**İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ İLE İLGİLİ DENEYLER**

**1- Ateş Düşürücü İlaçlarda Kalitatif Olarak Aktif Madde Tayini**

**Amaç:** Piyasada satilan ateş düşürücü ilaçlar çeşitli aktif maddeler içermekte, bu aktif maddeler dolgu maddeleri ile birlikte tablet veya kapsül haline getirilerek piyasaya sunulmaktadir. Bu deneyin amaci, değişik ateş düşürücü ilaçlarin aktif madde olarak asetil salisilik asit veya fenasitin içerip içermediklerini ince tabaka kromatografisi metodunu kullanarak, kalitatif olarak tayin etmektir.

**Genel Bilgiler:** İnce tabaka kromatografisi, sabit bir kati faz üzerinde, maddelerin bir çözücü (taşiyici faz) yardimiyla farkli hizlarda taşinmasi olayi üzerine kurulmuş bir metottur. Sabit faz, ince bir tabaka halinde cam veya aluminyumdan yapilmiş bir destek üzerine homojen bir şekilde yayilmiştir. Bu sabit faz üzerinde, maddelerin taşinma hizlari, sabit fazin bileşimine, tayin edilecek maddenin bileşimine ve polaritesine ve taşiyici çözücünün bileşimine ve polaritesine bağlidir. Buna göre belirli sabit faz ve taşiyici faz bileşiminde her maddenin belirli bir taşinma hizi vardir ve bu özellikten faydalanarak bileşiklerin kalitatif analizi yapilabilir.

**Gerekli Çözeltiler ve Reaktifler:**

- asetil salisilik asit,

- fenasetin,

- n-bütil alkol,

- metil izobütil keton (MIBK),

- etil asetat,

- kloroform,

- taşiyici faz: 2:9:9 n-bütilalkol : MIBK : etil asetat

- sabit faz: silikajel tabaka, 5 X 10 ebatlarinda, 254 nm'de işima yapan bir floresans madde emdirilmiş,

- Çeşitli ateş düşürücü ilaçlar.

**Deneyin Yapilişi:**

- Ateş düşürücü ilaç tabletleri bir tüp içinde 5 mL kloroform kullanilarak ve bir baget yardimiyla ezilerek aktif maddeleri kloroform fazina ekstrakte edilir.

- Bir spatül ucuyla, yaklaşik 10-20 mg asetil salisilik asit ve fenisitin ayri ayri tüplerde yaklaşik 5 mL kloroform ile çözülür.

- İnce tabaka düşey konumdayken alt kenarinin 1 cm üstüne, yumuşak bir kurşun kalemle ve bastirmadan ince bir çizgi çizilir. Bu çizgi üzerine birbirine eşit uzaklikta 4 veya 5 tane işaret konur.

- Bu noktalarin herbirine çok ince bir kapiler boru yardimiyla, herbir çözeltiden çok az miktarda uygulanir.

- Bir kavanoz (geliştirme kabi) icine yaklaşik 20 mL hareketli faz karişimi konur. Kavanozun içine bir süzgeç kağidi daldirilir ve ağzi bir saat cami ile kapatilir. Yaklaşik 5 dakika beklenerek kavanoz atmosferinin çözücü buharlari ile doymasi sağlanir.

- Tabaka üstten bir pens yardimiyla tutularak dikkatli bir şekilde kavanozun içine yerleştirilir ve saat cami derhal kapatilir. Bu sirada kavanoz içindeki çözücü seviyesinin maddelerin uygulandiği çizginin altinda kalmasina dikkat edilmelidir. Ayrica kavanoz direkt güneş işinlarina maruz kalmayan bir yerde ve sarsmadan beklenmelidir.

- Tabakada yükselen çözücü seviyesi üstten yaklaşik 1 cm'ye yaklaştiğinda işleme son verilir ve tabaka kavanozdan çikarilir. Çözücünün üst seviyesi kalemle çizilir ve çözücünün buharlaşmasi için 5-10 dakika beklenir. Gerekirse 2-3 dakika etüvde bekletilebilir.

- Tabaka 254 nm dalga boyundaki UV işiği altinda incelenir ve görünen lekelerin etrafi kurşun kalemle çizilir.

- Maddelerin uygulandiği noktayla, yürüdüğü nokta arasindaki mesafe ve çözücünün toplam yürüdüğü mesafe bir cetvelle ölçülerek her bir maddenin Rf değeri hesaplanir.

