

На правах рукописи

СВИЯЗОВ Сергей Владимирович

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЯДЕРНОЙ СПИНОВОЙ ГИПЕРПОЛЯРИ-
ЗАЦИИ НА ОСНОВЕ ПАРАВОДОРОДА: ОТ ПОЛУЧЕНИЯ КОН-
ТРАСТНЫХ АГЕНТОВ ДО ОБОГАЩЕНИЯ ЯДЕРНЫХ СПИНО-
ВЫХ ИЗОМЕРОВ ЭТИЛЕНА

1.3.17 - Химическая физика, горение и взрыв,
физика экстремальных состояний вещества

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте «Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель	Буруева Дударь Баировна кандидат химических наук, научный сотрудник МТЦ СО РАН
Официальные оппоненты	Толстой Петр Михайлович доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физической органической химии Института химии, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург Шернюков Андрей Владимирович кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории магнитной радиоспектроскопии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова СО РАН», г. Новосибирск
Ведущая организация	Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону

Защита диссертации состоится “30” сентября 2026 года в 15-00 часов на заседании Диссертационного совета 24.1.150.01 при ФГБУН Институте химической кинетики и горения Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН) по адресу: 630090, Новосибирск, ул. Институтская, д. 3, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИХКГ СО РАН и на сайте <http://kinetics.nsc.ru>. Текст автореферата размещён на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу: <http://vak.minobrnauki.gov.ru>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 630090, г. Новосибирск, Институтская, 3, ИХКГ СО РАН, учёному секретарю диссертационного совета 24.1.150.01; e-mail: ref_dissovet@kinetics.nsc.ru.

Автореферат разослан “ ” _____ 2026 года

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



И. П. Поздняков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) широко применяется в различных областях науки и техники как мощный аналитический инструмент для изучения структуры и реакционной способности различных молекул и материалов. Среди всех методов диагностической визуализации большое значение имеет метод магнитно-резонансной томографии (МРТ), основанный на эффекте ЯМР. Однако фундаментальным ограничением методов ЯМР и МРТ остается низкая чувствительность, связанная с малой разностью заселенностей ядерных спиновых уровней в условиях теплового равновесия.

Одним из наиболее перспективных подходов к преодолению данного ограничения является развитие методов ядерной спиновой гиперполяризации, заключающихся в создании неравновесных заселенностей ядерных спиновых уровней и, вследствие этого, позволяющих получать усиленные сигналы в спектре ЯМР. Использование данных методов открывает путь к регистрации сигналов от веществ с низкой концентрацией, изучению механизмов реакций и исследованию биологических процессов *in vitro* и *in vivo*. Особое место среди методов гиперполяризации занимают подходы, основанные на использовании ядерного спинового изомера молекулярного водорода – параводорода (с полным ядерным спином $I=0$), который представляет собой доступный источник ядерного спинового синглетного порядка. К таким методам относится индуцированная параводородом поляризация ядер (ИППЯ), основанная на реакции гидрирования ненасыщенных соединений параводородом для получения продуктов с усиленными сигналами в спектре ЯМР (гиперполяризованные молекулы). Для наблюдения эффекта ИППЯ необходимо, чтобы спиновая корреляция между атомами водорода (пришедшими из параводорода) сохранялась хотя бы частично в продуктах гидрирования, что соблюдается в случае парного пути присоединения водорода к ненасыщенной связи субстрата. Следовательно, эффективность применения метода ИППЯ напрямую определяется механизмом каталитического гидрирования. В частности, для гетерогенных катализаторов парный путь присоединения водорода в целом не характерен, в то время как получение гиперполяризованных газов имеет ряд преимуществ, включая удобство отделения катализатора от продукта. Таким образом, важной задачей в области ИППЯ является поиск гетерогенных катализаторов, обеспечивающих высокую долю парного присоединения. В этом контексте исследование влияния природы активных центров, распределения активного компонента и в целом структуры катализаторов на эффективность парного присоединения водорода имеет большое значение для дальнейшего развития метода гетерогенной ИППЯ и его потенциальных применений.

Отдельную фундаментальную значимость имеет изучение ядерных спиновых изомеров этилена и процессов их взаимопревращения, осуществ-

ляемое с помощью метода гетерогенного ИППЯ. Этилен является важной молекулой как для фундаментальной физики, так и для химической промышленности, поскольку участвует в многочисленных химических процессах: полимеризации, олигомеризации, окислении, алкилировании и других. Возможность получения этилена с неравновесным соотношением ядерных спиновых изомеров открывает перспективы как для изучения квантовой релаксации и спиновой динамики в симметричных молекулах, так и для получения долгоживущих ядерных спиновых состояний, потенциально открывающих новые возможности в изучении промышленных процессов, в которых вовлечен этилен.

Другой не менее важной областью применения гиперполяризованных веществ являются исследования метаболизма в реальном времени, открывающие значительные диагностические возможности. Разработка подходов к гиперполяризации биомолекул, вовлеченных в ключевые метаболические пути, затрагиваемые различными патологиями, является чрезвычайно важной задачей для дальнейшего развития применения МРТ в медицине и улучшения ее возможностей в контексте ранней диагностики патологических изменений. Значительным потенциалом для гиперполяризации биомолекул обладает модификация метода ИППЯ – RHP-SAN, позволяющая поляризовать биомолекулы, содержащие карбоксильную группу. В этой связи особый интерес представляют ацетоацетат и формиат. Ацетоацетат рассматривается как потенциальный маркер окислительно-восстановительного состояния митохондрий, и следовательно, позволяет диагностировать патологии, связанные с нарушением митохондриального метаболизма (рак, сердечно-сосудистые заболевания и т. д.). Формиат, в свою очередь, является важной молекулой для ряда биохимических и промышленных процессов, поэтому разработка методов его гиперполяризации также расширяет возможности применения ЯМР.

Другим перспективным подходом для гиперполяризации биомолекул является метод усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE). Метод SABRE позволяет поляризовать биомолекулы по ядрам ^{15}N , что открывает новые возможности для изучения азотсодержащих метаболитов, лекарственных веществ и процессов их превращения в биологических системах. В частности, $[\text{}^{15}\text{N}_3]\text{метронидазол}$ является привлекательным субстратом, поскольку известно, что он накапливается в гипоксичных опухолевых клетках и, следовательно, обладает потенциалом для их диагностики. В этом отношении разработка подходов к получению гиперполяризованного $[\text{}^{15}\text{N}_3]\text{метронидазола}$ в биосовместимой среде является важной задачей для дальнейшего применения подобных соединений в биомедицинских исследованиях.

Таким образом, актуальность диссертационной работы определяется необходимостью развития высокочувствительных методов ЯМР и МРТ на основе ядерной спиновой гиперполяризации, расширения круга гиперполя-

ризуемых молекул, оптимизации каталитических систем для эффективного парного присоединения водорода, а также углубления фундаментального понимания процессов спиновой динамики и взаимопревращения ядерных спиновых изомеров. Работа объединяет фундаментальные задачи химической физики с прикладными задачами создания гиперполяризованных контрастных агентов и молекулярных зондов для исследования метаболизма.

