

## **Alkaloidlerin Analizinde Bamford Usulünün İnce Tabaka Kromatografisiyle Kombine Edilmesi II : 1. - 3. Gruptakilerle İlgili İncelemeler**

Combination of the Method of Bamford with Thin-Layer Chromatography in the Analysis of Alkaloids II : Studies relating the Groups 1 - 3

Rasim TULUS ve Gülsen İSKENDER \*

### GİRİŞ

Bu konudaki çalışmaların ilkinde(1) Bamford(2) usulündeki sınıflandırmaya göre 1. - 7. grupta bulunan alkaloidlerin ve baz tesirli organik azot bileşiklerinin kendi grupları içinde ince tabaka kromatografisiyle ayrılmasında kullanılacak metodlar bildirilmişti, bu yayın ile bundan sonrakinde ise çeşitli ince tabakalarda muhtelif çözücü sistemleriyle yapılan incelemeler, biri 1. - 3. gruptakiler, diğeri ise 4. - 7. gruptakiler için olmak üzere, iki bölüm halinde bildirilecektir.

### İNCELEMELER

a) *1. Gruptakiler* : Bu grupta narkotin (noscapine), narsein, hidrastin, sitizin, piperin, delfinin ve kolşisin (no. 1 - 7) olmak üzere 7 alkaloid tetkik edildi. Literatürde bildirilen çözücü sistemlerinden I - XI no. luları ile (1) silika jel G tabakasında yükselen usule göre yapılan kromatografik ayırma tecrübelerinde bu çözücü sistemlerinden hiçbirinin bu gruptaki alkaloidlerin hepsini birden ayırmadığı tespit edildi (Cetvel I).

Cetvel I e göre en iyi ayırma VI ve VII no.lu çözücü sistemleriyle elde edilmektedir (Kromatogram 1 ve 2).

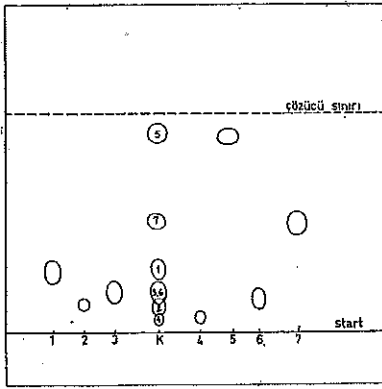
\* Genel ve Analitik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Üniversite, İstanbul.

Çetvel I. Bilinen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar

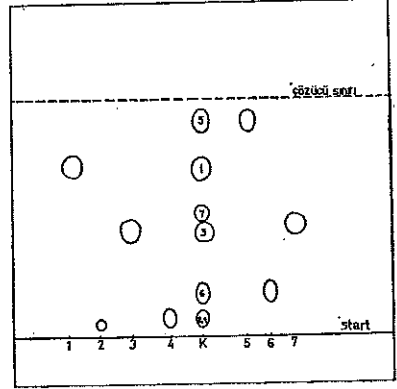
Çözücü sistemi no.	Leke adedi (*)	Rf değerleri						
		Narkotin	Narsein	Hidrastin	Sitizin	Piperin	Delfinin	Kolşisin
I	5	0.87	0.05	0.76	0.39	0.76	0.75	0.51
II	4	0.90	0.04	0.95	0.46	0.95	0.94	0.87
III	4	0.89	0.05	0.90	0.27	0.92	0.96	0.17
IV	5	0.80	0.55	0.55	0.21	0.53	0.34	0.35
V	3	0.96	0.05	0.89	0.08	0.94	0.93	0.62
VI	6	0.72	0.04	0.44	0.06	0.90	0.18	0.46
VII	6	0.28	0.12	0.18	0.05	0.89	0.13	0.50
VIII	5	0.21	0.14	0.16	0.05	0.85	0.11	0.41
IX (**)	5	0.64	0.06	0.38	0.05	0.78	0.14	0.40
X	4	0.83	0.79	0.77	0.37	0.96	0.80	0.96
XI	5	0.89	0.04	0.66	0.18	0.93	0.65	0.49

(\*) Maddelerin hepsi beraber kromatografiye edildiğinde

(\*\*) % 5 sodyum sitratlı silika jel G tabakasında



Kromatogram 1  
Çözücü sistemi : No. VI  
Süre : 3 saat 20 dakika, t = 23°C (\*)



Kromatogram 2  
Çözücü sistemi : No. VII  
Süre : 2 saat 35 dakika, t = 25°C

(\*) Bu yazıda kışeleri olan bütün kromatogramlarda adsorban silika jel G dir, K harfi ise karışımı gösterir.

