

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ «МЕЖДУНАРОДНЫЙ ТОМОГРАФИЧЕСКИЙ
ЦЕНТР» СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Связзов Сергей Владимирович

**РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЯДЕРНОЙ СПИНОВОЙ
ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ ПАРАВОДОРОДА:
ОТ ПОЛУЧЕНИЯ КОНТРАСТНЫХ АГЕНТОВ ДО
ОБОГАЩЕНИЯ ЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ ИЗОМЕРОВ
ЭТИЛЕНА**

Специальность 1.3.17 – «Химическая физика, горение и взрыв, физика
экстремальных состояний вещества»

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат химических наук
Буруева Дударь Баировна

Новосибирск – 2026

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1: Обзор литературы.....	15
1.1 Методы гиперполяризации в ядерном магнитном резонансе.....	15
1.2 Ядерные спиновые изомеры молекулы водорода.....	19
1.3 Ядерные спиновые изомеры этилена.....	23
1.4 Способы обогащения ЯСИМ.....	25
1.5 Индуцированная параводородом поляризация ядер (ИППЯ).....	27
1.5.1 Основные принципы и применения метода ИППЯ.....	27
1.5.2 Метод ИППЯ для гомогенного катализа.....	30
1.5.3 Метод ИППЯ для гетерогенного катализа.....	32
1.5.4 Применение гомогенного ИППЯ для получения контрастных агентов.....	36
1.5.5 Метод PHIP-SAH.....	39
1.6 Метод усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE).....	52
1.6.1 Основные принципы метода SABRE.....	52
1.6.2 Метод SABRE для гиперполяризации имидазолов.....	55
Глава 2: Экспериментальная часть.....	59
2.1. Материалы и реактивы.....	59
2.1.1. Синтез предшественников для метода PHIP-SAH.....	60
2.1.2. Синтез предшественников для метода SABRE.....	63
2.2. Приборы и оборудование.....	63
2.2.1. Спектроскопия ЯМР.....	63
2.2.2. Получение параводорода.....	64
2.2.3. Определение цитотоксичности.....	64
2.2.4. Определение остаточного содержания Ir.....	65
2.2.5. Характеризация катализаторов Pd/ND@G.....	65
2.2.6. Характеризация иммобилизованных катализаторов.....	68
2.2.7. Методика проведения экспериментов.....	70
2.2.6.1. Эксперименты с гидрированием пропина.....	70
2.2.6.2. Эксперименты с гидрированием ацетилена на иммобилизованных катализаторах.....	71
2.2.6.3. Эксперименты с гидрированием ацетилена и последующая реакция электрофильного присоединения.....	72
2.2.6.4. Эксперименты по гиперполяризации метронидазола.....	74
2.2.6.5. Эксперименты по гиперполяризации формиата.....	75
2.2.6.6. Эксперименты по гиперполяризации [1,3- ¹³ C ₂]ацетоацетата.....	77
2.3. Обработка данных и расчеты.....	80

2.3.1. Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для газообразных углеводородов	80
2.3.2. Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для эфиров формиата	80
2.3.2. Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для эфиров ацетоацетата	81
2.3.3. Обработка данных для гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола	83
2.3.4. Обработка кинетических данных для взаимопревращения ЯСИ этилена	84
2.3.5. Моделирование спектров от гиперполяризованного 2-бромэтанола	86
2.3.6. Моделирование зависимости MFC для аллил [^{13}C]формиата	89
Глава 3: Результаты и обсуждение	90
3.1. Изучение гиперполяризации пропилена на катализаторах с различным распределением активного компонента	90
3.2. Изучение гидрирования ацетилена на иммобилизованных иридиевых и родиевых катализаторах	96
3.3. Изучение взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена	102
3.4. Изучение гиперполяризации [^{13}C]формиата методом PHIP-SAH	114
3.5. Изучение гиперполяризации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата методом PHIP-SAH	122
3.6. Изучение гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола методом CASH-SABRE	131
Выводы	140
Приложения	141
Приложение 1. Волновые функции ЯСИ этилена	141
Приложение 2. Расчет времени хранения этилена в шприце	143
Приложение 3. КССВ для этилена и 2-бромэтанола	144
Приложение 4. КССВ для аллил [^{13}C]формиата	146
Приложение 5. Кодировка структур в главе, посвященной гиперполяризации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата	147
Приложение 6. Кинетический анализ для гидрирования пропаргил ацетоацетата	148
Приложение 7. Измерение времени релаксации T_1 для аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата и его енолятов	154
Приложение 8. Кривые активации для [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола	155
Приложение 9. Спектры ЯМР ^1H от смеси SABRE	156
Список сокращений	157
Список литературы	159
Благодарности	169

Введение

Актуальность работы

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) широко применяется в различных областях науки и техники в качестве мощного аналитического инструмента для изучения структуры, реакционной способности различных молекул и материалов. Среди всех методов диагностической визуализации большое значение имеет метод магнитно-резонансной томографии (МРТ), основанный на эффекте ЯМР, из-за его способности выявлять структурные аномалии в органах без воздействия ионизирующего излучения с одной стороны и создания отличного контраста в мягких тканях с другой стороны. 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 для преодоления данного ограничения является развитие методов ядерной спиновой гиперполяризации, заключающихся в создании неравновесных заселенностей ядерных спиновых уровней и, вследствие этого, позволяющих наблюдать усиленные сигналы в спектре ЯМР [1]. 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 $I = 0$), представляющего 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) [2]. 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 [3]. 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, осуществляемое с помощью метода гетерогенного ИППЯ [4]. Этилен является важной молекулой как для фундаментальной физики, так и для химической промышленности, поскольку он участвует в многочисленных химических процессах: полимеризация, олигомеризация, окисление, алкилирование и другие. 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 которые вовлечен этилен.

Другой не менее важной областью применения гиперполяризованных веществ являются исследования метаболизма в реальном времени, открывающие значительные диагностические возможности. В частности, патологические изменения метаболизма могут быть обнаружены благодаря отслеживанию превращений гиперполяризованного контрастного агента внутри организма. Например, известно, что для раковых клеток характерен метаболизм Варбурга, при котором пируват активно метаболизируется в лактат [5]. На данный момент уже разработаны многочисленные подходы для гиперполяризации ^{13}C -пирувата, которые в сочетании с МРТ-визуализацией *in vivo* позволяют диагностировать раковые образования, что подтверждается многочисленными клиническими испытаниями [6]. Таким образом, разработка подходов для 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 – PHIP-SAH, потенциально позволяющая поляризовать биомолекулы, содержащие карбоксильную группу [7]. В этой связи особый интерес представляют ацетоацетат и формиат. Ацетоацетат рассматривается как маркер окислительно-восстановительного состояния митохондрий, что потенциально позволяет диагностировать патологии, связанные с нарушением митохондриального метаболизма (рак, сердечно-сосудистые заболевания и т. д.) [8]. Формиат, в свою очередь, является важной молекулой для ряда биохимических и промышленных процессов, поэтому

разработка методов его гиперполяризации также расширяет возможности применения ЯМР [9].

Другим перспективным подходом для гиперполяризации биомолекул является метод усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE) [10]. 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, $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол является привлекательным субстратом поскольку, известно, что он накапливается в гипоксичных опухолевых клетках и, следовательно, обладает потенциалом для их диагностики [11]. В этом отношении разработка подходов к получению гиперполяризованного $[^{15}\text{N}_3]$ 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 гиперполяризуемых 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.

Цели и задачи работы

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

- 1) Изучить влияние распределения активного компонента катализаторов $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ на их активность в парном присоединении водорода в реакции селективного гидрирования пропина.

2) Изучить каталитическую активность трех иммобилизованных катализаторов родия и иридия (Rh-S@SiO_2 , Ir-S@SiO_2 , Ir-P@SiO_2) в реакции селективного гидрирования ацетилена параводородом.

3) Изучить динамику взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена, полученного на трех катализаторах (Ir-P@SiO_2 , $\text{Pd-In/Al}_2\text{O}_3$, Pd/TiO_2) в реакции селективного гидрирования ацетилена параводородом.

4) Изучить и оптимизировать ключевые этапы метода PHIP-SAH для гиперполяризации [^{13}C]формиата натрия и [$1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата натрия.

5) Разработать подход для гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола в биосовместимой водной среде.

Научная новизна работы

Была изучена зависимость активности в парном присоединении водорода в реакции селективного гидрировании пропина от распределения активного компонента катализаторов $\text{Pd}_1/\text{ND@G}$ и $\text{Pd}_n/\text{ND@G}$. Было показано, что активность примерно в 6 раз выше для катализатора $\text{Pd}_1/\text{ND@G}$, что и ожидается из известных каталитических концепций. Также подробным образом была исследована активность трех иммобилизованных катализаторов иридия и родия в селективном гидрировании ацетилена. Впервые были зарегистрированы усиленные сигналы в спектре ЯМР ^1H от молекулы [^{13}C]этилена с природным содержанием ^{13}C атомов в газовой фазе для иридиевого катализатора, что свидетельствует о значительной доле парного присоединения и позволяет рассматривать данную каталитическую систему в качестве перспективной для обогащения этилена ядерными спиновыми изомерами. Более того, с помощью анализа формы усиленных линий в спектре ЯМР было заключено, 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 в трех изученных каталитических системах. 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 инверсионной симметрии. Полученные результаты расширяют представление о характерных временах взаимопревращения ядерных изомеров этилена различных классов симметрии и корректируют существующее понимание кинетики данных процессов. 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 порядка 3–6 с. Также было показано, что дисбаланс ядерных спиновых изомеров этилена может сохраняться вплоть до 1 часа хранения в газовой фазе, что является самым длительным наблюдавшимся временем жизни для долгоживущих спиновых состояний протонов (помимо водорода).

Впервые с помощью метода PHIP-SAN были гиперполяризованы аллил [^{13}C]формиат и аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат. Для обоих субстратов были оптимизированы все этапы метода PHIP-SAN. Для аллил [^{13}C]формиата 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, который приводит к образованию гиперполяризованного [^{13}C]формиата натрия. Для аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата после оптимизации наблюдаемая поляризация для ядер ^1H составила 25,5%, при этом была достигнута 100% химическая конверсия пропаргильного предшественника и 80% селективность по отношению к аллиловому эфиру. Этап переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C был также оптимизирован, что привело к следующим значениям максимально наблюдаемой поляризации ядер ^{13}C : $P(^{13}\text{C}-1) = 4,1\%$ и $P(^{13}\text{C}-3) = 2,7\%$. Далее были проанализированы продукты гидролиза аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата в различных условиях. Было показано, что щелочной гидролиз приводит к образованию енолятов аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата, которые затем могут быть превращены в гиперполяризованный [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат в жестких щелочных условиях с последующим разложением на гиперполяризованные [2- ^{13}C]ацетон и [^{13}C]карбонат. Таким образом, данная работа впервые раскрыла потенциальные ограничения метода PHIP-SAN, такие как затрудненность гидролиза для производных β -кетокислот.

Наконец, впервые для гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола в биосовместимой среде было предложено использовать подход CASH SABRE, сочетающий процесс гиперполяризации с очисткой от токсичного катализатора посредством экстракции

субстрата в водную фазу. В частности, была предложена процедура получения гиперполяризованного [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола в водной среде с концентрацией ≈ 30 мМ и поляризацией ядер ^{15}N , превышающей 2,2% для всех трех ядер ^{15}N метронидазола. Было измерено время релаксации T_1 ядер ^{15}N в группе $^{15}\text{NO}_2$ в водной фазе, и оно составило ≈ 12 мин при клинически значимом магнитном поле 1,4 Тл, что демонстрирует необычно длительное время жизни гиперполяризованного состояния. С помощью метода ИСП-АЭС была измерена остаточная концентрация иридия в водном растворе, и она составила ≈ 100 мкМ. Более того, биосовместимость данного раствора была подтверждена с помощью колориметрического теста МТТ, оценивающего метаболическую активность клеток эмбриональной почки человека НЕК293Т. Таким образом, данная работа является важным шагом на пути к применению гиперполяризованного метронидазола для биомедицинских исследований.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение метода ИППЯ для гетерогенных катализаторов является бурно развивающейся областью как с фундаментальной, так и с практической точек 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 роль природа активных центров катализатора. Полученная новая информация о влиянии распределения активного компонента гетерогенных катализаторов селективного гидрирования тройной связи на эффективность парного присоединения водорода к пропину имеет значительную ценность для дальнейшей оптимизации и разработки каталитических систем, обеспечивающих высокие уровни поляризации и значительную каталитическую активность. Создание таких каталитических систем играет ключевую роль для потенциального использования 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 и последующей реакции 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 с целью создания значительного дисбаланса ядерных спиновых изомеров этилена, 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 ядерных спиновых 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 развития 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 частности, потенциально подобные технологии позволят диагностировать и классифицировать раковые опухоли и сердечно-сосудистые заболевания на ранних стадиях, что является ключом к их успешному лечению. В данной работе для гиперполяризации потенциальных 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, что открывает широкие возможности для фундаментальных исследований в области метаболизма митохондрий. Более того, известно, что окислительно-восстановительный статус митохондрий отклоняется от нормы для раковых клеток 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 применению ацетоацетата в качестве маркера окислительно-восстановительного стресса митохондрий, что открывает широкие диагностические возможности для множества заболеваний.

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 данной работе был предложен новый подход, позволяющий получать биосовместимые растворы гиперполяризованного $^{15}\text{N}_3$ метронидазола, относящегося к известному классу соединения – нитроимидазолам. Гиперполяризация нитроимидазолов потенциально открывает возможность исследования метаболизма ^{15}N меченных 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 ядру ^{15}N (таких как длинное 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 для биомедицинских исследований. Известно, что метронидазол накапливается и метаболизируется в раковых клетках в гипоксичных условиях, но при этом детали его метаболизма все еще остаются неисследованными, и использование гиперполяризованного метронидазола откроет новые возможности для изучения метаболизма метронидазола.

Методология и методы исследования

Основным методом исследования в диссертационной работе являлась спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Для усиления сигналов ЯМР использовались 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 и SABRE-SHEATH. Теоретическое рассмотрение спиновой динамики проводилось на основе формализма матрицы плотности.

Положения, выносимые на защиту

1) Гидрирование ацетилена с природным содержанием атомов ^{13}C на иммобилизованном иридиевом катализаторе Ir-P@SiO₂ происходит по пути *син-*

присоединения и обеспечивает гиперполяризацию [^{13}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-SAH позволяет поляризовать аллил [^{13}C]формиат и аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат. Гиперполяризованный аллил [^{13}C]формиат в щелочных условиях гидролизуетсЯ количественно с образованием [^{13}C]формиата натрия. В жестких щелочных условиях аллил 1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат гидролизуетсЯ с образованием гиперполяризованного [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата натрия с его последующим разложением на гиперполяризованные [2- ^{13}C]ацетон и [^{13}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 цитотоксичного катализатора SABRE.

Степень достоверности полученных результатов

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 Клиники г. Фрайбурга (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 диссертационной работы подтверждаются публикациями в рецензируемых международных изданиях, в которых проводилась независимая экспертная оценка представленных работ.

Личный вклад соискателя

Роль соискателя заключалась в планировании и проведении всех экспериментов, а также в обработке полученных данных, представленных в диссертации (за исключением синтеза предшественников, приготовления и характеристики катализаторов, а также

анализа растворов на биосовместимость). Также соискатель принимал участие в моделировании спиновой динамики и в теоретическом анализе, которые были проведены совместно с к.х.н. Буровой Дударь Баировной и к.х.н. Бабенко Семеном Владимировичем. Соискатель участвовал в постановке задач, обсуждении результатов и их оформлении для публикации в рецензируемых журналах.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены на 8 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).

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 5 научных статей в рецензируемых научных изданиях:

1. D.B. Burueva, **S.V. Sviyazov**, F. Huang, I.P. Prosvirin, A.V. Bukhtiyarov, V.I. Bukhtiyarov, H. Liu, I. V. Коптыуг. Pd on Nanodiamond/Graphene in Hydrogenation of Propyne with Parahydrogen // J. Phys. Chem. C. 2021. Т. 125, № 49. С. 27221–27229.
DOI: [10.1021/acs.jpcc.1c08424](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c08424)
2. И.В. Сковпин, **С.В. Свйазов**, Д.Б. Буроева, Л.М. Ковтунова, А.В. Нартова, Р.И. Квон, В.И. Бухтияров, И.В. Коптыуг. 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.

Переводная версия:

I.V. Skovpin, S.V. Sviyazov, D.B. Burueva, L.M. Kovtunova, A.V. Nartova, R.I. Kvon, V.I. Bukhtiyarov, I.V. Koptuyug. Nonequilibrium Nuclear Spin States of

Ethylene during Acetylene Hydrogenation with Parahydrogen over Immobilized Iridium Complexes // Dokl. Phys. Chem. 2023. T. 512. C. 149–157.

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. T. 26, № 9. C. 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. Chekmenev, O.G. Salnikov, I.V. Koptug. ¹⁵N Hyperpolarization of Metronidazole Antibiotic in Aqueous Media Using Phase-Separated Signal Amplification by Reversible Exchange with Parahydrogen // J. Phys. Chem. Lett. 2024. T. 15. № 20. C. 5382–5389.

DOI: [10.1021/acs.jpcllett.4c00875](https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.4c00875)

5. D.B. Burueva, **S.V. Sviyazov**, N.V. Chukanov, N.R. Mustafin, O.G. Salnikov, E.Y. Chekmenev, K.V. Kovtunov, I.V. Koptug. Hyperpolarization of [¹³C]formate using parahydrogen // J. Magn. Reson. Open 2024. T. 21. C. 100176.

DOI: [10.1016/j.jmro.2024.100176](https://doi.org/10.1016/j.jmro.2024.100176)

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

Диссертация 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.».

Объем и структура работы

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.

Глава 1: Обзор литературы

1.1 Методы гиперполяризации в ядерном магнитном резонансе

Метод ядерного магнитного резонанса основан на эффекте Зеемана, согласно которому угловой момент ядер с $I > 0$ квантуется вдоль направления внешнего магнитного поля (B_0), что приводит к возникновению $2I+1$ ядерных спиновых состояний. Каждому состоянию соответствует магнитное квантовое число m (принимаяющее значения от $-I, -I+1, \dots, 0, \dots, +I-1, +I$) и энергия, равная $E_m = -m\gamma\hbar B_0$, где γ – гиромагнитное отношение ядра, \hbar – приведенная постоянная Планка.

Сигнал в ЯМР возникает в результате переходов между ядерными спиновыми уровнями. Для оценки значения интенсивности сигнала ЯМР используют так называемую поляризацию (P). Для находящихся в тепловом равновесии спинов с $I = 1/2$ поляризация определяется как [12]:

$$P = \frac{N_\alpha - N_\beta}{N_\alpha + N_\beta}, \quad (1)$$

где N_α и N_β – заселенности ядерных спиновых уровней. Данные заселенности в случае теплового равновесия задаются распределением Больцмана:

$$N_{\alpha(\beta)} = e^{\frac{-E_{\alpha(\beta)}}{kT}}, \quad (2)$$

где $E_{\alpha(\beta)}$ – энергия уровней, k – константа Больцмана, T – температура. Для экспериментов при комнатной температуре можно использовать высокотемпературное приближение ($kT \gg E_{\alpha(\beta)}$) и показать, что:

$$P \sim \frac{\gamma\hbar B_0}{2kT}. \quad (3)$$

Например, для ядер ^1H при комнатной температуре и напряженности магнитного поля $B_0 = 7,05$ Тл можно рассчитать, что P равна $2,42 \times 10^{-5}$. Это означает, что только два протона из $\sim 10^5$ вносят вклад в наблюдаемый сигнал ЯМР. Таким образом, метод ЯМР ограничен низкой чувствительностью, обусловленной малой разностью по энергии между ядерными спиновыми уровнями. Наиболее прямым методом повышения чувствительности является увеличение внешнего магнитного поля, поскольку разность энергий прямо пропорциональна величине B_0 . Данный подход значительно ограничен техническими возможностями конструирования сверхпроводящих магнитов, необходимых для создания

B_0 больше нескольких Тл с одной стороны и высокой ценой с другой. Также из уравнения (3) видно, что термическая поляризация обратно пропорциональна температуре и, следовательно, понижая температуру, можно значительно увеличить $P_{терм}$ (в англоязычной литературе данный подход известен как “brute force” [13]). В частности, охлаждение образца до криогенных температур (порядка 100 мК) в сильном магнитном поле с последующим растворением и переносом в спектрометр ЯМР для детекции приводит к наблюдению усиленных сигналов ЯМР. Однако, при достижимых на сегодняшний день температурах и напряженностях магнитных полей уровни поляризации ядер ^1H ограничены значениями $< 1\%$ [14]. Более того, для установления равновесной поляризации требуется продолжительное время, что связано с длинными временами T_1 в твердом состоянии для целевых молекул при криогенных температурах [15]. Из-за этих двух факторов, а также значительной технической сложности применение подхода “brute force” остается заметно ограниченным.

Однако, чувствительность метода ЯМР, а также магнитно-резонансной томографии (МРТ), можно значительно повысить, создавая неравновесную заселенность ядерных спиновых подуровней. Данный подход реализуется с помощью широкого класса методов, называемых методами гиперполяризации [1]. Повышение чувствительности приводит к значительному усилению сигналов в спектре ЯМР. Для количественной оценки усиления сигнала вводят фактический коэффициент усиления сигнала:

$$\varepsilon = \frac{S}{S_{терм}} = \frac{P}{P_{терм}}, \quad (4)$$

где S – интегральная интенсивность сигнала, наблюдаемая в эксперименте, $S_{терм}$ – интегральная интенсивность сигнала той же группы, нормированная на количество протонов в случае термической поляризации, P – поляризация ядерных спиновых подуровней, наблюдаемая в эксперименте, $P_{терм}$ – термическая поляризация. Максимально возможное теоретическое усиление сигнала ЯМР ^1H в сильном магнитном поле находится в диапазоне 10^4 - 10^5 , в зависимости от условий эксперимента, при этом для гетероядер характерные усиления еще выше.

Важно отметить, что неравновесная заселенность ядерных спиновых подуровней, как правило, носит временный характер и исчезает с характерной временной константой (как правило с константой спин-решеточной релаксации T_1). Созданная с помощью методов гиперполяризации P спадает экспоненциально к $P_{терм}$ с характерным временем, часто соответствующим времени спин-решеточной релаксации T_1 . В зависимости от ядра, условий эксперимента, значения B_0 и других параметров, характерное время жизни

гиперполяризации может варьироваться от нескольких мс до нескольких минут. Таким образом, время спин-решеточной релаксации целевого ядра является ключевой характеристикой для применения гиперполяризованных молекул.

Существует множество методов гиперполяризации, основанных на самых разных эффектах. Из уравнения (3) видно, что $P_{\text{терм}}$ прямо пропорциональна гиромагнитному отношению γ . Поскольку известно, что γ для электронов больше, чем для ядер (например, $\frac{\gamma_e}{\gamma_{1H}} = 660$), в определенных условиях можно переносить поляризацию с электронов на ядра, создавая неравновесную заселенность ядерных спиновых подуровней.

Самым распространенным на данный момент методом гиперполяризации является динамическая поляризация ядер (ДПЯ), концепция которой была предложена теоретически А. Оверхаузером в 1953 году [16] и немного позже была продемонстрирована экспериментально [17]. В данном подходе твердый образец, содержащий неспаренные электроны (как правило, стабильный бирадикал [18]), охлаждается до температур порядка 1–2 К (иногда выше) при постоянном сильном магнитном поле для достижения практически 100% электронной поляризации. Далее получаемая электронная поляризация переносится на ближайшие ядра за счет накачки переходов электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в микроволновом диапазоне на частоте резонанса электронов [19]. Перенос поляризации основан на сверхтонком взаимодействии между электронами и ядрами. Метод ДПЯ получил широкое применение в спектроскопии ЯМР твердых тел с вращением под магическим углом, поскольку данный метод позволяет значительно усилить сигналы ядер, локализованных в поверхностных центрах гетерогенных катализаторов [20]. В частности, недавно была разработана модификация метода ДПЯ, позволяющая эффективно изучать активные центры на поверхности материалов [21].

Я.Х. Арденкьер-Ларсен и коллеги в 2003 году предложили метод ДПЯ с последующим растворением (dissolution DNP или d-DNP) [22]. В данном подходе целевую молекулу смешивают со стабильным радикалом и стеклообразующим компонентом, итоговый образец охлаждают до 1–2 К в ном магнитном поле и облучают его микроволновым излучением на частоте электронного резонанса в течение нескольких часов. После накопления ядерной поляризации к образцу быстро добавляют горячий растворитель (например, буферный раствор) для растворения матрицы. Наконец, образец, готовый к инъекции, доставляют к изучаемому объекту (как правило, биологический объект) и проводят детекцию в ЯМР/МРТ-системе. Метод d-DNP существенно расширил

возможности ДПЯ за счет возможности получения растворов гиперполяризованных биомолекул и получил широкое применение для изучения биологических систем [23].

В последние годы [1- ^{13}C]пируват, гиперполяризованный с помощью d-DNP, стал одним из основных субстратом для изучения метаболизма методом МРТ с детекцией по ядрам ^{13}C . Это связано с рядом причин: 1) пируват является центральным клеточным метаболитом, связывающим гликолиз и цикл Кребса; 2) пируват можно вводить в организм в значительных концентрациях (порядка нескольких сотен мМ); 3) с одной стороны, ядро ^{13}C в [1- ^{13}C]пирувате имеет достаточно длинное время T_1 в *in vivo* условиях, а с другой стороны — пируват достаточно быстро метаболизируется организмом. С биохимической точки зрения, пируват представляет первостепенный интерес в контексте эффекта Варбурга, заключающегося в том, что даже в аэробных условиях в раковых клетках значительная часть пирувата превращается в лактат вместо того, чтобы вступать в цикл Кребса [24]. Более того, для раковых клеток наблюдается значительно повышенная скорость конверсии пирувата по сравнению с нормальными клетками [5]. На этой биохимической особенности основана идея выявления раковых опухолей у пациентов за счет комбинации гиперполяризованного [1- ^{13}C]пирувата с МРТ, а также с пространственно-разрешенной спектроскопией ЯМР (MRSI) по ядрам ^{13}C [6]. В частности, было показано, что гиперполяризованный [1- ^{13}C]пируват может быть использован для диагностики рака молочной железы [25], простаты [26] и различных патологий сердца [27]. Более того, было показано, что данный подход может быть использован для оценки эффективности противораковой терапии [28]. По данным clinicaltrials.gov на сегодняшний день проводится более 30 клинических испытаний с использованием гиперполяризованного [1- ^{13}C]пирувата [23]. Таким образом, на данный момент [1- ^{13}C]пируват, поляризованный с помощью d-DNP, является золотым стандартом для *in vivo* МРТ ^{13}C исследований. Однако метод d-DNP не лишен недостатков, главными из которых являются высокая цена оборудования, техническая сложность и необходимость значительного времени для приготовления гиперполяризованного образца.

Другим перспективным методом гиперполяризации, основанным на использовании поляризации электронов, является спин-обменная оптическая накачка (СООН) [1]. Данный метод основан на использовании поляризованных электронов щелочных металлов для гиперполяризации ядерных спинов благородных газов (^3He , ^{129}Xe , ^{131}Xe , ^{83}Kr) в результате спинового обмена [29]. В данном методе в специальную ячейку помещают щелочной металл, инертный газ вместе с буферными газами (He , N_2) и затем ячейка нагревается для создания достаточной концентрации паров щелочного металла. Далее циркуляционно-

поляризованное излучение (на D1-линии) используется для спин-селективной накачки переходов атомов щелочного металла для создания неравновесной поляризации электронов. Наконец, поляризация с электронов переносится на ядерные спины атомов благородных газов в результате столкновений в газовой фазе. На данный момент подход СООН позволяет поляризовать атомы ^{129}Xe более чем на 50%, что позволяет использовать ГП ксенон для функциональной МРТ легких для выявления различных заболеваний на ранних стадиях [29,30]. Также гиперполяризованный ^{129}Xe получил широкое применение в анализе пористых материалов благодаря уникальной чувствительности химического сдвига ЯМР ^{129}Xe от его окружения [31,32].

Все перечисленные выше методы гиперполяризации основаны на создании поляризации за счет переноса спинового порядка от электронов к ядрам. Однако существует целый класс методов, основанных на ядерном спиновом изомере молекулы водорода – параводорода. Молекула параводорода с физической точки зрения является источником чистого синглетного ядерного спинового порядка, что может быть использовано для гиперполяризации других ядер. Физические принципы и применения методов, основанных на параводороде, подробно рассмотрены далее.

1.2 Ядерные спиновые изомеры молекулы водорода

Теорема Паули устанавливает, что полная волновая функция системы меняет знак при перестановке пары одинаковых фермионов [33]. Следствием данной теоремы является связь между симметрией ядерной и вращательной волновых функций при фиксированных остальных степенях свободы (электронное и колебательное состояния и т. д.). Иными словами, для ядерных состояний разной симметрии разрешены разные наборы вращательных уровней, что и порождает ядерные спиновые изомеры симметричных молекул. Существование ядерных спиновых изомеров различных симметричных молекул является фундаментальным следствием квантовой механики.

Ядра водорода в молекуле H_2 имеют спин $1/2$, которому соответствуют две возможные проекции: $|\alpha\rangle (+\frac{1}{2})$ и $|\beta\rangle (-\frac{1}{2})$. При сложении ядерных спинов двух атомов водорода получают полный ядерный спин $I = 1$ (триплетные состояния) или $I = 0$ (синглетное состояние). Синглетное спиновое состояние ($I = 0$) антисимметрично относительно перестановки ядер и имеет вид:

$$S_0 = \frac{\alpha\beta - \beta\alpha}{\sqrt{2}}. \quad (5)$$

Полному ядерному спину $I = 1$ соответствуют 3 проекции: $+1 (T_+)$, $0 (T_0)$, $-1 (T_-)$. Триплетные состояния симметричны относительно перестановки ядер и имеют вид:

$$\begin{aligned} T_+ &= \alpha\alpha, \\ T_0 &= \frac{\alpha\beta + \beta\alpha}{\sqrt{2}}, \\ T_- &= \beta\beta. \end{aligned} \quad (6)$$

В результате получаем:

$$\begin{aligned} \hat{P}\psi_s &= -\psi_s, \\ \hat{P}\psi_t &= +\psi_t, \end{aligned} \quad (7)$$

где \hat{P} – оператор перестановки ядер, ψ_s – волновая функция синглетного состояния, ψ_t – волновая функция триплетного состояния.

Полная волновая функция молекулы водорода имеет вид:

$$|\psi_{H_2}\rangle = |\psi_e^{orb}\rangle \cdot |\psi_e^s\rangle \cdot |\psi_n^s\rangle \cdot |\psi_n^{rot}\rangle \cdot |\psi^{vib}\rangle, \quad (8)$$

где $|\psi_e^{orb}\rangle$ – волновая функция, описывающая орбитальное движение электронов; $|\psi_e^s\rangle$ – электронная спиновая волновая функция; $|\psi_n^s\rangle$ – ядерная спиновая волновая функция; $|\psi_n^{rot}\rangle$ – волновая функция, описывающая вращение молекулы; $|\psi^{vib}\rangle$ – волновая функция, описывающая колебания молекулы. Для молекулы водорода $|\psi_e^{orb}\rangle$ симметрична относительно перестановки электронов, а $|\psi_e^s\rangle$ антисимметрична относительно перестановки электронов. Остальные волновые функции не зависят от координат электронов и, следовательно, симметричны. Таким образом, полная волновая функция действительно антисимметрична относительно перестановки электронов, что соответствует теореме Паули. Помимо этого, волновая функция должна быть антисимметрична относительно перестановки ядер (так как ядра протонов имеют спин $1/2$ и, следовательно, относятся к фермионам). От координат ядер зависят только $|\psi_n^{rot}\rangle$ и $|\psi_n^s\rangle$. Следовательно, по теореме Паули произведение $|\psi_n^s\rangle \cdot |\psi_n^{rot}\rangle$ должно быть антисимметричным относительно перестановки ядер. Для волновой функции, характеризующей вращение:

$$\hat{P}|\psi_n^{rot}\rangle = (-1)^J |\psi_n^{rot}\rangle, \quad (9)$$

где J – вращательное квантовое число, \hat{P} – оператор перестановки ядер. Таким образом, произведение $|\psi_n^s\rangle \cdot |\psi_n^{rot}\rangle$ антисимметрично в двух случаях:

- 1) симметричная вращательная волновая функция для четных J ($J = 0, 2, \dots$) умножается на антисимметричную ядерную спиновую волновую функцию

(синглетное состояние). Этот случай соответствует ядерному спиновому изомеру водорода, называемому параводородом (обозначается $p\text{-H}_2$);

- 2) антисимметричная вращательная волновая функция для нечетных J ($J = 1, 3, \dots$) умножается на симметричную ядерную спиновую волновую функцию (триплетные состояния). Этот случай соответствует ядерному спиновому изомеру водорода, называемому ортоводородом (обозначается $o\text{-H}_2$).

Обычный водород является смесью $p\text{-H}_2$ и $o\text{-H}_2$, равновесное соотношение которых зависит от температуры. Количественно соотношение концентраций ядерных спиновых изомеров водорода можно найти как отношение вращательных статистических сумм при данной температуре с учетом вырожденности по ядерному спину (триплетное состояние трехкратно вырождено):

$$\frac{N_{\text{пара}}}{N_{\text{орто}}} = \frac{q_{\text{rot}, J=2k}(T)}{3q_{\text{rot}, J=2k+1}(T)}. \quad (10)$$

Вращательная статистическая сумма для двухатомной молекулы имеет вид:

$$q_{\text{rot}}(T) = \sum_{J=0}^{\infty} (2J + 1) e^{-\frac{J(J+1)\theta_{\text{rot}}}{T}}, \quad (11)$$

где θ_{rot} (характеристическая температура) = $\frac{h^2}{8\pi^2 I k_B}$.

В этих формулах: h – постоянная Планка, I – момент инерции молекулы, k_B – константа Больцмана, T – температура, J – вращательное квантовое число. В случае $q_{\text{rot}, J=2k}(T)$ сумма идет по четным J , а в случае $q_{\text{rot}, J=2k+1}(T)$ сумма идет по нечетным J . Используя уравнение 10, можно построить зависимость $\frac{N_{\text{пара}}}{N_{\text{орто}} + N_{\text{пара}}}(T)$ (доля $p\text{-H}_2$ при конкретной температуре), которая показана на рисунке 1.1.

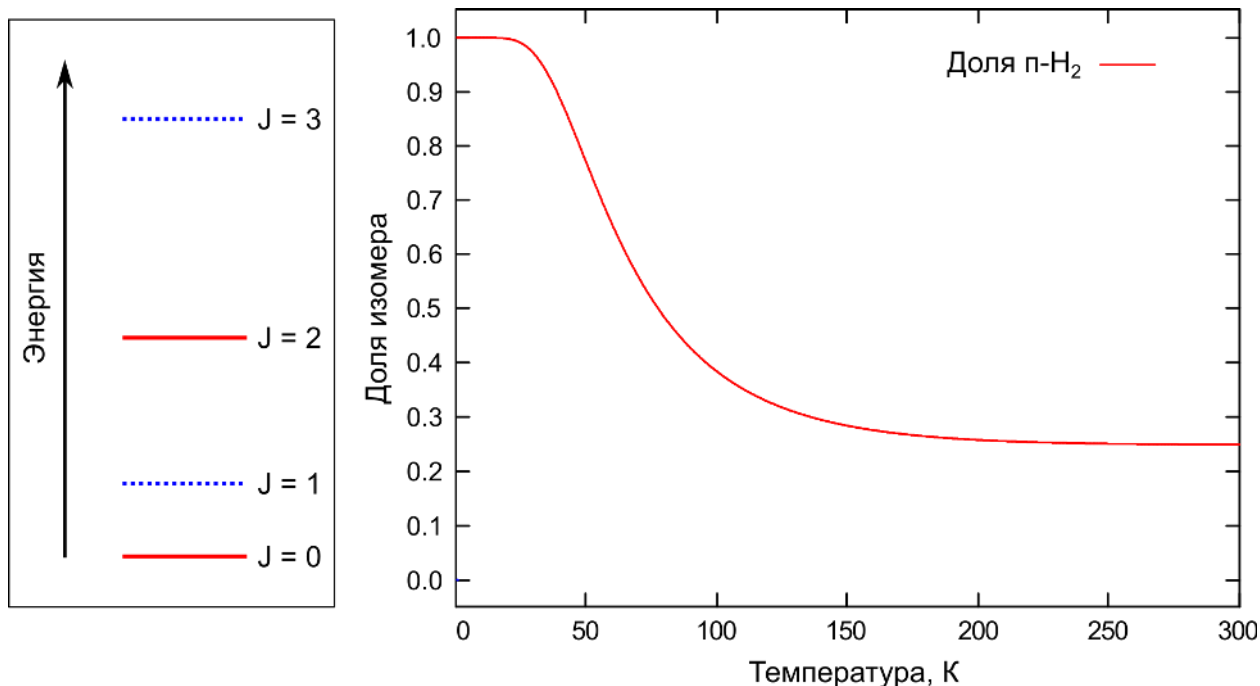


Рисунок. 1.1. Схема вращательных уровней водорода (слева) и зависимость доли $p\text{-H}_2$ от температуры в состоянии равновесия (справа). На схеме уровнями сплошными красными линиями показаны вращательные уровни, соответствующие $p\text{-H}_2$, и синими пунктирными линиями – уровни, соответствующие $o\text{-H}_2$.

При комнатной температуре доля $p\text{-H}_2$ составляет 25%, при температуре жидкого азота – 50%, а при температуре 21 К – практически 100%. Нормальным водородом (обозначается $n\text{-H}_2$) принято называть равновесную смесь $p\text{-H}_2$ и $o\text{-H}_2$ при комнатной температуре и выше ($p\text{-H}_2 : o\text{-H}_2 = 1 : 3$). Молекула $p\text{-H}_2$ не дает сигнала в спектре ЯМР ^1H из-за того, что ее суммарный ядерный магнитный момент равен 0. Для $o\text{-H}_2$ сигнал в спектре ЯМР ^1H наблюдается и соответствует переходам между триплетными состояниями. Следовательно, интенсивность сигнала в спектре ЯМР ^1H напрямую зависит от доли $o\text{-H}_2$. Этот факт используется для экспериментальной оценки доли $p\text{-H}_2$ в исходной смеси с использованием смеси сравнения (чаще всего нормальный водород с заведомо известным соотношением орто- и пара-изомеров).

Для молекулы водорода запрещены синглет-триплетные переходы, и поэтому орто-пара конверсия происходит крайне медленно (равновесие достигается в течение недель), а в идеальном случае орто-пара конверсия для молекулы водорода вообще не должна происходить. Благодаря этому, водород, обогащенный пара-изомером, можно хранить длительное время при комнатной температуре, что важно для его применений. Однако в присутствии парамагнитных веществ (например, оксида железа, активированного угля или кислорода) орто-пара конверсия значительно ускоряется, что приводит к быстрому установлению равновесия, положение которого зависит от температуры. Поэтому

обогащение водорода пара-изомером возможно при пропускании $n\text{-H}_2$ через катализатор орто-пара конверсии при низких температурах. Данный метод называется криогенным способом обогащения водорода пара-изомером.

Можно показать, что для водорода преимущественно заселены вращательные уровни с $J \leq 3$ при комнатной температуре и ниже. Следовательно, энергетический зазор между орто- и пара-изомерами в основном состоянии (показан слева на рисунке 1.1) соответствует энергии перехода между первым и вторым вращательными состояниями ($E_{\text{перехода}} = 3,7 \cdot 10^{12}$ Гц) [34]. Такой значительный энергетический зазор между изомерами является следствием высокой симметрии и малой массы молекулы водорода (незначительный момент инерции). В этом смысле водород (H_2 , D_2) является уникальной молекулой, спиновые изомеры которой можно разделять простым охлаждением в присутствии парамагнитного катализатора и далее можно хранить долгое время. Для других молекул, как правило, момент инерции значительно больше и, следовательно, энергетический зазор между изомерами незначительный. Поэтому обогащение ядерных спиновых изомеров других молекул – намного более сложная задача. Ядерные спиновые изомеры водорода имеют широкое применение во многих областях. На использовании $p\text{-H}_2$ основаны методы гиперполяризации ИППЯ и SABRE, используемые для усиления сигнала ЯМР (подробнее эти методы рассмотрены далее в литературном обзоре). Помимо этого, ядерные спиновые изомеры водорода интересны для астрофизических исследований. Оптические спектры в инфракрасном диапазоне с разрешенной вращательной структурой различных космических объектов позволяют определить соотношение $o\text{-H}_2$ и $p\text{-H}_2$ в этих объектах, что может быть использовано для понимания условий формирования и эволюции этих космических объектов.

1.3 Ядерные спиновые изомеры этилена

Этилен ($^{12}\text{C}_2^1\text{H}_4$) является симметричной молекулой с четырьмя протонами. Следовательно, этилен представим как молекула, содержащая четыре эквивалентных фермиона (ядра ^1H). С точки зрения теории групп молекула этилен относится к точечной группе симметрии D_{2h} . Для многоатомных молекул теорема Паули формулируется следующим образом: при перестановке местами любой пары фермионов полная волновая функция меняет знак [33]. Также в литературе это утверждение называют следствием принципа симметризации. Операции C_2^z, C_2^x, C_2^y (для них здесь и далее подразумевается использование системы координат, введенной на рисунке 1.2) в группе D_{2h} меняют местами четное число пар фермионов и приводят к тому, что знак полной волновой функции меняется четное число раз и, значит, не изменяется. Следовательно, при преобразовании

полной волновой функции характеры для операций C_2^z, C_2^x, C_2^y оказываются равными +1. Значит, полная волновая функция характеризуется одномерным неприводимым представлением A. Так как четность состояний не определяется принципом симметризации, полная волновая функция может иметь симметрию либо A_g , либо A_u . Далее рассмотрим классификацию вращательных и ядерных волновых функций по симметрии.

