

**Gadolonyum İçerikli Polimer Yapı Sentezi ve
Spin-Örgü Durulma Sürelerinin Olası Kontrast
Ajan Kullanımına Yönelik İncelenmesi**

Özgür ALVER
Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Anabilim Dalı
Ağustos – 2005

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özgür ALVER' in “ Gadolonyum İçerikli Polimer Yapı Sentezi ve Spin-Örgü Durulma Sürelerinin Olası Kontrast Ajan Kullanımına Yönelik İncelenmesi ” başlıklı Fizik Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi .../.../2005 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Mustafa ŞENYEL
Üye	: Prof. Dr. Kudret ÖZDAŞ
Üye	: Doç. Dr. Rıdvan SAY

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GADOLONYUM İÇERİKLİ POLİMER YAPI SENTEZİ VE SPİN-ÖRGÜ DURULMA SÜRELERİNİN OLASI KONTRAST AJAN KULLANIMINA YÖNELİK İNCELENMESİ

ÖZGÜR ALVER

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ŞENYEL
2005, 41 sayfa

Bu çalışmada, biyo-uyumlu gadolonyum içerikli polimer bir yapı sentezlenmiş olup MRI (Nükleer Manyetik Görüntüleme) sistemlerinde kontrast ajanı olarak kullanılabilirliğini araştırmak için rölaksivite süreleri NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektrometresi yardımıyla belirlenmiştir. FT-IR (Fourier Transform Infrared) spektrometresi ile (4000-400) cm^{-1} bölgesinde Gd(III) iyonlarının olası koordinasyonları incelenmiştir. Gd(III) iyonlarının döteryum oksit (D_2O) çözeltisindeki miktarları ICP-OES (İndüktif Eşlenmiş Plazma Optiksel Emisyon Spektrometresi) yardımıyla tayin edilmiştir. Yapıya ait molekül ağırlığı MALDI-TOF/MS (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) kullanılarak incelenmiştir. Polimerin toksik özellikleri Swiss Albino türü (25-36)gr erkek ve dişi fareler üzerinde Krebs-Henseleit çözeltisi içerisinde maddenin intraperitoneal yolla enjekte edilmesi suretiyle araştırılmıştır. Ayrıca deneysel bulgular bu çalışma içerisinde sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Nükleer Manyetik Rezonans, Rölaksivite, İnfrared Spektroskopisi, İndüktif Eşlenmiş Plazma Optiksel Emisyon Spektroskopisi, Toksikite

ABSTRACT**Master of Science Thesis****SYNTHESIS OF A NEW GADOLINIUM CONTAINING POLYMER AND
INVESTIGATION OF SPIN-LATTICE RELAXATION TIME FOR ITS
POTENTIAL USE AS A CONTRAST AGENT****ÖZGÜR ALVER****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Physics Program****Supervisor: Prof. Dr. Mustafa ŞENYEL
2005, 41 pages**

In this thesis, a gadolinium based bio-compatible polymer has been synthesized and its relaxivities has been calculated to search its potential use as a nuclear magnetic resonance imaging (MRI) contrast agent by using FT-NMR spectrometer. Moreover, infrared spectra of the synthesized polymer is recorded with FT-IR spectrometer in the spectroscopic range of the (4000-400) cm^{-1} to search for possible coordination of Gd(III) ion. For the determination of Gd(III) ions concentration of the polymer in deuterium oxide (D_2O) solution, ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer) is employed. MALDI-TOF/MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Spectrometer) is used to determine the molecular weight of the polymer structure. Toxicity of the polymer is assessed in Swiss Albino male and female mice weighing (26-35)g using Krebs-Henseleit as solvent for intraperitoneal injection. All related results are also presented in this study.

Keywords: Nuclear Magnetic Resonance, Relaxivity, Infrared Spectroscopy, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer, Toxicity

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin hazırlanmasında bana rehber olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENYEL' e teşekkür ederim.

Çalışmam süresince her türlü desteğini, yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Rıdvan SAY' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Akut toksisite çalışmalarında gerekli imkanları temin eden Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Süleyman AYDIN' a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam süresince laboratuvar, malzeme ve diğer imkanlarından istifade ettiğim Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi' ne teşekkürü bir borç bilirim.

Özgür ALVER

Ağustos-2005

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. NÜKLEER MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİSİ	2
2.1. Atom Çekirdeğinin Manyetik Özelliği.....	2
2.2. Çekirdeğin Spin Kuantum Sayısı.....	3
2.3. Atom Çekirdeklerinin Manyetik Alanda Davranışı.....	4
2.3.1. Atom Çekirdeğinin Açısız Momentumu ve Manyetik Kuantum Sayısı İle Arasındaki Bağını.....	4
2.3.2. Manyetik Bir Dipolün Manyetik Alanda Enerjisi.....	5
2.4. Durulma (Rölaksasyon) Olayı.....	7
2.5. Spin Sistemlerinde Durulma.....	14
2.6. Durulma Mekanizması.....	16
2.7. Inversion Recovery Yöntemi.....	17
2.8. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) ve Kontrast Ajanları.....	18
2.9. Paramanyetik Komplekslerin Durulma Kapasitesini Etkileyen Faktörler.....	18
2.9.1. Paramanyetik kompleks konsantrasyonu.....	19
2.9.2. Paramanyetik komplekslerin manyetik momenti.....	19

3. İNFRARED SPEKTROSKOPİSİ.....	20
3.1. Molekül Titreşimleri.....	20
3.2. Katıların IR Spektrumunun Alınması.....	21
4. ICP-OES SPEKTROSKOPİSİ.....	24
5. MALDI-TOF/MS SPEKTROSKOPİSİ.....	26
6. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	28
6.1. Gadolonyum İçerikli Polimerik Kontrast Ajanı Sentezi.....	28
6.2. Spin-Örgü Durulması Analizleri.....	28
6.3. FT-IR Analizleri.....	29
6.4. ICP-OES Analizleri.....	29
6.5. MALDI-TOF/MS Analizleri.....	30
6.6. Toksikite Çalışmaları.....	30
7. DENEYSEL BULGULAR.....	31
8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR.....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1	Protonun manyetik alanda yönlenmesi ve farklı enerji seviyelerinin gösterilişi	6
2.2	Proton spinlerinin manyetik alanın sıfır ve sıfırdan farklı olduğu durumlardaki davranışı	7
2.3	Rezonans ve durulma olaylarının şematik olarak gösterilişi	7
2.4	Manyetik alan ile paralel ve zıt yönlenmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi	9
2.5	Presesyon hareketi yapan bir çekirdeğin manyetik momentinin koni üzerinde dağılımı	10
2.6	Manyetik momentin z ve y ekseninde olan bileşenleri	10
2.7	Homojen bir manyetik alan içerisinde çekirdeğin yönelimi	11
2.8	Çekirdek RF alan etkileşimi	12
2.9	Atom çekirdeğine ait manyetik momentin döner koordinat sisteminde gösterimi	12
2.10	Rezonans olayı	13
2.11	Rezonans sonrası çekirdeğin manyetik momenti	13
2.12	xy düzleminde manyetik moment vektörlerinin dağılımı	15
2.13	Inversion Recovery Yöntemi	17
3.1	Molekül titreşim türleri	22
4.1	ICP-OES cihazının şematik gösterimi	24
5.1	MALDI-TOF/MS cihazının şematik gösterimi	26
7.1	Gd-MAAP metal şelat monomerin olası oluşumu	32
7.2	Olası poly (Gd-MAAP) yapısı	33
7.3	MAAP (spektrum 1) ve Gd-MAAP (spektrum 2) yapılarının infrared spektrumları	35
7.4	Gd-MAAP polimerine ait MALDI-TOF/MS spektrumu (0-52114 Da)	36
7.5	Gd-MAAP polimerine ait MALDI-TOF/MS spektrumu (990-1001 Da)	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

2.1	Bazı elementlerin jromanyetik sabitleri	2
7.1	Gd-MAAP polimere ait rölaksivite değerleri (32.6 °C ve 90MHz)	31
7.2	ICP-OES analiz sonuçları (0.75ml Gd-MAAP çözeltisinde)	32
7.3	MAAP (spektrum I) ve Gd-MAAP (spektrum II) yapılarının infrared frekansları(cm^{-1})	33

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
T_1	Spin-Örgü durulma süresi
T_2	Spin-Spin durulma süresi
L	Açısal momentum
Γ	Jiromanyetik sabit
I	Çekirdeğin spin kuvantum sayısı
h	Planck sabiti
M	Manyetik kuvantum sayısı
H_0	Manyetik alan
μ	Manyetik moment
E	Enerji
ΔE	Enerji değişimi
Δt	Zaman değişimi
$\Delta \nu$	Frekans değişimi
ω_0	Larmor frekansı
μ_z	Manyetik momentin z eksenindeki bileşeni
$\mu_{x,y}$	Manyetik momentin xy düzlemindeki bileşeni
M_0	Toplam mıknatıslanma
M_y	y eksenindeki toplam mıknatıslanma
t_c	Korrelasyon süresi
Hz	Hertz
Λ	Dalga boyu
λ	Dalga sayısı
N_α	Üst enerji seviyesinde olan protonların sayısı
N_β	Alt enerji seviyesinde olan protonların sayısı
K	Boltzman sabiti
δ	Açı bükülme titreşimleri
τ	Burulma titreşimleri
ν	Titreşim frekansı

Simgeler **Açıklama**

Da	Dalton
Z	İyon yükü

Kısaltmalar **Açıklama**

NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
IR	Infrared
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy
MRI	Magnetic Resonance Imaging
N	Atom sayısı
RF	Radyo frekansı
MALDI-TOF/MS	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectroscopy
KE	Kinetik enerji
FT-IR	Fourier Transform Infrared

1. GİRİŞ

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi yapı aydınlatılması ve molekül dinamiği üzerine sunduğu veriler itibariyle fizikçi ve kimyacıların yanısıra eczacılık ve tıp alanında çalışan araştırmacılar tarafından da yapı tayini ve bazı fiziksel özelliklerin incelenmesinde kullanılmaktadır. Tıp biliminde kullanılmaya başlanan NMR görüntüleme yöntemleri her geçen gün yaygınlaşmaktadır. NMR görüntüleme yönteminin, radyo dalgaları ile çalışması nedeniyle insan sağlığına zararsız olması iyonlaştırıcı ışın kullanılmaması, katı ve yumuşak doku ayırımı yapabilmesi, anatomik bilgilerin yanı sıra fizyolojik bilgiler de verebilmesi gibi üstün özelliklere sahip olması, bu yöntemin her geçen gün yaygınlaşmasını sağlamaktadır. Manyetik rezonans çekimlerinde vücutta bulunan her hangi bir kesitte o bölgenin su dağılım haritası çıkarılmaktadır [1].

Medikal görüntüleme sistemlerinde dokulardan daha net görüntü alma adına çeşitli kontrast ajanlar kullanılmaktadır. Bu kontrast ajanların büyük bir bölümü küçük moleküler ağırlıklara sahip paramanyetik gadolonyum şelatlarından oluşmaktadır. Bunlara ilaveten bazı büyük yapılı moleküller ve polimerik malzemelerin de manyetik görüntüleme sistemlerinde kullanılmasıyla ilgili araştırmalar artan yoğunlukta devam etmektedir [2].

Kontrast ajanların etkinliği başlıca derişimine (yada spin yoğunluğuna), spin-örgü (T_1) ve spin-spin (T_2) durulma sürelerine bağlıdır [3]. Başka bir önemli nokta ise bugün tıbbi manyetik rezonans görüntüleme cihazlarında yapılan durulma ölçümlerinin NMR sistemlerinde yapılan T_1 ve T_2 durulma ölçümlerinden başka bir şey olmamasıdır [1].

Bu çalışmada sentezlenen gadolonyum içerikli polimerin NMR spektrometresiyle durulma süreleri hesaplanmış, ICP-OES (İndüktif Eşlenmiş Plazma Optiksel Emisyon Spektrometresi) ile Gd(III) iyonlarının ppm mertebesinde miktarları tayin edilmiş, infrared spektroskopisiyle (IR) yapısı incelenmiş, MALDI-TOF/MS cihazı yardımıyla molekül ağırlığı araştırılmış olup aynı zamanda Swiss Albino türü (26-35) gr ağırlıklarında erkek ve dişi fareler üzerinde de toksisitesi incelenmiştir.

2. NÜKLEER MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİSİ

Bu bölümde atom çekirdeğine ait temel özelliklerden yararlanılarak Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) olayı manyetik özellikler başta olmak üzere çekirdeğe ait enerji, spin kuvantum sayısı, açısal momentum, manyetik moment, spin-örgü ve spin-spin durulmaları gibi temel kavramlardan yola çıkılarak açıklanılmaya çalışılmıştır.

2.1. Atom Çekirdeğinin Manyetik Özelliği

Her elektrik akımı, çevresinde manyetik alan oluşturur. Ekseni etrafında dönen bir atom çekirdeği de, yüklü olması nedeniyle, çevresinde bir manyetik alan meydana getirir. Bu nedenle atom çekirdekleri bir mıknatıs gibi davranırlar. Çekirdeğin oluşturduğu manyetik alanın manyetik momenti vardır. Manyetik moment μ ile gösterilir.

Klasik fizikten bilindiği üzere kendi ekseni etrafında dönen bir cisim, L gibi bir açısal momentuma sahiptir. Çekirdeğin sahip olduğu iç dinamiksel durum çekirdek spini olarak adlandırılır. Atom çekirdeğinin de bu iç dinamiksel durumu yani çekirdek spini pratik bir yaklaşımla çekirdeğin kendi ekseni etrafında dönmesi olarak düşünülebilir. Jiromanyetik sabiti γ , her element için ayrı değer sahiptir. Bazı elementlere ait jiromanyetik sabitler Çizelge 2.1' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı elementlerin jiromanyetik sabitleri. Negatif değerler manyetik momentum ile açısal momentumun zıt yönde olduğunu göstermektedir

Element	Jiromanyetik Sabiti
^1H	2.674 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^2H (D)	0.410 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{13}C	0.672 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{14}N	0.913 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{15}N	-0.271 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{17}N	-3.62 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{19}F	2.516 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$
^{31}P	1.083 $10^8\text{s}^{-1}\text{T}^{-1}$

2.2. Çekirdeğin Spin Kuantum Sayısı

Bir atom çekirdeğinin manyetik alan içerisindeki davranışına geçmeden önce, çekirdeğin spin kuantum sayısı üzerinde durulması gerekir. Bir elementin NMR’ da aktif olup olmaması, ilgili çekirdeğin spin kuantum sayısına bağlıdır. Elektronda olduğu gibi bir atom çekirdeğinin de spin kuantum sayısı vardır. Çekirdeğin spin kuantum sayısı I , çekirdekte bulunan proton ve nötronların sayısına göre değişmektedir. Bir elementin izotopları farklı spin kuantum sayısına sahiptir. Çekirdekte bulunan proton ve nötronların sayısına göre spin kuantum sayıları belirlenemez. Ancak proton ve nötronların sayısı ile spin kuantum sayısı arasında geçerli olan bazı kurallar vardır. Atom çekirdekleri, içerdikleri proton ve nötron sayılarına göre gruplandırılabilirler.

