülmüştür.

D) a: silikajel F₂₅₄ (pre-coated, Merck); s: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 19°C; m: 70 dakika; Rf 0.60.

Lekelerin belirtilmesi: 1) A daki gibi. 2) 10 dakika UV ışınlarına (366 veya 254 m μ) maruz bırakılması sonunda sararan leke yerleri, UV de mor renkte görülmüştür.

E) a: sellüloz (Macherey, Nagel) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanol-kloroform (200:1.5:1.5); t: 21.5°C; m: 20 dakika; Rf₁0.85, Rf₂0.



Kromatogram 1 (E)

Lekelerin belirtilmesi: serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle kâğıt kromatografisindeki gibi yapılmış ve aynı sonuçlar alınmıştır.

Iodoftalein

Maddenin etanoldeki % 0.5 ve 1 lik çözeltisinden 3-5 µl iodoalfionik asiddeki gibi tatbik edilmiştir.

Kâğıt kromatografisi. s: benzen-n-butanol-kloroform (70:1:4); t: 22°C; m: 2 saat; R_f 0.73, R_f 0.

Lekelerin belirtilmesi: serik reaktifle iodoalfionik asiddeki gibi yapılmış, yardımcı reaktiflerle aynı renkteki zeminler üzerinde beyaz lekeler olmuştur:

a) p-Aminobenzoik asitle net beyaz leke vermiş, fakat bu netlik zamanla kaybolmuştur.

b) α-Naftilaminle leke, uzun zaman netliğini muhafaza etmiştir.

c) p-Fenetidinle sebatlı ve bozulmayan net lekeler vermiştir.

d) Benzokainle ilk 15 dakika net leke elde edilmiş, fakat 15 dakika sonra solmaya başlamış ve 5-6 saat sonra lekeler tamamen kaybolmuştur.

e) p-Fenilendiaminle uzun zaman bozulmayan net leke elde edilmiştir.

f) PAS ile elde edilen netice diğer reaktifler kadar iyi olmamış ve yayılma olmuştur.

g) Prokain hidroklorürle 20 dakika sabit kalan leke olmuş, sonra yayılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi.

A) a: silikajel G (Merck) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 27°C; m: 1 saat; R_f 0.79.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle yapılmış, kâğıt kromatografisindeki sonuçlar alınmıştır. 2) Sodium hidroksidle beyaz zeminde mor leke (bu leke sebatlı olup aylarca şiddetini muhafaza eder).

B) a: silikajel HF₂₅₄₋₃₆₆ (Merck) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 27°C; m: 1 saat; R_f 0.79.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle A daki gibi. 2) Sodium hidroksidle A daki gibi. 3) UV de (254 ve 366 mµ) mor leke.

C) a: silikajel HF₂₅₄ (Merck) -0.5 mm-; S₁: isopropanol-% 25 NH₃ (2:1); t: 23°C; m: 1 saat 54 dakika; Rf 0.60. S₂: etanol-% 25 NH₃ (100:30); t: 23°C; m: 80 dakika; Rf 0.72. S₃: metanol-2N asetik asit (100:10); t: 23°C; m: 42 dakika; Rf 0.77.

Lekelerin belirtilmesi: 1) A daki gibi, serik reaktif arkasından yardımcı reaktiflerle. 2) UV de (254 ve 366 m μ) mor leke.

D) a: silikajel HF₂₅₄ (pre-coated Merck); s: benzen-n-butanolkloroform (5:3:1); t: 19°C; m: 70 dakika; Rf 0.78.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle A daki gibi. 2) Sodyum hidroksidle A daki gibi. 3) UV de (254 nm) mor leke.

E) a: sellüloz (Macherey, Nagel) -0.5 mm-; s: benzen-n-butanolkloroform (250:1.5:1.5); t: 21.5°C; m: 20 dakika; Rf₁ 0.92, Rf₂ 0.72, Rf₃ 0.

Lekelerin belirtilmesi: Serik reaktifle A daki gibi.

—



Kromatogram 2 (E)

İopanoik asit

Maddenin etanoldeki çözeltisinden takriben 3-5 μ l iodoalfionik asitdeki gibi tatbik edildi.

