

Bağlanma Sabiti K_{ass} 'nın NMR Verilerinden Hesaplanması Üzerine Derleme

Deniz BARIŞ CEBE^{1,*}

¹Batman Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Batman, 72100, Türkiye.

*deniz.baris@batman.edu.tr

Özet

Moleküler seviyede kiralite çalışmaları modern kimyanın en temel konusu olmaya devam etmektedir. Bu konuya ilgi duyulmasının önemli sebebi, çoğu biyomoleküllerin kiral doğasından ve bu moleküllerin diğer moleküllerle etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Kullanılan tıbbi ilaçlar ve zirai ilaçların çoğunda, kiral moleküller bulunmaktadır. Asimetrik sentez konusu, son yıllarda hızla çok büyük gelişme kaydederken, halen saf kiral bileşiklerin çoğunun hazırlanması için yeterince pratik metotlar bulunamamıştır. Moleküler seviyede kiral tanımaya etki eden faktörleri tamamen anlamak için çok sayıda materyal sentezlenmektedir. Supramoleküler kimyanın bu yönlü çalışılmasıyla kazanılan bilgi, enzim-substrat ve antikor-antijen etkileşimleri gibi biyolojik tanıma olaylarında etkili olan etmenlerin anlaşılmasını sağlayacağından dolayı da ayrı bir öneme sahiptir. Diğer taraftan kiral amin ve protonlanmış kiral amin bileşiklerinin enantiyomerik tanıma çalışmaları, bu bileşiklerin biyolojik moleküllerin temel yapı taşı olmalarından dolayı ayrı bir öneme sahiptir. Supramoleküler kimyada bu amaçla kullanılan bileşiklerin başında kiral taç eterler, siklodekstrinler ve siklofanlar gelmektedir.

Anahtar Kelimeler: Konukçu-konuk kimyası, K_{ass} , NMR titrasyon, Moleküler tanıma.

A Review on Calculation Binding K_{ass} from NMR Data

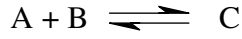
Abstract

Chirality studies at molecular level have started to become the most fundamental subject of modern chemistry. An important reason for wide interest in this field is chiral nature of most biomolecules and interaction of these molecules with the others. Most medicinal drugs and agricultural chemicals contain chiral molecules. While asymmetric synthesis has developed greatly in recent years, this method has not introduced a practical technique for preparing most of pure chiral compounds yet. A great deal of materials have been synthesized to understand completely factors effecting chiral recognition at molecular level. Knowledge gained through studying supramolecular chemistry by this respect has further importance since it enable to understand the factors that have impact on biological recognition events such as enzyme-substrate and antibody-antigen interactions. On the otherhand, enantiomeric recognition studies of chiral amine and protonated chiral amine are also important since these compounds are building blocks of biological molecules. The most widely used compounds for this purpose in supramolecular chemistry are chiral crown eters, cyclodextrins and cyclophanes.

Key Words: Host-guest chemistry, K_{ass} , NMR titration, Molecular recognition.

1. Giriş

Moleküler tanıma, modern organik kimyanın önemli bir konusudur. Bu alandaki yayınların sonuçlarından bağlanma sabiti K_{ass} 'nın önemine bakarsak, genellikle K_{ass} 'nın ölçümü temel şarttır. Bu makalede, konukçu-konuk kimyasındaki K_{ass} 'nın ölçümünde en çok kullanılan tekniklerden biri olan NMR spektroskopisinin ardındaki metodoloji tartışılacaktır.



şeklindeki basit bir reaksiyon için denge sabitinin hesaplanabilmesi A, B ve C türlerinin denge derişimlerinin (doğrusu termodinamik aktivite) bilinmesini gerektirir [1]. Tepkimede verilen A ve B, konukçu (H) ve konuk (G) kompleks oluşturan türleri, birbirlerini hidrojen bağı veya van der Waals kuvvetleri gibi zayıf moleküller arası etkileşimlerle bir arada tutan bir kompleks oluştururlar. Bu durumda denge sabiti, genellikle bağlanma sabiti veya birleşme sabiti olarak adlandırılırken; C türü, ürünün kimyasal özelliklerinin serbest moleküllerinkine çok benzediğini ifade edecek şekilde H•G olarak yazılabilir.

