

**2-AMİNO-3-{{2-NİTRO-1-(3-NİTROFENİL)PROPİL} SULFANİL} PROPİYONİK ASİTİN ASİTLİK SABİTİNİN POTANSİYOMETRİK METOTLA TAYİNİ\***  
**The Determination of Acidity Constant of 2-Amino-3-{{2-Nitro-1-(3-Nitrophenyl) Propyl} Sulfanyl} Propionic Acid Using Potentiometric Method**

**Salih SARIOĞLAN<sup>1</sup>, İbrahim NARİN<sup>2</sup>, Hayati SARI<sup>3</sup>,  
Beril ANILANMERT<sup>4</sup>, Erdoğan BERÇİN<sup>5</sup>**

**Özet :** Çalışmada, literatürde asitlik sabitlerinin belirlenmesiyle ilgili hiçbir çalışmaya rastlanmamış olan 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanyl}propiyonik asit'in asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Asitlik sabitlerinin potansiyometrik yöntemle belirlenmesi için 0,11 M (NaClO<sub>4</sub>) iyonik şiddet, 25±1 °C'de ve çözeltiden azot geçirilerek gerçekleştirilmiş olan deneysel çalışmalarda titrant olarak 0,1000 M Titrisol® NaOH kullanılmıştır. Hesaplamalarda IRVING ve ROSSOTTI yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalarda 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanyl}propiyonik asit'in asitlik sabitlerinin bulunabilmesi için gerekli çözücü ortamı ve konsantrasyonların belirlenmesi amacıyla çözücü sistemi ve madde konsantrasyonlarına ilişkin taramalar gerçekleştirilmiştir. 2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanyl}propiyonik asitin asitlik sabitleri pKa<sub>1</sub>=2,47±0,26, pKa<sub>2</sub>=7,48±0,09 ve pKa<sub>3</sub>=8,86±0,36 olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçları, söz konusu maddenin vücuda verildiğinde farmakokinetik davranışlarının tahmin edilmesi, ayrıca miktar tayinleri yapılırken çeşitli pH'larda ortaya çıkan türler hakkındaki bilginin kullanılması açısından önem taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Potansiyometrik titrasyon, 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil) propil} sulfanyl} propiyonik asit, asitlik sabiti

**Summary:** In this study, the acidity constants 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrophenyl)propyl} sulfanyl}propionic acid, on which no study exists in literature, were determined.

To determine the acidity constants using potentiometric method; 0.1000 M Titrisol® NaOH was used in the experimental studies which were performed at 0.11 M (NaClO<sub>4</sub>) ionic strength and 25±1 °C temperature, under nitrogen. IRVING and ROSSOTTI method was used during calculations.

In order to optimize the solvent system and the concentrations of the compounds to determine the acidity constants, the solvent systems and the concentrations of the compound was scanned.

Three constants were determined for 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrophenyl)propyl} sulfanyl} propionic acid, which were pKa<sub>1</sub>=2.47±0.26, pKa<sub>2</sub>=7.48±0.09 and pKa<sub>3</sub>=8.86±0.36, in order.

The results of the study carry importance from the point of the estimation of their pharmacokinetic behavior and performing quantification studies using the information about the species that appear in various pH values

**Key words:** Potentiometric titration, 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrophenyl)propyl} sulfanyl} propionic acid, acidity constant