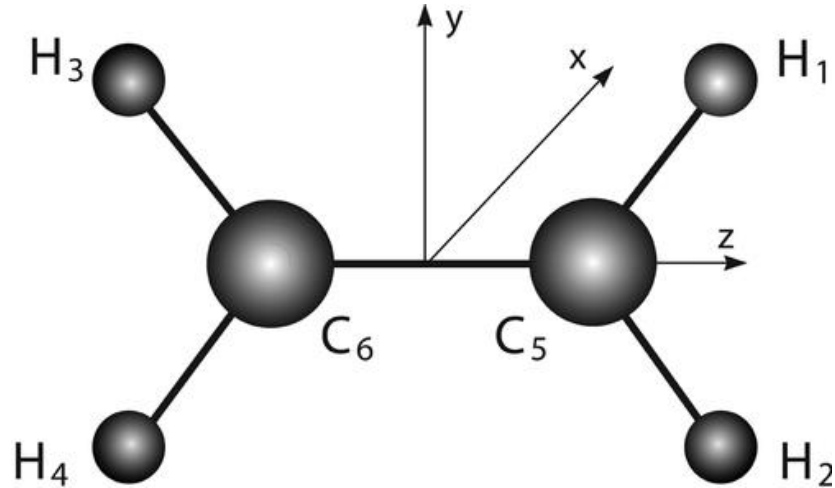


Рисунок 1.2. Обозначение системы координат для молекулы этилена [35].

Молекула $^{12}C_2^1H_4$ содержит четыре эквивалентных спина $1/2$, каждый из которых имеет две возможные проекции $|\alpha\rangle (+\frac{1}{2})$ или $|\beta\rangle (-\frac{1}{2})$. Следовательно, молекулу этилена описывают 16 ($=2^4$) ядерных спиновых волновых функций, отличающиеся ориентацией четырех спинов. Эти 16 волновых функций образуют представление, для которого можно найти характеры по всем операциям симметрии в группе D_{2h} [33] (см. таблицу 1.1).

Таблица 1.1. Характеры приводимого представления, образованного 16 ядерных спиновых волновых функций в группе D_{2h} .

E	C_2^z	C_2^y	C_2^x	σ_{yz}	σ_{xz}	σ_{xy}	i
16	4	4	4	16	4	4	4

Далее, используя характеры, можно разложить приводимое представление на неприводимые представления:

$$\text{ПП (приводимое представление)} = 7A_g + 3B_{1u} + 3B_{3g} + 3B_{2u}. \quad (12)$$

Следовательно, 16 волновых функций систематизируются по четырем неприводимым представлениям: $A_g, B_{1u}, B_{2u}, B_{3g}$ (в соотношении $7 : 3 : 3 : 3$). Также ядерные спиновые волновые функции можно классифицировать по полному спину. При сложении четырех спинов $1/2$ можно получить полный спин 2, 1 или 0. Можно показать, что семь волновых

функций, характеризуемых симметрией A_g , разбиваются на пять функций с полным спином 2 и две с полным спином 0, в то время как все волновые функции, характеризуемые симметриями B_{1u} , B_{2u} , B_{3g} , имеют полный спин 1.

Для волновых функций, характеризующих вращение, также можно показать, что они систематизируются по четырем неприводимым представлениям: A_g , B_{1g} , B_{2g} , B_{3g} [35]. Полная волновая функция, исходя из теоремы Паули, обладает симметрией либо A_g , либо A_u . Колебательные и вращательные волновые функции характеризуются симметрией A_g , если считать, что молекула этилена находится в основном колебательном и электронном состояниях. Следовательно, допустимы следующие комбинации вращательных и ядерных волновых функций:

$$\begin{aligned}
 |A_g \rangle &= |A_g \rangle_{nuc} \cdot |A_g \rangle_{rot}, \\
 |A_g \rangle &= |B_{3g} \rangle_{nuc} \cdot |B_{3g} \rangle_{rot}, \\
 |A_u \rangle &= |B_{1u} \rangle_{nuc} \cdot |B_{1g} \rangle_{rot}, \\
 |A_u \rangle &= |B_{2u} \rangle_{nuc} \cdot |B_{2g} \rangle_{rot}.
 \end{aligned}
 \tag{13}$$

Эти соотношения определяют существование четырех ядерных спиновых изомеров этилена, характеризующихся различной симметрией ядерных и вращательных функций. Как следствие, четыре ядерных спиновых изомера этилена обладают разными наборами разрешенных вращательных энергетических уровней и различными линиями поглощения в колебательно-вращательном спектре.

1.4 Способы обогащения ЯСИМ

На данный момент эффективное обогащение и хранение ядерных спиновых изомеров реализовано только для молекулы водорода. Для конверсии о-Н₂ в п-Н₂ используют криогенный метод. Для более тяжелых молекул (помимо молекул, состоящих из тяжелых изотопов водорода, – Т₂ и D₂) криогенный метод неэффективен вследствие малой разницы между вращательными энергетическими уровнями и более высокой температуры конденсации. Однако для прочих молекул показана, по крайней мере, возможность обогащения ядерных спиновых изомеров: Н₂O, ¹²С₂Н₄, ¹³СН₃F, ¹²СН₃F, СН₂O, ¹²СН₄ и других [36].

Одним из важных методов для обогащения ядерных спиновых изомеров молекул (ЯСИМ) является метод “молекулярной хирургии”. В рамках этого метода с помощью сложной последовательности химических реакций в молекуле фуллерена (С₆₀) создается отверстие. Далее через это отверстие в фуллерен помещают молекулу (например, Н₂ [37]

или H_2O [38]) после чего «зашивают» отверстие с помощью специальных химических реакций. В итоге получают молекулу фуллерена, в полости которой изолирована единичная молекула (такую систему называют эндофуллереном и обозначают $\text{X}@C_{60}$, где X – инкапсулированная молекула). Затем эндофуллерен можно охлаждать и наблюдать орто-пара конверсию. Например, с помощью данного метода наблюдалась конверсия о- $\text{H}_2\text{O}@C_{60}$ в п- $\text{H}_2\text{O}@C_{60}$ (у молекулы H_2O два ядерных спиновых изомера, как и у водорода) при низких температурах, и этот способ обогащения п- H_2O использовался для исследования кинетики орто-пара конверсии при комнатной температуре в органическом растворителе [38]. Помимо этого, были проведены подобные исследования с $\text{H}_2@C_{60}$, в которых было показано, что при понижении температуры наблюдается обогащение п- $\text{H}_2@C_{60}$. Эндофуллерены являются интересным инструментом для изучения свойств ЯСИМ. Однако, с одной стороны, остается неясным насколько модельная ситуация эндофуллеренов соотносится со свободными молекулами в реальном газе. С другой стороны, на основе данного метода невозможно изучать химические превращения ЯСИМ.

Другой метод обогащения спиновых изомеров основан на классическом эксперименте Отто Штерна и Вальтера Герлаха. В данном методе холодный молекулярный пучок проходит через неоднородное магнитное поле, и траектория движения молекул зависит от проекции полного ядерного спина I_z [39]. Например, молекулы п- H_2O имеют $I_z = 0$ и их траектории в неоднородном магнитном поле не меняются (так же, как и для молекул о- H_2O с $I_z = 0$). Условия эксперимента подбираются так, чтобы при направленном движении сверхзвукового молекулярного пучка вдоль направления магнитного поля (которое меняется по величине в радиальном направлении) траектории молекул о- H_2O с $I_z = 1$ фокусировались, а траектории молекул о- H_2O с $I_z = -1$, напротив, расходились [39]. Основным ограничением данного метода является невозможность получать ЯСИМ в достаточном для практического применения количестве. Однако с помощью этого метода можно изучать некоторые свойства ЯСИМ.

Более перспективным для обогащения ЯСИМ в практическом смысле является метод светоиндуцированного дрейфа (СИД) [40]. Данный метод основан на селективном лазерном возбуждении колебаний определенного ядерного спинового изомера. Из-за эффекта Доплера частота возбуждаемого перехода зависит от направления движения молекулы по отношению к лазеру: молекулы, движущиеся в выбранном направлении, поглощают лазерное излучение, а молекулы, движущиеся в противоположном, не поглощают. Поглощение лазерного излучения приводит к увеличению размера молекулы и частоты столкновений с другими молекулами, вследствие чего ее движение замедляется, в

то время как изомеры, движущиеся в противоположном направлении, не поглощают и не замедляются. Таким образом, создается направленный дрейф ЯСИМ и их пространственное разделение. Метод СИД был успешно использован для разделения ядерных спиновых изомеров этилена и изучения их взаимной конверсии [41]. В частности, было показано, что изомеры с различной пространственной четностью (A_g и A_u) не конвертируются друг в друга на временах эксперимента (десятки минут), то есть являются достаточно долгоживущими.

Явление ядерной спиновой изомерии имеет принципиальное значение для фундаментальной науки. В частности, относительные соотношения малых симметричных молекул используются для измерения спиновой температуры в межзвездной среде, протозвездах и других космических объектах [42–45]. Часто предполагается, что в условиях межзвездного пространства орто-пара соотношение малых симметричных молекул практически не изменяется со временем с момента образования космического объекта, что позволяет делать выводы об условиях его образования [42]. Однако это предположение не является очевидным, и для более точного анализа космических объектов требуется более глубокое понимание свойств малых симметричных молекул и их взаимопревращения.

1.5 Индуцированная параводородом поляризация ядер (ИППЯ)

1.5.1 Основные принципы и применения метода ИППЯ

Впервые в 1986 году Клиффорд Баэурс и Дэниел Вайтекамп предложили, что синглетный ядерный порядок $p\text{-H}_2$ может быть преобразован в наблюдаемое усиление сигнала ЯМР за счет реакции гидрирования ненасыщенных субстратов $p\text{-H}_2$ в сильном магнитном поле (эффект PASADENA, от англ. Parahydrogen And Synthesis Allows Dramatically Enhanced Nuclear Alignment) [46]. Вскоре данный эффект был продемонстрирован экспериментально в реакциях гомогенного гидрирования пропионитрила и акрилонитрила на катализаторе Уилкинсона ($[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$) [47]. В данной работе были обнаружены значительно усиленные сигналы ЯМР ^1H как от продукта гидрирования, так и от гидридных лигандов активной формы катализатора. Позже для реакции гомогенного гидрирования стирола $p\text{-H}_2$ в слабом магнитном поле (9,4 мТл) на катализаторе Уилкинсона также было показано формирование значительно усиленных сигналов ЯМР ^1H продукта реакции – этилбензола (эффект ALTADENA; от англ. Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Nuclear Alignment) [48]. Позднее методы, основанные на гидрировании ненасыщенных соединений $p\text{-H}_2$, получили следующее название – индуцированная параводородом поляризация ядер (ИППЯ; от англ. parahydrogen-induced polarization, PHIP).

Суть метода ИППЯ заключается в создании неравновесной заселенности ядерных уровней в продуктах и интермедиатах реакции гидрирования за счет частичного сохранения спиновой корреляции между атомами водорода, пришедшими из молекулы $p\text{-H}_2$. Ключевым критерием наблюдения эффекта ИППЯ является парное присоединение молекулы $p\text{-H}_2$, то есть оба атома одной молекулы $p\text{-H}_2$ должны присоединиться к одной и той же молекуле субстрата, иначе спиновая корреляция будет потеряна. Поэтому неудивительно, что данный эффект был открыт на катализаторе Уилкинсона, для каталитического цикла которого характерно парное присоединение H_2 . Другим важным условием наблюдения эффекта ИППЯ является присоединение атомов $p\text{-H}_2$ в магнитно-неэквивалентные положения молекулы субстрата.

В эксперименте PASADENA реакция гидрирования протекает непосредственно внутри спектрометра ЯМР (т. е. в сильном магнитном поле). В эксперименте ALTADENA реакция гидрирования протекает в слабом магнитном поле (например, в магнитном поле Земли), а затем продукты реакции адиабатически переносятся в сильное магнитное поле, в котором регистрируется спектр ЯМР. Для PASADENA и ALTADENA характерны формы линий в спектрах ЯМР, показанные на рисунке 1.3. Формальным критерием для определения условий реакции является сравнение константы спин-спинового взаимодействия с величиной магнитного поля:

В случае протекания реакции в сильном магнитном поле (PASADENA):

$$|\gamma\Delta\delta B_0| \gg |2\pi J|, \quad (14)$$

где γ – гиромагнитное отношение протона, $\Delta\delta$ – разница химических сдвигов между протонами, пришедшими из $p\text{-H}_2$, B_0 – величина напряженности магнитного поля, J – константа спин-спинового взаимодействия (КССВ).

В случае протекания реакции в слабом магнитном поле (ALTADENA):

$$|\gamma\Delta\delta B_0| < |2\pi J|. \quad (15)$$

Максимально возможное теоретическое усиление сигнала ЯМР ^1H в сильном магнитном поле (несколько Тл) находится в диапазоне $10^4\text{-}10^5$, в зависимости от условий проведения эксперимента (температура, магнитное поле, доля $p\text{-H}_2$ и т. д.). Следует также отметить, что в реальных экспериментах усиление сигнала всегда будет ниже теоретически предсказанного; во-первых, из-за частичной релаксации спиновой системы к тепловому равновесию, во-вторых, из-за того, что парное присоединение молекул водорода к субстрату — это не единственный путь реакции. Для детального теоретического описания эффекта ИППЯ используется формализм матрицы плотности, но качественно

происхождение данного эффекта можно понять на AX-системе, образующейся при присоединении молекулы $p\text{-H}_2$ к субстрату. В молекуле $p\text{-H}_2$ оба атома водорода магнитно эквиваленты, и изначально заселено только синглетное состояние. Во время реакции гидрирования магнитная эквивалентность атомов $p\text{-H}_2$ нарушается. Можно считать, что в продукте гидрирования образуется AX-система (два атома $p\text{-H}_2$ в магнитно-неэквивалентных положениях), в которой заселяются состояния $|\alpha\beta\rangle$ или $|\beta\alpha\rangle$, связанные с исходным синглетным состоянием. В условиях PASADENA заселяются оба состояния: $|\alpha\beta\rangle$ и $|\beta\alpha\rangle$. В условиях ALTADENA одно из состояний: $|\alpha\beta\rangle$ или $|\beta\alpha\rangle$ в зависимости от знака КССВ. В результате в продуктах и интермедиатах реакции гидрирования возникает неравновесная заселенность ядерных спиновых уровней, что приводит к наблюдению усиленных сигналов в спектре ЯМР ^1H . Схема протоколов PASADENA и ALTADENA приведена на рисунке 1.3.

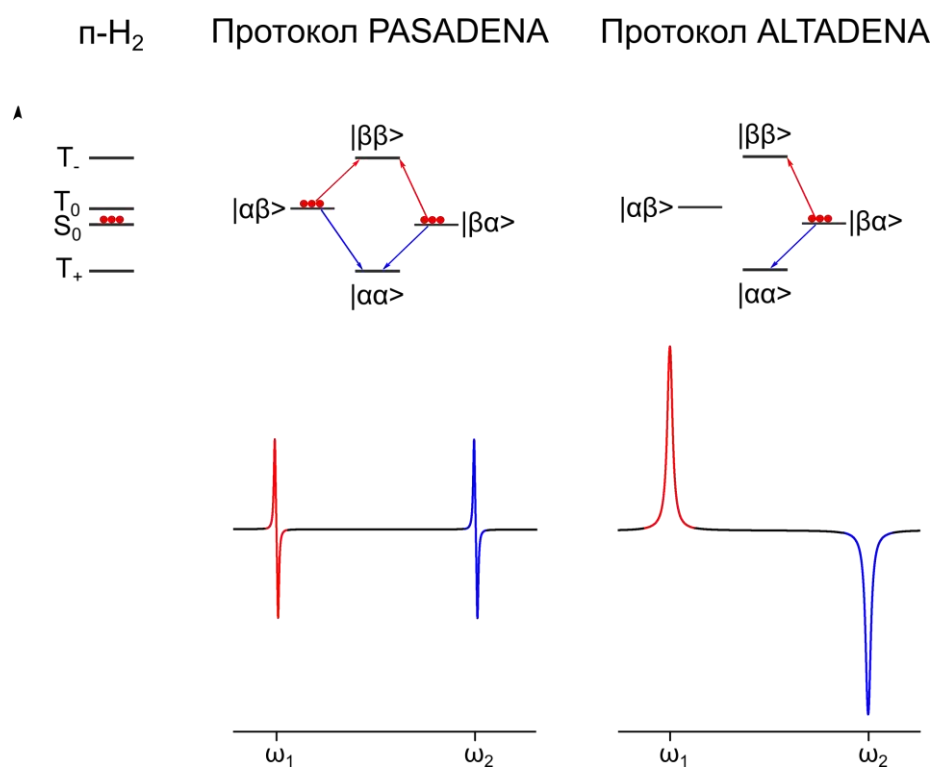


Рисунок. 1.3. Схема протоколов PASADENA и ALTADENA.

Без учета релаксационных потерь при использовании 100% $p\text{-H}_2$ протонная поляризация продукта реакции составляет 0,5 в случае эксперимента PASADENA и 1 – для ALTADENA. Следовательно, можно найти теоретические коэффициенты усиления сигнала для экспериментов PASADENA (η_{PAS}) и ALTADENA (η_{ALT}) с помощью следующих уравнений:

$$\eta_{PAS} = \frac{k_B T}{\gamma \hbar B_0}, \quad (16)$$

$$\eta_{ALT} = \frac{2k_B T}{\gamma \hbar B_0}$$

Для учета использования водорода с произвольным содержанием п-Н₂ вводят коэффициент f :

$$f = \frac{4x_p - 1}{3}, \quad (17)$$

где x_p – доля п-Н₂. Видно, что если $x_p = 1$ (100% п-Н₂), то и $f = 1$. А если $x_p = 0,25$ (нормальный водород), то $f = 0$. Теоретические коэффициенты усиления сигнала для экспериментов PASADENA (η_{PAS}) и ALTADENA (η_{ALT}) с учетом использования водорода с произвольным содержанием пара-изомера могут быть рассчитаны следующим образом:

$$\begin{aligned} \eta_{PAS} &= f \frac{k_B T}{\gamma \hbar B_0}, \\ \eta_{ALT} &= f \frac{2k_B T}{\gamma \hbar B_0}. \end{aligned} \quad (18)$$

Например, для 100% п-Н₂ ($f = 1$), комнатной температуры (298 К), спектрометра ЯМР с напряженностью магнитного поля 7,05 Тл, коэффициенты максимального усиления сигнала для экспериментальных протоколов PASADENA и ALTADENA составляет:

$$\eta_{PAS} = 20686,$$

$$\eta_{ALT} = 41372.$$

Ключевыми преимуществами метода ИППЯ относительно других методов гиперполяризации являются низкая стоимость необходимого оборудования и реагентов, их доступность и высокая скорость получения гиперполяризованных соединений.

1.5.2 Метод ИППЯ для гомогенного катализа

Метод ИППЯ получил особенно широкое распространение в исследованиях механизмов реакций гомогенного катализа, прежде всего процессов, связанных с активацией и присоединением водорода. Наиболее важным направлением стало детектирование короткоживущих гидридных интермедиатов комплексов переходных металлов, концентрация которых в реакционной смеси слишком низка для регистрации стандартными методами ЯМР.

Уже в самой первой работе Баэурса и Вайтекампа, посвященной экспериментальному наблюдению ИППЯ, были зарегистрированы сигналы от дигидридного комплекса $[\text{Rh}(\text{H})_2(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$, что наглядно продемонстрировало возможность наблюдения интермедиатов каталитического гидрирования [47]. Позднее

данный подход был использован для изучения гидрирования на других родиевых катализаторах, например $[\text{Rh}(\text{CO})(\text{PR}_3)_2\text{X}]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}; \text{R} = \text{Ph}, \text{Me}$) [49], $[\text{Rh}(\text{NBD})(\text{chiraphos})]\text{BF}_4$ (NBD – норборнадиен) [50]. Также значительные усилия были вложены в изучение поведения катализатора Уилкинсона и его производных в растворе во время реакции гидрирования [51]. Помимо этого, метод ИППЯ активно применялся для изучения строения рутениевых и осмиевых кластеров. Так, для катализатора $[\text{Ru}_3(\text{CO})_{10}(\text{PPh}_3)_2]$ было показано, что присоединение p-H_2 приводит к образованию нескольких различных дигидридных комплексов [52]. Анализ усиленных сигналов позволил идентифицировать эти комплексы и их роль в реакции гидрирования алкинов. Также метод ИППЯ был использован для изучения водородного обмена в кластере $(\mu\text{-H})_2\text{Os}_3(\text{CO})_{10}$ за счет установления структуры интермедиатных комплексов [53].

Метод ИППЯ оказался полезным не только для регистрации самих интермедиатов, но и для выяснения механизма активации водорода. Показательной является работа с комплексом Васка $[\text{Ir}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}]$ [54]. Первоначально считалось, что окислительное присоединение водорода протекает только по оси Os-Ir-Cl с образованием одного основного дигидридного изомера, однако использование p-H_2 позволило обнаружить также минорный продукт присоединения по оси P-Ir-P . Это один из классических примеров того, как ИППЯ позволяет выявлять минорные пути реакции, недоступные для стандартного ЯМР.

Также в литературе показана возможность применения эффекта ИППЯ для изучения гидроформилирования несмотря на то что в этом случае атомы молекулы водорода в ходе гидрирования оказываются в разных молекулах продукта. Так, было показано, что при действии p-H_2 на ацильные комплексы $[\text{Ir}(\text{COEt})(\text{CO})_2(\text{dppe})]$, $[\text{Ir}(\text{COEt})(\text{CO})_2(\text{xantphos})]$ (xantphos – 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен) и $[\text{PtCl}(\text{COEt})(\text{PPh}_3)_2]\text{-SnCl}_2$ образуется пропаналь с усиленными сигналами ЯМР от протона альдегидной группы [55,56].

Именно метод гомогенного ИППЯ позволил обнаружить эффект орто-пара конверсии водорода на различных катализаторах. Кирс и Эйзенберг исследовали гидрирование фенилацетилена тремя комплексами родия: $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$, $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{PPh}_3)_2]^+$, $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{dppe})]^+$ [57]. В случае использования $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$ авторы обнаружили спад усиленных сигналов продукта гидрирования (стирол) в течение нескольких минут. Этот факт авторы объяснили тем, что происходит обратимое окислительное присоединение водорода к катализатору, что приводит к установлению термодинамического равновесия между ядерными спиновыми изомерами H_2 и,

следовательно, потере изначального обогащения по пара-изомеру. Схожая ситуация была обнаружена для реакции гидрирования 1,4-дигидро-1,4-эпоксинафталина с образованием единственного продукта, 1,4-эпокситетралина, на катализаторе $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$ и катионных родиевых катализаторах [58]. Интересно, что усиленные линии в спектре ЯМР отличались для одной и той же молекулы продукта в зависимости от катализатора. Данное отличие удалось объяснить влиянием синглет-триплетного смешивания протонов p-H_2 в промежуточном каталитическом комплексе $[\text{Rh}(\text{H})_2(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$. В этом случае смешивание происходит из-за того, что ядра водорода оказываются в магнитно-неэквивалентных положениях в дигидридном комплексе, что приводит к потере спиновой корреляции между ними. В результате форма сигналов определяется различным вкладом триплетного состояния к исходному синглетному состоянию p-H_2 , который зависит от координации ядер водорода с катализатором и времени жизни этих промежуточных дигидридных комплексов.

Усиленные сигналы могут наблюдаться не только от протонов, происходящих из молекулы p-H_2 . Так, Й. Баргон и соавторы показали, что при гидрировании 2,5-дигидрофурана на $[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}]$ поляризация в молекуле продукта наблюдалась не только для протонов, непосредственно возникающих при присоединении H_2 , но и для протонов, занимающих соседние положения в молекуле продукта, что указывает на перенос поляризации внутри спиновой системы молекулы продукта [59]. Аналогичный подход оказался информативным для соединений с кумулированными двойными связями, поскольку позволил на основе анализа усиленных сигналов судить о региоселективности присоединения водорода [60].

1.5.3 Метод ИППЯ для гетерогенного катализа

Долгое время считалось, что эффект ИППЯ нельзя наблюдать на гетерогенных металлических катализаторах. Это связано с тем, что вероятность парного присоединения p-H_2 к субстрату в случае гетерогенных металлических катализаторов считалась очень малой из-за общепринятого механизма реакции гидрирования. Однако эффект ИППЯ был продемонстрирован в реакции гидрирования на иммобилизованном катализаторе Уилкинсона [61]. Позднее эффект ИППЯ был обнаружен в реакции газофазного гидрирования пропилена до пропана на нанесенных металлических катализаторах $\text{Pt}/\text{Al}_2\text{O}_3$ и $\text{Pd}/\text{Al}_2\text{O}_3$ [62]. Впоследствии область гетерогенного ИППЯ активно изучалась, и было обнаружено множество каталитических систем, демонстрирующих эффект ИППЯ в различных гетерогенных реакциях. На данный момент наблюдение эффекта гетерогенного ИППЯ показано для гетерогенных катализаторов на основе оксидов [63], карбидов [64] и

сульфидов [65] различных металлов. Последние достижения в области гетерогенного ИППЯ детально освещены в одном из недавних обзоров на эту тему [3,66].

Для нанесенных металлических катализаторов парное присоединение водорода, вероятно, не является основным путем гидрирования, и обычно селективность парного присоединения не превышает 1-3% [67,68]. Недавние достижения в оптимизации таких катализаторов ИППЯ позволили достичь 7% парной селективности для катализатора Rh/TiO₂ [69]. Детальный механизм парного присоединения на нанесенных металлических катализаторах до сих пор неясен; однако было предложено несколько концепций [67]. Одна из возможностей заключается в том, что изолированные активные атомы металла, заключенные в углеродные отложения, образующиеся во время реакции гидрирования, могут быть активными в парном присоединении из-за ограниченной миграции атомов водорода по поверхности. В этом контексте особо интересны катализаторы с одноатомным распределением активного компонента (далее одноатомные катализаторы), поскольку данные катализаторы занимают промежуточное положение между гомогенным и гетерогенным катализом [70–75]. Такие катализаторы содержат отдельные атомы металла, закрепленные на носителе, и поэтому для приготовления этих катализаторов требуется не так много металла, как для классических гетерогенных катализаторов, что особенно важно при использовании драгоценных металлов [76]. Данный класс катализаторов отличается исключительной каталитической активностью и селективностью. На сегодняшний день одноатомные катализаторы продемонстрировали отличные каталитические характеристики во многих реакциях [77], включая гидрирование [78]. Однако одноатомные катализаторы имеют ряд недостатков, к которым можно отнести сложную процедуру приготовления и высокую стоимость предшественников. Изолированные атомы металла имеют более высокую поверхностную энергию, чем кластеры металлов, и поэтому склонны к агрегированию во время каталитического процесса [79]. Следовательно, важной проблемой является стабилизация одноатомных катализаторов. Основным подходом к стабилизации одноатомных катализаторов является усиление взаимодействия атомов металла с носителем путем введения дефектов или примесей в носитель либо путем удержания отдельных атомов металла внутри пористых носителей [80].

Одним из перспективных типов катализаторов на пути к одноатомным являются биметаллические катализаторы M₁-M₂, в которых металл, активный в реакции гидрирования (M₁), разбавлен каталитически инертными или менее активными атомами (M₂) [81]. Считается, что образование M₁-M₂ наночастиц способствует одноатомному распределению металла M₁ на носителе. Недавно были исследованы катализаторы Pd-Au

[82,83], Pd-Ag [81], Pd-In [84] и Pt-Sn [85] в контексте гетерогенного ИППЯ; для катализатора Pt-Sn была достигнута селективность парного присоединения в 19,7%, но общая конверсия была относительно низкой (< 3%) [86].

Эффект гетерогенного ИППЯ открывает широкие возможности для изучения селективного гидрирования тройных связей, являющегося важной химической реакцией для многих промышленных и синтетических приложений. Процесс полимеризации алкенов важен в промышленности, но алкены, используемые в этом процессе, содержат следовые количества алкинов, которые отравляют катализаторы полимеризации и, следовательно, снижают качество получаемых полимеров [87]. Катализаторы на основе палладия широко используются для селективного гидрирования ацетилена как в промышленности, так и в лабораторных экспериментах, однако полное гидрирование до этана остается ключевым недостатком этих катализаторов. В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в повышении селективности катализаторов на основе палладия при гидрировании ацетилена за счет контроля формы/морфологии частиц [88], введения как неорганических, так и органических модификаций [89], а также добавления второго металла с образованием биметаллических/интерметаллических катализаторов [90].

Недавно была разработана перспективная каталитическая система для селективного гидрирования ацетилена — одноатомный катализатор Pd, нанесенный на дефектный графит-алмазный композит (ND@G, ND – nanodiamonds), Pd/ND@G [91]. В этой работе было показано, что катализатор демонстрирует замечательные характеристики для процесса селективного гидрирования ацетилена: высокую конверсию (100%), селективность (90%) и хорошую стабильность. Были изучены два типа катализаторов, различающихся содержанием палладия и, соответственно, его распределением — Pd₁/ND@G (0,11 мас.%) и Pd_n/ND@G (0,87 мас.%), где Pd_n обозначает кластеры Pd. Строение катализатора представлено на рисунке 1.4. В работе также показано, что для катализатора Pd₁/ND@G наблюдается эффект сильного взаимодействия металла и носителя (СВМН): атомы Pd взаимодействуют с носителем, внедряясь в дефекты графена за счет связывания с атомами углерода. Этот факт, вероятно, объясняет хорошую стабильность этого катализатора.

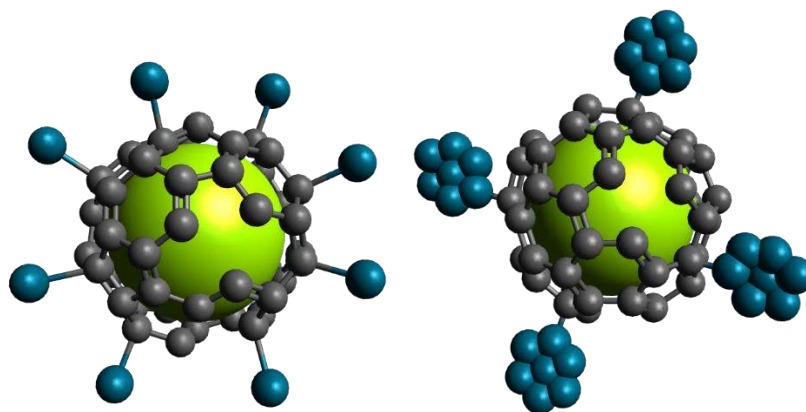


Рисунок 1.4. Строение катализатора $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$. Зеленым цветом отмечен наноалмаз, серым цветом атомы углерода дефектной графеновой оболочки, голубым цветом отмечены атомы палладия.

Другим важным применением гетерогенного ИППЯ является обогащение ЯСИ этилена. Ранее в литературе показано, что катализатор Pd/TiO_2 демонстрирует активность в парном присоединении p-H_2 в реакциях гидрирования алкенов и алкинов [92]. При использовании p-H_2 в реакции гидрирования синглетное спиновое состояние его протонов может сохраняться в продукте, если выполняются два условия: 1) оба атома водорода молекулы p-H_2 переходят в одну и ту же молекулу продукта; 2) они остаются магнитно эквивалентными. В этом случае неравновесный ядерный спиновый порядок может сохраниться в немагнитном коррелированном ядерном спиновом состоянии. Этот подход был успешно продемонстрирован для обогащения ЯСИ этилена, но потенциально возможно его расширение на более широкий круг симметричных молекул (рисунок 1.5) [4].

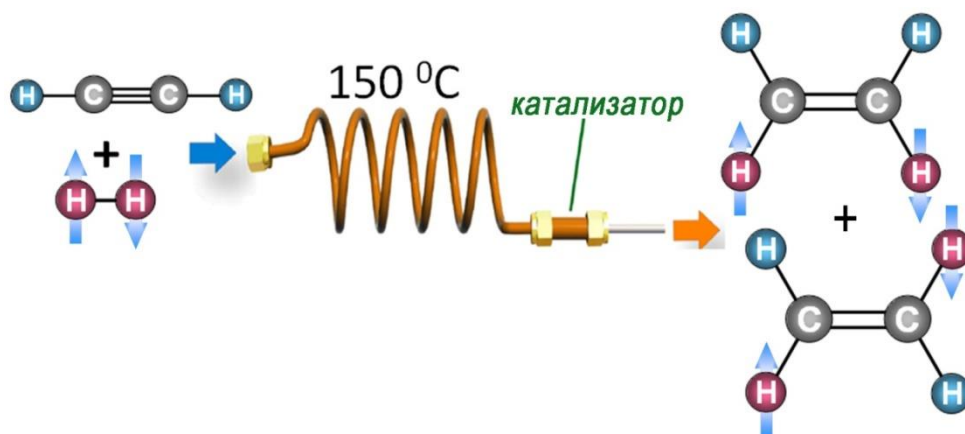


Рисунок 1.5. Метод химического обогащения ядерных спиновых изомеров этилена в каталитической реакции гидрирования ацетилена p-H_2 .

Взаимопреращение ЯСИ этилена нельзя изучать непосредственно с помощью ЯМР; для этого необходимо нарушить симметрию этилена, например, посредством реакции электрофильного присоединения к двойной связи. Полученный продукт демонстрирует

усиление сигналов ЯМР по ядрам ^1H . Используя этот подход, В. Живонитко и коллеги показали, что кривая равновесия для ЯСИ этилена имеет биэкспоненциальный характер с $T_{\text{short}} = 10 \pm 5$ с и $T_{\text{long}} = 1000 \pm 400$ с [4]. Соотнесение наблюдаемых характерных времен с процессами равновесия основывалась на предыдущих работах, как экспериментальных, так и теоретических.

Для дальнейшего развития подхода химического обогащения ЯСИ этилена необходим поиск катализаторов с высокой долей парного присоединения, поскольку они большие обеспечат усиления сигнала в продукте электрофильного присоединения. В литературе показано, что иммобилизованные катализаторы, представляющие собой комплексы переходных металлов (катализатор гомогенного гидрирования), ковалентно прикрепленные к поверхности носителя через линкерную цепочку, способны эффективно создавать эффект ИППЯ [93–95]. Для катализаторов данного типа предполагается сохранение механизма, характерного для их гомогенных предшественников; следовательно, для них можно ожидать высокой селективности в отношении парного присоединения p-H_2 . Ранее было показано, что в реакции газофазного гидрирования пропина p-H_2 на иридиевом комплексе, иммобилизованном на силикагеле за счет ковалентного связывания через RPh_2 -группу линкера, селективность по парному присоединению достигает 10% [96]. Таким образом, исследование гидрирования ацетилен p-H_2 на иммобилизованных катализаторах представляет собой интерес с точки зрения получения этилена, обогащенного ЯСИ.

Важно заметить, что метод гетерогенного ИППЯ позволяет получать гиперполяризованные газы, которые потенциально могут быть использованы в качестве контрастных агентов для МРТ легких или для изучения реакторов [66]. В этом контексте важным субстратом для проведения реакции гидрирования p-H_2 является пропилен. На данный момент уже показана возможность получения гиперполяризованного пропана в реакции гидрирования пропилена p-H_2 на катализаторе Rh/TiO_2 в клинических масштабах [97]. Помимо этого, показана возможность получения гиперполяризованного пропана в реакции гидрирования циклопропана, что привлекательно, так как непрореагировавший циклопропан нетоксичен для человека [98].

1.5.4 Применение гомогенного ИППЯ для получения контрастных агентов

Одним из важных применений метода ИППЯ является гиперполяризация контрастных агентов для биомедицинских применений МРТ. Однако для этого необходим предшественник, гидрирование которого приводит к образованию молекулы, являющейся

естественным метаболитом живого организма. Введение гиперполяризованной биомолекулы в организм с последующей ЯМР/МРТ детекцией позволяет отслеживать ее пути превращения, скорость превращения и ее пространственное распределение в реальном времени [2]. Таким образом, гиперполяризация биомолекул в сочетании с МРТ-визуализацией открывает новые пути для детекции различных патологий на ранних стадиях заболевания.

На данный момент большое количество работ посвящено гиперполяризации контрастных агентов методом ИППЯ; в частности, удалось поляризовать крупные молекулы, такие как олигопептиды. Пионерская работа в данной области показала возможность гиперполяризации ядер ^1H диметилового эфира $[1-^{13}\text{C}]$ малеиновой кислоты в реакции гидрирования диметилового эфира $[1-^{13}\text{C}]$ ацетилендикарбоновой кислоты $p\text{-H}_2$ с последующим переносом поляризации на ядра ^{13}C [99]. Гиперполяризованный эфир был введен в кровеносную систему крысы, что позволило селективно визуализировать ее кровеносную систему.

Значительный вклад в этой области был внесен группой под руководством Эдуарда Чекменева, предложившей подход для гиперполяризации $[1-^{13}\text{C}]$ сукцината натрия [100]. Данный подход основан на гидрировании $[1-^{13}\text{C}]$ ацетилендикарбоксилата натрия $p\text{-H}_2$ в сильном магнитном поле (4,7 Тл и 1,5 Тл) с последующим переносом поляризации на ядра ^{13}C с помощью описанных в литературе импульсных последовательностей [96]. Введение гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ сукцината натрия с последующей МРТ-детекцией позволило визуализировать раковую опухоль мозга крысы, а также обнаружить образование продуктов метаболизма $[1-^{13}\text{C}]$ сукцината: $[1-^{13}\text{C}]$ глутамат, $[5-^{13}\text{C}]$ глутамат, $[1-^{13}\text{C}]$ глутамин и $[5-^{13}\text{C}]$ глутамин. Позже схожий подход был использован для получения гиперполяризованной $[1-^{13}\text{C}]$ янтарной кислоты (с $P(^{13}\text{C}) \approx 20\%$ и $T_1(^{13}\text{C}) \approx 56$ с в D_2O) при гидрировании $p\text{-H}_2$ дейтерированного $[1-^{13}\text{C}]$ фумарата [102]. Важно отметить, что для успешной МРТ-детекции метаболизма контрастного агента необходимо достаточно длительное время T_1 (как минимум > 20 с) для заметного временного окна для детекции.

Позднее Э. Чекменев и соавторы предложили подход к гиперполяризации ядер ^{13}C и последующим обратным переносом на ядра ^1H для детекции с использованием метода ИППЯ для молекул 2,2,3,3-тетрафторпропил $[1-^{13}\text{C}]$ пропионата- d_3 и $[^{13}\text{C}]$ сукцината- d_2 [103]. Это особо ценный результат, поскольку детекция по ядрам ^1H более предпочтительна, поскольку большинство современных томографов оснащены детектирующей системой только по ядрам ^1H . Более того, чувствительность в протонных спектрах значительно превышает чувствительность спектров, записанных по ядрам ^{13}C (изменение чувствительности прямо пропорционально отношению гиромангнитных

отношений ядер в степени 2-3) [104]. Изначальная гиперполяризация ядер ^{13}C необходима, поскольку времена релаксации T_1 ядер ^{13}C значительно превышают значения T_1 для ядер ^1H – как следствие ядра ^{13}C удобно использовать для промежуточного хранения поляризации.

Другой интересный подход для гиперполяризации биомолекул был предложен Э. Чекменевым и коллегами в 2012 году [105]. В их работе было проведено гомогенное гидрирование $[1-^{13}\text{C}]$ фосфоенолпирувата п- H_2 в водной фазе с образованием гиперполяризованного (усиление сигнала ЯМР по ядрам ^{13}C составило 4000 раз в поле 3 Тл) D,L - $[1-^{13}\text{C}]$ фосфолактата, который в клетках может превращаться в D,L - $[1-^{13}\text{C}]$ лактат в реакции дефосфорилирования, что позже и было продемонстрировано [106]. Лактат, в свою очередь может участвовать в последующих реакциях метаболизма, и, в частности, окисляться до $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата, который является наиболее часто используемым контрастным агентом в биологических исследованиях.

Во всех описанных выше работах используются катализаторы гомогенного гидрирования ввиду их высокой активности в парном присоединении п- H_2 . Тем не менее данные катализаторы остаются в растворе и оказывают токсичное действие на живой объект. Для потенциальных доклинических испытаний необходимо, чтобы раствор контрастного агента был биосовместимым. Таким образом, основной проблемой применения молекул гиперполяризованных методом гомогенного ИППЯ является токсичность используемых катализаторов для живых организмов. Следовательно, для использования получаемых гиперполяризованных субстратов в биомедицинских приложениях необходима процедура очистки от катализаторов, которая занимает некоторое время, что приводит к потерям ядерной спиновой поляризации. Однако ниже описаны подходы, основанные на ИППЯ, позволяющие очистить раствор от цитотоксичного катализатора.

В 2018 году Д. Иллсом и коллегами был предложен эффективный подход для получения гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ фумарата с помощью реакции селективного *транс*-гидрирования $[1-^{13}\text{C}]$ ацетилендикарбоксилата натрия п- H_2 [107]. Очистка контрастного агента достигалась за счет осаждения гиперполяризованной фумаровой кислоты в условиях пониженного рН, вакуумной фильтрации растворителя с катализатором и последующего растворения в буферном растворе для дальнейшего использования в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Позже полученный данным методом гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ фумарат был использован для наблюдения метаболизма в лизате раковых клеток в реальном времени [108]. Таким образом, гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ фумарат может быть

использован в качестве индикатора клеточного некроза. Стоит отметить, что данный подход активно развивается в последние годы, в том числе по совокупности нескольких работ была предложена оптимизация процедуры очистки гиперполяризованного [1-¹³C]фумарата от токсичного катализатора и оптимизация условий реакции гидрирования [1-¹³C]ацетилендикарбоксилата, что является важным шагом к переходу к клиническим испытаниям [109,110]. В недавней работе были сравнены эффективности получения гиперполяризованного [1-¹³C]фумарата с помощью подхода, описанного выше, и метода d-DNP [111]. Было показано, что подход на основе метода ИППЯ демонстрирует не меньшую эффективность по сравнению с методом d-DNP.