$$K_{ass} = [H•G] / [H] [G] \quad (1)$$

Eşitlik 1'de sunulan karışımın NMR spektrumunun görünümü, K_{ass} ve reaksiyon hızına bağlı olacaktır. Bu bölüm NMR zaman ölçeğindeki ve konuk spektrumunun sadece anlık bir ortalama hızındaki konukçu-konuk kompleksinin gözlenen reaksiyon hızı ile ilgilidir. Burada gözlenen tür konukçu olsaydı; formüldeki konuk yerine, konukçu yazılırdı. Bu durumda gözlenen her kimyasal kayma, serbest ve kompleksleşmiş moleküllerde gözlenen kaymaların mol kesirlerinin ağırlıklı ortalamasıdır.

$$\delta_{göz} = X_G \delta_G + X_{HG} \delta_{HG} \quad (2)$$

ve 1:1 kompleks oluşumu için

$$[G] + [HG] = [G]_0 \quad (3)$$

$$[H] + [HG] = [H]_0 \quad (4)$$

(1)-(4) eşitlikleri tanımlanmış parametreler (G ve H türlerinin gerçek veya başlangıç derişimleri); deney gözlemleri ($\delta_{göz}$ ve δ_G) ve hesaplanacak parametre (K_{ass}) arasındaki

ilişkiyi tanımlar. $\delta_{göz}$ ve K_{ass} arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığına dikkat edilirse, bir başka parametre (δ_{HG}) genellikle doğrudan hesaplanamaz. Aynı zamanda H ve G türlerinin denge derişimleri (çözültideki gerçek derişim) başlangıç veya make-up işlemi sonucu oluşan derişimlerle aynı değildir. Bilinmeyen parametrelerin (K_{ass} ve δ_{HG}) hesaplanması için, $[G]_0$ ve $[H]_0$ 'ın bir dizi farklı derişimlerinin ölçümüyle ve sonra verilerin işlenip; ardından bazı doğrusallaştırma yöntemleriyle, ya da doğrusal olmayan eğri uyumlandırma işlemleriyle başarılıdır.

Aşağıda, bölüm içinde yaygın olarak kullanılan semboller tanımlanmıştır.

Kimyasal kayma sembolleri:

δ_{obs} : Deneysel olarak ölçülen kayma

δ_H : Konukçu moleküllerindeki seçilmiş bir proton çekirdeğin kimyasal kayması

δ_G : Konuk moleküllerindeki seçilmiş bir proton çekirdeğin kimyasal kayması

δ_{HG} : Konukçu-konuk kompleksindeki seçilmiş bir proton çekirdeğin kimyasal kayması

$\Delta\delta$: Kompleksleşmemiş konuğun (konukçunun konuk üzerine eklenmesiyle) kimyasal kaymasındaki ölçülen derişim.

$\Delta\delta_{max}$: Konuk molekülü ile konukçu-konuk kompleksi arasında gözlenen kimyasal kaymaların farkı

Derişim sembolleri:

X_G : Denge karışımındaki konuğun mol kesri

X_{HG} : Denge karışımındaki konukçu-konuk kompleksinin mol kesri

$[H]$: Konukçunun dengedeki derişimi $[G]$: Konuğun dengedeki derişimi

$[HG]$: Konukçu-konuk kompleksinin dengedeki derişimi

$[H]_0$: Konukçunun başlangıç derişimi $[G]_0$: Konuğun başlangıç derişimi

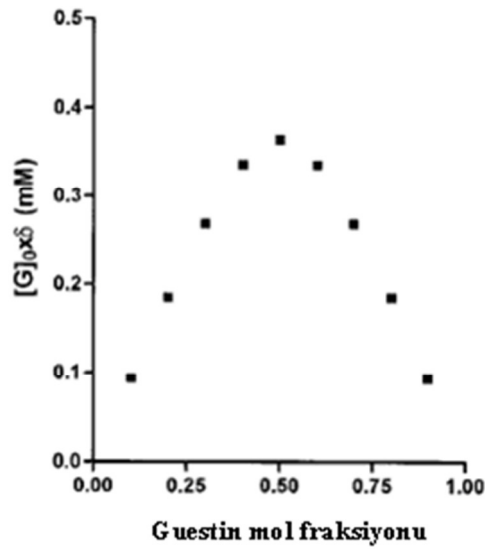
1.1. Stokiyometrinin Hesaplanması

K_{ass} 'nın belirlenmesinden önce, konukçu-konuk kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi her zaman gereklidir [1-10]. Bu, sürekli derişim metodu vasıtasıyla NMR verilerinden kolayca elde edilir (Job's yöntemi) [11-13].