**2- Çeşitli Ateş Düşürücü İlaçlarda Bulunan Asetil Salisilik Asitin Kantitatif Olarak Tayini**

**Amaç:** Bu deneyin amaci, farkli firmalarca üretilen veya ayni firmanin farkli yaş gruplarina yönelik olarak ürettiği ve içinde aktif madde olarak asetil salisilik asit bulunan ateş düşürücü ilaçlardaki asetil salisilik asiti ince tabaka kromatografik metotla kantitatif olarak tayin etmektir.

**Genel Bilgiler:** İnce tabaka kromatografisi ile kantitatif analiz, doğruluğu düşük bir analiz metodu olmasina karşilik, bazi durumlarda basit ve çabuk uygulanabilir olmasi sebebiyle tercih edilmektedir. İnce tabaka kromatografisi ile kantitatif analizin prensibi, kromatogram sonucu maddeye ait lekenin alaninin ölçülmesi ve bu alanin bilinen konsantrasyonlara sahip maddeye ait lekelerle karşilaştirilmasi esasina dayanir. Ayrica, tabaka üzerinde gezdirilerek her bir lekeyi, derişimine bağli olarak pik haline dönüştüren cihazlarda mevcuttur.

**Gerekli Çözeltiler ve Reaktifler:**

- asetil salisilik asit,

- n-bütil alkol,

- metil izobütil keton (MIBK),

- etil asetat,

- kloroform,

- taşiyici faz: 2:9:9 n-bütilalkol : MIBK : etil asetat

- sabit faz: silikajel tabaka, 10 X 10 ebatlarinda, 254 nm'de işima yapan bir floresans madde emdirilmiş,

- Asetil salisilik asit içeren çeşitli ateş düşürücü ilaçlar.

**Deneyin Yapilişi:**

- Ateş düşürücü ilaç tabletleri bir tüp içinde 5 mL kloroform kullanilarak ve bir baget yardimiyla ezilerek aktif maddeleri kloroform fazina ekstrakte edilir.

- Beş tane 10 mL'lik deney tüpü içine sirasiyla 100 mg, 200 mg, 300 mg,400 mg ve 500 mg asetil salisilik asit tartilir ve 5 mL kloroform ile çözülür.

- İnce tabaka düşey konumdayken alt kenarinin 1 cm üstüne, yumuşak bir kurşun kalemle ve bastirmadan ince bir çizgi çizilir. Bu çizgi üzerine birbirine eşit uzaklikta 8 veya 9 tane işaret konur.

- Bu noktalarin herbirine çok ince ve ölçülü bir kapiler boru yardimiyla, herbir çözeltiden ayni miktarda uygulanir.

- Bir kavanoz (geliştirme kabi) içine yaklaşik 20 mL hareketli faz karişimi konur. Kavanozun içine bir süzgeç kağidi daldirilir ve ağzi bir saat cami ile kapatilir. Yaklaşik 5 dakika beklenerek kavanoz atmosferinin çözücü buharlari ile doymasi sağlanir.

- Tabaka üstten bir pens yardimiyla tutularak dikkatli bir şekilde kavanozun içine yerleştirilir ve saat cami derhal kapatilir. Bu sirada kavanoz içindeki çözücü seviyesinin maddelerin uygulandiği çizginin altinda kalmasina dikkat edilmelidir. Ayrica kavanoz direkt güneş işinlarina maruz kalmayan bir yerde ve sarsmadan beklenmelidir.

- Tabakada yükselen çözücü seviyesi üstten yaklaşik 1 cm'ye yaklaştiğinda işleme son verilir ve tabaka kavanozdan çikarilir. Çözücünün üst seviyesi kalemle çizilir ve çözücünün buharlaşmasi için 5-10 dakika beklenir. Gerekirse 2-3 dakika etüvde bekletilebilir.

- Tabaka 254 nm dalga boyundaki UV işiği altinda incelenir ve görünen lekelerin etrafi kurşun kalemle çizilir.

- İlaçlara ait lekelerin alanlari standard çözelti numunelerinin alanlari ile karşilaştirilarak, her bir ilaç içindeki asetil salisilik asit miktari belirlenir.