Çift-çift çekirdekler kütle numarası ve atom numarası çift sayı olan elementlerdir. Bu izotopların proton ve nötron sayıları çifttir. Örneğin ^{12}C ve ^{16}O bu gruba dahildirler. ^{12}C çekirdeğinde 6 proton ve 6 nötron bulunur. Aynı şekilde ^{16}O çekirdeğinde de eşit sayıda, 8 proton ve 8 nötron bulunur. Bu gruba dahil olan tüm izotopların spin kuantum sayıları $I=0$ ’ dır. Bu elementler NMR spektroskopisinde aktif değildirler.

Tek-tek çekirdekler kütle numarası ve atom numarası tek olan elementlerdir. Bu gruba dahil elementlerin proton sayısı tek, nötron sayısı çifttir. Örneğin ^1H , ^{11}B , ^{19}F , ^{31}P bu gruba ait olan izotoplardır. ^1H yalnız tek bir proton içerir, nötronu yoktur. ^{19}F ’ un 9 protonu ve 10 nötronu vardır.

Tek-çift çekirdekler kütle numarası tek, atom numarası çift olan elementlerdir. Bu gruba ait olan elementlerin proton sayısı çift, nötron sayısı tektir. Örneğin, ^{13}C , ^{17}O , ^{33}S bu gruba giren izotoplardan bazılarıdır. ^{13}C ’ ün 6 protonu ve 7 nötronu vardır. Aynı şekilde ^{17}O ’ de 8 proton ve 9 nötron bulunur.

Çift-tek çekirdekler kütle numarası çift, atom numarası tek olan elementlerdir. Bu gruba dahil olan izotopların nötron ve proton sayısı tektir. Örneğin ^2H (D), ^{10}B , ^{14}N , ^{18}O bu gruba dahildir. ^2H ’ nin bir protonu ve bir nötronu vardır. ^{14}N ’ un 7 protonu ve 7 nötronu bulunur. Bu grupta bulunan elementlerin spin kuantum sayıları $I = 1, 2, 3, 4, 5$ gibi tam sayılardan oluşur. $I > 1/2$ olan bu çekirdekler eksenleri etrafında küresel simetrik olarak dönmeyen fakat hem

manyetik momentleri (dipol momentleri) hem de kuvadrupol momentleri olan çekirdeklerdir. Bu sebeplerden ötürü bu gruba dahil olan elementlerin NMR spektrumu yayvan spektrum pikleri vereceğinden yorumlaması zordur.

Eğer bir çekirdekte proton ve nötron sayısı çift ise, bu parçacıkların dönüşümleri birleşir, yani bir nükleon bir yönde dönüyorsa diğer nükleon aksi yönde döner ve çekirdek toplam net dönüşüm göstermez. Bu nedenle bu özellikteki çekirdeklerin spin kuvantum sayıları $I = 0$ dır ve NMR spektrumu vermezler.

Sonuç olarak bir elementin NMR spektroskopisinde gözlenebilmesi için o elementin spin kuvantum sayısının $I > 0$ olması gerekir.

2.3. Atom Çekirdeklerinin Manyetik Alanda Davranışı

Manyetik alan içerisine yerleştirilen atomların manyetik momentleri uygulanan manyetik alanın yönüne göre farklı yönelimler gösterebilmektedirler. Bu yönelim neticesinde açısal momentum ve enerji gibi atoma ait belli başlı ifadeler atoma ait manyetik kuvantum sayıları ile ilişkilendirilebilmektedir.

2.3.1. Atom Çekirdeğinin Açısal Momentum ve Manyetik Kuvantum Sayısı İle Arasındaki Bağntı

Atom çekirdeğinin en önemli özelliklerinden birisi de çekirdeğin manyetik momenti ile açısal momentumdur. Klasik fizikte açısal momentum her değeri alabilir. Kuvantum fiziğinde ise durum tamamen farklı olup açısal momentum her değeri alamaz. Açısal momentumun alabileceği değerler kuvantumlaşmıştır. Başka bir deyimle açısal momentum kuvantumludur. Kuvantum fiziğinde açısal momentumun z eksenine doğrultusundaki bileşeni,

$$L_z = \hbar \cdot m \quad (1)$$

formülü ile ifade edilir. Burada m manyetik kuvantum sayısı, \hbar ise $(h/2\pi)$ değerine eşit olup h Planck sabitidir. Bu formülden şu sonuca varılmaktadır: Bir çekirdeğin açısal momentumunun z bileşeni, o çekirdeğin manyetik kuvantum sayısına bağlıdır. O halde çekirdeğin açısal momentumunu hesaplamak için o çekirdeğin

manyetik kuvantum sayılarının bilinmesi gerekir. Bir çekirdeğin manyetik kuvantum sayısı ile spin kuvantum sayısı arasındaki ilişki,

$$m = -I, (-I+1), \dots, (I-1), +I \quad (2)$$

şeklinde verilir. Spin kuvantum sayısı $I = 1/2$ olan protonun manyetik kuvantum sayısı $m = [2 \cdot (1/2 + 1)] = 2$ ' dir. Bu değer ($m=2$) manyetik kuvantum sayısının 2 olduğu anlamına gelmez. Bu nedenle bu noktaya dikkat edilmesi gerekir. Bu sayı, protonun iki farklı manyetik kuvantum sayısına sahip olduğunu gösterir. Ancak iki kuvantum sayısı arasındaki fark $\Delta m = 1$ olabilir.

2.3.2. Manyetik Bir Dipolün Manyetik Alanda Enerjisi

Manyetik bir dipol, şiddeti H_0 olan bir manyetik alan içerisine getirildiği zaman, dipolün belirli bir potansiyel enerjisi oluşur. Bu enerji, manyetik alanın şiddetine (H_0) ve dipolün manyetik momentine (μ) bağlı olup,

$$E = \mu \cdot H_0 \quad (3)$$

şeklinde ifade edilir. Manyetik moment, manyetik kuvantum sayısına bağlı olarak,

$$\mu = \gamma \cdot m \cdot \hbar \quad (4)$$

şeklinde ifade edilebilir. Burada manyetik momentin (4) numaralı formülündeki değeri (3) numaralı formülde yerine yazılacak olursa yeni bir enerji formülü elde edilir.

$$E = \gamma \cdot H_0 \cdot m \cdot \hbar \text{ dir.} \quad (5)$$

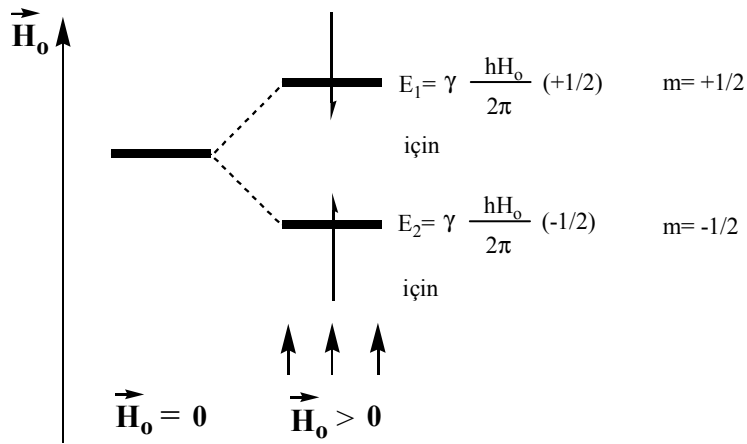
Açısal momentum ve manyetik momentte olduğu gibi, bir dipolün manyetik alan içerisinde alabileceği enerji sayısı kuvantumludur. Başka bir deyimle, manyetik bir dipol manyetik alan içerisine getirildiği zaman, yalnız belirli enerji seviyelerine sahip olabilir. Dipolün sahip olabileceği enerji seviyesi sayısı, manyetik kuvantum sayısına, dolayısıyla spin kuvantum sayısına bağlıdır. Protonun spin kuvantum sayısı $I = 1/2$ olduğundan, manyetik kuvantum sayıları, $m_1 = +1/2$ ve $m_2 = -1/2$ ' dir. Protonun iki farklı manyetik kuvantum sayısı olduğundan (5) numaralı formülde yerine koyulması ile enerji hesaplanır. Bu enerji seviyeleri,

$$E_1 = (\gamma \cdot H_0 \cdot \hbar) \cdot (+1/2) \quad m = +1/2 \text{ için} \quad (6)$$

$$E_2 = (\gamma \cdot H_0 \cdot \hbar) \cdot (-1/2) \quad m = -1/2 \text{ için} \quad (7)$$

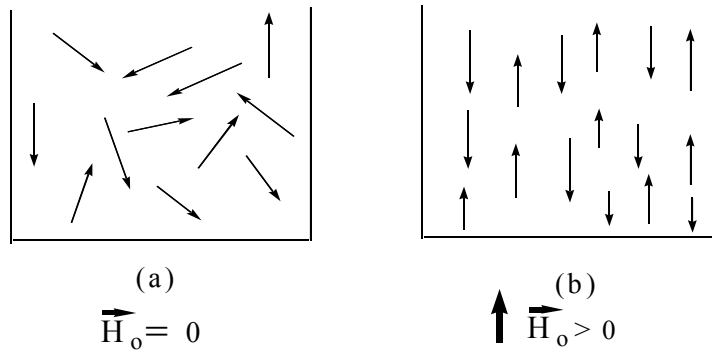
şeklinde ifade edilir. (6) ve (7) numaralı formüller ile gösterilen enerji değerleri protonun manyetik alanda oluşturduğu enerji seviyeleridir.

Bir atom çekirdeğinin manyetik alanda farklı enerji seviyelerinde bulunması nasıl oluşur? Görüldüğü gibi protonun bir manyetik momenti vardır ve bu moment bir vektördür. Proton homojen ve statik bir manyetik alan içerisine getirildiği zaman, manyetik moment gelişigüzel yönlenebilir. Manyetik momentin manyetik alanda yönlenebilmesi kuantumludur. Uygulanan dış manyetik alanın (H_0) belirli bir yönü olduğundan, protonun manyetik momenti, manyetik alanın yönü ile paralel veya zıt olarak yönlendirilir (Şekil 2.1). Böylece protonun manyetik alanda iki farklı yönlenebilmesi mümkündür. Bu farklı yönlenebilirliklerde (6) ve (7) numaralı formüllerden de görüleceği gibi, protonun enerji seviyesi değişir. Eğer protonun manyetik momenti, dış manyetik alanla paralel ise, protonun potansiyel enerjisi daha düşüktür.



Şekil 2.1. Protonun manyetik alanda yönlenebilmesi ve farklı enerji seviyelerinin gösterilişi

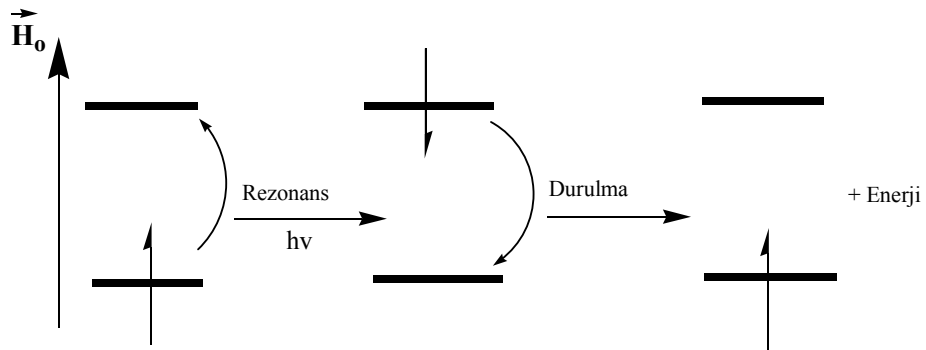
Manyetik bir alan olmadığı zaman, manyetik moment gelişigüzel her istikamete yönlendirilir (Şekil 2.2). Bu durumda tüm protonların enerji seviyeleri yozlaşmıştır. Yani protonlar dejeneredir. Proton veya herhangi bir çekirdek ($I > 0$) ancak manyetik alan içerisine getirildiği zaman, farklı enerji seviyelerine ayrılır. Genel olarak, çekirdeklerin spin kuantum sayısı, dolayısıyla manyetik kuantum sayısı, o çekirdeğin manyetik alan içerisinde kaç farklı enerji seviyesine ayrılacağını belirler.



Şekil 2.2. Proton spinlerinin manyetik alanın sıfır ve sıfırdan farklı olduğu durumlardaki davranışı

2.4. Durulma (Rölaksasyon) Olayı

NMR spektroskopisinde, rezonans olayı, alt enerji seviyesinde bulunan bir protonun enerji soğurarak üst enerji seviyesine geçmesiyle mümkün olmaktadır (Şekil 2.3). Böylece rezonans sonucu, protonlar alt seviyeden üst seviyeye geçtiğinden, enerji seviyelerinin popülasyonu değişmektedir.



Şekil 2.3. Rezonans ve durulma olaylarının şematik olarak gösterilişi

Sistemdeki dengenin tekrar sağlanabilmesi için, üst enerji seviyesine geçmiş protonların, fazla enerjilerini dışarıya vererek tekrar eski konumlarına, alt enerji seviyelerine dönmeleri gerekir. Protonlar eski konumlarına dönmedikleri sürece, aynı numuneden tekrar NMR spektrumu kaydetmek mümkün değildir. Protonların üst seviyede iken fazla enerjilerini dışarıya vererek, tekrar alt seviyeye dönmelerine “durulma” denir. Durulma için geçen zamana “durulma zamanı”

denir. Spin-örgü durulması (T_1) ve spin-spin durulması (T_2) olmak üzere iki ana durulma mekanizması vardır. Protonun üst seviyeden alt seviyeye geçerken, fazla enerjisini (soğurduğu enerji) ışın halinde dışarıya vermesi söz konusu değildir. Işın yayma olasılığı, yayılan ışının dalga boyu ile doğru orantılı olduğundan, bu olasılık radyo dalgaları bölgesinde olanaksızdır. Çözelti içerisinde bulunan soğurma yapan çekirdek dışında kalan her türlü parçacığa (gaz, sıvı, katı, çözücü molekülleri) örgü denir. Bu moleküller termal hareketler sonucu çeşitli manyetik alanlar meydana getirirler. Bu yüklü taneciklerin kendilerine mahsus dönme hareketleri vardır. Bu oluşan alanların bazılarının frekansı, çekirdeğin presesyon hareketinin frekansına uyar ve rezonans koşulu oluştuğunda, fazla enerji örgüye verilir. Örgüye verilen enerji termal harekete, yani, kinetik enerjiye çevrilir. Spin örgü durulması için geçen zaman T_1 . Bu zaman sıvılarda 10^{-2} ile 10^2 saniye arasında değişir. Spinler arasında ikinci bir etkileşim ise, spin-spin durulmasıdır.

