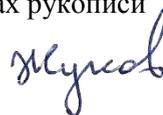


На правах рукописи



ЖУКОВ Иван Владимирович

ДИНАМИКА СПИНОВ ЯДЕР В ДИАМАГНИТНЫХ  
ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ СИСТЕМАХ, В  
БИРАДИКАЛЬНЫХ ИНТЕРМЕДИАТАХ И ПРОДУКТАХ  
ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ РЕАКЦИЙ В ПЕРЕКЛЮЧАЕМЫХ  
МАГНИТНЫХ ПОЛЯХ

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Новосибирск – 2021

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

**Научный руководитель** **Юрковская Александра Вадимовна**  
доктор физико-математических наук, г.н.с. МТЦ СО РАН

**Официальные оппоненты** **Кев Миннулинович Салихов**  
академик РАН, доктор физико-математических наук, научный руководитель отдела химической физики Казанского физико-технического института им. Е.К. Завойского – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань

**Эдуард Беньяминович Фельдман**

профессор, доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией спиновой динамики и спинового компьютинга Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химической физики Российской академии наук, г. Черноголовка

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук, г. Москва

Защита диссертации состоится “22” декабря 2021 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](mailto:ref_dissovet@kinetics.nsc.ru).

Автореферат разослан “ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2021 года

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук



И. П. Поздняков

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Явление ЯМР заключается в резонансном поглощении радиочастотного (РЧ) излучения ядерными спиновыми системами. Интенсивности сигналов ЯМР зависят от разности населённостей ядерных спиновых уровней системы. В магнитном поле 9.4 Тл разность населённостей уровней энергии наиболее распространённых магнитных ядер – протонов, очень мала при комнатной температуре – только  $3 \times 10^{-5}$ . Поэтому прикладываются значительные усилия для повышения чувствительности спектроскопии ЯМР за счёт увеличения разности населённостей ядерных спиновых уровней: при увеличении индукции магнитного поля спектрометра, или за счёт создания неравновесной поляризации ядерных спинов - гиперполяризации. В настоящее время известны такие способы создания гиперполяризации, как SEOP, DNP, PHIP, SABRE, CIDNP и другие.

Увеличение индукции магнитного поля ЯМР спектрометра позволяет улучшить спектральное разрешение за счёт линейной зависимости разности резонансных частот от магнитного поля. Однако усиление магнитного поля приводит и к нежелательным эффектам, например, быстрой поперечной релаксации для веществ с молекулярной массой более 5-10 кДа. Кроме того, диктуемый сильным Зеемановым взаимодействием вид гамильтониана приводит к подавлению либо невозможности наблюдения ряда ядерных спиновых взаимодействий. Альтернативным подходом к изучению свойств молекулярных систем и получению спектров высокого разрешения является ЯМР в нулевом и ультраслабом поле (англ. ZULF NMR).

Высокое спектральное разрешение открывает перспективную возможность применения мощного арсенала импульсной ЯМР спектроскопии к исследованию динамики систем гетероспинов в произвольном магнитном поле на уровне индивидуальных ядер, а исследование полевой зависимости ядерной спиновой гиперполяризации, создаваемой в фотохимических реакциях в ходе селективной по электронному спину рекомбинации бирадикалов, позволяет повысить чувствительность на несколько порядков и получить информацию о магнитных взаимодействиях спинов электронов и ядер в короткоживущих интермедиатах радикальных реакций. Эти два подхода были применены в диссертационной работе.

## **Степень разработанности темы исследования**

Достоинствами ЯМР в нулевом и ультраслабом поле являются: 1) высокое спектральное разрешение, связанное с очень низкой абсолютной неоднородностью внешнего магнитного поля; 2) возможность наблюдать подавляемые в сильном поле ядерные спиновые взаимодействия; 3) возможность изучения релаксационных свойств в ультраслабом поле; 4) отсутствие искажений и артефактов, вызванных границами между материалами с различной магнитной восприимчивостью;

Однако, ЯМР в нулевом и ультраслабом поле в настоящее время характеризуется низкой чувствительностью по сравнению с ЯМР в сильном поле. Необходимым условием получения сигнала ЯМР в нулевом и ультраслабом поле является наличие скалярно-связанных ядер с различными гиромагнитными отношениями. Последнее требование ограничивает область применимости ЯМР в нулевом и ультраслабом поле исключительно изотопно-обогащёнными соединениями при высокой концентрации.

Химически индуцируемая поляризация ядер (ХПЯ) – один из методов создания гиперполяризации, основанный на зависимости скорости рекомбинации короткоживущих пар радикалов от состояния ядерных спинов, взаимодействующих с неспаренными электронами радикалов. Метод ХПЯ отличается сравнительной простотой реализации – известны способы создания спин-коррелированных радикальных пар в результате термоллиза материнской молекулы, при импульсном фотоллизе или радиоллизе.

Методом ХПЯ можно усиливать сигналы в ЯМР спектре в  $10^2$ - $10^4$  раз. Наряду с другими косвенными методами, применяемыми для регистрации короткоживущих радикалов, такими, как MARY, EPR, OD EPR, метод ХПЯ позволяет получать уникальную информацию о механизме реакций и структуре короткоживущих радикалов, зачастую недоступную по техническим причинам для других методов.

## **Цели работы**

- 1) развитие методов спектроскопии ЯМР высокого разрешения с переключением внешнего магнитного поля для изучения спиновой динамики в слабых и ультраслабых магнитных полях;
- 2) изучение спиновой динамики короткоживущих бирадикалов, являющихся парамагнитными интермедиатами фотоиндуцированных реакций внутримолекулярного переноса электрона, ме-

тодом ЯМР с переключением магнитного поля и химической поляризации ядер.

### **Задачи:**

- 1) исследование свойств долгоживущих гетероядерных состояний, а также нуль-квантовых когерентностей в ультраслабом магнитном поле, в спиновых системах  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_2$ , и  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ .
- 2) разработка новых методов многомерной корреляционной спектроскопии ЯМР, комбинирующих свойства ЯМР в сильном и в нулевом поле.
- 3) изучение зависимости ХПЯ от магнитного поля с целью получения информации об электронном обменном взаимодействии и спиновой динамике бирадикала флавинадениндинуклеотида.
- 4) определение влияния химической природы заместителя X в диадах донор (ТАА)-линкер (*para*-замещённое бензольное кольцо)-акцептор (NDI) с жёсткой пространственной структурой на процесс рекомбинации состояния с разделением заряда.

### **Научная новизна**

Обнаружены долгоживущие состояния в гетероядерных спиновых системах  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ , разработан способ описания спектрального проявления долгоживущих состояний в этих спиновых системах. Разработан косвенный способ записи спектров ЯМР нулевого поля и способ полной корреляционной спектроскопии ЯМР со смешиванием спинов ядер в ультраслабом магнитном поле.

