

Glisin ve Salisilaldehitten Oluşan Schiff Bazının Oluşum ve Protonasyon Dengelerinin Spektrofotometrik ve Potansiyometrik Metotla İncelenmesi

Investigation of Formation and Protonation of Schiff Bases Formed Glycine and Salicylaldehyde by Spectrophotometric and Potentiometric Method

Havva DEMİRELLİ

G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Böl.
Kimya Eğitimi Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, glisinin ve salisilaldehitten oluşan Schiff bazının oluşum dengesi spektrofotometrik olarak incelenmiş ve bu Schiff bazının oluşum ve protonasyon sabitleri potansiyometrik titrasyon metodu ile tayin edilmiştir. Titrasyonlar 25 °C'da azot atmosferinde ve modifiye edilmiş kombine cam pH elektrodu kullanılarak 0,1 M potasyum klorürlü ortamlarda yapılmıştır. Oluşum ve protonasyon sabitleri Martell ve Motekaitis tarafından geliştirilen BEST bilgisayar programı ile hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Glisin, salisilaldehit, Schiff bazı, oluşum sabiti, protonasyon sabiti, potansiyometri, spektrofotometri

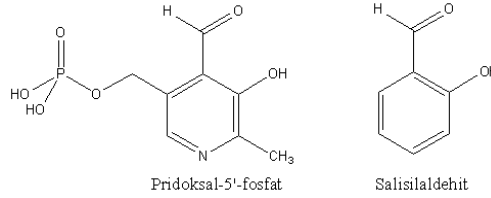
ABSTRACT

In this study, formation of Schiff bases formed glycine and salicylaldehyde was spectrophotometrically investigated and formation and protonation constants of this Schiff bases were potentiometrically determined in water. Potentiometric titrations were carried out at 25 °C, under nitrogen atmosphere in the media of 0.1 M potassium chloride using modified combined pH electrode. The formation and protonation constants were estimated using BEST computer program developed by Martell and Motekaitis.

Key Words: Glycine, salicylaldehyde, Schiff bases, formation constant, protonation constant, potentiometry, spectrophotometry

GİRİŞ

Transaminasyon, dekarboksilasyon, deaminasyon, rasemizasyon gibi birçok biyolojik reaksiyonun oluşum mekanizmasını açıklayabilmek, bu reaksiyonlar hakkında daha ayrıntılı bilgi elde edebilmek için amino asitlerin aldehitler ile reaksiyonu sonucunda oluşan Schiff bazlarının incelenmesi önemlidir. Metabolizmada gerçekleşen bir çok reaksiyonda vitamin B₆'nın koenzim olarak görev aldığı bilinmektedir (Eichorn and Dawes, 1954). Vitamin B₆ koenziminin ise yapısal olarak pridoksal (PL) ve pridoksal-5-fosfat' a (PLP) benzer bileşikler içerdiği ve Schiff bazı oluşumunda daha çok pridoksal-5-fosfat' ın aktif olarak rol aldığı ifade edilmektedir (Metzler and Christen, 1985).



Bu aldehitin fonksiyonel gruplarının fazla olması Schiff bazı oluşum mekanizmasının aydınlatılmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle Schiff bazı oluşum mekanizmasının incelendiği bir çok çalışmada pridoksal-5'- fosfat' a benzer bir yapıda olan salisilaldehitten türeyen Schiff bazları çalışılmış ve salisilaldehitin, vitamin B₆ tipi reaksiyonların anlaşılmasına yardım edeceği ifade edilmiştir (Sigel, 1976). Bu nedenle çalışmamızda bazı glisin salisilaldehit ile oluşturduğu Schiff bazlarının denge reaksiyonları incelenmiştir.

2. DENEYSEL KISIM

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Standart Çözeltiler

Glisin (%99,7), (%99) ve salisilaldehit (%99) Merck firmasından temin edilmiş ve safsızlıkları uzaklaştırılarak kullanılmıştır. Bileşiklerin safsızlıkları potansiyometrik titrasyon metodu ile kontrol edilmiştir (Rossotti, 1968). Stok çözeltiler (0,03 M) suda hazırlandıktan sonra hemen kullanılmıştır. Karbonatsız KOH çözeltisi (0,1 M) ayarlı HCl çözeltisi ile titre edilerek Gran metoduna göre ayarlanmıştır (Gran, 1950). HCl çözeltisi, (0,1 M) konsantr HCl (Merck, %37 extra pure) kullanılarak hazırlanmış ve sodyum karbonata karşı ayarlanmıştır. İyonik şiddetin sabit tutulmasında kullanılan KCl

çözeltisi (1,0 M) analitik saflıktaki KCl' den (Merck, extra pure) hazırlanmıştır. Deneysel çalışmalarda deiyonize su kullanılmıştır.