Bir protonun tekrar rezonans olabilmesi için, fazla enerjisini çevreye vererek tekrar eski konumuna gelmesi şarttır. Aksi halde, tekrar rezonans olayı gerçekleşmez. Diğer önemli bir nokta da, bugün tıbbi manyetik rezonans cihazlarında yapılan ölçümün, T_1 ve T_2 ölçümlerinden başka bir şey olmamasıdır. Bu zamanların ölçülmesi ile hem katı dokular hem yumuşak dokular ön plana çıkarılabilmektedir.

Durulma zamanı, NMR spektrumlarında gözlenen piklerin genişliğini etkileyen önemli bir parametredir. Durulma zamanı uzun olduğunda pikler keskin ve dar, durulma zamanları kısa olduğunda ise, pikler daha geniş olarak karşımıza çıkmaktadır. “Piklerin darlığı ve genişliği o kadar önemli midir?” sorusu akla gelebilir. Eğer iki pik birbirine çok yakınsa, durulma süresi kısaldığı zaman pik genişlemesi nedeniyle bu iki pik çakışık ve yayvan bir şekilde ortaya çıkar ki, bu da spektrum yorumunu imkansız kılar. Pik genişliklerinin durulma zamanı ile bağlantısı, Heisenberg belirsizlik prensibi ile gösterilebilir. Heisenberg belirsizlik prensibine göre,

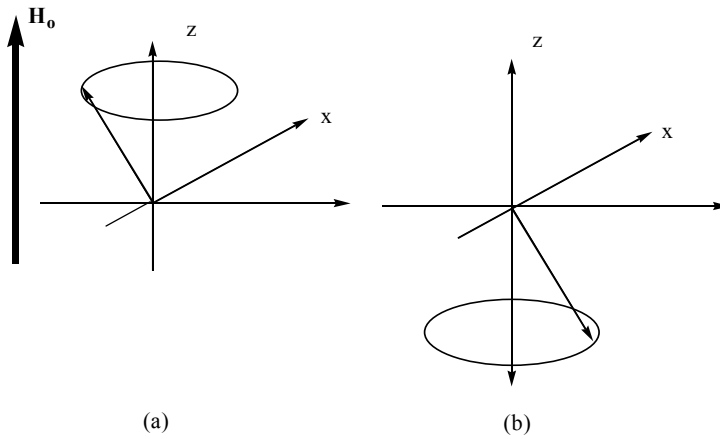
$$\Delta E \cdot \Delta t = h / 2\pi \quad (8)$$

olur ve buradan,

$$(\Delta E / h) = 1 / 2\pi \cdot \Delta t \quad (9)$$

şeklinde yazılabilir. $E = h\nu$ olduğundan, enerji değeri (8) numaralı formülde yerine konulduğunda $\Delta\nu = 1 / (2\pi\Delta t)$ formülü elde edilir. Bu formül pik genişliği ile durulma zamanı arasındaki bağıntıyı göstermektedir. Δt durulma zamanı küçük olursa, $\Delta\nu$ o kadar büyük olacaktır. Bu da rezonansın geniş bir frekans bölgesine yayıldığını, NMR sinyalinin geniş olacağını, aksi halde ise, frekans bölgesinin küçük, sinyal genişliğinin az olacağını göstermektedir.

Manyetik bir dipol (atom çekirdekleri) homojen bir manyetik alan içerisine getirildiği zaman, manyetik alan ile çekirdeğin manyetik momenti arasında bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimde, dış manyetik alan, çekirdeğin manyetik momentini kendisi ile aynı yöne yönlendirmek için bir etki yapar. Çekirdeğin manyetik momenti de buna karşı koymak ister ve dış manyetik alanın yönlendiği eksen etrafında bir presesyon hareketi yapar.

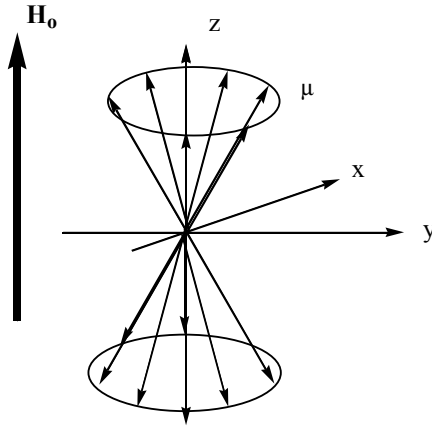


Şekil 2.4. a) Manyetik alan ile paralel yönlendirilmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi.

b) Manyetik alan ile zıt yönlendirilmiş bir çekirdeğin presesyon hareketi

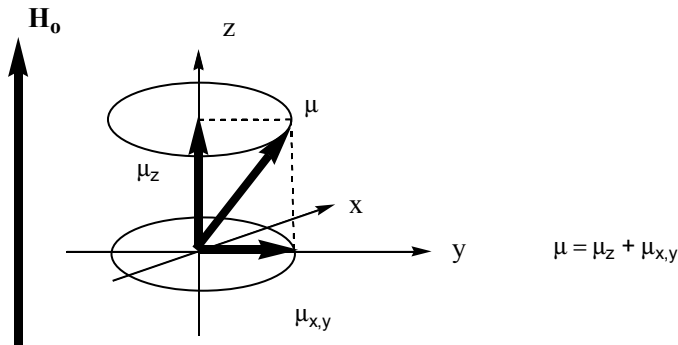
Bir numuneyi incelerken tek bir çekirdeği ele almak doğru değildir. Makroskopik bir numunede tüm çekirdeklerin göz önüne alınması gerekir. Boltzman enerji dağılım yasasına göre, enerji seviyeleri yüksek olan, yani dış manyetik alanla zıt yönelerek presesyon hareketi yapan çekirdeklerin sayısı, paralel yönelenlere göre daha azdır. Aynı yönde yönlendirilmiş olan çekirdeklerin manyetik momentleri Şekil 2.5' de görüldüğü gibi istatistiksel olarak bir koni üzerinde dağılırlar. Çekirdeklerin manyetik momentleri, dış manyetik alan etrafında belirli bir frekans ile presesyon hareketi yaparlar. Bu frekansa Larmor

frekansı denir. Larmor frekansı, rezonans koşulunda olduğu gibi, manyetik alanın şiddetine ve ilgili çekirdeğin jiromanyetik sabitine bağlı olup, $\omega_0 = \gamma \cdot H_0 / 2\pi$ ifadesiyle verilir. Burada ω_0 Larmor frekansı, H_0 dış manyetik alanın şiddeti, γ jiromanyetik sabiti ifade etmektedir.



Şekil 2.5. Presesyon hareketi yapan bir çekirdeğin manyetik momentinin koni üzerinde istatistiksel dağılımı

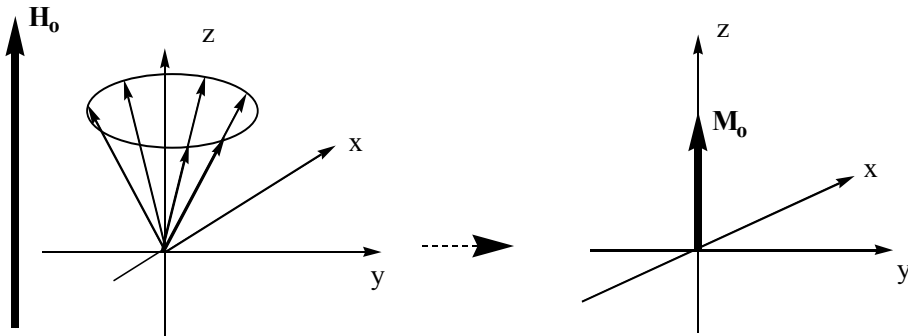
Manyetik moment bir vektör olduğundan, bu vektörün z yönünde ve y ekseninde, Şekil 2.6' da görüldüğü gibi bileşenleri vardır. Makroskopik bir numunede, manyetik momentler bir koni üzerinde istatistiksel bir şekilde dağılmış olduklarından, bunların xy düzleminde bulunan bileşenleri, bu düzlem üzerinde her yönde dağılacığından, bu vektörlerin toplam değeri sıfırdır.



Şekil 2.6. Manyetik momentin z ekseninde ve xy düzleminde olan bileşenleri

Başka bir deyimle $\Sigma\mu_{x,y}=0$ formülünden, manyetik momentin xy düzleminde bileşke bir değeri olmadığı anlaşılır. Yani xy düzleminde bir mıknatıslanma gözlenmez. Diğer taraftan manyetik moment μ' nün z yönündeki bileşenlerinin tümü aynı yönde olduğundan vektörler toplanır ve Şekil 2.7' de görüldüğü gibi toplam bir mıknatıslanma M_0 gözlenir.

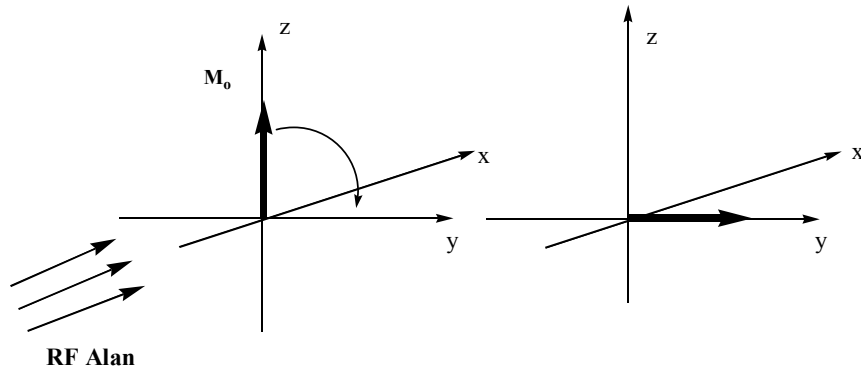
Sonuç olarak çekirdeklerin manyetik alan içerisinde oluşturduğu presesyon hareketleri sonucunda xy düzleminde mıknatıslanma gözlenmez, toplam mıknatıslanma M_0 z yönündedir. Bu mıknatıslanma zıt yönlenecek çekirdekler için de geçerlidir. Bu kez mıknatıslanma yine z istikametinde fakat zıt yöndedir. Protonların z istikametinde farklı yönlenecekleri sonucu zıt yönlü iki mıknatıslanma meydana gelmektedir. Ancak paralel yönlenecek çekirdekler zıt yönlenecek çekirdeklerin sayısından her zaman için fazla olduğundan, net bir mıknatıslanma yalnız z istikametinde ve dış manyetik alana paralel oluşmaktadır. Bu mıknatıslanmaya boylamsal (longitudinal) mıknatıslanma denir.



Şekil 2.7. Homojen bir manyetik alan içerisinde çekirdeğin yönelimi

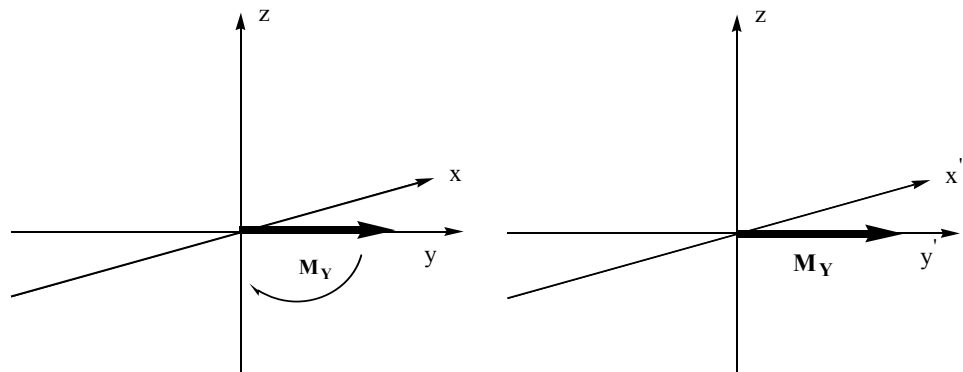
Manyetik alan içerisindeki çekirdeklerde önce boylamsal mıknatıslanma oluşur. Numune üzerine x yönünde genliği düşük bir radyo-frekans alanı gönderilir. Bu radyo-frekans alanının çekirdeklerin manyetik momentleriyle etkileşmesi için xy düzleminde döner bir alan olması ve açısal hızının Larmor frekansı ile aynı olması gerekir. Bunun için sisteme x yönünde lineer polarize radyo frekans alanı gönderilir. Lineer polarize elektromanyetik dalga birbirine zıt yönde hareket eden iki sirküler polarize elektromanyetik dalgadan oluşur. Bu bileşenlerden birisi Larmor frekansı ile aynı yönde olduğundan etkileşme yalnızca bir bileşenle gerçekleşir. Bu şartlar oluştuğunda, yani çekirdeklerin Larmor

frekansları ile döner manyetik alanın açısal hızı eşit olduğunda, radyo frekans alanı ile çekirdeklerin manyetik momentleri arasında bir etkileşim olur ve daha önce z istikametinde yönlenmiş olan mıknatıslanmanın (M_0) yönü değişir ve Şekil 2.8’ de görüldüğü gibi y yönüne doğru çevrilir. Boylamsal mıknatıslanma vektörü, y eksenine doğru çevrildikten sonra, xy düzleminde Larmor frekansı ile presesyon hareketine devam eder.



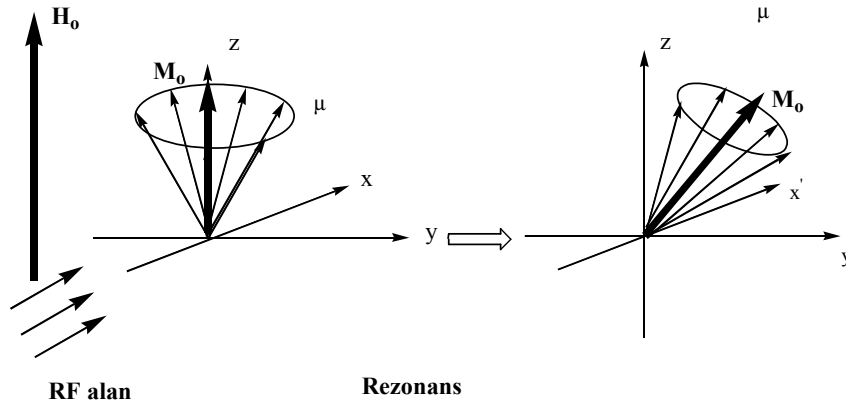
Şekil 2.8. Çekirdek RF alan etkileşimi

Olayın daha iyi anlaşılabilmesi için Trossey tarafından döner koordinat sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde xy düzlemi z eksenini etrafında Larmor frekansı ile dönmektedir (Şekil 2.9). Bu sisteme ait eksenler z, x' , y' ile ifade edilmektedir. Sabit koordinat sisteminde mıknatıslanma vektörü M_y , xy düzleminde Larmor frekansı ile dönerken, döner koordinat sisteminde y' yönünde sabit kalmaktadır.