Sürekli derişim yöntemi, konukçu-konuğun çeşitli oranlarını içeren bir seri çözültinin hazırlanmasını gerektirir. Bu sebeple mol oranları aralığı $0 < [H]_0 / ([H]_0 + [G]_0) < 1$ olacak şekilde

bir seri örnek hazırlanır. Her bir örneğin $[H]_0 + [G]_0$ toplam konsantrasyonu sabittir. Deneysel olarak gözlenen parametre, konukçu veya konuğun kompleks oluşumuna duyarlı olan kimyasal kaymasıdır. Veriler X_G 'e karşı $X_G \Delta\delta$ biçiminde grafikleştirilmiştir (Şekil 1). Mol oran metodu olarak bilinen bir diğer teknik, eğer $K_{ass} > 10^5$ ise iyi çalışır. Bu metotta sabit $[G]_0$ ve uygun oranda $[H]_0$ içeren bir seri çözeltiden elde edilen $[H]_0$ 'a karşı $\Delta\delta$ 'in grafiği, kompleksin stokiyometrisine uygun $[H]/[G]$ oranda kesişen iki düz çizgi oluşturur.

Stokiyometriyi belirlemek için elde edilen verilerin, bağlanma sabitinin belirlenmesi için en iyi veriler olmadığına dikkat edilmeli; bu yüzden farklı deneyler planlanmalı ve yapılmalıdır.



Şekil 1. Stokiyometrinin belirlenmesi için Job Plots örneği. $K_{ass} = 10000 \text{ M}^{-1}$, $\Delta\delta_{max} = 0.50 \text{ ppm}$ ve $\delta_G = 0.0 \text{ ppm}$ olduğu ve 1:1 kompleks oluşumunda şekil 1'deki grafik elde edilmektedir. $[G]_0 + [H]_0 = 2 \text{ mM}$, ve $[G]_0$, 0.2 mM artışlarla 0.2 mM'dan 1.8 mM'a değiştirildiği koşullar altında ve konukçu/konuk oranının aralığı gerçek deney koşullarına göre yenilenir. Maksimumun yeri kompleksin stokiyometrisini belirtmektedir.

Elde edilen eğrinin maksimum noktası 0.50'ye karşılık gelirse kompleksin stokiyometrisinin 1:1, 2:2, 3:3 vb. oranında olduğu, 0.66 veya 0.33'e karşılık gelirse 2:1 oranında olduğu söylenir.

2. Grafiksel Metotlar

Grafiksel (ya da doğrusal) metotlar, δ_{obs} ve K_{ass} arasında doğrusal bir ilişki üretmek üzerine tasarlanırlar. Öyle ki NMR verileri grafiksel olarak ele alınabilsin. 1:1 bağlanma

izotermi tanımlayan eşitlikler, onların dik açılı hiperbolleridir. Bunların çözümleri için farklı grafiksel yöntemler vardır [1].

2.1. Benesi-Hildebrand (Hanna-Ashbaugh) İşlemi

Yaygın yaklaşım, genellikle (ve biraz üstünkörü) Benesi-Hildebrand işlemi olarak adlandırılır. Orijinal gerçek Benesi-Hildebrand işlemi, iyodun aromatik hidrokarbonlarla yük transfer kompleksinin spektroskopik ölçümünde kullanılmıştır [14]. Bu metodun temel özelliği, H bileşeninin aşırısı ile çalışarak, kompleksleşmemiş H'nin başlangıç derişimine eşit değerde $[H]=[H]_0$ tutulmasıdır. Bilinen miktarlar (ilk derişimler) ve deneysel gözlemler arasındaki ilişki, bu koşulda türetilebilir.