Определена форма распределения по расстояниям между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале, возникающем при фотовозбуждении молекулы флавинадениндинуклеотида; опровергнута гипотеза о сосуществовании двух различающихся конформаций этого бирадикала. Установлен положительный знак обменного взаимодействия в состоянии с разделением заряда для ряда структурно жестких диад донор-линкер-акцептор; определено распределение спиновой плотности неспаренных электронов по атомам водорода и углерода в этих бирадикалах.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Первая часть работы посвящена развитию методов спектроскопии ЯМР высокого разрешения с переключением внешнего магнитного поля. Обнаружено формирование долгоживущих состояний в спиновых системах  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ , и  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ , разработан способ численного моделирования проявления этих состояний в ЯМР спектре в сильном поле. Разработан косвенный способ получения спектров

ЯМР в нулевом поле, выявляющий корреляцию между химическими сдвигами сигналов ЯМР в сильном поле и спектрами ЯМР нулевого поля, а также разработан и запатентован новый способ получения двумерных корреляционных спектров ЯМР для полной корреляции химических сдвигов всех магнитных ядер с использованием изотропного смешивания спинов в ультраслабом поле – ZULF TOCSY.

Во второй части работы метод ХПЯ применяется для исследования процесса рекомбинации короткоживущих бирадикалов, образующихся при внутримолекулярном фотоиндуцированном переносе электрона: бирадикала флавинадениндинуклеотида (ФАД), и бирадикалов структурно жестких диад донор-мостик-акцептор (D-X-A) – перспективных материалов для создания органических фотоэлектрических преобразователей. При выполнении работы были развиты методы проведения экспериментов ХПЯ, а также способы обработки экспериментальных данных и численного моделирования эффекта ХПЯ в короткоживущих бирадикалах с целью получения количественной информации о магниторезонансных параметрах.

#### **Методология и методы исследования**

Исследование проводилось методом ЯМР высокого разрешения с быстрым переключением поля, на разработанной сотрудниками МТЦ СО РАН установке на базе коммерческого 400 МГц ЯМР спектрометра Bruker Avance III HD. Разрабатывались программы на языке программного пакета Matlab для проведения численного моделирования динамики спиновых систем.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Установлен механизм формирования долгоживущих спиновых состояний в гетероядерных спиновых системах  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$  при адиабатическом переходе в ультраслабое магнитное поле.
2. Разработан косвенный способ измерения спектров ЯМР в нулевом поле в гетероядерных спиновых системах, а также способ корреляции этих спектров с сигналами в стандартном ЯМР спектре высокого разрешения.
3. Разработан и запатентован способ установления корреляции сигналов ЯМР всех взаимодействующих магнитных ядер за счёт изотропного смешивания в ультраслабом поле.
4. Получена оценка для распределения по расстоянию между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале, возник-

кающем при фотовозбуждении молекулы флавинаденидинулетотида в водном растворе.

5. Установлен положительный знак и величина электронного обменного взаимодействия в фотоиндуцированном бирадикале для четырех структурно жестких диад донор-линкер-акцептор; получены детальные данные о сверхтонком взаимодействии для протонов и ядер  $^{13}\text{C}$  в этих короткоживущих бирадикалах.

### **Достоверность работы**

Достоверность представленных в диссертационной работе результатов и заключений обусловлена использованием современных экспериментальных подходов и методов численного моделирования, воспроизводимостью полученных результатов и их согласием с современными теоретическими представлениями об описании динамики системы многих спинов. Значимость обсуждений и выводов в работе была признана мировым научным сообществом, что подтверждается публикациями в рецензируемых международных журналах.

### **Апробация работы**

Результаты и материалы диссертации были представлены на различных международных и российских конференциях: EUROMAR 2018; Spin Physics, Spin Chemistry and Spin Technology 2018; V School for young scientists: Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics 2018; Spin Chemistry Meeting 2019; EUROISMAR2019; Intercontinental magnetic resonance seminar series, 12 June 2020; EUROMAR2020 on-line; EUROMAR2021 on-line.

### **Личный вклад соискателя**

Автор принимал активное участие в планировании и проведении исследований, обсуждении результатов и подготовке публикаций по теме диссертационной работы. Кроме того, автор разрабатывал и выполнял модернизацию экспериментальной установки, необходимую для проведения на ней нестандартных экспериментов: измерения полевой зависимости ХПЯ, и неадиабатического переключения поля внутри магнитного экрана. Все результаты, представленные в диссертации, получены лично автором, если иное не оговорено явным образом.

## **Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена на 121 страницах машинописного текста, содержит 41 рисунок и 6 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), результатов и обсуждения (глава 3), заключения, основных результатов и выводов, списка используемых сокращений, списка цитируемой литературы из 136 пунктов, и одного приложения.

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

Диссертационная работа соответствует п 1 «химическая и спиновая динамика элементарных процессов, физика и физические теории химических реакций» и п. 5 «когерентные процессы в химии, когерентная химия – квантовая и классическая; спиновая динамика и спиновая химия; ... экспериментальные методы исследования химической, энергетической и спиновой динамики» паспорта специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

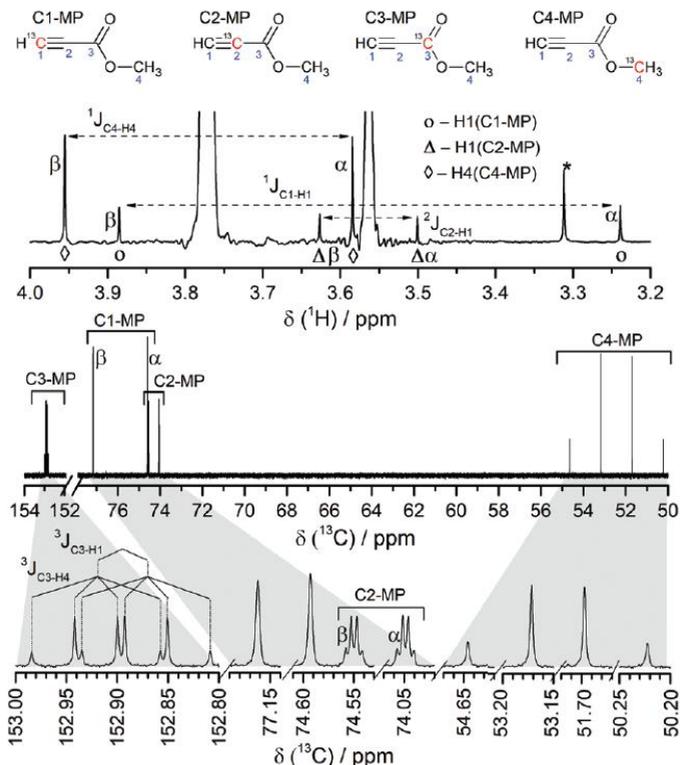
**Во введении** описываются актуальность и разработанность темы, формулируются цели и задачи исследования, описываются научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, методы исследования, формулируются положения, выносимые на защиту, степень достоверности результатов исследования, личный вклад автора, сведения об апробации результатов.