Целью данной диссертационной работы являлось развитие метода индуцированной параводородом поляризации ядер (ИППЯ) и метода усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металллическим комплексом (SABRE) для получения новой фундаментальной информации о взаимопревращении ядерных спиновых изомеров этилена и разработки подходов к получению новых контрастных агентов для МРТ ($[^{13}\text{C}]$ формиат, $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат, $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол). Для достижения данной цели требовалось решить следующие задачи:

- 1) Изучить влияние распределения активного компонента катализаторов $\text{Pd}_1/\text{ND}@\text{G}$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@\text{G}$ на их активность в парном присоединении водорода к пропину в реакции селективного гидрирования пропина.
- 2) Изучить каталитическую активность трех иммобилизованных родиевых и иридиевых катализаторов ($\text{Rh-S}@\text{SiO}_2$, $\text{Ir-S}@\text{SiO}_2$, $\text{Ir-P}@\text{SiO}_2$) в реакции селективного гидрирования ацетилен параводородом.
- 3) Изучить динамику взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена, полученного в реакции селективного гидрирования ацетилен параводородом, на трех катализаторах ($\text{Ir-P}@\text{SiO}_2$, $\text{Pd-In}/\text{Al}_2\text{O}_3$, Pd/TiO_2).
- 4) Изучить и оптимизировать все этапы метода PHIP-SAH для гиперполяризации $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия и $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата натрия.
- 5) Разработать подход к гиперполяризации $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола в биосовместимой водной среде.

Научная новизна

Была изучена зависимость активности в парном присоединении водорода в реакции селективного гидрирования пропина от распределения активного компонента катализаторов $\text{Pd}_1/\text{ND}@\text{G}$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@\text{G}$. Было показано, что активность примерно в 6 раз выше для катализатора $\text{Pd}_1/\text{ND}@\text{G}$, что и ожидается из известных каталитических концепций. Также подробным образом была исследована активность трех иммобилизованных катализаторов иридия и родия в селективном гидрировании ацетилен. Впервые были зарегистрированы усиленные сигналы в спектре ЯМР ^1H от молекулы $[^{13}\text{C}]$ этилена с природным содержанием атомов ^{13}C в газовой фазе для иридиевого катализатора, что свидетельствует о значительной доле парного присоединения. Более того, с помощью анализа формы усиленных линий в

спектре ЯМР был сделан вывод, что на данном катализаторе реакция гидрирования ацетилена протекает исключительно по пути *син*-присоединения водорода.

С помощью реакции селективного гидрирования ацетилена параводородом на трех гетерогенных катализаторах, ранее проявивших себя перспективными в контексте значительной доли парного присоединения, был детально изучен процесс взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена. В результате моделирования спиновой динамики было показано, что форма линий усиленных сигналов от продукта взаимодействия этилена с бромной водой (данная реакция необходима для нарушения симметрии этилена) зависит от стереоселективности присоединения водорода к ацетилену, и данный факт может быть использован для оценки стереоселективности для трех изученных каталитических систем. Также была изучена динамика взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена во время его хранения в газовой фазе и в магнитном поле Земли и было проведено соотнесение между наблюдаемыми кинетическими параметрами и процессами установления равновесия между изомерами разных классов пространственной симметрии. В частности, было показано, что в экспериментальных условиях наблюдается взаимопревращение изомеров, относящихся к классам с различной инверсионной симметрией ($g \rightleftharpoons u$) с характерным временем порядка 1000-2000 с, в то время как характерное время установления равновесия между изомерами с одинаковой инверсионной симметрией (т. е. $A_g \rightleftharpoons B_{3g}$, $B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$) составляет около 10 с. Также было показано, что дисбаланс ядерных спиновых изомеров этилена может сохраняться вплоть до 1 часа хранения в газовой фазе, что является самым длительным наблюдаемым временем жизни для долгоживущих спиновых состояний протонов (помимо водорода).

Впервые с помощью метода РНП- SAH были гиперполяризованы аллил [^{13}C]формиат и аллил [$1,3-^{13}C_2$]ацетоацетат. Для обоих субстратов были оптимизированы все этапы метода РНП- SAH . В результате оптимизации были получены следующие уровни поляризации: $P(^1H) = 16,6\%$ и $P(^{13}C) = 1,7\%$ для аллил [^{13}C]формиата; $P(^1H) = 25,5\%$, $P(^{13}C-1) = 4,1\%$ и $P(^{13}C-3) = 2,7\%$ для аллил [$1,3-^{13}C_2$]ацетоацетата. Также, было показано, что аллил [^{13}C]формиат полностью гидролизует и приводит к образованию гиперполяризованного [^{13}C]формиата натрия. Для аллил [$1,3-^{13}C_2$]ацетоацетата было показано, что щелочной гидролиз в жестких условиях приводит к образованию гиперполяризованного [$1,3-^{13}C_2$]ацетоацетата с его последующим разложением на гиперполяризованные [$2-^{13}C$]ацетон и [^{13}C]карбонат.

Наконец, впервые для гиперполяризации [$^{15}N_3$]метронидазола в биосовместимой среде было предложено использовать подход CASH SABRE, сочетающий процесс гиперполяризации с очисткой от токсичного катализатора посредством экстракции субстрата в водную среду. В частности, была предложена процедура получения гиперполяризованного [$^{15}N_3$]метро-

нидазола в водной среде с концентрацией ≈ 30 мМ и с $P(^{15}\text{N}) \geq 2,2\%$ для всех трех ядер ^{15}N метронидазола. Также биосовместимость полученного раствора была продемонстрирована с помощью МТТ-теста. Таким образом, данная работа является важным шагом к применению гиперполяризованного метронидазола для биомедицинских исследований.

Теоретическая и практическая значимость

Изучение метода ИППЯ для гетерогенных катализаторов является бурно развивающейся областью как с фундаментальной, так и с практической точки зрения. В целом для гетерогенных катализаторов не характерен парный путь присоединения водорода и, следовательно, эффект ИППЯ наблюдаться не должен. Однако для многих гетерогенных каталитических систем показано наличие эффекта ИППЯ. Значительную роль в механизме гидрирования и, соответственно, в наблюдении эффекта ИППЯ играет природа активных центров катализатора. Полученная информация о влиянии распределения активного компонента гетерогенных катализаторов селективного гидрирования тройной связи на эффективность парного присоединения водорода к пропину имеет значительную ценность с точки зрения дальнейшей оптимизации и разработки каталитических систем, обеспечивающих высокие уровни поляризации и значительную каталитическую активность. Создание таких каталитических систем играет ключевую роль в потенциальном использовании эффекта гетерогенного ИППЯ, в частности, для получения гиперполяризованных газообразных контрастных агентов.

Одной из возможностей, открываемых методом гетерогенного ИППЯ, является обогащение этилена ядерными спиновыми изомерами благодаря реакции селективного гидрирования ацетилен параводородом с последующей реакцией этилена с бромной водой, необходимой для нарушения симметрии этилена. В данной работе благодаря комбинации различных экспериментальных методик и моделирования спиновой динамики был детально изучен процесс взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена. Полученные данные корректируют существующее понимание кинетики процессов взаимопревращения ядерных спиновых изомеров разных классов симметрии и служат основой для дальнейшего развития теории квантовой релаксации, описывающей данные процессы. Более того, оптимизация каталитических систем, проведенная в данной работе, служит фундаментом для дальнейшей разработки методов, позволяющих получать этилен с неравновесным соотношением ядерных спиновых изомеров, достаточным для практических применений. Такие методы открывают новые возможности для использования неравновесного соотношения изомеров этилена для изучения многочисленных промышленных процессов, в которые этилен непосредственно вовлечен (полимеризация и олигомеризация этилена, метатезис, окисление, алкилирование и др.).

Получение гиперполяризованных метаболитов является важной задачей как для изучения метаболизма, так и для продвинутой МРТ-диагностики различных заболеваний. Технология МРТ-визуализации и детектирования сигнала ЯМР от выбранного участка внутренних органов в совокупности с использованием молекулярных гиперполяризованных контрастных агентов может стать эффективным подходом для обнаружения различных патологий на ранних стадиях прогрессирования болезней. В данной работе для гиперполяризации контрастных агентов были использованы два метода на основе параводорода: модификация метода ИППЯ (PHIP-SAH) и метод SABRE.