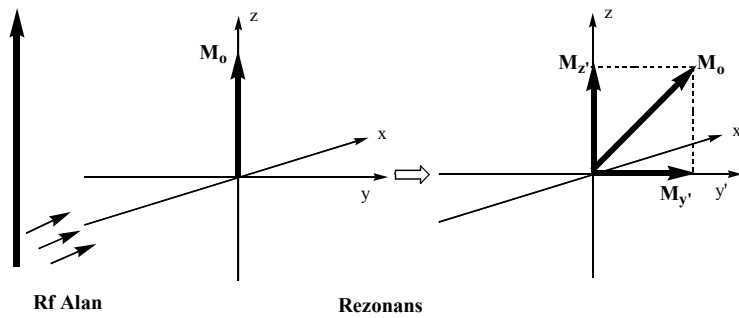
Şekil 2.9. Atom çekirdeğine ait manyetik momentin döner koordinat sisteminde gösterimi

Sabit koordinatlı bir sistemde mıknatıslanma M_y belli bir hız ile xy düzlemi üzerinde dönmektedir. Mıknatıslanmanın RF alanının etkisi ile y' yönüne çevrilmesine rezonans denir. Çekirdekler manyetik alanda yönlendiği zaman yalnız z doğrultusunda bir mıknatıslanma oluştururlar. RF alanı makroskopik mıknatıslanma M_0 üzerine etki ederse çekirdeklerin manyetik momentlerinin oluşturduğu koni etki süresine bağlı olarak z ekseninden saparak y' istikametine yönelir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Rezonans olayı

Makroskopik mıknatıslanma M_0 ' in y' eksenine doğru yönelmesi ile daha önce y' eksenine doğrultusunda bir bileşeni olmayan mıknatıslanma vektörünün şimdi z ve y' eksenlerinde iki bileşeni vardır. Başka bir deyimle M_0 şimdi M_z ve $M_{y'}$ nin bileşenleridir. Bu durumda daha önce y' ekseninde hiçbir bileşeni olmayan mıknatıslanma vektörünün şimdi y' doğrultusunda bir bileşeni oluşmuştur. Bu durum Şekil 2.11' de gösterilmiştir. y' ekseninde bulunan bir RF alıcısı, oluşan mıknatıslanmayı, başka bir deyimle voltajı sinyal olarak kaydeder.

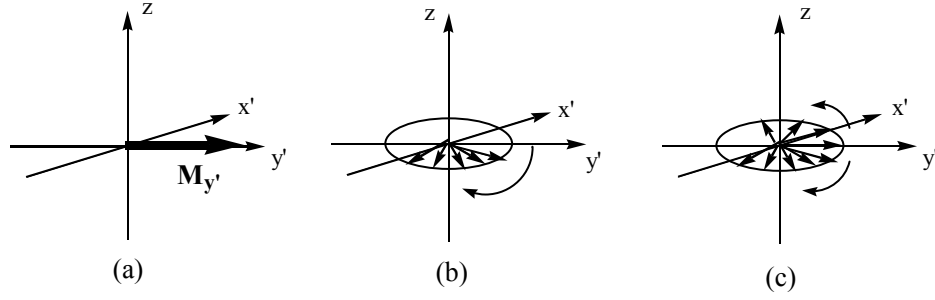


Şekil 2.11. Rezonans sonrası çekirdeğin manyetik momentini

Kaydedilen bu sinyal, bilinen NMR sinyalinden başka bir şey değildir. y' eksenini doğrultusunda gözlenen mıknatıslanma ne kadar fazla ise, gözlenen sinyalin şiddeti o oranda fazla olur. Daha sonra da göreceğimiz gibi, RF alanının etki süresi mıknatıslanma M_0' in y' eksenine doğru çevrilme açısını etkiler.

2.5. Spin Sistemlerinde Durulma

Rezonans olayı esnasında mıknatıslanma vektörünün y' istikametine çevirilmesi ile y' ve z ekseninde mıknatıslanmanın bileşenleri oluşmaktadır (Şekil 2.10). z ekseninde daha önce de mıknatıslanma vardır, ancak mıknatıslanma vektörünün y' eksenine doğru çevirilmesiyle z ekseninde var olan mıknatıslanma çevrilme açısına bağlı olarak azalmaktadır. y' doğrultusunda oluşan mıknatıslanmaya enine mıknatıslanma ve enine mıknatıslanmanın kaybolması için geçen süreye spin-spin durulma zamanı (T_2) denir. y' ekseninde oluşan mıknatıslanmanın (M_y') azalması veya tamamen ortadan kaybolması mıknatıslanma konisinin tekrar eski haline gelmesi anlamına gelmez. Enine mıknatıslanmanın azalmasını etkileyen iki faktör vardır. Manyetik alan çözücü içerisinde hiçbir zaman tamamen homojen değildir. Manyetik alanın inhomojen oluşundan bazı çekirdeklerin manyetik momenti biraz yavaş, bazı çekirdeklerin ise biraz hızlı dönme hareketi yapması söz konusudur. Tabii ki bu farklı dönme hareketi toplam mıknatıslanma değerini etkilememektedir. Ancak, mıknatıslanma M_0 , xy düzlemine doğru çevirilince durum farklı olacaktır. Döner koordinat sisteminde ise mıknatıslanma vektörü y' doğrultusunda sabit kalmaktadır. Bu durum, bütün çekirdeklerin Larmor frekanslarının aynı olması halinde geçerlidir. Makroskopik mıknatıslanma (M_0) bir manyetik moment demeti olduğuna göre, bunların içinde Larmor frekansları hızlı ve yavaş olan çekirdekler vardır. Döner koordinatın ortalama bir Larmor frekansı ile döndüğü düşünülürse, çekirdeklerin Larmor frekansları hızlı ve yavaş olacağından, y' doğrultusunda çekirdeklerin manyetik momentlerine bakıldığı zaman, bunların bir yelpaze gibi açıldığı görülür (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. xy düzleminde manyetik moment vektörlerinin dağılımı

Belirli bir zaman sonra yelpaze gibi açılan bu manyetik momentler eşit bir şekilde $x'y'$ düzlemi üzerinde dağılacak ve $x'y'$ düzleminde mıknatıslanmanın değeri kaybolacağından, y' eksenini doğrultusunda $M_{y'} = 0$ olacaktır. y' eksenini doğrultusunda mıknatıslanmanın sıfır olduğu ana kadar geçen süreye spin-spin durulma zamanı (T_2) denir. Bu zaman zarfında elbette ki başka olaylar da olmaktadır. Bazı çekirdekler enerjilerini çevreye (örgüye) vererek tekrar eski durumlarına dönmüş olacaklardır. Bazı çekirdeklerin manyetik momentleri de hala $x'y'$ düzleminde rotasyon hareketlerine devam edecektir. y' ekseninde manyetik momentlerin bir yelpaze gibi açılması sonucunda ($M_{y'} = 0$) olacağından enine mıknatıslanma tamamen kaybolmuş olmasına rağmen, boyuna mıknatıslanma M_z henüz eski haline gelmiş değildir. Çekirdeklerin enerjilerini çevreye (örgüye) vererek tekrar eski konumlarına gelmeleri için geçen zamana spin-örgü durulma zamanı (T_1) denir. Spin-örgü durulma zamanı her zaman için spin-spin durulma zamanından ($T_1 > T_2$) büyüktür. Bunun aksi kesinlikle olamaz. Çünkü boyuna durulma sona ermiş ise enine durulmanın devam etmesi mümkün değildir. Spin-spin durulması bir entropi olayıdır. Spinlerin dönme hızlarının farklı olmasından ve bunların istatistiksel dağılımından kaynaklanmaktadır. Halbuki spin-örgü durulması bir enerji alış veriş olduğu için tamamen bir entalpi olayıdır. Spin-örgü durulmasında çekirdek soğurmuş olduğu enerjiyi dışarı vererek tekrar eski konumuna dönebilir. Bu enerjiyi elektromanyetik bir dalga olarak dışarıya vermesi mümkün değildir. Çünkü ışın yayma olasılığı, yayılan ışının frekansı ile doğru orantılıdır. Soğurulan enerji radyo dalgaları bölgesinde olduğundan bu enerjinin elektromanyetik dalga olarak tekrar dışarı verilmesi düşünülemez. O halde enerjinin fazlası örgüye verilir. Örgü içerisindeki

moleküller, termal hareketler sonucu çeşitli manyetik alanlar meydana getirirler. Bu yüklü taneciklerin kendilerine özgü dönme hareketleri vardır. Bu oluşan alanların bazılarının frekansı , çekirdeğin presesyon hareketinin frekansına uyar ve enerji etkileşim sonucu örgüye aktarılır. Örgüye verilen enerji termal harekete, yani kinetik enerjiye çevrilir.

2.6. Durulma Mekanizması

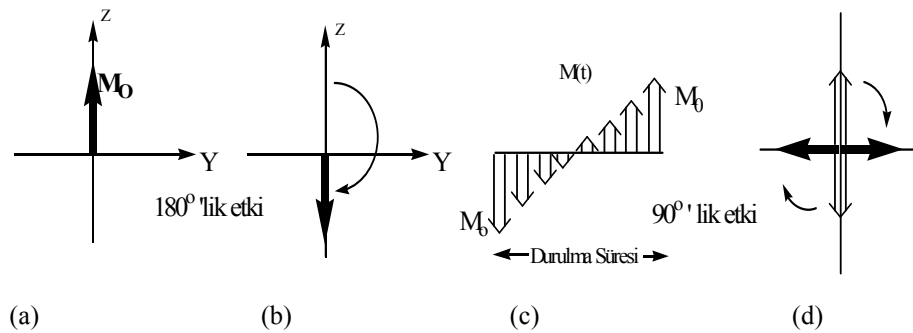
Rezonans olayında elde edilen NMR sinyali, oluşan mıknatıslanma vektörünün zamana göre değişimidir, başka bir ifadeyle uyarılmış çekirdeklerin durulmasıdır. Bir numune üzerine RF alanı (rezonans için gerekli enerji) gönderildiği zaman, pulslar arasında seçilecek olan bekleme süresi ve mıknatıslanmanın çevrilme açısı gibi parametreler çekirdeklerin durulma zamanlarına göre programlanır.

Rezonans halinde olan bir çekirdeğin fazla enerjisini örgüye vererek tekrar eski konumuna gelmesi gerekir. Bunun için çekirdeğin çevresinde çekirdeğin Larmor frekansına eşit olan döner bir manyetik alanın olması gerekir. Çekirdeklerin durulması için gerekli bu döner manyetik alanlar çekirdeğin etrafında mevcuttur. Moleküllerin belirli istikamette ötelenme hareketleri, dönme hareketleri, molekül içinde bazı grupların dönmesi ve bağların titreşimi bir molekülde gözlenebilen dinamik olaylardan bazılarıdır. Bu hareketlerin tümünü yüklü parçacıklar elektronlar ve çekirdekler oluşturduğundan, bu hareketlerin olduğu yerde belirli frekanslarda döner manyetik alanlar oluşur. Örneğin bir bağ titreşiminde elektronların hareketinden dolayı manyetik alanlar meydana gelir. Rezonans olmuş bir çekirdeğin eski konumuna gelebilmesi için, Larmor frekansına uygun frekansa sahip bu tür manyetik alanlardan biri ile etkileşmesi gerekir. Başka bir deyimle bir sistemin enerjisini başka bir sisteme devredebilmesi için her iki sistemin şartlarının (frekanslarının) eşit olması gerekir. Örneğin kırmızı ötesi (IR titreşimleri) titreşimlerin frekansları genelde 10^{13} - 10^{15} Hz civarında olup çekirdeklerin durulması için uygun değildir. Çünkü çekirdeklerin Larmor frekansları 10^7 - 10^9 Hz civarındadır. Dönme ve ötelenme hareketleri, genelde frekansları yerine korelasyon zamanları, (t_c) ile tanımlanır. Korelasyon

zamanı, ötelenme hareketlerinde iki çarpma arasındaki ortalama süredir. Bir molekül yalnız belli bir yönde hareket etmez. Hareket yönünü, çarpımlar sonucu sürekli olarak değiştirir. Korelasyon zamanı bir molekül için sınırlı değildir. Bu zamanın maksimum ve minimum değerleri vardır. Belirli şartlarda ortalama bir zamandan bahsetmek mümkündür. Bu hareket değişimi ile molekül sürekli değişken manyetik alanlar oluşturmaktadır. Ayrıca oluşan bu manyetik alanların frekansları doğrudan korelasyon zamanlarına bağlıdır. Rotasyon hareketlerinde ise bir radyan rotasyon için gereken ortalama zamana korelasyon zamanı denir. Korelasyon zamanları; sıcaklık, molekülün büyüklüğü, molekülün şekli ve çözeltinin viskozitesi gibi faktörlere bağlıdır. Korelasyon zamanı 10^{-10} s olan bir rotasyon hareketinin frekansı yaklaşık olarak 10^{10} Hz' dir. Bu rotasyon hareketlerinden bazılarının frekansı, çekirdeğin Larmor frekansı ile aynı bölgede olacağından, çekirdek bu manyetik alanlarla etkileşerek fazla enerjisini bu sistemlere (örgüye) verir [1].

2.7. Inversion Recovery Yöntemi

Inversion Recovery yöntemi NMR sistemlerinde spin-örgü durulma sürelerinin hesaplanmasında oldukça sık kullanılan güvenilir bir yöntemdir. Şekil 6.1' de görüldüğü gibi Inversion Recovery yönteminde z istikametinde yönlenmiş olan (a) manyetik moment vektörünün 180° lik radyo dalgasıyla etkileşimi sonucu, manyetik moment vektörü $-z$ doğrultusunda (b) yönlenmiştir. Uygulanan 180° lik radyo dalgasının sistem üzerinden kaldırılmasının hemen ardından manyetik moment vektörü tekrar eski konumuna dönmektedir (c).



Şekil 2.13. Inversion Recovery Yöntemi

Manyetik moment vektörünün tekrar eski konumuna dönmesine kadar geçen süreye durulma süresidir. Inversion Recovery yönteminde bu durulma süresi sisteme 90° lik radyo dalgası uygulayarak tekrar elde edilmektedir.

2.8. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) ve Kontrast Ajanları

Proton NMR sistemlerinin karaciğer ve böbrek hastalıklarından damar sistemlerindeki bozukluklar ile bazı organ ve dokulardaki tümörlerin teşhisine varana kadar geniş bir kullanım alanı mevcuttur. Hemen hemen bütün klinik kullanıma sahip NMR cihazları proton manyetik rezonans ihtiva etmektedir ve bu sistemlerdeki NMR sinyali üreten temel proton türü su molekülüne ait protonlardır. Su canlı organizmalardaki organ ve dokularda en yaygın olarak bulunan moleküler yapıdır. MR görüntülemeindeki parlaklık su protonunun üç özelliğine bağlı olarak değişebilmektedir:

- i) Proton konsantrasyonu yada spin yoğunluğu,
- ii) Spin-örgü durulma süresi (T_1),
- iii) Spin-spin durulma süresi (T_2).