Kâğıt kromatografisi. s: etanol-% 25 NH_3 (10:5); t: 21°C; m: 3 saat 40 dakika; Rf 0.80.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktifle iodoalfionik asitdeki gibi yapılmış, yardımcı reaktiflerle durum aşağıda gösterilmiştir:

a) PABA ile beyaz lekenin netliği, zamanla yavaş yavaş kaybolmuştur.

b) α -Naftilaminle beyaz leke 2-3 dakika sonra kırmızıya dönmüş ve bu renk solmadan, netliğini muhafaza etmiştir.

c) p-Fenetidin ile beyaz lekenin netliği 40 saat kalmış; bu müddetin sonunda lekenin ortası sarı olmuş ve netliği bozulmuştur.

d) Benzokainle 15 dakikadan itibaren zemin rengi solmuş, lekeler kaybolmuştur ve bir müddet sonra lekelerin yerinde net, hafif mor leke görülmüştür.

e) p-Fenilendiaminle net ve bozulmayan lekeler vermiştir.

f) PAS ile birkaç saat sonra kahverengi sarıya dönen, sebatlı beyaz leke vermiştir.

g) Prokain hidroklorürle 20 dakika sonra zeminin rengi açılmış ve lekeler yayılmıştır; daha sonra yaygın beyaz zeminde maddenin bulunduğu leke yeri net, açık mor bir renk almış ve bu renk sabit kalmıştır.

2) Serik sülfatın N H_2SO_4 deki % 10 luk çözeltisi ile sarı zeminde pembe leke olmuştur.

İnce tabaka kromatografisi.

A) a: silikajel G (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH_3 (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.80.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle yapılmış, kâğıt kromatografisindeki sonuçlar alınmıştır. 2) Ferri klorür - potasium ferri siyanür ile sarımsı zeminde yeşil - mavi leke. 3) Ferri klorürle (% 1 lik) açık sarı zeminde deve

tüyü renginde leke. 4) İyot ile sarı zeminde turuncu leke görülmüştür.

B) a: silikajel HF₂₅₄₋₃₆₆ (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.80.

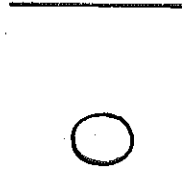
Lekelerin belirtilmesi: 1), 2), 3) ve 4) A daki gibi. 5) UV de (254 ve 366 m μ) mor leke.

C) a: silikajel HF₂₅₄ (Merck) -0.5 mm-; S₁: dimetilformamid-n-butanol (2:1); t: 23°C; m: 1 saat; Rf 0.77. S₂: isopropanol-% 25 NH₃ (2:1); t: 23°C; m: 1 saat 54 dakika; Rf 0.59. S₃: etanol-% 25 NH₃ (100:30); t: 23°C; m: 80 dakika; Rf 0.71. S₄: metanol-2N asetik asit (100:10); t: 23°C; m: 42 dakika; Rf 0.68. S₅: benzen-n-butanol-kloroform (5:3:1); t: 23°C; m: 30 dakika; Rf 0.24.

Lekelerin belirtilmesi: 1), 2), 3) ve 4) A daki gibi. 5) UV de (254 m μ) mor leke.

D) a: silikajel F₂₅₄ (pre-coated Merck); s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 19°C; m: 3 saat 15 dakika; Rf 0.73.

Lekelerin belirtilmesi: 1) , 2) 3) ve 4) A daki gibi. 5) UV de (254 m μ) mor leke.



Kromatogram 3 (D)

Diasetrizoik asit

Maddenin metanol veya etanoldeki takriben % 0.5 lik çözeltisinden 3-5 μ l tatbik edildi.

Kâğıt kromatografisi. s_1 : etanol-% 25 NH_3 (1:1); s_2 : n-butanoldioksan-% 25 NH_3 (1:1:4); s_3 : n-butanol-etanol-% 25 NH_3 (1:1:2); Rf 0.79 (s_1 için).