**Первая глава** посвящена литературному обзору. В *разделе 1.1.1* вводятся понятия сильной и слабой связи спинов, понятие антипересечения уровней энергии, обсуждается поведение системы ядерных спинов при адиабатическом и неадиабатическом переключении магнитного поля. В *разделе 1.1.2* обсуждаются долгоживущие состояния ядерных спинов, их типы и условия формирования. Приводится детальный анализ формирования долгоживущего состояния в простейшей системе двух спинов-1/2. В *разделе 1.1.3* кратко описываются принцип наблюдения спектра ЯМР в нулевом поле при помощи атомного магнетометра, обсуждаются достоинства и недостатки ЯМР в нулевом поле. Вторая часть литературного обзора посвящена обзору механизмов формирования эффекта ХПЯ в продуктах фотоиндуцированных химических реакций. В *разделе 1.2.1* описывается радикально-парный механизм формирования ХПЯ в реакциях с участием свободных радикалов. В *разделе 1.2.2*

рассматривается механизм формирования ХПЯ в бирадикалах с ненулевым обменным взаимодействием – так называемый J-механизм. Обсуждаются особенности J-механизма, отличающие его от механизма радикальных пар. В *разделе 1.3.1* рассматриваются подходы к моделированию эффекта ХПЯ в бирадикалах, обсуждаются связь размерности спин-гамильтониана и вычислительная сложность задачи расчёта полевой зависимости ХПЯ, и способ уменьшения размерности спин-гамильтониана за счёт использования полуклассического приближения.

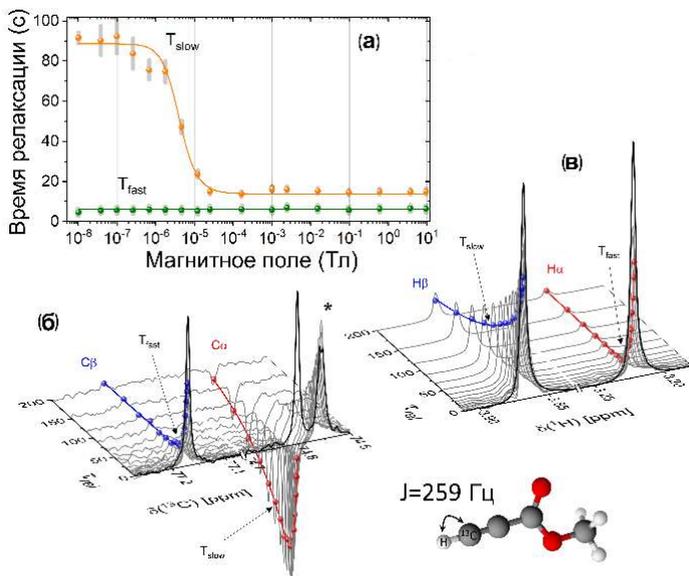
**Вторая глава** посвящена краткому описанию экспериментальной установки и описанию используемых в работе веществ, а также процедуры приготовления образцов. В *разделе 2.1.1* описывается устройство установки и перечисляются её технические характеристики, описываются способы реализации адиабатического и неадиабатического переключения поля. В *разделе 2.1.2* описывается устройство для облучения исследуемого раствора в произвольном магнитном поле, и приводится протокол измерения полевой зависимости ХПЯ. Процедура приготовления образцов подробно описана в *разделе 2.2*.

**Третья глава** посвящена представлению и обсуждению полученных результатов. В *разделе 3.1* описываются полевая зависимость релаксации протонов и углеродов четырёх  $^{13}\text{C}$ -изотопомеров метилпропиолата (рис.1). В ультра-широком диапазоне магнитных полей от 100 нТл до 9.4 Тл были измерены полевые зависимости  $T_1$ -релаксации протонов и углеродов изотопомеров C1 и C4, а также полевая зависимость  $T_1$ -релаксации углерода-13 изотопомеров C2 и C3. Время  $T_1$ -релаксации углерода-13 изотопомеров C2 и C3 в поле выше 1 Тл обратно пропорционально квадрату индукции поля, что указывает на релаксацию по механизму анизотропии тензора химического экранирования (англ. chemical shift anisotropy, CSA). В поле менее 1 мкТл время  $T_1$  релаксации углеродов и протонов сравнивается из-за перехода в режим сильной связи. Моделирование полевых зависимостей релаксации углеродов-13 и протонов изотопомеров C2 и C3 в программе iRelax на основе параметров спиновой системы (времена  $T_1$ -релаксации в сильном поле, параметр анизотропии химического сдвига, значения скалярного взаимодействия) хорошо воспроизводит полученные данные.



**Рисунок 1.**  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры четырёх изомеров метилпропиолата.

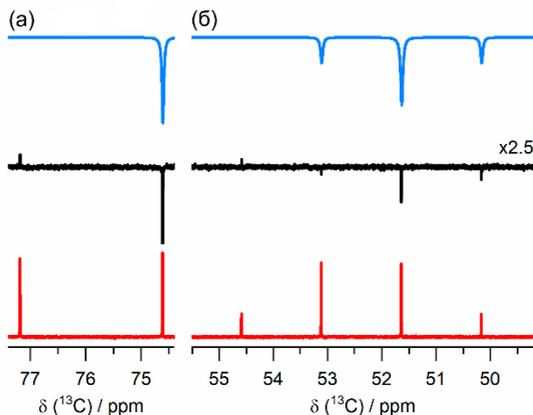
Кинетики релаксации углеродов-13 изомеров C1 и C4 имеют биэкспоненциальный вид вследствие эффекта кросс-релаксации с близко расположенными протонами. В паре спинов  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  изомера C1 метилпропиолата кинетики кросс-релаксации хорошо описываются уравнением Соломона в предположении режима быстрых движений  $2\pi\nu \cdot \tau_c \ll 1$  для диполь-дипольного механизма релаксации, предсказывающий отношение 1:3 показателей экспонент, аппроксимирующих релаксации углерода-13: 6.1 секунд и 18 секунд (в поле  $B=3.7$  Тл). При переходе в режим сильной связи между в паре  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  изомера C1 в поле менее 5 мкТл формируется долгоживущее синглетное состояние, которое из-за антисимметричности по отношению к перестановке спинов оказывается не подверженным релаксации по диполь-дипольному механизму (см. рис.2).



**Рисунок 2.** (а) Зависимость постоянных времени релаксации  $^1\text{H}\alpha$  и  $^{13}\text{C}\beta$  компонент мультиплетов в  $^{13}\text{C}$  (б) и  $^1\text{H}$  (в) ЯМР спектрах С1-изомера метилпропиолата, от магнитного поля.