MRI sistemlerinin uygulanabilirliği ve teşhis kabiliyetlerini artırmak için çeşitli ajanlar geliştirilmiştir. Bu ajanlardan en fazla gelecek vaat edenler ise metal iyon şelatlarıdır. Yüksek paramanyetik iyonlar durulma (T_1 ve T_2) sürelerine ciddi oranlarda katkıda bulunarak dokulardaki manyetik özelliklere etkiler. Bu etki genel olarak su protonunun durulma süresini kapsamaktadır [3]. Kontrast ajanlar hastalıklı ve sağlıklı dokuların su protonlarının durulma sürelerine etki ederek alınan görüntülerin daha kolay değerlendirilmesini sağlarlar [5].

2.9. Paramanyetik Komplekslerin Durulma Kapasitesini Etkileyen Faktörler

Metal komplekslerindeki paramanyetik iyonlar tarafından oluşturulan su durulma değerlerindeki değişim birçok etken tarafından oluşturulmaktadır. Öncelikle paramanyetik iyonlar çok sıkı bir kompleks oluşturmak zorundadırlar. Çünkü bu komplekslerin iyonik tuzları oldukça toksik özellik göstermektedir. Bununla birlikte çok güçlü komplekslerde ise çözücüdeki su moleküllerinin

komplekse bağlı su molekülleri ile yer değiştirme işlemi zorlaşacağından bir orta yol bulunmalıdır. Durulmaya etki eden genel faktörler aşağıda sıralanmıştır.

2.9.1. Paramanyetik kompleks konsantrasyonu

Yüksek konsantrasyon düşük toksik özellikler ve suda  z nebilme problemlerini birlikte getirir. Ligand bu durumlar göz önüne alınarak zar geçirgenliğini artıracak şekilde dizayn edilebilir. Fakat bu durum çoğu zaman toksik özellikleri artırıp  z n rl ğ  azaltmaktadır.

2.9.2. Paramanyetik komplekslerin manyetik momenti

d ve f orbitallerinde çok sayıda eşleşmemiş elektronları bulunan metal iyonları çok yüksek manyetik momentlere sahiptirler. Çok kararlı metal komplekslerin gerekliliğinden ötürü Fe(III) ve Gd(III) türü iyonlar bu komplekslerde diğer metal iyonlara nazaran daha  nceliklidirler.

2.9.3. Koordine su moleküllerinin sayısı

Üzücü ortamında yer alan suyun durulma becerisi, metal iyon kompleksine bağlı su molekülleri sayısı ile orantılıdır.

2.9.4. Su değişim oranı

Metal iyonlara bağlı su molekülleri ile üzücü sistemdeki su moleküllerinin değişim oranı yada hızı etkili bir paramanyetik durulma için hızlı olmalıdır. Bu durum Gd(III) ve Fe(III) için bir engel teşkil etmez.

2.9.5. Metal- ekirdek Uzaklığı

Paramanyetik durulma etkisi, paramanyetik iyon ile bu iyona bağlı olan su molekülü arasındaki uzaklıkla ters orantılıdır [3].

3. İNFRARED SPEKTROSKOPİSİ

İnfrared (IR) spektroskopisi, maddenin infrared ışınlarını absorplaması üzerine kurulmuş olan bir spektroskopi dalıdır. Homonükleer (N_2 , O_2 , Cl_2 gibi) moleküller hariç bütün moleküller infrared ışınlarını absorplarlar ve infrared spektrumu verirler. İnfrared ışınlarının dalga boyları (1000-300000) nm arasında olmasına rağmen infrared spektroskopisinde ışınlar dalga boyları (2500-25000)nm arasında olan ışıklardan yararlanılır. İnfrared spektroskopisinde ışınlar dalga boylarıyla değil daha çok dalga sayılarıyla verilir. Dalga sayısı $\tilde{\nu} = 1 / \lambda$ (cm^{-1}) ifadesi ile verilir. Buna göre yukarıdaki dalga boyları aralığı (4000-400) cm^{-1} şeklinde ifade edilebilir. Dalga sayıları $400cm^{-1}$ ' den daha küçük ışınların enerjileri moleküllerin dönme enerjileri seviyesinde olduklarından, havadaki moleküller tarafından bile kolaylıkla absorbe edilirler.

İnfrared spektroskopisi daha çok yapı analizinde kullanılır ve çoğu kez elektronik ve NMR spektroskopileriyle birlikte uygulanır. Her maddenin kendine özgü bir infrared spektrumu vardır. Bir maddenin infrared spektrumu ultraviyole spektrumuna göre daha karışıktır. Bunun nedeni infrared ışını enerjilerinin moleküllerin titreşim enerjileri seviyelerinde ve molekülde bir çok titreşim merkezlerinin olmasıdır. Molekül içindeki atomların titreşimleri sırasında atomlar arasındaki uzaklık devamlı büyüyüp küçüldüğünden, iki atom arasında titreşim halinde bir elektriksel alan meydana gelir. Bu titreşim infrared ışınının elektriksel alanının titreşimine uyunca ışın absorplanır ve ışını absorplayan molekülün elektriksel yük dağılımı daha da asimetric olur ve dipol momentini büyür. Buna karşılık N_2 , O_2 , Cl_2 gibi moleküllerde dipol momentini değişmesi olmadığından bunlar infrared ışınlarını absorplamazlar.

3.1. Molekül Titreşimleri

Bir molekülün yapabileceği titreşim sayısı o molekülü oluşturan atomların sayısına bağlıdır. Atom sayısı N olan bir molekül $3N$ serbestlik derecesine sahiptir. Molekülün toplam hareket serbestliğinden üç tanesi x, y, z eksenleri boyunca ötelenme hareketini belirler. Diğer üç tanesi de molekülün x, y, z

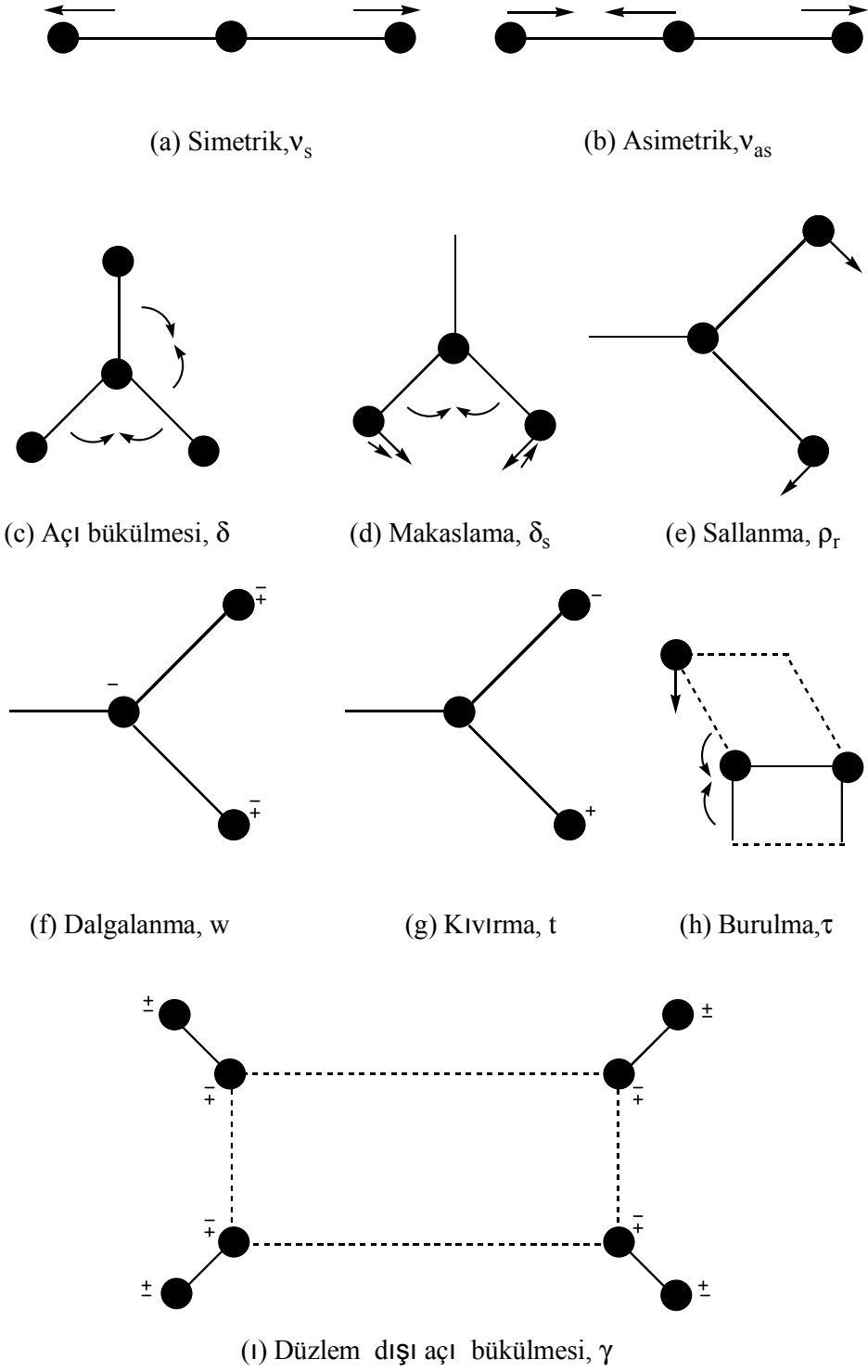
eksenleri etrafındaki dönme hareketini belirler. Doğrusal moleküllerde ise molekül eksenini etrafındaki dönme molekülün tümünün yer değiştirmesi açısından bir anlam taşımayacağından sadece diğer iki eksen etrafındaki dönmeler alınır. Dolayısıyla açılı bir molekül $(3N-6)$ tane, doğrusal bir molekül ise $(3N-5)$ tane çeşitli türde titreşim hareketine sahiptir. Şekil 3.1 ile verilen çok atomlu moleküllerin titreşim hareketleri gerilme, açılı bükülme, düzlem dışı açılı bükülme ve burulma titreşimleri olarak dört grupta incelenebilir.

Gerilme titreşimleri bağın eksenini doğrultusunda periyodik uzama ve kısılma hareketine neden olan titreşimlerdir. Bu tür titreşim hareketleri bağ açısını değiştirmez. Bağ gerilmesi v ile gösterilir. Bu titreşimler simetrik ve asimetrik gerilme olarak ikiye ayrılır. Simetrik gerilme (v_s) moleküldeki tüm bağların uzaması ve kısılması hareketidir. Asimetrik gerilme ise moleküldeki bağların bir veya birkaçının uzarken diğerinin kısılma hareketi yapması olup v_{as} ile gösterilir.

Açılı bükülme titreşimleri iki bağ arasındaki açının periyodik olarak değişmesine neden olan titreşimlerdir ve δ ile gösterilir. Molekül grupları için açılı bükülmesinin makaslama, sallanma, dalgalanma ve kıvrıma gibi özel şekilleri vardır. Düzlem dışı açılı bükülmesi bir düzleme (genellikle en yüksek simetriye sahip düzlem) dik doğrultudaki açılı değişimine neden olan titreşimlerdir. Atomların hareketi ile bir düzlem yok edilmiş olur. Bu titreşim hareketi γ ile gösterilir. Genelde kapalı bir halka oluşturan moleküllerde görülür ve hareketin biçiminden dolayı şemsiye titreşimi adını alır. Burulma titreşimleri ise iki düzlem arasındaki açının bir bağ veya açılıyı deforme edecek şekilde değişimine neden olan titreşimlerdir ve τ ile gösterilir.

3.2. Katıların IR Spektrumunun Alınması

Bileşiklerin infrared spektrumlarının alınması için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler bileşiğin gaz, sıvı, katı veya çözelti halinde oluşuna göre değişirler. Bileşiğin fiziksel durumuna göre moleküller arası etkileşimler değişeceğinden dolayı gaz, sıvı, katı veya çözelti halde alınan spektrumlarda frekans kaymaları ve farklı bantlar ortaya çıkar.



Şekil 3.1. Molekül titreşim türleri

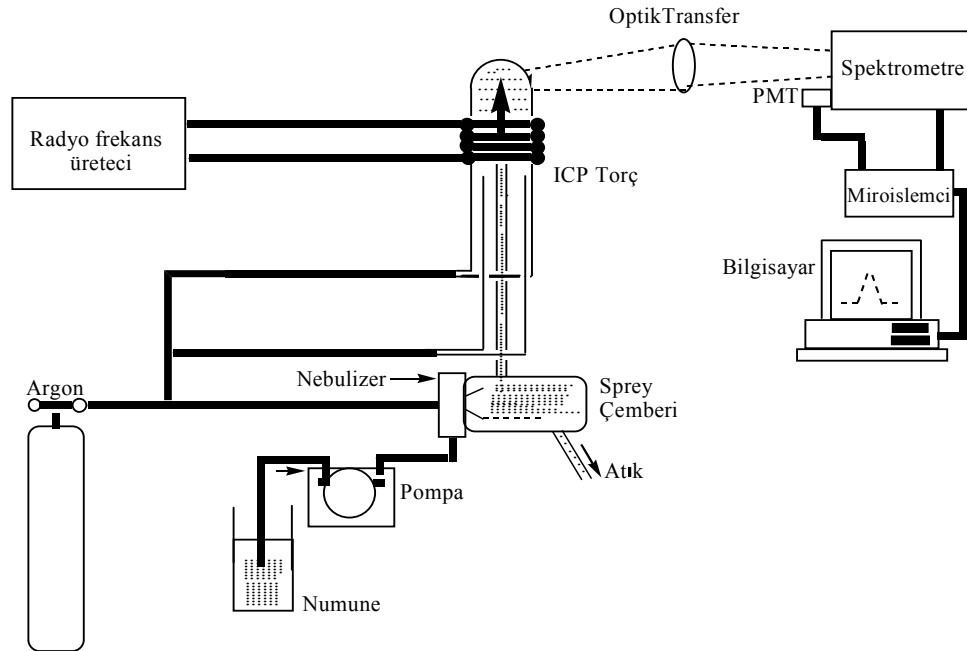
Katıların infrared spektrumlarını alınmasında katı numune disk haline getirme tekniği, süspansiyon haline getirme tekniği ve çözeltili haline getirme tekniği ile hazırlanır. Bu tekniklerin ilki olan disk haline getirme tekniğinde formül ağırlığı 200 grama kadar olan maddelerden 1 mg alınıp agat bir havanda iyice toz edilir. Bunun üzerine yaklaşık 100 mg suyu alınmış potasyum bromür (KBr) konur ve gene iyice ezilerek ince, homojen bir karışım yapılır. Bu karışımından uygun miktarda alınarak preste ince şeffaf disk haline getirilir. Süspansiyon haline getirme tekniğinde (3-5) mg kadar numune agat bir havanda iyice ezilerek büyüklüğü 2 μ ' dan daha küçük parçacıklar haline getirilir.