Lekelerin belirtilmesi: Serik reaktif ve yardımcı reaktiflerle iodoalfionik asiddeki gibi yapılmış; yardımcı reaktiflerle aşağıdaki sonuçlar alınmıştır:

a) PABA ile mor-kahverengi zeminde çok açık kahverengi lekeler meydana gelmiş, 15-20 saat sonra lekelerin ortası beyaz, kenarları kahverengine dönmüş ve netlik kaybolmamıştır.

b) α -Naftilaminle mavimsi-mor zeminde net mavi lekeler olmuş, lekelerin netliği zamanla bozulmuştur.

c) p-Fenetidinle mor zeminde açık mor renkte net leke görülmüş, 30 dakika sonra zeminin renk değiştirmesine mukabil leke kaybolmamış, ancak 10-15 saat sonra lekenin netliği aynı kalmakla beraber morluk kahverengine dönmüş ve bu halde uzun zaman kalmıştır.

d) p-Fenilendiaminle açık turuncu renkteki leke 18 saat sonra tamamen kaybolmuştur.

e) PAS ile olan açık kahverengi leke 30 dakikadan itibaren yayılmaya başlamış ve renk yavaş yavaş solmuştur.

İnce tabaka kromatografisi.

A) a: silikajel G (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH_3 (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.72.

Lekelerin belirtilmesi: Serik reaktifle kâğıttaki gibi netice alınmış ayrıca benzokainle morumsu kahverengi zemin üzerinde husule gelen açık morumsu kahverengi leke 15 dakika sonra solmuş ve yayılmıştır.

B) a: silikajel HF (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH_3 (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.72.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktifle A daki gibi. 2) UV de (254 m μ) mor leke.

C) a: silikajel HF₂₅₄ (Merck) -0.5 mm-; S₁: dimetilformamid-n-butanol (2:1); t: 23°C; m: 1 saat; Rf 0.51. S₂: isopropanol-% 25 NH₃ (2:1); t: 23°C; m: 1 saat 54 dakika; Rf 0.46. S₃: etanol-% 25 NH₃ (100:30); t: 23°C; m: 80 dakika; Rf 0.62. S₄: metanol-2N asetik asit (100:10); t: 23°C; m: 42 dakika; Rf 0.68.

D) a: silikajel F₂₅₄ (pre-coated Merck); s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 19°C; m: 3 saat 15 dakika; Rf 0.67.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle A daki gibi. 2) UV de (254 m μ) mor leke görülmüştür.



x

Kromatogram 4 (D)

İpodik asit

Maddenin etanollü çözeltisi diğerleri gibi tatbik edildi.

Kâğıt kromatografisi. s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 22°C; m: 2.5 saat; Rf 0.81.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktifle, iodoalfionik asitteki gibi çalışılmış, yardımcı reaktiflerle aşağıdaki sonuçlar alınmıştır:

a) PABA ile açık kahverengi leke zamanla beyaz olmuş fakat lekelerin ilk netliği kaybolmuştur, ancak 40 saat sonra lekelerin kenarı net bir hal almıştır.

b) α -Naftilaminle açık mor leke zamanla solmuş fakat leke kenarları net kalmıştır.

c) p-Fenetidinle açık mor leke olmuş, zamanla lekenin rengi açılmış fakat netliği kaybolmamıştır.

d) Benzokainle beyaz leke görülmüş, 15 dakika sonra renk solmuş ve leke yayılmıştır.

e) p-Fenilendiaminle açık turuncu leke zamanla solmuştur.

f) PAS ile çok açık kahverengi leke olmuş, zamanla hafifçe solmuştur.

g) Prokain hidroklorürle sonradan yayılan beyaz leke vermiş, lekenin renginde değişme olmamıştır.

2) Dragendorff reaktifi ile sarı zeminde pembe leke.

İnce tabaka kromatografisi. A) a: silikajel G (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.81.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle yapılmış, kâğıt kromatografisindeki sonuçlar alınmıştır. 2) Dragendorff reaktifi ile sarı zeminde pembe leke görülmüştür.