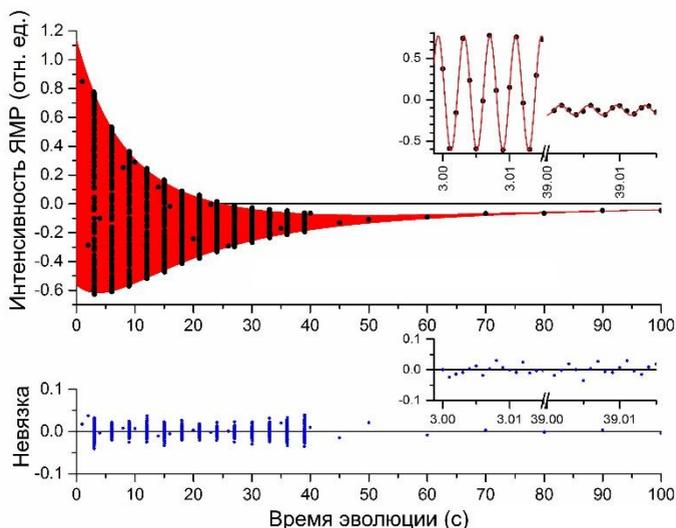
В ультраслабом поле гамильтониан метильной группы  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$  изомера С4 описывается только скалярными взаимодействиями внутри метильной группы. С этим гамильтонианом коммутирует оператор суммарного спина протонов  $\hat{I} = \hat{I}_1 + \hat{I}_2 + \hat{I}_3$ , который по правилу сложения моментов принимает значения  $I = 1/2$  и  $I = 3/2$ . Кроме разницы в значении суммарного спина, свойства пространственной симметрии состояний с  $I = 1/2$  и  $I = 3/2$  относятся к различным неприводимым представлениям точечной группы  $\text{C}_{3v}$ : состояния с  $I = 1/2$  преобразуются по неприводимому представлению  $E$ , а состояния с  $I = 3/2$  – по неприводимому представлению  $A$ . Релаксационные переходы между состояниями с разной точечной симметрией и разным полным моментом происходят медленно, в то время как релаксационные переходы между вырожденными состояниями в нулевом поле, наоборот, происходят с большой скоростью. Для описания наблюдаемого паттерна долгоживущего состояния метильной группы  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$  С4 изомера метилопропиолата в ультраслабом поле были рассчитаны населённости состояний сильного поля после релаксации в ультраслабом поле. Полученные населённости вырожденных собственных состояний метильной группы  $^{13}\text{C}-$

$^1\text{H}_3$  в ультраслабом поле затем усреднялись внутри группы вырожденных уровней, после чего численно рассчитывались населённости состояний в сильном магнитном поле после обратного адиабатического переключения поля. По аналогии с рассмотрением для  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$  группы, был сделан расчёт и для пары  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ . По разности населённостей были построены соответствующие  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры. Результаты расчётов и наблюдаемый экспериментально  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр показаны на рис.3.



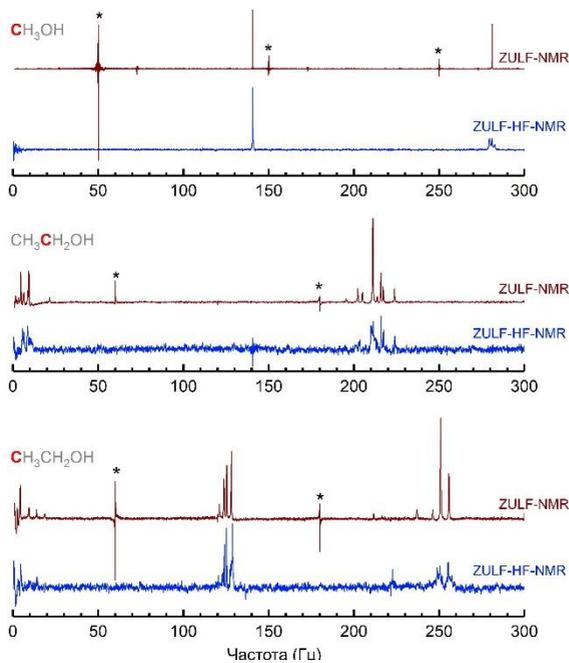
**Рисунок 3.**  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры  $^{13}\text{C}-^1\text{H}$  (а) и  $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$  (б) групп C1 и C4 изотопомеров метилпропиолата. Снизу – ЯМР спектр после релаксации в сильном поле  $\mathbf{B}_0 = 9.4$  Тл, в середине – после релаксации в ультраслабом поле  $\mathbf{B}_{UL} = 100$  нТл, сверху – рассчитанные ЯМР спектры.

В разделе 3.2 диссертации рассматриваются квантовые биения разности населённостей уровней энергии углерода-13 и протонов, возникающие при неадиабатическом переключении магнитного поля, на примере четырёх изотопомеров метилпропиолата. В условиях малой, порядка 10 нТл, величины неоднородности поля внутри магнитного экрана время существования квантовых биений определяется собственным временем релаксации нуль-квантовой когерентности (см. рис.4). Эти биения выражаются в осцилляциях интенсивности сигналов в  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрах от времени, проведённого в ультраслабом поле, применив Фурье-преобразование к которым можно получить спектр осцилляций, содержащий ту же информацию, что и спектр ЯМР в нулевом поле, измеренный атомным магнетометром.



**Рисунок 4.** Сверху – результат аппроксимации (красная линия) осцилляций интенсивности сигнала  $C1\beta$  (черные точки); поведение усреднённой по осцилляциям опорной линии описывалось двумя спадающими с разными постоянными времени экспонентами, осцилляции вокруг опорной линии – затухающей по экспоненте (с постоянной времени, не равной первым двум) синусоидой. Синими точками снизу показана величина отклонения между экспериментальными данными и аппроксимацией.

Было проведено сопоставление ЯМР спектров в нулевом поле, полученных прямым и косвенным измерением квантовых биений в нулевом поле для метанола, этанола, ацетонитрила, и уксусной кислоты. Сравнение для метанола и двух изотопомеров этанола показано на рис.5. При косвенном методе детектирования спектр ЯМР в нулевом поле получается более шумным, однако при этом концентрация исследуемых соединений была меньше на три порядка, чем при прямом детектировании. Кроме того, при косвенном детектировании спектры могут быть получены в любом магнитном поле, в котором выполняется условие сильной связи, а при прямом детектировании для корректной работы оптического магнетометра индукция магнитного поля не может превышать 1 нТл. К достоинствам косвенного способа детектирования можно отнести отсутствие паразитных сигналов и возможность одновременной записи спектров для смеси веществ с естественным содержанием

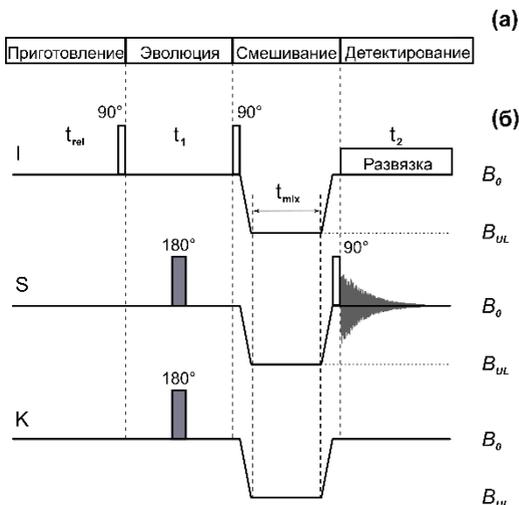


**Рисунок 5.** Сравнение спектров ЯМР в нулевом поле, полученные прямым (ZULF-NMR) и косвенным (ZULF-HF-NMR) способами. Звёздочкой (\*) обозначены паразитные сигналы в спектрах прямого детектирования, соответствующие наводке от линий электропередачи.