Важно отметить, что ключевыми преимуществами метода ИППЯ относительно широко используемого d-DNP являются: низкая стоимость оборудования, высокая скорость получения поляризованного образца, доступность необходимых реактивов. Однако принципиальным ограничением стандартного метода ИППЯ с точки зрения гиперполяризации биомолекул является необходимость существования ненасыщенного предшественника целевой биомолекулы. Так, для молекулы пирувата нет возможности синтезировать такой предшественник и поэтому поляризовать пируват с помощью стандартного ИППЯ не представляется возможным. Однако для преодоления данной проблемы в 2015 году была предложена модификация метода ИППЯ – подход PHIP-SAH (от англ. parahydrogen induced polarization by side arm hydrogenation), позволивший получить гиперполяризованный [1-¹³C]пируват [7]. В следующей главе метод PHIP-SAH будет освещен детально.

1.5.5 Метод PHIP-SAH

Метод PHIP-SAH основан на предварительном синтезе специально разработанного предшественника. Как правило, для этого к целевой биомолекуле, обогащенной изотопом ¹³C и содержащей карбоксильную группу, в реакции этерификации присоединяется ненасыщенный спирт (формирующий боковую группу, side arm) с образованием сложного эфира. Синтезированный предшественник вводят в реакцию гомогенного гидрирования, в которой p-H₂ присоединяется к ненасыщенной связи боковой группы. Далее ядерный спиновый порядок переносится с ядер ¹H боковой группы на ядро ¹³C карбоксильной группы. И, наконец с помощью реакции щелочного гидролиза происходит отщепление боковой группы с образованием целевой молекулы с поляризованными ядрами ¹³C. Перед применением полученного гиперполяризованного субстрата необходимо очистить его от цитотоксичного катализатора гидрирования и органического растворителя. Таким образом, метод PHIP-SAH значительно расширяет спектр потенциально поляризуемых биомолекул,

содержащих карбоксильную группу. Общая схема метода PHIP-SAH представлена на рисунке 1.6. Далее рассмотрены все этапы метода PHIP-SAH.

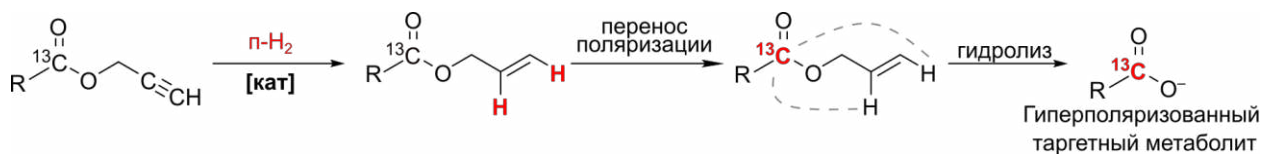


Рисунок 1.6. Общая схема метода PHIP-SAH на примере пропаргильного предшественника.

1.5.5.1 Синтез предшественника PHIP-SAH

Ключевым этапом метода PHIP-SAH является синтез предшественника. Предшественник PHIP-SAH состоит из целевой биомолекулы, которую обычно метят изотопом ^{13}C для увеличения конечной молярной поляризации (произведения концентрации и уровня поляризации), и ненасыщенного фрагмента (боковой группы). В зависимости от применяемой стратегии переноса поляризации боковая группа также может быть селективно мечена изотопами $^2\text{H}/^{13}\text{C}$ или полностью дейтерирована. Наиболее популярными карбоксилатами (целевыми биомолекулами) являются пируват и ацетат, что неудивительно в силу их ключевой метаболической роли. Однако в литературе также применялись другие карбоксилаты, например лактат, аланин и другие. Типичными ненасыщенными боковыми группами являются винильная и пропаргильная, а также их замещенные производные.

Синтез пропаргильных, замещенных пропаргильных и аллиловых эфирных предшественников обычно основан на реакции этерификации в условиях кислотного катализа [112,113], либо на реакции сочетания спирта и карбоновой кислоты в присутствии $\text{N,N}'$ -дициклогексилкарбодиимида [113,114]. Синтез виниловых эфиров является более сложной задачей, поскольку их нельзя осуществить простой этерификацией. Один из наиболее очевидных методов основан на реакции трансвинилирования между целевой карбоновой кислотой и значительным избытком винилового эфира другой карбоновой кислоты в присутствии металлического катализатора на основе рутения или палладия [115,116]. Позже группа Ш. Глеггера разработала синтез изотопно-меченых ненасыщенных спиртов, используемых затем в реакции этерификации [114,117,118]. Различные подходы к синтезу подробно изложены в недавнем обзоре метода PHIP-SAH [119].

1.5.5.2 Гидрирование предшественника РНІР-SАН

Первым этапом метода РНІР-SАН является парное присоединение $p\text{-H}_2$ к ненасыщенной боковой группе, которое, как правило, катализируется катионным комплексом родия, хотя возможно использование и других каталитических систем. Для достижения максимальной поляризации ядер ^{13}C в целевой биомолекуле необходимо максимизировать молярную поляризацию ядер ^1H (произведение поляризации $P(^1\text{H})$ на концентрацию). Как концентрация продукта гидрирования, так и $P(^1\text{H})$ зависят от различных факторов, включая структуру предшественника, тип катализатора, температуру, давление $p\text{-H}_2$, скорость потока $p\text{-H}_2$, время барботирования $p\text{-H}_2$, концентраций катализатора и предшественника.

О. Сальников и соавторы исследовали влияние структуры боковой группы на молярную поляризацию ядер ^1H [120]. Были исследованы эфиры ацетата и пирувата с винильными, аллиловыми и пропаргиловыми боковыми группами. Измеренные константы скорости (псевдопервого порядка) для гидрирования пропаргиловых эфиров оказались на порядок выше, чем для винильных и аллиловых эфиров. Впоследствии Ф. Рейнери и соавторы подтвердили эти тенденции для эфиров лактата и пирувата [121,122].

В методе РНІР-SАН обычно используются катионные комплексы родия с бидентатным фосфиновым лигандом $dppb$ (например, $[\text{Rh}(\text{COD})(dppb)]^+$ или $[\text{Rh}(\text{NBD})(dppb)]^+$, где COD – циклооктадиен, NBD – норборнадиен, $dppb$ – 1,4-бис(дифенилфосфино)бутан) используются в качестве предшественников катализаторов гидрирования, что обусловлено их высокой каталитической активностью и коммерческой доступности [119]. Однако в литературе есть исследования других вариантов катионных родиевых катализаторов [123].

Другим ключевым фактором метода РНІР-SАН является растворитель, влияющий как на эффективность гидрирования, так и на эффективность гиперполяризации. О. Бондарь и соавторы систематически исследовали влияние растворителя на гиперполяризацию $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{пирувата}$ с использованием соответствующего пропаргилового предшественника [124]. Ацетон- d_6 продемонстрировал примерно в 2 раза более высокие значения TOF (turnover frequency, число оборотов каталитического центра в единицу времени) по сравнению с другими растворителями (метанол- d_4 , толуол, смесь толуол/этанол 95 : 5 об./об., CDCl_3 и смесь $\text{CDCl}_3/\text{этанол}$ 95 : 5 об./об.), что, по-видимому, связано с более высокой лабильностью ацетонового лиганда в координационной сфере комплекса родия. Однако наиболее высокие уровни поляризации ($P(^1\text{H}) = 21\%$ и $P(^{13}\text{C}) = 9,2\%$) были получены в

метаноле- d_6 , что, по-видимому, связано с наименьшим вкладом синглет-триплетного смешивания в промежуточных комплексах каталитического цикла. Также возможно проведение реакции гидрирования в водной среде с использованием водорастворимой формы родиевого катализатора [120,122]. Однако данный подход бесперспективен в контексте потенциальных биомедицинских применений, поскольку в данном случае отделение цитотоксичного родиевого катализатора от целевой молекулы не представляется возможным.

Концентрация субстрата также является ключевым фактором для метода PHIP-SAH. Использование субмиллимолярных концентраций субстрата приводит к впечатляющим уровням поляризации ядер ^1H и ^{13}C (вплоть до 60% [125]), однако не представляется практичным для потенциальных биомедицинских применений. В то же время использование высоких концентраций ($> 100\text{mM}$) приводит к резкому снижению уровней поляризации из-за неблагоприятного взаимодействия высокой намагниченности образца с ЯМР-резонатором, что на данный момент является предметом активных исследований [126].

Для максимизации уровней поляризации необходимо детально рассматривать возможные пути потери поляризации в ходе гидрирования, имеющие особое значение в случае низкой скорости реакции. К таким путям относятся: ядерная спиновая релаксация в интермедиатах и продуктах гидрирования [127], $S-T_0$ конверсия в комплексах каталитического цикла [128,129]. Следовательно, для достижения максимальной поляризации необходимо минимизировать время реакции, что может быть достигнуто благодаря нагреванию реактора, увеличению давления и потока $p\text{-H}_2$ [127,130].

1.5.5.3 Перенос ядерного спинового порядка с ядер ^1H на гетероядра

Следующим ключевым этапом метода PHIP-SAH является перенос поляризации с ядер ^1H на гетероядра (как правило, ^{13}C). При гидрировании в продукт переносится ядерный спиновый порядок $p\text{-H}_2$, который должен сохраняться в реакции гидрирования, что является ключевым условием наблюдения эффекта ИППЯ. Вид матрицы плотности для продукта реакции существенно зависит от условий проведения реакции гидрирования, прежде всего от магнитного поля.

При проведении гидрирования в слабом магнитном поле (эффект ALTADENA) два протона в продукте, пришедших из $p\text{-H}_2$, сильно связаны и, следовательно, синглетное состояние двух спинов является собственным состоянием системы. Матрица плотности имеет вид [131]:

$$\hat{\rho}_s = |S\rangle\langle S| = \frac{1}{4} \hat{1} - (\hat{I}_x^a \hat{I}_x^b + \hat{I}_y^a \hat{I}_y^b + \hat{I}_z^a \hat{I}_z^b), \quad (19)$$

где $\hat{1}$ – единичная матрица; a и b – обозначения спинов; x, y и z – декартовы координаты; \hat{I}_x^a и т. д. – операторы ядерных спинов. Важно отметить, что матрица плотности имеет такой вид в случае 100% p -H₂ и при пренебрежении релаксацией. Такой же спиновый порядок может быть получен в сильном магнитном поле при приложении достаточно сильного непрерывного РЧ-облучения или развязывающего РЧ-импульса.

В случае проведения гидрирования в сильном магнитном поле (эффект PASADENA) два протона в продукте, пришедших из p -H₂, слабо связаны и, следовательно, синглетное состояние двух спинов не является собственным состоянием системы. В данном случае можно показать, что из-за распределенного во времени образования продукта при проецировании синглетного спинового порядка сохраняется только один его элемент, соответствующий компоненте, параллельной внешнему магнитному полю. Матрица плотности имеет вид [131]:

$$\hat{\rho} = \frac{1}{4} \hat{1} - \hat{I}_z^a \hat{I}_z^b. \quad (20)$$

В действительности дополнительные взаимодействия (с другими ядрами) в продукте возмущают спиновое состояние протонов [129]. С другой стороны, именно эти взаимодействия необходимы для переноса поляризации на гетероядра. Типичную спиновую систему в продукте гидрирования предшественника РНР-SAH можно представить как систему, включающую два вицинальных протона боковой группы (пришедшие из p -H₂) и целевым ядром ¹³C карбоксильного фрагмента, а также прочими ядрами молекулы. Константа спин-спинового взаимодействия J между протонами, как правило, относительно большая ($J^{ab} \approx 7-11$ Гц), в то время как КССВ между протонами и гетероядром достаточно малы (J^{ac} и J^{bc}) [132]. Для этил [1-¹³C]пирувата $J^{ab} = 7,1$ Гц, $J^{ac} = -0,1$ Гц, $J^{bc} = 3$ Гц [133]. А для аллил [1-¹³C]пирувата $J^{ac} = 0,2$ Гц, $J^{bc} = -0,18$ Гц [134]. Таким образом, продукты гидрирования виниловых эфиров с точки зрения переноса поляризации представляют больший интерес из-за сильной константы J^{bc} , обеспечивающей значительно более быстрый перенос поляризации и снижающей потери поляризации из-за релаксации. Однако для аллильных эфиров (продуктов гидрирования пропаргиловых эфиров) оказалось возможным обеспечить эффективный перенос поляризации за счет использования промежуточных ядер (дополнительных ядер ¹³C в фрагменте ¹³CD₂ [118,135] или ¹H в фрагменте CHD [136]).

Важно отметить, что дейтерирование предшественника PHIP-SAH способно значительно увеличить эффективность переноса поляризации, благодаря симметрии спин-спиновых взаимодействий. Например, известно, что для этиловых эфиров невозможно поляризовать ядро ^{13}C более чем на 50% [137]. Однако дейтерирование снимает это ограничение, нарушая ограничения симметрии, что приводит к теоретически возможному переносу вплоть до 100%-ной поляризации.

В целом дейтерирование позволяет понизить диполь-дипольные взаимодействия целевых спинов ^1H с другими спинами в эфире, что заметно снижает скорость релаксации [106,138]. Более того, для аллильных эфиров характерна важная особенность: наличие промежуточной симметричной группы геминальных спинов ^1H (CH_2 -группа эфира). Из-за их симметрии собственными состояниями в слабом поле этих промежуточных спинов являются триплетное и синглетное состояние. В промежуточном синглетном состоянии все взаимодействия между спином ^{13}C и протонами ^1H оказываются развязанными, что приводит к потере как минимум 25% поляризации. Данная особенность не зависит от констант J и присутствует для любой спиновой системы, имеющей промежуточные CH_2 -группы. При замене одного протона в CH_2 -группе на дейтерий симметрия нарушается и ограничение снимается. Таким образом, с использованием промежуточных CHD -групп можно значительно улучшить эффективность переноса (в $1/0,75 = 1,33$ раза) [139]. Важно отметить, что в случае слабого магнитного поля наличие дейтерия в спиновой системе приводит к его поляризации из-за условия сильной связи и последующей быстрой квадрупольной релаксации [140]. В таком случае эффективность переноса поляризации значительно уменьшается, поскольку она теряется через канал квадрупольной релаксации.

1.5.5.3.1 Перенос поляризации в сильном магнитном поле с помощью РЧ импульсов

Одной из первых импульсных последовательностей, разработанных для переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C при использовании $p\text{-H}_2$, является импульсная последовательность PH-INEPT [141]. Данная импульсная последовательность основана на преобразовании синглетного спинового порядка $p\text{-H}_2$ в антифазную намагниченность гетероядер. Помимо импульсной последовательности PH-INEPT, для переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C используется импульсная последовательность PH-INEPT+, которая является модификацией последовательности PH-INEPT [141]. В импульсной последовательности PH-INEPT+ дополнительно используется импульс, преобразующий антифазную намагниченность гетероядер в синфазную намагниченность, что важно для экспериментов по МРТ-визуализации. Однако данные импульсные последовательности даже теоретически не обеспечивают 100%-ный перенос поляризации

на гетероядра. Впоследствии последовательности INEPT были переработаны с созданием последовательности ESOTHERIC [125,127,142], которая использует только жесткие (широкополосные) импульсы и теоретически обеспечивает перенос вплоть до 100% поляризации. Например, эта последовательность была использована для высокоэффективной гиперполяризации метаболитов по ядрам ^{13}C , которые были пригодны для экспериментов *in vivo* [143].

Важным преимуществом РЧ-методов является возможность тонкой настройки переноса поляризации под конкретную спиновую систему. Для этого применяют частотно-селективные импульсные последовательности, позволяющие переносить поляризацию не только напрямую с протонов (произошедших из p-H_2) на целевое ядро ^{13}C , но и через промежуточные ядра. Такой релейный механизм особо важен, когда спин-спиновые взаимодействия между протонами боковой группы и целевыми гетероядрами малы, как, например, для аллильных эфиров. На основе комбинации подхода ESOTHERIC и релейного механизма была разработана импульсная последовательность MINERVA [135,142], основанная на переносе поляризации с ядер ^1H боковой группы на промежуточное ядро ^{13}C (специально введенное в предшественник) с последующим переносом поляризации с промежуточного ядра ^{13}C боковой группы на целевое ядро ^{13}C метаболита. Данный подход позволяет эффективно переносить поляризацию для ряда предшественников, однако требует их трудозатратного синтеза.

Таким образом, использование РЧ импульсов для переноса поляризации в сильном магнитном поле обеспечивает высокую теоретическую эффективность и возможность гибкого управления спиновой динамикой. Однако применение данного подхода требует трудоемкой оптимизации для конкретной спиновой системы и разработки синтеза предшественников с дополнительными изотопными метками.

1.5.5.3.2 Перенос поляризации с помощью MFC

Альтернативой РЧ-методам является использование подхода, основанного на изменении постоянного магнитного поля B_0 (от англ. magnetic field cycling, MFC) [144]. В данном подходе спиновая система подвергается контролируемому изменению магнитного поля, в ходе которого происходит прохождение через области антипересечения уровней энергии (LAC, от англ. level anticrossing) [145,146]. Именно в области LAC происходит эффективный обмен спиновым порядком между протонами и целевыми гетероядрами. В частности, в области LAC происходит смешение синглет-заселенных уровней протонной пары (пришедшей из p-H_2) и уровней, связанных с гетероядрами. В результате часть

исходного синглетного порядка преобразуется в наблюдаемую поляризацию на гетероядрах. Преимуществом метода MFC является то, что он не требует использования и оптимизации сложных РЧ-последовательностей, что делает его значительно более доступным.

Тем не менее, достигнутые уровни поляризации при использовании MFC, как правило, ниже, чем в случае использования оптимизированных РЧ последовательностей [119]. Это связано с тем, что в низком поле в перенос поляризации вовлекается большое число спинов боковой группы. Для РЧ-методов вклад нежелательных спинов можно уменьшить за счет дейтерирования или селективного возбуждения. Однако в MFC дейтерирование может, наоборот, ухудшать эффективность переноса поляризации на ядра ^{13}C , поскольку влечет за собой потерю поляризации из-за эффективного переноса, в том числе, на ядра дейтерия и последующую их быструю релаксацию. Однако недавно был предложен подход, основанный на непрерывном РЧ-облучении с зависящими от времени частотой и амплитудой (так называемый B_1 sweep) [139] в постоянном слабом магнитном поле. Данный подход позволяет эффективно переносить поляризацию на ядро ^{13}C для дейтерированных молекул в слабом магнитном поле. В данном случае спиновая система медленно проходит через условия, при которых происходит эффективное смешивание состояний и, как следствие, перенос поляризации с протонов на гетероядра. Адиабатичность изменения B_1 поля важна, поскольку она позволяет минимизировать потери поляризации и обеспечить более контролируемую эволюцию заселенностей спиновых уровней.

Таким образом, MFC является простым и концептуально привлекательным методом переноса поляризации, особенно с точки зрения аппаратной реализации. Однако его эффективность сильно зависит от структуры спиновой системы и профиля изменения магнитного поля. Для достижения высоких уровней поляризации необходима тщательная оптимизация скорости изменения поля и диапазона полей.

1.5.5.4 Отщепление боковой группы и последующая очистка

Следующей стадией после переноса поляризации на гетероядро является удаление боковой группы, которое, как правило, осуществляется с помощью щелочного гидролиза. В первой работе, посвященной методу PHIP-SAH, уже была предложена элегантная стратегия, позволяющая одновременно удалить боковую группу и избавиться от токсичного катализатора и органического растворителя [7]. Согласно этой стратегии, ненасыщенный предшественник вступает в реакцию гидрирования в гидрофобном

органическом растворителе, после чего осуществляют перенос поляризации на ядра ^{13}C целевой биомолекулы, входящей в состав эфира. Затем добавляют водный раствор основания (изначально использовали NaOD), что инициирует сразу два процесса: гидролиз эфирной связи с отщеплением боковой группы и экстракцию образующейся биомолекулы в водную фазу. При этом катализатор гидрирования остается в органической фазе. Наконец, для достижения физиологических условий ($\text{pH} \approx 7$) к водному раствору добавляли буфер.

Изначально гидрирование предшественника проводилось в смеси дейтерированного хлороформа с метанолом [7]. В дальнейшем значительные усилия были приложены для замещения метанола на менее токсичный этанол [121], а затем на полное исключение метанола [147–149]. Серия экспериментов по цитотоксичности на линиях раковых клеток простаты DU145 и PC3 показала, что исключение этанола благоприятно сказывается на жизнеспособности клеток [148]. Также было установлено, что водный раствор гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата проявляет умеренную цитотоксичность после 24 часов инкубации, причем основным источником токсичности, по всей видимости, является остаточный хлороформ. При этом было показано, что побочный продукт гидролиза – аллиловый спирт практически не влияет на жизнеспособность клеток после 24 ч инкубации. Известно, что хлороформ не смешивается с водой, но обладает ограниченной растворимостью в ней (0,052 мас.% при комнатной температуре). Остаточная концентрация хлороформа в растворе гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата была оценена как 30 ± 2 мМ [124]. Применение дополнительной очистки на основе фильтрации водного раствора через липофильную смолу позволило снизить содержание хлороформа до $0,5 \pm 0,1$ мМ.

Ш. Глеглер и соавторы предложили альтернативный метод очистки, позволяющий получать биосовместимые водные растворы гиперполяризованных методом РНIP-SAH метаболитов [135,150,151]. В данном подходе реакция гидрирования проводится в летучем органическом растворителе – ацетоне, который смешивается с водой, в отличие от хлороформа. После переноса поляризации растворитель удаляют с помощью быстрого испарения, в то время как катализатор выпадает в осадок в водном растворе. По данным масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, содержание родия в конечном растворе составляло менее 45 мкМ, что соответствует снижению концентрации примерно в 150 раз по сравнению с начальным раствором. Концентрация ацетона в конечном растворе была оценена как менее 43 мМ.

Позже Л. Нагел и соавторы предложили схожий подход [152]. В данном подходе в качестве растворителя использовали ацетон, а для отщепления боковой группы добавляли раствор гидроксида натрия. При этом разделение водной и органической фаз

дополнительно стимулировали добавлением метил-трет-бутилового эфира. Кроме того, боковая группа была специально сконструирована таким образом (протон пропаргилового спирта был замещен COO^tBu -группой), чтобы обладать низкой растворимостью в воде, что приводило к значительно более эффективной фазовой экстракции по сравнению со стандартной боковой группой. Такой подход позволил значительно снизить содержание родия и ацетона в итоговом растворе: остаточные концентрации родия и ацетона составляли 117 ± 10 мкМ и 90 ± 17 мкМ соответственно.

1.5.5.5 Применение PHIP-SAH для *in vitro* и *in vivo* исследований

Конечной целью метода PHIP-SAH является получение гиперполяризованного метаболита и его последующее применение для *in vitro* и *in vivo* исследований. На сегодняшний день применение PHIP-SAH для *in vitro* и *in vivo* исследований в основном ограничено пируватом, что неудивительно, учитывая ключевую роль пирувата в клеточном метаболизме и, в частности, наличие нарушений метаболизма пирувата в патологически измененных тканях. Пируват является конечным продуктом гликолиза и далее может подвергаться нескольким метаболическим превращениям: трансаминированию в аланин, катализируемому аланинаминотрансферазой, восстановлению в лактат, катализируемому лактатдегидрогеназой (LDH), и декарбоксилированию в ацетил-КоА под действием пируватдегидрогеназного комплекса. Скорости этих реакций сильно зависят от клеточных условий, в особенности от окислительно-восстановительного потенциала и концентрации кислорода. Хорошо известно, что раковые клетки обладают измененным метаболизмом, в частности характеризующимся кислым внеклеточным рН, повышенным поглощением глюкозы и усиленной продукцией лактата (это называют метаболизмом Варбурга [24]). Эти характерные особенности метаболизма раковых клеток используются для диагностики широкого спектра опухолей [6]. С точки зрения диагностической специфичности МРС в сочетании с введением гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата представляет особый интерес, поскольку позволяет отслеживать превращение пирувата в лактат и картировать активность LDH [26].

Применение гиперполяризованных с помощью PHIP-SAH соединений *in vitro* заключается в отслеживании кинетики их ферментативных или неферментативных превращений, либо в исследованиях метаболизма в клеточных линиях. Например, $[1-^{13}\text{C}]$ пируват, гиперполяризованный с помощью PHIP-SAH, использовался для изучения кинетических параметров катализируемого LDH превращения пирувата в лактат [147]. Та же группа авторов выполнила аналогичное исследование, используя гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ лактат в обратной ферментативной реакции, то есть при окислении лактата в

пируват, катализируемом LDH [121]. Позднее С. Корчак и соавторы продемонстрировали возможность наблюдения ферментативного превращения пирувата в лактат в магнитном поле 24 мТл с использованием гиперполяризованного $[2-^{13}\text{C}]$ пирувата- d_3 [117]. Благодаря использованию ядра ^{13}C во втором положении им удалось различать пируват и лактат в столь слабом поле, несмотря на пренебрежимо малое отличие в химических сдвигах, за счет большой КССВ между ядром ^{13}C и протоном в $[2-^{13}\text{C}]$ лактате- d_3 . Недавно было показано, что гиперполяризованный $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ пируват- d_3 также может использоваться для мониторинга неферментативной реакции пирувата с H_2O_2 [150]. Было продемонстрировано образование ацетата, диоксида углерода, карбоната и бикарбоната. Более того, усиление сигнала ЯМР позволило детектировать интермедиат этой реакции – 2-гидроперокси-2-гидроксипропаноат. Позднее было показано, что образующаяся в этой реакции гиперполяризованная пара $\text{H}^{13}\text{CO}_3^- / ^{13}\text{CO}_2$ может использоваться в качестве рН-сенсора [153].

С. Мамоне и соавторы продемонстрировали возможность мониторинга в реальном времени превращения пирувата в лактат в клетках HeLa (прототипическая раковая клеточная линия), используя гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ пируват [135]. Также было показано, что метаболическое превращение гиперполяризованного $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата может использоваться для оценки агрессивности раковой клеточной линии. В частности, Ф. Рейнери и коллеги использовали гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ пируват для исследования двух линий клеток рака молочной железы (168FARN и 4T1) [147] и трех линий клеток рака простаты (DU145, PC3 и LnCap) [148]. В обеих работах было показано, что скорость превращения пирувата в лактат сильно зависит от агрессивности клеточной линии и состояния клеток (интактные или лизированные). Также гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ пируват- d_3 использовался для исследования клеточной линии лимфомы Ходжкина (L1236) [151]. Было показано, что противораковый терапевтический агент FK866 (ингибитор никотинамидфосфорибозилтрансферазы) значительно снижает скорость превращения пирувата в лактат. Этот ингибирующий эффект можно устранить, снабдив клетки NADH, что позволяет выполнить два последовательных измерения на одном и том же клеточном образце. Гиперполяризованный $[1-^{13}\text{C}]$ пируват- d_3 также использовался для изучения клеточных моделей болезни Паркинсона [142]. В этой работе исследовали влияние экспрессии белка α -синуклеина на скорость превращения пирувата в лактат, и было показано, что в клеточной линии НЕК 293Т со сверхэкспрессией гена α -синуклеина скорость превращения была вдвое выше по сравнению с клеточной линией, в которой ген α -синуклеина был нокаутирован. Также в этой работе была продемонстрирована

возможность совмещения определения структуры белков и метаболического анализа на одном и том же клеточном образце. Важно отметить, что гиперполяризованный [1-¹³C]пируват может использоваться для исследования активности LDH в нетронутых клетках, в отличие от обычного биохимического анализа. Использование гиперполяризованных веществ является неинвазивным подходом и допускает многократное введение и повторный анализ клеток и их органелл, что полезно для длительных исследований.

Еще одним применением гиперполяризованных с помощью PHIP-SAH метаболитов является *in vivo* МР-визуализация опухолей. Впервые возможность использования [1-¹³C]пирувата, гиперполяризованного с помощью PHIP-SAH, для *in vivo* МР-визуализации была продемонстрирована Э. Каваллари и соавторами в 2018 году [149]. В данной работе была показана возможность детекции метаболических нарушений еще до клинического проявления заболевания на мышинной модели дилатационной кардиомиопатии. У генетически модифицированных мышей с мутациями *Lmna* (мутации приводят к нескольким заболеваниям, в частности к кардиомиопатии) наблюдалась сниженная скорость превращения пирувата в лактат по сравнению с контрольной линией дикого типа. Последующие исследования рассматривали скорость превращения гиперполяризованного [1-¹³C]пирувата-d₃ в лактат в ксенографтах опухолей человека: меланомы [143], рака поджелудочной железы [154] и толстой кишки [154]. Эти работы показали, что превращение пирувата в лактат можно отслеживать *in vivo* совместно с его кинетикой в реальном времени. Более того, для различных типов опухолей наблюдались разные скорости этого превращения, что ценно для потенциальной *in vivo* диагностики и градации опухолей.

Кроме того, Т. Хуне и соавторы продемонстрировали возможность использования гиперполяризованного [1-¹³C]пирувата для исследования нескольких органов при отдельных инъекциях с целью определения скорости превращения пирувата в лактат *in vivo* в этих органах мышей [155]. Такой подход позволяет изучать взаимосвязь между метаболизмом различных областей организма у одного и того же животного и сокращать число животных, используемых в биологических исследованиях, что важно для дальнейшего масштабирования подобных исследований и, возможно, перехода к молекулярной МРТ всего тела.

Об активном развитии области свидетельствует то, что на данный момент стартап-компания NVISION IMAGING Technologies GmbH [156], получившая многочисленные инвестиции, занимается разработкой прибора (поляризатора) для получения

поляризованных веществ, таких как [1-¹³C]фумарат и [1-¹³C]пируват, с целью их дальнейшего использования в реальной медицинской практике для диагностики заболеваний. Получение данных веществ основано на методе РНП-САН.

Одним из ключевых вопросов, возникающих при рассмотрении потенциального использования подхода РНП-САН в биологических исследованиях, является его сравнение с методом d-DNP в контексте *in vivo* применений. В недавней работе, выполненной во многом сотрудниками компании NVISION IMAGING Technologies GmbH [156], [1-¹³C]пируват, гиперполяризованный методом РНП-САН в автоматизированном поларайзере, был сопоставлен в *in vivo* 3М метаболической МРТ с [1-¹³C]пируватом, гиперполяризованным с помощью коммерчески доступного поляризатора d-DNP (HyperSense, Oxford Instruments, Abingdon, UK) [152]. В результате было показано, что безопасность, качество изображения и измеренная скорость превращения пирувата в лактат сопоставимы для подходов РНП и d-DNP. Таким образом, эта работа доказывает, что метод РНП-САН является перспективной альтернативой d-DNP в контексте биологических исследований.

1.5.5.6 Новые перспективные субстраты для РНП-САН

Важно отметить, что хотя почти все описанные *in vitro* и *in vivo* исследования были сосредоточены на использовании гиперполяризованного пирувата, не существует фундаментальных ограничений для применения других гиперполяризуемых с помощью метода РНП-САН биомолекул, содержащих карбоксильную группу (например, ацетата, α-кетоглутарата и других). Поэтому можно ожидать, что в ближайшем будущем этот метод будет использоваться для гиперполяризации широкого круга биомолекул для дальнейших исследований *in vitro* и *in vivo*.

Другим потенциально поляризуемым с помощью РНП-САН субстратом является ацетоацетат, который относится к группе метаболитов, называемых кетоновыми телами. Ацетоацетат играет важнейшую роль в поддержании клеточного энергетического баланса и, в частности, восстанавливается ферментом D-β-гидроксибутиратгидрогеназой до β-гидроксибутирата в митохондриях. Известно, что скорость данной реакции напрямую зависит от соотношения $\frac{NADH}{NAD^+}$ в митохондриях и, следовательно, зависит от окислительно-восстановительного потенциала (RedOx потенциал) митохондрий. В свою очередь, смещение RedOx потенциала митохондрий является важным маркером таких заболеваний, как рак [157] и ишемия [158]. Более того, в литературе показано, что уровень экспрессии D-β-гидроксибутиратгидрогеназы в злокачественных глиомах может использоваться в

качестве маркера для стратификации пациентов в клинических исследованиях кетогенной диетотерапии [159].

Долгое время считалось, что злокачественные опухоли удовлетворяют свои метаболические потребности в первую очередь за счет аэробного гликолиза (метаболизм Варбурга [5,24]). Однако более поздние исследования показали, что изменения митохондриального метаболизма также играют важную роль в клеточной трансформации [160,161]. Поэтому мониторинг сдвига RedOx потенциала может выявить новые терапевтические мишени и в целом играть важную роль в ранней диагностике рака. Поскольку относительно низкая внутриклеточная концентрация ацетоацетата ограничивает его использование в качестве пространственного маркера RedOx потенциала в МРТ, необходимы методы гиперполяризации. Более того, [1,3-¹³C₂]ацетоацетат, гиперполяризованный с помощью метода d-DNP, уже был успешно применен для доклинических исследований метаболизма почек [162], мозга [163] и сердца [8,164].

Другим субстратом, потенциально поляризуемым с помощью PHIP-SAH и представляющим практический интерес, является формиат. В контексте биохимии известно, что формиат является источником одноуглеродных фрагментов в метаболизме [165] и гиперполяризованный формиат может быть использован для *in vitro* исследований ферментативных реакций [9]. Также [¹³C]формиат имеет только одну КССВ ($J = 193$ Гц для [¹³C]формиата натрия) и может служить стандартным образцом в бурно развивающейся области спектроскопии ЯМР в нулевом и сверхнизком поле (zero- to ultralow -field NMR, ZULF NMR) [166]. Другим потенциальным применением гиперполяризованного формиата является его использование в механистических исследованиях химических реакций с одноуглеродными фрагментами (в частности, каталитическое разложение формиата [167]).

1.6 Метод усиления сигналов ЯМР путем обратимого взаимодействия параводорода с металлическим комплексом (SABRE)

1.6.1 Основные принципы метода SABRE

Недавно был предложен метод гиперполяризации, основанный на использовании *p*-H₂, но принципиально отличный от ИППЯ и PHIP-SAH. Данный подход получил название метод усиления сигнала путем обратимого обмена (от англ. signal amplification by reversible exchange, SABRE) [10]. В методе SABRE *p*-H₂ используется в качестве источника ядерного спинового порядка, но, в отличие от традиционного ИППЯ, молекула *p*-H₂ не взаимодействует напрямую с поляризуемым субстратом и не приводит к его химической

модификации. В методе SABRE используется специально разработанный металлоорганический катализатор на основе иридия [168], который может одновременно связывать молекулу $p\text{-H}_2$ и целевой субстрат, что приводит к переносу ядерного спинового порядка с протонов $p\text{-H}_2$ на ядра целевого субстрата за счет сети спин-спиновых взаимодействий в этом комплексе. Перенос поляризации происходит в случае магнитной неэквивалентности протонов $p\text{-H}_2$ (асимметрия сети КССВ) в металлоорганическом комплексе. Под обратимым взаимодействием понимается то, что $p\text{-H}_2$ и целевой субстрат обратимо координируются с металлоорганическим катализатором, что приводит к переносу поляризации на целевую молекулу. Многократное повторение этапов связывания и диссоциации приводит к накоплению гиперполяризованного субстрата в растворе. Общая схема метода SABRE представлена на рисунке 1.7.

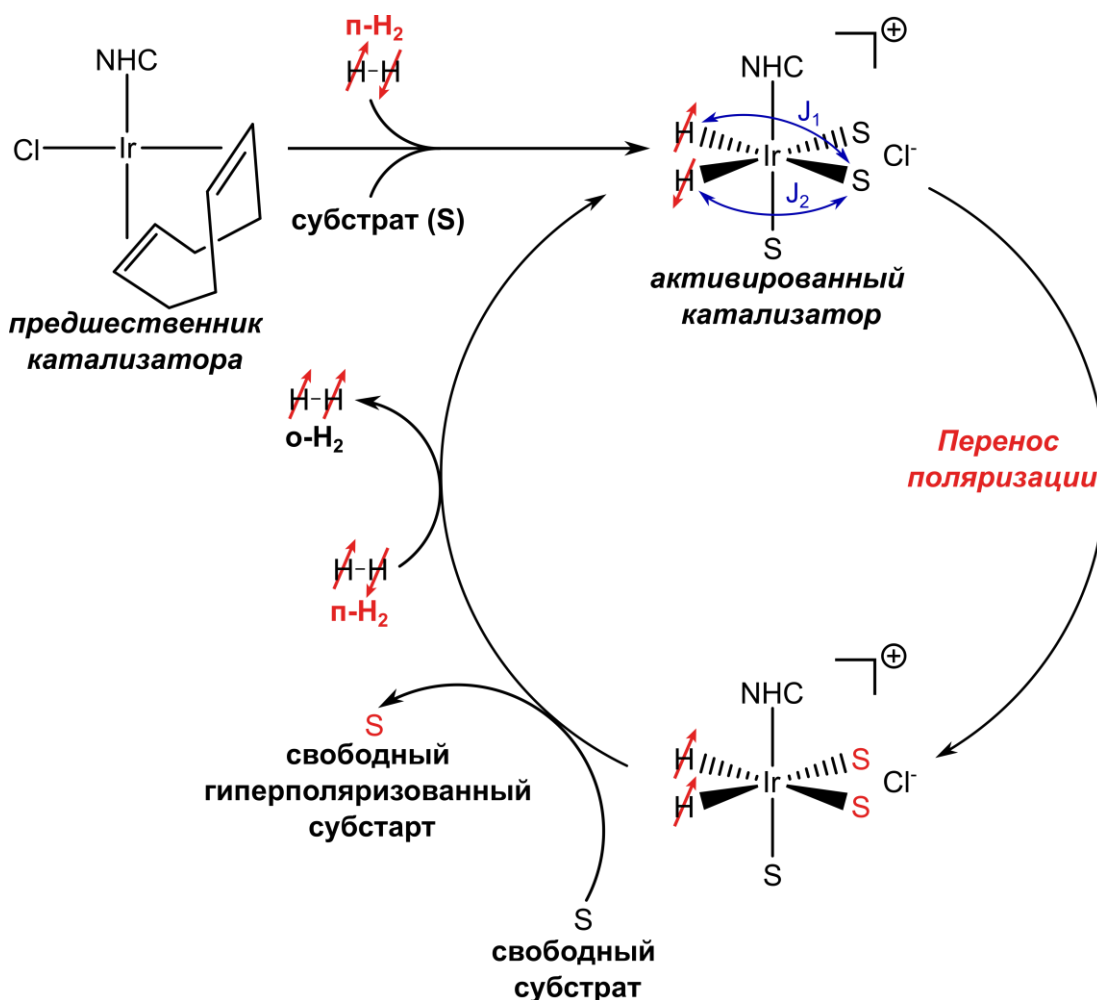


Рисунок 1.7. Общая схема метода SABRE.

Для метода SABRE ключевым моментом является подбор металлоорганического катализатора, поскольку эффективность координации $p\text{-H}_2$ и целевого субстрата на катализаторе существенно влияет на процесс гиперполяризации. На сегодняшний день одним из наиболее эффективных катализаторов переноса поляризации является комплекс

иридия с азотсодержащим гетероциклическим карбеновым лигандом IMes (1,3-бис(2,4,6-триметилфенил)-1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-илиден), впервые предложенный Коули и соавторами [169]. Другим важным параметром для эксперимента SABRE является магнитное поле, в котором происходит перенос поляризации в гидридном комплексе. Оно определяет не только то, к каким ядрам субстрата переносится поляризация, но и общую эффективность процесса с точки зрения достижимых уровней поляризации. Оптимальное значение магнитного поля для поляризации протонов находится в миллитесловом диапазоне. Так, протонная поляризация вплоть до 50% для метил-4,6- d_2 -никотината может быть достигнута в поле 6,5 мТл [170]. Однако поляризация протонов не представляется перспективным направлением в контексте биомедицинских применений из-за коротких времен релаксации T_1 (от секунд до десятков секунд) для протонов как в сильных, так и в слабых магнитных полях. Поэтому активно проводятся исследования, направленные на разработку и оптимизацию методов гиперполяризации ядер ^{15}N и ^{13}C , обладающих относительно длительным временем релаксации T_1 (минуты) в сильных магнитных полях. Из-за значительной разницы гиромангнитных отношений протонов и гетероядер, эффективный перенос поляризации на гетероядра в гидридном комплексе происходит в сверхнизких магнитных полях (< 1 мкТл). Такое магнитное поле может быть создано внутри магнитных экранов, изготовленных из пермаллоя. Подход, создающий гетероядерную поляризацию за счет спонтанного переноса поляризации с протонов внутри магнитных экранов, получил название SABRE-SHEATH (от англ. Signal Amplification By Reversible Exchange in SHield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei) [171,172]. Перенос поляризации эффективен только при определенном соотношении между резонансными частотами протонов и гетероядер и значениями КССВ между ними. Следовательно, конкретное значение магнитного поля в экране и структура поляризуемой молекулы являются двумя ключевыми факторами, требующими тщательной оптимизации для достижения высокой эффективности гиперполяризации. Для теоретического описания SABRE в целом и SABRE-SHEATH в частности часто используется концепция антипересечения уровней (АПУ; от англ. LAC), позволяющая предсказать профиль эффективности переноса поляризации на гетероядра в зависимости от магнитного поля внутри экрана для конкретной спиновой системы [146].

