

Fenazon, Aminofenazon, Sodyum Novaminsulfonat, Kafein ve Asetilfenetidin'in İnce Tabaka Kromatografisi ile Yanyana Teşhisi

Separation and Identification of Phenazone, Aminophenazone, Sodium
Novamine-sulfonate, Caffeine and Acetylphenetidine by Thin-layer
Chromatography

Hüsamettin KUTLU *

G İ R İ Ş

Bu çalışmamızda, birkaç antipiretik-analjeziğin ince tabaka kromatografisi ile birbirinden ayrılması için uygun bir sistem ve teşhisleri için müşterek bir reaktif aradık.

Literatürde de bazı antipiretik-analjeziklerin kâğıt (1,2) ve ince tabaka kromatografisi (3,4) ile teşhislerine rastlanmaktadır.

Bu çalışmamızdan maksat, piyasada galenik preparatlarına çok rastlanan kombine antipiretik-analjeziklerden fenazon (I), aminofenazon (II), sodyum novaminsulfonat (III), kafein (IV), ve asetilfenetidin'in (V) teşhislerinde kullanılabilecek bir sistem ve müşterek bir reaktif vermektir.

D E N E L K İ S İ M

Çalışmalarımızda değişik adsorban (immobil faz) ve solvan (mobil faz) ile 10 × 20 cm lik 0.5 mm kalınlığındaki tabakaları kullanarak, 26° de ve developman müddeti 60 dakika olmak üzere denemeler yaptık. Bunlara değişik uygun reaktifler tatbik ederek aşağıdaki sonuçları elde ettik:

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

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.84	kirli kırmızı
(II) 0.73	» »
(III) 0.05	» »
(IV) 0.73	» »
(V) 0.82	» »

[A=kieselgel G Merck, S₁=aseton: kloroform: n-butanol: % 25 NH₃
(3 : 3 : 4 : 1), R = % 2 I₂ + % 5 FeCl₃ · 6 H₂O'nun % 20 lik sulu tartarik
asiddeki solüsyonu ve asetondan eşit miktarlar] *.

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.74	sarı
(II) 0.80	sarı - kahve
(III) 0.64	açık sarı - kahve
(IV) 0.75	açık sarı
(V) 0.88	gri - kahve

[A=kieselgel HF₃₆₆ Merck, S₂=metanol : benzen (1 : 1), R=Br₂]

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.64	koyu sarı
(II) 1.78	turuncu
(III) 0.21	açık sarı
(IV) 0.57	kirli kırmızı
(V) 0.86	açık sarı

[A=kieselgel G Merck,, S₃=aseton : kloroform : su (9 : 2 : 1), R=Br₂]

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.85	kirli pembe
(II) 0.88	mor - renksiz
(III) 0.21	mor - renksiz
(IV) 0.86	sarı - renksiz
(V) 0.80	kirli kırmızı - renksiz

* A = adsorban (immobil faz), S = solvan sistemi (mobil faz), R = reaktif.

[A=kieselgel G Merck, S₄=kloroform : metanol : % 2 HCOOH (100 : 35 : 10), R=serik amonium sülfatın 10% luk sulu eriyiği].

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.33	sarı
(II) 0.44	turuncu
(III) 0.23	turuncu
(IV) 0	—
(V) 0.54	açık sarı

[A=kieselgel G Merck, S₅=metanol : kloroform (3 : 3 : 4), R=Br₂].

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.40	sarı
(II) 0.56	açık sarı
(III) 0	turuncu
(IV) 0.43	açık sarı
(V) 0.63	açık sarı

[A=kieselgel G Merck, S₆=aseton : kloroform (9 : 2), R=Br₂].

<i>Bulunan Rf değerleri</i>	<i>Tesekkül eden renkler</i>
(I) 0.50	koyu sarı
(II) 0.64	kirli sarı
(III) 0	turuncu
(IV) 0.52	açık sarı
(V) 0.70	açık sarı

[A=kieselgel G Merck, S₇=kloroform : aseton : su (2:9:0.5), R=Br₂]

Bu son sistemde, kafein ile yanyana sürüklenen fenazon istisna edilirse, dört madde için ayrılmanın gayet iyi olduğunu görürüz. Biz, S₇ sisteminin dört madde karışımı için uygun olup olmadığını tekrar denedik ve maddeleri tek tek değil de, değişik karışımlar halinde tatbik ettik. Plâklar 20 × 20 cm eb'ında ve 0.5 mm tabaka kalınlığında idi.