Mathur ve çalışma grubu [15] ve Hannah ve Ashbaugh [16], Benesi-Hildebrand eşitliğinin NMR versiyonunu birbirlerinden bağımsız türetmişlerdir.

$$1/\Delta\delta = 1/(K_{ass} \Delta\delta_{max}[H]_0) + 1/\Delta\delta_{max} \quad (5)$$

Burada

$$\Delta\delta = (\delta_G - \delta_{göz}) \text{ ve } \Delta\delta_{max} = (\delta_G - \delta_{HG})$$

$1/[H]_0$ 'a karşı $1/\Delta\delta$ grafiği (genelde çift evrik grafik olarak bilinir), $1/K_{ass} \Delta\delta_{maks}$ eğimiyle ve $1/\Delta\delta_{max}$ kaymasıyla doğrusal olmalıdır. Bu ifadenin, 1:1 kompleks oluştuğunda H türlerinin gözlenen G türlerinden aşırı miktarlarda (en az 10 kat) fazla olduğu durumlarda geçerli olduğuna dikkat edilmelidir. Eşitlik 5'in ilave sınırlaması, H'nin yüksek derişiminde ekstrapolasyon yapılmasıdır. K_{ass} 'nın küçük olduğu sistemlerde bu metod $\Delta\delta_{max}$ 'ta büyük hatalara ve sonuç olarak K_{ass} 'nın yanlış değerlerine yol açabilir. Güncel yayınlarda çift evrik grafik terimi, Benesi-Hildebrand yaklaşımı ve Hannah ve Ashbaugh yaklaşımı, bu veri işleme yönteminde birbirinin yerine kullanılmaktadır.

3. Deneysel Hatalar, Güvenilirlik ve Sınırlamalar

K_{ass} 'nın NMR'a bağlı olarak belirlenmesi, genellikle $10-10^4 \text{ M}^{-1}$ aralığındaki bağlanma sabitleri için güvenilirdir. Elbette bu ifade geniş bir genellemedir ve biraz açıklama gerektirir.

Bir K_{ass} ölçümünden elde edilen deneysel veriler, derişimler ve kimyasal kaymalardır (ya da NMR’da gözlenebilen bir diğer özellik). Bu değerin kesin ve hassas olarak ölçülmesi gerekir. Ancak elde edilen verilerin doğruluğunu ne belirler? Anahtar faktör bağlanma izotermindeki $\Delta\delta$ ’da K_{ass} ve $\Delta\delta_{maks}$ ’ın birleşik katkılarını ayırmaktır.

3.1. NMR Gözlemi

Konuğun serbest ve bağlı halleri arasındaki kimyasal kayma farkı, olabildiğince büyük olmalıdır. Bu her zaman daha büyük olanın daha iyi olması durumudur. Konukçu-konuk kompleksleşmesinde gözlenen 1H ’ı için $\Delta\delta_{maks}$, 0.5 ppm ya da daha büyük olabilir. İdeal durum, kompleksteki gözlenen protonun oldukça anizotropik gruba (karbonil ya da aromatik halka) yakın olduğu durumdur. Gözlenen maksimum kayma bu değerin yarısı kadar olabilir ve bazı raporlarda $\Delta\delta_{maks}$ 0.1 ppm’e dayanmaktadır. 1H frekansı 400 MHz olan tipik bir spektrometrede pik genişliği 0.2 Hz olan keskin bir singletin kimyasal kayması ± 0.0005 ppm’lik bir doğrulukla ölçülebilir. Bu nedenle NMR sinyalinin frekansını ölçmek çoğu kez verinin en doğru ölçüm şeklidir.

3.2. Çözelti Derişimleri

Kompleksi oluşturan türlerin derişimi kritik önemdedir ve ilk bakışta görüldüğü kadar basit değildir. Sorun, sadece çözeltilerin hazırlanma ve kullanılmaları sırasında dikkatli olmak değil; bağlanma eğrisini doğru bir şekilde temsil eden bir dizi çözelti bulmaktır. Bu konu üzerinde çok şey yazılmıştır. 1960’larda Weber [17,18], Person [19] ve Deranleau [20,21] bağlanma ölçümleri teorisini anlatan bir dizi makale yayımladılar. Bu ilk makaleler, spektroskopik verilerin grafiksel işlemlerini anlatır, ancak sonuçlar geneldir. Wilcox bu konuları daha çok NMR eğri uyumlandırma bağlamında tartışmıştır [22].