<sup>1</sup> Bilim Uz,Erciyes Ün. Analitik Kimya AD, Kayseri

<sup>2</sup>Doç.Dr.Erc.Ün. Eczacılık Fak. Analitik Kimya AD, Kayseri

<sup>3</sup>Doç.Dr.GO Paşa Ün.Fen-Edeb.Fak.Analitik Kim. AD, Tokat

<sup>4</sup>Yrd.Dç.Dr.Erc.Ün.Eczacılık Fak.Analitik Kim. AD, Kayseri

<sup>5</sup>Prof.Dr.Emekli Öğretim Üyesi, Antalya

Geliş Tarihi : 07.11.2008 Kabul Tarihi : 15. 12. 2008

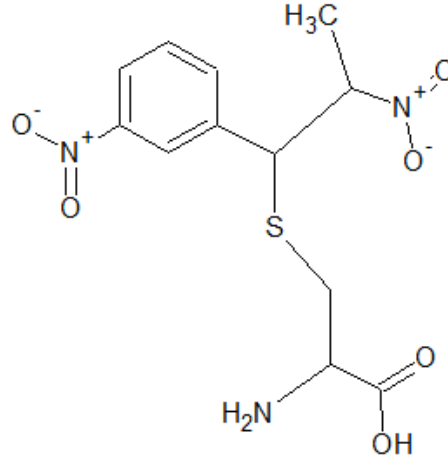
2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanyl} propiyonik asit antimikrobiyal etkisi olduğu bilinen, ancak henüz ilaç yapımında kullanılmayan yeni sentezlenen bir maddedir. Maddenin molekül yapısı Şekil 1'de verilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında maddenin asitlik sabitinin belirlenmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

\* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY.07.138 nolu proje ile desteklenmiştir.

Asitlik sabitlerinin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntem (1), potansiyometrik yöntem (2-3) ve kapiller zone elektroforez (4) gibi yöntemler sıkça kullanılmaktadır. Potansiyometrik yöntem, UV-görünür bölge spektrofotometrisi'ne göre daha kısa zamanda sonuç vermektedir. Ayrıca, spektrofotometrik yöntemle tüm asitlik sabitlerinin belirlenmesi mümkün olmayabilmektedir. Bu yüzden potansiyometrik yöntem günümüzde asitlik sabitlerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan ve en iyi sonuç veren yöntemdir (5). Bununla birlikte ligandın suda çözünmemesi halinde ortama belli oranda dioksan, dimetil formamid, etanol, metanol gibi çözücülerin ilave edilmesi gerekir. Ayrıca potansiyometrik titrasyon

sisteminde pH 2-11 aralığının dışında kararsız olması nedeniyle UV-görünür bölge spektrofotometrisi'nde daha iyi sonuçlar alınabilmektedir. Bu yüzden bazı araştırmacılar, çalışılan maddenin spektroskopik özelliklerine göre farklı metotları kullanarak elde ettikleri asitlik sabitlerini karşılaştırmışlardır (6-7).

Yapılan çalışmada, yeni sentezlenen 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanil} propiyonik asitin asitlik sabitlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Asitlik sabitlerinin belirlenmesinde potansiyometrik metot kullanılmıştır.



Şekil 1. 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil) propil}sulfanil}propiyonik asitin molekül yapısı

## GEREÇ VE YÖNTEM

Potansiyometrik yöntemle asitlik sabitlerinin belirlenmesinde kombine cam elektrotlu sıcaklık kontrollü WTW 340 I ve WTW 720 model pH metre kullanılmıştır. Elektrot olarak WTW SenTix 41 pH elektrodu kullanılmıştır. pH metrelerin kalibrasyonu cihazların üretici firması tarafından verilen sertifikalı pH 4,01 (Model: STP4, Order No: 108705), 7,00 (Model: STP8, Order No: 108706) ve 10,01 (Model: STP10, Order No: 108722) tamponları

kullanılarak yapılmıştır. Titrimetrik analizde Isolab marka Digitrat model 50,00 mL kapasiteli 0,01 mL duyarlıklı çözelti ile temas eden kısmı teflondan yapılmış dijital büret kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan deiyonize su Millipore marka Elix5® model saf su cihazından temin edilmiştir. Cihazdan elde edilen saf su 14 MΩcm<sup>-1</sup> direncindedir. Elde edilen su CO<sub>2</sub> adsorplanmasını engellemek için ağzı kapalı kaplarda muhafaza edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

Sentez prosedürü: 18,65 g (0,125 mol) 3-dimetilamino benzaldehit üzerine 9,0 mL (0,125 mol) nitroetan ilave edilerek 50,0 mL glasiyel asetik asit içinde çözüldü ve çözeltiye 5,00 g amonyum asetat ilave edildikten sonra 4 saat süreyle geri çeviren soğutucu altında ısıtıldıktan sonra yarım saat soğumaya bırakıldı. Çözelti buzlu deiyonize su içine boşaltıldı ve çöken madde süzülüp etanolden tekrar kristallendirildi. Reaksiyon sonunda 19,60 g saf madde elde edildi.