Kromatogram 1 de narsein-sitizin ayrılmıyor, kromatogram 2 de ise narsein, hidrastin ve delfinin karışıyor. Narsein-sitizini iyi ayıran çözücü sistemlerine misal olarak cetvel I dekilerden IV no.lu olanı, tarafımızdan tertiplenen(1) çözücü sistemlerini gösteren cetvel II dekilerden ise II<sub>a</sub>, VIII<sub>b</sub> ve X<sub>b</sub> no.luları tavsiye edilir. Narsein, hidrastin ve delfinini ayırmak için, cetvel I de bildirilen çözücü sistemlerinden III ve VI no.luları, cetvel II dekilerden ise II<sub>a,b</sub>, III<sub>a,b,d</sub>( V ve XI kullanılabilir.

Kromatogram 1 de yakın Rf değeri veren hidrastin-kolşisini daha iyi ayırmak için cetvel I deki çözücü sistemlerinden I, III, IV, V, VII, VIII, X ve XI no.lular, cetvel II deki çözücü sistemlerinden ise III<sub>a,b,d</sub> V<sub>a</sub>, VIII<sub>a,b</sub>, X<sub>a</sub> ve XII no.luları tavsiye edilir. Kromatogram 2 de yakın Rf değeri veren narkotin-hidrastini daha iyi ayırmak için cetvel I deki çözücü sistemlerinden I, IV, V, VI, IX, X ve XI no.lular, cetvel II deki çözücü sistemlerinden ise II<sub>a</sub>, III<sub>a</sub>, V , IX , XI ve XII no.lular tavsiye edilir.

Cetvel II. Yeni tertiplenen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar

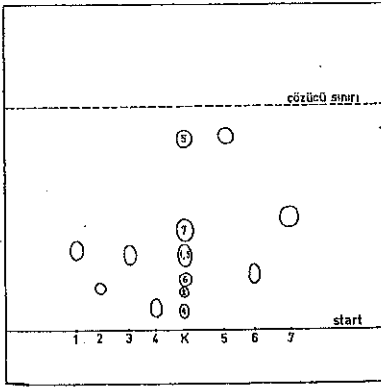
Çözücü sistemi no.	Leke adedi	Rf değerleri						
		Narkotin	Narsein	Hidrastin	Sitizin	Piperin	Delfinin	Kolşisin
I <sub>a</sub>	4	0.88	0.11	0.91	0.73	0.93	0.89	0.71
II <sub>a</sub>	6	0.95	0.24	0.85	0.39	0.94	0.93	0.81
II <sub>b</sub>	7	0.88	0.08	0.89	0.38	0.93	0.36	0.90
III <sub>a</sub>	4	0.89	0.04	0.82	0.29	0.84	0.89	0.22
III <sub>b</sub>	5	0.86	0.05	0.85	0.20	0.87	0.91	0.18
III <sub>c</sub>	5	0.85	0.03	0.81	0.12	0.79	0.80	0.03
III <sub>d</sub>	4	0.80	0.03	0.76	0.05	0.72	0.65	0.25
V <sub>a</sub>	5	0.98	0.04	0.86	0.06	0.95	0.40	0.59
VIII <sub>a</sub>	5	0.23	0.06	0.19	0.05	0.86	0.15	0.46
VIII <sub>b</sub>	4	0.37	0.39	0.35	0.18	0.89	0.41	0.76
IX <sub>a</sub>	5	0.75	0.09	0.42	0.09	0.93	0.21	0.07
X <sub>a</sub>	6	0.36	0.19	0.34	0.09	0.86	0.25	0.50
X <sub>b</sub>	6	0.87	0.78	0.84	0.40	0.96	0.84	0.87
XI <sub>a</sub>	6	0.77	0.03	0.64	0.17	0.95	0.97	0.30
XII	4	0.84	0.05	0.81	0.13	0.80	0.86	0.39
XIII	3	0.36	0.06	0.11	0.05	0.81	0.07	0.05
XIV (*)	5	0.95	0.09	0.85	0.28	0.95	0.78	0.80

(\*) N KOH ile hazırlanan silika jel G tabakasında

Tarafımızdan tertiplenen çözücü sistemleriyle silika jel G tabakasında yükselen usule göre yapılan çalışmalarda elde edilen Rf değerleri cetvel II de gösterilmiştir. Bunların içinde iyi ayırma yapanlardan biri XI<sub>a</sub> no.lu olanıdır (Kromatogram 3).

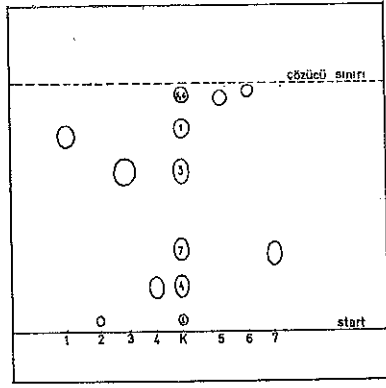
Bu kromatogramda ayrılmayan piperin-delfinin cetvel I de bulunan çözücü sistemlerinden I, VI, VIII, VII, IX, X ve XI no.lularıyla, cetvel II dekilerden ise II<sub>b</sub>, V<sub>a</sub>, VIII<sub>a,b</sub>, IX, X ile ayrılmaktadır.