В данной работе впервые с помощью метода PHIP-SAH были гиперполяризованы два важных метаболита: ацетоацетат и формиат. В частности, были выявлены многие проблемы и ограничения метода PHIP-SAH, что, несомненно, важно для развития области гиперполяризации контрастных агентов. Гиперполяризованный ацетоацетат служит маркером окислительно-восстановительного стресса митохондрий, который отклоняется от нормы в раковых клетках опухолей нескольких типов и, следовательно, гиперполяризованный ацетоацетат может быть использован в качестве сенсора раковых опухолей. В то же время формиат является важным субстратом для метаболизма растений, с одной стороны, и для многих процессов в химической промышленности, с другой. Таким образом, гиперполяризация формиата и ацетоацетата служит важным шагом к исследованию их метаболизма и потенциальному практическому применению.

Другой важной задачей методов гиперполяризации является разработка подходов, позволяющих получать биосовместимые растворы метаболитов гиперполяризованных по ядрам ^{15}N , поскольку метаболизм соединений, содержащих азот, остается во многом неизвестным. В частности, известно, что метронидазол накапливается и метаболизируется в раковых клетках в гипоксичных условиях, но при этом детали его метаболизма все еще остаются неисследованными. Гиперполяризация метронидазола потенциально открывает возможность исследования метаболизма ^{15}N меченых соединений с помощью ^{15}N -MPT *in vitro* и *in vivo* в реальном времени, что на данный момент не представляется возможным из-за фундаментальных ограничений спектроскопии ЯМР по ядрам ^{15}N (таких как длительное время релаксации T_1). В данной работе был предложен подход, позволяющий совместить гиперполяризацию метронидазола и очистку его раствора от токсичного катализатора, стандартно используемого в SABRE, что открывает путь для дальнейшего применения метронидазола в биомедицинских исследованиях.

Методология и методы исследования

В качестве метода исследования в диссертационной работе использовалась спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Для усиления сиг-

налов ЯМР использовался метод индуцированной параводородом поляризации ядер (ИППЯ) и метод усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE). Перенос поляризации на гетероядерные спины проводился в слабых магнитных полях с помощью метода MFC. Теоретическое рассмотрение спиновой динамики проводилось на основе формализма матрицы плотности.

Положения, выносимые на защиту

1. Гидрирование ацетиленов с природным содержанием атомов ^{13}C на иммобилизованном иридиевом катализаторе Ir-P@SiO_2 происходит по пути *син*-присоединения и обеспечивает гиперполяризацию $[^{13}\text{C}]$ этилена по ядрам ^1H , достаточную для наблюдения усиленных сигналов ЯМР в газовой фазе. В исследованных экспериментальных условиях процесс взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена, относящихся к классам с различной инверсионной симметрией, происходит с характерным временем порядка 1000–2000 с, в то время как взаимопревращение ядерных спиновых изомеров этилена с одинаковой инверсионной симметрией происходит с характерным временем порядка 3–6 с. Дисбаланс ядерных спиновых изомеров этилена сохраняется вплоть до рекордного 1 часа хранения.
2. Метод PHIP-SAN позволяет поляризовать аллил $[^{13}\text{C}]$ формиат и аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат. Гиперполяризованный аллил $[^{13}\text{C}]$ формиат в щелочных условиях гидролизуетс^я количественно с образованием $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия. В жестких щелочных условиях аллил $1,3-^{13}\text{C}_2$ ацетоацетат гидролизуетс^я с образованием гиперполяризованного $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата натрия с его последующим разложением на гиперполяризованные $[2-^{13}\text{C}]$ ацетон и $[^{13}\text{C}]$ карбонат.
3. Проведение эксперимента SABRE в бифазной системе хлороформ/вода позволяет получать биосовместимый водный раствор гиперполяризованного по ядрам азота $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола, очищенного от цитотоксического катализатора SABRE.

Достоверность работы

Достоверность представленных в диссертации результатов и выводов обеспечивалась применением современных теоретических и экспериментальных методов, гарантирующих высокую воспроизводимость проведенных экспериментов. Значительная часть исследований проводилась на современном оборудовании в Институте «Международный томографический центр» СО РАН (Новосибирск, Россия) и в Медицинском Центре Университетской Клинике г. Фрайбург (Германия). Важно отметить, что полученные экспериментальные и теоретические результаты не противоречат общепринятым концепциям и согласуются с ранее опубликованными в литературе данными. Корректность и значимость результатов диссертацион-

ной работы получили признание научным сообществом, о чем свидетельствуют публикации в рецензируемых международных изданиях, в которых проводилась предварительная экспертиза работ.

Апробация работы

По материалам работы было опубликовано 5 научных статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также 8 тезисов докладов на международных и российских конференциях, в том числе: 10th International Voevodsky Conference 2022 (Новосибирск, Россия); XXXIV Симпозиум Современная химическая физика 2022 (Туапсе, Россия); Международная конференция “New Emerging Trends in Chemistry” 2023 (Ереван, Армения); 21st International School-Conference “Magnetic Resonance and its Applications”, Spinus 2024 (Санкт-Петербург, Россия); International Conference “Magnetic Resonance – Current State and Future Perspectives (EPR-80)” 2024 (Казань, Россия); 21st European Magnetic Resonance Congress “EUROMAR” 2025 (Оулу, Финляндия); Parahydrogen Enhanced Resonance Meeting 2025 (онлайн); 23rd International School-Conference Magnetic Resonance and its Applications, Spinus 2026 (Санкт-Петербург, Россия).

Личный вклад соискателя

Роль соискателя заключалась в планировании, проведении и обработке всех экспериментов, представленных в диссертации (кроме синтеза предшественников, приготовления и характеристики катализаторов, анализа растворов на биосовместимость). Также соискатель принимал участие в моделировании спиновой динамики и в целом в теоретическом анализе (были проведены совместно с к.х.н. Буруевой Дудари Баировной и к.х.н. Бабенко Семеном Владимировичем). Соискатель участвовал в постановке задач, проведении исследований, обсуждении результатов и их оформлении для публикации в рецензируемых журналах.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста, содержит 51 рисунок и 9 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), обсуждения полученных результатов (глава 3), основных результатов и выводов, списка используемых сокращений, а также списка литературы из 239 наименований.

Соответствие специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества

Диссертационная работа соответствует п. 1 паспорта специальности «Атомно-молекулярная структура химических частиц и веществ, механизмы химического превращения, молекулярная, энергетическая, химическая и спиновая динамика элементарных процессов, теории скоростей химических реакций и экспериментальные методы исследования структуры и

динамики химических превращений, в том числе в межзвездной среде.» и п. 9 «Строение, структура и реакционная способность интермедиатов химических реакций; химические механизмы и физика каталитических процессов; динамика, структура и спектроскопия каталитически активных поверхностей.».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснованы актуальность и практическая значимость диссертационной работы, сформулированы цели исследования, изложены научная новизна полученных результатов и положения, выносимые на защиту.

Глава **Литературный обзор** посвящена краткому описанию существующих на данный момент методов гиперполяризации, в том числе индуцированной параводородом поляризации ядер, ее модификаций (PHIP-SAH) и метода усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE). Описаны основы данных методов, их практические применения и перспективы развития. Кроме того, описаны основы ядерного спинового изомеризма и существующие методы обогащения ядерных спиновых изомеров различных молекул, включая этилен.

Глава **Экспериментальная часть** посвящена описанию методик экспериментов по гиперполяризации, синтеза использованных предшественников, методов приготовления катализаторов, использованных в работе, и их характеристики.

В третьей главе **Результаты и обсуждение** приводятся результаты экспериментальных исследований. В **разделе 3.1** рассмотрено влияние распределения активного компонента катализаторов $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ на их активность в парном присоединении водорода к пропину в реакции селективного гидрирования. Предпосылкой данного исследования послужили литературные данные, в которых было показано, что активность катализатора в парном присоединении водорода к кратной связи в реакции гетерогенного гидрирования напрямую зависит от структуры его каталитических центров. В частности, предполагается, что катализаторы с одноатомным распределением активного компонента имеют пониженную вероятность миграции атомов водорода по поверхности металлической частицы в сравнении с катализаторами с кластерным распределением, что делает их перспективными в контексте получения гиперполяризованных газов методом гетерогенного ИППЯ. Для изучения данного вопроса были выбраны катализаторы $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$, которые ранее показали крайне высокую активность в реакции селективного гидрирования ацетилена. С этой целью катализаторы $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ были исследованы в реакции газофазного гидрирования пропина $n\text{-H}_2$.