Etanolde çözülen 0,01 mol  $\beta$ -nitrostiren türevi üzerine, suda çözülen 0,01 mol L-sistein ilave edildi. Oda sıcaklığında 1-2 saat magnetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Çöken madde süzülerek az miktarda asetonla yıkandı (8).

2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit suda çözünmediğinden, potansiyometrik olarak titre edilecek çözelti metil alkolde çözümlenerek hazırlandı. Çözelti özellikle asidik ve bazik ortamda zamana bağlı olarak bozduğundan hazırlandıktan sonra bir saat içinde kullanıldı ve titrasyon 15 dk içinde tamamlandı.

2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit'in asitlik sabitini belirlemek için 100 mL'lik bir behere 25,0 mL,  $2,00 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanil} propiyonik asit çözeltisi, üzerine 5,0 mL  $1,00 \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup> HClO<sub>4</sub> ve iyonik şiddeti ayarlamak için 5,0 mL  $1,00$  mol L<sup>-1</sup> NaClO<sub>4</sub> konulmuştur. Çözeltinin son hacmi, deiyonize su ile 50,0 mL'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanmış çözelti, içerisinde azot gazı geçirilerek  $25 \pm 1$  °C'de  $0,1000$  mol L<sup>-1</sup> NaOH (titrisol) ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Aynı işlem, asit olarak sadece HClO<sub>4</sub> içeren kör çözeltiyle tekrarlanmıştır. Kör çözelti, içerisinde azot gazı geçirilerek  $25 \pm 1$  °C'de  $0,1000$  mol L<sup>-1</sup> NaOH (titrisol) ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Protonlanma sabitlerinin bulunması için Irving ve Rossotti yöntemi kullanılmıştır (9).

## BULGULAR

2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit suda çözünmediği için uygun çözücü tarama çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla deiyonize su, etil alkol, dioksan, metil alkol'ün çeşitli oranları ile ön denemeler yapılmıştır. Burada en uygun çözücünün metil alkol olduğu belirlenmiştir. Metil alkol yönünden %40-%60 (v/v) arasında değişen oranlarda çözeltiler hazırlanarak titrasyonlar gerçekleştirilmiştir. Uygun tekrarlanabilir sonuçlar, çözücü ortamı olarak %50 metil alkol/su karışımı kullanılarak elde edilmiştir.

Yöntemdeki en önemli parametrelerden birisi de, potansiyometrik titrasyonda kullanılan 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit'in konsantrasyonudur. 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit'in konsantrasyonunu belirlemek amacıyla son çözeltideki konsantrasyonu  $1,25 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $2,50 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $3,00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $8,00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $1,00 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> ve  $5,00 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> olacak şekilde çözeltilerle potansiyometrik titrasyonlar yapılmıştır. Uygun tekrarlanabilir deneysel sonuçlar  $1,00 \times 10^{-3}$  M konsantrasyondaki çalışmalarda elde edilmiştir. Bu verilerden Irving ve Rossotti metodu ile hesaplanan