Nisbeten iyi bir ayırma yapan bir diğer çözücü sistemi de X<sub>a</sub> dır (Kromatogram 4).



Kromatogram 3

Çözücü sistemi: No. XI<sub>a</sub>  
Süre: 2 saat, t = 23°C



Kromatogram 4

Çözücü sistemi: No. X<sub>a</sub>  
Süre: 2 saat 10 dakika, t = 23°C

Bu kromatogramda ayrılmayan narkotin-hidrastin, cetvel I de bulunan çözücü sistemlerinden I, IV, VI, IX, XI no.luları ile, cetvel II dekilerden ise II<sub>a</sub>, V<sub>a</sub>, IX, X ve XIII no.lularıyla ayrılabilir.

Silika jel G yerine, aliminyum oksid G ile hazırlanan ince tabakalarda bu gruptaki bütün alkaloidleri birbirinden ayırmak mümkün olmamıştır; fakat silika jel G tabakasında ekseriya tatbik edildiği noktadan pek az ilerleyen narsein, alüminyum oksid G tabakasında I, I<sub>a</sub>, VIII<sub>b</sub> sistemleriyle çalışıldığında ilerlemekte, diğerlerinden ayrı (iodo-platinatla koyu mavi) bir leke husule getirmektedir.

İki boyutlu kromatografik tetkiklerde önce baz reaksiyonlu bir çözücü sistemi, müteakiben asid reaksiyonlu bir çözücü sistemi ile kromatografiye edilmesi düşünüldü. Bu maksatla I. çözücü olarak benzen-dietilamin (9 : 1) (cetvel II, no. XII), II. çözücü olarak butanol-

formik asid-su (4 : 1 : 7) (cetvel II, no. VIII<sub>b</sub>), ayrıca aynı çözücülerin (4 : 2 : 7) ve (4 : 3 : 7) oranlarında hazırlanan karışımları ile muhtelif denemeler yapıldı, fakat iyi bir ayırma temin edilemedi; bunun üzerine ikinci boyutta nötr karakterde bir çözücü sistemi sikloheksan-sikloheksanol-heksan (1 : 1 : 1) ile (cetvel II, no. XIII) kromatografiye edilmesi düşünüldü. Bu çözücü kombinasyonlarıyla yapılan iki boyutlu kromatografide bu gruptaki 7 alkaloidi tek bir kromatogramda birbirinden ayırmak mümkün oldu(1).

b) 2. gruptaki alkaloidler: Bu gruptaki alkaloid ve türevlerinden: Morfin, apomorfin, dihidromorfinon (dilaudid), kodein, etilmorfin (dionin), dihidroksikodeinon (oxycodone, eucodal), dihidrokodeinon (dicodid), lobelin, papaverin ve efedrin (no. 1 - 10) olmak üzere 10 madde tetkik edilmiştir.

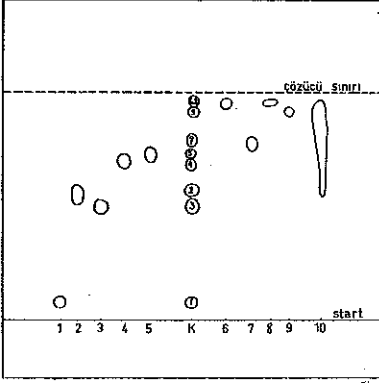
Literatürde bildirilen çözücü sistemlerinden I - XI no.luları ile silika jel tabakasında yükselen usule göre yapılan kromatografik ayırma tecrübelerinde bu grupta bulunan maddelerin hepsini birbirinden ayırmak mümkün olmadı (cetvel III). Bu çözücü sistemleriyle en fazla leke II no.lusu ile elde edilmiştir (Kromatogram 5).

Kromatogram 5 de görüleceği gibi efedrin uzun bir kuyruk teşkil ederek karışımda etilmorfin, oksidon, dihidrokodeinon, lobelin ve papaverinin lekelerini kısmen kapatmakta ise de, iodoplatinatla pembe renk verdiği için diğerlerinin teşhisine mani olmamaktadır. Kromatogram 5 de birbirinden ayrılmayan oksidon ile lobelinin ayırmak için cetvel III de gösterilen çözücü sistemlerinden IV, IX, X ve XI, cetvel IV dekilerden ise III<sub>a</sub>, VIII<sub>a,b</sub>, IX, X, XI, XII ve XIV no.lular tavsiye edilir.

Tarafımızdan tertiplenen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar cetvel IV de gösterilmiştir.