Развитие метода SABRE в настоящее время идет все более быстрыми темпами, что приводит к более широкому применению этого метода в сообществе ЯМР/МРТ. Метод SABRE открыл возможности для гиперполяризации различных классов соединений; при этом основным требованием является связывание поляризуемой молекулы с иридиевым

комплексом. В частности, это требование обычно выполняется для гетероциклов, содержащих электронодонорный гетероатом, такой как азот. К счастью, N-гетероциклические фрагменты являются распространенными фрагментами, присутствующими во многих лекарственных препаратах и биологических системах. Ряд биосовместимых молекул, включая никотинамид [10], имидазол [173], нитроимидазол [174] и пиразинамид [175], были поляризованы методом SABRE, что делает его перспективным методом для биомедицинских применений. Более того, недавно была показана возможность получения $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата, гиперполяризованного с помощью SABRE-SHEATH [176]. Позже была показана возможность получения биосовместимого раствора $[1-^{13}\text{C}]$ пирувата с уровнями поляризации ядер ^{13}C порядка 11%, для которого было продемонстрировано превращение в лактат *in vivo* у мышей с помощью 3M MPT ^{13}C в реальном времени [177]. Спектр молекул, поляризуемых методом SABRE, активно расширяется, что подробно описано в недавних обзорах [178,179].

1.6.2 Метод SABRE для гиперполяризации имидазолов

В последние годы все большее внимание привлекают нитроимидазольные производные как перспективные соединения для биомедицинских применений. Нитроимидазолы, такие как метронидазол, ниморазол и орнидазол, широко известны как антибактериальные препараты, активные в отношении анаэробных бактерий. Кроме того, для этих соединений характерно преимущественное накопление в тканях, испытывающих дефицит кислорода, что связано с их восстановлением в гипоксических условиях [180]. Восстановленные формы нитроимидазолов способны взаимодействовать с важными клеточными макромолекулами (в частности, с ДНК и белками), что приводит к селективному повреждению клеток [180]. Благодаря этому нитроимидазольные производные нашли применение не только как антибактериальные препараты, но и как потенциальные радиосенсибилизаторы гипоксических опухолей [181].

Гипоксия является важной характеристикой злокачественных новообразований и, как правило, ассоциирована с более агрессивным фенотипом опухоли, а также с устойчивостью к химио- и лучевой терапии [182]. Подобно анаэробным бактериям, раковые опухоли в условиях гипоксии избирательно метаболизируют нитроимидазолы посредством необратимого восстановления NO_2 -группы с образованием реакционноспособных гидроксиламинов, которые, в свою очередь, связываются с клеточными макромолекулами, вызывая повреждение клеток и делая эти раковые клетки более восприимчивыми к терапии [11]. В этой связи нитроимидазольные соединения были использованы в качестве зондов в протонно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для неинвазивной визуализации опухолевой

гипоксии [183–185]. Наиболее известным примером является ^{18}F -меченый фторомизонидазол (FMISO [186]). Однако практическое применение метода ПЭТ имеет ряд ограничений, связанных с необходимостью использования радиоактивной метки, длительным временем сканирования и относительно медленным выведением зондов из тканей. С учетом короткого периода полураспада ^{18}F (≈ 2 ч) это требует введения более высоких доз зонда по сравнению с рядом других ПЭТ-методик и, тем самым, ограничивает клиническую привлекательность данного подхода.

Для преодоления этих ограничений было предложено использовать гиперполяризованные нитроимидазолы в качестве МР-сенсоров гипоксии. Предполагается, что химические сдвиги ядер ^{15}N в нитроимидазольном фрагменте могут отражать последовательные стадии восстановления нитрогруппы в гипоксических тканях и, таким образом, служить индикатором уровня кислорода. Расчетные исследования подтвердили принципиальную возможность применения трижды ^{15}N -меченого метронидазола ($[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола) в качестве гиперполяризованного зонда для детекции гипоксии [187]. Дополнительно было показано, что соединение $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол может быть использовано *in vivo*, по крайней мере в исследованиях на здоровых крысах [187]. Эти результаты сделали гиперполяризованные нитроимидазолы, и особенно $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол, весьма перспективными сенсорами опухолевой гипоксии для МР приложений.

Также было показано, что $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол может быть эффективно гиперполяризован методом SABRE-SHEATH в дейтерированном метаноле [188]; для ядра ^{15}N нитрогруппы была достигнута поляризация порядка 16%. Несмотря на столь высокие значения поляризации, для биомедицинских и особенно МРТ-применений *in vivo* принципиально важно получать гиперполяризованный раствор в биосовместимой среде, свободный как от метанола, так и от токсичного катализатора SABRE [189]. Так, ключевая проблема метода SABRE заключается в необходимости очистки получаемого гиперполяризованного контрастного агента от цитотоксичного иридиевого катализатора (токсичность катализатора связывается с токсичностью тяжелого металла – Ir; LD50 для Ir составляет 2000 мг/кг для крыс) и органического растворителя (например, LD50 для метанола составляет 5,6 г/кг для грызунов). В связи с этим в литературе активно развиваются стратегии очистки раствора и отделения катализатора [190]. Среди них можно выделить проведение SABRE в водных средах с использованием водорастворимых катализаторов [191,192], связывание катализатора [193,194], применение

Рисунок 1.8. Общая схема метода CASH-SABRE.

С использованием подхода CASH-SABRE ранее были гиперполяризованы различные азотсодержащие субстраты, включая пиразин, 5-метилпиримидин, метил-4,6-d₂-никотинат, 4,6-d₂-никотинамид и пиразинамид [200]. После полного разделения фаз D₂O и CDCl₃ для этих соединений были получены заметные уровни поляризации протонов ($\approx 1-10\%$). Кроме того, было показано, что гиперполяризованный пиразин может быть получен непосредственно в водном растворе с поляризацией $P(^{13}\text{C}) \approx 0,15\%$ и $P(^{15}\text{N}) \approx 0,98\%$. Аналогичный подход был использован для гиперполяризации орнидазола с природным содержанием изотопа ^{15}N [201]. В водной фазе для атома N-3 наблюдали $P(^{15}\text{N}) \approx 23\%$, тогда как катализатор SABRE оставался в фазе CD₂Cl₂. Однако на текущий момент гиперполяризация ^{13}C - и ^{15}N -меченых производных с использованием данной стратегии еще не была продемонстрирована.

Таким образом, нитроимидазольные соединения представляют собой одно из наиболее перспективных направлений развития методов гиперполяризации на основе SABRE для биомедицинских применений. Интерес к ним обусловлен сочетанием биологической значимости, чувствительности к гипоксическим условиям и возможности регистрации по ядрам ^{15}N . При этом ключевой задачей остается разработка способов получения биосовместимых гиперполяризованных растворов, пригодных для исследований *in vivo*. В этом отношении подход CASH-SABRE является особенно перспективным.

Глава 2: Экспериментальная часть

2.1 Материалы и реактивы

В данной работе использовались следующие коммерчески доступные реактивы: [^{13}C]муравьиная кислота (99% атомов ^{13}C , «Sigma-Aldrich», P/N 279404), пропаргиловый спирт (чистота > 99%, «Sigma-Aldrich», P/N P50803), п-толуолсульфоновая кислота (p-TsOH), гидрокарбонат натрия (NaHCO_3), хлорид кальция (CaCl_2), сульфат натрия (Na_2SO_4), диметилсульфат ($(\text{MeO})_2\text{SO}_2$), трет-бутоксид калия (t-BuOK), концентрированная соляная кислота ($\text{HCl}_{\text{конц}}$), дейтерированный ацетон- d_6 (C_3OD_6 , 99,5% атомов D, «Solvex-D»), дейтерированный хлороформ (CDCl_3 , 99,8% атомов D, «ZEОtore»), дейтерированная вода (D_2O , 99,8% атомов D, «Solvex-D»), тетрафторборат бис(норборнадиен) родия(I) ($[\text{Rh}(\text{NBD})_2]\text{BF}_4$, «Alfa Aesar», P/N 044036), 1,4-бис(дифенилфосфино)бутан (dppb, чистота > 98%, «Sigma-Aldrich», P/N 261947), водород (H_2 , чистота > 99,99%, «Чистые газы»), катализатор из гидратированного оксида железа ($\text{FeO}(\text{OH})$, «Sigma Aldrich», P/N 371254), [$1\text{-}^{13}\text{C}$]ацетат натрия (99% атомов ^{13}C , «Sigma-Aldrich», CAS 23424-28-4), водород (H_2 , чистота > 99,999%, «АльфаГаз»), ацетилен (C_2H_2 , чистота > 99,5%, ПТК «Промышленные газы»), гелий (He, чистота > 99,999%, УМТС СО РАН), аргон (Ar, чистота > 99,999%, УМТС СО РАН), пропин (C_3H_4 , чистота > 99%, «SIAD»).

Катализаторы $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ (0,11 мас.% Pd) и $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ (0,87 мас.% Pd) были приготовлены под руководством Хунъян Лю в Шэньянской национальной лаборатории материаловедения (Институт исследования металлов, Китайская академия наук, Китайская Народная Республика). Процедура приготовления катализатора описана в литературе [91].

Иммобилизованные катализаторы родия и иридия были приготовлены за счет взаимодействия димерных комплексов $[\text{Ir}_2(\text{COD})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ или $[\text{Rh}_2(\text{COD})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (где COD – *цис,цис*-1,5-циклооктадиен) с группами –SH (далее обозначены – Rh-S@SiO₂, Ir-S@SiO₂) или –PPh₂ (далее обозначены – Ir-P@SiO₂) линкерных цепочек модифицированного силикагеля – 3-меркаптопропил-силикагель SiO₂–C₃H₆–SH («Sigma-Aldrich», P/N 538086, концентрация привитых SH-групп 1,2 ммоль/г) или 2-дифенилфосфиноэтил-силикагель SiO₂–C₂H₄–PPh₂ («Sigma-Aldrich», P/N 538019, концентрация привитых PPh₂-групп 0,7 ммоль/г). При таком взаимодействии происходит разрушение исходных димерных комплексов с образованием плоских комплексов $[\text{M}(\text{COD})(\text{L})\text{Cl}]$ (где M – Rh или Ir; L – группа –SH или –PPh₂ линкерных цепочек). Детальное описание процедуры приготовления данных катализаторов приведено в оригинальной работе [202]. Структура катализаторов была подтверждена методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС), что описано ниже. Данные катализаторы были приготовлены к.х.н. Ларисой Михайловной

Ковтуновой, руководителем «НТК Поверхность» отдела физико-химических исследований на атомно-молекулярном уровне Института катализа СО РАН.

2.1.1 Синтез предшественников для метода РНП-САН

Все синтезы, описанные в данной главе, были проведены к.х.н. Никитой Владимировичем Чукановым в лаборатории магнитно-резонансной микротомографии Института «Международный томографический центр» СО РАН. В части синтезов принимал участие студент ФЕН НГУ Мустафин Назим Рафилевич.

Синтез пропаргил формиата.

Общая процедура: муравьиная кислота (25 ммоль, 1 экв.), пропаргиловый спирт (1 экв.) и р-TsOH (0,05 экв.) смешивали в круглодонной колбе объемом 10 мл, снабженной аппаратом для дистилляции. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником до начала сбора дистиллята в приемную колбу. Дистиллят промывали насыщенным раствором NaHCO_3 ($2 \times 0,3$ мл до $\text{pH} = 8$) и насыщенным раствором CaCl_2 ($3 \times 0,3$ мл) для удаления избытка спирта. Неочищенный продукт сушили над безводным CaCl_2 и дополнительно перегоняли при атмосферном давлении. Пропаргил формиат получали по описанной выше процедуре из 1,2 г немеченой муравьиной кислоты. Выход составил 1,3 г (60%). Пропаргил [^{13}C]формиат был получен по данной процедуре из 1,23 г [^{13}C]муравьиной кислоты. Выход составил 1,32 г (60%).

Данные ЯМР для пропаргил формиата. ЯМР ^1H (300 МГц, ацетон- d_6): 8,17 (т, 1H, $J = 0,9$ Гц), 4,79 (дд, 2H, $J = 2,5$ Гц, $J = 0,9$ Гц), 3,06 (т, 1H, $J = 2,5$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, ацетон- d_6): 161,1, 78,4, 76,6, 51,5.

Данные ЯМР для пропаргил [^{13}C]формиата. ЯМР ^1H (300 МГц, ацетон- d_6): 8,17 (дт, 1H, $J = 230$ Гц, $J = 0,9$ Гц), 4,79 (ддд, 2H, $J = 3,6$ Гц, $J = 2,5$ Гц, $J = 0,9$ Гц), 3,07 (т, 1H, $J = 2,5$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, ацетон- d_6): 161,1, 78,4 (д, $J = 2,5$ Гц), 76,6, 51,5 (д, $J = 2,5$ Гц).

Синтез метил ацетата.

Метод синтеза был воспроизведен на основе ранее опубликованной методики [203]. К 10,80 мл (113 ммоль) свежеперегнанного диметилсульфата добавляли 3,1 г (38 ммоль) сухого ацетата натрия. Реакционную смесь медленно нагревали при интенсивном перемешивании в течение 1 ч до $170\text{ }^\circ\text{C}$ с использованием масляной бани. Продукт перегоняли в ловушку, охлажденную примерно до $-70\text{ }^\circ\text{C}$. Было получено 2,5 г метил ацетата (89% выход).

Синтез метил ацетоацетата.

Синтез метил ацетоацетата проводили согласно ранее опубликованной методике [204]. К 2,5 г (30 ммоль) метил ацетата добавляли 2,04 г (18 ммоль) *t*-BuOK, хранившейся в перчаточном боксе. Стекланный реактор закрывали винтовой крышкой, реакционную смесь постепенно нагревали до 90 °С, а жидкость энергично перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и осторожно разбавляли 1,5 мл концентрированной HCl в 15 мл H₂O до достижения нейтрального pH, после чего продукт экстрагировали эфиром (5 × 10 мл) и сушили над Na₂SO₄. После выпаривания растворителя при 40 °С и 55 мбар было получено 1,04 г метил ацетоацетата (58% выход).

Данные ЯМР для кето-формы метил ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 2,25 (с, 3H, CH₃), 3,44 (с, 2H, CH₂), 3,72 (с, 3H, OCH₃).

Данные ЯМР для енольной формы метил ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 1,93 (с, 3H, CH₃), 3,70 (с, 3H, OCH₃), 4,96 (с, 1H, =CH), 11,9 (с, 1H, OH).

Синтез пропаргил ацетоацетата.

Синтез пропаргил ацетоацетата проводили согласно ранее опубликованной методике [205] (рисунок 2.1). 1 г (8,6 ммоль) метил ацетоацетата и 2,4 г (43 ммоль) пропаргилового спирта смешивали в 20 мл толуола и нагревали при кипении в течение 24 ч. Затем добавляли еще одну порцию пропаргилового спирта (2,4 г, 43 ммоль) и продолжали нагревание еще 24 ч. После завершения реакции избыток растворителя выпаривали, и раствор очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле, используя смесь этилацетата и гексана (от соотношения 1 : 5 до 1 : 3) в качестве элюента. После выпаривания элюента было получено 1,0 г пропаргил ацетоацетата (83% выход).

Данные ЯМР для кето-формы пропаргил ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 2,29 (с, 3H, CH₃), 2,50 (т, J = 2,5 Гц, 1H, ≡CH), 3,51 (с, 2H, CH₂), 4,75 (д, J = 2,5 Гц, 2H, CH₂). ЯМР ¹³C (300 МГц, CDCl₃): δ = 30,2, 49,7, 52,8, 75,5, 76,5, 166,4, 199,9.

Данные ЯМР для енольной формы пропаргил ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 1,58 (с, 3H, CH₃), 2,40 (т, J = 2,4 Гц, 1H, ≡CH), 4,74 (д, J = 2,4 Гц, 2H, CH₂), 5,04 (с, 1H, =CH), 11,81 (с, 1H, OH).

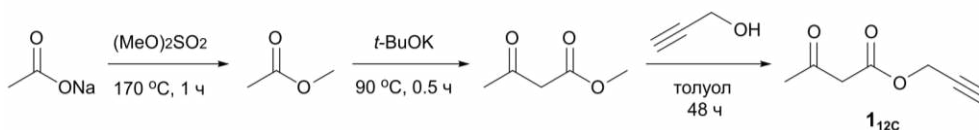


Рисунок 2.1. Схема синтеза пропаргил ацетоацетата.

Синтез метил [1-¹³C]ацетата.

Синтез метил [1-¹³C]ацетата проводили согласно ранее описанной методике. 1,96 г (24 ммоль) сухого [1-¹³C]ацетата натрия добавляли к 6,70 мл (70 ммоль) свежеперегнанного диметилсульфата. Реакционную смесь медленно нагревали при интенсивном перемешивании в течение 1 ч до 170 °С с использованием масляной бани. Продукт перегоняли в ловушку, охлажденную примерно до -70 °С. Было получено 1,5 г метил [1-¹³C]ацетата (85% выход).

Данные ЯМР для метил [1-¹³C]ацетата. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ = 2,04 (д, 3H, J = 6,8 Гц, CH₃), 3,65 (д, 3H, J = 3,9 Гц, OCH₃).

Синтез метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата.

Синтез метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата проводили согласно ранее описанной методике. 1,43 г (13 ммоль) t-BuOK, хранившегося в перчаточном боксе, добавляли к 1,60 г (21 ммоль) метил [1-¹³C]ацетата, помещенного в стеклянном реакторе. Реакционную смесь постепенно нагревали до 90 °С, а жидкость энергично перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и осторожно разбавляли 1 мл концентрированной HCl в 10 мл H₂O до достижения нейтрального pH, после чего продукт экстрагировали эфиром (4 × 6 мл) и сушили над Na₂SO₄. После выпаривания растворителя при 40 °С и 55 мбар было получено 0,61 г метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата (50% выход).

Данные ЯМР для кето-формы метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 2,25 (д, 3H, J = 6,0 Гц, CH₃), 3,44 (дд, 2H, J = 6,5 Гц, J = 7,2 Гц, CH₂), 3,72 (д, 3H, J = 4,0 Гц, OCH₃).

Данные ЯМР для енольной формы метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃): δ = 1,93 (д, 3H, J = 6,3 Гц, CH₃), 3,70 (д, 3H, J = 4,0 Гц, OCH₃), 4,96 (д, 1H, J = 4,6 Гц, =CH), 11,9 (д, 1H, J = 5,0 Гц, OH).

Синтез пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата.

Синтез пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата проводили согласно ранее описанной методике (рисунок 2.2). 0,72 г (6 ммоль) метил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата и 1,71 г (30 ммоль) пропаргилового спирта смешивали в 15 мл толуола и нагревали при кипении в течение 24 ч. Затем добавляли еще одну порцию пропаргилового спирта (1,71 г, 30 ммоль) и продолжали нагревание еще 24 ч. После завершения реакции избыток растворителя выпаривали, и раствор очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле, используя смесь этилацетата и гексана (от соотношения 1 : 5 до 1 : 3) в качестве элюента.

После выпаривания элюента было получено 0,63 г пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата (73% выход).

Данные ЯМР для кето-формы пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата. ЯМР ¹H (300 МГц, (CD₃)₂CO): δ = 2,23 (д, 3H, J = 6,2 Гц, CH₃), 3,07 (т, 1H, J = 2,5 Гц, ≡CH), 3,59 (т, 2H, J = 6,8 Гц, CH₂), 4,75 (дд, 2H, J = 2,5 Гц, J = 3,6 Гц, OCH₂). ЯМР ¹³C {¹H} (300 МГц, CDCl₃): δ = 30,0 (J = 42,4 Гц, J = 1,5 Гц), 49,7 (дд, J = 59,1 Гц, J = 37,8 Гц), 52,8 (J = 2,4 Гц), 76,6, 78,5 (J = 2,8 Гц), 167,3 (J = 2,5 Гц), 200,6 (J = 2,5 Гц).

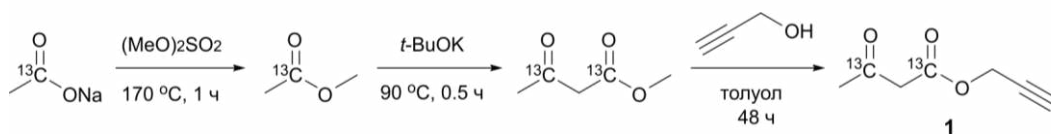


Рисунок 2.2. Схема синтеза пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата.

2.1.2 Синтез предшественников для метода SABRE

Синтез [¹⁵N₃]метронидазола был проведен к.х.н. Никитой Владимировичем Чукановым в лаборатории магнитно-резонансной микротомографии Института «Международный томографический центр» СО РАН и детально описан в литературе [188].

2.2. Приборы и оборудование

2.2.1 Спектроскопия ЯМР

ЯМР-эксперименты по гиперполяризации [¹³C]формиата и газов (пропилен, этилен и т. д.) были проведены в Международном Томографическом Центре СО РАН. Для этого был использован спектрометр ЯМР Bruker AV 300 с напряженностью магнитного поля 7,05 Тл. Спектрометр ЯМР оснащен датчиками с радиочастотными катушками для ампул диаметром 5 мм и 10 мм с резонансной частотой протонов 300,1 МГц и ядер ¹³C 75,5 МГц.

ЯМР-эксперименты по гиперполяризации [1,3-¹³C₂]ацетоацетата были проведены в Университетской Клинике г. Фрайбург (Германия). Для этого был использован спектрометр ЯМР Bruker Avance Neo 400 WB с напряженностью магнитного поля 9,4 Тл. Спектрометр ЯМР был оснащен датчиком с РЧ катушкой РА ВВ1 400W1/S2 H-BB-D-05 Z для ампул диаметром 5 мм с резонансной частотой протонов 400,2 МГц и ядер ¹³C 100,6 МГц.

ЯМР-эксперименты по гиперполяризации [¹⁵N₃]метронидазола были проведены в Международном Томографическом Центре СО РАН. Для этого был использован настольный спектрометр ЯМР SpinSolve Nitrogen 60 Ultra («Magritek») с напряженностью

магнитного поля 1,4 Тл и РЧ катушками с резонансной частотой протонов 59,6 МГц и ядер ^{15}N 6,1 МГц.

Для жидкой фазы РЧ-импульсы калибровали с использованием стандартных образцов от производителя («Bruker») при комнатной температуре. Калибровку химических сдвигов проводили по положению сигналов от остаточных протонов дейтерированных растворителей.

2.2.2 Получение параводорода

Молекулярный водород обогащали пара-изомером с использованием генератора параводорода (CFA-200-H2CELL, ООО «Криоприбор», Россия) за счет пропускания газообразного водорода над катализатором из гидратированного оксида железа $\text{FeO}(\text{OH})$ («Sigma Aldrich», каталожный номер 371254) в криостате замкнутого цикла. Для большинства экспериментов обогащение водорода пара-изомером достигало >90%. В Германии обогащение водорода пара-изомером проводилась аналогичным образом.

2.2.3 Определение цитотоксичности

Для оценки потенциального цитотоксичного эффекта *in vitro* водного раствора [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола, полученного методом CASH SABRE, был использован стандартный метод МТТ. Тест МТТ был проведен в лаборатории генетики лабораторных животных в Институте цитологии и генетики СО РАН под руководством д.б.н. Ивана Алексеевича Разумова. Этот колориметрический метод основан на восстановлении желтой тетразолиевой соли (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид или МТТ) до фиолетовых кристаллов формазана метаболически активными клетками. Данный метод позволяет оценить жизнеспособность клеток за счет выявления метаболически активных клетками по характерному окрашиванию. Для количественной оценки окрашивания использовался спектрофотометр.

Для проведения эксперимента была использована клеточная линия эмбриональных почек человека НЕК293Т (АТСС, номер доступа CRL-3216), которая культивировалась из замороженного состояния (клеточные линии хранились в ИЦиГ СО РАН), в смеси 1:1 среды Dulbecco's Modified Eagle Medium и питательной смеси Хэма F-12 DMEM/F12 («Biolot») с добавлением 10% (об/об) фетальной бычьей сыворотки («HyClone»). После культивирования клетки высевали в 96-луночные планшеты с плотностью $\approx 5 \times 10^4$ клеток/луночку и культивировали при 37 °С в течение ночи. В качестве отрицательного контроля использовали клетки в культуральной среде, не обработанные каким-либо цитотоксическим соединением. В качестве положительного контроля цитотоксичности

использовали раствор цисплатина (0,5 мг/мл, «Pharmachemie B.V. »). В сравнительном эксперименте использовали раствор метронидазола с естественным изотопным содержанием (M3761, «Sigma-Aldrich») в деионизированной воде. Для исследуемых растворов готовили трехкратные серийные разведения в среде DMEM/F-12.

Клетки подвергали воздействию исследуемых растворов в различных концентрациях, добавляя по 150 мкл в каждую лунку и инкубируя при 37 °С в течение 1 часа. Затем среду удаляли, после чего в каждую лунку добавляли смесь, состоящую из 90 мкл DMEM/F-12 и 10 мкл раствора МТТ («Диаэм») с концентрацией 5 мг/мл. Клетки культивировали еще 4 часа. Среду, содержащую МТТ, удаляли, а затем клетки обрабатывали 100 мкл диметилсульфоксида в каждую лунку для растворения кристаллов формазана, образованных живыми клетками. Затем планшеты переносили в микропланшетный спектрофотометр (Multiskan SkyHigh, «Thermo Fisher Scientific») и измеряли значение абсорбции в лунках при длине волны 595 нм. Данные для каждого условия представлены как среднее значение, полученное из трех повторных лунок. Измеренные данные (оптическая плотность каждой лунки) использовались для расчета жизнеспособности клеток в процентах от контрольных клеток.

2.2.4 Определение остаточного содержания Ir

Измерение остаточного содержания иридия в водных растворах было проведено с помощью метода атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС) на спектрометре iCAP-6500 («Thermo Scientific») в центре коллективного пользования Института неорганической химии СО РАН под руководством д.х.н. Геннадия Александровича Костина

2.2.5 Характеризация катализаторов Pd/ND@G

Электронное состояние поверхности катализаторов исследовалось д.х.н. Андреем Валериевичем Бухтияровым и к.х.н. Игорем Петровичем Просвириным в «НТК Поверхность» Института катализа СО РАН с помощью метода рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) на спектрометре SPECS (Германия) с полусферическим анализатором PNOIBOS-150-MCD-9 (Al K α излучение, $h\nu = 1486,6$ эВ; 150 В). Шкала энергии связи была предварительно откалибрована по положению пиков Au4f $_{7/2}$ ($E_{св} = 84,0$ эВ) и Cu2p $_{3/2}$ ($E_{св} = 932,67$ эВ).

Спектры РФЭС были записаны для исходного катализатора и катализатора, восстановленного в атмосфере водорода. Восстановление катализатора проводилось *in situ*

при температуре 200 °С и давлении 75 мбар Н₂ в течение 1 часа. Атомные концентрации на поверхности катализаторов представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1. Атомные концентрации на поверхности, рассчитанные на основе данных РФЭС, полученных для двух катализаторов Pd/ND@G.

Образец	Обработка	Si, %	S, %	Pd, %	C, %	N, %	O, %
Pd ₁	Исходный	0,0	0,14	0,016	94,4	1,3	4,2
	Восстановленный	0,0	0,16	0,022	94,1	1,3	4,4
	После реакции	3,9	0,07	0,026	84,9	1,0	14,0
Pd _n	Исходный	0,0	0,14	0,118	93,6	1,3	4,9
	Восстановленный	0,0	0,08	0,186	95,2	1,4	3,2
	После реакции	0,7	0,05	0,111	93,6	1,1	5,1

Наличие атомов азота на поверхности катализатора может быть объяснено использованием нитрата палладия в качестве предшественника активного компонента в приготовлении катализатора. Относительно высокая концентрация атомов кислорода на поверхности катализатора согласуется со спектрами РФЭС носителя ND@G, опубликованными ранее, и связана с наличием дефектов в графене [91]. Спектры РФЭС представлены на рисунке 2.3.

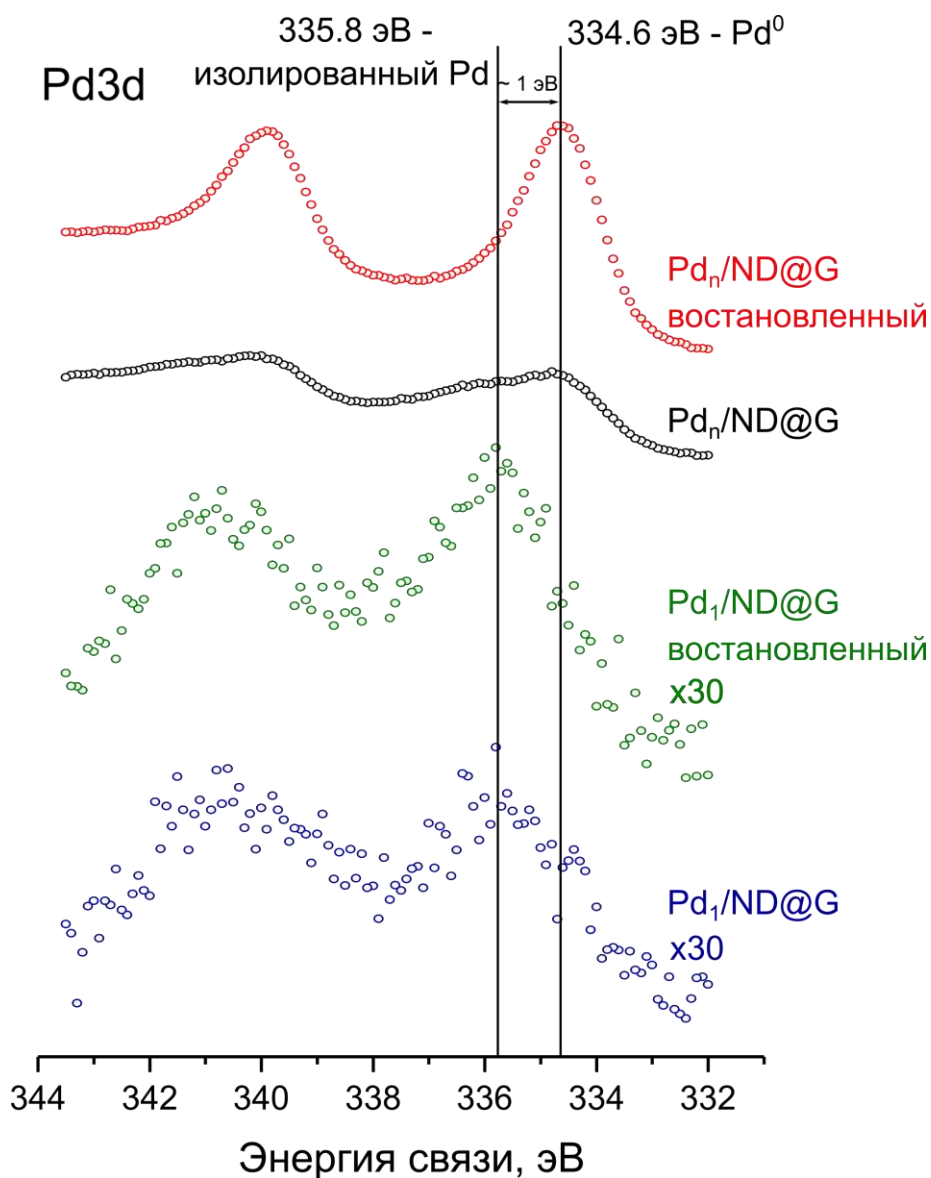


Рисунок 2.3. Спектры РФЭС региона Pd 3d для исходных и восстановленных (200 °С, 75 мбар, 1 час) катализаторов Pd_n/ND@G и Pd₁/ND@G. Спектры РФЭС для Pd₁/ND@G были увеличены по интенсивности в 30 раз для удобства представления результатов из-за изначально низкой интенсивности пиков, что связано с небольшим процентным содержанием палладия для катализатора Pd₁/ND@G (0,11 мас.% Pd).

В спектрах РФЭС наблюдается повышение интенсивности пиков Pd 3d после восстановления, что связано с удалением адсорбированных частиц при восстановительной обработке. Кроме того, наблюдается сдвиг пика, соответствующего состоянию Pd⁰, примерно на 1 эВ (наблюдается при значениях энергии связи от 335,7 до 335,8 эВ) в область больших энергий связи для катализатора Pd₁/ND@G относительно пика, соответствующего Pd⁰ для Pd_n/ND@G (наблюдается при значениях энергии связи от 334,6 до 334,8 эВ). В опубликованной ранее работе о катализаторах Pd_n/ND@G и Pd₁/ND@G данный сдвиг также наблюдался и объяснялся специфическим взаимодействием палладия с носителем и образованием связей Pd-C в случае Pd₁/ND@G [84]. Для обоих катализаторов Pd_n/ND@G и

$\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ положение пиков $\text{Pd } 3d$ до и после восстановительной обработки не меняется, что подтверждает стабильность каталитических центров на поверхности обоих катализаторов.

Помимо этого, стабильность катализаторов $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ в реакции селективного гидрирования ацетилена была продемонстрирована ранее [91].

Для изучения распределения палладия на поверхности катализаторов $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ записывались изображения ПЭМ (просвечивающей электронной микроскопии) на микроскопе FEI Tecnai G2 F200. Изображения ПЭМ с атомарным разрешением были получены с использованием источника холодной автоэмиссии с поправкой на Cs. В качестве детектора просвечивающего электронного микроскопа был использован широкоугольный круговой детектор темного поля (high-angle annular dark-field, HAADF). Для формирования изображения в нем используются только электроны, отклоненные под большими углами от исходного электронного пучка – их интенсивность сильно зависит от атомного номера элементов, из которых состоит образец. ПЭМ-изображения были получены Фэй Хуаном под руководством Хунъян Лю в Шэньянской национальной лаборатории материаловедения (Институт исследования металлов, Китайская академия наук, Китайская Народная Республика).

2.2.6 Характеризация иммобилизованных катализаторов

Электронное состояние поверхности катализаторов исследовалось д.х.н. Андреем Валериевичем Бухтияровым и к.х.н. Игорем Петровичем Просвириным в «НТК Поверхность» Института катализа СО РАН с помощью метода рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Измерения были выполнены на фотоэлектронном спектрометре SPECS (Германия), оснащенный полусферическим анализатором RHOIBOS-150-MCD-9 и источником нехроматизированного рентгеновского излучения $\text{MgK}\alpha$ ($h\nu = 1253,6$ эВ, мощность 200 Вт). Регистрация спектров РФЭС осуществлялась для свежеприготовленных образцов при этом время экспозиции образцов на воздухе было минимизировано. Шкала энергий связи ($E_{\text{св}}$) предварительно калибровалась по положениям пиков $\text{Au}4f_{7/2}$ (84,0 эВ) и $\text{Cu}2p_{3/2}$ (932,7 эВ) [206]. В качестве внутреннего стандарта для калибровки спектров использовалась линия $\text{Si}2p$ кремния, входящего в состав носителя ($E_{\text{св}} = 103,3$ эВ) [206]. Для определения зарядового состояния и соотношения атомных концентраций элементов на поверхности анализировали области $\text{Si}2p$, $\text{S}2p$, $\text{P}2p$, $\text{Cl}2p$, $\text{Rh}3d$ и $\text{Ir}4f$. Обработка спектров проводилась с использованием программы XPSPeak 4.1 [207]. Значения энергий связи и интегральных интенсивностей фотоэлектронных пиков определялись после вычитания фона по методу Ширли и анализа

формы спектральной линии с применением линейной комбинации функций Гаусса и Лоренца. Соотношения атомных концентраций элементов на поверхности рассчитывались на основе интегральных интенсивностей пиков с нормировкой на факторы элементной чувствительности с учетом функции пропускания анализатора [206].

Данные РФЭС иммобилизованного комплекса Ir-P@SiO₂ показали, что атомное отношение Ir/Cl составляет 1,1 (таблица 2.2). Анализ соединений Ir-S@SiO₂ и Rh-S@SiO₂ методом РФЭС выявил соотношение M/Cl, равное 1,2 и 1,0 соответственно. Кроме того, известно, что носители, модифицированные серосодержащими линкерными группами, широко используются для удаления гомогенных катализаторов из раствора, поскольку атомы серы способны координировать металлокомплексы [208,209]. Также изучение катализаторов Ir-P@SiO₂, Ir-S@SiO₂ и Rh-S@SiO₂ методом РФЭС показало, что для иридиевых катализаторов энергии связи линии Ir4f_{7/2} составляют 61,5 эВ (для Ir-P@SiO₂) и 61,8 эВ (для Ir-S@SiO₂), а для родиевого катализатора линия Rh3d_{5/2} наблюдалась при 308,4 эВ (рисунок 2.4). Известно, что в комплексе [Ir(CO)(PPh₃)₂Cl] энергия связи (E_{св}) линии Ir4f_{7/2} составляет 61,5 эВ [210]. В то же время для исходных комплексов [M₂(COD)₂(μ-Cl)₂] характерны значения E_{св}(Ir4f_{7/2}) = 61,3 эВ и E_{св}(Rh3d_{5/2}) = 308,7 эВ [211]. Таким образом, зарядовое состояние иридия и родия в приготовленных катализаторах соответствует степени окисления металла +1. Небольшое увеличение энергий связи может быть связано со смещением электронной плотности с атома иридия на π-акцепторные лиганды при закреплении комплекса на гетероатомах линкеров (S, P), причем тиольная группа является более сильным π-акцептором по сравнению с фосфиновой группой [212]. Кроме того, изменение положения линии S2p в сторону меньших значений энергии связи для исходного образца Ir-S@SiO₂ (162,8–162,9 эВ) по сравнению с носителем (163,9 эВ) согласуется с ожидаемым увеличением электронной плотности на атомах серы в иммобилизованном комплексе.

Массовое содержание металла в полученных катализаторах определяли методом рентгенофлуоресцентного анализа с использованием рентгеновского спектрометра VRA-30, оснащенного Cr-анодом. Погрешность определения составляла 5%.

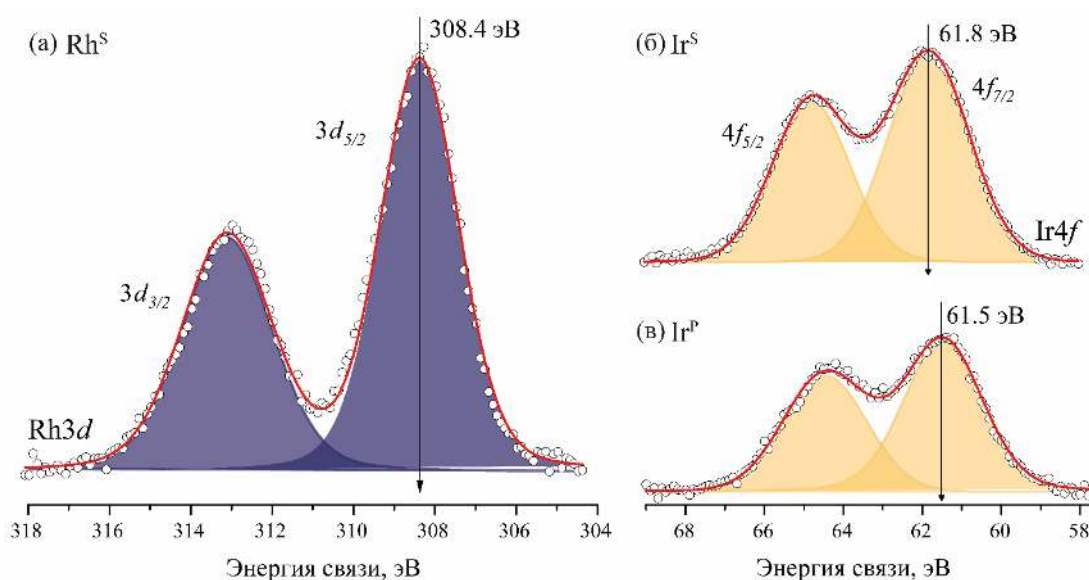


Рисунок 2.4. Рентгеновские фотоэлектронные спектры Rh3d и Ir4f, полученные для иммобилизованных катализаторов Rh-S@SiO₂ (а), Ir-S@SiO₂ (б) и Ir-P@SiO₂ (в).

Таблица 2.2. Атомные соотношения элементов для иммобилизованных катализаторов, определенные из спектров РФЭС. М – металл (Ir или Rh); S, P – атомы линкера.

Образец	Атомные отношения		
	M/Si	M/Cl	M/атом линкера
Rh-S@SiO ₂	0,077	1,0	1,0
Ir-S@SiO ₂	0,094	1,2	1,0
Ir-P@SiO ₂	0,036	1,1	0,5

Также структура иммобилизованного комплекса Ir-P@SiO₂ была ранее подтверждена методом твердотельной спектроскопии ЯМР ³¹P с вращением образца под магическим углом в литературе [212]. В соответствующем спектре ЯМР ³¹P присутствует дополнительный сигнал, соответствующий координированным фосфиновым группам – PPh₂ линкерной цепи. При этом наблюдалось уменьшение интенсивности сигнала, характерного для свободных (некоординированных) групп –PPh₂ указанной линкерной цепи.

2.2.7 Методика проведения экспериментов

2.2.7.1 Эксперименты с гидрированием пропина

В реактор, представляющей собой цилиндрическую трубку из нержавеющей стали с внешним диаметром 6,35 мм (внутренний диаметр 4,57 мм), помещали 5 мг катализатора (Pd₁/ND@G или Pd_n/ND@G) и 20 мг карбида кремния (SiC) для предотвращения перегрева каталитического слоя. Далее восстанавливали катализатор в потоке H₂ (5 об.% в Ar) при

200 °С в течение 1 ч. Затем катализатор охлаждали до 100 °С без остановки потока водорода. С использованием газораспределительной системы смешивали пропин, $p\text{-H}_2$ и He в молярном соотношении 1 : 2 : 4 соответственно.

Заранее приготовленную смесь пропина, $p\text{-H}_2$ и гелия пропускали через реактор с катализатором при различных объемных скоростях (25 и 220 мл/мин). Температура реакции варьировали от 220 °С до 280 °С с шагом в 20 °С. После прохождения реактора смесь направляли в ампулу, находящуюся в спектрометре ЯМР, где проводилась регистрация спектров ЯМР ^1H в газовой фазе. Регистрировали два типа спектров: 1) спектры, записанные в непрерывном потоке газовой смеси; 2) спектры, записанные после достижения теплового равновесия. При регистрации спектров обоих типов использовали 90° радиочастотный (РЧ) импульс (протокол ALTADENA).