В результате исследования катализаторов на активность в парном присоединении было показано, что максимальный коэффициент усиления сигнала (SE) ЯМР ^1H для катализатора $\text{Pd}_1/\text{ND}@\text{G}$ составил 89, в то время как для катализатора $\text{Pd}_n/\text{ND}@\text{G}$ SE составил 15, что соответствует примерно шестикратной разнице. Однако в случае 100% парного присоединения коэффициент усиления сигнала должен быть примерно на два порядка больше и, следовательно, значительная часть поляризации теряется из-за релаксации и, вероятно, одними из потенциально ключевых факторов в этом контексте являются электронное состояние катализатора и время жизни интермедиатов. Таким образом, в данном разделе было показано, что катализатор с одноатомным распределением палладия $\text{Pd}_1/\text{ND}@\text{G}$ активнее в парном присоединении водорода примерно в 6 раз по сравнению с катализатором $\text{Pd}_n/\text{ND}@\text{G}$.

Ранее в литературе был предложен подход для обогащения ядерных спиновых изомеров (ЯСИ) этилена на основе селективного гидрирования ацетилена p-H_2 . Данный эффект основан на том, что полный ядерный спин молекулы p-H_2 равен 0 и, следовательно, молекулы этилена с полным ядерным спином 2 не образуются при 100% парном присоединении p-H_2 к ацетилену, что и приводит к обогащению ЯСИ этилена с $I = 0$ и 1. Однако в силу симметрии молекулы этилена усиленные сигналы ЯМР наблюдаться не будут, но известно, что примерно 2,2% молекул ацетилена содержат ядра ^{13}C (природное содержание $^{13}\text{C} \approx 1,1\%$). Для таких молекул (далее $[^{13}\text{C}]$ этилен) симметрия нарушена, что должно приводить к наблюдению эффекта ИППЯ в случае парного присоединения. В этом контексте иммобилизованные катализаторы представляют заметный интерес, поскольку известно, что для них характерен парный путь присоединения.

Раздел 3.2 посвящен исследованию активности в реакции селективного гидрирования ацетилена p-H_2 трех иммобилизованных катализаторов родия и иридия ($\text{Ir-P}@\text{SiO}_2$, $\text{Ir-S}@\text{SiO}_2$ и $\text{Rh-S}@\text{SiO}_2$). Было показано, что при гидрировании ацетилена на катализаторе $\text{Ir-P}@\text{SiO}_2$ сигнал этилена имеет сложную антифазную структуру. В спектре ЯМР ^1H наблюдается чередование абсорбционных и эмиссионных линий в последовательности АЭАЭ (рисунок 1, спектр 1). Усиленные сигналы наблюдаются, поскольку атомы водорода (H_A и H_B), пришедшие из p-H_2 , оказываются в магнитно-неэквивалентных положениях вследствие различия КССВ $J(^{13}\text{C}-\text{H}_\text{A})$ и $J(^{13}\text{C}-\text{H}_\text{B})$ (рисунок 1). Моделирование спектров ЯМР гиперполяризованного $[^{13}\text{C}]$ этилена показывает, что форма линий сигнала зависит от механизма присоединения p-H_2 . На основе моделирования был сделан вывод, что реализуется *син*-присоединение p-H_2 к тройной связи ацетилена, то есть оба присоединившихся атома водорода оказываются по одну сторону относительно двойной связи этилена (рисунок 1, спектр 2). На основе наблюдаемого и теоретически возможного усиления сигнала была рассчитана поля-

ризация ядер ^1H для $[^{13}\text{C}]$ этилена, которая составила 1,7% для катализатора Ir-P@SiO_2 .

Полученные результаты косвенно указывают, что благодаря парному пути присоединения p-H_2 происходит обогащение молекул $^{12}\text{C}_2\text{H}_4$ ядерными спиновыми изомерами. Основным выводом данного раздела является то, что гидрирование ацетилена p-H_2 на иммобилизованном катализаторе Ir-P@SiO_2 открывает перспективный путь для обогащения этилена ЯСИ и потенциально предоставляет новые возможности для изучения взаимопревращения ЯСИ этилена.

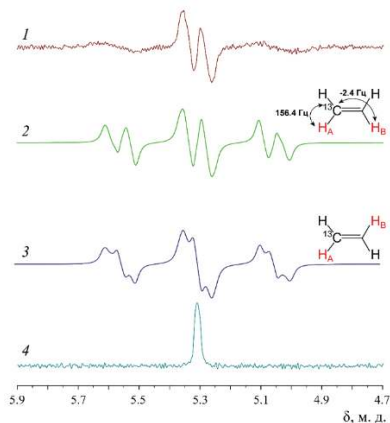


Рисунок 1. Экспериментальные спектры ЯМР ^1H этилена, образующегося при гидрировании ацетилена на иммобилизованном комплексе Ir-P@SiO_2 (1) и после релаксации ядерных спинов к тепловому равновесию (4); а также модельные спектры $[^{13}\text{C}]$ этилена, полученного путем *син*- (2) или *анти*-присоединения (3) p-H_2 к ацетилену в эксперименте PASADENA.

Как обсуждалось ранее, дисбаланс ядерных спиновых изомеров этилена может быть создан посредством каталитического гидрирования ацетилена с p-H_2 , если синглетное спиновое состояние двух протонов, пришедших из p-H_2 , сохраняется в этилене, т. е. если присоединение p-H_2 к ацетилену происходит по парному пути. Известно, что гетерогенные катализаторы неэффективны в этом отношении, хотя они гораздо лучше подходят для получения газообразных продуктов в целом и этилена в частности. Более того, стереоселективность присоединения p-H_2 к ацетилену имеет решающее значение для создания дисбаланса ЯСИ этилена, что будет детально обсуждено ниже. Гомогенное гидрирование обычно протекает исключительно посредством *син*-присоединения водорода к кратной связи. В то же время гетерогенное гидрирование может приводить как к *син*-, так и к *анти*-присоединению. В разделе 3.3 были использованы три различных типа гетерогенных катализаторов для получения этилена путем гетерогенного гидрирования ацетилена в газовой фазе с использованием p-H_2 .

В качестве первого катализатора был выбран иммобилизованный катализатор на основе иридия (Ir-P@SiO_2), который был исследован в предыдущем разделе (Ir-P@SiO_2), поскольку было показано, что данный катализатор обеспечивает $\approx 100\%$ *син*-присоединение p-H_2 к ацетилену, что приводит к образованию исключительно *Z*-этилена (атомы из p-H_2 в *цис*-кон-

получение этилена

реакция, нарушающая симметрию этилена

Рисунок 2. Схема реакции получения гиперполяризованного 2-бромэтанола.

В случае введения в реакцию с бромной водой этилена без дисбаланса ЯСИ, образующийся BrEtOD имеет регулярные абсорбционные сигналы в спектре ЯМР ^1H . Однако в случае этилена, полученного путем гидрирования с $p\text{-H}_2$, для всех трех гетерогенных катализаторов наблюдаются значительно усиленные сигналы ЯМР от гиперполяризованного BrEtOD (рисунок 3 (г)). Экспериментальные спектры были записаны с использованием импульсной последовательности OPSY, позволяющей наблюдать только усиленные сигналы, подавляя при этом вклад от термически поляризованных молекул BrEtOD.