магнитных изотопов, а также сохранение информации о химических сдвигах ЯМР сигналов.

В разделе 3.3 диссертации описывается метод получения корреляции химических сдвигов ядер за счёт изотропного смешивания в ультраслабом магнитном поле. В ЯМР широко применяется эксперимент TOCSY, в котором изотропное смешивание между скалярно-связанными ядрами одного магнитного изотопа (гомоядрами) осуществляется за счёт подавления эволюции, вызванной разностью химических сдвигов ядер, за счёт приложения спин-локинга. В диссертации описан эксперимент ZULF-TOCSY, в котором изотропное смешивание всех магнитных ядер, в том числе с различающимися гиромагнитными отношениями, достигается в режиме сильной связи, в ультраслабом магнитном поле.

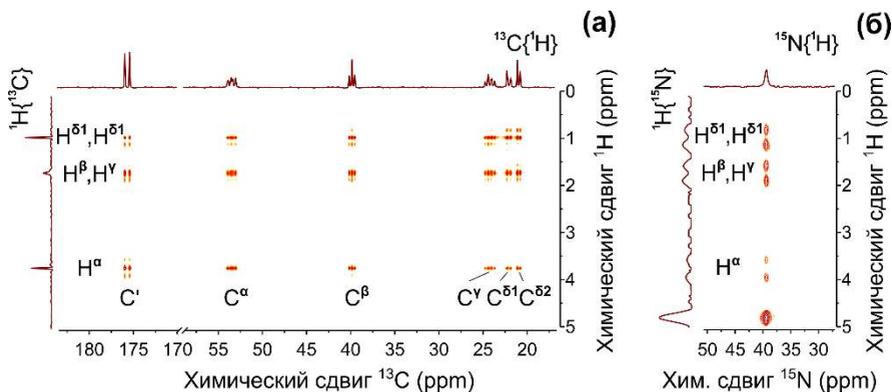
Эксперимент ZULF-TOCSY в случае гетероядерной системы спинов ( $I$ ,  $S$  и  $K$  – различные магнитные ядра) состоит в следующем (см. рис.6): начальный спиновый порядок, соответствующий равновесной поляризации спиновой системы в сильном магнитном поле  $B_0$ , переводится  $90^\circ$  импульсом по РЧ каналу спинов  $I$  в поперечную намагничённость этих спинов, которая эволюционирует в течение времени  $t_1$  (в момент  $t = t_1/2$  прикладывается  $180^\circ$  импульс



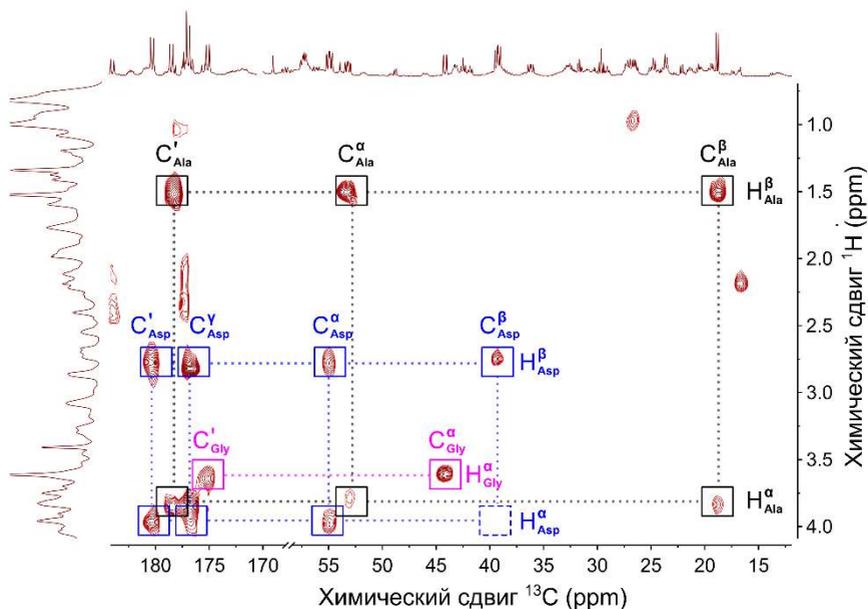
**Рисунок 6.** Протокол гетероядерного эксперимента с переключением магнитного поля ZULF-TOCSY.

на резонансной частоте спинов  $S$  и  $K$  для избавления от эффектов их скалярного взаимодействия со спинами  $I$ , после чего вторым  $90^\circ$  импульсом она преобразуется обратно, в продольную. Для реализации этапа смешивания производится неадиабатическое переключение поля, переносящее спиновую систему в поле  $B_{UL}$  порядка 100 нТл. Система находится в поле  $B_{UL}$  в течение времени  $t_{mix}$ , за это время спины  $I$ ,  $S$  и  $K$  обмениваются поляризацией. Наконец, в конце этапа смешивания, спиновая система снова неадиабатически переносится в сильное поле  $B_0$ , где после приложения  $90^\circ$  импульса на резонансной частоте спинов  $S$  записывается сигнал спада свободной индукции.

Метод ZULF-TOCSY продемонстрирован на примере полностью обогащенных  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  изотопами по всем положениям алифатических аминокислот L-лизин (см. рис.7) и L-лейцин; также этот метод был применён для отнесения ЯМР сигналов в многокомпонентной смеси веществ – обогащенной  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  изотопами питательной среды ISOGRO, используемой в биосинтезе изотопно-обогащенных белков при помощи микроорганизмов (см. рис.8). В  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  спектрах ZULF-TOCSY видны практически все корреляции, возможные в спиновой системе  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  обогащённого лизина. В  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  ZULF-TOCSY спектре раствора питательной среды ISOGRO в  $\text{D}_2\text{O}$  были надёжно идентифицированы сигналы трёх аминокислот – аланина, глицина, и аспартата.



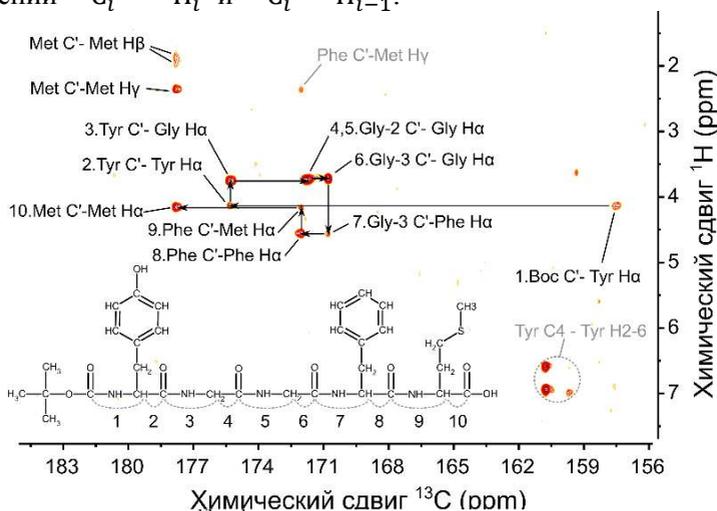
**Рисунок 7.** (а)  $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}$  и (б)  $^{15}\text{N}\text{-}^1\text{H}$  ZULF-TOCSY спектры  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ -обогащённого L-лизина.