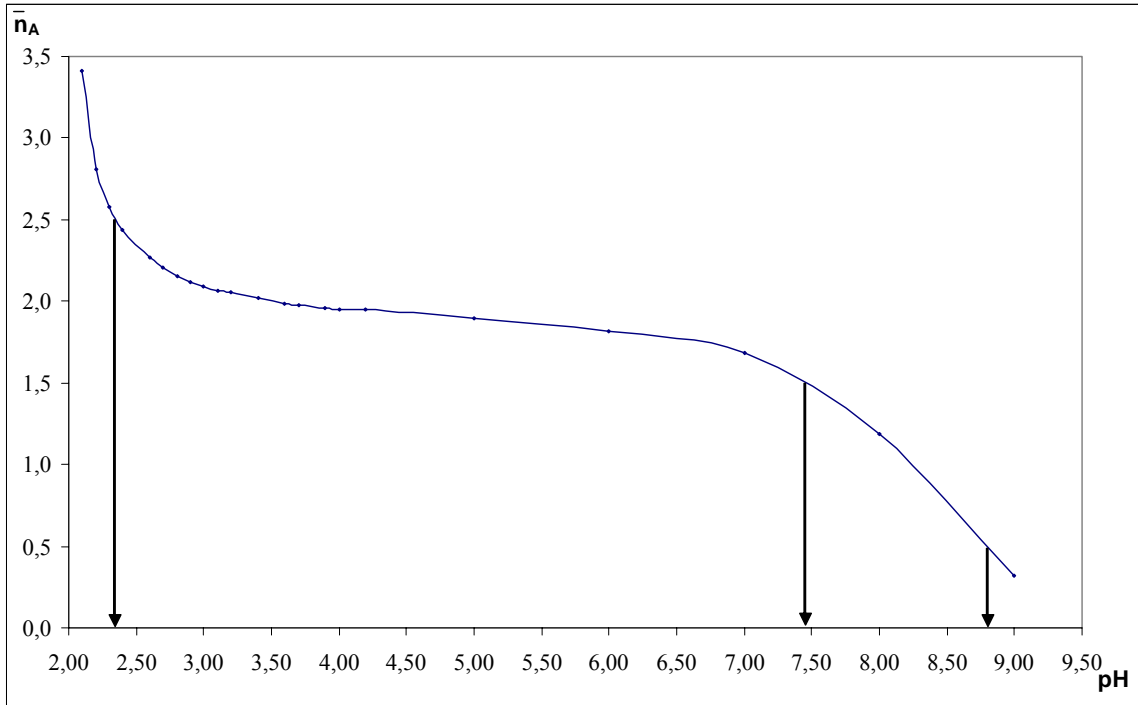
$\bar{n}_A$  değerlerinin pH'ya bağlı grafiği Şekil 2'de görülmektedir. Bu şekilde 3 farklı asitlik sabiti hesaplanmıştır. Asitlik sabitleri 5 tekrar için  $pK_{a1} = 2,47 \pm 0,26$ ,  $pK_{a2} = 7,48 \pm 0,09$  ve  $pK_{a3} = 8,86 \pm 0,36$  olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre hesaplanarak çizilmiş bağıllı bolluk grafiği Şekil 3'te verilmiştir. 2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asitin için birinci iyonlaşma karboksilik asit grubundan, ikinci iyonlaşma perklorik asit ilavesiyle amin grubuna bağlanan protonun ayrılmasıyla oluşmaktadır. Üçüncü iyonlaşma ise indüktif ve mezomerik etki nedeniyle -NO<sub>2</sub> grubunun bağlı olduğu -CH grubundan olmaktadır (Şekil 4).

2-amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit, henüz klinik çalışmaları başlamamış bir ilaç adayı olduğundan önerilen bir uygulama şekli bulunmamaktadır. Vücuda böyle bir molekölün oral yoldan verilmesi durumunda, noniyonize formunun oranının, mide pH'sı 1,0'den 3,0'e çıktıķça %5 ten %84'e kadar artması, barsak düşünöldüğünde ise (duodenum pH'sı 6,0, jejunum – ileum pH'sı 6,5-7,5, kolon pH'sı 7,00 (10)) duodenumda %97, jejunum-ileum bölgesinde %90-%48, kolonda ise %74 oranlarında noniyonize formda bulunması beklenebilir. Dolayısıyla oral verildiğinde biyoyararlanımın yüksek olması muhtemeldir.