14

значительно различаются для двух геометрий: как для *Z*-, так и для *E*-этилена наблюдается чередование линий абсорбции (А) и эмиссии (Е); однако *Z*-этилену соответствует паттерн АААЕЕЕЕ, а *E*-этилену паттерн АЕЕЕААЕ (рисунок 3 (б)).

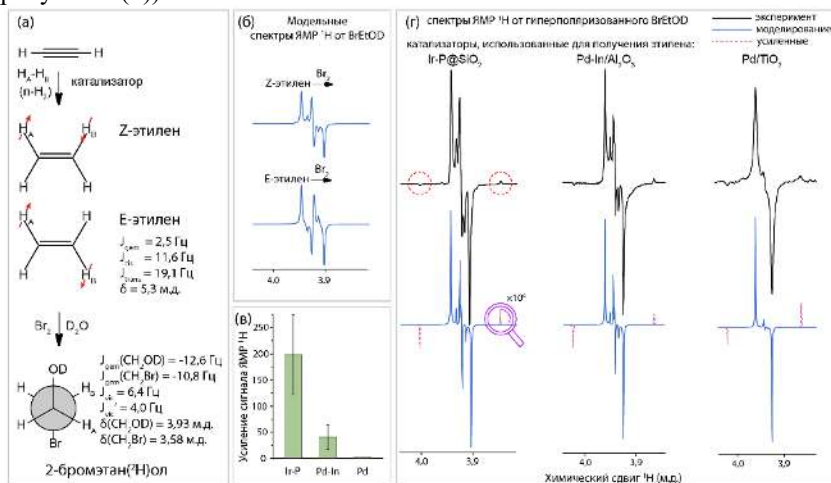


Рисунок 3. (а) Реакция получения этилена путем гетерогенного гидрирования с p-H_2 и реакция нарушения симметрии этилена (б) Модельные спектры ЯМР ^1H (мультиплет группы CH_2OD) для BrEtOD, полученного при гидрировании *Z*-этилена или *E*-этилена с p-H_2 . (в) Уровни усиления сигнала ЯМР ^1H , полученные для трех различных катализаторов. (г) Экспериментальные OPSY спектры ЯМР ^1H гиперполяризованного BrEtOD (черные спектры) и модельные спектры (синие спектры).

Было показано, что экспериментальные спектры ЯМР ^1H хорошо аппроксимируются модельными спектрами при допущении: почти 100% *син*-присоединения (99,7%) для Ir-P@SiO₂; 92% *син*-присоединения для Pd-In/Al₂O₃; 55% *син*-присоединения для Pd/TiO₂ (рисунок 3 (г)). Таким образом, данный подход может быть использован в качестве метода оценки стереоселективности присоединения водорода к ацетилену на различных катализаторах.

Для изучения взаимопревращения ЯСИ этилена в газовой фазе выходящий из реактора газ собирали в пластиковый шприц и по истечении контролируемого периода времени газ быстро впускали в ампулу ЯМР с бромной водой из шприца по газовым линиям, после чего записывали спектр ЯМР ^1H с применением импульсной последовательности OPSY. Интенсивность сигнала OPSY в зависимости от времени хранения была получена для всех трех катализаторов (рисунок 4 (б)-(г)). Для катализатора Ir-P@SiO₂ кривая установления равновесия между ЯСИ этилена может быть описана как моноэкспонента (рисунок 4 (б)) с характерным временем $T_{\text{short}} = 6,5 \pm 0,5 \text{ с.}$ Как упоминалось выше, катализатор Ir-P@SiO₂ почти исключительно производит *Z*-этилен, для которого не возникает дисбаланс $g : u$ ЯСИ. Таким

образом, можно сделать вывод, что наблюдаемый моноэкспоненциальный спад соответствует процессам уравнивания внутри классов, отличающихся по инверсионной симметрии: g ($A_g \rightleftharpoons B_{3g}$) и u ($B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$).

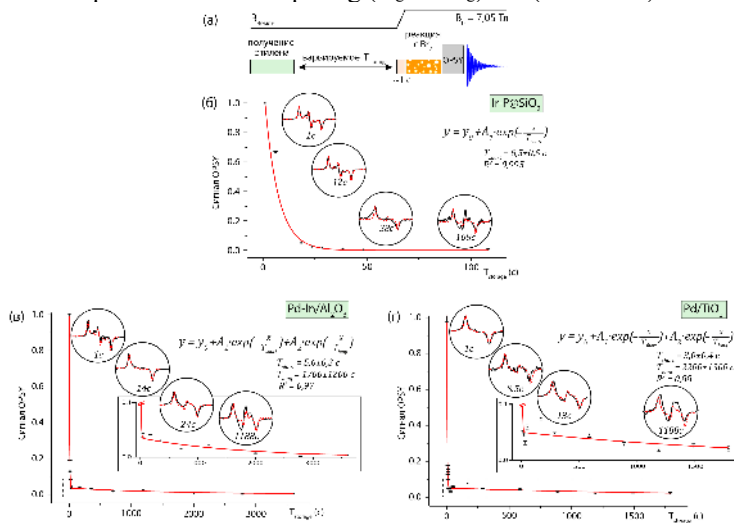


Рисунок 4. (а) Последовательность событий эксперимента. (б)–(г) Графики, демонстрирующие затухание сигналов OPSY ЯМР ^1H гиперполяризованного BrEtOD в зависимости от времени хранения этилена T_{storage} . Этилен был получен путем гетерогенного гидрирования ацетилена с $p\text{-H}_2$ над (б) Ir-P@SiO₂; (в) Pd-In/Al₂O₃; или (г) Pd/TiO₂. Спектры OPSY ЯМР ^1H при выбранных временах хранения этилена (черные спектры) и модельные спектры (красные пунктирные спектры) представлены на вставках круглой формы.

Для катализаторов Pd-In/Al₂O₃ и Pd/TiO₂ кривые спада интенсивности сигнала OPSY ЯМР ^1H от BrEtOD хорошо аппроксимируются биэкспоненциальным спадом с соответствующими временами T_{short} и T_{long} (рисунок 4 (в) и (г)). Полученные значения T_{short} равны $5,6 \pm 0,3$ и $3,0 \pm 0,4$ с для катализаторов Pd-In/Al₂O₃ и Pd/TiO₂, соответственно. Поскольку эксперименты со стереоселективным катализатором Ir-P@SiO₂ позволили соотнести характерное время T_{short} с эффективным временем установления равновесия между ЯСИ с одинаковой инверсионной симметрией, T_{long} можно соотнести с единственным оставшимся процессом установления равновесия – уравниванием ЯСИ с различной инверсионной симметрией ($g \rightleftharpoons u$). Более того, время спин-решеточной релаксации протонов (T_1) в молекуле этилена составляет ≈ 250 мс в экспериментальных условиях данной работы, в то время как наблюдаемое время установления равновесия ЯСИ этилена как минимум на три порядка больше. Это самое длительное наблюдаемое время жизни для долгоживущих спиновых состояний протонов (помимо водорода).

Таким образом, в **разделе 3.3** было показано, что анализ формы линий усиленных сигналов ЯМР от продукта взаимодействия этилена с бромной водой позволяет выявлять неравновесное соотношение ЯСИ этилена. Было показано, что изменение формы линии ЯМР ^1H от BrEtOD со временем хранения этилена отражает динамику процессов установления равновесия между ЯСИ этилена и дополнительно подтверждает соотнесение процессов уравнивания ЯСИ с характерными временами, полученными из аппроксимаций.