**Рисунок 8.** Фрагмент спектра ZULF-TOCSY насыщенного раствора питательной среды ISOGRO в  $\text{D}_2\text{O}$ .

Изотропное смешивание спинов углерода-13 и протонов в нулевом поле позволяет, в отличие от стандартного подхода, проводить последовательное отнесение сигналов в  $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}$  ZULF-TOCSY спектре коротких (2-6 аминокислотных остатка) пептидов, не опираясь на ЯМР сигналы амидных протонов, которые могут отсут-

вывать в структуре пептида (как в случае пролина, пептоидов, N-метилированных пептидов) или находиться в быстром обмене с протонами растворителя. Пример применения  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  спектра ZULF-TOCSY для последовательного отнесения сигналов пептида Вос-Мет-энкефалин показан на рис.9. Действительно, за счёт корреляций  $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_i^\alpha$  и  $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_{i-1}^\alpha$ , последовательно передвигаясь вдоль осей спектра между кросс-пиками, можно установить отнесение сигналов в ЯМР спектре к определённым положениям карбонильного углерода и альфа-протона в молекуле. Зная отнесения альфа-протонов, по  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  спектрам COSY или TOCSY можно установить отнесения остальных сигналов; если последовательность аминокислот неизвестна, её можно установить, пользуясь только комбинацией спектров ZULF-TOCSY и стандартного TOCSY. Потенциально содержащий такую же информацию стандартный  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  спектр HMBC, записанный за сопоставимое с экспериментом ZULF-TOCSY время на в разы более чувствительном 700 МГц ЯМР спектрометре с максимально оптимизированными длительностями задержек, позволяет установить только 60% отнесений возможных отнесений  $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_i^\alpha$  и  $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_{i-1}^\alpha$ .

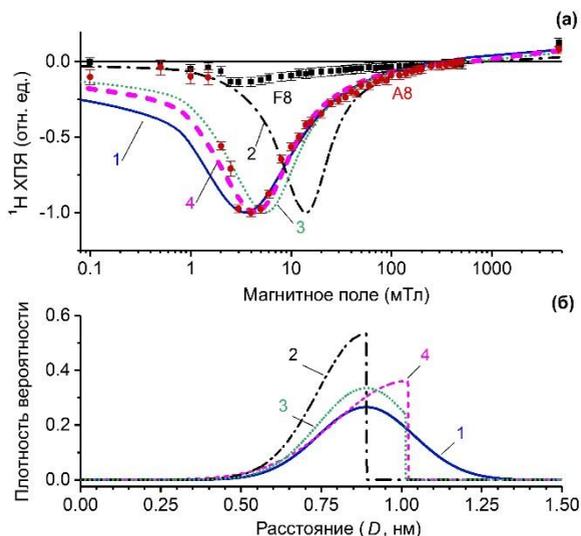


**Рисунок 9.** Фрагмент  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  спектра ZULF-TOCSY 83 мМ раствора пептида Вос-Мет-энкефалин в дейтерированной воде. Передвигаясь параллельно осям спектра между кросс-пиками, можно последовательно соотнести все кросс-пики с сигналами ЯМР карбонильных углеродов и альфа-протонов пептида.

В разделе 3.4 диссертации рассматривается полевая зависимость эффекта ХПЯ протонов, возникающего в результате рекомбинации бирадикала  $F^{\cdot-}-L-A^{\cdot+}$  флавинадениндинуклеотида (ФАД). ФАД – кофактор многих светочувствительных белков (криптохромов), при облучении светом в кислом водном растворе в результате внутримолекулярного перенос электрона образует короткоживущий бирадикал  $F^{\cdot-}-L-A^{\cdot+}$ . В литературе существовала гипотеза о существовании двух различных конформаций бирадикала ФАД [1], была поставлена задача проверки этой гипотезы.

Были проведены измерения полевой зависимости  $T_1$ -релаксации протонов ФАД при рН 3.9 и 6.6. Обработка полевых зависимостей  $T_1$  релаксации с целью получения сайт-специфичных значений времени корреляции в модели флуктуирующего локального поля показала, что при рН 6.6 диамагнитная молекула ФАД в водном растворе находится в более разупорядоченной конформации, чем в растворе с рН 3.9; свёрнутая конформация в кислом растворе стабилизируется стекинг-взаимодействием между ароматическими фрагментами аденина и флавина молекулы ФАД, а также водородными связями с молекулами растворителя. При обоих значениях водородного показателя время  $T_1$  релаксации протона А2 многократно превышало время релаксации протона А8. В то же время, при рекомбинации бирадикала основной эффект ХПЯ возникает на протоне А8, а гиперполяризация протона А2 в основном накапливается в результате переноса поляризации в сильно-связанной системе протонов в поле около 4 мТл, где наблюдается наибольшая величина эффекта ХПЯ. Для подавления эффекта переноса поляризации между протонами, при измерении полевой зависимости ХПЯ протонов ФАД использовалось короткое время облучения: 0.5 секунды. Измеренная полевая зависимость эффекта ХПЯ была скорректирована с учётом разного времени перемещения образца из разного поля, а также с учётом полевой зависимости  $T_1$  релаксации протонов ФАД.

Полевые зависимости ХПЯ протонов ФАД имеют одинаковую несимметричную форму, с максимумом ХПЯ в поле  $B_L \approx 4$  мТл и шириной на полувысоте  $\sim 12$  мТл. Ненулевой эффект ХПЯ протона А8 наблюдается вплоть до  $B_L = 200$  мТл (см. рис.10). Несимметричность полевой зависимости и большой диапазон полей, в которых наблюдается эффект ХПЯ, указывают на существенный разброс в значении обменного взаимодействия в короткоживущем



**Рисунок 10.** (а) – черные квадраты и красные кружки – измеренная полевая зависимость ХПЯ протонов F8 и A8 ФАД. Линии 1-4 – результат моделирования ПЗ ХПЯ для разных функций распределения. (б)– модельные функции распределения по расстояниям в бирадикале  $\text{F}^{\cdot-}\text{-L-A}^{\cdot+}$ : 1 – нормальное распределение с  $D_{mean} = 0.89$  нм и  $\sigma = 0.15$  нм; 2 – левая половина от распределения 1; 3 – распределение 1, «отсеченное» при  $D > 1.02$  нм; 4 – левая половина нормального распределения с  $D_{mean} = 1.03$  нм,  $\sigma = 0.22$ .