Bunun üzerine nujol denen saf parafinden 1-2 damla konur ve gene iyice karıştırılır. Bu şekilde hazırlanmış olan süspansiyondan küçük bir damla NaCl veya KBr diskin üzerine damlatılır, üzerine aynı maddeden ikinci bir disk kapatılarak süspansiyonun düzgün bir şekilde yayılması sağlanır. Çözeltili haline getirme tekniğinde ise bir çözeltilinin spektrumunu almak için en iyi yol onu uygun bir çözücüde çözeltili haline getirmektir. Bunun için madenini oldukça derişik bir çözeltilisi yapılır (% 0,1-10 gibi). Çözeltileri koymak için kullanılan infrared sellerinin ışın demeti geçen pencereleri infrared ışınlarını geçiren maddelerden yapılır. Su kullanıldığı zaman NaCl, LiF gibi suda çözünen maddelerden yapılan pencereler kullanılmaz [4].

4. ICP-OES SPEKTROSKOPİSİ

Her elementin karakteristiği olan, farklı uyarılma seviyelerine karşılık gelen fotonların belirli dalga boyları mevcuttur. Hem atomik absorpsiyon hem de atomik emisyon spektroskopisinin temelinde her elementin farklı uyarılma seviyelerine karşılık farklı dalga boylarındaki fotonların tesbit mekanizması yatar. Bunlara ilaveten farklı mekanizmalarla uyarılan atomların temel hale geçerken yaydıkları fotonların yoğunlukları ise, incelenen maddeye ait derişim bilgilerini ihtiva etmektedir.

Optiksel emisyon spektrometresinde (OES), incelenecek olan örnek çok yüksek sıcaklık değerlerine maruz bırakılarak (6000-10000) °K atomların hem ayrışması hem de iyonlaşması yada uyarılması sağlanmaktadır. Atomlar yada iyonlar üst enerji seviyelerine uyarıldıklarında, termal yolla yada emisyon yoluyla tekrar daha düşük enerji seviyelerine dönerler. ICP-OES spektrometrelerinde ise belirli dalga boylarında yayılan fotonların yoğunlukları yada intensiteleri ölçülerek analizi yapılan ilgili numunedeki elementin konsantrasyonu temin edilir. ICP-OES cihazına ait şematik bir diyagram Şekil 4.1’de gösterilmiştir [6].

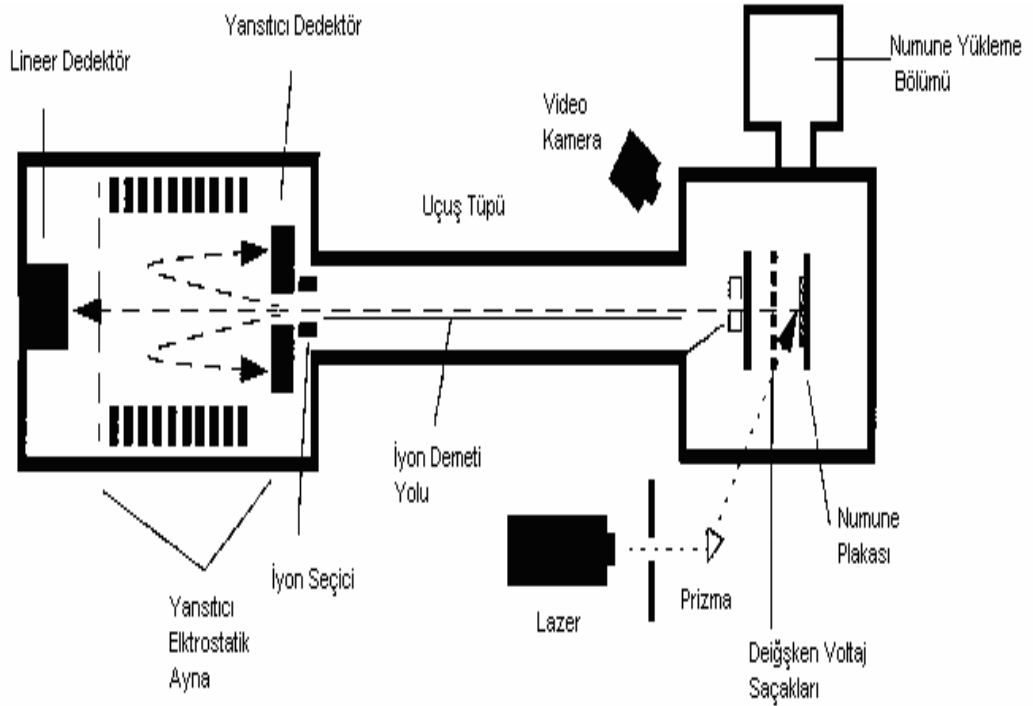


Şekil 4.1. ICP-OES cihazının şematik gösterimi

ICP-OES spektrometresinde incelenecek olan numune çok iyi çözülmüş çözeltiler şeklinde hazırlanmalıdır. Çözelti fazında hazırlanan numuneler Şekil 4.1’de yer alan ICP Torç ünitesinde (700-1500) watt değerleri arasında yer alan radyo frekansı (RF) ile uyarılarak numune gaz fazına geçirilmektedir. Gaz fazında ki numune kendi karakterisitğinde farklı dalga boylarında uyarılarak ışınım yapmakta olup, bu dalga boylarına bağlı olarak incelenen maddenin niceliği ve ışınımın yoğunluğuna bağlı olarak da miktarı hakkında bilgi elde edilebilmektedir [6].

5. MALDI-TOF/MS SPEKTROSKOPİSİ

Kütle Spektrometresi özellikle büyük yapıli biyolojik moleküllerin karakterizasyonunda sıkça kullanılan bir yöntem olup 300.000 Da üzerindeki yapılara kadar uzanabilen bir kullanım alanına sahiptir. MALDI-TOF/MS (Matriks Yapı Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi) Şekil 5.1’de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. MALDI-TOF/MS cihazının şematik gösterimi

TOF (Time of flight) bazlı kütle spektrometresi belirli (kütle / yük) oranlarına sahip olan farklı yapıdaki iyon grupları üzerine uygulana “ E ” elektrik alanı altında bu iyon gruplarının hareketi ilkesine dayanır. Belirli elektriksels alan değerlerinde hızlandırılan bu iyon grupları Şekil 5.1’de gösterilen uçuş tüpü yolunu farklı zamanlarda kat ederek dedektöre ulaşacaklardır. Yani iyon gruplarının tesbitinde (kütle / yük) oranı belirleyici faktördür. Bu durumun matematiksel ifadesi,

$$K.E = [Mv^2] / 2 = Z.e.E.d \quad (5.1)$$

şeklinde verilir. Burada K.E iyonun kinetik enerjisi, M iyonun kütlesi, v iyonun

hızı, Z iyonun yükü, E elektrik alan d ise iyonun dedektöre kadar kat ettiği uçuş tüpü içerisindeki yoldur.

MALDI-TOF/MS spektrometresinde hazırlanan numuneler, deiyonize su, 2,5 dihidrosibenzoikasit, 3,5 dimetoksi-4-hidroksinamik asit gibi matriks yapılar içerisinde çözüldükten sonra numune plakası üzerinde yer alan bölgelere damlatılarak çözelti fazındaki numune plaka üzerinde kurumaya bırakılır. Kuruma işlemi tamamlandıktan sonra hazırlanan örnek numune yükleme bölümüne yerleştirilir. Daha sonra numunenin üzerine lazer demeti yollanması suretiyle buharlaşıp iyonlarına ayrışması sağlanır. Farklı bileşenlerine ayrılan numune uçuş tüpü içerisinde belirli elektriksel alan değerlerine tabi tutularak hızlandırılır (kütle / yük) oranlarına bağlı olarak farklı sürelerde dedektöre ulaşan iyonların dedektörde tesbiti yapılır [7].

6. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu bölümde gadolonyum içerikli polimerin elde edilmesi, spin-örgü durulması, FT-IR, ICP-OES, MALDI-TOF/MS ve fareler üzerinde yapılan akut toksisite çalışmaları üzerinde durulmuştur.

6.1. Gadolonyum İçerikli Polimerik Kontrast Ajanı Sentezi

MAAP (metakriiloamidoantipirin) molekülü Ersöz ve arkadaşlarının [8] yöntemiyle sentezlenmiştir. Daha sonra 1.0 mmol $Gd(NO_3)_3$ ile 3.0 mmol MAAP 20 ml etanol ve asetonitril karışımı ilave edilerek bir manyetik karıştırıcı yardımıyla kahve turuncu renkli matakriiloamidoantipirin Gd(III) metal şelat monomer yapısı beher içerisinde gözlemlenene kadar yaklaşık 2 saat süreyle karıştırılmıştır. Daha sonra bu monomer AIBN (α - α' azobisisobütironitril) eşliğinde 60 °C polimerleştirilmiştir. Vakum ortamında kurutulan polimer, FT-NMR, FT-IR, ICP-OES, MALDI-TOF/MS ve akut toksisite çalışmalarında kullanılmıştır.

6.2. Spin-Örgü Durulması Analizleri

Bir atomda spin-örgü durulma zamanı her zaman için spin-spin durulma zamanından daha büyüktür, bunun aksi kesinlikle olamaz [1]. Bu gerçek göz önünde tutularak sentezlenen polimer için sadece spin-örgü durulma süreleri dikkate alınarak Gd-MAAP polimer yapının farklı derişimlerdeki Gd(III) iyonları için ayrı ayrı durulma süreleri hesaplanmıştır. Beş farklı konsantrasyondaki Gd(III) değerleri için, elde edilen polimer yapı her numune 0,75 mm' lik D_2O kullanılarak 5 mm' lik NMR tüplerinde çözülüp spin-örgü (T_1) süreleri JEOL EX90A NMR cihazı ile 90 MHz' lik bir alan altında 32.6°C sıcaklık değerinde Inversion Recovery metodu uygulanarak hesaplanmıştır.

Spin örgü durulma süreleri olabildiğince sabit sıcaklık değerlerinde incelenmeye çalışılmıştır, çünkü Boltzmann dağılım yasasına göre alt ve üst enerji seviyelerinde bulunan protonların sayısal oranı,

$$N_{\alpha} / N_{\beta} = e^{-\Delta E / kT} \quad (4.1)$$

formülü ile ifade edilir [1]. Buradan da görüleceği gibi sıcaklık bu dağılımı etkileyebilecek faktörler arasında yer almaktadır, dolayısıyla her numune aynı sıcaklık değerlerinde ele alınmıştır.

Paramanyetik sulu çözeltiler için, çözücünün boyuna (longitudinal) durulma oranı, $1/T_1$, paramanyetik türün konsantrasyonuna bağlı olarak,

$$(1/T_1)_{obs} = (1/T_1)_d + R_1 \times [M] \quad (4.1)$$

denkleme göre değişme göstermektedir. Bu denklemde $(1/T_1)_{obs}$ ve $(1/T_1)_d$ sırasıyla paramanyetik türün varlığında ve yokluğunda çözücüye ait durulma oranlarıdır. Rölaksivite R_1 genel olarak $(1/T_1)$ ifadesine karşılık $[M]$ ifadesinin grafiği çizilerek elde edilir ve bir yapıya ait durulma becerisini ifade etmekte kullanılır [9].

6.3. FT-IR Analizleri

MAAP ve Gd-MAAP yapılar için $(4000-400)\text{cm}^{-1}$ aralığında Perkin-Elmer Spectrum 2000 FT-IR cihazı yardımıyla, KBr disk tekniği kullanılarak spektrumlar elde edilmiş olup Gd(III) iyonunun koordinasyonu muhtemel olan “O” ve “N” atomlarına ait bantlardaki kaymalar incelenmiştir.

6.4. ICP-OES Analizleri

Beş farklı derişimde hazırlanan Gd-MAAP polimer yapının içerisindeki paramanyetik ajan olan Gd(III) iyonlarının derişimi, polimere ait hem spin-örgü durulma sürelerinde hem de polimerin canlı organizma üzerindeki toksik etkileri bakımından önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple Perkin Elmer Optima 4000 serisi ICP-OES (gadolonyum için sırasıyla 342.247 nm, 336.223 nm, 335.047 ve 308.199 nm de çalışılmıştır) cihazı yardımıyla Gd(III) iyonlarına ait miktarlar ppm mertebesinde tayin edilmiştir.

6.5. MALDI-TOF/MS Analizleri

Bu çalışma Gd-MAAP polimer yapısının molekül ağırlığı hakkında bilgi edinebilmek amacıyla yapılmıştır. Polimer madde deiyonize suda çözülüp matriks yapı olarak ise 2,5 dihidroksi benzoik asit (DHB) kullanılmıştır. Uygulanan bu yöntemde 10 mg DHB matriks maddesi 1ml deiyonize su içerisinde, 10 mg Gd-MAAP polimeri ise yine 1ml deiyonize su içerisinde çözülmüştür. Bu işlem tamamlandıktan sonra matriks:örnek numunelerinden (24:1) μ l oranlarında alınarak ependorf kabında karıştırılmak suretiyle homojen bir çözelti elde edilmiştir. Elde edilen bu çözelti numune plakaları üzerindeki spotlara damlatıldıktan sonra kurumaya bırakılmıştır. Kuruma tamamlandıktan sonra numune MALDI-TOF/MS cihazına verilip analiz tamamlanmıştır [10].

6.5. Toksikite Çalışmaları

Bu çalışmada Gd-MAAP polimer yapısının çözücüsü olarak fizyolojik Krebs-Henseleit çözeltisi kullanılmıştır. Fizyolojik çözeltinin bileşiminde bulunan kimyasal maddeler, (mM olarak): NaCl, 118,4; KCl, 4,7; CaCl₂.2H₂O), 1,9; NaHCO₃, 25,0; MgSO₄.7H₂O, 1,2; KH₂PO₄, 1,2 ve glikoz 11,1 şeklinde sıralanmaktadır. Deneylerde lokal olarak yetiştirilen her iki cinsten Swiss Albino türü (26-35) gram ağırlıklarında fareler kullanılmıştır.