Метод РНIP-SAN является одним из самых перспективных подходов для получения гиперполяризованных молекул в биосовместимых растворах, что критически важно для потенциальных применений в МРТ-диагностике различных заболеваний. На данный момент большинство исследований, посвященных методу РНIP-SAN, концентрируются на гиперполяризации пирувата. Однако не существует фундаментальных ограничений для использования подхода РНIP-SAN для гиперполяризации других биомолекул, содержащих карбоксильную группу. Следовательно, расширение этого подхода на другие релевантные молекулы является важной задачей для данной области исследований. Двумя перспективными молекулами в этом отношении являются формиат и ацетоацетат. С одной стороны, формиат имеет простую химическую структуру, с другой – важное значение как для фундаментальных каталитических исследований, так и для биологических исследований метаболизма растений. Ацетоацетат играет ключевую роль в метаболизме митохондрий, а скорость его превращения в гидроксибутират зависит от RedOx-потенциала митохондрий, что в перспективе позволяет использовать гиперполяризованный ацетоацетат в качестве маркера RedOx потенциала в митохондриях.

Раздел 3.4 посвящен гиперполяризации $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия методом РНIP-SAN. Для этого сначала было проведено гомогенное гидрирование предшественника (пропаргил $[^{13}\text{C}]$ формиат) с p-H_2 , затем поляризация была перенесена с ядер ^1H на ядра ^{13}C методом MFC и, наконец, был проведен гидролиз для получения раствора гиперполяризованного $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия. Общая схема метода РНIP-SAN, представлена на рисунке 5.

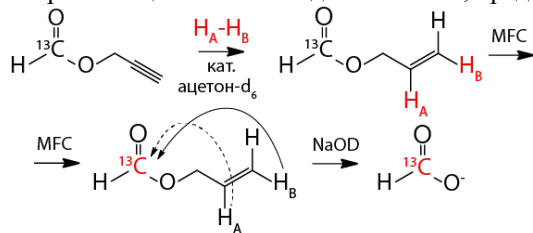


Рисунок 5. Общая схема метода РНIP-SAN, используемого для гиперполяризации $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия.

Для проведения всех экспериментов использовали поляризатор MATRESHCA. В результате оптимизации реакции гидрирования было показано, что при температуре $65\text{ }^\circ\text{C}$, давлении 7,8 бар, времени гидрирования 3 с и концентрации ка-

тализатора 2,5 мМ наблюдаются полная конверсия пропаргил [^{13}C]формиата и 80% селективность к образованию аллил[^{13}C]формиата. При этом максимальная наблюдаемая поляризация по ядрам ^1H составила $16,6\% \pm 0,6\%$.

Далее, был оптимизирован перенос поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C для аллил[^{13}C]формиата. Как описано выше, для переноса поляризации использовался метод MFC, при котором гиперполяризованный образец кратковременно помещался внутрь магнитного экрана из пермаллоя, оснащенного соленоидом, создающим постоянное магнитное поле < 1 мТл, после чего образец переносился в спектрометр ЯМР для регистрации спектров ЯМР ^{13}C . В результате оптимизации магнитного поля внутри экрана было показано, что максимальная $P(^{13}\text{C}) = 1,7 \pm 0,2\%$ при 250 нТл для аллил[^{13}C]формиата.

Гиперполяризованный аллил[^{13}C]формиат далее подвергался гидролизу для получения водного раствора [1,3- $^{13}\text{C}_2$]формиата, как это было продемонстрировано для других молекул, гиперполяризованных с использованием метода PHIP-SAH. Добавление водного раствора основания (0,6 мл 1,7 мас.% NaOD и 50 мМ аскорбата натрия в D_2O) приводило к полному гидролизу и образованию гиперполяризованного [1,3- $^{13}\text{C}_2$]формиата натрия. Уровни поляризации по ядрам ^{13}C были оценены на уровне 0,4%.

Таким образом, предложенный в данной работе подход был оптимизирован для получения гиперполяризованного аллил[^{13}C]формиата с помощью метода PHIP-SAH. Были получены максимальные значения поляризации $16,6 \pm 0,6\%$ для ядер ^1H и $1,7 \pm 0,2\%$ для ядер ^{13}C . Более того, было показано, что поляризация на ядрах ^{13}C сохраняется во время гидролиза аллил[^{13}C]формиата, что приводит к образованию гиперполяризованного [1,3- $^{13}\text{C}_2$]формиата натрия.

Раздел 3.5 посвящен гиперполяризации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата методом PHIP-SAH. Для этого были оптимизированы условия проведения реакции гидрирования для максимизации наблюдаемых уровней молярной поляризации ^1H с использованием немеченого предшественника (пропаргил ацетоацетат). Затем были исследованы различные подходы к переносу поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C для оптимизации наблюдаемых уровней суммарной поляризации по ядрам ^{13}C . Далее, были исследованы различные условия гидролиза с целью получения гиперполяризованного [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата. Общая схема эксперимента представлена на рисунке 6.

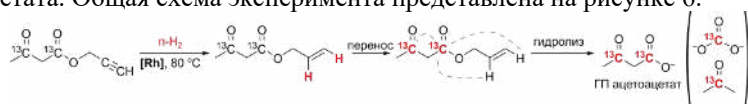


Рисунок 6. Упрощенная схема химических превращений в ходе процедуры PHIP-SAH для получения гиперполяризованного [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата, который при гидролизе может превращаться в [^{13}C]карбонат и [2- ^{13}C]ацетон.

В результате оптимизации реакции гидрирования было показано, что при температуре 80 °С, давлении 7 бар, времени гидрирования 5 с и концентрации катализатора 2,5 мМ наблюдаются полная конверсия пропаргил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата и 80% селективность к образованию аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата. При этом максимально наблюдаемая поляризация по ядрам ^1H составила 25,5%.

Далее был оптимизирован перенос поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C в аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетате. Для переноса поляризации был использован подход с цифровым управлением и линейным изменением B_0 (или подход B_0 sweep). Принцип данного подхода аналогичен методу MFC, за исключением того, что магнитное поле внутри экрана меняется контролируемым линейным образом. После оптимизации времени переключения поля B_0 , начального B_0 и конечного значения B_0 магнитного поля было обнаружено, что максимальные наблюдаемые уровни поляризации ^{13}C составляют: $P(^{13}\text{C}-1) = 4,1\%$ и $P(^{13}\text{C}-3) = 2,7\%$.

Для получения целевой биомолекулы ($[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат натрия) необходимо провести гидролиз аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата. Однако было обнаружено, что даже частичный гидролиз аллил ацетоацетата не наблюдается в условиях, обычно используемых для эфиров пирувата (комнатная температура, атмосферное давление, 100 мМ NaOD в D_2O). Вместо этого наблюдалось образование енолятной формы аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата, которая существует в виде двух геометрических (*E*- и *Z*-) изомеров енолята.

Для преодоления описанной выше проблемы реакция гидролиза была проведена в течение десятков секунд в жестких условиях – 1 М NaOD в D_2O (с добавлением 50 мМ аскорбата натрия для восстановления растворенного кислорода) при 100 °С и под давлением N_2 , составляющим 4 бар. Для оценки скорости гидролиза варьировали время реакции (в частности, 15 с, 30 с, 60 с и 120 с; см. рисунок 7 (в)). Для всех исследованных временных точек наблюдались усиленные сигналы от ядер ^{13}C енолята (области, соответствующие этим сигналам, выделены зеленым цветом на рисунке 7). Однако уже после 15 с гидролиза наблюдались сигналы от ядер ^{13}C $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата (сигналы 4а и 4с на рисунке 7 (в)), что указывает на то, что гидролиз начинает происходить уже на таких временных масштабах. Одновременно с этим, для всех экспериментов наблюдались продукты разложения $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата – $[2-^{13}\text{C}]$ ацетон и карбонат-ион $^{13}\text{CO}_3^{2-}$, (рисунок 7 (в)). Для этих продуктов сначала наблюдалось увеличение интенсивности сигналов вплоть до 60 с, затем их уменьшение к 120 с. Данная динамика может быть объяснена образованием гиперполяризованных $[2-^{13}\text{C}]$ ацетона и $^{13}\text{CO}_3^{2-}$ из гиперполяризованного $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата и их последующей релаксацией. Таким образом, для исследованных щелочных условий не удалось достичь полного гидролиза енолятов, избежав при этом разложения ацетоацетата. Также был исследован кислотный гидролиз в сле-

дующих условиях: 1 M DCl в D₂O, при 100 °C в течение 60 с под давлением N₂, равным 4 бар. В результате были обнаружены усиленные сигналы, соответствующие исходным реагентам, а также усиленные сигналы от ¹³CO₂ и [2-¹³C]ацетона (рисунок 7 (б)).