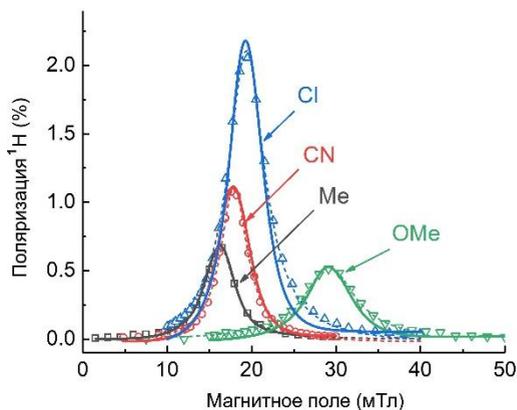
бирадикале  $\text{F}^{\cdot-}\text{-L-A}^{\cdot+}$ . Для определения распределения по расстояниям между радикальными центрами в короткоживущем бирадикале  $\text{F}^{\cdot-}\text{-L-A}^{\cdot+}$  были проведены расчёты спиновой динамики с разными модельными функциями распределения по расстоянию. Алгоритм расчёта спиновой динамики в гибких бирадикалах впервые был предложен в работе [2] и модифицирован авторами работы [3]. Полевая зависимость ХПЯ протонов ФАД лучше всего описывается моделированием с распределением 4: левой половиной нормального распределения с  $D_{mean} = 1.03$  нм и стандартным отклонением  $\sigma = 0.15$  нм. Поскольку все попытки моделирования при использовании распределения по расстояниям с двумя локальными максимумами оказались неудачными, можно утверждать, что гипотеза о существовании двух различающихся конформаций бирадикала  $\text{F}^{\cdot-}\text{-L-A}^{\cdot+}$ , высказанная Стобом и соавторами в работе [1], не нашла подтверждения.

В последнем *разделе 3.5* диссертации речь идёт об исследовании влияния заместителя X (X = Me, OMe, Cl, CN) в модельных диадах донор-линкер-акцептор D-X-A (донор e<sup>-</sup> - триариламин ТАА, акцептор e<sup>-</sup> - диимид нафталина NDI) на распределение спиновой плотности в короткоживущем фотоиндуцированном бирадикале ТАА<sup>•+</sup>-линкер-NDI<sup>•-</sup>. Данные по времязрешённому эффекту ХПЯ, полученные к.х.н. Н.Н. Фишман, позволили установить отношения между амплитудами констант СТВ для всех диад, и подтвердить факт рекомбинации бирадикалов из синглетного состояния. В слабом поле эффект ХПЯ протонов и углерода-13 в диадах D-X-A формируется по J- механизму – все ЯМР сигналы поляризованы в одной фазе, независимо от знака СТВ. Большие значения коэффициенты усиления (175-490 раз) ЯМР сигналов углерода-13 позволили измерить полевые зависимости углерода-13 диад при естественном содержании магнитных изотопов.

Было проведено моделирование полевой зависимости <sup>1</sup>H ХПЯ метильных протонов всех диад. Метильные протоны были выбраны для моделирования потому, что они не связаны скалярным взаимодействием с остальными протонами и потому не подвержены процессу переноса поляризации в слабом поле (10-30 мТл). В результате численного моделирования с точным квантово-механическим учётом СТВ с 6 эквивалентными метильными протонами, анизотропного СТВ с ядром <sup>14</sup>N катион-радикала ТАА<sup>•+</sup>, а также полуклассическим учётом СТВ с остальными 16 протонами диады были определены наборы параметров спин-гамильтониана для всех четырёх диад: обменное взаимодействие, значения констант СТВ с метильными протонами, и скорость дефазировки синглет-триплетной когерентности электронов бирадикала. Значения других параметров спиновой системы состояния с разделением заряда, а также доля триплетно-рождённых бирадикалов, были известны из измерений эффекта MARY [4]. Результаты моделирования хорошо воспроизводят наблюдаемые различия в интенсивности и форме полевых зависимостей <sup>1</sup>H ХПЯ. Установлено, что эффект ХПЯ формируется бирадикалами, рождёнными в триплетном состоянии, несмотря на меньшее их количество по сравнению с радикалам, рождёнными в синглетном состоянии; поэтому, установлен положительный знак обменного взаимодействия в состоянии с разделением заряда, противоположный предсказываемому по правилу  $\text{sgn}(J) = \Gamma \times \mu$  ( $\Gamma$  – знак ХПЯ,  $\mu = -1$  для синглетного предшественника и  $\mu = +1$

для триплетного) отрицательного знака обменного взаимодействия, на основании того, что большинство бирадикалов TAA<sup>•+</sup>-линкер-NDI<sup>•-</sup> рождаются и гибнут в синглетном состоянии.

Для определения влияния заместителя X на распределение спиновой плотности по углеродному остову в состоянии с разделением заряда TAA<sup>•+</sup>-линкер-NDI<sup>•-</sup> проведено самосогласованное моделирование всех измеренных для выбранной диады полевых зависимостей ХПЯ углерода-13. При моделировании квантово-механически точно учитывалось анизотропное СТВ с ядрами <sup>13</sup>C и <sup>14</sup>N, в виде значений изотропного СТВ и параметра анизотропии; СТВ с 18 протонами TAA<sup>•+</sup> и 4 протонами NDI<sup>•-</sup> учитывалось в полуклассическом приближении. Для ядра <sup>14</sup>N использовались одинаковые значения изотропного СТВ 0.93 мТл и параметра анизотропии 1.75 мТл для всех диад. В ходе моделирования экспериментальных полевых зависимостей проводился поиск набора сайт-специфичных констант изотропного СТВ и параметров анизотропии, совместно обеспечивающих наилучшее приближение экспериментальных данных, с общим коэффициентом нормировки рассчитанных полевых зависимостей к экспериментально измеренным значениям. В свою очередь, измеренные полевые зависимости были нормированы на количество эквивалентных положений атомов углерода; также были скорректированы различия в потере ядерной поляризации за время переключения поля из-за различия в T<sub>1</sub> углерода-13 в разных положениях. Сайт-специфичная T<sub>1</sub> релаксация углерода-13 была измерена при помощи эффекта ХПЯ в эксперименте с инкрементуемой задержкой после облучения образца в слабом магнитном поле.



В результате моделирования были определены значения изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ в 10 неэквивалентных положениях углерода-

**Рисунок 11.** Полевые зависимости ХПЯ метильных протонов H7,7' диад D-X-A.

<sup>13</sup>С всех четырех диад. Анализ полученных данных показал, что изотропное СТВ на ближайших к линкеру углеродах С11, С14 и С15 увеличивается согласовано с усилением акцепторных свойств заместителя Х в ряду Ме<ОМе<Сl<СN. Сумма квадратов изотропного СТВ по всем неэквивалентным положениям углерода-<sup>13</sup>, характеризующее степень взаимодействия неспаренного электрона с магнитными ядрами, также увеличивается согласовано с усилением акцепторных свойств заместителя Х в линкере.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ**

1. Установлен механизм формирования долгоживущих спиновых состояний в гетероядерных спиновых системах <sup>13</sup>С-<sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С-<sup>1</sup>Н<sub>3</sub> при адиабатическом переходе в ультраслабое магнитное поле.
2. Разработан способ косвенного детектирования спектров ЯМР в нулевом поле. Этот способ позволяет получать двумерный спектр корреляции сигналов в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения и спектров ЯМР в нулевом поле для отдельных фрагментов молекулы.
3. Разработан и запатентован метод полной корреляции сигналов в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения всех взаимодействующих магнитных ядер в результате смешивания в ультраслабом магнитном поле.
4. На основе моделирования полевой зависимости ХПЯ протонов флавинадениндинуклеотида получена оценка для расстояния между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале и опровергнута гипотеза о существовании двух конформаций бирадикала ФАД.
5. На основе исследования зависимости ХПЯ от магнитного поля для четырех структурно жестких диад донор-линкер-акцептор был установлен положительный знак и величина электронного обменного взаимодействия в фотоиндуцированном состоянии с разделением заряда. Были получены детальные данные о сверхтонком взаимодействии для протонов и ядер <sup>13</sup>С в этом состоянии.