2.2. Potansiyometrik Ölçümler

Potansiyometrik ölçümler, Ingold marka kombine cam elektrot monte edilmiş Orion 940 model pH-metre kullanılarak yapılmıştır. Sıvı temas potansiyelini sabit tutabilmek için cam elektrodun referans kısmının dolgu çözeltisi boşaltılıp yerine gümüş klorür ile doymuş 0,1 M KCl çözeltisi doldurulmuştur. Ayarlı HCl çözeltisinin $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ve 0,1 M KCl iyonik şiddette ayarlı KOH çözeltisiyle titrasyonu sistem hidrojen iyonu aktivitesi yerine, hidrojen iyonu konsantrasyonunu ölçecek şekilde Gran metoduna göre kalibre edilmiştir (Gran, 1950). Titrant olarak kullanılan KOH çözeltisinin ilaveleri Orion 960 model otomatik titratör ile yapılmıştır. İnert atmosfer ve sabit sıcaklıkta çalışmaya uygun olarak dizayn edilmiş kaplarda yapılan titrasyonlarda, sıcaklık Haake DC3 model sirkülasyonlu su banyosu ile $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ' de sabit tutulmuş ve N_2 atmosferinde çalışılmıştır.

Schiff bazlarını çözücü ortamında oluşturarak oluşum ve protonasyon sabitlerini belirlemek amacıyla analitik konsantrasyonu sırası ile $1,5 \times 10^{-3}$; $1,5 \times 10^{-3}$ ve $4,5 \times 10^{-3}$ M olan amino asit, salisilaldehit ve HCl içeren 50,0 mL' lik titrasyon hücresi pH 2-12 aralığında KOH ile titre edilmiştir. Titrasyon hücreleri KCl ile 0,1 M iyonik şiddete ayarlanmıştır.

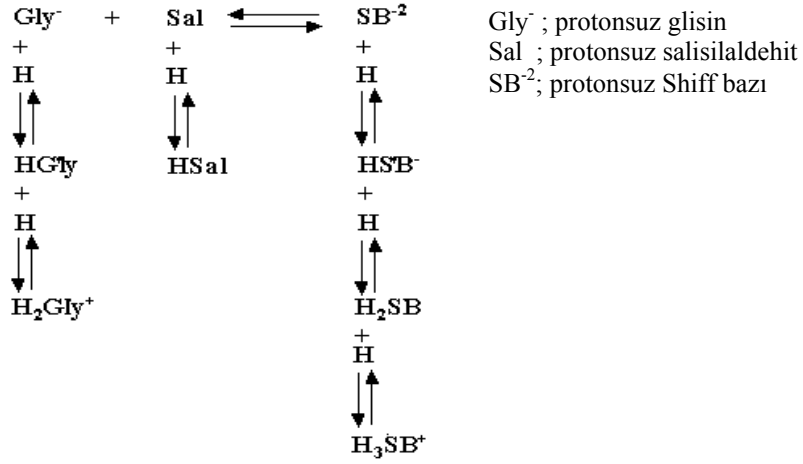
2.3. Spektrofotometrik ölçümler

Spektrofotometrik ölçümlerde Shimadzu model UV-160A spektrofotometresi kullanılmıştır. Rutin ölçümler, bir çift 1,0 cm'lik quartz hücresinde TCC 240A model termostat ile $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ' a ayarlanarak yapılmıştır. Spektrumları alınacak çözeltiler universal tamponlar ile farklı pH' lara (3,00; 8,00; 12,00) ayarlanarak 0,1 M KCl' li ortamda 1:0, 1:2, 1:5 ve 1:10 mol oranlarında salisilaldehit ($1,0 \times 10^{-4}$ M): amino asit çözeltilerinin karıştırılmasıyla hazırlanmış, çözeltilerin dengeye ulaşması için en az 30 dakika beklenilmiştir. Çözeltilerin spektrumları spektrofotometrenin referans hücresine

0,1 M KCl ve pH tamponunun sudaki çözeltisi konularak 200-500 nm aralığında alınmıştır.