Başlıca bulgular şöyledir;

1. “Bağlanma olasılığı” (p), kompleksin derişiminin, kompleksin erişilebilecek en yüksek derişimine oranı olarak tanımlanır. Bu tanımlama hem güçlü hem de zayıf kompleksler için iyidir. Çünkü titrasyon eğrileri çoğu kez $[G_0]=[HG]$ olduğu noktadan geçer. Bu formülasyon, kompleksin erişilebilecek en yüksek derişiminin her zaman küçük oranlı bileşenin başlangıç derişimine eşit olduğu anlamına gelir. “Doyma fraksiyonu” da kompleksin gerçek derişiminin, kimyasal kayması ölçülen bileşenin

başlangıç derişimine oranı olarak tanımlanır. Bu terim güçlü bağlanma durumunu ifade etme açısından daha az yararlıdır, çünkü bağlanma eğrisinin başlangıcında kompleksin derişimi eklenen konukçunun derişimi ile sınırlıdır.

2. K_{ass} ölçümlerinde en az hata $p=0.5$ 'te meydana gelir ve "en iyi" veriler $0.2 \leq p \leq 0.8$ aralığında elde edilir. Başka bir deyişle, K_{ass} 'nın en doğru değerleri, kompleksin denge derişimi, en seyreltik bileşenin serbest derişimiyle yaklaşık olarak aynı olduğunda elde edilir.
3. Sistemde maksimum bilgi, p 'nin olası en geniş aralığında çalışarak elde edilir. Modelin eşitliği ile eşitliğe uyan veriler arasındaki uygunluğu göstermek (yani, bağlanma modelinin doğru stokiyometriye dayandığını kanıtlamak) için doygunluk eğrisinin en az %75'ine ulaşmak gereklidir. Başka bir deyişle herhangi bir bağlanma verisi, p 'nin uygun bir dar aralığı boyunca düz bir çizgiye uyacaktır. Deneysel veriler sınırlıysa, yüksek dereceli komplekslerin oluşmadığı kanıtlanmalıdır.
4. Bir kompleksin stokiyometrisini belirlemek için $p=1$ 'de (yani belirlenmeyen konukçu ya da konuk derişimlerinde) ölçüm almak gereklidir. Bu koşullar doğru bir K_{ass} ölçümü için gereken koşullara zıt olduğundan, bu işe iki deney ayrılmalıdır.
5. Grafikselleştirme işleminde Scatchard metodu, Benesi-Hildebrand ya da Scott yöntemlerine tercih edilir.
6. Weber ayrıca kompleksleşme sabiti K_{ass} 'nın ölçülmesinde optimum başarı, (kompleksin stokiyometrisine bağlı olarak), konukçu ve konuk karışımının yaklaşık eşit mol oranıyla başlamak ve deneyin gözlenebilme limitine ulaşınca kadar bu çözeltiyi birbiri ardından seyreltmek olduğunu önermiştir. Bu metod, verilerin bilgisayarlı analizine gayet uygun gözükmektedir. Ama yaygın kullanılmamaktadır.

Kimyasal kayma ölçülürken, referans materyali de dikkate alınmalıdır [23]. Normalde araştırmacılar trimetilsilil türevi ya da bir çözücü pikini referans alır. Referans materyalin kendisinin konukçu molekülüyle kompleksleşmediği kanıtlanmalıdır. Siklodekstrinlerle yapılan çalışmalarda tetrametil amonyum iyonu ve metanol memnun edici iç referanslardır [24].

Dikkate alınması gereken diğer deneysel özellikler, titrasyon sırasında (asit-baz kimyası ile bağlanma olayının birbirine karıştırma olasılığı) pH ve iyonik şiddetin kontrol edilmesidir. Çok bileşenli dengeye uyan (dört parametre uyar) verilerin sonuçlarına biraz dikkatle bakılmalıdır.

3.3. Özet

K_{ass} , ölçülebilmesine olanaklı eğri veren ve kayma sınırına yaklaşan titrasyon verileriyle iyi tanımlanır. Küçük K_{ass} 'ları ($<10 M^{-1}$) ölçmede sorun, $\Delta\delta_{maks}$ 'a ekstrapolasyon sırasında ilgili büyük hatanın oluşmasıdır. Büyük K_{ass} 'ları ($>10^5 M^{-1}$) ölçmedeki sorun ise, gerçek reaktif derişimlerinde, $[H]_0/[G]_0$ 'a karşı $\Delta\delta$ grafiğinin eğriliğinin olmamasıdır. Konuk herhangi elverişli bir konukçu ile etkili bir biçimde kompleksleşir. Böylece grafik, $[H]_0$ 'ın artmasıyla $\Delta\delta_{max}$ 1:1 kompleks stokiometrisine ulaşıncaya kadar doğrusal olarak yükselir. Hesaplanan kararlılık sabiti, verilerdeki deneysel saçılmadan dolayı sonsuzdan sapar. Bu NMR metodunda temel bir sınırlamadır. $[H]_0/[G]_0$ karşı $\Delta\delta$ grafiğinde eğrilik gözlemek için, çözeltiler birkaç kat (mmol aralığına) seyreltilmelidir. Bununla beraber NMR, doğası gereği duyarlı olmayan bir tekniktir ve deneyler rutin olarak mmol aralığında yapılır.