Bunlardan XII no.lusu ile 9 leke elde edilmektedir (Kromatogram 6). Efedrin karışımda 3 - 9 no.lu lekeleri içine alan uzun bir kuyruk teşkil etmekte, fakat yukarıda izah edildiği gibi iodoplatinat ile verdiği renk diğerlerinin tanınmasına mani olmamaktadır. Burada efedrin hariç kodein-etilmorfin, etilmorfin-dihidrokodeinon birbirine yakın Rf değerleri vermektedir; bunlardan kodein-etilmorfin çiftini ayırmak için cetvel III teki çözücü sistemlerinden III, VIII, X no.luları, cetvel IV tekilerden ise X<sub>b</sub> tavsiye edilir. Etilmorfin-dihidromorfinon ayrılmasında ise cetvel III teki çözücü sistemlerinden V, VIII ve XI, cetvel IV tekilerden ise X<sub>b</sub>, XI<sub>a</sub> ve XIV no.lular kullanılabilir. VIII<sub>a</sub> ve ayrıca X<sub>a</sub> no.lu çözücü sistemleriyle silika jel G tabakasında multiple kromatografi tekniği de tecrübe edildi. Bu çözücülere ait Rf değerleri, bir-

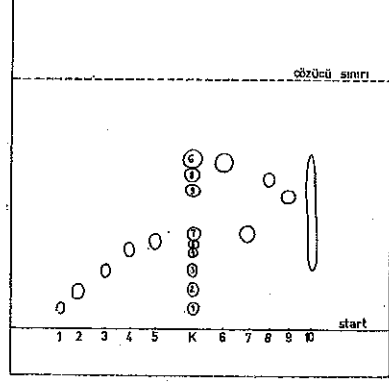
birini takiben aynı istikamette 2 kere kromatografiye etme neticesinde elde edilen adetlerdir. Ayrıca VIII<sub>a</sub> no.lu çözücü ile 5 kere kromatografiye edildiğinde de bütün maddeleri birbirinden ayırmak mümkün olmadı, fakat kromatogram 6 da birbirine yakın leke veren kodein-etilmorfin-dihidrokodeinon bu taktirde ayrılabilir, Rf değerleri sırasıyla : 0.45, 0.52, 0.37.



Kromatogram 5

Çözücü sistemi : No. II

Süre : 1 saat 10 dakika, t = 20°C



Kromatogram 6

Çözücü sistemi : No. I

Süre : 1 saat 40 dakika, t = 22°C

Aluminyum oksit G tabakasında I, II, IV, I<sub>a</sub>, II<sub>a</sub>, VIII<sub>b</sub>, XIII ve XII no.lu çözücü sistemleriyle ve ayrıca aseton-dietilamin (9:1) ile yapılan tecrübelerde silika jel G tabakalarındaki kadar iyi neticeler elde edilmemiştir. Bunların içinde XII no.lusu en çok leke husule getirmekte ve bununla kodein, etilmorfin ve dihidromorfinon silika jel G tabakasındakinden daha iyi ayrılabilir; bu taktirde Rf kıymetleri : kodein 0.55, etilmorfin 0.64, dihidromorfinon 0.85 dir.

Sellüloz MN 300 G tabakalarında I ve I<sub>a</sub> no.lu çözücü sistemleriyle ve ayrıca aseton-dietilamin (9:1) ile yapılan tecrübelerde maddeler çözücü sınırına kadar ilerlemiş ve bir ayrılma olmamıştır. Formamidin asetondaki % 10 luk veya % 20 lik çözeltisiyle emprenye edilmiş sellüloz MN 300 G tabakalarında I<sub>a</sub> no.lu çözücü sistemiyle çalışıldığında da bir ayırma yapmak mümkün olamamıştır.

Yukarıda bildirilen tecrübelerde, bu gruptaki maddelerin hepsini bir kromatogramda ayırmak mümkün olmadığından iki boyutlu kro-

Çetvel III. Bilinen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar.

Çözücü sistemi no.	Leke adedi	Bilinen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar										Efedrin (*)
		Morfin	Apo-morfin	Dihidro-morfin	Kodein	Etil-morfin	Oksi-kodon	Dihidro-kodeinon	Lobelin	Papaverin		
I	6	0.07	0.81	0.28	0.49	0.53	0.86	0.56	0.82	0.92	0.90	
II	8	0.07	0.55	0.50	0.70	0.73	0.95	0.77	0.96	0.93	0.77	
III	7	0.09	0.47	0.33	0.50	0.60	0.93	0.52	0.89	0.87	(—)	
IV	7	0.04	0.05	0.10	0.23	0.27	0.46	0.33	0.38	0.46	0.73	
V	5	0.10	0.69	0.10	0.18	0.20	0.83	0.95	0.89	0.82	(—)	
VI	5	0.09	0.48	0.06	0.10	0.12	0.11	0.09	0.40	0.67	0.75	
VII	5	0.15	0.42	0.99	0.10	0.12	0.14	0.11	0.08	0.28	0.89	
VIII	5	0.24	0.85	0.22	0.28	0.37	0.28	0.27	0.63	0.62	(—)	
IX (**)	4	0.04	0.22	0.03	0.04	0.05	0.04	0.04	0.28	0.20	(—)	
X	6	0.06	0.60	0.06	0.16	0.23	0.14	0.26	0.44	0.46	0.53	
XI	7	0.11	0.19	0.15	0.32	0.37	0.55	0.21	0.66	0.62	(—)	

(\*) (—) işaretli, maddenin tabii edildiği halde kromatogramda tespit edilemediğini gösterir.