3. HESAPLAMALAR

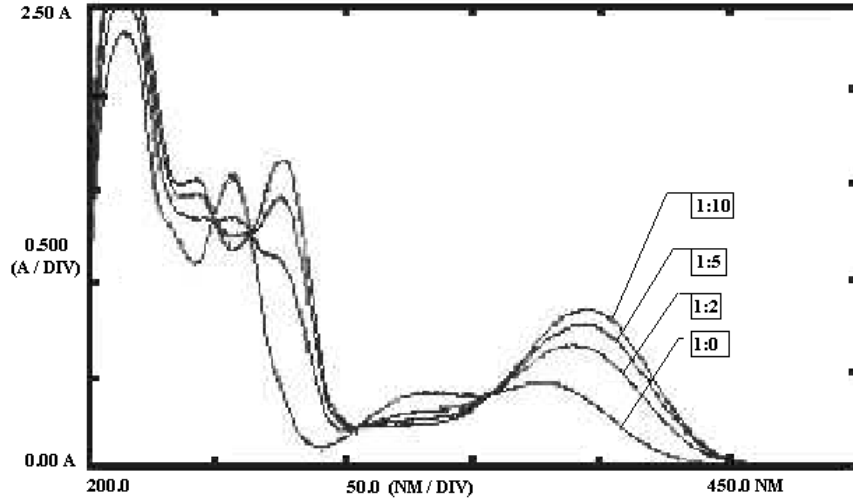
Potansiyometrik titrasyon verilerinden denge sabitlerinden doğru ve güvenilir bir şekilde hesaplanabilmesi için çözücü ortamında gerçekleşen bütün dengelerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu çalışmada çözücü ortamında oluşturulan Schiff bazı için aşağıdaki dengelerin var olduğu kabul edilmiş ve titrasyon verilerinin değerlendirilmesinde bu dengeleri dikkate alarak hesaplama yapabilecek FORTRAN IV dilinde yazılmış BEST bilgisayar programı kullanılmıştır (Martell and Motekaitis, 1988).



Yukarıdaki eşitlik incelenecek olursa Schiff bazı denge sabitlerinin hesaplanabilmesi için glisin ve salisilaldehitin protonasyon sabitlerinin bilinmesi gerektiği görülebilir. Bu amaçla önceki çalışmamızda sunulan ve çalışılan ortamda tayin edilen değerler kullanılmıştır (Demirelli, 2000).

4. SONUÇLAR VE YORUM

Amino asitlerin salisilaldehit ile reaksiyona girerek Schiff bazı oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla yapılan spektrofotometrik çalışmalar sonucunda Şekil 1' deki spektrum elde edilmiştir.



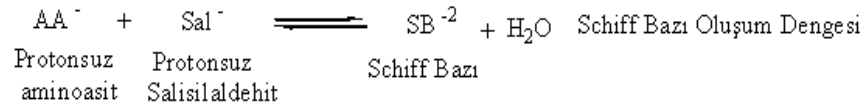
Şekil 1. 1×10^{-4} M Salisilaldehit çözeltisi ile 1×10^{-2} M glisin çözeltisinin çeşitli salisilaldehit:glisin mol oranlarında karıştırılması sonucu oluşan Schiff bazlarının spektrumu

Salisilaldehit-glisin sistemi için elde edilen bu spektrum incelenecek olursa glisin miktarı artıkça 240-260 nm' de bulunan pikin yok olduğu 270-300 nm' de yeni bir pikin oluştuğu görülebilir. 270-300 nm' de oluşan bu pik -C=N bağlarında meydana gelen yerleşik π orbitallerindeki geçişlere aittir (El-Haty ve ark., 1990; Jaffe ve ark., 1958). Salisilaldehit spektrumdaki diğer değişim ise 300-350 nm' de gözlenen pikin azalması ve 350-400 nm' de bulunan pikin daha uzun dalga boyuna kaymasıdır. Salisilaldehit için fenoksit oksijeninin protonasyonuna ait olan bu piklerdeki değişim azometin molekülündeki moleküller arası yük transfer geçişlerinin bir sonucudur (Gabr, 1990). Spektrumda gözlenen diğer bir çarpıcı sonuç ise glisin miktarı artıkça dört farklı izospestik noktanın oluşmasıdır. Salisilaldehit ile glisin arasında 1:1 reaksiyonun olduğunu gösteren bu izospestik noktalar ve spektrumlardaki değişimler salisilaldehit ile

amino asitlerin çözücü ortamında reaksiyona girerek Schiff bazı oluşturduğu kanıtlamaktadır.