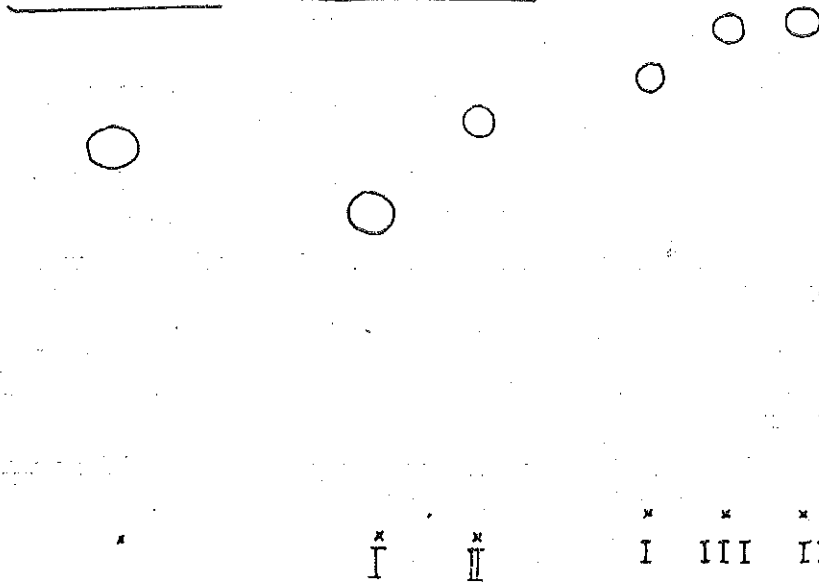
B) a: silikajel HF₂₅₄₋₃₆₆ (Merck) -0.5 mm-; s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 25°C; m: 95 dakika; Rf 0.81.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle A daki gibi. 2) Dragendorff reaktifi ile A daki gibi. 3) UV de (254 m μ) mor leke.

C) a: silikajel HF₂₅₄ (Merck) -0.5 mm-; S₁: dimetilformamid-n-butanol (2:1); t: 23°C; m: 1 saat; Rf 0.46. S₂: isopropanol-% 25 NH₃ (2:1); t: 23°C; m: 1 saat 54 dakika; Rf 0.60. S₃: etanol-% 25 NH₃ (100:30); t: 23°C; m: 80 dakika; Rf 0.71. S₄: metanol-2N asetik asit (100:10); t: 23°C; m: 42 dakika; Rf 0.65.

D) a: silikajel F₂₅₄ (pre-coated Merck); s: etanol-% 25 NH₃ (10:5); t: 19°C; m: 3 saat 15 dakika; Rf 0.74.

Lekelerin belirtilmesi: 1) Serik reaktif ve arkasından yardımcı reaktiflerle A daki gibi. 2) UV de (254 m μ) mor leke.



Kromatogram 5 (D)

Kromatogram 6

- I. İodoalfionik asit
- II. İodoftalein

[a: silikajel F₂₅₄ (pre-coated Merck); s: benzen-n. butanol-kloroform (5:3:1)]

Kromatogram 7

- I. Diasetriozik asit
- II. İpodik asit
- III. İopanoik asit

[a: silikajel HF₂₅₄₋₃₆₆; s: etanol-% 25 NH₃ (10:5)]

TARTIŞMA

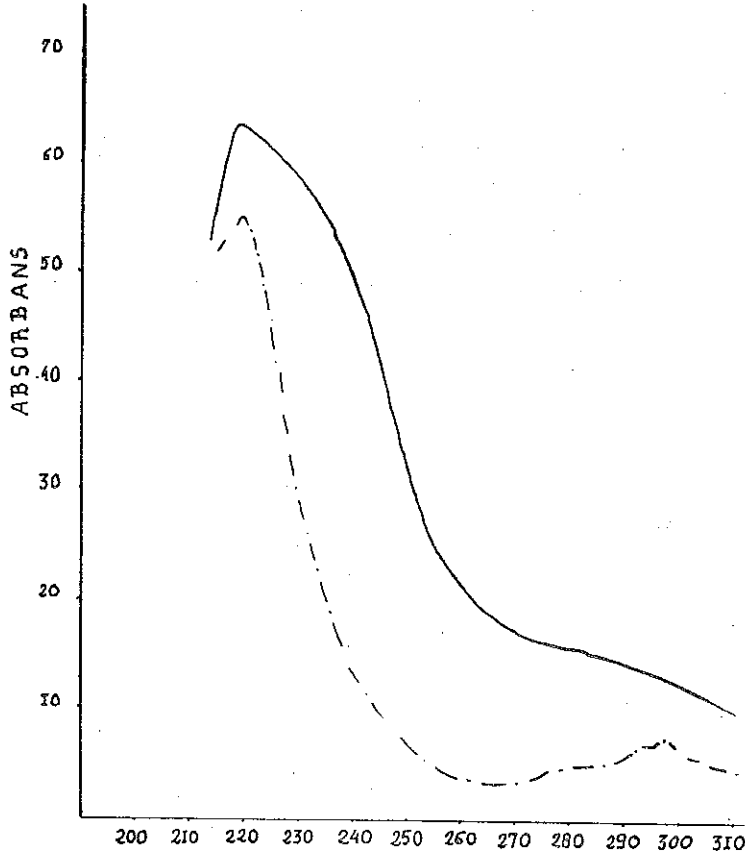
Kromatografik muayeneler yaptığımız maddelerin ekserisinde lekelerin tesbiti için kullandığımız p-fenetidin, serik reaktifle muamele edilmiş kromatogramlara püskürtüldüğünde, bütün maddelerle iyi sonuçlar vermiş, serik ionları bulunan sahalarda mor renk olmuş; organik iotlu maddenin yerini gösteren, seröz ionları bulunan, beyaz leke kenarları net çizilmiş bir halde, yine beyaz renkte görülmüştür. p-Fenetidin reaktifi serik ionlar için tatbik edilirken doymuş çözeltisi halinde tavsiye edildiği halde biz, seyreltik çözeltilerle de beklenen renkleri elde ettik ve vasattaki arsenit ionunun reaksiyonu bozmadığını gördük.