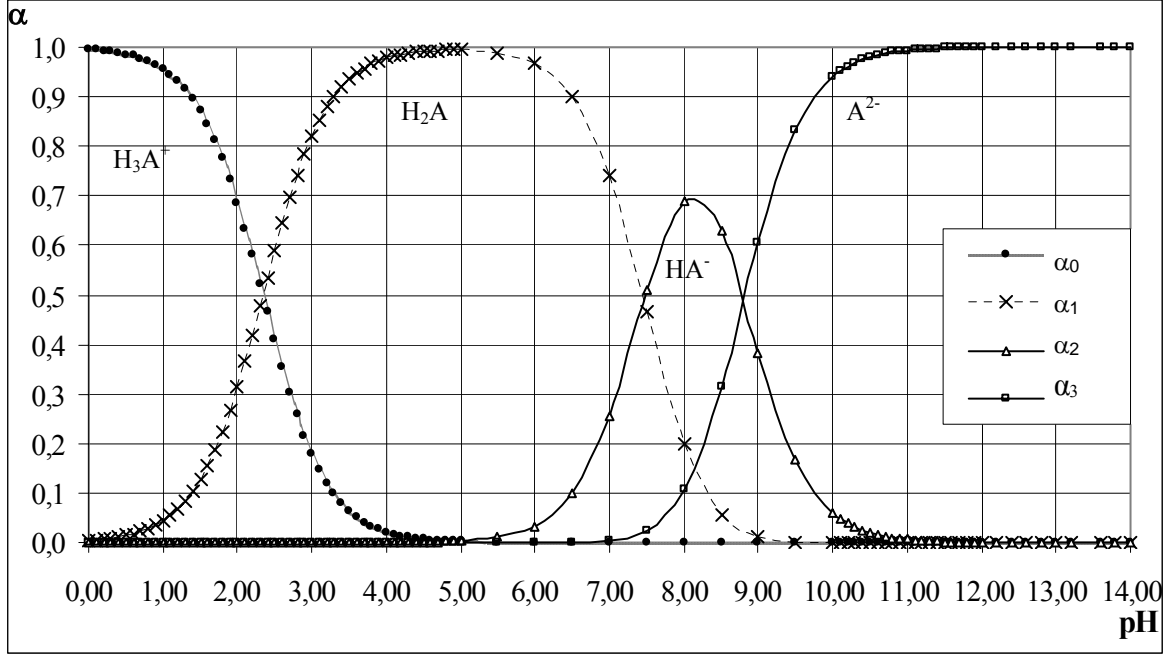
Bağıl bolluk grafiğinden yola çıkılarak, 2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil} sulfanil} propiyonik asitin kan pH'sında %55 oranında

noniyonize formda bulunacağı söylenebilir. Noniyonize form hücre membranlardan geçebildiği göz önüne alındığında önemli bir orandır. Ancak bu bilgi yetersiz olup, kan proteinlerine bağlanma oranına ilişkin veriler de dağılıma ilişkin yorumun yapılmasında gereklidir.

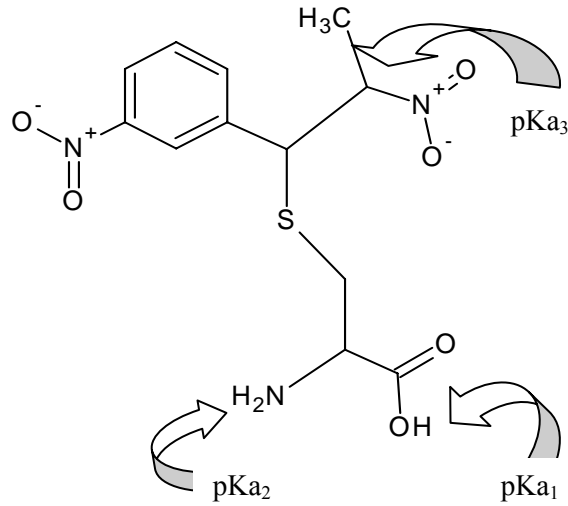
Asitlik sabitlerinden yola çıkılarak oluşturulmuş pH tür dağılımları, farmakokinetik yorumlarda olduğu kadar bu maddeler için özellikle kromatografik ve spektroskopik miktar tayin yöntemi ve ayırma yöntemleri geliştirilirken de önemli olmaktadır (11). Hangi pH'da, maddenin ne kadarının hangi formda bulunduğunun bilinmesi, miktar tayini yapılırken ya da analitik ayırma işlemleri gerçekleştirilirken doğru pH'nın, doğru ayırma tekniğinin ve duran fazın seçilmesinde kuşkusuz faydalı olmaktadır.