4.1 Schiff bazı oluşumu

Protosuz bir aminin protosuz bir aldehite kondensasyon reaksiyonu ile katılması sonucunda oluşan dengenin denge sabiti olarak tanımlanan ve aşağıdaki eşitlikle ifade edilen Schiff bazı oluşum sabiti çalışılan salisilidenglisin Schiff bazı için potansiyometrik olarak tayin edilmiş ve Log K_{ol} değeri 0,55 olarak bulunmuştur.

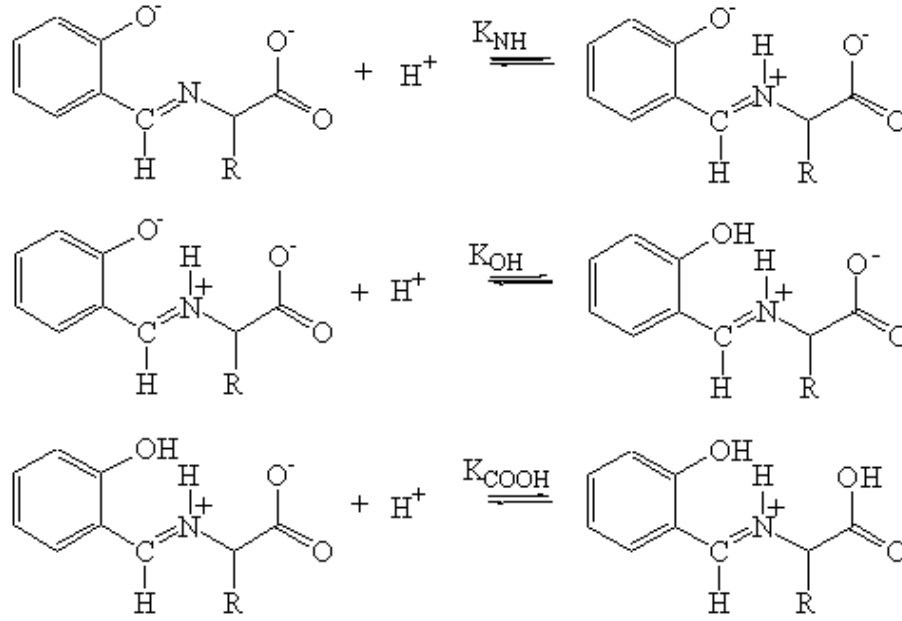


$$K_{ol} = \frac{[\text{SB}^{-2}]}{[\text{AA}^-][\text{Sal}^-]} \quad \text{Schiff Bazı Oluşum Sabiti}$$

Salisilidenglisin Schiff bazı için elde edilen bu değer, Leusing ve Bai (1968)'nin 0,5 M KNO_3 iyonik şiddette su ortamında spektrofotometrik metot ile buldukları 0,48 değeri ile karşılaştırılacak olursa uyum içinde olduğu görülebilir.

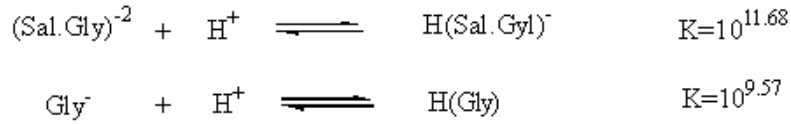
4.2 Schiff bazı protonasyonu

Çalışmamızda incelenen salisilidenglisin Schiff bazının stokiyometrik protonasyon sabitleri potansiyometrik metot ile tayin edilmiş ve Log K değerleri 11,68 ; 7,57 ; 2,43 olarak bulunmuştur. Bu sabitler sırasıyla imin azotunun protonasyonu, fenolik oksijenin protonasyonu ve karboksilat grubunun protonasyonu olup reaksiyon denklemleri aşağıdaki gibidir.

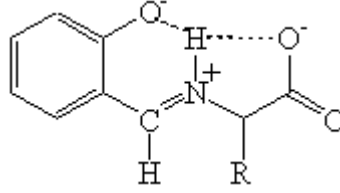


Bu şekilde basamaklı olarak gerçekleşen protonasyon dengelerinde ilk protonasyonun öncelikle hangi protonasyon bölgesinde gerçekleştiğinin bilinmesi önemlidir. Schiff bazlarının ilk protonasyonunun hangi protonasyon bölgesinde gerçekleştiğini belirlemek için UV ve NMR spektrofotometrisi kullanılarak yapılan çalışmalarda polaritesi yüksek çözücülerde ilk protonasyonun imin azotunda olacağı ifade edilmiştir (Metzler and Christen, 1985; Sigel, 1976; Hopgod and Leussing, 1969; Heinert and Martell, 1963; Leusing and Stanfield, 1996). Çözücü olarak suyun kullanıldığı ($25^\circ C$ ' de dielektrik sabiti=80,4) bu çalışmada da spektrofotometrik incelemeler sonucunda Schiff bazlarının birinci protonasyonunun imin azotunda olduğu ispatlanmıştır.