4. Çok Küçük ve Çok Büyük K_{ass} 'ların Ölçülmesi

4.1. Çok Zayıf Komplekslerin K_{ass} 'sı ($K_{ass}<10 M^{-1}$)

Zayıf kompleksleşme ($K_{ass}<10 M^{-1}$) modern konukçu-konuk kimyasında çok rastlanılan bir durum olmadığı için, bu altdölümde yalnızca kısa bir özet yapılacaktır. Küçük moleküllerin birleşmeleri üzerine dikkatin arttığı 1970'lerde, K_{ass} ölçümlerinin güvenilirliği ve hatalarını tartışan birçok makale yayımlandı. K_{ass} değerleri çoğu kez $1-2 M^{-1}$ ya da daha azdır. Bu durumlarda çözünme [25,26], kimyasal kayma referansı [27,28], ideallikten sapma [29,30] ve spesifik olmayan perdeleme [31-33] gibi faktörler, ya basit veri işlemlerinin varsayımlarını reddeder ya da önemli perturbe edici etkileri vardır ve ihmal edilemez. Değıştirilmiş bazı grafiksel [34] ve eğri uyumlandırma [35] yöntemleri de önerilmiştir.

4.2. Güçlü Komplekslerin K_{ass} 'sı ($K_{ass}>10^5 M^{-1}$)

Yarışma metotları, NMR tekniklerinin çalışma aralığını $K_{ass}=10^5 M^{-1}$ 'in üzerine çekme aracı olarak birkaç kez kullanılmıştır. Deney, iki konukçu molekülünün bir konuğa bağlanmak üzere yarışacakları; ya da iki konuk molekülünün bir konukçuya bağlanmak için yarışacağı

biçimde düzenlenmiştir. Bağlanma sabitlerinden biri bilinmektedir ve deney, bilinen ve bilinmeyen bağlanma sabitlerinin oranını verir.

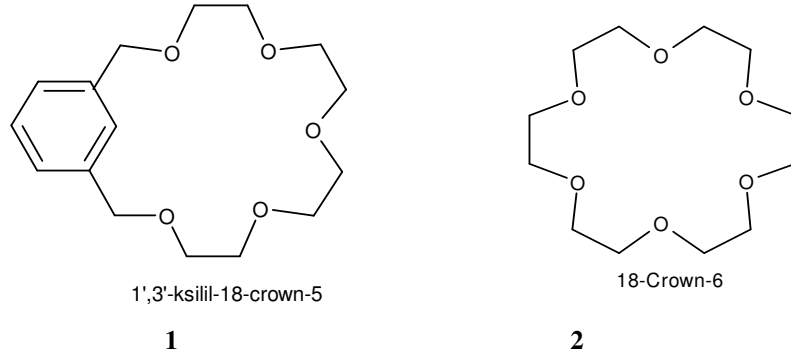
Reinhoudt ve araştırma grubu alkilamonyum tuzlarının crown eterlere bağlanması [36,37] üzerinde çalıştılar. *t*-Butilamonyum perkloratın 1,3-ksilil-18-taç-5 **1**'e 1:1 bağlanma sabiti, *t*-Bu sinyalinin yukarı alana kaymasının bir fonksiyonu olarak gözlenmesi ve eğri uyumlama yöntemi ile belirlenir [37]. Bununla beraber 18-taç-6 **2**'yi kullanarak yapılan benzer deneylerde, *t*-Bu sinyali sadece az bir miktarda aşağı alana kaydı ve doygunluk bağlanması, **2**'nin *t*-BuNH₃ClO₄'a düşük mol oranlarında meydana geldi (güçlü bağlanmayı gösterir). K_{ass} , verilerden güvenilir bir şekilde belirlenemedi. Yarışma deneyinde *t*-BuNH₃ClO₄ ile kompleksleşmek üzere **1** (H1), **2** (H2) ile yarıştırdı. Serbest *t*-BuNH₃ClO₄ derişimini ihmal edilebilir seviyede tutmak için, toplam taç eter derişimi her zaman tuz derişiminden yüksek tutulur. Yarışan iki konukçu durumunda aşağıdaki bağıntılar yazılabilir:

$$\delta_{göz} = X_{H1.G} \delta_{H1.G} + X_{H2.G} \delta_{H2.G} \quad (6)$$

$$X_{H2.G} = (\delta_{göz} - \delta_{H1.G}) / (\delta_{H2.G} - \delta_{H1.G}) \text{ ve} \quad (7)$$

$$K_{bağ1} = K_2/K_1 = [H2.G] [H1] / [H2] [H1.G] \quad (8)$$

Zayıf taç eter kompleksinin sınırlanan kimyasal kayması ($\delta_{H1.G}$), titrasyon deneyinden bulunur. Güçlü taç eter kompleksinin sınırlanan kimyasal kayması ($\delta_{H1.G}$), doğrudan ölçülebilir. Böylece *t*-Bu **1** ve *t*-Bu **2** komplekslerinin derişimleri, gözlenen kimyasal kayma değerlerinden hesaplanır. Bu derişimler kullanılarak serbest taç eter derişimleri ve eşitlik 8 ile tanımlanan bağıl bağlanma sabiti hesaplanabilir. Bağıl bağlanma sabiti ve *t*BuNH₃⁺ ile **1**'in bilinen bağlanma sabitinden, **2** *t*BuNH₃⁺ kompleksinin bağlanma sabiti bulunabilir. Bu deney için önceden gerekli olan şey, referans kompleksinin K_{ass} 'sı ve her iki kompleksin $\Delta\delta_{max}$ 'ının bilinmesi ve $\Delta\delta_{max}$ değerlerinin birbirinden belirgin bir biçimde farklı olmasıdır.



5. Sonuç

NMR metodunun diğer tekniklere göre temel avantajı, sonuçların az miktardaki safsızlıklardan pek etkilenmemesi ve değerli yapısal bilgilerin elde edilebilmesidir.

NMR titrasyon metotları, en çok 10^{-10} - 10^{-4} M⁻¹ aralığındaki bağlanma sabitlerini çalışmada yararlıdır. Sonuçların güvenilirliğini artırmak için deney, bağlanma eğrisinin geniş bir aralığını kapsayacak şekilde düzenlenmelidir. K_{ass} 1-5 M⁻¹'den az ise, $\Delta\delta_{max}$ doğru bir şekilde ölçülemez. $K_{ass} \approx 10^5$ M⁻¹'in üzerindeyse, $[H]_0/[G]_0$ 'a karşı $\Delta\delta$ grafikleri, uygun ölçme süreleri içinde belirleme yapmak için çok dik olur. Daha duyarlı NMR problemleri, ölçülebilen bağlanma sabitleri aralığını genişletir.

Bilgisayarlar, ucuz ve güçlü olmadan önce grafiksel (doğrusallaştırma) yöntemler geliştirildi. Basit olduklarından ve başka bir kaynağa gerek olmadan yürütülebildiklerinden, grafiksel yöntemler kullanılmaya devam etmektedir. Eğri uyumlandırma yaklaşımları yaygın olarak kullanılmaktadır. Eğri uyumlandırma işlemlerinin açık avantajları, deneysel koşulların daha az zorlayıcı olduğu ve daha karmaşık bağlanma modellerine (1:1 olmayan stokiometrilere) uygun hale getirilebildiği durumlarıdır.

Difüzyon deneyleri, değişik büyüklükteki moleküller arasındaki K_{ass} 'ı ölçmek için çok çekici bir yöntemdir. Bu teknik oldukça rutin olabilir ve bu yüzden gelecekte daha çok kullanılabilir.