o-Fenilendiamine benzetilerek asetonlu vasatta p-fenilendiaminle yaptığımız tatbik de iyi yürümüş ve bununla tesbit edilen lekeler takriben onbeş günden fazla bir zaman ilk durumlarını muhafaza etmişlerdir.

Bir primer amin grubu ihtiva eden α -naftilamin, p-fenetidin gibi sonuç vermiş ve diasetrizoik asit hariç diğerlerine ait lekelerin netliği bozulmamıştır.

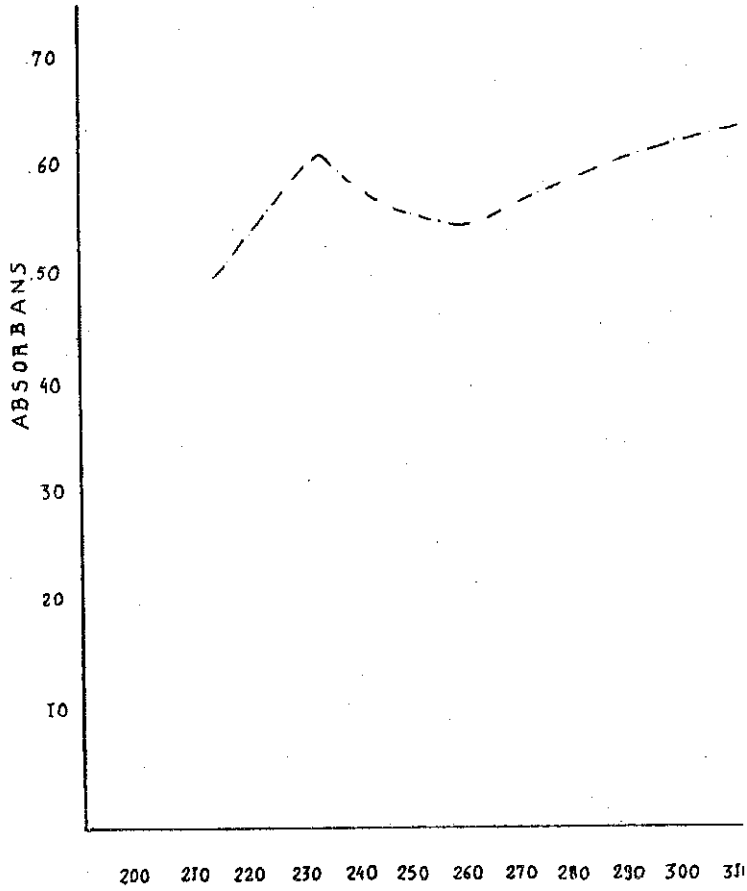
Prokain hidroklorür ve benzokain gibi p-aminobenzoik asit esterleri ilk tatbikte bariz leke göstermiş; ancak 10-15 dakika içinde zemin rengi solduğundan lekelerin netliği bu müddetin sonunda kaybolmuştur. Buna karşılık ester haline geçmemiş olan p-aminobenzoik asit ve p-aminosalisilik asit, iodoalfionik asid, iopanoik asit ve diasetrizoik asitle uzun zaman netliğini muhafaza eden zemin ve lekeler halinde reaktifi tesbit etmişlerdir.