Schiff bazlarının imin azotunda gerçekleşen birinci protonasyonu ile glisinin amino grubunda gerçekleşen birinci protonasyonu karşılaştırıldığında, Schiff bazlarının protonasyonunun daha büyük olduğu görülebilir.



Schiff bazlarında imin azotunun, Schiff bazını oluşturan aminlerden daha bazik olduğunu gösteren bu durum, aromatik karbonil bileşiklerinden oluşan Schiff bazlarının karakteristik bir özelliğidir ve imin azotuna bağlanan protonun fenolat ve karboksilat gruplarıyla hidrojen bağı yapmasıyla açıklanabilir (Sigel, 1976).



Şekil 2. Salisiliden-amino asit Schiff bazlarının molekül içi hidrojen bağları

Schiff bazlarının ikinci protonasyonu fenolik oksijende gerçekleşmektedir ve fenolik oksijenin protonasyon sabiti değerleri, salisilaldehitin fenolat protonasyonu (Log $K=8,12$) için gözlenen değerden daha düşüktür. Schiff bazlarında fenolat grubunun protona olan bu düşük ilgisi, imminiyum-fenolat hidrojen bağı kırılmak için gerekli enerji ve imminiyum katyonunun itici etkisiyle açıklanabilir (Sigel, 1976). Bu durum Bruynell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da ortaya konulmuş ve fenolik oksijenin protonasyonunun 3 pKa birimi kadar düşebileceği ifade edilmiştir (Bruyneel ve ark., 1966).

Çözücü ortamında oluşturulan salisilidenglisin Schiff bazı için elde edilen protonasyon sabitlerinin sayısal değerleri literatürdeki verilerle karşılaştırılmak istenmiş, ancak pek az veri bulunabilmiştir (Sigel, 1976). Mevcut olan verilerin ise iyonik şiddet ve sıcaklık gibi tayin edildiği şartlar farklı olması dolayısıyla karşılaştırma yapılamamıştır. Farklı iyonik şiddetteki çalışmalar ile yapılan karşılaştırmada elde edilen verilerin literatür ile uyum içinde olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu çalışmada elde edilen verilerin literatüre yeni bir katkı sağlayacağı düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Bruyneel W., Charette J. J. and Delloffmann E.,(1966), J. of Amer. Chem Soc.,19, 229.
- Demirelli, H., (2000), G.Ü. G.E.F. Dergisi, Cilt 20, Sayı 3, 79-86.
- Eichorn, L. G., Dawes, J. W., (1954), J.of Amer. Chem. Soc.,76, 5663.
- El-Haty, M. T., Adam, F. A., Mohammed, A. E. and Gabr, A.A., (1990), , J. Indian Chem. Soc., 67,743.
- Gabr, A. A., (1990), Spectrochim. Acta, 46A, 1751.
- Gran, G.,(1950), Acta. Chem. Scand. ,4, 559.
- Heinert, D.; Martell, A.E. 1963, J. Amer. Chem. Soc., 85,188.
- Hopgood, D. and Leussing, D.L., (1969), J. Amer. Chem. Soc., 91,3740.
- Jaffe, H.H., Yeh, S.J. and Gardner, R.W., (1958), J. Mol. Spectrosc., 2,120.
- Leussing, D. L and Bai, K.S., (1968), Anal. Chem., 40, 575.
- Leussing, D. L. and Stanfield, C. K., (1996), J. of the Amer. Chem. Soc., 88, 24, 5726-5730.
- Martell, A. E. and Motekaitis, R. J., (1988), The Determination and Use of Stability Constants, VCH Publishers, Inc., New York.
- Metzler, D. E. and Christen, P., (1985), Transaminases , 56-102, John Wiley & Sons, New Work
- Rossotti, H., (1968), Chemical Applications of Potentiometry, Van Mostrand, London
- Sigel, H., (1976), Metal Ions in Biological Systems, Marcel Dekker Inc., Vol. 5, 2-50, New York.