2.2.7.2 Эксперименты с гидрированием ацетилена на иммобилизованных катализаторах

Смешивание ацетилена и $p\text{-H}_2$ в молярном соотношении 1 : 4 осуществляли с использованием газораспределительной системы. В процессе эксперимента смесь ацетилен : $p\text{-H}_2$ подавали к катализатору, размещенному на дне ампулы ЯМР, через тефлоновый капилляр. Давление в системе поддерживали на уровне 3,7 бар с помощью обратного клапана, соединенного с тефлоновым капилляром для отвода продуктов реакции из системы. Объемные скорости потока газовой смеси регулировали с помощью предварительно откалиброванного массового расходомера газа («Aalborg Instruments»). Ампулу ЯМР с навеской катализатора и газовой смесью термостатировали при 120 °С внутри спектрометра ЯМР.

Спектры ЯМР ^1H регистрировали в газовой фазе непосредственно в процессе пропускания реакционной смеси с использованием радиочастотного 45° РЧ-импульса (протокол PASADENA). Для определения конверсии регистрировали спектры ЯМР ^1H в условиях теплового равновесия (с применением 90° РЧ-импульса) для газа, выходящего из ампулы ЯМР с катализатором. С этой целью экспериментальная установка была дополнена второй ампулой ЯМР, в которую продукты реакции поступали по системе капилляров из ампулы с катализатором. Такая конфигурация обеспечивала быстрое разделение продуктов и катализатора, исключая протекание реакции в процессе регистрации спектров ЯМР ^1H после прекращения потока реагентов. Детальная схема установки приведена на рисунке 2.5.

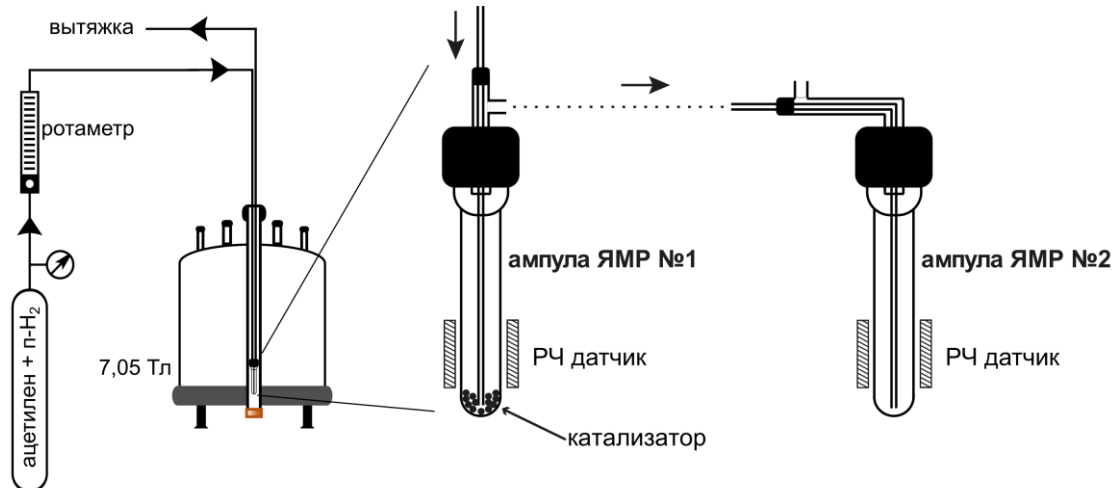


Рисунок 2.5. Схема экспериментальной установки для гидрирования ацетилена на иммобилизованных катализаторах.

Катализаторы Ir-S@SiO₂ и Rh-S@SiO₂ достаточно стабильны к воздействию кислорода воздуха, поэтому их хранение и перенос в ампулу ЯМР осуществляли на воздухе [213]. Катализатор Ir-P@SiO₂, напротив, является чувствительным к кислороду соединением; все манипуляции с ним (хранение, загрузка в ампулу ЯМР) проводили в инертной атмосфере аргона с использованием перчаточного бокса.

2.2.7.3 Эксперименты с гидрированием ацетилена и последующая реакция электрофильного присоединения

Этилен получали путем селективного гетерогенного гидрирования ацетилена. Для этого ацетилен и п-Н₂ предварительно смешивали в молярном соотношении 1 : 4. Катализатор (20-30 мг) помещали в середину цилиндрической трубки из нержавеющей стали (наружный диаметр 6,35 мм, внутренний диаметр 4,2 мм) между двух ваток из стекловолна. Биметаллический катализатор Pd-In предварительно восстанавливали в потоке Н₂ при 400 °С в течение 1 ч перед каждым экспериментом, чтобы обеспечить образование интерметаллического соединения Pd-In. Затем трубку с катализатором охлаждали до нужной температуры без прекращения подачи Н₂, и к катализатору подавали смесь ацетилена и п-Н₂. Другие катализаторы (Ir-P@SiO₂ и Pd/TiO₂) использовали без предварительной обработки. Выходной поток из реактора подавали через капилляры из политетрафторэтилена (ПТФЭ, внутренний диаметр 0,79 мм) в стандартную ампулу ЯМР с закручивающейся крышкой диаметром 10 мм (513-3PP-7, «Wilmad»), расположенную внутри спектрометра ЯМР. В ампуле ЯМР газовая смесь протекала снизу вверх, а затем — через трубку из ПТФЭ (внутренний диаметр 1,59 мм). Степень превращения и селективность по этилену оценивались для каждого катализатора по спектрам ЯМР ¹H, полученным для состояния теплового равновесия. Объемные скорости подачи газов

регулирули с помощью предварительно откалиброванного массового расходомера газа («Aalborg Instruments»). Все эксперименты проводили при атмосферном давлении. Реактор нагревали с помощью трубчатой печи, а температуру контролировали термопарой К-типа, расположенной рядом со слоем катализатора на внешней стороне реактора.

Реакцию между этиленом и Br_2 проводили в дейтерированной воде, в результате чего образовывался 2-бромэтан(^2H)ол (далее обозначаемый как BrEtOD). Для этого каплю Br_2 помещали на дно ампулы ЯМР, содержащей D_2O (для поддержания насыщенного раствора брома). Раствор Br_2 титровали тиосульфатом натрия в присутствии йодида калия, используя крахмал в качестве индикатора. Было проведено пять независимых титрований, и концентрация составила $0,14 \pm 0,02$ М. Такая концентрация обеспечивала быструю и полную реакцию (менее чем за секунду) с этиленом, когда газообразный этилен пропускали через бромную воду в 10-мм ампуле ЯМР, расположенной в датчике спектрометра ЯМР. Для контрольного эксперимента смесь ацетилена и $p\text{-H}_2$ подавали в реактор со скоростью потока 200 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$, а выходящий из реактора поток в течение 10 с (если не указано иное) пропускали через бромную воду с использованием капилляра из ПТФЭ (внутренний диаметр 0,79 мм) минимальной длины для минимизации времени прохождения. Затем регистрировали спектры ЯМР ^1H . Гидролиз BrEtOD до этан-1,2-ди(^2H)ола был незначительным во временном масштабе эксперимента. Для фильтрации термических сигналов и регистрации только усиленных сигналов 2-бромэтанола использовали импульсную последовательность OPSY-d12 (Only Parahydrogen Spectroscopy) [214], которая схематично представлена на рисунке 2.6.

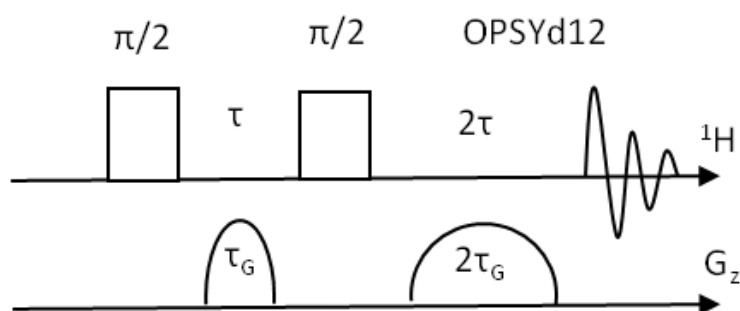


Рисунок 2.6. Схема импульсной последовательности OPSY-d12.

Эксперимент с варьируемым временем хранения этилена проводили следующим образом: выходящий из реактора поток газа собирали в шприц объемом 60 мл из полипропилена с креплением Луера с объемной скоростью 3 мл/с. Расчеты времени хранения описаны в разделе 2.3.4. Система подачи газа в ампулу ЯМР была оснащена несколькими герметичными кранами из полиэфирэфиркетона (ПЭЭК, P-733, «Idex Health

& Science») для поддержания бескислородной среды во время эксперимента. Общая схема экспериментальной установки приведена на рисунке 2.7.

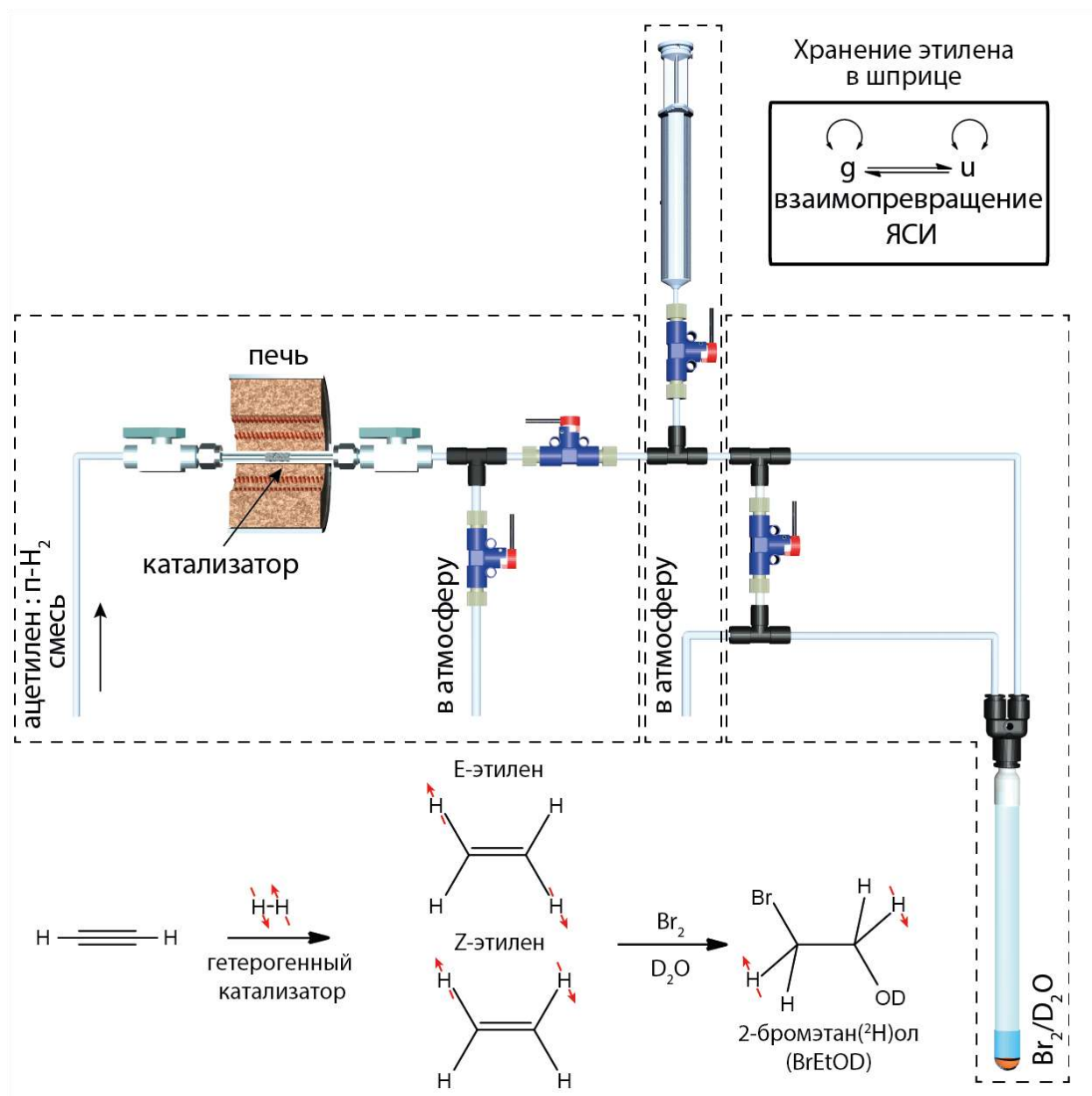


Рисунок 2.7. Схема экспериментальной установки и реакций для получения гиперполяризованного 2-бромэтанола.

2.2.7.4 Эксперименты по гиперполяризации метронидазола

Эксперименты по гиперполяризации SABRE-SHEATH проводили с использованием поляризатора MATRESHCA, подробное описание которого приведено в литературе [215]. Подачу p-H₂ регулировали с помощью массового расходомера газа (SmartTrak 50, «Sierra Instruments»). P-H₂ подавали в ампулу ЯМР через тонкий капилляр из ПТФЭ с внешним диаметром 0,6 мм и внутренним диаметром 0,3 мм для минимизации неоднородности магнитного поля, создаваемой капилляром. Другие части линии подачи p-H₂ представляли

собой трубки из ПЭЖ с внешним диаметром 3,175 мм. Поляризатор был оснащен дополнительной ампулой, заполненной CDCl_3 , через которую подавался p-H_2 перед барботированием через ампулу образца. Это необходимо для предварительного насыщения газового потока парами хлороформа. Схема экспериментальной установки представлена на рисунке 2.8. Все эксперименты проводили при давлении 7,8 бар и температуре 23 °С, если не указано иное; давление контролировали с помощью предварительно откалиброванного пружинного предохранительного клапана. Перед экспериментами все образцы дегазировали путем барботирования Ar через ампулу с образцом. Для создания сверхнизких магнитных полей использовали трехслойный магнитный экран из мю-металла («Magnetic Shield Corp.», P/N ZG-203), который также был оснащен соленоидным магнитом, магнитное поле которого контролировалось с помощью переключаемого резисторного блока («Global Specialties», RDB-10). Большинство экспериментов проводили при магнитном поле 0,7 мкТл. Магнитное поле измеряли с помощью датчика Холла (3ADX802F DX 360 «DexinMag»).

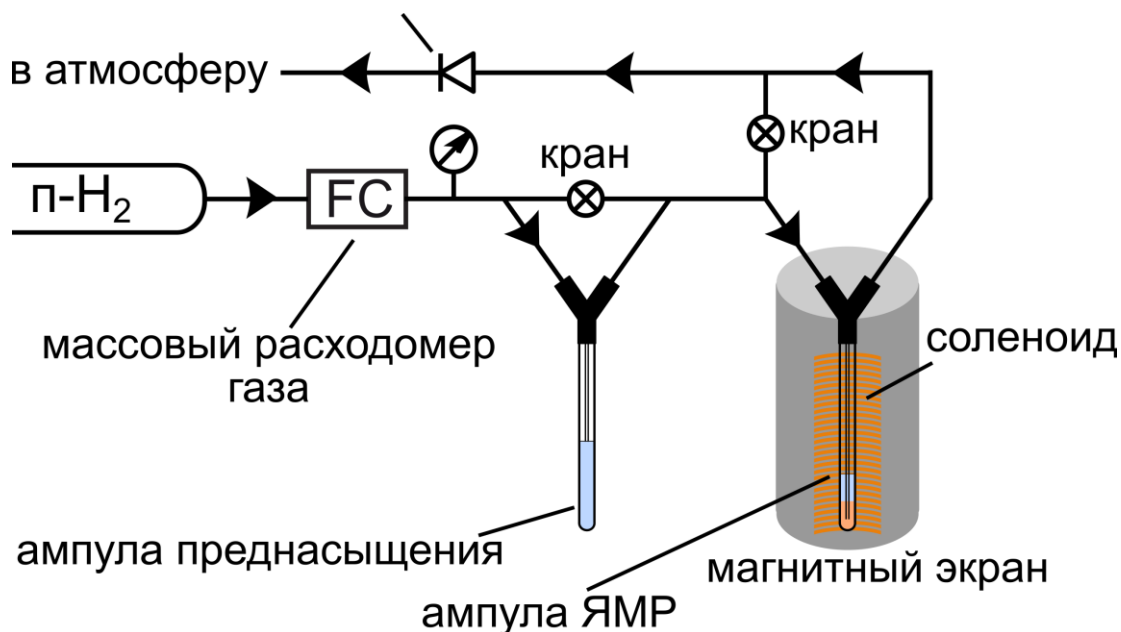


Рисунок 2.8. Схема экспериментальной установки, используемой для гиперполяризации $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола.

2.2.7.5 Эксперименты по гиперполяризации формиата

Для всех экспериментов использовали исходный раствор 40 мМ пропаргилформиата и 2,5 мМ $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{NBD})]\text{BF}_4$ в ацетоне- d_6 . Исходный раствор готовили следующим образом: $[\text{Rh}(\text{NBD})_2]\text{BF}_4$, dppb и ненасыщенный предшественник растворяли в необходимом количестве ацетона- d_6 и перемешивали с помощью миксера. Полученные растворы помещали в стандартные 5-мм ампулы ЯМР («Wilmad») и плотно соединяли с газовыми линиями из ПТФЭ с внешним диаметром 6,35 мм (объем образца составлял 0,6

мл). Перед экспериментами все образцы дегазировали путем барботирования Ag через ампулу с образцом. Следует отметить, что предшественник катализатора чувствителен к воздуху, поэтому его хранили в перчаточном боксе в атмосфере Ag.

Эксперименты по гиперполяризации PHIP-SAH проводили с использованием поляризатора MATRESHCA, подробное описание которого приведено в литературе [215]. Подачу $p\text{-H}_2$ регулировали с помощью регулятора массового потока («Xinnovis Microsystem Technology Co.», P/N S500); $p\text{-H}_2$ подавали в ампулу ЯМР через тонкий капилляр из ПТФЭ с внешним диаметром 0,6 мм и внутренним диаметром 0,3 мм для минимизации неоднородности магнитного поля, создаваемой капилляром. Другие части линии подачи $p\text{-H}_2$ представляли собой трубки из ПЭЭК с внешним диаметром 3,17 мм. Поляризатор был оборудован дополнительной ампулой, заполненной ацетоном- d_6 , через которую подавали $p\text{-H}_2$ перед барботированием через ампулу ЯМР с образцом. Это было необходимо для предварительного насыщения газового потока парами ацетона.

Эксперименты по гидрированию проводили при давлении 7,8 бар, температуре 65 °C и объемной скорости потока газа 25 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$, если не указано иное; давление контролировали с помощью предварительно откалиброванного пружинного предохранительного клапана. Перенос поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C осуществляли с помощью метода, основанного на изменении постоянного магнитного поля B_0 (MFC). Трехслойный магнитный экран из мю-металла («Magnetic Shield Corp.», P/N ZG-203) был оснащен соленоидным магнитом, магнитное поле которого контролировалось с помощью переменного резисторного блока («Global Specialties», P/N RDB-10). Остаточное магнитное поле внутри магнитного экрана оценивали примерно в 40 нТл. Образец переносили в магнитный экран после завершения гидрирования вручную. После помещения в магнитный экран образец медленно (≈ 1 с) извлекали из экрана и быстро помещали в спектрометр ЯМР. Общее время переноса составляло ≈ 5 с.

Для реакции гидролиза использовали раствор дейтероксида натрия (1,7 мас.% NaOD в D_2O), который готовили путем реакции металлического натрия с D_2O . В раствор NaOD добавляли аскорбат натрия (50 мМ), который обычно используется как восстановитель радикальных частиц, в частности растворенного кислорода, в процедуре PHIP-SAH [216]. Гиперполяризованный аллил [^{13}C]формиат (объем образца составлял 0,6 мл) подвергали гидролизу путем добавления к нему горячего (≈ 65 °C) раствора NaOD (0,6 мл). Схема экспериментальной установки приведена на рисунке 2.9.

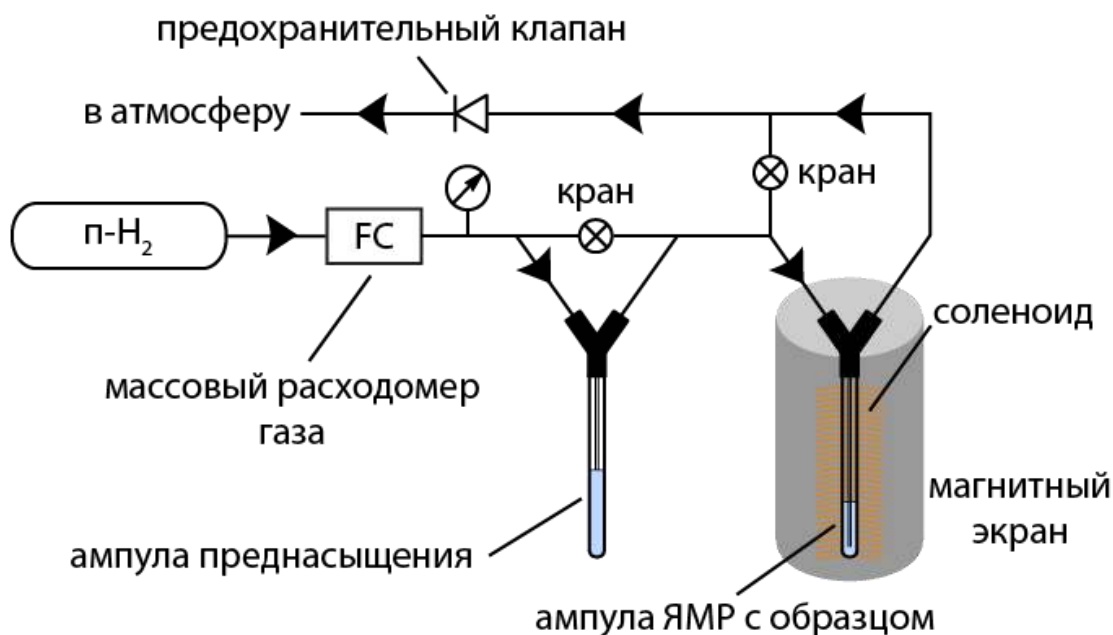


Рисунок 2.9. Схема экспериментальной установки для гиперполяризации $[^{13}\text{C}]$ формиата.

2.2.7.6 Эксперименты по гиперполяризации $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата

Для приготовления образца порцию предшественника — пропаргил ацетоацетата или пропаргил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата взвешивали и растворяли в ацетоне- d_6 так, чтобы концентрация предшественника в полученном растворе составляла 40 мМ. После этого в полученный раствор добавляли катализатор $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{COD})]\text{BF}_4$ так, чтобы концентрация катализатора в полученном растворе составляла 2,5 мМ. Затем приготовленный раствор дегазировали, продувая N_2 через ампулу с образцом в течение 1 мин.

Для проведения гидрирования 0,5 мл раствора образца помещали в 5-мм ампулу ЯМР («Wilmad») и наполняли ее N_2 до давления 3 бар. Для дегазации продували образец N_2 в течение 1 мин и затем нагревали образец в стакане с горячей водой ($80\text{ }^\circ\text{C}$) в течение 1 мин. После этого кран подачи N_2 закрывали, а кран подачи $p\text{-H}_2$ открывали. Затем ампулу ЯМР наполняли $p\text{-H}_2$ до давления 7 бар и начинали барботировать образец $p\text{-H}_2$. Во время барботирования $p\text{-H}_2$ образец находился в магнитном поле Земли. По истечении времени барботирования $p\text{-H}_2$ ампулу ЯМР протирали бумажным полотенцем и сразу после этого помещали в спектрометр ЯМР для регистрации сигналов ЯМР ^1H . После регистрации сигналов от гиперполяризованного образца $p\text{-H}_2$ выпускали из системы через кран и наполняли линии N_2 , после чего N_2 пропускали через раствор образца в течение 10 с при давлении 3 бар, чтобы предотвратить чрезмерное гидрирование аллил ацетоацетата (или его меченого аналога) остаточным $p\text{-H}_2$ в газовых линиях или в растворе.

Далее осуществляли перенос поляризации. Первые этапы протокола (дегазация и создание давления с помощью $p\text{-H}_2$) были такими же, как в описанной выше процедуре

ALTADENA. Барботирование $p\text{-H}_2$ осуществляли также в течение 5 с, но образец находился внутри магнитного экрана (тип MS-1L, «Twinleaf LLC») с магнитным полем B_0 , установленным на 2 мкТл. После прекращения подачи $p\text{-H}_2$ управляемое цифровым способом магнитное поле B_0 внутри магнитного экрана снижали до минимума в 25 нТл, а затем линейно увеличивали до 700 нТл в течение нескольких секунд (процедура B_0 sweep). После этого ампулу ЯМР извлекали из магнитного экрана, протирали бумажным полотенцем и помещали в спектрометр ЯМР для регистрации сигналов ЯМР ^{13}C . Схематично процедура B_0 sweep изображена на рисунке 2.10.

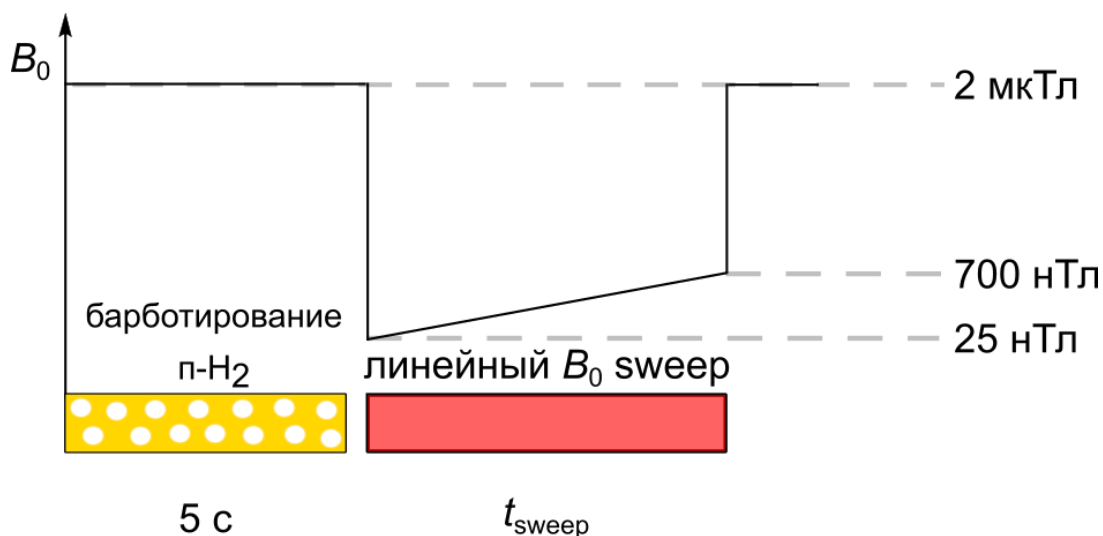


Рисунок 2.10. Схема автоматизированного линейного метода B_0 sweep с оптимизированными граничными значениями поля B_0 , реализованная для переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C .

Для проведения гидролиза готовили 1 М раствор NaOD в D_2O путем разбавления 40%-ного раствора NaOD в D_2O и дальнейшего добавления аскорбата натрия (действующего как восстановитель радикальных частиц, в частности растворенного кислорода) так, чтобы его концентрация в полученном растворе составляла 50 мМ.

Гидролиз вне спектрометра ЯМР

После проведения переноса поляризации гиперполяризованный образец помещали в 50-мл пробирку, содержащую воду комнатной температуры, примерно на 2 с (для предотвращения кипения перегретого ацетона при атмосферном давлении). Затем из системы выпускали $p\text{-H}_2$, и образец отсоединяли от газовых линий. Далее к образцу добавляли 0,5 мл 1 М раствора NaOD в D_2O , также содержащего 50 мМ аскорбата натрия, после чего образец снова подключали к установке, набирали N_2 до давления 4 бар и помещали в кипящую воду ($\approx 100\text{ }^\circ\text{C}$) между магнитами (создающими магнитное поле ≈ 100 мТл) на определенное время. По истечении контролируемого промежутка времени

образец протирали бумажным полотенцем и помещали в спектрометр ЯМР для регистрации сигналов ЯМР ^{13}C .

Гидролиз внутри спектрометра ЯМР

В экспериментах с гидролизом внутри спектрометра ЯМР первые этапы процедуры были такими же, как и в случае гидролиза вне спектрометра ЯМР. Однако после добавления раствора NaOD и аскорбата натрия в D_2O образец, содержащий полученный водно-ацетоновый раствор, протирали бумажным полотенцем, снова подключали к установке, набирали N_2 до давления 4 бар и помещали в спектрометр ЯМР, датчик которого был предварительно нагрет до $100\text{ }^\circ\text{C}$, и начинали регистрацию сигналов ЯМР ^{13}C . Для мониторинга гидролиза после помещения образца в спектрометр ЯМР была получена серия спектров ЯМР с использованием 22° РЧ-импульса с интервалом 15 с между сканами.

Для измерения T_1 получали серию спектров ЯМР с использованием РЧ-импульса с малым углом поворота и постоянным временным интервалом после помещения гиперполяризованного образца в спектрометр ЯМР. Общая схема экспериментальной установки приведена на рисунке 2.11.

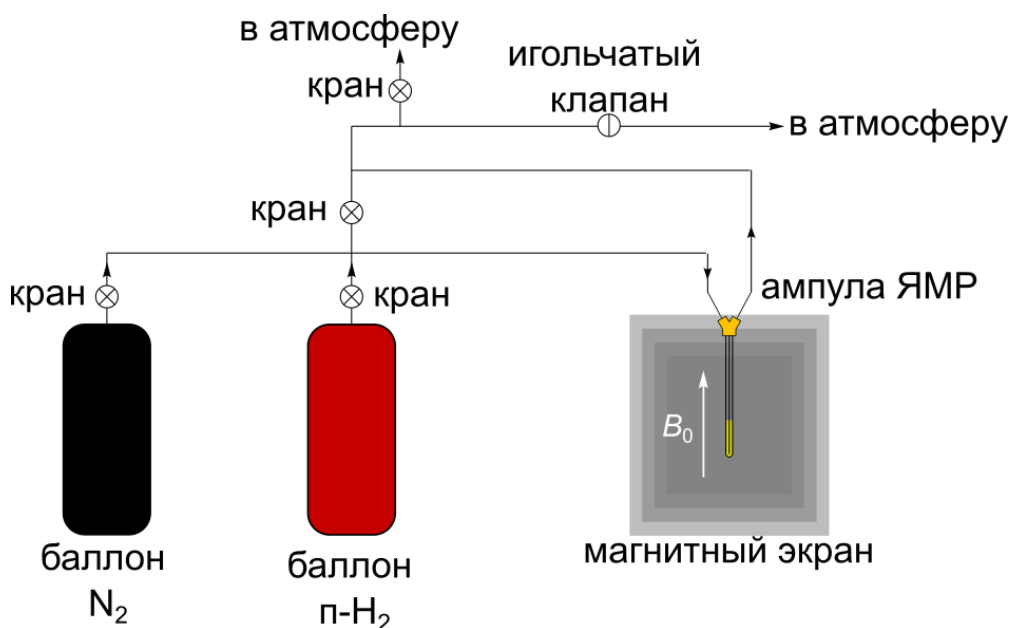


Рисунок 2.11. Схема экспериментальной установки для гиперполяризации $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата.

2.3 Обработка данных и расчеты

2.3.1 Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для газообразных углеводородов

Конверсию (X) и селективность по отношению к пропилену или этилену ($S_{алкен}$) рассчитывали с использованием следующих уравнений:

$$X = \frac{\sum I_i - I_{алкин}}{\sum I_i} \times 100\%,$$

$$S = \frac{I_{алкен}}{\sum I_i - I_{алкин}} \times 100\%,$$
(21)

где I_i это нормированная на один протон интегральная интенсивность сигнала ЯМР ^1H для i -го компонента в смеси продуктов.

Коэффициент усиления сигнала ЯМР (SE, signal enhancement) рассчитывали как отношение интегральной интенсивности сигнала ЯМР ^1H гиперполяризованного пропилена к интегральной интенсивности соответствующего сигнала ЯМР ^1H от пропилена в тепловом равновесии, нормированной на число протонов в группе.

2.3.2 Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для эфиров формиата

Селективность образования аллил $[^{13}\text{C}]$ формиата рассчитывали следующим образом:

$$S(\%) = 100 \cdot \frac{I_{аллил}}{I_{аллил} + I_{пропил}},$$
(22)

где $I_{аллил}$ это интегральная интенсивность сигнала ЯМР от протона в формильной группе аллил $[^{13}\text{C}]$ формиата в условиях теплового равновесия; $I_{пропил}$ это интегральная интенсивность сигнала ЯМР от протона в формильной группе пропил $[^{13}\text{C}]$ формиата в условиях теплового равновесия. Превращение пропаргил $[^{13}\text{C}]$ формиата контролировали с помощью характерного сигнала ЯМР от терминального протона (3,08 м.д.) пропаргил $[^{13}\text{C}]$ формиата. В оптимизированных экспериментальных условиях характерный сигнал пропаргил $[^{13}\text{C}]$ формиата полностью исчезал в спектрах ЯМР ^1H , записанных после реакции (что соответствует 100% конверсии).

Коэффициент усиления сигнала ЯМР (SE) для ядер ^1H группы СН аллил $[^{13}\text{C}]$ формиата рассчитывали с использованием следующего уравнения:

$$SE (^1H) = \frac{I_{HP} \cdot RG_{thermal} \cdot NS_{thermal}}{I_{thermal}}, \quad (23)$$

где I_{HP} это интегральная интенсивность усиленного сигнала ЯМР 1H ; $I_{thermal}$ это интегральная интенсивность соответствующего сигнала в условиях теплового равновесия; $RG_{thermal} = 724,1$ или 1 (для разных экспериментов) это коэффициент усиления приемника, используемый для получения спектров ЯМР в условиях теплового равновесия; $NS_{thermal} = 1$ или 256 (для разных экспериментов) это количество накоплений сигнала, используемых для получения спектров ЯМР в условиях теплового равновесия. Все спектры ЯМР 1H с гиперполяризацией были получены с использованием RG (receiver gain) = 1 и NS (number of scans) = 1.

Коэффициент усиления сигнала ЯМР (SE) для ядер ^{13}C аллил $[^{13}C]$ формиата рассчитывали с использованием следующего уравнения:

$$SE (^{13}C) = \frac{I_{HP} \cdot c_{ref} \cdot RG_{thermal}}{I_{ref} \cdot c_{product} \cdot RG_{HP}}, \quad (24)$$

где I_{HP} это интегральная интенсивность усиленного сигнала ЯМР по ядрам ^{13}C для аллил $[^{13}C]$ формиата; I_{ref} это интегральная интенсивность сигнала ЯМР по ядрам ^{13}C для референсного образца (пропаргил $[^{13}C]$ формиат до реакции) в условиях теплового равновесия; $RG_{thermal} = 181$ это коэффициент усиления приемника, используемый для получения спектров ЯМР в условиях теплового равновесия; $RG_{HP} = 8$ это коэффициент усиления приемника, используемый для спектров ЯМР с гиперполяризацией; $c_{product}$ это концентрация аллил $[^{13}C]$ формиата; $c_{ref} = 40$ мМ это концентрация пропаргил $[^{13}C]$ формиата в эталонном образце. Все спектры получали с использованием $NS = 1$. Для получения спектров ЯМР ^{13}C для гиперполяризованного образца и образца в тепловом равновесии использовали разные значения коэффициента усиления приемника, поскольку детектирование спектров ИППЯ с $RG = 181$ приводило к превышению максимального предела оцифровки аналого-цифрового преобразователя. Сигнал ЯМР линейно возрастает с увеличением значения RG в используемом диапазоне (8–200). Значения SE для ядер ^{13}C $[^{13}C]$ формиата натрия оценивали аналогичным образом.

2.3.3 Расчет конверсии, селективности и усиления сигнала для эфиров ацетоацетата

Мольные доли соединений 1–3 (обозначения расшифрованы в Приложении 5) в растворе после гидрирования χ_k рассчитывали по следующей формуле:

$$\chi_k = \frac{\frac{1}{n_k} \sum_i \frac{I_{i,k}}{N_{i,k}}}{\frac{1}{n_1} \sum_i \frac{I_{i,1}}{N_{i,1}} + \frac{1}{n_2} \sum_i \frac{I_{i,2}}{N_{i,2}} + \frac{1}{n_3} \sum_i \frac{I_{i,3}}{N_{i,3}}}, \quad (25)$$

где $I_{i,k}$ это интегральная интенсивность сигналов ЯМР ^1H от протонов в боковой группе для соединений **1–3**, $N_{i,k}$ число протонов в этих группах, и n_k это число групп в соединении k ($k = 1, 2$ или 3), сигналы от которых были проинтегрированы.

Селективность S конверсии соединения **1** в соединение **2** рассчитывали по следующей формуле:

$$S = \frac{\chi_2}{\chi_2 + \chi_3} = \frac{\frac{1}{n_2} \sum_i \frac{I_{i,2}}{N_{i,2}}}{\frac{1}{n_2} \sum_i \frac{I_{i,2}}{N_{i,2}} + \frac{1}{n_3} \sum_i \frac{I_{i,3}}{N_{i,3}}}. \quad (26)$$

Усиления сигналов ЯМР по ядрам ^1H ($SE_{1\text{H}}$) рассчитывали по следующей формуле:

$$SE_{1\text{H}} = \frac{I_{\text{HP}}}{I_{\text{thermal}}}, \quad (27)$$

где I_{HP} и I_{thermal} это интегральные интенсивности сигналов ЯМР от одной и той же группы ядер для гиперполяризованного состояния и теплового равновесия, соответственно.

Усиления сигналов ЯМР по ядрам ^{13}C ($SE_{^{13}\text{C}}$) рассчитывали по следующей формуле:

$$SE_{^{13}\text{C}} = \frac{I_{\text{HP}}}{I_{\text{ref}}} \cdot \frac{c_{\text{ref}}}{c_{\text{HP}}} \cdot \frac{V_{\text{ref}}}{V_{\text{HP}}} = \frac{I_{\text{HP}}}{I_{\text{ref}}} \cdot \frac{c_{\text{ref}}}{c_{\text{HP}}} \cdot \varphi, \quad (28)$$

где I_{HP} и I_{ref} это интегральная интенсивность сигналов ЯМР от гиперполяризованных ядер и референсного образца (чистая $[1-^{13}\text{C}]$ уксусная кислота в состоянии теплового равновесия) соответственно; c_{HP} и $c_{\text{ref}} = 17,4 \text{ M}$ это концентрации ядер ^{13}C в гиперполяризованном образце и референсном образце соответственно; φ это отношение объемов гиперполяризованного образца V_{HP} и референсного образца V_{ref} в чувствительной зоне датчика спектрометра ЯМР введенная из-за наличия капилляра в гиперполяризованном образце ($\varphi = 1,17$).

Из значений SE рассчитывали значения уровней поляризаций по следующему уравнению:

$$P = \varepsilon \cdot P_{\text{thermal}} = \varepsilon \cdot \frac{\gamma \hbar B_0}{2k_{\text{B}}T}, \quad (29)$$

где P_{thermal} это термическая поляризация соответствующего ядра; γ это гиромагнитное отношения ядра ($267,5 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1} \cdot \text{Tл}^{-1}$ для ^1H и $67,28 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1} \cdot \text{Tл}^{-1}$ для ^{13}C); \hbar это приведенная

постоянная Планка ($1,055 \cdot 10^{-34}$ Дж·с); B_0 это магнитное поле внутри спектрометра ЯМР (9,4 Тл); k_B это константа Больцмана ($1,381 \cdot 10^{-23}$ Дж·К⁻¹); T это температура внутри датчика спектрометра ЯМР (293 К).

В экспериментах по измерению времени спин-решеточной релаксации T_1 , ядра возбуждали РЧ-импульсом, соответствующим определенному углу поворота θ с постоянным интервалом времени между импульсами. Для учета потери намагниченности из-за постоянного воздействия РЧ-импульсами интегралы $I_{HP,corr,n}$ использованные для расчета T_1 вычисляли следующим образом:

$$I_{HP,corr,n} = \frac{I_{HP,n}}{\cos^{n-1}(\theta)}, \quad (30)$$

где $I_{HP,n}$ это интегральная интенсивность сигнала ЯМР в n -ом записанном спектре (т. е. после приложения n РЧ-импульсов).

2.3.4 Обработка данных для гиперполяризации [¹⁵N₃]метронидазола

Усиления сигналов ЯМР по ядрам ¹⁵N (SE_{15N}) рассчитывали по следующей формуле:

$$SE_{15N} = \frac{I_{HP}}{I_{ref}} \cdot \frac{c_{ref}}{c_{HP}} \cdot \frac{V_{ref}}{V_{HP}} = \frac{I_{HP}}{I_{ref}} \cdot \frac{c_{ref}}{c_{HP}} \cdot \varphi, \quad (31)$$

где I_{HP} и I_{ref} это интегральная интенсивность сигналов ЯМР от гиперполяризованных ядер и референсного образца (чистый [¹⁵N]пиридин в состоянии теплового равновесия), соответственно; c_{HP} и $c_{ref} = 12,4$ М это концентрации ядер ¹³C в гиперполяризованном образце и референсном образце, соответственно; φ это отношение объемов гиперполяризованного образца V_{HP} и референсного образца V_{ref} в чувствительной зоне датчика спектрометра ЯМР введенная из-за наличия капилляра в гиперполяризованном образце ($\varphi = 1,17$).

Из значений SE рассчитывали значения уровней поляризаций по следующему уравнению:

$$P = SE \cdot \Gamma \cdot 100 (\%), \quad (32)$$

где Γ это термическая поляризация для ядер ¹⁵N в магнитном поле 1,4 Т и при 26 °С ($4,9 \times 10^{-7}$).