(\*\*) % 5 sodyum sitratlı silika jel G tabakasında.

Çetvel IV. Yeni geliştirilen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar

Çözücü sistemi no.	Leke adedi	Rf değerleri									
		Morfin	Apo-morfin	Dihidro-morfinon	Kodein	Etil-morfin	Oksi-kodon	Dihidro-kodeinon	Lobelin	Papaverin	Efedrin (*)
I <sub>a</sub>	5	0.29	0.21	0.70	0.86	0.91	0.96	0.90	0.96	0.96	0.66
II <sub>a</sub>	4	0.16	0.27	0.55	0.73	0.76	0.95	0.82	0.95	0.95	(—)
II <sub>b</sub>	6	0.37	0.87	0.61	0.79	0.81	0.94	0.82	0.96	0.92	(—)
III <sub>a</sub>	6	0.13	0.44	0.31	0.45	0.46	0.78	0.46	0.85	0.76	(—)
III <sub>b</sub>	6	0.09	0.11	0.23	0.36	0.38	0.75	0.40	0.69	0.45	(—)
III <sub>c</sub>	6	0.09	0.09	0.35	0.45	0.48	0.78	0.48	0.79	0.70	(—)
III <sub>d</sub>	6	0.02	0.12	0.09	0.18	0.22	0.69	0.26	0.69	0.56	0.33
V <sub>a</sub>	5	0.06	0.66	0.06	0.13	0.16	0.51	0.13	0.48	0.87	(—)
VIII <sub>a</sub> (**)	5	0.21	0.53	0.16	0.19	0.24	0.18	0.15	0.58	0.38	(—)
VIII <sub>b</sub>	6	0.11	0.30	0.08	0.10	0.13	0.09	0.08	0.39	0.26	0.34
IX <sub>a</sub>	5	0.07	0.56	0.04	0.08	0.09	0.09	0.04	0.37	0.82	(—)
X <sub>a</sub> (**)	5	0.73	0.94	0.66	0.82	0.87	0.80	0.80	0.96	0.96	(—)
X <sub>b</sub>	6	0.51	0.73	0.49	0.64	0.72	0.62	0.67	0.91	0.92	0.92
XI <sub>a</sub>	6	0.15	0.88	0.17	0.39	0.40	0.78	0.27	0.82	0.73	0.30
XII	9	0.08	0.16	0.24	0.32	0.35	0.65	0.39	0.59	0.53	0.47
XIII	3	0.02	0.05	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.11	(—)
XIV (***)	6	0.36	0.66	0.14	0.19	0.18	0.16	0.10	0.37	0.74	(—)

(\*) (—) işareti, maddenin tatbik edildiği halde kromatogramda tespit edilemediğini gösterir.

(\*\*) Multiple kromatografi (2 kere).

(\*\*\*) N KOH ile hazırlanan silika jel G tabakasında.



matografi tekniği de tecrübe edildi. Birinci boyutta, yükselen usule göre nispeten iyi bir ayırma yapan XII no.lu çözücü ile kromatografiye edildikten sonra levha  $90^\circ$  çevrilip ikinci boyutta IV, VIII<sub>b</sub> ve XIII no.lu çözücü sistemleriyle muhtelif tecrübeler yapıldı ve en iyi netice sonuncusu ile elde edildi. Bu suretle bu grupta bulunan bütün maddeleri tek bir kromatogramda iki boyutlu kromatografi usulü ile ayırmak mümkün oldu(1).