<i>Madde karışımları</i>	Bulunan Rf değerleri
(I) + (II) + (III) + (V)	0.527 : 0.64 : 0.05 : 0.73
(II) + (III) + (III) + (V)	0.64 : 0.05 : 0.55 : 0.73
(I) + (II) + (III)	0.527 : 0.64 : 0.05
(I) + (II)	0.527 : 0.64
(I)	0.527
(II)	0.64
(III)	0.05
(IV)	0.55
(V)	0.73

Bu sistemle, plâkları havada kuruttuktan sonra reaktif püskürterek karışım halindeki bu dört maddenin lekelerini birbirinden net bir şekilde ayırmağa muvaffak olduk. Aşağıdaki cetvellerde değişik reaktiflerle, beş madde için elde edilen neticeler belirtilmiştir.

1 — Erlich reaktifi (A = *p*-dimetilaminobenzaldehidin 12.1 N HCl'deki % 2 lik eriyiği, B = 1 lik sulu NaNO₂ eriyiği) Önce A, sonra B eriyiği püskürtülür:

A	B
(I) açık pembe	kanarya sarısı
(II) —	geçici eflâton
(III) sarı	koyu sarı
(IV) —	—
(V) —	renksiz (opak).

2 — Önce % 37 lik HCl, müteakiben % 1 lik sulu NaNO₂ solüsyonu püskürtülür:

(I) yeşil - kanarya sarısı
(II) geçici mor
(III) geçici mavi - pembe
(IV) —
(V) —

3 — Önce % 12.5 luk HCl, 2-3 dakika sonra % 1 lik sulu NaNO₂ solüsyonu püskürtülür:

- (I) sarı - yeşil
- (II) eflâton
- (III) Berlin mavisi - pembe
- (IV) —
- (V) —

4 — Önce % 1 lik sulu NaNO_2 solüsyonu, müteakiben % 37 lik HCl püskürtülür:

- (I) sarı - turuncu sarı
- (II) eflâton - açık pembe
- (III) Berlin mavisi - mor
- (IV) —
- (V) —

5 — % 5 lik sulu $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ solüsyonu püskürtülür:

- (I) —
- (II) yeşil
- (III) sarı
- (IV) —
- (V) —

6 — % 1 lik sulu potasium ferrisiyanür solüsyonu püskürtülür:

- (I) —
- (II) mor
- (III) mor
- (IV) —
- (V) —

7 — 0.1 N iod solüsyonu püskürtülür:

- (I) kirli kırmızı - sarı
- (II) kırmızı - kahverengi
- (III) mor
- (IV) —
- (V) —

8 — Önce sülfürik asid ve 2-3 dakika sonra % 0.5 lik sulu amonium vanadat süspansiyonu püskürtülür:

- (I) —
- (II) mor
- (III) mavi
- (IV) —
- (V) kirli kahverengi

9 — Aynı şartlarda % 0.5 lik sulu amonium molibdat solüsyonu bir renk reaksiyonu vermiyor.

10 — Plâğa önce sülfürik asid, 2-3 dakika sonra Br₂ püskürtülür; bromun fazlası uçtuktan sonra maddeler, beyaz zemin üzerinde kahverengi - turuncu lekeler halinde kalır.

11 — % 10 luk sulu potasium bikromat'ın, % 10 luk sülfürik asidle eşit hacimdeki karışımları püskürtülür:

- (I) —
- (II) mor - mavi
- (III) Berlin mavisi - pembe
- (IV) —
- (V) —

12 — % 10 luk sulu FeCl₃ . 6 H₂O eriyiği püskürtülür:

- (I) kırmızı
- (II) eflâton
- (III) pembe
- (IV) —
- (V) —

13 — Br₂ ile doyurulmuş % 16 lk H₂SO₄ püskürtülür:

- (I) koyu sarı - kanarya sarısı
- (II) kirli kahverengi - kirli pembe
- (III) yeşil - pembe
- (IV) geçici turuncu
- (V) açık sarı - renksiz

14 — % 16 lk sülfürik asid, müteakiben Br₂ püskürtülür; 13. denemedeki lekeler aynen teşekkül ediyor.

S O N U Ç

Fenazon, aminofenazon, sodium novaminsulfonat, kafein ve asetilfenetidin'in bir galenik preparatta beraberce bulunmaları halinde, S_7 sistemi kullanılırsa, yakın Rf değerleri dolayısıyla yalnız fenazon ve kafein'in birbirinden ayrılması güçlük arzeder, bu takdirde net bir netice fenazon ve kafein için ancak Rr (*) değerleriyle mümkündür. S_7 sisteminde başka sistemlerde fenazon ve kafein birbirlerinden farklı Rf değerleriyle ayrılıyorsa da, bu defa karışımın diğer maddeleri için ayrılma iyi olmuyor.