Kaynaklar

- [1]. Connors, K.A., 1987. *Binding Constants*, Wiley: New York.
- [2]. Wallimann, P., Marti, T., Furer, A., Diederich, F., 1997. *Chem. Rev.*, 97, 1567-1608.
- [3]. Schneider, H.-J., Angew. 1991. *Chem., Int. Ed. Engl.*, 30, 1417- 1436.
- [4]. Connors, K.A., 1997. *Chem. Rev.*, 97, 1325-1357.
- [5]. Schneider, H.-J., Hacket, F., Rudiger, V., Ikeda, H., 1998. *Chem. Rev.*, 98, 1755-1785.
- [6]. Böhmer, V., 1995. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 34, 713-745.
- [7]. Collet, A., 1987. *Tetrahedron*, 43, 5725-5759.
- [8]. Foster, R., Fyfe, C.A., 1969. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 4, 1-89.
- [9]. Wang, T., Bradshaw, J. S., Izatt, R. M. J. 1994. *Heterocycl. Chem.*, 31, 1097-1114.
- [10]. Tsukube, H., Furuta, H., Odani, A., Takeda, Y., Kudo, Y., Inoue, Y., Liu, Y., Sakamoto, H., Kimura, K., 1996. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry. Physical Methods in Supramolecular Chemistry*, Davies, J.E.D., Ripmeester, J.A., Eds.; Elsevier: Oxford, 8, 425-483.
- [11]. Job, P., 1928. *Ann. Chim.*, 9, 113-203.
- [12]. Sahai, R., Loper, G.L., Lin, S.H., Eyring, H., 1974. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 71, 1499-1503.
- [13]. Gil, V.M.S., Oliveira, N.C., 1990. *J. Chem. Ed.*, 473-478.
- [14]. Benesi, H.A., Hildebrand, J.H., 1949. *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 2703-2707.
- [15]. Mathur, R., Becker, E.D., Bradley, R.B., Li, N.C., 1963. *J. Phys. Chem.*, 67, 2190.
- [16]. Hanna, M.W., Ashbaugh, A.L., 1964. *J. Phys. Chem.*, 68, 811-816.
- [17]. Weber, G., Pullman, B., Weissbluth, M., 1965. Eds., *Academic: New York*, 369-397.
- [18]. Weber, G., Anderson, S.R., 1965. *Biochemistry*, 4, 1942-1947.
- [19]. Person, W.B., 1965. *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 167-170.
- [20]. Deranleau, D.A., 1969. *J. Am. Chem. Soc.*, 91, 4044-4049.
- [21]. Deranleau, D.A., 1969. *J. Am. Chem. Soc.*, 91, 4050-4054.
- [22]. Wilcox, C.S., 1991. *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry*; Schneider, H.-J.; Dürr, H., Eds., VCH: Weinheim, 123-143.
- [23]. Li, Z.-Z., Guo, Q.-X., Ren, T., Zhu, X.-Q., Liu, Y.-C., 1993. *J. Inclusion Phenom.*, 15, 37-42.
- [24]. Matsui, Y., Tokunaga, S., 1996. *Bull. Chem. Soc.*, 69, 2477-2480.
- [25]. Kuntz, I.D., Johnston, M.D., 1967. *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 6008-6017.
- [26]. Martire, D.E., 1974. *Anal. Chem.*, 46, 1712-1719.
- [27]. Homer, J., Hartland, E.J., Jackson, C.J. 1970. *J. Chem. Soc. (A)*, 931-935.
- [28]. Homer, J., 1979. *J. Magn. Reson.*, 34, 31-35.
- [29]. Hanna, M.W., Rose, D.G., 1972. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 2601-2605.
- [30]. Slejko, F.L., Drago, R.S., 1972. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 6546-6548.

- [31]. Stamm, H., Lamberty, W., Stafe, J., 1980. *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 1529-1531.
- [32]. Lamberty, W., Stamm, H., Stafe, J., 1983. *J. Phys. Chem.*, 87, 1589-1596.
- [33]. Jackel, H., Stamm, H., 1990. *J. Phys. Chem.*, 94, 3495-3498.
- [34]. Seal, B.K., Mukherjee, A.K., Mukherjee, D.C., Farrell, P.G., Westwood, J.V., 1983. *J. Magn. Reson.*, 51, 318-322.
- [35]. Erb, H.-P., Bluhm, T., 1984. *J. Phys. Chem.*, 88, 4158-4162.
- [36]. deJong, F., Reinhoudt, D.N., Smit, C., 1976. *J. Tetrahedron Lett.*, 1375-1378.
- [37]. deBoer, J.A.A., Reinhoudt, D.N., 1985. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 5347-5351.