Поскольку метронидазол растворим как в воде, так и в хлороформе, для корректного расчета уровней поляризации распределение MNZ между двумя фазами оценивали с помощью спектров ЯМР ¹H. Спектры ЯМР ¹H в тепловом равновесии получали на

спектрометре ЯМР SpinSolve Nitrogen 60 Ultra 1,4 Тл (Magritek). В качестве внешнего эталонного образца использовали метронидазол (с природным изотопным содержанием) с концентрацией 50 мМ в D₂O. Концентрация MNZ в водной фазе, полученной в результате CASH-SABRE, оценивалась как 32 ± 1 мМ и оставалась постоянной на протяжении всего эксперимента. Для органической фазы определение концентрации затруднено из-за постепенного испарения CDCl₃ в ходе эксперимента. Однако было установлено, что в начале измерений гиперполяризации объем органической фазы уменьшается примерно в 2 раза по сравнению с началом активации и, следовательно, составляет ≈ 175 мкл, в то время как объем водной фазы остается неизменным и равен 350 мкл. Это означает, что после активации концентрация катализатора составляет 10 мМ, концентрация связанного с катализатором MNZ составляет 20 мМ, а концентрация свободного MNZ в органической фазе составляет 16 мМ.

Для измерения времени релаксации T₁ для ядер ¹⁵N 15° РЧ-импульс прикладывали каждые 30 с (для измерения T₁ в органической фазе) или 1 мин (для измерения T₁ в водной фазе). В таком случае индуцируется релаксация с эффективным временем $\frac{1}{b}$. Тогда гиперполяризованный сигнал спадает согласно следующей формуле [217]:

$$M(t) = M_0 \cdot e^{-R \cdot t},$$

$$R = \frac{1}{T_1} + b, \quad (33)$$

$$b = \frac{|\ln(\cos\theta)|}{\delta},$$

где θ – используемый угол поворота, δ – временной интервал между приложением РЧ-импульсов.

В данных экспериментах эффективное время релаксации, индуцированное последовательным приложением импульсов ($\frac{1}{b}$) составляло 28,84 мин (для $\delta = 1$ мин) и 14,42 мин (для $\delta = 30$ с).

2.3.5 Обработка кинетических данных для взаимопревращения ЯСИ этилена

Обработка кинетических данных имеет решающее значение для получения адекватных параметров модели. В оригинальной работе В. Живонитко по обогащению ЯСИ этилена с помощью гидрирования [4], предполагали, что нулевое время хранения этилена соответствует моменту окончания заполнения шприца этиленом. В данной работе учитывали частичное установление равновесия между ЯСИ этилена во время заполнения

шприца этиленом. В работе использовали следующий алгоритм: в качестве первой точки на графике брали спектр OPSY, записанный сразу после резкого прекращения барботирования этилена через ампулу ЯМР, заполненную бромной водой. В этом случае процесс установления равновесия происходит только во время прохождения газовой смеси вдоль газовых линий. Исходя из геометрии установки, время прохождения этилена от шприца (или реактора) до ампулы ЯМР оценивали как 1 с. Поэтому для первой кинетической точки использовали $T_{\text{storage}} = 1$ с.

Кроме того, для экспериментов с катализатором Ir-P@SiO₂ начальные точки с коротким временем хранения получали путем увеличения объема газовых линий при неизменной скорости потока. Это было достигнуто путем введения в газовые линии дополнительного отрезка трубки из ПТФЭ диаметром 6,3 мм. Таким образом, время подачи этилена из реактора увеличивали с 1 с до 6 или 12 с, в зависимости от длины добавленного сегмента.

Каждую экспериментальную точку нормировали относительно так называемой контрольной точки. Для контрольного эксперимента спектр регистрировали сразу после пропускания смеси продуктов через бромную воду без заполнения шприца. Контрольный эксперимент вводили для минимизации влияния погрешностей, связанных с установкой: температуры реактора и связанных с этим незначительных изменений в конверсии катализатора; отклонений концентрации брома. Также учитывали разницу в количестве вещества продуктов, поступающих в ампулу ЯМР в контрольном эксперименте и в эксперименте со шприцем. Зная значение степени превращения, объем газовых линий (3,4 мл для стандартного случая; 15,9 мл и 31,8 мл — дополнительные объемы добавленных сегментов, использованные в эксперименте с катализатором Ir-P@SiO₂) и время барботирования, получали информацию о количестве молей этилена, поступающих в ампулу ЯМР в каждом эксперименте. Кроме того, учитывали уменьшение скорости потока после реактора. Это происходит потому, что общее количество молей в процессе гидрирования уменьшается ($A+B \rightarrow C$). Объемный расход пересчитывали по формуле, представленной ниже.

В данной работе предполагали, что реакция протекает в идеальном проточном режиме. Поскольку количество молекул в газовой фазе уменьшается в процессе гидрирования, скорость потока газа также уменьшается вдоль реактора и зависит от полной конверсии ацетилена (X) и селективности по отношению к этилену (S). Скорость потока газа (U) после реактора определяли по следующему уравнению (молярное соотношение ацетилена : п-Н₂ составляет 1 : 4):

$$U = U_0 \cdot \frac{5 - (2 - S) \cdot X}{5}, \quad (34)$$

где U_0 — скорость подачи смеси ацетилена и п-Н₂ в реактор. Время пролета рассчитывали как отношение общего объема газопроводов (от реактора до ампулы ЯМР) к скорости потока газовой смеси из реактора.

Для корректного анализа кинетики равновесия ЯСИ этилена необходимо понимать, какое эффективное время удерживания молекул этилена во время наполнения шприца. В приложении 1 выведена следующая формула, позволяющая рассчитать суммарное среднее время хранения молекул этилена во время заполнения шприца (\bar{t}):

$$\bar{t} = -T_{short} \ln \left(\frac{T_{short}}{T} \left(1 - e^{-\frac{T}{T_{short}}} \right) \right), \quad (35)$$

где T_{short} – время моноэкспонциального установления равновесия между ЯСИ этилена (подробнее в Результатах), T – время заполнения шприца.

Например, если $T_{short} = 6$ с и $T = 20$ с, среднее время хранения (\bar{t}) составляет 7,4 с. Если $T_{short} = 10$ с и $T = 20$ с, среднее время хранения (\bar{t}) составляет 8,4 с. Время заполнения шприца варьировали от 5 до 20 с в зависимости от эксперимента. Для таких значений предположение о моноэкспонциальном затухании справедливо с высокой точностью, поскольку $T_{long} \approx 10^3$ с при биэкспонциальной аппроксимации.

Общее время хранения (t_{total}) этилена в шприце рассчитывали как сумму среднего времени хранения молекул этилена во время заполнения шприца (\bar{t}) и времени хранения этилена в шприце ($t_{storage}$):

$$t_{total} = \bar{t} + t_{storage}. \quad (36)$$

2.3.6 Моделирование спектров от гиперполяризованного 2-бромэтанола

Все спектры моделировали в MATLAB. Моделирование проводилось к. х. н. Семеном Владимировичем Бабенко в лаборатории магнитно-резонансной микротомографии Международного Томграфического Центра СО РАН.

Вкратце, начальные матрицы ядерной спиновой плотности для этилена строили в базисе функций Зеемана с использованием заселенностей соответствующих собственных состояний гамильтониана (приведены в Приложении 1). Из-за ограничений симметрии, накладываемых на ядерную релаксацию в этилене, начальную матрицу спиновой плотности этилена описывали в терминах заселенностей соответствующих неприводимых представлений (A_g, B_{3g}, B_{1u} и B_{2u}).

В результатах было показано, что *син*-присоединение п-Н₂ к ацетилену (соответствует образованию *Z*-этилена) приводит к заселению двух синглетных собственных состояний $A_g^{S_a}$ и $A_g^{S_b}$, а также состояний, принадлежащих B_{1u} и B_{3g} , в то время как анти-присоединение п-Н₂ (соответствует образованию *E*-этилена) приводит к заселению $A_g^{S_a}$, $A_g^{S_b}$, B_{1u} и B_{2u} . Следует отметить, что исходная матрица ядерной спиновой плотности, построенная для этилена, включает только заселенности соответствующих собственных состояний, поскольку ожидается, что все когерентности усредняются из-за распределения по времени образования продукта. Такое же усреднение применяли к матрице ядерной спиновой плотности BrEtOD, унаследованной от этилена, меченного п-Н₂, и в целом данный подход часто используется для описания спектров ИППЯ [131]. В подклассе A_g вводили взаимопревращение ЯСИ с коротким характерным временем ≤ 1 с, поскольку все спектры ЯМР ¹H BrEtOD, полученные при минимальном времени прохождения этилена (1 с), соответствовали спектрам этилена с уравновешенными изомерами подкласса A_g . Взаимопревращение ЯСИ класса *g* ($B_{3g} \rightleftharpoons A_g$) и класса *u* ($B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$), а также между этими классами вводили с характерными временами, близкими к тем, которые получали аппроксимацией затухания сигнала OPSY (рисунок 3.3.4 в Результатах). В общем случае скорости взаимопревращения внутри классов *g* и *u* могут быть разными, однако в данной работе не удалось наблюдать это различие в кинетике затухания сигнала OPSY, поскольку она хорошо аппроксимировалась моноэкспоненциальной (дисбаланс между *g* и *u* отсутствует) или биэкспоненциальной функцией (дисбаланс между *g* и *u* присутствует), поэтому для целей моделирования скорости взаимопревращения внутри классов *g* и *u* принимали равными. Этап детектирования включал в себя 45° РЧ-импульс с последующей регистрацией спада свободной индукции (ССИ) с использованием ядерного спинового гамильтониана для BrEtOD. Для моделирования спектров OPSY использовали стандартную схему 45° РЧ-импульсов, поскольку при $\tau \ll \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot J}$ (где *J* — КССВ вицинального взаимодействия протонов в BrEtOD) как одноимпульсная последовательность $\pi/4$, так и OPSY обеспечивают антифазные члены, пропорциональные $I_{iz} \cdot I_{j-} + I_{i-} \cdot I_{jz}$ [214].

Моделирование экспериментального спектра OPSY BrEtOD с помощью модели с одним 45° РЧ-импульсом оправдано, поскольку в данном исследовании спектры ЯМР ¹H для обеих последовательностей РЧ-импульсов (одиночного 45° РЧ-импульса и OPSY) в значительной степени определяются 2-спиновым порядком. Для проверки этого была проанализирована зависимость интенсивности сигнала ЯМР после одного РЧ-импульса от угла поворота импульса. Преобразование Фурье такой зависимости дает спектр с

несколькими различными гармониками ($\sin(n\phi)$), каждая из которых может содержать вклад от одного или нескольких различных спиновых порядков. Чтобы оценить относительный вклад различных спиновых порядков, было проведено моделирование для различных начальных ядерных спиновых состояний этилена, соответствующих *Z*-этилену (рисунок 2.12 (a)), а также 3-спиновому (рисунок 2.12 (b)) и 4-спиновому порядку (рисунок 2.12 (c)). Кривая (c) была нормирована таким образом, что пики $\sin(4\phi)$ на кривых (a) и (c) имеют одинаковую амплитуду, поскольку оба пика происходят только от 4-спинового порядка. Аналогичная нормализация была использована и для кривой (b).

На рисунке 2.12 наглядно показано, что вклад 2-спинового порядка более чем на порядок превышает вклад других спиновых порядков (3- и 4-спиновые порядки пренебрежимо малы). Это неудивительно, поскольку *p*-H₂ характеризуется 2-спиновым порядком, который переносится в продукты гидрирования и, таким образом, составляет доминирующий вклад. Компонента $\sin(\phi)$, соответствующий синфазному сигналу ЯМР, всегда присутствует в той степени, в которой спиновая система продукта отклоняется от режима слабого взаимодействия. Ее относительный вклад в спектры дополнительно уменьшается, поскольку угол поворота 45° максимизирует вклад компонента $\sin(2\phi)$ (антифазный сигнал ЯМР), но частично подавляет вклад компонента $\sin(\phi)$. Более высокие порядки (3 и 4) явно не генерируются в значительной степени.

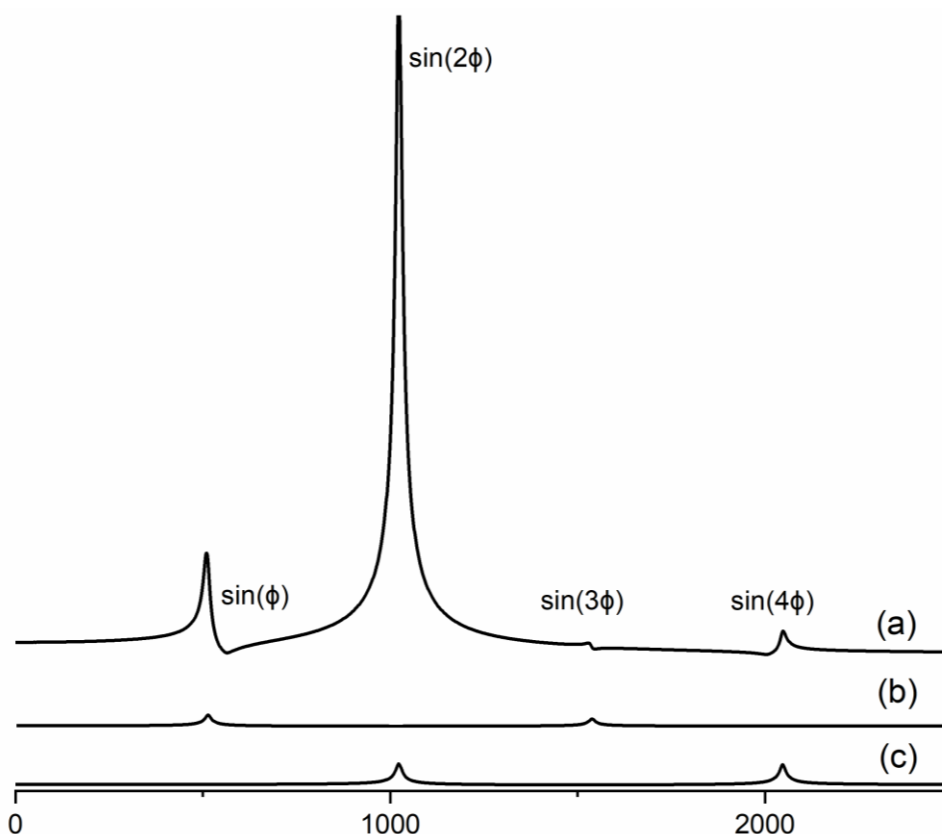


Рисунок 2.12. Преобразование Фурье зависимости рассчитанной интенсивности спектра ЯМР ^1H BrEtOD, зарегистрированного после одиночного РЧ-импульса, от угла поворота импульса (ϕ). (а) Начальное спиновое состояние соответствует Z-этилену, полученному с использованием катализатора Ir-P@SiO₂. (б) Начальное спиновое состояние соответствует матрице ядерной спиновой плотности, построенной как сумма состояний соответствующих 3-спиновому порядку четырех протонов этилена. (с) Начальное спиновое состояние соответствует матрице ядерной спиновой плотности, построенной для 4-спинового порядка четырех протонов этилена.

2.3.7 Моделирование зависимости МФС для аллил [^{13}C]формиата

Для численных расчетов рассматривали полную спиновую систему аллил [^{13}C]формиата, включающую шесть протонов и одно ядро ^{13}C . В исходной матрице ядерной спиновой плотности два протона, происходящие из молекулы п-Н₂ (расположенные в цис-положениях относительно друг друга), скоррелированы друг с другом в синглетное состояние, в то время как другие ядра не поляризованы. Все недиагональные элементы матрицы плотности, записанные в собственном базисе Зеемана, обнуляли, поскольку предполагали, что когерентности усредняются из-за распределения времени образования продуктов. Магнитное поле экрана варьировали от 0,002 до 2,35 мкТл. Спиновая система эволюционировала в заданном магнитном поле в течение 10 с. После чего в течение 2 с магнитное поле изменяли до 47 мкТл и еще через 2 с увеличивали до 7,05 Тл. Все переключения полей приближали как линейные с количеством шагов равным 256. Этап детектирования включал 90° РЧ-импульс с последующим регистрацией сигнала спада свободной индукции.

Глава 3: Результаты и обсуждение

3.1 Изучение гиперполяризации пропилена на катализаторах с различным распределением активного компонента

В данном разделе работы подробным образом исследовался вопрос об эффективности катализаторов Pd₁/ND@G и Pd_n/ND@G в парном присоединении п-Н₂. Как было описано в литературном обзоре, в контексте обогащения этилена ядерными спиновыми изомерами большое значение имеет поиск катализаторов гидрирования с высокой долей парного присоединения молекулы водорода, что в целом нетипично для стандартных гетерогенных катализаторов гидрирования. Предполагается, что в этом контексте одним из перспективных классов катализаторов являются катализаторы с одноатомным распределением активного компонента. Это связано с тем, что в случае катализатора с одноатомным распределением активного компонента вероятность миграции атомов водорода по поверхности металлической частицы значительно понижается по сравнению с катализатором с кластерным распределением металла. Для изучения роли распределения активного компонента в парном присоединении водорода были выбраны катализаторы Pd₁/ND@G и Pd_n/ND@G, которые ранее показали высокую активность в селективном гидрировании ацетилена [84]. Основная гипотеза исследования заключалась в том, что катализатор Pd₁/ND@G должен проявлять большую селективность в парном присоединении в сравнении с Pd_n/ND@G. Кроме того, в реакции необходимо нарушить эквивалентность протонов, полученных из п-Н₂. Например, для этилена, образующегося при гидрировании ацетилена, все его атомы водорода эквивалентны, поэтому усиление сигнала ЯМР не происходит даже при парном присоединении водорода к ацетилену. Поэтому катализаторы на основе палладия были протестированы в газофазном гидрировании пропина, простейшего асимметричного алкина.

Для проверки гипотезы каталитическую активность катализаторов Pd₁/ND@G и Pd_n/ND@G исследовали в реакции газофазного гидрирования пропина с использованием п-Н₂ в интервале температур от 220 до 280 °С (и 70 °С в некоторых экспериментах). Для этого смесь реагентов (пропин : п-Н₂ : He = 1 : 2 : 4) при различных скоростях потока газа (25 и 220 мл/мин) подавали к катализатору, расположенному в металлической трубке, окруженной нагревательным элементом. После прохождения реактора смесь направлялась в ампулу, находящуюся в спектрометре ЯМР, где проводилась регистрация спектров ЯМР ¹H в газовой фазе. Таким образом реализовывался протокол ALTADENA. Регистрировали два типа спектров: 1) спектры при непрерывном потоке газовой смеси; 2) спектры после

достижения теплового равновесия. При регистрации спектров обоих типов использовался 90° РЧ-импульс (условия эксперимента ALTADENA).

Для разных температур реакции (от 70 до 280 $^\circ\text{C}$) и скоростей потока (25 и 220 мл/мин) были рассчитаны конверсия (X), селективность к образованию пропилена (S) и коэффициент усиления сигнала ЯМР ^1H (SE, от англ. signal enhancement). Рассчитанные значения для двух катализаторов представлены в таблицах 3.1 и 3.2 ниже. Катализаторы были испытаны при скорости потока 25 мл/мин для оценки каталитической активности. Для оценки усиления сигнала использовалась более высокая скорость потока (220 мл/мин), поскольку от скорости потока зависит время, за которое смесь продуктов доставляется от реактора с катализатором (в котором непосредственно происходит реакция) до датчика внутри спектрометра ЯМР. Так, для пропана время релаксации $T_1 \approx 1$ с в земном магнитном поле [218], что сопоставимо со временем доставки газа в спектрометре. Таким образом, для регистрации спектров, необходимых для оценки усиления сигнала, использовались высокие скорости потока для минимизации времени доставки газа в спектрометр ЯМР и, как следствие, минимизации снижения поляризации ядер ^1H из-за быстрой релаксации. Однако, стоит отметить, что представленные значения усиления сигнала являются оценкой снизу, так как даже в случае высокой скорости потока время доставки смеси из реактора в спектрометр ЯМР не нулевое и, следовательно, релаксация неизбежно приводит к потере поляризации [218].

Катализатор с одноатомным распределением палладия ($\text{Pd}_1/\text{ND}@G$) продемонстрировал крайне высокую каталитическую активность (таблица 3.1). Максимальная конверсия наблюдалась при 280 $^\circ\text{C}$ и составила 88% . Помимо этого, катализатор продемонстрировал очень высокую селективность по отношению к пропилену ($97\text{--}100\%$). Данные результаты согласуются с опубликованными ранее исследованиями по селективному гидрированию ацетилена [91] и фенилацетилена [219] на этом же катализаторе.

Распределение Pd на поверхности графен-наноалмазного композита $\text{ND}@G$ было изучено с помощью ПЭМ. На ПЭМ изображении (рисунок 3.1) видно, что на поверхности $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ наблюдаются только одиночные атомы Pd, при этом отсутствуют кластеры Pd.

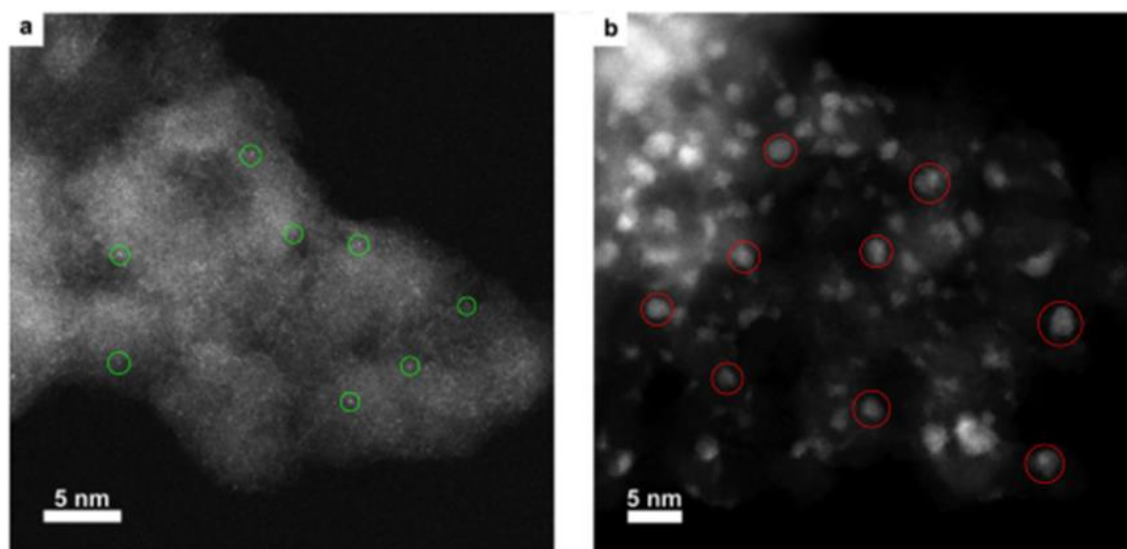


Рисунок 3.1. ПЭМ изображения катализаторов Pd₁/ND@G (a) и Pd_n/ND@G (b). Зелеными кругами отмечены одиночные атомы Pd, красными кругами отмечены кластеры Pd.

Катализатор с кластерным распределением палладия Pd_n/ND@G продемонстрировал также крайне высокую каталитическую активность (таблица 3.2). Для него реакция начиналась уже при температуре 70 °С, и конверсия составила 98%. Таким образом, для двух катализаторов реакция начиналась при разных температурах, что, вероятно, связано с различным активационным барьером катализаторов. Кроме того, наблюдалось значительное падение селективности по отношению к пропилену до 10% в случае гидрирования на катализаторе Pd_n/ND@G при потоке 25 мл/мин и температуре 70 °С. При этом для потока 220 мл/мин и прочих равных условий селективность по отношению к пропилену была равна 85%. Такое различие в селективности связано с изменением времени контакта реагентов с катализатором при разных скоростях потока. Напротив, для катализатора с одноатомным распределением скорость потока практически не влияет на селективность. Можно предположить, что для катализатора Pd₁/ND@G энергетический барьер для дальнейшей реакции пропилена в пропан значительно выше, чем для десорбции пропилена в газовую фазу, что подтверждается расчетами DFT, проведенными в ранее опубликованной работе для гидрирования ацетилена на этом же катализаторе [220].

Такие существенные различия в каталитической активности и селективности могут быть объяснены тем, что атомы водорода во время реакции гидрирования диффундируют в приповерхностный слой кластеров Pd и образуют так называемую β-гидридную фазу [91,219]. Атомы этой фазы более активны при гидрировании алкенов по сравнению с поверхностными атомами водорода. Таким образом, наличие β-гидридной фазы приводит к полному гидрированию алкинов до алканов и, следовательно, к снижению селективности

по отношению к алкенам. Данное объяснение согласуется с началом реакции при низких температурах и значительным понижением селективности в случае Pd_n/ND@G.

Таблица 3.1. Значения конверсии (X), селективности (S) и коэффициента усиления сигнала ЯМР по ядрам ¹H (SE) при разных температур реакции гидрирования пропина и скоростях потока для катализатора Pd₁/ND@G. В таблице указаны данные для температурных точек выше 220 °С, так как только с этой температуры начиналась реакция. Значение коэффициента усиления сигнала ЯМР по ядрам ¹H (SE) оценивалось для СН-группы пропилена.

Т, °С	Скорость потока, мл/мин	X, %	S, %	SE
220	25	8	98	-
	220	1	100	63
240	25	21	99	-
	220	3	97	89
260	25	74	98	-
	220	20	99	42
280	25	88	98	-
	220	25	98	35

Таблица 3.2. Значения конверсии (X), селективности (S) и коэффициента усиления сигнала ЯМР ¹H (SE) при разных температур реакции гидрирования пропина и скоростях потока для катализатора Pd_n/ND@G. Значение коэффициента усиления сигнала ЯМР ¹H (SE) оценивалось для СН-группы пропилена.

Т, °С	Скорость потока, мл/мин	X, %	S, %	SE
70	25	95	10	-
	220	98	85	9
220	25	100	64	-
	220	95	96	13
240	25	98	70	-
	220	98	96	13
260	25	98	76	-
	220	93	97	14
280	25	97	84	-
	220	87	98	15

Для изучения активности катализаторов в парном присоединении водорода и нахождения усиления сигнала ЯМР ¹H смесь реагентов пропускали через реактор со

скоростью 220 мл/мин. В спектрах ЯМР ^1H наблюдалось усиление сигнала для продукта реакции пропилена, при этом форма сигналов была характерна для эксперимента ALTADENA. На рисунках 3.2 и 3.3 приведены спектры ЯМР ^1H для обоих катализаторов ($\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ и $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$), в которых наблюдалось максимальное усиление сигнала, и соответствующие им спектры после достижения теплового равновесия.

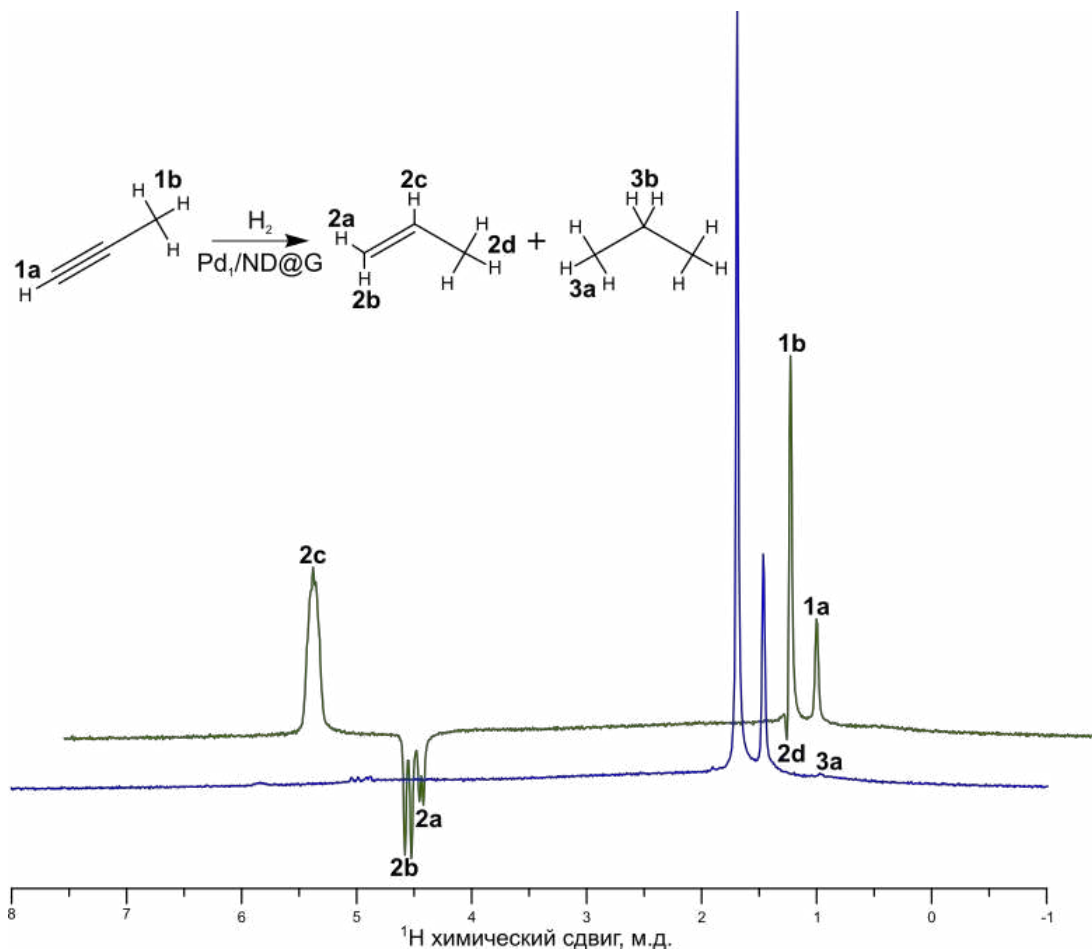


Рисунок 3.2. Спектры ЯМР ^1H , полученные при гидрировании пропина п- H_2 на катализаторе $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ при $240\text{ }^\circ\text{C}$ и потоке смеси (пропин : п- H_2 : He = 1 : 2 : 4) 220 мл/мин (зеленый спектр) и после остановки потока и полной релаксации к теплому равновесию (синий спектр).

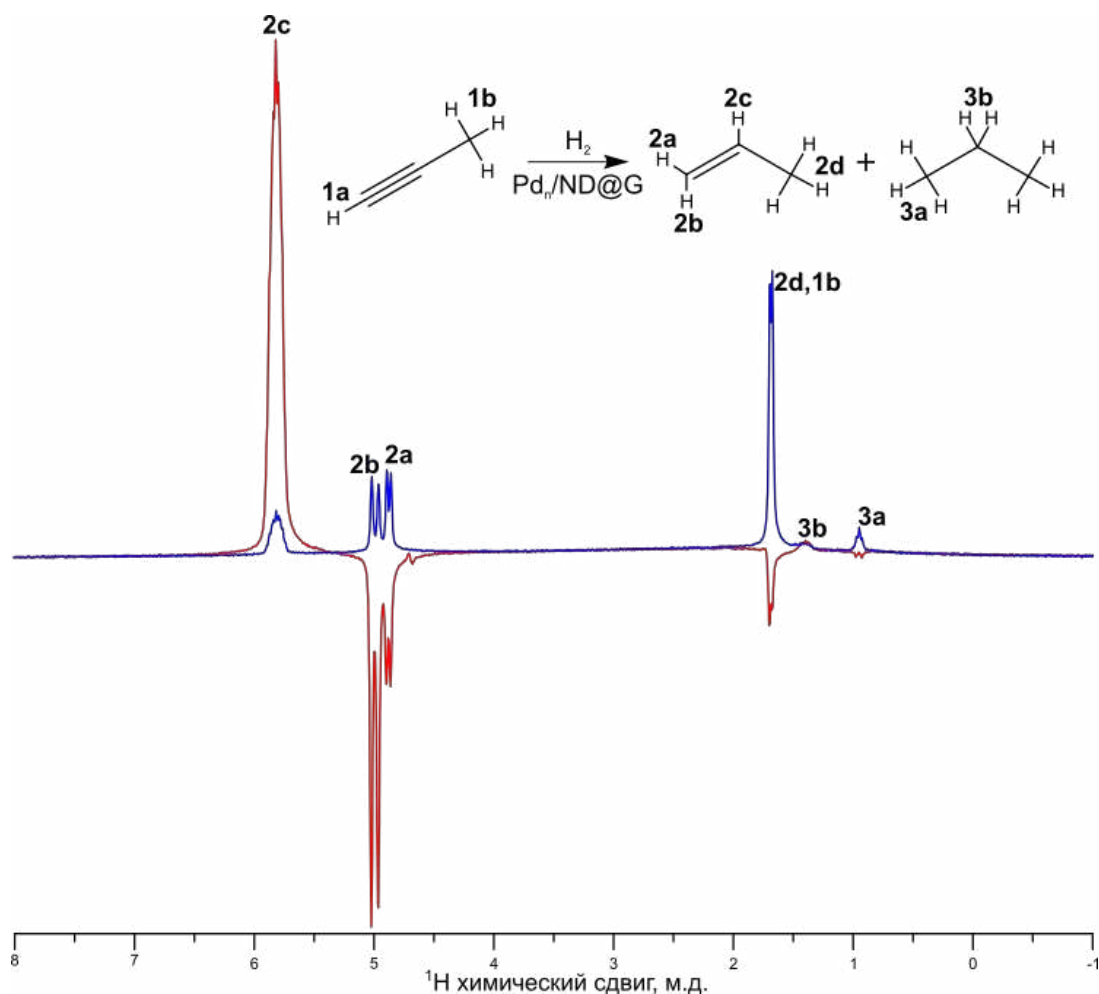


Рисунок 3.3. Спектры ЯМР ^1H , полученные при гидрировании пропина $p\text{-H}_2$ на катализаторе $\text{Pd}_n/\text{ND@G}$ при $240\text{ }^\circ\text{C}$ и потоке смеси (пропин : $p\text{-H}_2$: He = 1 : 2 : 4) 220 мл/мин (красный спектр) и после остановки потока и полной релаксации к тепловому равновесию (синий спектр).

Соотнесения сигналов пропилена, пропина и пропана приведены на рисунках 3.2 и 3.3. На спектрах, записанных во время непрерывного потока газовой смеси (красный спектр для Pd_n и зеленый – для Pd_1), наблюдается значительное усиление сигналов протонов 2c, 2a и 2b в молекуле пропилена. Стоит отметить, что наблюдение усиления сигналов на обоих протонах CH_2 группы пропилена (2a и 2b) может быть связано с несколькими причинами. Во-первых, для экспериментов типа ALTADENA известно, что поляризация перераспределяется между всеми протонами продукта, связанными КССВ [5], что подтверждается незначительным усилением сигналов 2d. Во-вторых, цис-транс изомеризация двойной связи в пропилене также может приводить к наличию поляризации на обоих протонах CH_2 группы пропилена (2a и 2b). Например, если гидрирование протекает по пути *син*-присоединения, то изначально поляризованными являются протоны 2c и 2a, но дальнейшая цис-транс изомеризация двойной связи приводит к поляризации протона 2b. Известно, что на палладиевых катализаторах при гидрировании протекает цис-

транс изомеризация алкенов, образующихся в результате гидрирования алкинов, в наиболее термодинамически выгодное состояние [68,84]. Вероятнее всего, оба эти фактора вносят вклад в поляризацию протонов CH_2 группы пропилена (2a и 2b) и, следовательно, одних данных ЯМР ALTADENA недостаточно для точного установления стереоселективности реакции.

Максимальный коэффициент усиления сигнала (SE) ЯМР ^1H для катализатора $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ составил 89, а для катализатора $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$ составил 15. Коэффициент усиления сигнала примерно в 6 раз больше для катализатора с одноатомным распределением активного компонента. Однако в случае 100% парного присоединения коэффициент усиления сигнала должен быть примерно на два порядка больше даже с учетом релаксационных потерь. Таким образом, вероятно, что значительная часть поляризации теряется в результате релаксации из-за факторов, не связанных с диффузией атомов водорода на поверхности катализатора. По-видимому, одним из потенциально ключевых факторов в контексте релаксации поляризации является электронное состояние катализатора. В этом контексте электронное состояние каталитических центров на поверхности катализатора было изучено с помощью метода РФЭС. Было показано, что каталитические центры на поверхности обоих катализаторов демонстрируют стабильность в результате восстановительной обработки в атмосфере водорода (результаты РФЭС представлены в разделе 2.2.5 Экспериментальной части).

Таким образом, в данной части работы были сравнены катализатор с одноатомным распределением активного компонента ($\text{Pd}_1/\text{ND}@G$) и соответствующий катализатор с кластерным распределением активного компонента ($\text{Pd}_n/\text{ND}@G$) в реакции гидрирования пропина до пропилена при одинаковых экспериментальных условиях. Было показано, что катализатор с одноатомным распределением палладия $\text{Pd}_1/\text{ND}@G$ более активен в парном присоединении водорода по сравнению с катализатором $\text{Pd}_n/\text{ND}@G$. Однако, разница в усилении сигнала не такая большая, как ожидалось при учете 100% парного присоединения, что, вероятно, связано с другими факторами протекания каталитического процесса, такими как время жизни интермедиатов и их взаимодействие с катализатором.

3.2 Изучение гидрирования ацетилена на иммобилизованных иридиевых и родиевых катализаторах

В данном разделе подробным образом исследуется вопрос о том, какие возможности открывает гидрирование ацетилена p-H_2 на иммобилизованных катализаторах в контексте обогащения этилена ядерными спиновыми изомерами.

Как было описано ранее в литературном обзоре, гидрирование ацетиленов $p\text{-H}_2$ может приводить к неравновесному заселению ядерных спиновых изомеров образующегося этилена, так называемому обогащению ЯСИ этилена [4]. Данный эффект основан на том, что полный ядерный спин молекулы $p\text{-H}_2$ равен 0 (в то время как полный ядерный спин протонов ацетиленов равен 0 или 1) и, следовательно, молекулы этилена с полным ядерным спином 2 не образуются при 100% парном присоединении $p\text{-H}_2$ к ацетилену, что и приводит к обогащению изомеров с $I = 0$ и 1. Однако в силу симметрии молекулы этилена (аналогично с $p\text{-H}_2$) усиленные сигналы ЯМР наблюдаться не будут. При этом примерно 2,2 % молекул ацетиленов 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. Но усиленные сигналы будут наблюдаться только в случае парного пути присоединения $p\text{-H}_2$. В этом контексте иммобилизованные катализаторы представляют заметный интерес, поскольку известно, что для них характерен парный путь присоединения.

В данной части работы исследовались три иммобилизованных катализатора родия и иридия, полученных при взаимодействии димерных комплексов $[\text{Ir}_2(\text{COD})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ или $[\text{Rh}_2(\text{COD})_2(\mu\text{-Cl})_2]$ (где COD – *цис,цис*-1,5-циклооктадиен) с группами $-\text{SH}$ (далее обозначены – Rh-S@SiO₂, Ir-S@SiO₂) или $-\text{PPh}_2$ (далее обозначен – Ir-P@SiO₂) линкерных цепочек модифицированного силикагеля. При таком взаимодействии происходит разрушение исходных димерных комплексов с образованием плоских комплексов $[\text{M}(\text{COD})(\text{L})\text{Cl}]$ (где M – Rh или Ir; L – группа $-\text{SH}$ или $-\text{PPh}_2$ линкерных цепочек). Метод РФЭС был использован для изучения электронного состояния иридия и родия в иммобилизованных катализаторах и позволил дополнительно подтвердить структуру катализаторов (детальное описание приведено в Экспериментальной части). Схематично данные катализаторы представлены на рисунке 3.4 ниже.

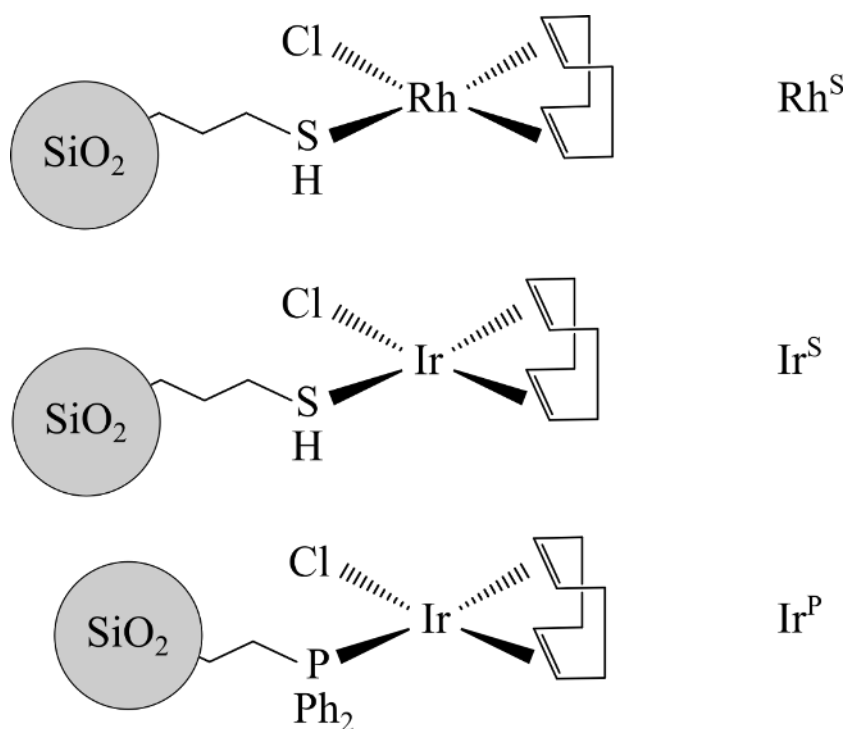


Рисунок 3.4. Структура исследуемых иммобилизованных катализаторов. Пояснение обозначений: Ir^P - Ir-P@SiO₂; Ir^S - Ir-S@SiO₂; Rh^S - Rh-S@SiO₂.