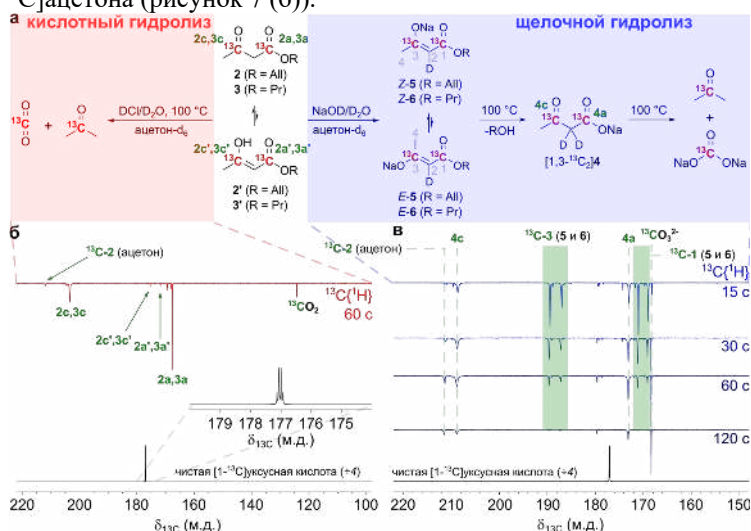


Рисунок 7. (а) Схема химических превращений при гидролизе аллил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата и его енольной формы в кислых (выделено красным, 1 M DCl/D₂O) и щелочных условиях (выделено синим, 1 M NaOD/D₂O) при 100 °C и давлении N₂, равном 4 бар. (б) Спектр ЯМР ¹³C {¹H}, полученный через 60 с после начала гидролиза аллил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата в кислых условиях (красная линия) и спектр ЯМР ¹³C чистой [1-¹³C]уксусной кислоты в состоянии теплового равновесия, уменьшенный в 4 раза (черная линия). (в) Спектры ЯМР ¹³C {¹H}, полученные после начала гидролиза аллил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата в щелочных условиях при различных временах (15 с, 30 с, 60 с, 120 с) (синие спектры) и спектр ЯМР ¹³C чистой [1-¹³C]уксусной кислоты в состоянии теплового равновесия, уменьшенный в 4 раза (черная линия).

По-видимому, получить гиперполяризованный ацетоацетат в условиях жесткого кислотного гидролиза или мягкого щелочного гидролиза не представляется возможным. Жесткий щелочной гидролиз может быть использован для получения небольшого количества гиперполяризованного ацетоацетата, однако этот подход имеет несколько существенных ограничений. Во-первых, значительная часть ацетоацетата, образующегося в результате гидролиза, впоследствии разлагается на ацетон и карбонат. Во-вторых, значительная часть поляризации по ядрам ¹³C теряется в результате быстрой релаксации, наблюдаемой в интермедиатах в исследованных экспериментальных условиях.

Скорость гидролиза потенциально можно увеличить, используя еще более жесткие условия (например, более высокую температуру и давление), хотя в этом случае разложение [1,3-¹³C₂]ацетоацетата на [2-¹³C]аце-

тон и $[^{13}\text{C}]$ карбонат, вероятно, будет еще более значительным. Однако важно отметить, что гиперполяризованный $[^{13}\text{C}]$ карбонат может быть использован для измерения pH, поскольку соотношение между формами карбоната зависит от значения pH, что является важным маркером изменений метаболизма в раковых клетках. Данные изменения могут быть обнаружены *in vivo* с помощью MPT ^{13}C при введении гиперполяризованного $[^{13}\text{C}]$ бикарбоната. Таким образом, хотя подход, предложенный в данной работе, не позволяет эффективно получать биосовместимый гиперполяризованный $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат, можно предположить, что его можно использовать для получения других перспективных гиперполяризованных агентов (таких как $[^{13}\text{C}]$ бикарбонат и сложные эфиры $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата) с большим диагностическим потенциалом.

Другим перспективным подходом для получения гиперполяризованных биомолекул является метод SABRE-SHEATH, позволяющий эффективно поляризовать биомолекулы по ядрам ^{15}N . Для потенциальных применений в MPT-диагностике особый интерес представляют нитроимидазолы, которые были эффективно гиперполяризованы с помощью метода SABRE-SHEATH. Однако существенным ограничением существующих подходов является необходимость очистки гиперполяризованного образца от токсичных растворителя и катализатора SABRE. Недавно был предложен подход CASH-SABRE, позволяющий поляризовать молекулы в водных растворах. Суть подхода CASH-SABRE заключается в проведении гиперполяризации в двухфазной смеси, состоящей из водной и органической фазы. Катализатор SABRE растворим в органической фазе и практически не растворим в водной фазе, тогда как субстрат хорошо растворим в водной фазе и ограниченно растворим в органической. Таким образом, субстрат поляризуется в органической фазе за счет координации с катализатором и практически сразу экстрагируется в водную фазу. В результате водная фаза содержит гиперполяризованный субстрат и практически не содержит токсичный катализатор.

Раздел 3.6 посвящен исследованию применения подхода CASH-SABRE для гиперполяризации $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола. Для этого предварительно смешивали 350 мкл D_2O , содержащей 50 мМ $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола (далее обозначен MNZ), и 350 мкл CDCl_3 , содержащего 5 мМ предшественника катализатора SABRE $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{COD})\text{Cl}]$. Полученную двухфазную смесь $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ (соотношение объемов 1 : 1) помещали в 5-мм ампулу ЯМР. Все эксперименты проводились с использованием поляризатора MATRESHCA. Как предшественник катализатора SABRE, так и активированный катализатор SABRE заметно не растворялись в воде, поскольку во время эксперимента водная фаза оставалась бесцветной или лишь слегка окрашенной.

В результате оптимизации процедуры было показано, что $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол в концентрации 32 мМ может быть эффективно гиперполяризо-

ван в водной среде с помощью подхода CASH-SABRE с итоговыми значениями поляризации по ядрам ^{15}N : $P(^{15}\text{N}) = 2,5 \pm 0,3\%$, $2,2 \pm 0,3\%$ и $2,3 \pm 0,3\%$ для фрагментов $^{15}\text{NO}_2$, $^{15}\text{N-3}$ и $^{15}\text{N-1}$ метронидазола соответственно в магнитном поле 1,4 Тл. Спектр гиперполяризованного MNZ представлен на рисунке 8. Для MNZ, растворенного в CDCl_3 , наблюдаются значения $P(^{15}\text{N}) = 3,7 \pm 0,4\%$, $3,1 \pm 0,6\%$ и $3,5 \pm 0,5\%$ для фрагментов $^{15}\text{NO}_2$, $^{15}\text{N-3}$ и $^{15}\text{N-1}$ метронидазола соответственно. Также было найдено время T_1 релаксации ядер ^{15}N в MNZ в магнитном поле 1,4 Тл для обеих фаз: $11,5 \pm 0,2$ мин для $^{15}\text{NO}_2$, $3,3 \pm 0,1$ мин для $^{15}\text{N-3}$ и $3,7 \pm 0,1$ мин для $^{15}\text{N-1}$ в водной фазе; $3,04 \pm 0,04$ мин для $^{15}\text{NO}_2$, $1,09 \pm 0,03$ мин для $^{15}\text{N-3}$ и $0,82 \pm 0,05$ мин для $^{15}\text{N-1}$ в органической фазе. Значительное различие времен релаксации в разных фазах, вероятно, обусловлено координацией MNZ с катализатором SABRE, происходящей в органической фазе. Измеренное время $T_1 \approx 12$ мин является наибольшим из когда-либо наблюдавшихся для группы $^{15}\text{NO}_2$ в MNZ в магнитном поле 1,4 Тл. Столь необычно длинное время T_1 релаксации может оказаться полезным для потенциальных исследований *in vivo*.