İodoalfionik asidin kâğıtta yapılan kromatografisinde birbirinden çok uzak iki leke elde edilmiştir. Kâğıda en yakın adsorban madde olan sellüloz ile denemede bariz iki leke elde edilebildiğinden bu lekeler preparatif olarak ayrılmıştır. Bu lekelerin her ikisi de serik reaktifle beyaz renk verdiğinden her iki madde de iotlu bileşik halindedir. Rf 0.85 olan lekenin miktarı tatbik noktasında kalan (Rf 0) kısımdan çok fazla olduğundan (planimetrik) bunun esas madde, diğerinin ise yan madde olması gerekir. Her iki maddenin UV muayenelerinde esas maddenin 220 m μ da bir maksimumu olup ϵ değeri 1482 dir. Tali madde ise iki tane maksimum vermekte ve bunlardan 220 m μ dalga boyundaki absorbsiyona ait ϵ 1706 ve 297 m μ daki ϵ 50523 dür. Bu durumda tali maddenin daha fazla iotlu [β (tri veya tetra iodo-p-hidroksifenil) α -fenilpropionik asit] türev olması lâzımdır (Grafik 1).



Grafik 1

İodoftalein, kâğıtta iki leke ve silikajel tabakalarında değişik mobil fazlarla dahi tek leke verdiğiinden bunu da iodoalfionik asitde yaptığımız gibi sellüloz kaplanmış plaklarda kromatografiye ettik ve burada kâğıttan farklı olarak üç leke tesbitine muvaffak olduk. Bu üç lekeyi preparatif olarak ayırmaya teşebbüs ettik ve R_f i 0 olan kısmı aldık; bu kısım UV de λ : 234 $m\mu$ da bir maksimum ve λ : 260 $m\mu$ da bir minimum göstermiştir (Grafik 2).



Grafik 2

Diğer iki lekenin preparatif olarak ayrılması mümkün olmamış ve lekeler geniş bir hat halinde birbirine karışmıştır. Bu duruma göre ticarî iodoftalein, her üçü de iotlu türev olmak üzere üç madde karışımından ibarettir.

Umumiyetle sellüloz sütun ile çalışıldığında maddelerin hiç ayrılmadığı görülmüştür.

İodoftalein müstahzarları, sodium tuzu halinde olup bu müstahzarlarda yapılan kromatografik muayene iodoftalein gibi ve aynı Rf de lekeler vermiştir.

İpanoik asidin gerek kâğıt gerekse ince tabaka kromatografisinde denel kısımda bahsedilen solvent sistemleri ve değişik suhuletlerde daima tek leke görülmüştür. Ancak bu maddenin bazı sistemlerdeki Rf değeri ipodik asidin Rf ine çok yakın olması ve iki madde karışımının bu sistemlerde tek leke halinde görülmesi üzerine dimetilformamid-n-butanol sistemini denedik, bu sistemde iki maddeyi bariz olarak ayırabildik ve bu esnada ipanoik asidin bu sistemde verdiği lekenin şekli bizi şüpheye düşürdüğünden daha başka sistemleri denedik, fakat ikinci bir leke tesbitine muvaffak olmadık. İpanoik asidin primer bir aromatik amin grubu ihtiva etmesinden doğrudan doğruya serik sülfatla pembe renk; yine aynı sebeple potasium ferrisiyanür - ferri klorür ile yeşil-mavi renk görülmüş ve kromatogramlardaki teşhisi, diğer iotlu ilâçlara nazaran çok kolay olmuş; serbest amin grubu ihtiva eden bu maddenin p-dimetilaminobenzaldehidle turuncu renk vermesi gerektiği halde bu reaktifle hiç bir renk görülmemiştir.

Diasetrizoik asidin hem iotlama hem asetilleme işlemleri esnasında yan maddeler ihtiva etmesi gerektiği halde Stahl⁽¹⁾ ve başka araştırmacılar gibi biz de gerek kâğıt gerekse değişik adsorbanla hazırlanmış kromatogramlarda tek leke tesbit ettik ve bir çok solvent sistemlerinde Rf değerini tâyin edebildik.