Fenazon veya kafein'den herhangi birinin karışımda bulunmaması halinde her birinin, diğer üç maddeye nazaran Rf değerleri gayet farklı olduğundan, bu yolla teşhis, dört madde için oldukça kolay olur.

Yukarıda sayılan değişik reaktiflerin püskürtülmesinde, bazı değişik neticeler elde edilmiştir. Şöyle ki, bunların bazılarında püskürtme sırası değiştirildiğinde daha net veya daha dayanıklı renkler elde etmek kabil olmuştur. Nitekim % 37 lik HCl ve hemen arkasından % 1 lik sulu NaNO_2 püskürtüldüğü zaman teşekkül eden renkler az dayanıklıdır, halbuki daha dilüe bir asitle, % 12.5 luk HCl ile asidlendirildikten 2-3 dakika sonra sodium nitrit solüsyonu püskürtüldüğünde meydana gelen renkler daha dayanıklı olup, bir müddet kalmıştır.

Yine, önce % 0.5 lik sulu amonium vanadat süspansiyonu püskürtülmesini müteakip, sülfürik asidin püskürtülmesinde lekelerin teşekkül sür'ati ve dayanıklılığı, sülfürik asidin evvel ve amonium vanadat'ın sonra püskürtüldüğü zaman husule gelen lekelerininkine nazaran çok daha fazladır.

Brom ile doyurulmuş % 16 lik H_2SO_4 püskürtüldüğünde lekelerin teşekkül sür'ati ve dayanıklılığı, reaktifin ayrı ayrı püskürtüldüğü zaman elde edilen neticeye nazaran çok daha zayıftır.

Aşağıdaki cetvelde, beş maddenin değişik sistemlerdeki Rf değerlerinin S_7 sistemindekilerle mukayesesi ve maddelerin ($\text{Br}_2 + \% 16 \text{H}_2\text{SO}_4$) reaktifiyle verdiği renkler gösterilmiştir.

* Rr. = referans maddeye göre R değeri.

T A B L O I

Solvan sistemlerindeki Rf değerleri ve renkleri

(The Rf values and colors in developping systems)

Madde (Substance)	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	
							Rf	Renk (Color)
Phenazone	0.84	0.74	0.64	0.85	0.33	0.40	0.50	koyu sarı (deep yellow)
Aminofenazone	0.73	0.80	0.78	0.88	0.44	0.56	0.64	kirli sarı (dark yellow)
Sodium novamine- sulfonate	0.05	0.64	0.21	0.21	0.23	0	0	turuncu (orange)
Caffeine	0.72	0.75	0.57	0.86	—	0.43	0.52	açık sarı (light yellow)
Acetylphenetidine	0.82	0.88	0.86	0.80	0.54	0.63	0.70	açık sarı (light yellow)

Ö Z E T

Bu çalışmamızda, birkaç antipiretik-analjeziğin tek sistem ve tek reaktifle teşhisini araştırdık. Kieselgel G Merck plakları ve muhtelif solvan sistemleri ile muhtelif reaktifleri denedik. Bunlar arasında (aseton : kloroform : su) (9 : 2 : 0.5) solvan sistemi ve (Br₂ + 16 H₂SO₄) reaktifinin hepsi için uygun olduğunu gördük. Bu sistem ve reaktifle her madde farklı bir Rf değeri ve farklı renkte bir leke veriyor.

S U M M A R Y

A thin-layer chromatographic separation technique of phenazone, aminophenazone, sodium novaminesulfonate, caffeine and acetylphenetidine in the mixtures was established. Silica gel G Merck, silica gel HF₃₀₀ Merck and different eluting systems are used. The best system was acetone : chloroforme : water (9 : 2 : 0.5) and the best spraying reagent

was the bromine and diluted sulfuric acid. The colors obtained by this reagent were different for each substance.

The Rf values and colors are given in table I.

L I T E R A T Ü R

1. Booichsen, R., Machly, A., Nordlandes, S., *J. Chromatography*, 3, 190-2 (1960).
2. Barreto, R. C. R., Barreto, H. S. R., Pinto, I. P., *J. Chromatography*, 6, 416-9 (1961).
3. *J. Chromatography*, 18, Data 18 (1965).
4. *J. Chromatography*, 18, Data 18 (1965).

(Redaksiyona verildiği tarih: 11 Ekim 1965)