Далее была оценена биосовместимость полученного водного раствора гиперполяризованного MNZ с помощью МТТ-теста. Было показано, что выживаемость клеток линии эмбриональной почки человека НЕК293Т не меняется существенным образом при их инкубации с полученным водным раствором MNZ (собираемых после гиперполяризации методом CASH-SABRE) в течение 1 ч относительно контрольного эксперимента. Также был проведен элементный анализ с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС). Остаточное содержание Ir в водном растворе MNZ, полученном методом CASH-SABRE, составило 20 ± 2 мкг/мл, что соответствует концентрации катализатора $\text{Ir} \approx 100 \pm 10$

мкМ. В результате концентрации Ir снижается примерно в 100 раз (с 10 мМ до 100 мкМ).

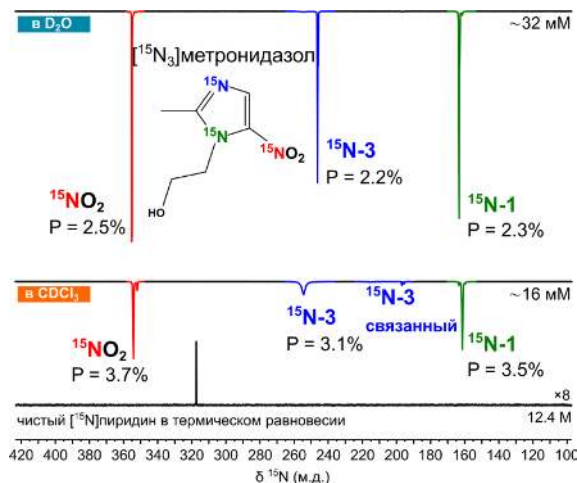


Рисунок 8. Спектры ЯМР ^{15}N от $^{15}\text{N}_3$ метронидазола, гиперполяризованного с помощью метода SABRE-SHEATH, полученные отдельно для водной и органической фаз. В нижней части рисунка представлен референсный спектр для чистого ^{15}N пиридина в состоянии теплового равновесия.

Таким образом, в данном разделе работы было показано, что подход CASH-SABRE позволяет получать высокие уровни поляризации по ядрам ^{15}N для $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола в водном растворе, практически очищенном от катализатора. Данная часть работы открывает путь к исследованию метаболизма нитроимидазолов *in vitro* и *in vivo* с использованием гиперполяризованных образцов в магнитно-резонансном анализе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Для катализатора с одноатомным распределением палладия ($\text{Pd}_1/\text{ND}@G$) наблюдалось 6-кратное увеличение активности в парном присоединении параводорода к пропиону по сравнению с катализатором с кластерным распределением ($\text{Pd}_n/\text{ND}@G$).
2. Для иммобилизованного иридиевого катализатора $\text{Ir-P}@SiO_2$ установлено, что селективное гидрирование ацетилена происходит по пути *син*-присоединения. Значительная активность данного катализатора в данной реакции привела к наблюдению поляризованного $[^{13}\text{C}]$ этилена с природным содержанием атомов ^{13}C в газовой фазе.
3. Процесс установления равновесия в газовой фазе при атмосферном давлении между ЯСИ этилена с различной инверсионной симметрией протекает с характерным временем порядка 1000-2000 с, которое значительно превышает характерное время установления равновесия между изомерами с одинаковой инверсионной симметрией (т. е., $A_g \rightleftharpoons B_{3g}$, $B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$).
4. В результате оптимизации процедуры PHIP-SAH аллил $[^{13}\text{C}]$ формиат и аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат были поляризованы до следующих уровней поляризации: $P(^1\text{H}) = 16,6\%$ и $P(^{13}\text{C}) = 1,7\%$ для аллил $[^{13}\text{C}]$ формиата; $P(^1\text{H}) = 25,5\%$, $P(^{13}\text{C}-1) = 4,1\%$ и $P(^{13}\text{C}-3) = 2,7\%$ для аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата. Гидролиз гиперполяризованного аллил $[^{13}\text{C}]$ формиата приводит к образованию $[^{13}\text{C}]$ формиата натрия с $P(^{13}\text{C}) = 0,4\%$. В жестких щелочных условиях гиперполяризованный аллил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата гидролизуетсся до $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата с его последующим разложением на гиперполяризованные $[2-^{13}\text{C}]$ ацетон и $[^{13}\text{C}]$ карбонат.
5. Подход CASH-SABRE был использован для гиперполяризации $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола в биосовместимой водной среде. Оптимизация данного подхода обеспечивает $P(^{15}\text{N}) \geq 2,2\%$ для всех трех ядер ^{15}N метронидазола. Время релаксации T_1 для ядер ^{15}N нитро-группы составило ≈ 12 мин при магнитном поле 1,4 Тл в водной фазе.

Публикации автора по теме диссертации

1. D.B. Burueva, **S.V. Sviyazov**, F. Huang, I.P. Prosvirin, A.V. Bukhtiyarov, V.I. Bukhtiyarov, H. Liu, I. V. Koptug. Pd on Nanodiamond/Graphene in Hydrogenation of Propyne with Parahydrogen // J. Phys. Chem. C. 2021. Vol. 125, № 49. P. 27221–27229. (DOI: [10.1021/acs.jpcc.1c08424](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c08424))
2. И.В. Сковпин, **С.В. Свиязов**, Д.Б. Бурueva, Л.М. Ковтунова, А.В. Нартова, Р.И. Квон, В.И. Бухтияров, И.В. Коптюг. Неравновесные состояния ядерных спинов этилена при гидрировании ацетилен параводородом на иммобилизованных комплексах иридия // Доклады РАН. Химия, науки о материалах. 2023. Т. 512. С. 120–129. (DOI: [10.1134/S0012501623600237](https://doi.org/10.1134/S0012501623600237))
3. **S.V. Sviyazov**, S.V. Babenko, I.V. Skovpin, L.M. Kovtunova, N.V. Chukanov, A.Y. Stakheev, D.B. Burueva, I.V. Koptug. Manipulating Stereoselectivity of Parahydrogen Addition to Acetylene to Unravel Interconversion of Ethylene Nuclear Spin Isomers // Phys. Chem. Chem. Phys. 2024. Vol. 26, № 9. P. 7821–7829. (DOI: [10.1039/D3CP04983C](https://doi.org/10.1039/D3CP04983C))
4. **S.V. Sviyazov**, D.B. Burueva, N.V. Chukanov, I.A. Razumov, E.Y. Chekmenov, O.G. Salnikov, I.V. Koptug. ^{15}N Hyperpolarization of Metronidazole Antibiotic in Aqueous Media Using Phase-Separated Signal Amplification by Reversible Exchange with Parahydrogen // J. Phys. Chem. Lett. 2024. Vol. 15. № 20. P. 5382–5389. (DOI: [10.1021/acs.jpcclett.4c00875](https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.4c00875))
5. D.B. Burueva, **S.V. Sviyazov**, N.V. Chukanov, N.R. Mustafin, O.G. Salnikov, E.Y. Chekmenov, K.V. Kovtunov, I.V. Koptug. Hyperpolarization of ^{13}C formate using parahydrogen // J. Magn. Reson. Open 2024. Vol. 21. P. 100176. (DOI: [10.1016/j.jmro.2024.100176](https://doi.org/10.1016/j.jmro.2024.100176))