şekil 2. 2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil} propiyonik asit'in titrasyonlarından birine ait  $\bar{n}_A = f(\text{pH})$  eğrisi (I=0,11; t=25±1°C)



Şekil 3. 2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil}propiyonik asit'in bağıl bolluk grafiği



Şekil 4. 2-Amino-3-{{2-nitro-1-(3-nitrofenil)propil}sulfanil}propiyonik asit'in moleküler yapısı ve molekülün protonlanmış türünden iyonlaşan gruplar

## KAYNAKLAR

1. Niazi A, Zolgharnein J, Davoodabadi MR. Spectrophotometric determination of acidity constant of some indicators in various micellar media solutions by rank annihilation factor analysis. *Spectrochim Acta A* 2008, 70, (2): 343-349.
2. Altınok E. 2,2'-Bi(3-hidroksi-1,4-naftakinon) (BHN), 5,6,7-trihidroksiflavon (Baicalein), 1,2,4,5-benzotetrakarboksilikdianhidrit (PMDA) ligandlarının asitlik sabitleri Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat 2006, ss 2.
3. Garrido G, Ràfols C, Bosch E. Acidity constants in methanol/water mixtures of polycarboxylic acids used in drug salt preparations: Potentiometric determination of aqueous pK<sub>a</sub> values of quetiapine formulated as hemifumarate. *Eur J Pharm Sci* 2006, 28, (1-2):118-127.
4. Andrasi M, Buglyo P, Zekany L, Gaspar A, A comparative study of capillary zone electrophoresis and pH-potentiometry for determination of dissociation constants. *J Pharmaceut Biomed* 2007, 44, (5):1040-1047.
5. Chylewska A, Jacewicz D, Zarzeczanska D, Chmurzynski L, Determination of dissociation constants for coordination compounds of Cr(III) and Co(III) using potentiometric and spectrophotometric methods, *J Chem Thermodyn* 2008, (40): 1290-1294.
6. Foulon C, Duhal N, Lacroix-Callens B, Vaccher C, Bonte J P, Goossens J F, Determination of pK<sub>a</sub> values of benzoxa-, benzothia- and benzoselena-zolinone derivatives by capillary electrophoresis: Comparison with potentiometric titration and spectrometric data. *Eur J Pharm Sci* 2007, 31 (3-4): 165-171.
7. Aktas AH, Sanli N, Pekcan G, Spectrometric determination of pK(a) values for some phenolic compounds in acetonitrile-water mixture. *Acta Chim Slov* 2006, 53 (2): 214-218.
8. Gülmez Ç, Antimikrobiyal Etkili S-(1-Fenil-2-Metil-2-Nitroetil)-L-Sistein Türevlerinin Asitlik Sabitlerinin Deneysel Yöntemlerle Belirlenmesi ve Teorik Değerler ile Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2006, ss 34-37.
9. Anılanmert B, Ozdemir FA, Erdinc N, Pekin M, Potentiometric determination of the dissociation constants of epirubicin HCl and irinotecan HCl. *Mendeleev Commun* 2006, 16 (2): 97-98.
10. Berggren S, Drug Transport and Metabolism in Rat and Human Intestine, Doctoral Thesis, Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy, 41, Uppsala University, Uppsala 2006, pp 11-19.
11. Meras I D, Espinosa-Mansilla A, Rodríguez DA, Complexation study of cinalukast and montelukast with cyclodextrines. *Journal Pharmaceut Biomed* 2007, (43):1025-1032.