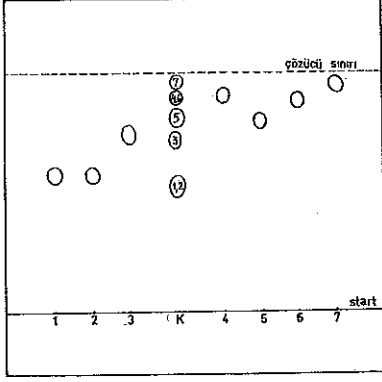
c) 3. gruptaki alkaloidler ve baz tesirli bileşikler: Bu grupta atropin, hyosiyamin, hyosin (skopolamin), fisostigmin, brusin, fenazon ve aminopirin (no. 1-7) olmak üzere 7 madde tetkik edildi. Literatürde bildirilen çözücü sistemlerinden I-XI no.luları ile silika jel G tabakasında yükselen usule göre yapılan kromatografik ayırma tecrübelerinde optik izomer olan atropin-hyosiyamini birbirinden ayırmak mümkün olmadı. Bu iki maddenin ayrılması bir yana bırakılırsa bu gruptaki madde adedi 6 ya inmektedir, cetvel V de bildirilen çözücü sistemleriyle bunları birbirinden ayırmak mümkün olmadı (yükselen usul), ancak I no.lu çözücü sistemiyle diğerlerine nazaran iyi netice alındı (Kromatogram 7).

Cetvel V. Bilinen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar

Çözücü sistemi no.	Leke adedi	Rf değerleri						
		Atropin	Hyosiyamin	Hyosin	Fisostigmin	Brusin	Fenazon	Aminopirin
I	5	0.57	0.57	0.74	0.90	0.79	0.89	0.91
II	5	0.61	0.62	0.79	0.89	0.67	0.79	0.91
III	5	0.39	0.40	0.63	0.77	0.37	0.54	0.87
IV	5	0.15	0.14	0.25	0.53	0.33	0.52	0.65
V	4	0.02	0.02	0.28	0.25	0.04	0.44	0.68
VI	5	0.11	0.11	0.25	0.21	0.08	0.56	0.50
VII	4	0.20	0.23	0.19	0.23	0.15	0.63	0.42
VIII	4	0.18	0.19	0.14	0.15	0.10	0.60	0.22
IX (*)	2	0.09	0.09	0.07	0.09	0.06	0.82	0.25
X	5	0.58	0.58	0.47	0.47	0.36	0.64	0.31

(\*) % 5 sodyum sitratlı silika jel G tabakasında.

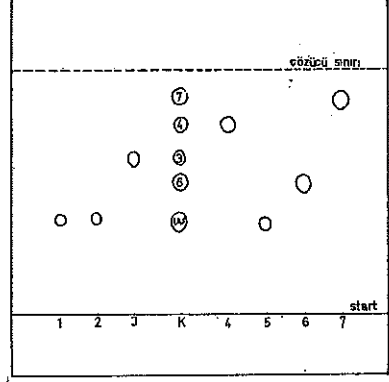
Nispeten iyi ayırma yapan bir diğer çözücü sistemi III no.lu olan-  
dır (Kromatogram 8).



Kromatogram 7

Çözücü sistemi : No. I

Süre : 1 saat 20 dakika, t = 22°C



Kromatogram 8

Çözücü sistemi : No. III

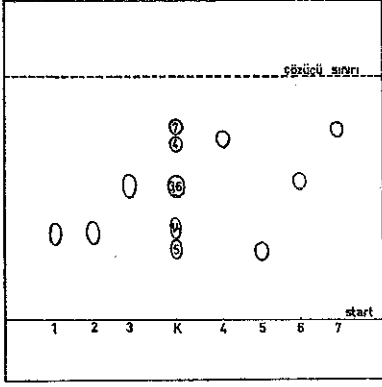
Süre : 55 dakika, t = 24°C

Kromatogram 7 de tek leke veren fisostigmin-fenazon çiftini ayır-  
mak için cetvel V deki çözücü sistemlerinden V, VI, VII, VIII, X ve XI  
no.lular, tarafımızdan tertiplenen ve cetvel VI da gösterilen çözücü  
sistemlerinden ise III<sub>a-d</sub>, VIII<sub>a</sub> ve VIII<sub>b</sub>, IX, X, XI ve XII no.lular  
kullanılabilir.

Kromatogram 8 de tek leke veren atropin-brusini birbirinden ayır-  
mak için cetvel V de bildirilen çözücü sistemlerinden I, IV ve X no.lu-  
ları, cetvel VI dakilerden II<sub>a</sub>, V<sub>a</sub>, VIII ve X no.luları alınabilir.

Tarafımızdan tertiplenen çözücü sistemleriyle yapılan çalışmalar-  
da (cetvel VI) en iyi neticeler XI<sub>a</sub> ve XII no.lu çözücü sistemleriyle  
elde edilmiştir (Kromatogram 9 ve 10).