Deneyde Krebs-Henseleit fizyolojik çözeltisinde çözülmüş olan test maddesi, deney hayvanlarına intraperitoneal olarak uygulandıktan sonra 48 saat boyunca gözleme tabi tutulmuş olup deney ve gözlemler neticesinde kullanılan test maddesinin (Gd-MAAP) 3,5 mg dozunda herhangi bir akut toksik etkisinin olmadığı gözlenmiş ve Lourke' nin çalışmasına göre [11] test edilen bu dozda Gd-MAAP' ın herhangi bir akut toksisitesinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

7. DENEYSEL BULGULAR

Bu kısımda numunelerin FT-NMR, FT-IR, ICP-OES ve MALDI-TOF/MS analizleri ile Toksikite çalışmalarına ait sonuçlar değerlendirilmektedir.

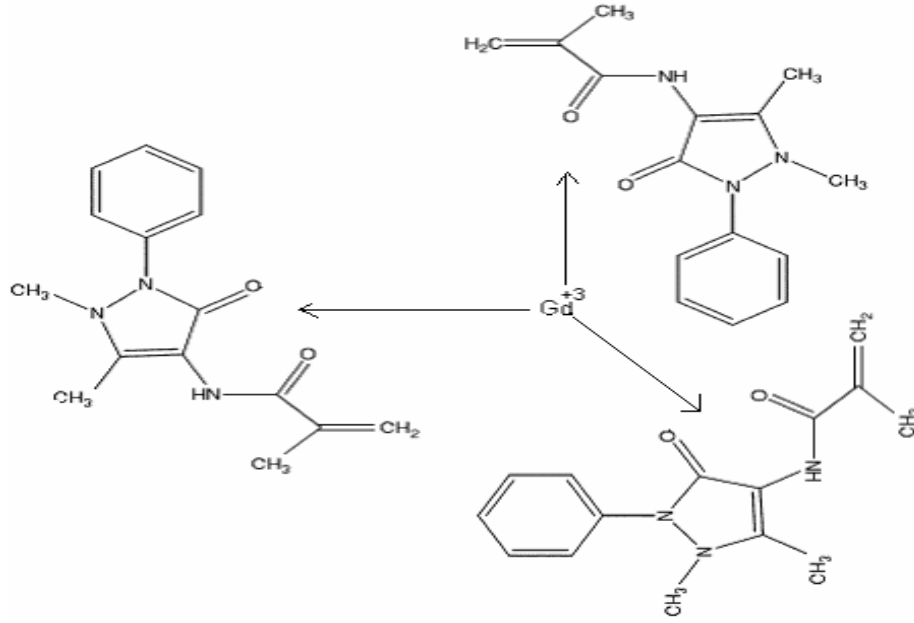
Yapılan ölçümler sonucu elde edilen rölaksivite değerleri konsantrasyona bağlı olarak Çizelge 7.1' den de görülebileceği gibi $9.28 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ile $9.88 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ arasında değişmektedir. En düşük konsantrasyon değerinde bile $9.28 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ lik rölaksivite değeri ile ticari olarak kullanılan Gd-DTPA ($5.25 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) kontrast ajanından daha yüksek rölaksivite değerine ulaşılmıştır [9].

Çizelge 7.1. Gd-MAAP polimere ait rölaksivite değerleri ($32.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ve 90 MHz)

Gd(III) (mmol)	Sıcaklık ($^\circ\text{C}$)	Rölaksivite ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
0.0016	32.6	9.28
0.0032	32.6	9.41
0.0063	32.6	9.60
0.0070	32.6	9.83
0.0071	32.6	9.88

Su protonlarına ait spin-örgü durulma süreleri (T_1) yaklaşık olarak 3.4 s civarındadır [12]. Sentezlenen Gd(III) içerikli polimer yapı göz önüne alındığında 3.4 s lik T_1 durulma süresi milisaniye mertebesine indirgenmiştir. Bu durum paramanyetik gadolonyum elementinin polimer yapıya bağlandığı sonucuna götürebilecek sonuçlardan biridir. Yalnız sadece bu verilerden yola çıkılarak Gd(III) iyonlarının MAAP yapıya bağlandığını söyleyebilmek zordur, çünkü ortamda serbest halde bulunan Gd(III) iyonları da sistemin spin-örgü durulma süresine benzer şekilde etkiyerek yine bu durulma süresinin kısalmasına neden olabilmektedir. Bu durum göz önüne alınarak Gd-MAAP polimer yapının toksik etkisinin incelenmesi neticesinde serbest halde oldukça zehirli olduğu bilinen [3] Gd(III) iyonlarının ne denli MAAP yapı ile koordinasyon içerisine girip girmediği de araştırılmıştır. Bunun için Swiss Albino türü (26-35) gram ağırlıklarındaki fareler üzerinde akut toksisite çalışmaları yapılmıştır. Serbest halde oldukça toksik olan bu Gd(III) iyonları [3] bu durumdan ötürü ancak güçlü kompleksler oluşturmaları halinde güvenli olarak canlı organizmalar üzerinde kullanılabilirler. Yapılan bu toksisite çalışması neticesinde (klinik doz 0.1 mmol Gd/kg) [13] 3.5 mg/kg Gd-MAAP için herhangi bir yan etkiye

rastlanılmamıştır. Bu durum Gd iyonlarının MAAP ile koordinasyonunu destekleyen başka bir bulgudur (Şekil 7.1).



Şekil 7.1. Gd-MAAP metal şelat monomerin olası oluşumu

Gd-MAAP yapısında Gd(III) iyonunun koordine olduğu üçlü MAAP yapıya kütlece oranı 5.18'dir. Bu oran alınan miktar ne olursa olsun korunmak zorundadır. Yapılan ICP-OES çalışmaları 0,0015gr Gd-MAAP maddesinde 0,258 mg Gd(III) iyonu olduğunu göstermektedir ki bu da yaklaşık 4,8 değerine karşılık gelmekte olup bir Gd(III) iyonuna karşılık üçlü MAAP etkileşimi olayını desteklemektedir. Farklı miktarlarda Gd-MAAP maddesi üzerinde yapılan ICP-OES analiz sonuçları Çizelge 7.2' de sunulmuştur.

Çizelge 7.2. ICP-OES analiz sonuçları (0.75ml Gd-MAAP çözeltisinde)

Uyarılma seviyeleri (nm)	342.247 nm	336.223 nm	335.047 nm	308.199nm
0.0015 g Gd-MAAP	343.9 ppm	347.6 ppm	345.2 ppm	339.4 ppm
0.0028g Gd-MAAP	684.4 ppm	686.3 ppm	682.3 ppm	663.9 ppm
0.0050g Gd-MAAP	1322 ppm	1320 ppm	1317 ppm	1314 ppm
0.0060g Gd-MAAP	1469 ppm	1479 ppm	1482 ppm	1454 ppm
0.0070g Gd-MAAP	1500 ppm	1497 ppm	1494 ppm	1482 ppm

Gd(III) iyonu bulunduğu yapı içerisinde dokuz tane koordine kovalent bağ yapma eğilimi içerisindedir [3]. Sentezlenen yapı itibariyle Gd(III) iyonunun üç tane koordine kovalent bağı da ortamda bulunan H₂O molekülleriyle yapması gerekmektedir. Spin-örgü durulma sürelerindeki milisaniye mertebesine kayma eğiliminin nedenlerinden biriside budur.

Şekil 7.2’ de MAAP (spektrum I) ve Gd-MAAP (spektrum II) yapılarına ait KBr disk haline getirme tekniğiyle elde edilen spektrumlar görünmektedir. Yapılara ait (N-H) titreşimleri A, A*, B, B* ile (C=O) titreşimleri ise C, C* ile gösterilmiştir.

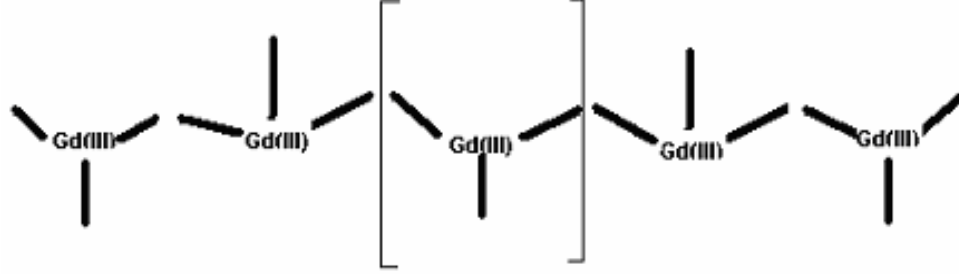
Gadolonyum iyonu ile koordine kovalent yapı oluşturması söz konusu olan “N” ve “O” atomlarının içinde bulunduğu moleküllere ait titreşim frekansları Çizelge 7.3’ de gösterilmiştir. Özellikle yapısında (C=O) grubu barındıran moleküllerde Fe(III), Mn(II) ve Gd(III) gibi metalik özellik gösteren yapıların “O” atomu ile koordinasyonu (C=O) bandına ait titreşim frekansındaki azalan dalga sayısı bölgelerine doğru kaymalar şeklinde kendini göstermektedir [13]. Bu çalışmada (C=O) bandında meydana gelen 18 cm⁻¹’ lik kayma gadolonyum iyonunun bu noktayla koordinasyon bağı etkileşimine girdiğinin bir göstergesi sayılabilecek kadar büyüktür. Buna karşılıklı (N-H) bandında meydana gelen kayma değeri ise etkin bir koordinasyon için yeterli sayılabilecek düzeyde değildir. Çok zayıf Gd-N koordinasyon ifadesinde dahi kayma değeri 6 cm⁻¹ olarak ifade edilmektedir [15].

Çizelge 7.3. MAAP (spektrum I) ve Gd-MAAP (spektrum II) yapılarının infrared frekansları(cm⁻¹)

Örnek	(v _{N-H}) cm ⁻¹	(v _{N-H}) cm ⁻¹	(v _{C=O}) cm ⁻¹
Spektrum I	3525	3441	1649
Spektrum II	3528	3444	1667

Şekil 7.3’ de Gd-MAAP polimer yapının şematik gösterimi yapılmış olup, ICP-OES spektrometresinde yapılan ölçümler, monomer yapı içerisindeki gadolonyumun üç adet MAAP yapıya olan kütlece oranı göz önüne alındığında, farklı miktarlarda alınan Gd-MAAP polimerlerinde de benzer oranın korunduğunu ortaya koymaktadır. ICO-OES verileri diğer spektroskopik analiz sonuçları da göz

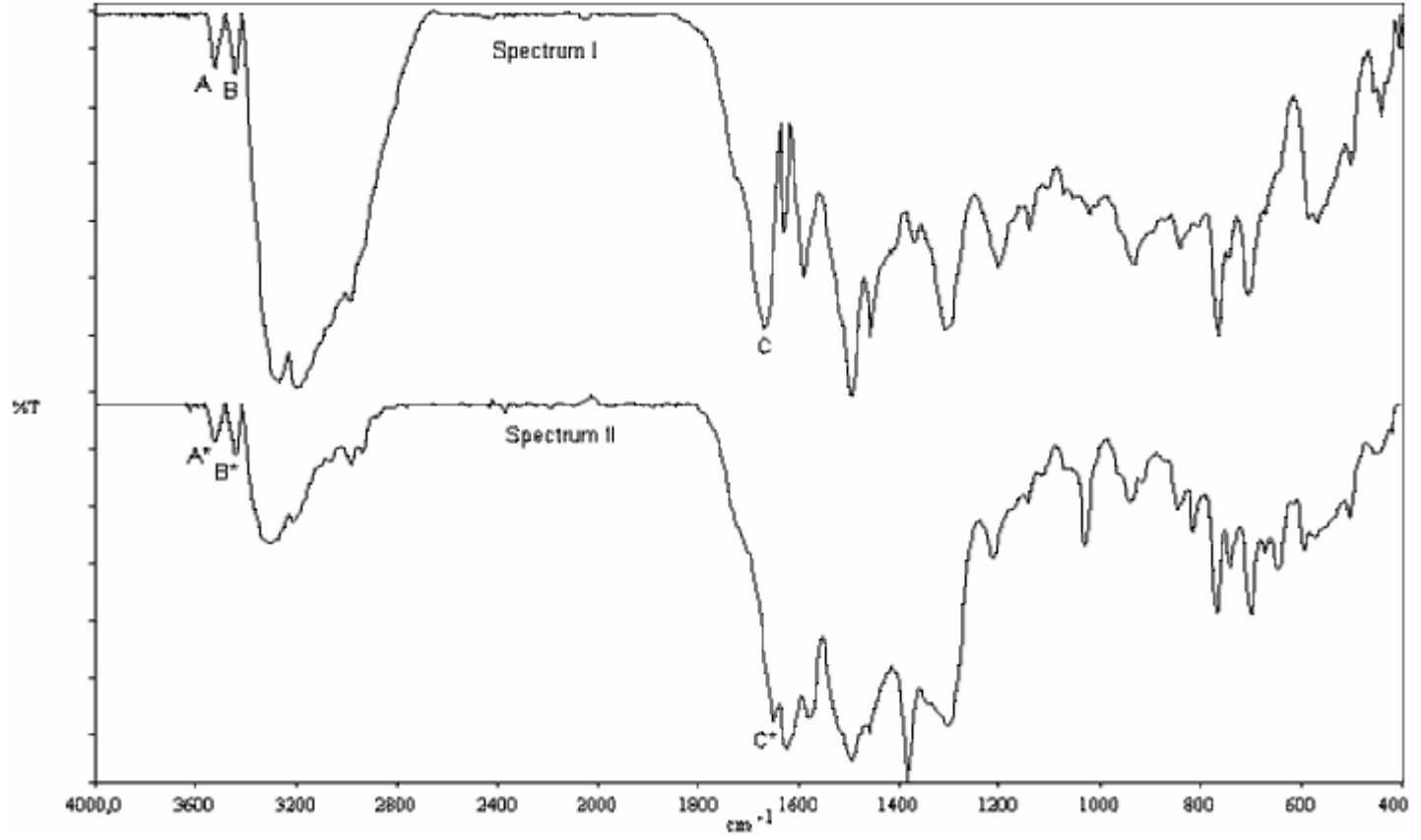
önüne alınır, Şekil 7.2’ de öngörülen Gd-MAAP polimer yapının doğruluğunu destekler niteliktedir.