Каталитическую активность катализаторов Ir-P@SiO₂, Ir-S@SiO₂ и Rh-S@SiO₂ исследовали в реакции газофазного гидрирования ацетилена с использованием п-Н₂ в интервале температур от 25 до 120 °С. Для этого смесь реагентов (ацетилен : п-Н₂ в молярном соотношении 1 : 4) подавали к катализатору, расположенному на дне ампулы ЯМР внутри спектрометра ЯМР. Таким образом, реакция гидрирования протекала в сильном магнитном поле, что соответствует экспериментальному протоколу PASADENA. Спектры ЯМР регистрировали в режиме непрерывного потока реагентов (объемная скорость 4,6 мл/с) при постоянном давлении 3,7 бар с использованием 45° РЧ-импульса. Значения конверсии и селективности к образованию этилена для исследуемых иммобилизованных комплексов представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3. Значения конверсии и селективности к образованию этилена для иммобилизованных катализаторов Rh-S@SiO₂, Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂, а также для нанесенных металлических катализаторов Ir/SiO₂ и Rh/SiO₂. Условия проведения реакции: температура 120 °С; общее давление 3,7 бар; скорость потока реагентов 4,6 мл/с; мольное соотношение ацетилен : п-Н₂ = 1 : 4.

Катализатор	Содержание металла, мас.%	Навеска, мг	Конверсия, %	Селективность, %
Rh-S@SiO ₂	10	20	0,3	79
Ir-S@SiO ₂	13	30	1,2	88
Ir-P@SiO ₂	4	30	0,5	89

Ir/SiO ₂	5	30	0	-
Rh/SiO ₂	5	20	65	16

Установлено, что для катализаторов Ir-S@SiO₂, Ir-P@SiO₂ и Rh-S@SiO₂ заметная каталитическая активность, достаточная для надежной интерпретации данных ЯМР, проявляется при температуре реакции 120 °С. В спектрах ЯМР ¹H реакционной смеси были идентифицированы сигналы, соответствующие продуктам гидрирования ацетилена: δ = 1,49 м.д. (ацетилен), δ = 5,31 м.д. (этилен) и δ = 0,89 м.д. (этан) (рисунок 3.5). Повышение температуры выше указанного значения было ограничено техническими характеристиками нагревательного блока спектрометра ЯМР. Помимо сигналов ацетилена, этилена и этана, в спектре ЯМР ¹H реакционной смеси присутствует пик при δ = 1,9 м.д., относящийся к СН₃-группам ацетона, который добавляют в баллон с ацетиленом в качестве стабилизатора (рисунок 3.5). Конверсия ацетилена на катализаторах Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂ составила 1,2 и 0,5% соответственно (таблица 3.3). Более высокая активность образца Ir-S@SiO₂ объясняется повышенным массовым содержанием иридия (таблица 3.3), что также подтверждается большим атомным отношением Ir/Si, определенным из данных РФЭС (см. Экспериментальную часть). Замена серосодержащего лиганда (-SH) на фосфорсодержащий (-PPh₂) в случае иридиевых иммобилизованных катализаторов не оказывает существенного влияния на селективность к образованию этилена: значения составили 88% для Ir-S@SiO₂ и 89% для Ir-P@SiO₂. Примечательно, что нанесенный иридиевый катализатор Ir/SiO₂ с близким содержанием активного компонента (5 мас.%) в аналогичных условиях не продемонстрировал какой-либо активности в газофазном гидрировании ацетилена. По-видимому, в данных условиях все активные центры катализатора Ir/SiO₂ заблокированы ацетиленом.

Родиевый иммобилизованный катализатор Rh-S@SiO₂ показал активность, сопоставимую с Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂: конверсия ацетилена достигла 0,3%, а селективность по этилену составила 79% (таблица 3.3). В то же время нанесенный металлический родиевый катализатор Rh/SiO₂ (5 мас.%) в идентичных условиях продемонстрировал высокую активность в реакции гидрирования ацетилена: конверсия составила 65% при селективности к образованию этилена лишь 16%. Поведение нанесенного металлического катализатора Rh/SiO₂ существенно отличается от поведения Rh-S@SiO₂. Учитывая значительное различие в конверсии ацетилена на Rh-S@SiO₂ и Rh/SiO₂, можно заключить, что в случае Rh-S@SiO₂ гидрирование протекает исключительно на иммобилизованном комплексе, поскольку присутствие металлической фазы обычно приводит к более высокой конверсии субстрата. Это предположение

подтверждается данными РФЭС: для катализатора Rh-S@SiO₂ металлическое состояние родия не обнаружено (см. Экспериментальную часть).

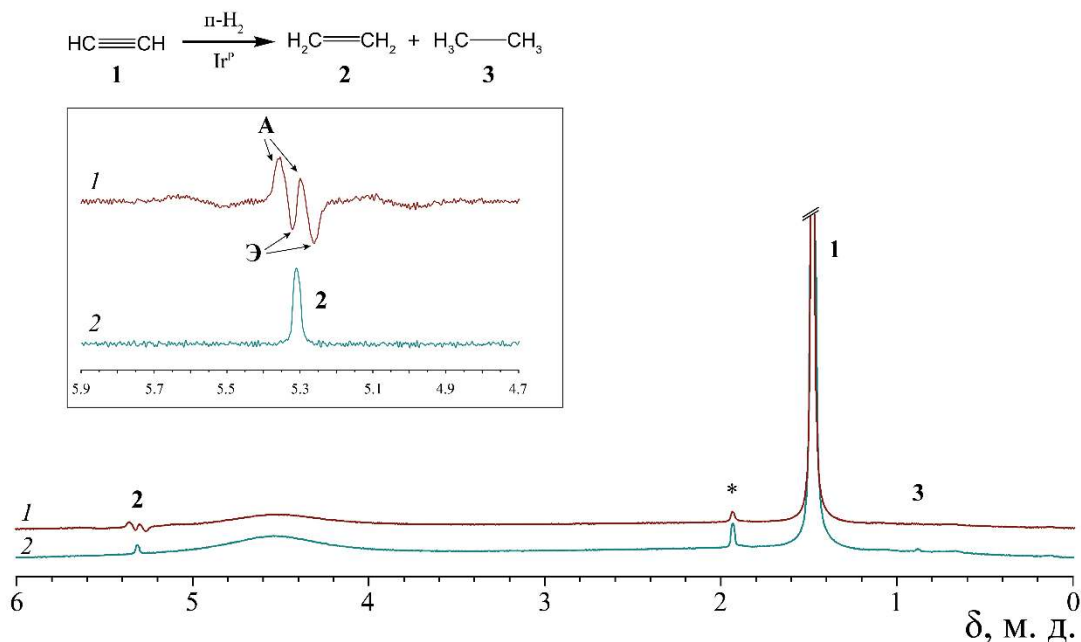


Рисунок 3.5. Спектры ЯМР ¹H реакционной смеси, зарегистрированные при пропускании смеси ацетилен/п-Н₂ через катализатор Ir-P@SiO₂ при температуре 120 °С, давлении 3,7 бар и потоке 4,6 ст. см³/с (1), и после релаксации гиперполяризации к тепловому равновесию (2). Спектры записаны с 128-кратным накоплением сигнала и представлены в одинаковом масштабе. Символом * отмечен сигнал от примесного ацетона. Область спектра 4,7–5,9 м. д. увеличена и представлена отдельно на вставке.

При гидрировании ацетилена на катализаторе Ir-P@SiO₂ сигнал этилена имеет сложную антифазную структуру. В спектре ЯМР ¹H наблюдается чередование абсорбционных и эмиссионных линий в последовательности АЭАЭ (рисунок 3.6). В случае гидрирования ацетилена, содержащего исключительно изотоп ¹²C, эффект ИППЯ наблюдаться не будет и, следовательно, сигнал образующихся молекул этилена будет представлять собой одиночную линию без какой-либо сложной структуры. Однако среди молекул ацетилена присутствуют молекулы, содержащие одно ядро ¹³C, с долей ≈ 2,2%. При гидрировании таких молекул п-Н₂ в спектре ЯМР будут наблюдаться усиленные сигналы от молекул [¹³C]этилена. Усиленные сигналы наблюдаются, поскольку атомы водорода (Н_А и Н_В), пришедшие из п-Н₂, оказываются в магнитно-неэквивалентных положениях вследствие различия констант спин-спинового взаимодействия J(¹³C-Н_А) и J(¹³C-Н_В) (рисунок 3.6). Моделирование спектров ЯМР гиперполяризованного [¹³C]этилена показывает, что форма линий сигнала зависит от механизма присоединения п-Н₂. На основе моделирования был сделан вывод, что реализуется *син*-присоединение п-Н₂ к тройной связи ацетилена, то есть оба присоединившихся атома водорода оказываются по одну сторону

относительно двойной связи этилена (рисунок 3.6, спектр 2). В случае катализатора Ir-S@SiO₂ наличие эффекта ИППЯ выражено в меньшей степени и проявляется в виде антифазных сигналов на фоне одиночного сигнала этилена. Однако было продемонстрировано, что только привитые иридиевые катализаторы Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂ проявили значительную селективность к парному присоединению п-H₂. В данной работе впервые удалось зарегистрировать сигналы ЯМР ¹H от гиперполяризованного [¹³C]этилена непосредственно в газовой фазе в реакции гидрирования ацетилена п-H₂ с природным содержанием изотопа ¹³C на катализаторах Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂.

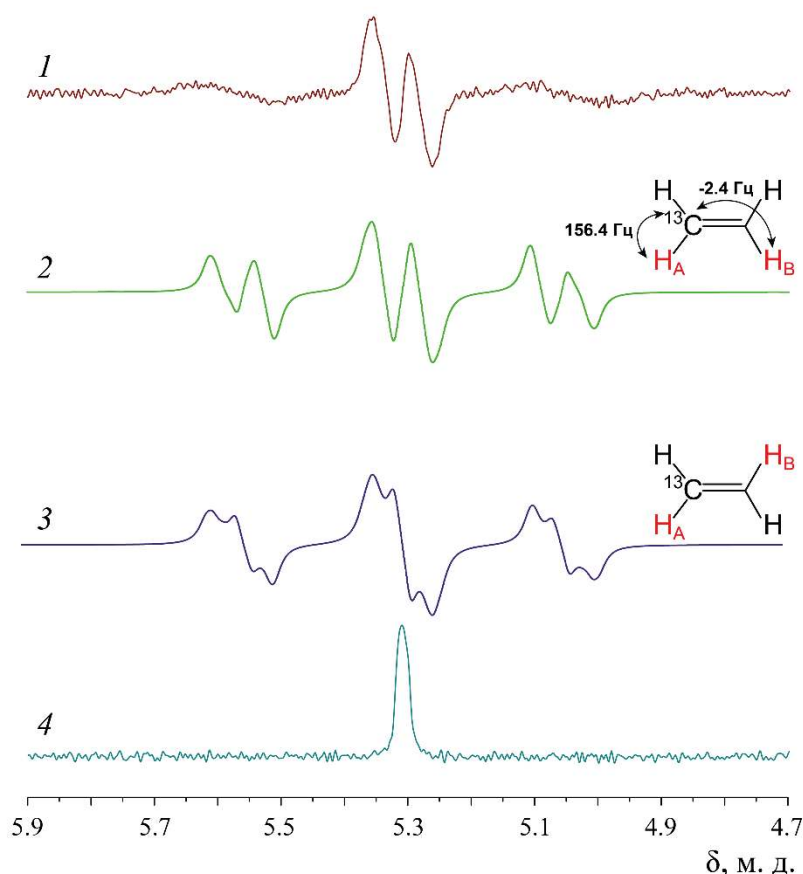


Рисунок 3.6. Экспериментальные спектры ЯМР ¹H этилена, образующегося при гидрировании ацетилена на иммобилизованном комплексе Ir-P@SiO₂ при потоке газовой смеси 4,6 ст. см³/с (1), и после релаксации ядерных спинов к тепловому равновесию (4); а также модельные спектры [¹³C]этилена, полученного путем *син*- (2) или *анти*-присоединения (3) п-H₂ к ацетилену в PASADENA экспериментах. Значения КССВ взяты из литературы [221].

Усиление сигнала ЯМР, достигаемое за счет эффекта ИППЯ при гидрировании ацетилена на Ir-P@SiO₂, позволяет наблюдать [¹³C]этилен в крайне низкой концентрации. С учетом конверсии ацетилена (0,5%) концентрация [¹³C]этилена составляет примерно 3 мкМ. Усиление сигнала в спектре ЯМР ¹H для [¹³C]этилена составило 140. Для оценки уровней поляризации было рассчитано максимально возможное усиление сигнала, которое

определялось из модельных спектров как гиперполяризованного, так и термического $[^{13}\text{C}]$ этилена с заданной шириной линии. В расчете рассматривалась полная спиновая система молекулы $[^{13}\text{C}]$ этилена, содержащего четыре протона и одно ядро ^{13}C . При этом в расчетах предполагалось, что в исходном состоянии только два протона (пришедшие из $p\text{-H}_2$) были скоррелированы в синглетное состояние, в то время как остальные ядра не были поляризованы. Значения КССВ были взяты из работы [222]. Теоретическое усиление сигнала при ширине линии 8 Гц, напряженности магнитного поля 7,05 Тл и температуре 120 °С составило 8470 (в расчетах не учитывалось влияние ядерной спиновой релаксации). На основе наблюдаемого и максимального усиления сигнала была рассчитана поляризация ядер ^1H для $[^{13}\text{C}]$ этилена и она составила 1,7% в случае катализатора Ir-P@SiO₂. Также следует отметить, что в экспериментальном спектре сигналы протонов, находящихся в метиленовой группе у атома ^{13}C , значительно уширены (сигналы при $\delta = 5,55$ и $5,05$ м.д. на рисунке 3.6), что связано с эффективной релаксацией протонов из-за присутствия ядра ^{13}C .

Ранее в литературе схожие результаты были получены для случая гомогенного гидрирования $p\text{-H}_2$ ацетилен на катализаторе Уилкинсона [221]. Форма линий сигнала от гиперполяризованного $[^{13}\text{C}]$ этилена имела аналогичный паттерн, что является дополнительным доказательством того, что механизм гомогенного гидрирования ацетилен на иммобилизованном комплексе Ir-P@SiO₂ сохраняется.

Таким образом, было продемонстрировано, что иммобилизованные катализаторы Ir-S@SiO₂ и Ir-P@SiO₂ проявляют заметную селективность к парному присоединению $p\text{-H}_2$, что доказывается наблюдением усиленных сигналов от молекул $[^{13}\text{C}]$ этилена. Более того, анализ формы линий сигнала $[^{13}\text{C}]$ этилена позволил установить, что гидрирование ацетилен на иммобилизованном катализаторе Ir-P@SiO₂ реализуется по пути *син*-присоединения. Полученные результаты косвенно указывают на то, что благодаря парному пути присоединения $p\text{-H}_2$ происходит обогащение молекул $^{12}\text{C}_2\text{H}_4$ ядерными спиновыми изомерами. Таким образом, гидрирование ацетилен $p\text{-H}_2$ на иммобилизованном катализаторе Ir-P@SiO₂ открывает перспективный путь к обогащению этилена ЯСИ и потенциально предоставляет новые возможности для изучения взаимопревращения ЯСИ этилена.

3.3 Изучение взаимопревращения ядерных спиновых изомеров этилена

Как было описано ранее, дисбаланс ядерных спиновых изомеров этилена может быть создан посредством каталитического гидрирования ацетилен $p\text{-H}_2$, если синглетное спиновое состояние двух протонов, пришедших из $p\text{-H}_2$, сохраняется в этилене, т. е. если

присоединение $p\text{-H}_2$ к ацетилену происходит по парному пути [4]. Для многих гомогенных каталитических систем парное присоединение является частью каталитического цикла [223]. Известно, что гетерогенные катализаторы менее эффективны в этом отношении [3]. Однако они гораздо лучше подходят для получения газообразных продуктов в целом и этилена в частности. Более того, стереоселективность присоединения $p\text{-H}_2$ к ацетилену имеет решающее значение для создания дисбаланса ЯСИ этилена, что будет детально обсуждено ниже. Гомогенное гидрирование обычно протекает исключительно по механизму *син*-присоединения водорода к кратной связи. Были описаны примеры гомогенного гидрирования ацетилена с $p\text{-H}_2$ на комплексах Rh [221,224]. В отличие от этого, гетерогенное гидрирование может приводить как к *син*-, так и к *анти*-присоединению. Поэтому в данной работе были использованы три различных типа гетерогенных катализаторов для получения этилена путем гетерогенного гидрирования ацетилена в газовой фазе с использованием $p\text{-H}_2$. Подробная информация о приготовлении всех трех катализаторов приведена в экспериментальной части.

В качестве первого катализатора был выбран иммобилизованный катализатор иридия, который был описан в предыдущей главе (обозначаемый как Ir-P@SiO₂). В предыдущей главе было показано, что данный катализатор обеспечивает $\approx 100\%$ *син*-присоединения $p\text{-H}_2$ к ацетилену в газовой фазе, что приводит к тому, что атомы водорода из $p\text{-H}_2$ оказываются в *цис*-конфигурации в молекуле этилена (далее именуемой «*Z*-этилен», рисунок 3.7). Также было показано, что данный катализатор обеспечивает около 1,7 % селективности парного присоединения водорода к ацетилену. Таким образом, выбор катализатора Ir-P@SiO₂ был основан на его потенциальной способности производить только *Z*-этилен.

Для катализаторов на основе нанесенных металлов селективность парного присоединения H_2 обычно не превышает 1–3% [3]. Предполагается, что основной механизм гидрирования на таких катализаторах включает присоединение двух случайных атомов водорода к субстрату. Тем не менее, наблюдение эффектов ИППЯ на таких катализаторах указывает на то, что парное присоединение в некоторой степени все-таки возможно. Разработка каталитически активных центров с подавленной подвижностью атомов водорода (включая катализаторы с одноатомным распределением активного компонента) является жизнеспособным подходом к улучшению эффективности парного присоединения в реакции гидрирования [225], что было исследовано в главе 3.1. В данной работе был выбран интерметаллический Pd-In/Al₂O₃ в качестве второго катализатора. Для данного катализатора ранее была продемонстрирована повышенная активность парного

присоединения ($\approx 9\%$ при гидрировании пропина) в результате частичного разбавления Pd инертными атомами In на поверхности катализатора [84]. Наконец, для сравнения в качестве третьего катализатора был использован нанесенный монометаллический катализатор Pd/TiO₂, аналогичный тому, который использовался ранее в оригинальной работе, посвященной химическому обогащению ЯСИ этилена [4]. Важно отметить, что нанесенные металлические катализаторы активны в *цис-транс*-изомеризации алкенов, тем самым переводя протоны, пришедшие из п-H₂, в *транс*-конфигурацию («E-этилен», рисунок 3.7). В зависимости от активности катализатора в этом процессе соотношение Z : E конформеров этилена может различаться в конечном продукте [226].

Гидрирование проводили в трубчатом проточном реакторе в магнитном поле Земли (условия эксперимента ALTADENA). В реактор загружали 20–30 мг катализатора, который затем нагревали до заданной температуры. Затем вводили газовую смесь ацетилена и п-H₂ (в молярном соотношении 1 : 4). Полученную смесь продуктов и реагентов затем подавали в спектрометр ЯМР для анализа конверсии ацетилена (X) и селективности образования этилена (S_{ethylene}) с помощью спектроскопии ЯМР ¹H в газовой фазе. Экспериментальные условия и результаты для всех трех катализаторов приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4. Значения конверсии и селективности к образованию этилена для катализаторов Ir-P@SiO₂, Pd-In/Al₂O₃ и Pd/TiO₂. Также в таблице приведены условия проведения реакции: навеска катализатора, температура реактора и скорость потока газовой смеси.

Катализатор	Навеска, мг	Температура, °C	Скорость потока, ст. см ³ /мин	X, %	S _{ethylene} , %
Ir-P@SiO ₂ (4 мас.%)	30	250	200	3 ± 1	94 ± 5
Pd-In/Al ₂ O ₃ (1 мас.%)	30	250		51 ± 5	89 ± 3
Pd/TiO ₂ (1 мас.%)	20	120		99 ± 1	40 ± 4

Катализатор Pd/TiO₂ продемонстрировал превосходную каталитическую активность в реакции гидрирования ацетилена: конверсия достигала значения 99 ± 1%, но в то же время селективность по отношению к этилену оказалась низкой (40 ± 4%). Интерметаллический катализатор Pd-In/Al₂O₃ обеспечил более высокую селективность по этилену (89 ± 3%), но каталитическая активность была заметно ниже (конверсия составила 51 ± 5%). Имобилизованный катализатор Ir-P@SiO₂ показал низкую конверсию 3 ± 1%, но высокую

селективность по отношению к этилену $94 \pm 5\%$. Все три катализатора были протестированы в идентичных условиях, за исключением температуры реакции, которая была выбрана для обеспечения достаточной каталитической активности и стабильности.

В зависимости от стереоселективности гидрирования ацетилен $p\text{-H}_2$ ожидается различное относительное количество четырех ЯСИ образующегося этилена. Относительные заселенности были рассчитаны для *Z*- и *E*-этилена путем определения оператора ядерной спиновой плотности для *син*- и *анти*-присоединения $p\text{-H}_2$ к ацетилену, соответственно (более подробная информация приведена в экспериментальной части). Следует отметить, что смешивание синглетного и триплетного состояний (S/T_0) не учитывалось. Относительные доли ЯСИ этилена, предсказанные в каждом сценарии, представлены в таблице 3.5. В частности, состояние B_{2u} в случае *Z*-этилена и состояние B_{3g} в случае *E*-этилена не образуются, и молекулы этилена с $I = 2$ (состояние A_g^q) изначально не образуются ни в одном из случаев. Также важно отметить, что в случае *Z*-этилена соотношение образующихся изомеров по инверсионной симметрии $g : u$ ($10 : 6$) такое же, как для статистической смеси ЯСИ этилена, тогда как для *E*-этилена это соотношение отлично и равно $4 : 12$. Отметим, что волновые функции ЯСИ этилена и их соотношение по полному ядерному спину приведены в Приложении 1.

Таблица 3.5. Относительные доли ЯСИ и соответствующие соотношения $g : u$ для этилена, полученного путем парного присоединения $p\text{-H}_2$ в *цис*- (*Z*-этилен) или *транс*- (*E*-этилен) положения, по сравнению со статистической смесью ЯСИ этилена.

ЯСИ этилена	A_g		B_{1u}	B_{2u}	B_{3g}	$g : u$ отношение
	A_g^q	$A_g^{S_a}, A_g^{S_b}$				
Статистическая смесь	$\frac{5}{16}$	$\frac{2}{16}$	$\frac{3}{16}$	$\frac{3}{16}$	$\frac{3}{16}$	$10 : 6$
<i>Z</i> -этилен	0	$\frac{4}{16}$	$\frac{6}{16}$	0	$\frac{6}{16}$	$10 : 6$
<i>E</i> -этилен	0	$\frac{4}{16}$	$\frac{6}{16}$	$\frac{6}{16}$	0	$4 : 12$
<i>Z</i> - и <i>E</i> -этилен (1 : 1)	0	$\frac{4}{16}$	$\frac{6}{16}$	$\frac{3}{16}$	$\frac{3}{16}$	$7 : 9$

Как уже упоминалось, для оценки дисбаланса ЯСИ этилена методом ЯМР необходима реакция, нарушающая симметрию этилена. С этой целью этилен вводили в реакцию электрофильного присоединения Br_2 , растворенного в D_2O , в результате чего образовывался гиперполяризованный 2-бромэтан(^2H)ол (далее обозначаемый как BrEtOD). Схема реакции представлена на рисунке 3.7 ниже. Для проведения реакции выходной поток

газа из реактора непосредственно направляли в ампулу ЯМР, где происходила реакция. Газ пропускали через бромную воду в течение 5–10 с, после чего регистрировали спектры ЯМР ^1H и анализировали форму усиленных линий ЯМР. Подробная схема установки представлена в Экспериментальной части. Для обеспечения воспроизводимости результатов концентрацию свободного брома поддерживали постоянной, помещая каплю Br_2 на дно ампулы ЯМР, заполненной D_2O (2 мл), и настраивая процедуру барботирования таким образом, чтобы происходило эффективное перемешивание микрокапли брома. В результате независимых титрований было установлено, что концентрация брома составляет $0,14 \pm 0,02 \text{ M}$, что близко к значению, измеренному для насыщенного раствора, который обеспечивает быструю и полную реакцию.

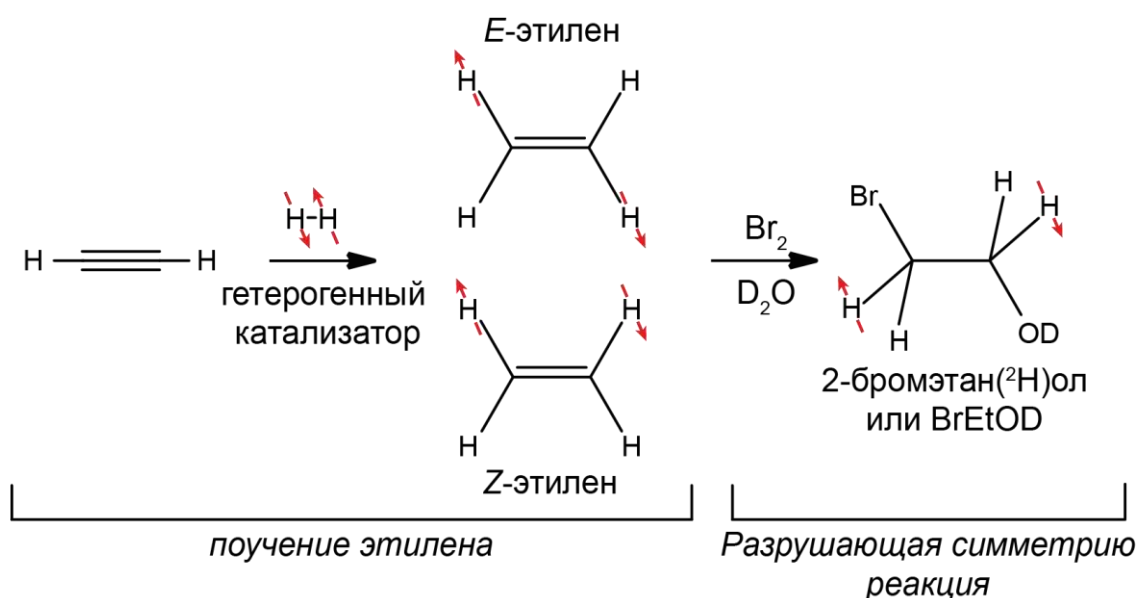


Рисунок 3.7. Схема реакции получения гиперполяризованного 2-бромэтанола.

В случае введения в реакцию с Br_2 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 сильно усиленные сигналы ЯМР от гиперполяризованного BrEtOD (рисунок 3.8 (г)). Спектры ИППЯ ЯМР ^1H регистрировали с использованием 45° РЧ-импульса, поскольку поляризованный BrEtOD образуется внутри спектрометра ЯМР, т. е. в соответствии с экспериментальным протоколом PASADENA. Также спектры ЯМР ^1H от смеси продуктов, находящихся в тепловом равновесии, регистрировали с использованием 90° РЧ-импульса. Фактор усиления сигнала (SE) был оценен для протонов группы CH_2OD BrEtOD (при $\delta = 3,93$ м.д.). Наибольшее значение $\text{SE} = 200 \pm 80$ наблюдалось для Ir-P@SiO_2 . Интерметаллический катализатор $\text{Pd-In/Al}_2\text{O}_3$ обеспечил более низкое

значение $SE = 40 \pm 20$, в то время как монометаллический Pd/TiO₂ оказался наименее активным в парном присоединении, обеспечивающий лишь примерно трехкратное усиление сигнала ЯМР. Эти наблюдения показывают, что коррелированное спиновое состояние протонов частично сохраняется для всех трех катализаторов, а достигнутые значения SE отражают их активность в парном присоединении п-Н₂. После активации все катализаторы производят этилен с постоянной эффективностью и без значительного снижения SE для BrEtOD во времени (порядка нескольких часов).

Форма линий усиленных сигналов в спектре ЯМР различна для всех трех катализаторов. В данной работе большое внимание было уделено моделированию спектров ЯМР ¹H (рисунок 3.8 (г)). КССВ для этилена были взяты из литературы [222]. Для BrEtOD в качестве отправной точки были использованы КССВ из литературы [227], которые затем корректировались до тех пор, пока моделированные спектры не совпадали с экспериментальными (рисунок 3.8 (а); подробности определения КССВ представлены в Приложении 3). Экспериментальные спектры регистрировали с использованием импульсной последовательности OPSYd-12 (Only Parahydrogen Spectroscopy, далее OPSY) [214], позволяющей наблюдать только усиленные сигналы, подавляя при этом вклад термически поляризованных сигналов BrEtOD. Конкретно данная импульсная последовательность фильтрует термические сигналы и генерирует спектр, полученный из членов $I_{zi} \cdot I_{zj}$ (i, j – соответствующие протоны BrEtOD, пришедшие из молекулы п-Н₂). Графически импульсная последовательность OPSYd-12 представлена на рисунке 2.6 в Экспериментальной части.

Варьирование параметра τ показало, что значение $\tau = \tau_G = 1$ мс является оптимальным, при этом интенсивность линий в спектре близка к теоретическому максимальному значению (50% от интенсивности, полученной в эксперименте с одним детектирующим 45° РЧ-импульсом).

В целом, моделирование спектров ЯМР ¹H включало следующие ключевые этапы:

- 1) Построение исходной матрицы ядерной спиновой плотности для этилена с использованием заселенностей соответствующих собственных состояний гамильтониана. Поскольку *E*-этилен и *Z*-этилен с двумя протонами, пришедшими из п-Н₂, соответствуют двум различным матрицам спиновой плотности, исходная матрица спиновой плотности (ρ) может быть представлена как комбинация: $\chi \cdot \rho_{Z-ethylene}$ и $(1 - \chi) \cdot \rho_{E-ethylene}$, где χ – относительная доля *Z*-этилена.

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). Дисбаланс ЯСИ этилена был создан при гидрировании ацетилен с p-H_2 на катализаторах Ir-P@SiO_2 (левая панель), $\text{Pd-In/Al}_2\text{O}_3$ (центральная панель) или Pd/TiO_2 (правая панель). Сателлитные сигналы обведены красной пунктирной линией. Эти сигналы имеют правильную фазу, но гораздо меньшую интенсивность в моделировании – они представлены фиолетовым цветом и увеличены в 10^4 раза.

Экспериментальные спектры ЯМР ^1H хорошо аппроксимируются модельными спектрами при допущении почти 100% *син*-присоединения (99,7%) для Ir-P@SiO_2 . В случае катализатора $\text{Pd-In/Al}_2\text{O}_3$ форма мультиплета BrEtOD аналогична наблюдаемой для Ir-P@SiO_2 (рисунок 3.8 (г)). Однако экспериментальные спектры хорошо согласуются с моделированием, если предположить, что смесь состоит из 92% *Z*-этилена и 8% *E*-этилена (т. е. 92% *син*-присоединения). Для катализатора Pd/TiO_2 наблюдается иная картина: центральные линии практически компенсируют друг друга, и экспериментальные спектры ЯМР хорошо аппроксимируются при приблизительно 55% *син*- и 45% *анти*-присоединения. Таким образом, было показано, что данный подход может быть использован в качестве метода оценки стереоселективности присоединения водорода к ацетилену на различных катализаторах. Более того, распределение образующихся ЯСИ этилена можно контролировать путем регулирования активности гетерогенного катализатора в реакции *цис-транс*-изомеризации.

Далее было показано, что моделирование спектров ЯМР ^1H гиперполяризованного BrEtOD можно использовать для исследования взаимопревращения ЯСИ этилена. Как обсуждалось ранее, этилен образуется вне спектрометра ЯМР, и минимальное время пролета газовой смеси до датчика спектрометра ЯМР составляет ≈ 1 с. В данной работе было показано, что даже в течение этого короткого времени относительная заселенность ЯСИ этилена заметно изменяется. Действительно, исходные экспериментальные спектры для всех трех катализаторов хорошо аппроксимируются при предположении приблизительно полного установления равновесия между ядерными состояниями, относящимися к A_g . Как упоминалось выше, во время гидрирования ацетилен с p-H_2 квинтетное состояние этилена (A_g^q) не заселяется в отличие от A_g^{Sa} и A_g^{Sb} . Моделирование показывает, что процесс превращения $A_g^{Sa}, A_g^{Sb} \rightarrow A_g^q$ происходит в субсекундном масштабе времени. Также известно, что теория квантовой релаксации предсказывает, что установление равновесия внутри подкласса A_g происходит быстрее всего среди процессов взаимопревращения ЯСИ [228], что согласуется с результатами, полученными в данной работе.

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 регистрировали спектр ЯМР ^1H с применением импульсной последовательности OPSY. При обработке данных учитывалось время пролета этилена до ампулы ЯМР. Интенсивность сигнала OPSY в зависимости от времени хранения была получена для всех трех катализаторов (рисунок 3.9 (б-г)). Подробная схема экспериментальной установки представлена в Экспериментальной части.

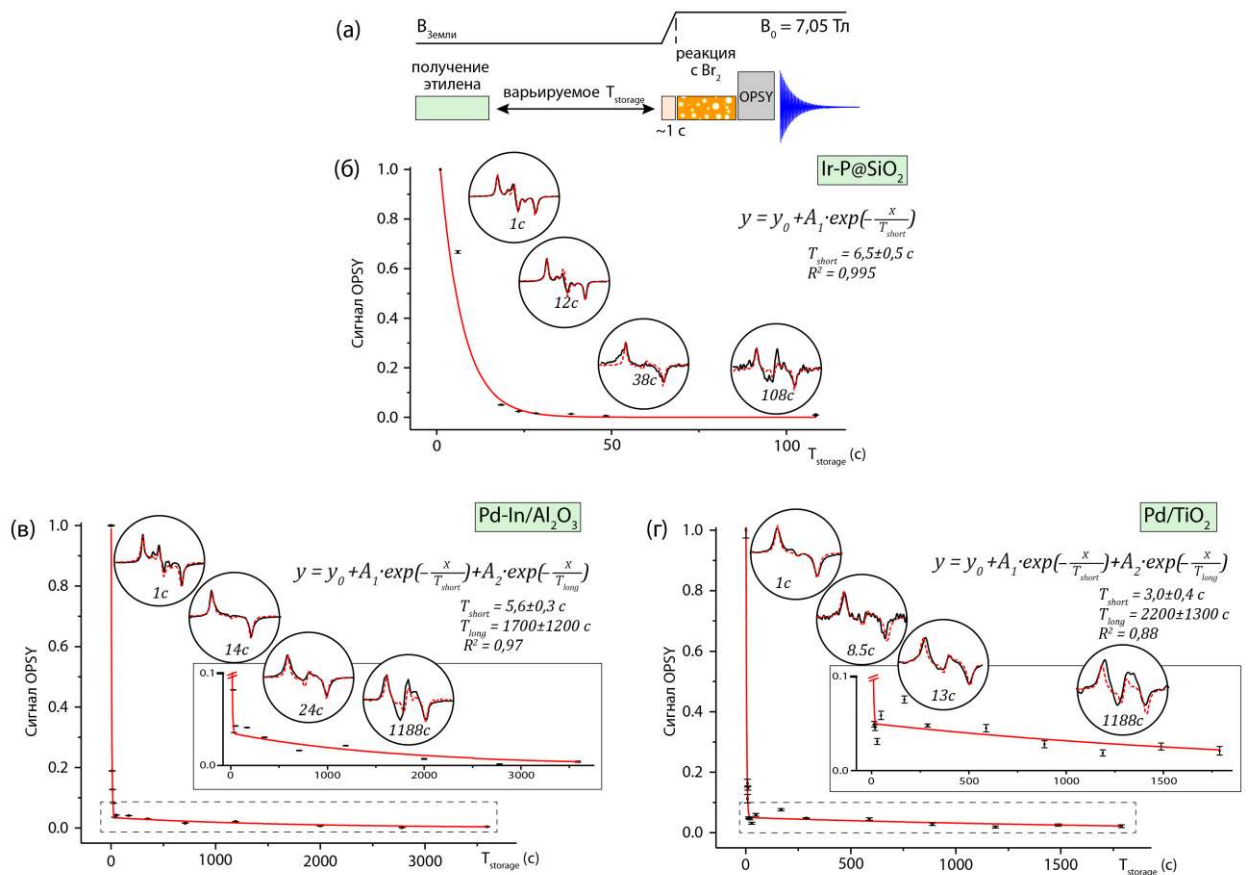


Рисунок 3.9. (а) Последовательность событий эксперимента. (б)-(г) Графики, показывающие затухание сигналов OPSY гиперполяризованного BrEtOD в зависимости от времени хранения этилена в шприце T_{storage} . Этилен был получен путем гетерогенного гидрирования ацетилена с p-H_2 над (б) Ir-P@SiO₂; (в) Pd-In/Al₂O₃; или (г) Pd/TiO₂. Экспериментальные точки были аппроксимированы моно- или биэкспоненциальными функциями с указанием соответствующих уравнений и значений R^2 . Вертикально увеличенные области больших времен для графиков (в) и (г) представлены на соответствующих вставках. Спектры OPSY ^1H при выбранных временах хранения этилена (черные спектры) и модельные спектры (красные пунктирные спектры) представлены на вставках круглой формы.

При использовании катализатора Ir-P@SiO₂ гиперполяризованные сигналы BrEtOD наблюдались только при хранении этилена до ≈ 2 минут (рисунок 3.9 (б)). Кривая

установления равновесия между ЯСИ этилена может быть описана как моноэкспонента ($R^2 = 0,995$) с характерным временем $T_{\text{short}} = 6,5 \pm 0,5$ с, в то время как аппроксимация биэкспоненциальной функцией не дает удовлетворительных результатов. Как упоминалось выше, катализатор Ir-P@SiO₂ почти исключительно производит Z-этилен, для которого не возникает дисбаланс g : u ЯСИ. Таким образом, можно заключить, что наблюдаемый моноэкспоненциальный спад соответствует процессам установления равновесия внутри классов, отличающихся по инверсионной симметрии: g ($A_g \rightleftharpoons B_{3g}$) и u ($B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$). Временные константы для этих процессов не могут быть получены отдельно в экспериментальных условиях, использованных в данной работе. Однако разумно предположить, что взаимопревращение ЯСИ в пределах классов g и u происходит с близкой скоростью, при этом эффективная временная константа T_{short} составляет 6,5 с.

В случае катализаторов Pd-In/Al₂O₃ и Pd/TiO₂ интенсивность сигнала OPSY от BrEtOD сначала резко снижалась, а затем наблюдался гораздо более медленный спад (рисунок 3.9 (в) и (г)). Для обоих катализаторов данные хорошо аппроксимируются биэкспоненциальным спадом с соответствующими временами T_{short} и T_{long} ($R^2 = 0,88-0,97$). 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. Данные величины близки к значению, полученному для катализатора Ir-P@SiO₂, но систематически ниже по сравнению со значением $T_{\text{short}} = 10 \pm 5$ с, найденным в более ранней работе В. Живонитко и соавторов [4]. Вероятно, это различие является следствием того, как определяется время начала хранения в данной работе и в работе В. Живонитко и соавторов. В отличие от предыдущего исследования, где окончание заполнения шприца принималось за начало времени хранения, в данной работе было учтено установление равновесия между ЯСИ этилена, происходящее во время заполнения шприца (для этого было рассчитано эффективное время пребывания молекул этилена в шприце во время сбора газа, подробно процедура описана в Экспериментальной части). Полученное значение затем было добавлено ко времени хранения после заполнения шприца газом. Дополнительно было проанализировано, что обработка данных, полученных в данной работе, с использованием процедуры из предыдущей работы дает $T_{\text{short}}^* = 13 \pm 4$ с для катализатора Pd-In/Al₂O₃, что согласуется со значением 10 ± 5 с. Этот результат указывает на важность обработки данных при извлечении кинетических параметров.

Эксперименты со стереоселективным катализатором Ir-P@SiO₂ позволили соотнести характерное время T_{short} с эффективным временем установления равновесия между ЯСИ с одинаковой инверсионной симметрией. Таким образом, T_{long} можно

соотнести с единственным оставшемся процессом установления равновесия – уравнивание ЯСИ с различной инверсионной симметрией ($g \rightleftharpoons u$).

Этот вывод дополнительно подтверждается моделированием спектров ЯМР ^1H . Было показано, что происходит изменение формы линий ЯМР для гиперполяризованного BrEtOD при увеличении времени хранения. Для этилена, полученного с помощью Ir-P@SiO₂ и Pd-In/Al₂O₃, форма линии ЯМР в начале процесса отличается, хотя и переходит в тот же самый паттерн АЕАЕ. Такое поведение можно моделировать только в том случае, если учитывать процесс установления равновесия между ЯСИ разной инверсионной симметрии ($g \rightleftharpoons u$). Были рассчитаны заселенности ЯСИ для различных степеней протекания процесса $g \rightleftharpoons u$, и соответствующие спектры были смоделированы (пунктирные спектры на вставках, рисунок 3.9). Результаты моделирования показывают, что после полного установления равновесия между ЯСИ классов g ($A_g \rightleftharpoons B_{3g}$) и u ($B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$) паттерн АЕАЕ остается неизменным, что и наблюдается в эксперименте.

Таким образом, возможность получения различных начальных распределений ЯСИ этилена в сочетании с детальным анализом изменения спектров ЯМР ^1H для BrEtOD (продукта реакции нарушения симметрии этилена) позволяет однозначно отнести постоянную времени T_{long} к установлению равновесия между ЯСИ этилена с различной инверсионной симметрией (g и u). В работе Живонитко и соавторов [4] ошибочно предполагалось, что процесс $g \rightleftharpoons u$ не наблюдается в экспериментальном временном масштабе, и поэтому T_{long} относится к процессу $B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$. Данное допущение основывалось на работе Суна и соавторов, в которой не было обнаружено никаких признаков установления равновесия $g \rightleftharpoons u$ по крайней мере в течение ≈ 3000 с после достижения дисбаланса $g : u$ с помощью метода СИД [229]. В данной работе авторы непосредственно отслеживали концентрации различных ЯСИ этилена, регистрируя интенсивности соответствующих линий в спектрах оптического поглощения. Однако эти эксперименты проводились при низком давлении этилена (0,2–3,2 торр), тогда как ЯМР-исследования в данной работе и работе В. Живонитко проводились при атмосферном давлении. Теория предсказывает существенное влияние давления на скорость взаимопревращения [35] и, следовательно, результаты, полученные при существенно различающихся давлениях, нельзя напрямую сравнивать.