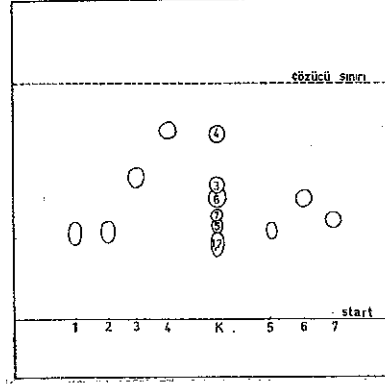
Bu kromatogramların tetkikinden anlaşılacağı gibi XI<sub>a</sub> çözücü sis-  
temi ile çalışıldığında (Kromatogram 9) hyosin-fenazon ayrılması müm-  
kün olmamış, XII no.lu ile hazırlananda ise (Kromatogram 10) yakın  
Rf değerleri elde edilmiştir. Bu çiftin iyi bir şekilde ayrılması için cet-  
vel V deki çözücü sistemlerinden I, IV, V, VI, VII, VIII, X no.lu olan-  
lar, cetvel VI dakilerden ise II<sub>a</sub>, VIII<sub>a,b</sub>, IX, X kullanılabilir. Denel  
kısımında bildirildiği gibi silika jel G tabakasında pH gradienti husule  
getirildikten sonra n-butanol-su (1:1) sisteminin organik fazıyla ya-  
pılan tecrübelerde en iyi netice (6 leke) levhanın N KOH (etanolde)



Kromatogram 9

Çözücü sistemi : No. XI

Süre : 2 saat, t = 24°C

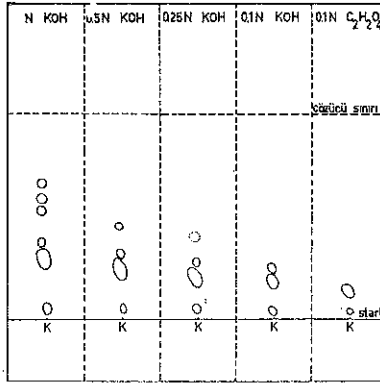


Kromatogram 10

Çözücü sistemi : No. XII

Süre : 40 dakika, t = 24°C

çözeltilisi püskürtülmüş olan kısmında elde edildi, en az leke (2 leke) ise levhanın diğer başındaki kısım olan 0.1 N  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$  (suda) li muntıkada tespit edildi. Levha üzerindeki KOH miktarı arttıkça lekelerin adedi de artmaktadır (Kromatogram 11).



Kromatogram 11

Çözücü sistemi : n-butanol-su (1:1)

Süre : 3 saat, t = 23°C

Bu ön tecrübeden faydalanılarak yapılan bir çalışmada levha sili-ka jel G nin su yerine KOH in sudaki normal çözeltilisiyle karıştırıl-

ması suretiyle hazırlandı ve n-butanol-su (1:1) sisteminin organik fazı ile kromatografiye edildi(1).

Cetvel VI. Yeni geliştirilen çözücü sistemleriyle alınan sonuçlar

Çözücü sistemi no.	Leke adedi	Rf değerleri						
		Atropin	Hyosiyamin	Hyosin	Fisostigmin	Erusin	Fenazon	Aminopirin
I <sub>a</sub>	2	0.90	0.89	0.93	0.94	0.91	0.87	0.93
II <sub>a</sub>	5	0.59	0.57	0.71	0.86	0.83	0.83	0.95
II <sub>b</sub>	3	0.79	0.79	0.85	0.88	0.70	0.80	0.89
III <sub>a</sub>	3	0.27	0.28	0.48	0.67	0.21	0.45	0.78
III <sub>b</sub>	5	0.35	0.35	0.48	0.64	0.35	0.42	0.73
III <sub>c</sub>	4	0.28	0.29	0.39	0.54	0.31	0.35	0.72
III <sub>d</sub>	5	0.10	0.11	0.19	0.32	0.14	0.18	0.32
V <sub>a</sub>	2	0.31	0.32	0.52	0.52	0.55	0.54	0.52
VIII <sub>a</sub>	4	0.30	0.30	0.23	0.30	0.17	0.57	0.15
VIII <sub>b</sub>	2	0.21	0.21	0.18	0.23	0.14	0.62	0.16
IX <sub>a</sub>	3	0.05	0.06	0.22	0.16	0.03	0.69	0.21
X <sub>a</sub>	5	0.41	0.41	0.26	0.34	0.57	0.69	0.45
X <sub>b</sub>	4	0.68	0.68	0.58	0.45	0.75	0.94	0.67
XI <sub>a</sub>	5	0.35	0.35	0.55	0.74	0.27	0.56	0.77
XII	4	0.07	0.06	0.11	0.22	0.09	0.11	0.34
XIII	1	0.02	0.03	0.03	0.02	0.01	0.03	0.02
XIV (*)	5	0.30	0.31	0.66	0.71	0.28	0.79	0.83

(\*) N KOH ile hazırlanmış silika jel G tabakasında.

Adsorban olarak silika jel G yerine alüminyum oksid G ve ayrıca formamidin asetonadaki % 10 luk ve % 20 lik çözeltisiyle emprenye edilmiş sellüloz MN 300 ve sellüloz MN 300 G tabakalarında bazı çözücü sistemleriyle yükselen usule göre yapılan çalışmalarda tatmin-kâr neticeler alınmamıştır.