**3- Kimyasal Reaksiyonlarin ve Bu reksiyonlarda Oluşan Ürünlerin İnce Tabaka Kromatografisi ile Kontrol Edilmesi**

**Amaç:** Bu deneyin amaci, laboratuvarda gerçekleştirilen bir kimyasal reaksiyonun tamamlanip tamamlanmadiğinin, çikiş maddelerinin ortamda tükenip tükenmediğinin veya hangisinin arttiğinin, ayrica meydana gelen ürünlerin sayisinin ve istenilen ürünün meydana gelip gelmediğinin ince tabaka kromatografisi metoduyla kontrol edilmesidir.

Bu amaçla, kisaca Trimer olarak adlandiracağimiz 1,1,3,3,5,5-heksaklorotrifosfazatrien bileşiğinin amonyakla, diklorometan ortaminda ve piridin yaninda vermiş olduğu reaksiyon incelenecektir.

**Genel Bilgiler:** Trimer, amonyakla piridin yaninda reaksiyona girer ve trimerin yapisindaki klorlarin ikisi amonyakla yerdeğiştirerek amin bileşikleri meydana gelir.

Cl Cl H2N NH2

P P

N N piridin N N

+ NH3 -------------

Cl Cl diklorometan Cl Cl

P P P P

Cl Cl Cl Cl

N N

Trimer

Ortamda fazla miktarda amonyak varsa, reaksiyon devam ederek diğer klorlarda yer değiştirebilir. Reaksiyon ortaminda trimer kalip kalmadiği ve kaç tane ürün meydana ğeldiği ince tabaka kromatografisi metoduyla belirlenebilir.

**Gerekli Çözeltiler ve Reaktifler:**

- Trimer,

- amonyak,

- piridin,

- diklorometan,

- dietileter, taşiyici faz olarak,

- sabit faz: silikajel tabaka, 5 X 10 ebatlarinda, 254 nm'de işima yapan bir floresans madde emdirilmiş,

- Renk reaktifi: yaklaşik %0,5'lik p-fenilen diaminin, yaklaşik %20 lik piridindeki çözeltisi,

**Deneyin Yapilişi:**

- Kapakli bir reaksiyon kabi içinde, yaklaşik 50-100 mg trimer 5 mL diklorometan kullanilarak çözülür. Çözelti üzerine yaklaşik 10 damla piridin damlatildiktan sonra üzerine 0,5 ml sulu amonyak çözeltisi ilave edilir. Reaksiyon kabinin kapaği kapatilir ve kariştirilir.

- İnce tabaka düşey konumdayken alt kenarinin 1 cm üstüne, yumuşak bir kurşun kalemle ve bastirmadan ince bir çizgi çizilir. Bu çizgi üzerine birbirine eşit uzaklikta 4 veya 5 tane işaret konur.

- Bu noktalarin herbirine çok ince bir kapiler boru yardimiyla, kullanilan çikiş maddelerinin çözeltilerinden, reaksiyon karişimindan ve beklenilen ürün daha önceden mevcutsa onon çözeltisinden yaklaşik ayni miktarlarda uygulanir.

- Bir kavanoz (geliştirme kabi) içine yaklaşik 20 mL hareketli faz karişimi konur. Kavanozun içine bir süzgeç kağidi daldirilir ve ağzi bir saat cami ile kapatilir. Yaklaşik 5 dakika beklenerek kavanoz atmosferinin çözücü buharlari ile doymasi sağlanir.

- Tabaka üstten bir pens yardimiyla tutularak dikkatli bir şekilde kavanozun içine yerleştirilir ve saat cami derhal kapatilir. Bu sirada kavanoz içindeki çözücü seviyesinin maddelerin uygulandiği çizginin altinda kalmasina dikkat edilmelidir. Ayrica kavanoz direkt güneş işinlarina maruz kalmayan bir yerde ve sarsmadan beklenmelidir.

- Tabakada yükselen çözücü seviyesi üstten yaklaşik 1 cm'ye yaklaştiğinda işleme son verilir ve tabaka kavanozdan çikarilir. Çözücünün üst seviyesi kalemle çizilir ve çözücünün buharlaşmasi için 5-10 dakika beklenir. Gerekirse 2-3 dakika etüvde bekletilebilir.

- Tabaka 254 nm dalga boyundaki UV işiği altinda incelenir ve görünen lekelerin etrafi kurşun kalemle çizilir.

- Renklendirici reaktif bir sprey sistemi içine konur ve tabaka üzerine çok ince sis halinde püskürtülür.

- Çikiş maddelerinin, reaksiyon karişiminin ve beklenilen ürünlerin lekeleri karşilaştirilarak reaksiyonun gidişati hakkinda karar verilir.