

Floresein'in mono-, di-, tri- ve tetrabromo derivelere kolon kromatografisi ile ayrılması

Separation des derives mono-, di-, tri- et tetrabromes de la Fluorescein par chromatographic en colonne

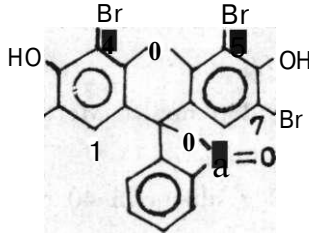
Feyyaz ONUR*

Pierre

LEVILLAIN**

GİRİŞ

Eosin, floresein molekülüne dört brom atomunun bağlanması ile meydana gelen ürünün adıdır (2, 4, 5, 7 tetra bromo floresein).



eosin

Günümüze kadar eosin sentezi üzerinde yapılan araştırmalarda eosinin saf olarak yüksek verimle elde edilmesi başılamamıştır. Sentez sırasında eosin yanında floreseinin mono-, di- ve tribromo derivelere de meydana gelmektedir (1, 2). Özellikle ticarete satılan eosinler bu derivelere de birlikte bulundurmaktadırlar. Ayrıca 1, 2 ve 3 bromlu floresein bileşiklerinin sentezleri de çok uzun, pahalı ve çok düşük verimlidir.

Yakın senelere kadar bilinen yöntemler ile, ticarete satılan şekilden gerek eosin gerekse diğer bromlu bileşiklerin saf olarak ayrıl-

Redaksiyona verildiği tarih: 2 Kasım 1980

* Analitik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

** Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 4. Avenue d'Observatoire 75006 Paris

maları mümkün olamamıştır. Ancak FOMPEYDİE (3) ince tabaka kromatografisi yardımı ile adı geçen deriveleri ayırmayı başarmıştır. Ama, ayırma işlemi aynı yürütücü sistemi ile kolona uygulandığında ise ayrılmanın olmadığı gözlenmiştir.

Biz çalışmalarımızda FOMPEYDİE'nin ince tabakada başardığı ayırmayı kolon kromatografisinde de gerçekleştirmeyi amaçladık. Bu nedenle değişik adsorbanlar ve yürütücü sistemlerini denedik. Araştırmalarımız sonucunda silikajel ile hazırlanmış kolonda aynı ayırmayı başardık.

DENEYSEL KISIM

Kullandığımız kolon ile ilgili özellikler aşağıdadır:

Kolon uzunluğu: 19 cm

Kolon çapı: 16 mm

Yürütücü sistemi: Toluen/asetik asit (9:1)

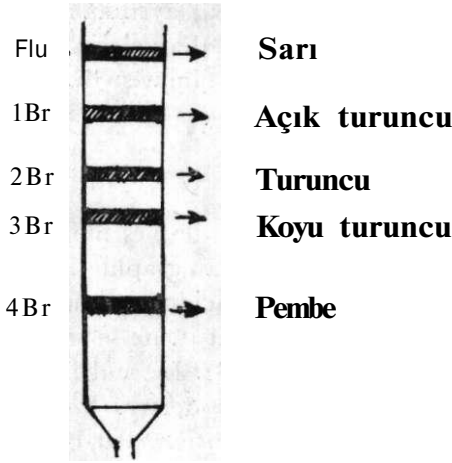
Yürütücü hacmi: 100 ml

Adsorban: Silikajel (230 mesh) Merck

Damlatma hızı: 3 damla/dk

Kolon materyali, 20 g silikajelin 40 ml yürütücü sistemi içerisindeki süspansiyonu olacak şekilde hazırlanır. Ayrılması istenen deriveleri içeren, eosin de aynı yürütücü sistemi içerisinde çözülerek hazırlanır ve kolona tatbik edilir. Yukarıda belirtilen hızda elüzyon yapılır ve bu işleme yaklaşık 12 saat kadar devam edilir. Sürenin sonunda gözle izlenebilen renkli deriveler birbirlerinden iyice ayrılır. Sonra kolon materyali alt ucundan itilerek adsorbanın üst uçtan dışarı akması sağlanır ve deriveleri içeren renkli halkalar tek tek ayrılarak değişik kaplara konulur. Daha sonra bu parçalar etanol ile ekstre edilerek kolon materyalinden ayrılır. Ekstraksiyonda etanol kullanımının nedeni bileşiklerin bu çözücüde çok yüksek bir çözünürlüğe sahip olmalarıdır.

Çalışmamızda 12 saatlik elüzyon sonucunda floreseinin başlangıç noktasında kaldığı, buna karşılık mono-, di-, tri ve tetrabromo floresein derivelerinin sırasıyla **Rf 0.13, 0.38, 0.54 ve 0.87** ile birbirlerinden ayrıldığı gözlemlendi (Şek. 1).



Şek. 1. Ayrılan derivelerin renkleri

Etanol ile ekstre edilen bu bromlu bileşiklerin saflıkları ince tabaka kromatografisi ile (3) kontrol edildi. Elde edilen kromatograma göre derivelerin saf olarak ayrılmış oldukları görüldü.

TARTIŞMA

Kolon kromatografisi ile başardığımız bu ayırma işleminin tek dezavantajı eosin ve diğer bromlu floresin bileşiklerinin yürütücü sistemi içerisindeki çözünürlüklerinin yüksek olmayışıdır (örneğin eosin için çözünürlük 0.3 mg /ml dir). Dolayısı ile verim düşük olmaktadır; örneğin eosin Gelblich (Merck) ile yaptığımız çalışmalar sonucunda, ki içerisinde % 63 eosin % 36 tribromo floresin ve % 1 oranında da yapısı henüz bilinmeyen pembe renkli bir bileşik bulunmaktadır (10.7 mg ticari numuneden hareketle 6.3 mg eosin ve 3.4 mg tribromo floresin elde edebildik). Ama, buna karşılık bileşikler çok saf olarak elde edilebilmektedirler. Ayrıca derivelerin birbirlerinden farklı olan renkleri ayrılmanın gözle izlenmesine imkan tanımakta, böylece bir revelatöre gerek duyulmamaktadır.

ÖZET

Günümüze kadar yalnızca ince tabaka kromatografisi ile ayrılabilen floresinin mono-, di-, tri- ve tetrabromo derivelerinin kolonda, adsorban olarak silikajel ve yürütücü sistemi olarak ta

Toluen/Asetik asit (9:1) kullanarak ayrılmaları gerçekleştirildi. Karşılaşılan tek güçlük bromlu bu derivelerin yürütücü sistemi içerisindeki çözünürlüklerinin yüksek olmayışydı. Bunun sonucunda da verim düşük oldu.

RESUME

Nous avons réussi de séparer des dérivés mono-, di-, tri- et tétrabromés de la fluorescein par chromatographic en colonne utilisant silicagel comme support et Toluene/acide acétique (9:1) comme système d'élution que jusqu'à maintenant üs ne se sont séparés que par chromatographic sur couche mince (3). Le seul handicap que nous sommes rencontre c'est que ces derives bromes n'ont pas de grande solubilité dans le système d'élution. Par consequence, le rendement n'est pas très élevé.

LİTERATÜR

- 1- Orndorff, W. R., Hemmer, A. J., *J. Am. Chem. Soc.* **49** 1272-80 (1929)
- 2- Graichen, C., Molitor, J. C., *J. Ass. Off Agric. Chem.* **42** 149-61 (1959)
- 3- Fompeydie. D., Thèse, Université Rene Descartes de Paris (1978)