Silika jel G tabakasında iki boyutlu kromatografi tekniği de denendi ve birinci boyutta XII, ikinci boyutta ise VIII<sub>b</sub> veya XIII veyahut IV no.lu çözücü sistemleriyle çalışıldı.

Birinci boyutta XII no.lu, ikinci boyutta ise IV no.lu çözücü sistemiyle kromatografide atropin-hyosiyamin çifti hariç, maddelerin hepsini birbirinden ayırmak mümkün oldu(1).

## DENEY KISIM

Burada yalnızca daha önceki yayında (1) bulunmayan hususlar bildirilecektir.

1) *Muhtelif muntıkalarındaki asidlik veya bazlığı farklı olan silika jel G tabakası*: 35 g silika jel G ye 70 ml 0.1 N  $H_2C_2O_4$ . 2  $H_2O$  çözeltisi ilâve edilip karıştırıldı. Elde edilen koyu kıvamlı kütle DESEGA kromatografi aletiyle 5 levha ( $20 \times 20$  cm) üzerine 0.25 mm kalınlığında yayıldı. Levhalar açık havada kurutuldu, etüvde  $100^\circ C$  de 1/2 saat aktive edildi. Levha 5 bölüme ayrıldı. Birinci bölüm ince tabakaya değmeyecek şekilde cam levhayla kapatılarak açık kalan kısma alkollü 0.1 N KOH püskürtüldü, müteakiben bir sıcak hava vantilatörüyü 2 dakika kurutuldu, sonra birinci ve ikinci bölüm kapatıldı, diğer kısma alkollü 0.25 N KOH püskürtüldü, aynı şekilde kurutuldu. Bu tarzda çalışarak ve her seferinde levhanın müteakip 1/5 i kapatılarak, sırasıyla alkollü 0.5 N ve N KOH püskürtülüp aynı tarzda kurutulmak suretiyle muamelelere tabi tutulan levha, kullanılıncaya kadar, kurutma dolabında (DESEGA) bekletildi.

2) *Sellüloz*: 15 g sellüloz MN 300 veya sellüloz MN 300 G 100 ml % 98 lık etanolla süspansiyon haline getirilip elektrikli karıştırıcıda 5 dakika karıştırıldıktan sonra, bu karışımdan DESEGA aleti yardımıyla  $20 \times 20$  cm ebadında ve 0.25 mm kalınlığında 5 levha hazırlandı. Levhalar önce havada, sonra etüvde  $80^\circ C$  de 15 dakika bekletilerek kurutuldu ve kullanılıncaya kadar kurutma dolabında (DESEGA) bekletildi.

3) *Formamidle emprenye edilmiş tabakalar*: Sellüloz MN 300 ve sellüloz MN 300 G ile bir önceki kısımdaki tarzda hazırlanan levhalar kurutulup  $80^\circ C$  de 15 dakika aktive edildikten sonra, formamidin asetondaki % 5 veya % 10 veyahut % 20 lik çözeltisine batırılarak emprenye edildi ve açık havada 48 saat kurutulduktan sonra kullanıldı.

## Ö Z E T

Alkaloidlerin analizinde Bamford usulünün ince tabaka kromatografisiyle kombine edilmesi konusunda yaptığımız araştırmalarla ilgili ilk yayında(1) 1. - 7. gruptaki alkaloidlerin ve baz tesirli organik azot bileşiklerinin kendi grupları içinde ince tabaka kromatografisiyle ayrılmasında kullanılacak usuller bildirilmişti. Bu yayında ise 1. - 3. gruptaki maddelerin silika jel, alüminyum oksid, sellüloz ve forma-

middle empenye edilmiş sellüloz tabakalarında literatürde bildirilen bazı çözücü sistemleriyle (no. I - XI) ve ayrıca tarafımızdan tertiplenen çözücü sistemleriyle (cetvel II) yükselen usule göre kromatografilerinde alınan sonuçlar bildirilmektedir.

#### SUMMARY

In a previous publication(1), dealing with the combination of thin-layer chromatography with the scheme of analysis given by Bamford(2), we gave methods for the separation of the alkaloids and the basic organic nitrogen compounds of the groups 1-7 (each within their groups) by thin-layer chromatography.

In this paper, we are giving the results obtained by thin-layer chromatography (ascending technique) of the compounds belonging to the groups 1-3, on layers of silica gel G, alumina, cellulose and with formamide impregnated cellulose, using known solvent systems (no. I - XI) and the ones developed by us (Table II).

#### LİTERATÜR

1. Tulus, R., İskender, G., *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, 5, 55 (1969).
2. Bamford, F., Steward, C. P., *Poisons, Their Isolation and Identification*, 3., ed., 247, J. and A. Churchill Ltd., London (1951).

---

(Redaksiyona verildiği tarih: 26 Ağustos 1969)