İpodik asitle yaptığımız kromatografik muayenelerde denediğimiz altı sistem ve değişik adsorbanda tek leke bulduk, bu buluş Harwart ve arkadaşlarının⁽²⁾ bulgularına uymaktadır.

Ö Z E T

İodoalfionik asit, iodoftalein, diasetrizoik asit, ipanoik asit ve ipodik asitin kâğıt ve ince tabaka kromatografileri yapılmış; bunların kromatogramlarda serik sülfat - arseniöz asitle teşhisinde bu reaktifi tesbit — çabuk solduğundan — etmek için benzokain, prokain, hidroklorür, p-aminobenzoik asit, α -naftilamin, p-fenetidin, sodium p-aminosalisilat, p-fenilendiamin, ferroin kullanılmış ve bunlardan α -naftilamin, p-fenetidin, p-fenilendiamin, sodium p-aminosalisilat ile memnuniyet verici sonuçlar elde edilmiştir.

Bu ilâçlardan ekserisi kâğıt ve silikajelde tek leke göstermiş, yalnız iodoalfionik asitle iodoftalein kâğıtta iki leke vermiştir.

Sellüloz plaklarda iodoftaleinle üç, iodoalfionik asitle iki leke tesbit edilmiştir.

Birden fazla leke tesbit edilen maddelerde preparatif olarak ayrılan lekelerin UV de λ maksimumları tayin edilmiş ve ϵ maksimumları hesaplanmıştır.

S U M M A R Y

Paper and thin-layer chromatographic analyses were applied on iodoalphonic acid, iodophthalein, diacettrizoic acid, iopanoic acid and ipodic acid. Whatman No. 3 paper for paper chromatography, silica Gel G, HF₂₅₄, HF₂₅₄₋₃₆₆ and cellulose powder was used as adsorbent in thin-layer chromatography. For the detection of iodinated compounds, the ceric sulphate - arsenous acid reagent was used; in order to avoid the fading of the color of spots, some aromatic amines such as benzocaine, procaine hydrochloride, p-aminobenzoic acid, α -naphthylamine, p-phenetidine, p-phenylenediamine, p-aminosalicylic acid, feroin were used as second spraying reagent on the chromatograms previously treated with the ceric sulphate - arsenous acid reagent and satisfactory results were obtained.

Most of these drugs gave one spot on paper and silica gel. Only two spots with iodoalphonic acid and iodophthalein on paper.

Two spots with iodoalphonic acid and three spots with iodophthalein were detected on the plates covered with cellulose.

In the compounds which gave two or three spots, the UV spectrums of the spots separated preparatively were studied, their λ max. were determined, and ϵ max. were calculated.

L İ T E R A T Ü R

1. Stahl, E., Pfeifle, J., *Z. Anal. Chem.*, **200/5**, 377-85 (1964).
2. Turula, K., *Acta Endocrinol*, **48/1**, 31-9 (1965) - Ref. C. A., **59**, 13450 a (1965).
3. Harwart, A., Kimbel, K. H., Langecker, H., Willenbrink, J., *Arch. experim. Path. Pharmacol.*, **237/2**, 187 (1959).
4. Dragúnová, I., Langer, P., *Nature*, **178**, 537 (1956).
5. Piether, K., Stanley, P. G., *Nature*, **175**, 730 (1955).
6. Mandel, Bloc - Negredilnemis travay - Ref. A. Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, 2. ed., 138, Academic press, New York (1958).

7. Wenger, P. E., Duckert, R., *Traité de Chimie Analytique Qualitative Minérale*, 186, Libraire de L'Université Genève, 1946.
8. Shemyakin, F. M., Belokon, A. N., *Compt. rend. Acad. Sci. U. R. S. S.*, **18**, 275 (1938) - Ref. Clément Duval, *Traité de Micro-Analyse Minérale*, t. I, 471, presses scientifique Internationales, Paris, 1954.
9. Bowden, C. H., Maclagan, N. F., Wilkinson, J. H., *Biochem. J.*, **59**, 93 - 6 (1955).
10. Munier, R., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **35**, 1225 (1953).
11. Varcoe, J. S., Warburton, W. K., *J. Chem. Soc.*, 2711 (1960).
12. Stahl, E., *Thin-Layer Chromatography*, 303, Academic press, New York, (1965).

(Redaksiyona verildiği tarih : 4 Mayıs 1967)