### **Публикации автора по теме диссертации**

1. Zhukov, I. V. Field-cycling NMR experiments in ultra-wide magnetic field range: relaxation and coherent polarization transfer / Zhukov, I. V. [ et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2018. – Т. 20, № 18. – С. 12396-12405.

2. Zhukov, I. V. Assessment of heteronuclear long-lived states at ultralow magnetic fields / Zhukov, I. V., Kiryutin, A. S., Yurkovskaya, A. V., Ivanov, K. L. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2019. – Т. 21, № 33. – С. 18188-18194.
3. Zhukov, I. Positive electronic exchange interaction and predominance of minor triplet channel in CIDNP formation in short lived charge separated states of D-X-A dyads / Zhukov, I. [ et al.] // *The Journal of Chemical Physics*. – 2020. – Т. 152, № 1. – С. 014203.
4. Zhukov, I. V. Exchange interaction in short-lived flavine adenine dinucleotide biradical in aqueous solution revisited by CIDNP (chemically induced dynamic nuclear polarization) and nuclear magnetic relaxation dispersion / Zhukov, I. V. [ et al.] // *Magnetic Resonance*. – 2021. – Т. 2, № 1. – С. 139-148.
5. Zhukov, I. V. Correlation of high-field and zero- to ultralow-field NMR properties using 2D spectroscopy / Zhukov, I. V. [ et al.] // *The Journal of Chemical Physics*. – 2021. – Т. 154, № 14. – С. 144201.
6. Zhukov, I. V. Total Correlation Spectroscopy across All NMR-Active Nuclei by Mixing at Zero Field / Zhukov, I. V. [ et al.] // *Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2020. – Т. 11, № 17. – С. 7291-7296.
7. Kiryutin, A. S. Sequential assignment of NMR spectra of peptides at natural isotopic abundance with zero-and ultra-low-field total correlation spectroscopy (ZULF-TOCSY) / Kiryutin, A. S. [ et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2021. – Т. 23, № 16. – С. 9715-9720.
8. Патент №2746064 Российская федерация, МПК G01R 33/46 (2006.01). Способ полной корреляционной спектроскопии ЯМР со смешиванием спинов ядер в ультраслабом магнитном поле : № 2020126154 : заявл. 03.08.2020 : опубл. 06.04.2021/ Кирютин А. С., Гришин Ю.А., Жуков И.В., Иванов К.Л., Юрковская А.В. ; заявитель МТЦ СО РАН. – 15 с.

### **Тезисы докладов автора по теме диссертации**

1. Zhukov I.V. Intramolecular and intermolecular electron transfer in photoreaction of flavin adenine dinucleotide with tryptophan: time-resolved and field-dependent CIDNP study at high and low magnetic fields / Zhukov I.V., Fishman N.N., Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V., Vieth H.-M. // *Euromar 2018, 1-5 July 2018 (Nantes, France)*
2. Zhukov I. Field-dependent study of J resonances of light-induced nuclear hyperpolarization in the rigid D-X-A dyads / Zhukov I.V., Fishman N.N., Kiryutin A.S., Lukzen N.N., Vieth H.-M., Lambert C., Steiner U., Yurkovskaya A.V. // *Spin Physics, Spin Chemistry and Spin Technology 2018, 10-15 September 2018 (Novosibirsk, Russia)*
3. Zhukov I. Time-resolved and field-dependent CIDNP study of photoreaction of flavin adenine dinucleotide with tryptophan: intramolecular and intermolecular electron transfer / Zhukov I.V., Yurkovskaya A.V. // *V School for*

young scientists Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics 2018, 15-20 September 2018 (*St. Petesburg, Russia*)

4. Zhukov I. Light-induced nuclear hyperpolarization in rigid D-X-A dyads reveals positive sign of exchange interaction and dominance of minor channel in CIDNP formation / Zhukov I.V., Fishman N.N., Panov M.S., Kiryutin A.S., Lukzen N.N., Vieth H.-M., Lambert C., Steiner U., Yurkovskaya A.V. // Spin Chemistry Meeting 2019, 18-22 August 2019 (*Saint Petersburg, Russia*)
5. Zhukov I. Elucidation of the exchange interaction sign in rigid D-X-A dyads: dominance of minor channel in CIDNP formation / Zhukov I.V., Fishman N.N., Panov M.S., Kiryutin A.S., Lukzen N.N., Vieth H.-M., Lambert C., Steiner U., Yurkovskaya A.V. // EuroIsmar 2019, 25-30 August 2019 (*Berlin, Germany*)
6. Zhukov I. Two-dimensional NMR experiments exploiting spin mixing under ZULF conditions / Zhukov I.V., Kiryutin A.S., Ferrage F., Buntkowsky G., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. // Intercontinental magnetic resonance seminar series, 12 June 2020 (*on-line*)
7. Zhukov I. Two-dimensional NMR experiments exploiting spin mixing under zero- or ultra-low field conditions / Zhukov I.V., Kiryutin A.S., Ferrage F., Buntkowsky G., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. // Euromar 2020, 7-8 December 2020 (*on-line*)
8. Zhukov I. Total chemical shift correlation among all magnetic nuclei by isotropic mixing in zero- to ultra-low field / Zhukov I.V., Kiryutin A.S., Ferrage F., Buntkowsky G., Bodenhausen G., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. // Euromar 2021, 5-8 July 2021 (*on-line*)

## **Литература**

1. Stob S. Intramolecular electron transfer in flavin adenine dinucleotide. Photochemically induced dynamic nuclear polarization study at high and low magnetic fields / Stob S., Kemmink J., Kaptein R. // Journal of the American Chemical Society. – 1989. – Т. 111, № 18. – С. 7036-42.
2. de Kanter F.J.J. Biradical CIDNP and the dynamics of polymethylene chains / de Kanter, F. J. J., den Hollander, J. A., Huizer, A. H., Kaptein, R. // Molecular Physics. – 1977. – Т. 34, № 3. – С. 857-874.
3. Koptyug, I.V. Calculation of Stimulated Nuclear-Polarization in Short-Lived Biradicals and Comparison with Experiment / Koptyug, I. V. [ et al.] // Chemical Physics. – 1992. – Т. 162, № 1. – С. 165-176.
4. Schäfer J. Fine tuning of electron transfer and spin chemistry parameters in triarylamine-bridge-naphthalene diimide dyads by bridge substituents / Schäfer, J. [ et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2018. – Т. 20, № 42. – С. 27093-27104.