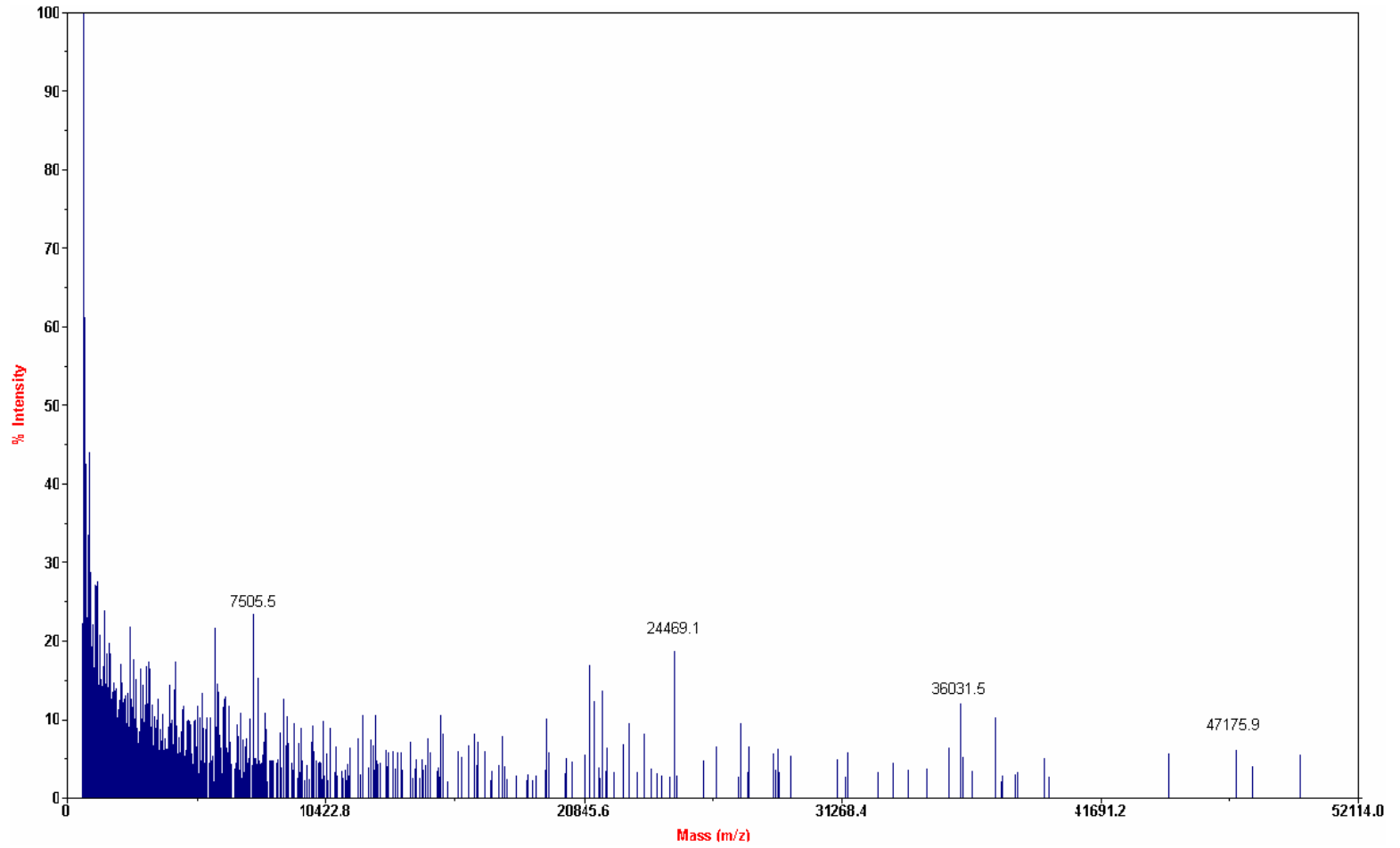
Şekil 7.2. Olası poly (Gd-MAAP) yapısı, siyah çizgiler MAAP molekülünü simgelemektedir

Şekil 7.4’ te Gd-MAAP polimer yapıya ait (0-52114) Da bölgesinde MALDI-TOF/MS spektrumu gözükmemektedir. Yapıya ait spektrumda maksimum pik değerleri Şekil 7.4’ te verilmiştir. Buradan yola çıkılarak polimer yapının 47175.9 Da değerini verdiği nokta en yüksek (kütle / yük) değerini aldığı nokta olduğu için, polimerin molekül ağırlığı yaklaşık olarak bu değerdir. Gd-MAAP yapının bir monomerlik ünitesi bu yapıya bağlanacak olan 3 adet H₂O molekülü ile birlikte 1024 gr/mol’ dür. Buradan yola çıkılarak polimer yapının $(47175.9 / 1024.0) = 46.07$, yani yaklaşık olarak 46 monomerden oluştuğu söylenebilir. Yine şekildeki 36031.5 Da değeri 35.18, yani yaklaşık olarak 35 monomere ve 24469.1 Da ifadesi ise 23.90, yani yaklaşık olarak 24 monomere, son olarak ise 7505.5 Da’ lık değeri ise 7.33, yani yaklaşık olarak 7 monomere karşılık gelmektedir.

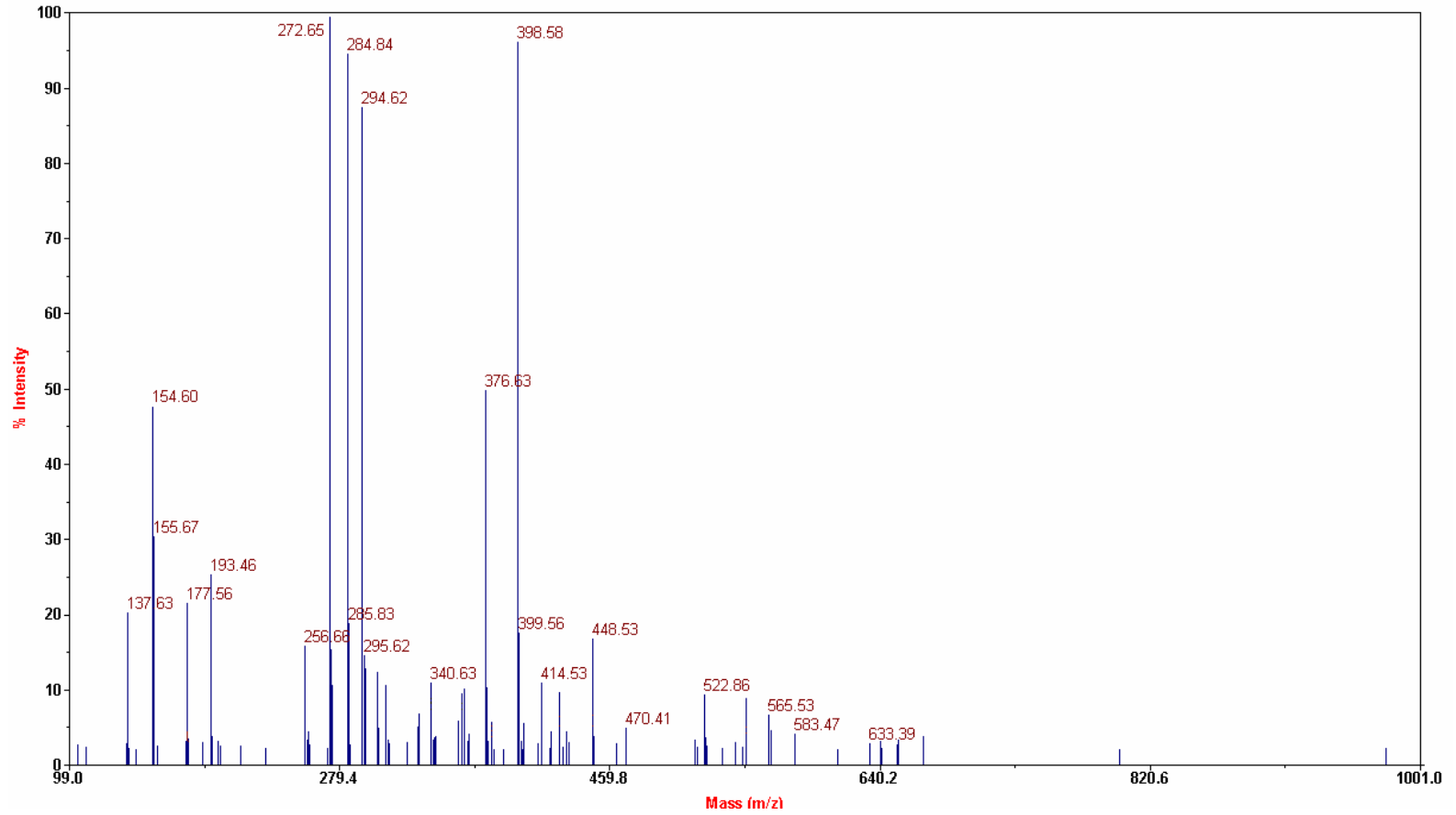
Şekil 7.5’ te Gd-MAAP polimer yapının (99-1001) Da bölgesindeki MALDI-TF/MS spektrumu görülmektedir. Bu şekilde intensite değeri en yüksek olan pik 272.65 Da’ lık intensite değeri ile MAAP (metakriloamidoantipirin) molekülüne aittir. Dolayısı ile mevcut yapı içerisinde bolluk oranı en yüksek olan MAAP molekülüdür. Yine Şekil 7.5’ te 154.60 Da ve 155.67 Da’ da görülen pikler gadolonyum iyonuna aittir.



Şekil 7.3. MAAP (spektrum I) ve Gd-MAAP (spektrum 2) yapılarının infrared spektrumları



Şekil 7.4. Gd-MAAP polimerine ait MALDI-TOF/MS spektrumu (0-52114 Da)



Şekil 7.5. Gd-MAAP monomerine ait MALDI-TOF/MS spektrumu (990-1001 Da)

8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada Gd-MAAP polimer yapısı kimyasal yollarla elde edilerek 90MHz' lik FT-NMR cihazında spin-örgü durulma süreleri elde edilmiş olup aynı zamanda (4000-400) cm^{-1} infrared spektroskopik bölgesinde incelenmiştir. Bunlara ilaveten polimer yapı içerisindeki Gd(III) iyonlarının konsantrasyonları farklı derişimlerdeki çözeltiler için ICP-OES (inductively coupled plasma optical emission spectrometer) cihazı yardımıyla ppm mertebesinde tesbit edilmiştir. Gd-MAAP polimer yapının moleköl ağırlığına ilişkin veriler MALDI-TOF/MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight) cihazı ile yapılan ölçümler neticesinde ortaya konmuştur. Elde edilen polimer yapının akut toksisitesi ise Swiss Albino türü (26-35) gram ağırlıklarında erkek ve dişi fareler üzerinde test edilmiş olup 3,5 mg/kg' lık test maddesi (Gd-MAAP) farelere intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonu takip eden 48 saat boyunca fareler gözleme tabi tutulmuş olup herhangi bir yan etkiye rastlanılmamıştır. Bu durum sentezlenen polimer yapının 3.5 mg/kg seviyesinde akut toksik etkisinin olmadığını ortaya koymaktadır. Aynı zamanda bu durum elde edilen yapı içerisinde serbest halde Gd(III) iyonları bulunmadığı sonucunu desteklemektedir.

Yapılan ölçümler sonucu elde edilen rölaksivite değerleri konsantrasyona bağılı olarak $9.28 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ile $9.88 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ arasında değişmektedir. En düşük konsantrasyon değerinde bile $9.28 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ lik rölaksivite değeri ile ticari olarak kullanılan Gd-DTPA ($5.25 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) [9] kontrast ajanından daha yüksek rölaksivite değerine ulaşılmıştır. Bu durum Gd-MAAP yapının muhtemel kontrast ajanı olarak kullanılabilme olasılığını güçlendirmektedir.

FT-IR çalışmalarında yapıdaki (C=O) gruplarının sisteme Gd(III) ilave edilmeden önce ve edildikten sonra ortaya çıkan spektrum değerleri incelendiğinde bu grup değerlerinde meydana gelen kaymalar metal iyonun MAAP yapı ile (C=O) uçlarında yer alan "O" atomu ile etkileşime girdiğinin bir göstergesidir. Gd(III) iyonlarının "N" ve "O" atomları ile koordinasyon yetenekleri göz önüne alındığında (N-H) titreşimleri de incelenmelidir. Ancak (N-H) titreşim bandlarında meydana gelen kaymalar 3 cm^{-1} ile çok zayıf

kalmaktadırlar. Bu durum Gd(III) iyonlarının MAAP yapı ile “O” uçlarından daha etkin bir biçimde etkileşime girdiğini göstermektedir.

Sonuç olarak poly(Gd-MAAP) polimerinin rölaksivite değerleri ve bu polimer yapının 3.5 mg/kg değerinde her hangi bir akut toksik etki göstermeyişi gibi veriler bu maddenin olası bir kontrast ajanı olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] BALCI, M., *Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi*, ODTÜ Geliştirme Vakfi Yayıncılık ve İletişim A.Ş., Ankara, Türkiye (2000).
- [2] UZGIRIS, E.E., CLINE, H., MOASSER, B., GRIMMOND, B., AMARATUNGA, M., SMITH, J.F. ve GODDARD, G., *Conformation and structure of polymeric contrast agents for medical imaging*, *Biomacromolecules*, **5**, 54-61, (2004).
- [3] MARTELL, A.E. ve HANCOCK, R.D., *Metal complexes in aqueous solutions*, Plenum Pres, New York, USA, (1996).
- [4] GÜNDÜZ, T., *İnstrümantal Analizi*, Gazi Kitabevi, Ankara, (2002)
- [5] LATTUADA, L. ve LUX, G., *Synthesis of Gd-DTPA-cholesterol: a new lipophilic gadolinium complex as a potential MRI contrast agent*, *Tetrahedron Letters*, **44**, 3893-3895, (2003).
- [6] BOSS, C. ve FREDEEN, J.F., *Concepts, instrumentation, and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, Perkin-Elmer Corporation, USA.
- [7] <http://www.abrf.org/ABRFNews/1997/June1997/jun97lennon.htm>
- [8] ERSÖZ A., DENİZLİ A., ŞENER İ., ATILIR A., DİLTEMİZ S. ve SAY R., *Removal of phenolic compounds with nitrophenol-imprinted polymer based on π - π and hydrogen-bonding interactions*, *Separation and Purification Technology*, **38**, 173-179 (2004).
- [9] SUN, G., FENG, J., WU, H., PEI, F., FANG, K. ve LEI, H., *Gadolinium heteropoly complex $K_{17}[Gd(P_2W_{17}O_{61})_2]$ as a potential MRI contrast agent* *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **281**, 405-409, (2004).
- [10] Applied Biosystems, *Voyager biospectrometry workstation with delayed extraction technology*, part number 4317709 Rev. B., USA, (2001).
- [11] LOURKE, D., *A new approach to practical acute toxicity testing*, *Arch. Toxicol*, **54**, 275-287, (1983).
- [12] PARKS, J.J., *Measurements of spin relaxation in liquids by pulsed NMR*, Cornell University, Newyork, 14853, (2004).

- [13] FENG, J., LI, X., PEI, F., SUN, G., ZHANG, X. ve LIU, M., An evaluation of gadolinium polyoxometales as possible MRI contrast agent, *Magnetic Resonance Imaging*, **20**, 407-412, (2002).
- [14] NAKAMOTO, K. *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*, Wiley, New York, (1986).
- [15] WANG, J., *Synthesis and structure of nine-coordination complex $(NH_4)_3[Y(TTHA)].5H_2O$* , *Chinese Univ.*, **60**, 536-539, (2002).