Несмотря на различия в интерпретации, полученные значения T_{long} в случае катализаторов Pd-In/Al₂O₃ (1700 ± 1200 с) и Pd/TiO₂ (2200 ± 1300 с) в целом согласуются со значением, полученным ранее (1000 ± 400 с) [4]. Значительный дисбаланс $g : u$, создаваемый

катализатором Pd/TiO₂, в принципе, должен быть предпочтительнее для наблюдения процесса равновесия $g \rightleftharpoons u$. Однако использование катализатора Pd-In/Al₂O₃ позволило обнаружить усиленные сигналы от BrEtOD даже после 1 часа хранения этилена, в то время как для катализатора Pd/TiO₂ усиленные сигналы ЯМР обнаруживались при времени хранения этилена в шприце $T_{\text{storage}} < 30$ минут. Таким образом, было показано, что доля парного присоединения, которое может обеспечить катализатор, является более значимым фактором, позволяющим наблюдать усиленные сигналы в течение более длительного времени хранения. Важно отметить, что в системе находилось некоторое количество кислорода, который является парамагнитной частицей и, следовательно, ускоряет взаимопревращение ядерных спиновых изомеров этилена (аналогично превращению параводорода в ортоводород). Вероятно, дополнительная герметизация экспериментальной установки должна привести к наблюдению еще более длительных времен установления равновесия $g \rightleftharpoons u$.

Относительно большие погрешности в определении T_{long} связаны со сложностью самого эксперимента и эту проблему можно преодолеть, по крайней мере частично, с помощью автоматизации экспериментальной установки. Более того, дальнейшая оптимизация каталитической системы, сочетающей максимальную активность в *транс*-гидрировании посредством парного присоединения и значительную селективность к образованию этилена, представляет большой интерес для получения *E*-этилена с неравновесным спиновым порядком и, соответственно, дисбалансом между классами с разной инверсионной симметрией $g : u$.

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). В целом, оптимизация процесса обогащения ЯСИ этилена может быть полезна для различных применений. К ним относятся использование ЯСИ этилена в качестве перспективной «спиновой метки» для изучения механизмов широкого спектра промышленных каталитических процессов, таких как полимеризация и олигомеризация этилена, метатезис, окисление и алкилирование, а также в качестве источника гиперполяризации для более широкого спектра гиперполяризованных молекулярных маркеров.

Таким образом, в данном разделе работы было показано, что анализ формы линий усиленных сигналов ЯМР от продукта присоединения брома к этилену позволяет выявлять неравновесное соотношение ЯСИ этилена. В частности, экспериментально было показано, что стереоселективность присоединения $n\text{-H}_2$ к ацетилену (*син*- или *анти*-присоединение) определяет распределение ЯСИ образующегося этилена. Это стало возможным благодаря использованию трех различных гетерогенных катализаторов гидрирования, которые давали различное относительное количество *Z*-этилена (продукт *син*-присоединения) и *E*-этилена (продукт *анти*-присоединения). В частности, было показано, что Pd/TiO_2 очень активен в *цис-транс*-изомеризации двойной связи, давая *E*- и *Z*-этилен в соотношении 1 : 1, тогда как иммобилизованный комплекс Ir (Ir-P@SiO_2) производит почти исключительно *Z*-этилен.

Более того, было показано, что изменение формы линии ЯМР от BrEtOD со временем хранения этилена отражает динамику процессов установления равновесия между ЯСИ этилена и дополнительно подтверждает соотнесение процессов установления равновесия между ЯСИ с характерными временами, полученными из аппроксимаций. Для Ir-P@SiO_2 был получен моноэкспоненциальный спад с $T_{\text{short}} = 6,5 \pm 0,5$ с. Поскольку этот катализатор обеспечивает $\approx 100\%$ *син*-присоединение и, следовательно, не создает никакого дисбаланса $g : u$ между ЯСИ этилена, было заключено, что T_{short} — это характерное время установления равновесия между ЯСИ с одинаковой инверсионной симметрией (т. е., $A_g \rightleftharpoons B_{3g}, B_{1u} \rightleftharpoons B_{2u}$). В отличие от этого, в случае катализаторов на основе палладия, нанесенного на носитель, кинетика установления равновесия была биэкспоненциальной, со значениями $T_{\text{short}} 5,6 \pm 0,3$ с и $3,0 \pm 0,4$ с, а также $T_{\text{long}} 1700 \pm 1200$ с и 2200 ± 1300 с для $\text{Pd-In/Al}_2\text{O}_3$ и Pd/TiO_2 соответственно. На основе результатов для стереоселективного катализатора Ir-P@SiO_2 T_{long} был однозначно соотнесен с процессом установления равновесия между ЯСИ этилена с различной инверсионной симметрией ($g \rightleftharpoons u$).

3.4 Изучение гиперполяризации [^{13}C]формиата методом РНIP-SAH

Как подробно было описано в литературном обзоре, метод РНIP-SAH является одним из самых перспективных подходов для получения гиперполяризованных биомолекул в биосовместимых растворах, что критически важно для потенциальных применений в МРТ диагностике различных заболеваний. На данный момент большинство исследований, посвященных методу РНIP-SAH, концентрируются на гиперполяризации пирувата. Однако не существует фундаментальных ограничений для использования подхода РНIP-SAH для гиперполяризации других биомолекул, содержащих карбоксильную

группу. Следовательно, расширение этого подхода на другие биомолекулы является важной задачей для данной области исследований. Одной из перспективных в этом контексте молекул является формиат, поскольку он, с одной стороны имеет простую химическую структуру, а с другой – имеет большое значение как для фундаментальных каталитических исследований, так и для биологических исследований метаболизма растений. Подробно перспектива гиперполяризации формиата освещена в Литературном обзоре.

В данном разделе изучалась возможность гиперполяризации формиата посредством метода PHIP-SAH. Для этого сначала проводили гомогенное гидрирование предшественника (пропаргил [^{13}C]формиата) с p-H_2 , затем переносили поляризацию с ядер ^1H на ядра ^{13}C методом MFC, основанным на изменении постоянного магнитного поля B_0 (подробно см. в 1.5.5.3.2 Литературного обзора и в Экспериментальной части) и, наконец, проводили гидролиз для получения раствора гиперполяризованного [^{13}C]формиата натрия. Общая схема метода PHIP-SAH, использованная в данном разделе, представлена на рисунке 3.10 ниже.

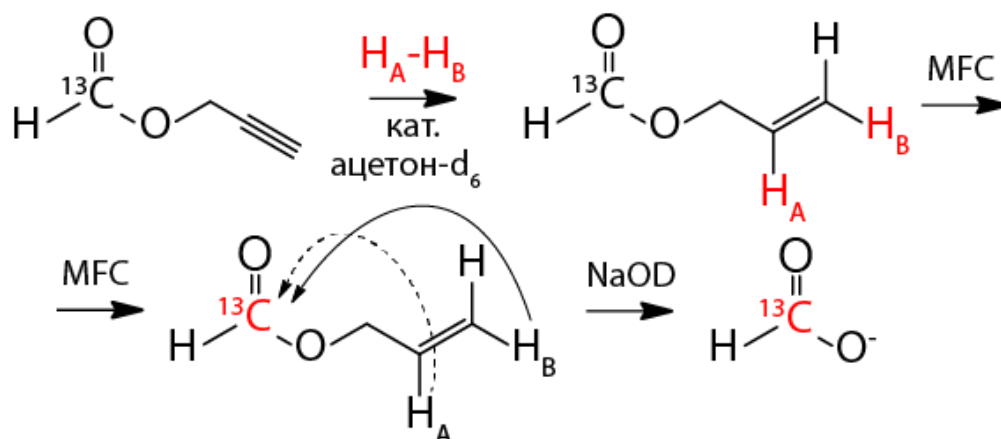


Рисунок 3.10. Общая схема метода PHIP-SAH, используемого для гиперполяризации [^{13}C]формиата натрия.

Как правило, эксперименты сначала проводили с пропаргил формиатом с природным содержанием ядер ^{13}C для оптимизации параметров эксперимента (температура реакции, давление p-H_2 , время барботирования p-H_2 и т. д.). Затем эксперименты повторяли с ^{13}C -меченым предшественником для получения гиперполяризованного аллил [^{13}C]формиата с наибольшей эффективностью. Оба предшественника синтезировали путем этерификации муравьиной кислоты (немеченой или меченой ядрами ^{13}C , соответственно). Подробная процедура синтеза описана в Экспериментальной части. В качестве катализатора гидрирования использовали катионный комплекс родия $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{NBD})]^+$,

который образовывался в процессе смешивания коммерчески доступных $[\text{Rh}(\text{NBD})_2]\text{BF}_4$ и dppf в соотношении 1 : 1. Образец готовили таким образом, чтобы конечные концентрации пропаргил формиата и катализатора составляли 40 мМ и 2,5 мМ, соответственно. В качестве растворителя во всех экспериментах использовался ацетоне- d_6 .

Для проведения всех экспериментов использовали поляризатор MATRESHCA. Кратко методика заключалась в следующем: через ампулу ЯМР с образцом в течение варьируемого времени пропускали p-H_2 со степенью обогащения 98% под давлением 7,8 бар. Было установлено, что 100%-ная конверсия пропаргил формиата достигается при следующих экспериментальных условиях: предварительный нагрев ампулы ЯМР с образцом в водяной бане (65 °С) в течение 15 с и последующее барботирование p-H_2 в течение 3 с при скорости потока 25 ст. $\text{cm}^3/\text{мин}$ и давлении 7,8 бар. За конверсией следили с помощью спектроскопии ЯМР ^1H . Детальная схема установки приведена в экспериментальной части.

В зависимости от экспериментального протокола можно поляризовать либо ядра ^1H , либо ядра ^{13}C . В обоих случаях предварительный нагрев образца и гидрирование проводили в магнитном поле Земли. Затем образец можно либо непосредственно перенести в спектрометр ЯМР для оценки уровней поляризации по ядрам ^1H (рисунок 3.11 (а)), либо поместить в магнитный экран из пермаллоя для переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C с последующим переносом в спектрометр ЯМР для детектирования спектра ЯМР ^{13}C (рисунок 3.11 (б)). В третьем экспериментальном протоколе сразу после переноса поляризации на ядра ^{13}C к образцу добавляли горячий раствор NaOD для гидролиза, после чего образец сразу переносили в спектрометр ЯМР для детектирования спектра ЯМР ^{13}C (рисунок 3.11 (в)). Подробности экспериментальных протоколов представлены в Экспериментальной части.

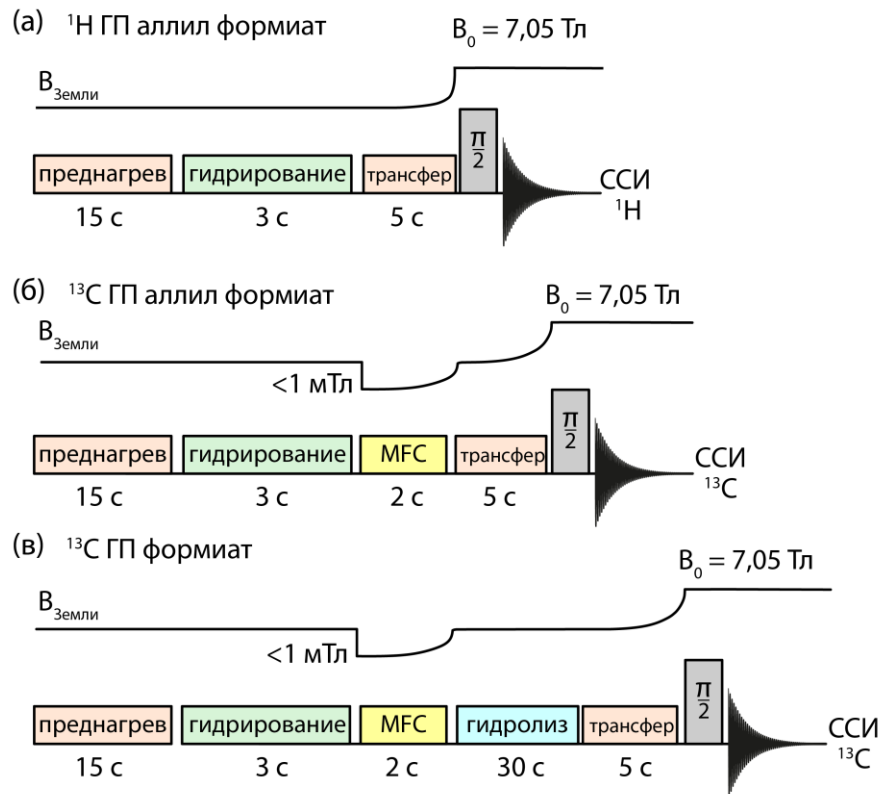


Рисунок 3.11. Общая схема экспериментальных протоколов, используемых в данной работе. (а) Экспериментальный протокол по поляризации ядер ^1H для аллил ^{13}C формиата. (б) Экспериментальный протокол по поляризации ядер ^{13}C для аллил ^{13}C формиата. (в) Экспериментальный протокол по поляризации ядер ^{13}C для ^{13}C формиата натрия.

Сначала был оценен уровень поляризации ядер ^1H для аллил формиата. Как упоминалось выше, для этого проводили гидрирование п- H_2 пропаргил ^{13}C формиата в течение 3 с при скорости потока 25 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$ (в таких условиях конверсия составляла примерно 100%). Следует отметить, что последующее гидрирование аллильного эфира до пропила ^{13}C формиата также происходило, и селективность к образованию аллил ^{13}C формиата составляла $> 80\%$. Гидрирование происходило в магнитном поле Земли, что соответствует эксперименту ALTADENA. Для всех протонов аллильного фрагмента наблюдаются усиленные сигналы ЯМР типа ALTADENA. Спектр ЯМР ^1H от гиперполяризованного аллил ^{13}C формиата представлен на рисунке 3.12 (б), а соответствующий спектр для состояния теплового равновесия показан на рисунке 3.12 (в). Усредненное значение усиления сигнала ЯМР ^1H составило 7030 ± 250 при комнатной температуре и магнитном поле 7,05 Тл, что соответствует уровням поляризации ядер ^1H $16,6 \pm 0,6\%$. Были учтены результаты трех независимых экспериментов, усиление сигнала рассчитывали для протона 2d.

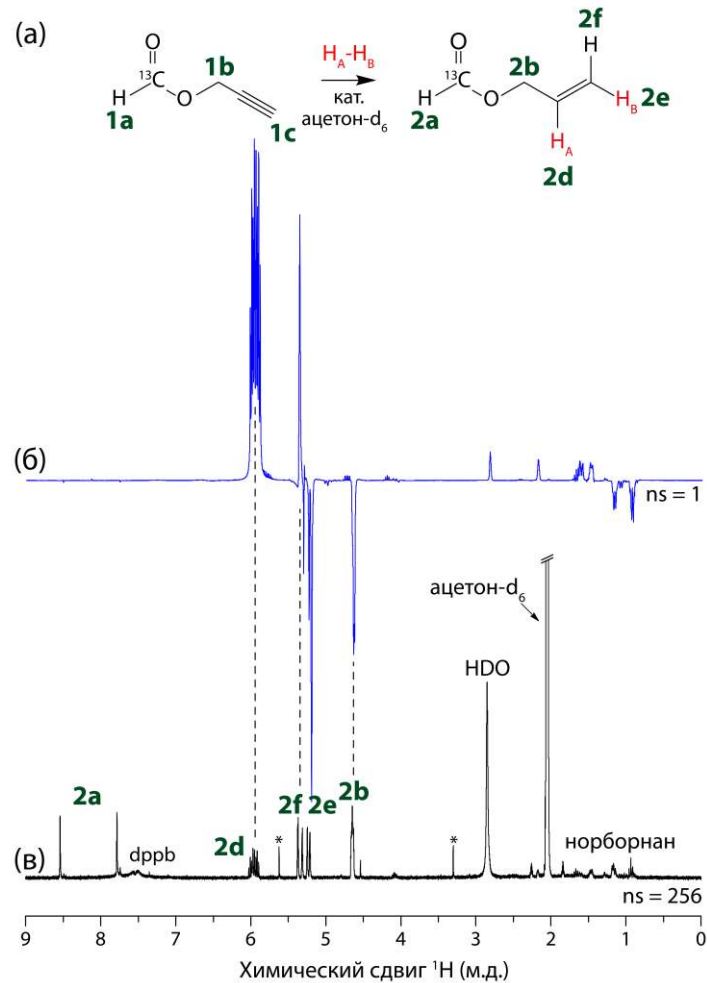


Рисунок 3.12. (а) Схема реакции гомогенного гидрирования п-Н₂ пропаргил [¹³С]формиата. (б) Спектр ЯМР ¹Н, записанный сразу после поляризации ядер ¹Н аллил [¹³С]формиата и (в) соответствующий спектр ЯМР ¹Н, записанный после достижения теплового равновесия (количество накоплений сигнала, NS = 256). Сигналы, обозначенные звездой (*), соответствуют примесям в ацетоне-d₆ (CH₂Cl₂ при δ ≈ 5,6 м.д. и CH₃OH при δ ≈ 3,3 м.д.).

Важно отметить, что усиленные сигналы в спектре ЯМР ¹Н (в диапазоне δ ≈ 1,5–1,0 м.д.) соответствуют протонам норборнана – продукта гидрирования норборнена NBD, который присутствовал в растворе в свободной форме. Слабоинтенсивные гиперполяризованные сигналы около сигналов 2d, 2e относятся к аллиловому спирту, образующемуся в результате гидрирования остаточного пропаргилового спирта, содержащегося в исходном пропаргильовом эфире муравьиной кислоты.

Далее был оптимизирован перенос поляризации с ядер ¹Н на ядра ¹³С для аллил [¹³С]формиата. Как описано выше, для переноса поляризации использовался метод MFC, при котором гиперполяризованный по ядрам ¹Н образец кратковременно помещали внутрь магнитного экрана из пермаллоя, оснащенного соленоидом, создающим постоянное

магнитное поле, после чего образец переносился в спектрометр ЯМР для регистрации спектров ЯМР ^{13}C . Были проведены эксперименты MFC с варьируемым значением напряженности магнитного поля внутри магнитного экрана (рисунок 3.13). Магнитное поле внутри магнитного экрана для каждого отдельного эксперимента поддерживалось постоянным (остаточное поле, 120, 250, 380, 500 или 740 нТл), а образец переносился вручную. Полученная зависимость поляризации ядер ^{13}C аллил ^{13}C формиата от напряженности магнитного поля демонстрирует максимум поляризации при 250 нТл; при этом экспериментальная зависимость качественно соотносится с рассчитанным профилем (рисунок 3.13 (г)). Максимальная наблюдаемая поляризация ядер ^{13}C составила $1,7 \pm 0,2\%$ (что соответствует $SE = 2650$ при 7,05 Тл и комнатной температуре) при 250 нТл. Одно из рассчитанных оптимальных полей для переноса поляризации немного выше (около 270 нТл) экспериментального. Другие пики (при $\approx 500, 540$ и 610 нТл) в рассчитанной зависимости узкие, что затрудняет экспериментальное выполнение таких условий. Зависимость от напряженности магнитного поля внутри экрана для аллил ^{13}C формиата имеет сложный вид из-за большого количества различных КССВ в молекуле. КССВ корректировались до тех пор, пока моделируемые спектры не соответствовали экспериментальным спектрам ЯМР (значения КССВ приведены в Приложении 4). Времена спин-решеточной релаксации (T_1) для ядер ^1H и ^{13}C в аллил ^{13}C формиате, растворенном в ацетоне- d_6 , были измерены с помощью стандартной импульсной последовательности инверсия-восстановление при комнатной температуре (атмосфера внутри ампулы ЯМР не контролировалась). Время релаксации T_1 для аллильного протона (сигнал 2d на рисунке 3.12) было оценено как $16,2 \pm 0,1$ с, тогда как время T_1 для ядра ^{13}C в аллил ^{13}C формиате составило $20,3 \pm 0,1$ с (при 7,05 Тл).

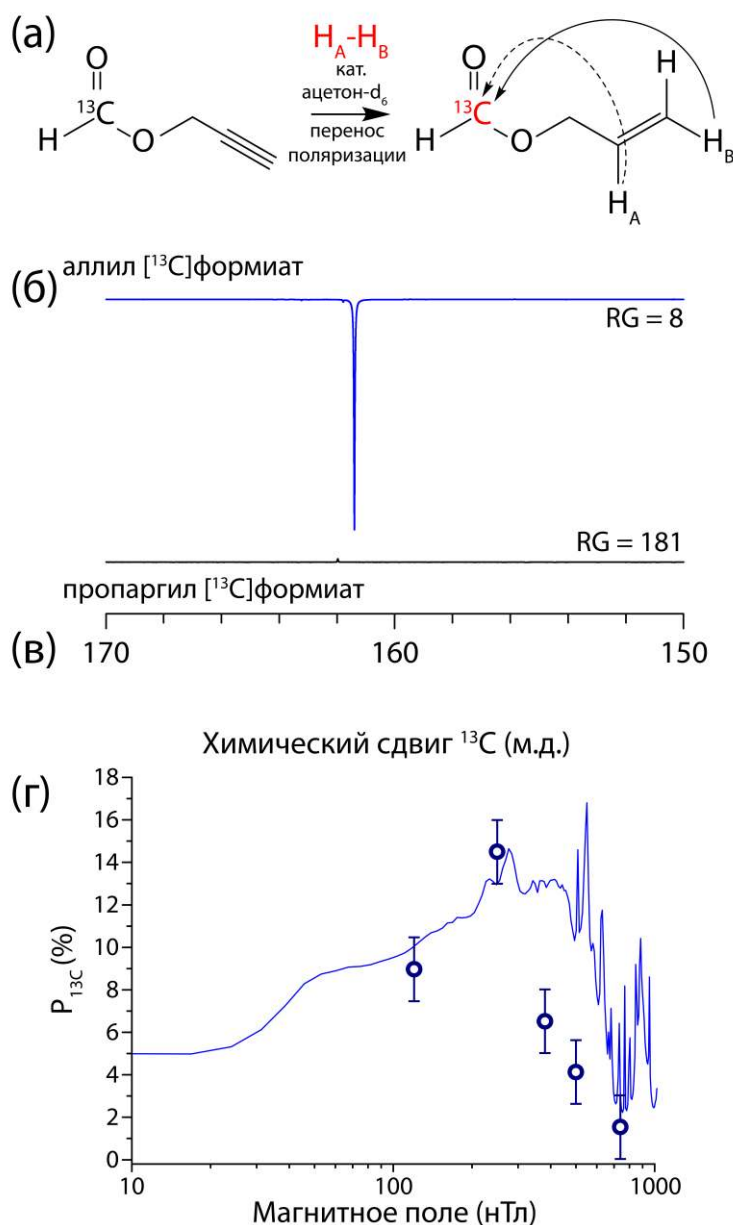


Рисунок 3.13. (а) Схема реакции парного присоединения H_2 к пропаргил ^{13}C формиату. (б) Спектр ЯМР ^{13}C после поляризации ядер ^{13}C аллил ^{13}C формиата при 250 нТл с использованием метода MFC ($\text{RG} = 8$), и (в) спектр ЯМР ^{13}C от исходного пропаргил ^{13}C формиата в состоянии теплового равновесия с $\text{RG} = 181$. (г) Экспериментальная (точки) и рассчитанная (сплошная линия) зависимость $P(^{13}\text{C})$ аллил ^{13}C формиата от магнитного поля внутри экрана в экспериментах MFC.

Гиперполяризованный аллил ^{13}C формиат может быть подвергнут дальнейшему гидролизу для получения водного раствора ^{13}C формиата натрия, как это было продемонстрировано для других молекул, гиперполяризованных с использованием метода РНП-САН [119]. В данной работе показано, что этот подход применим для формиатного фрагмента. Добавление водного раствора основания (0,6 мл 1,7 мас.% NaOD и 50 мМ аскорбата натрия в D_2O) привело к полному гидролизу и образованию гиперполяризованного ^{13}C формиата натрия. Аскорбат используют как восстановитель

радикальных частиц, в частности растворенного кислорода, в процедуре РНП-САН [216]. Образование формиата натрия подтверждается изменением химического сдвига ядра ^{13}C относительно спектров до гидролиза и наличие расщепления сигнала в спектре, записанном в тепловом равновесии, возникающего из-за наличия КССВ между ядрами ^{13}C и ^1H в формиате, равной 193 Гц (рисунок 3.14 (в)). Весь процесс, начиная с гидрирования и заканчивая образованием гиперполяризованного [^{13}C]формиата занял ≈ 35 с. После гидролиза образец переносили в спектрометр ЯМР для регистрации спектров по ядрам ^{13}C (представлены на рисунке 3.14 (б)). Уровни поляризации по ядрам ^{13}C были оценены как 0,4% (что соответствует $\text{SE} = 600$ при 7,05 Тл). Время релаксации T_1 для ядра ^{13}C в [^{13}C]формиате было оценено как $13,1 \pm 0,5$ с в конечном растворе при 7,05 Тл.

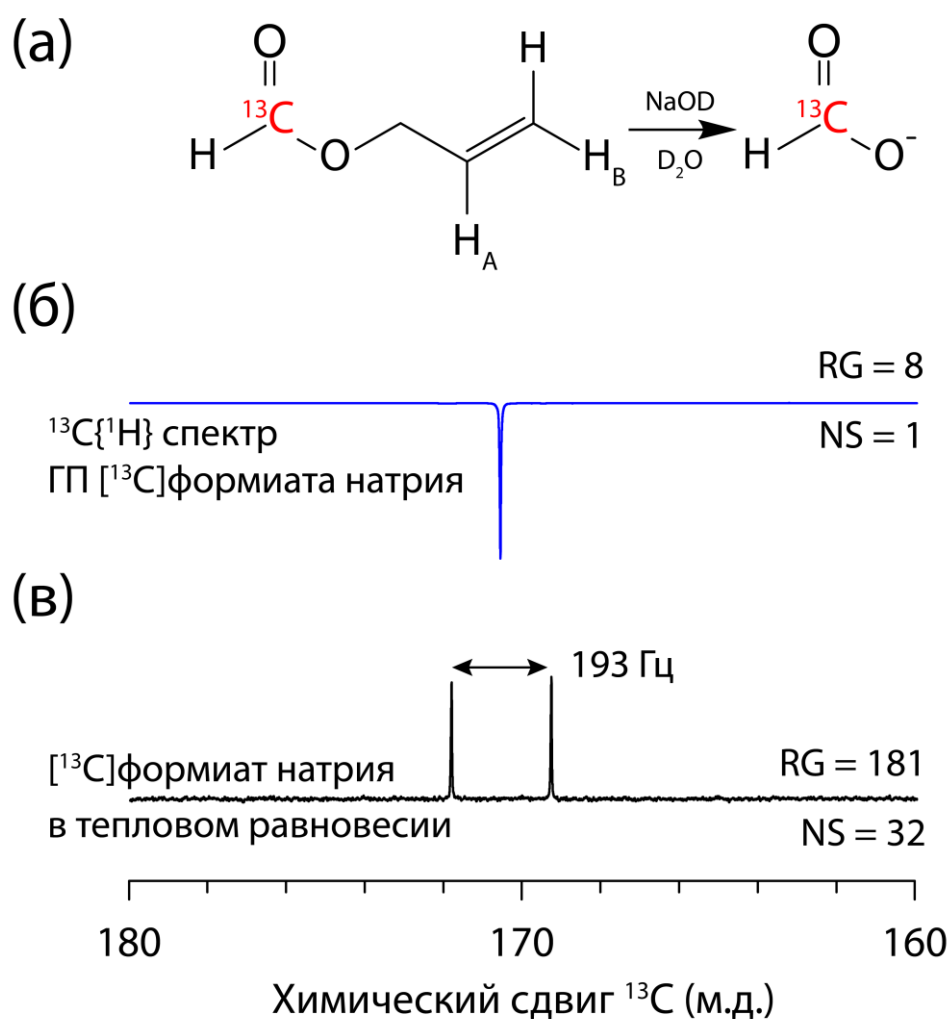


Рисунок 3.14. (а) Схема реакции образования гиперполяризованного [^{13}C]формиата натрия путем гидролиза аллил [^{13}C]формиата водным раствором NaOD. (б) Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ гиперполяризованного [^{13}C]формиата натрия после гидролиза с $\text{RG} = 8$ и (в) соответствующий спектр ЯМР ^{13}C в состоянии теплового равновесия с $\text{RG} = 181$ и $\text{NS} = 32$ без развязки по протонам.

Предложенный в данной работе подход был оптимизирован для получения гиперполяризованного аллил [^{13}C]формиата с помощью метода РНIP-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, в результате которого образуется гиперполяризованный [^{13}C]формиат натрия. Важно отметить, что потери поляризации во время гидролиза могут быть уменьшены за счет автоматизации установки.

3.5 Изучение гиперполяризации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата методом РНIP-SAH

Другим перспективным для гиперполяризации субстратом является ацетоацетат. Как было подробно описано в Литературном обзоре, ацетоацетат играет ключевую роль в метаболизме митохондрий и скорость его превращения в гидроксibuтират зависит от RedOx потенциала митохондрий, что в перспективе позволяет использовать гиперполяризованный ацетоацетат в качестве маркера RedOx потенциала в митохондриях.

Данный раздел работы посвящен изучению гиперполяризации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата методом РНIP-SAH. Прежде всего, были оптимизированы условия проведения реакции гидрирования для достижения наивысших уровней молярной поляризации ^1H с использованием немеченого предшественника (пропаргил ацетоацетата). Затем были исследованы различные подходы к переносу поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C для достижения наивысших 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 показана на рисунке 3.15 ниже. Для простоты всем соединениям в данной части работы были присвоены обозначения в виде цифр (все обозначения приведены в Приложении 5).

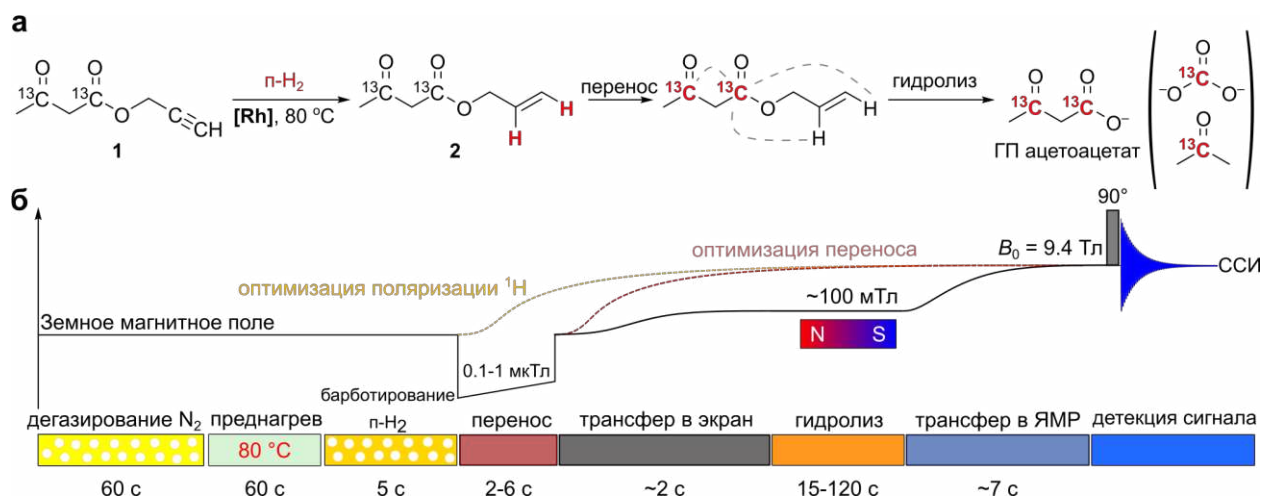


Рисунок 3.15. (а) Упрощенная схема химических превращений в ходе процедуры РНР-SAH для получения гиперполяризованного $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата, который при гидролизе может превращаться в $[^{13}\text{C}]$ карбонат и $[2-^{13}\text{C}]$ ацетон. (б) Последовательность событий в методе РНР-SAH с указанием напряженности магнитного поля, в котором они проводились.

Для достижения быстрой и полной химической конверсии пропаргил ацетоацетата были выбраны относительно высокая температура ($80\text{ }^\circ\text{C}$) и давление (7 бар). Таким образом, ключевым параметром для оптимизации является время барботирования p-H_2 . С одной стороны, для достижения полной конверсии пропаргил ацетоацетата необходимо проводить гидрирование в течение достаточного времени. С другой стороны, при длительном гидрировании пропаргил ацетоацетата может протекать полное гидрирование пропаргилового эфира до пропилового эфира (рисунок 3.16 (а)). Кроме того, при длительном времени гидрирования имеет значение потеря поляризации по ядрам ^1H из-за релаксационных эффектов. Таким образом, важно оптимизировать время барботирования p-H_2 для достижения максимальной молярной поляризации ^1H (т. е. произведения концентрации и уровня поляризации) аллилового эфира. Оптимизация параметров гидрирования проводилась с использованием немеченого пропаргил ацетоацетата. Полученная зависимость молярной поляризации ^1H аллил ацетоацетата от времени барботирования p-H_2 (рисунок 3.16 (б)) была аппроксимирована биэкспоненциальной функцией. Из экспериментальной зависимости было установлено, что максимальная молярная поляризация по ядрам ^1H соответствует 3–5 секундам гидрирования. Для дальнейших экспериментов была выбрана длительность барботирования 5 с, поскольку часть кранов в системе подачи водорода управлялась вручную и выбор меньшего времени приводил бы к значительной ошибке, вызванной человеческим фактором. Зависимость селективности образования аллил ацетоацетата от времени барботирования p-H_2 (рисунок 3.16 (б)) была также получена из спектров ЯМР ^1H образцов в тепловом равновесии, а затем аппроксимирована функцией, выведенной из схемы двух последовательных реакций

псевдопервого порядка (детали кинетического анализа приведены в Приложении 6). При времени барботирования 5 с наблюдалось полное превращение пропаргил ацетоацетата, в то время как селективность к образованию аллил ацетоацетата составила 80%. Данные условия проведения реакции были успешно перенесены на меченый предшественник (пропаргил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетат или **1** на схеме), и в экспериментах с водородом, обогащенным пара-изомером до $\approx 95\%$, протонная поляризация $P(^1\text{H})$, рассчитанная для винильного протона 2с в аллил ацетоацетате, составила $\approx 25,5\%$ (рисунок 3.16 (в)). Также следует отметить, что в спектрах ЯМР гиперполяризованных образцов были обнаружены сигналы енольных форм аллил ацетоацетата (**2'** на схеме) и пропил ацетоацетата (**3'** на схеме). Однако, исходя из анализа спектров в тепловом равновесии был сделан вывод о том, что образованием енольных форм можно пренебречь в контексте последующих экспериментов. Для аппроксимации зависимостей молярной поляризации ядер ^1H и селективности к образованию аллил ацетоацетата были использованы кинетические константы k_1 и k_2 , полученные в результате детального кинетического анализа, приведенного в Приложении 6.

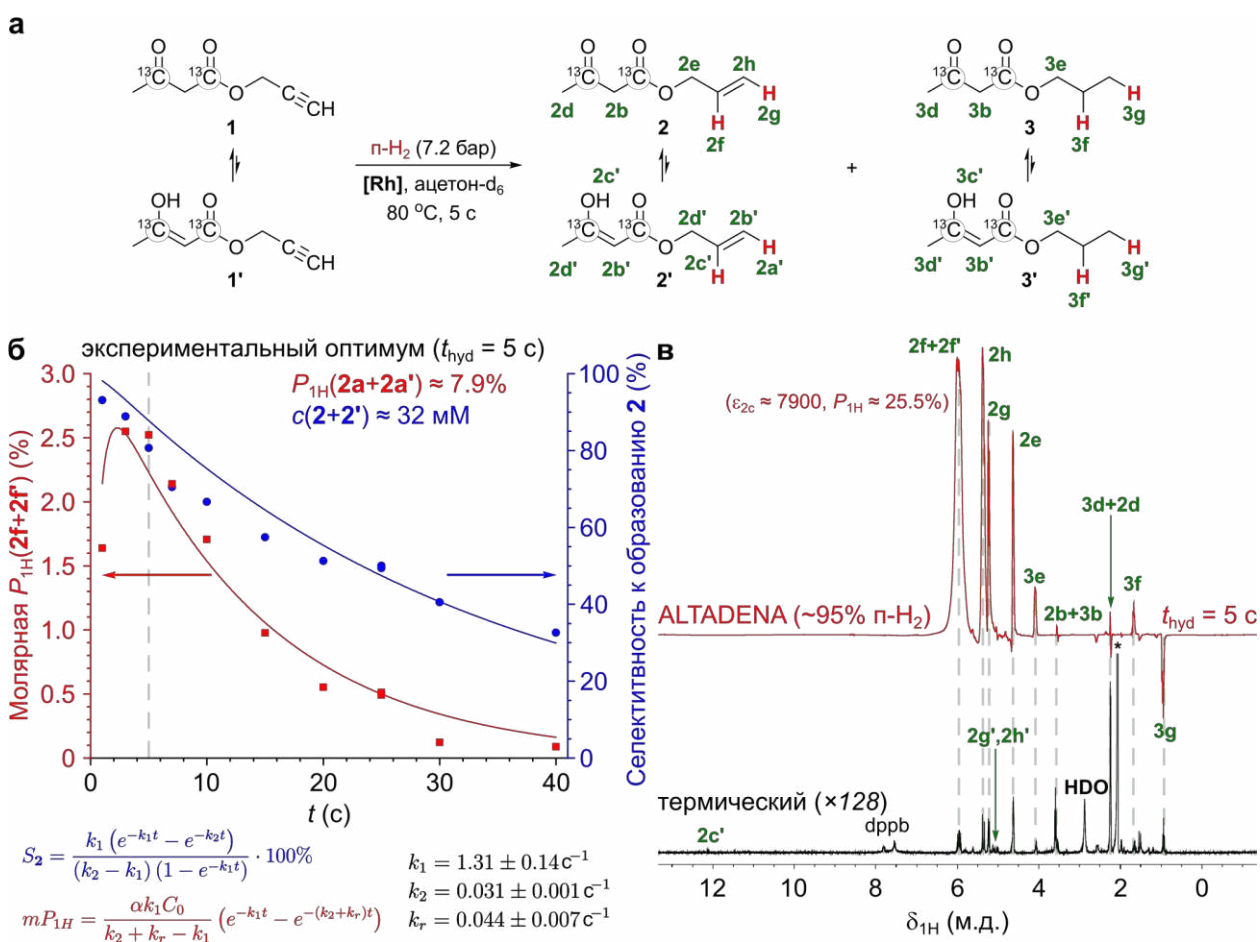


Рисунок 3.16. (а) Схема химических превращений при гидрировании пропаргил $[1,3-^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата с п- H_2 . (б) Зависимость уровня молярной поляризации ^1H (красная

кривая) и селективности к образованию аллил ацетоацетата (синяя кривая) от времени барботирования $p\text{-H}_2$. Для уровней поляризации ^1H шкала показана слева (красным), а для селективности – справа (синим); кинетические константы k_1 и k_2 были получены из данных спектров ЯМР после достижения теплового равновесия в результате детального кинетического анализа (детали в Приложении б). (в) Спектр ЯМР ^1H , полученный непосредственно после гиперполяризации ядер ^1H (красная линия), и соответствующий спектр ЯМР ^1H после релаксации ядерных спинов к тепловому равновесию (черная линия, интенсивность увеличена в 128 раз). Данные, показанные на панели (б), были получены с использованием $\approx 50\%$ $p\text{-H}_2$, тогда как спектры на панели (в) были получены с использованием $\approx 95\%$ $p\text{-H}_2$, что приводит к примерно трехкратному различию уровней поляризации.

Далее были исследованы различные подходы к переносу поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C в аллил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетате. Сначала использовался подход MFC (аналогичный тому, что использовался для формиата в предыдущей главе), поскольку это наиболее доступный подход для переноса поляризации. В этом методе непосредственно после гидрирования образец быстро помещали внутрь магнитного экрана (оснащенного соленоидом, создающим целевое поле B_0), а затем адиабатически извлекали из магнитного экрана, после чего образец переносили в спектрометр ЯМР для регистрации спектров. Поле B_0 внутри магнитного экрана варьировалось, и было обнаружено, что максимальные наблюдаемые уровни поляризации ^{13}C составляли $P(^{13}\text{C}\text{-}1) = 3,3\%$ и $P(^{13}\text{C}\text{-}3) = 1,7\%$ при $B_0 = 150$ нТл. Однако данный подход не обеспечил хорошей воспроизводимости, и в дальнейшем был использован подход с цифровым управлением и линейным изменением B_0 (или подход B_0 sweep), который ранее применялся в нескольких исследованиях, связанных с методом РНП-САН [139,230,231]. Принцип данного подхода аналогичен методу MFC за исключением того, что магнитное поле внутри экрана меняется контролируемым линейным образом. Подробно процедура B_0 sweep описана в Экспериментальной части. После оптимизации времени переключения поля B_0 , начального и конечного значения B_0 магнитного поля было обнаружено, что максимальные наблюдаемые уровни поляризации ^{13}C были выше, чем полученные ранее с помощью MFC, а именно $P(^{13}\text{C}\text{-}1) = 4,1\%$ и $P(^{13}\text{C}\text{-}3) = 2,7\%$ (см. пары сигналов $2g+3f$ и $2e+3d$ на рисунке 3.17 (б)). Также наблюдались сигналы, соответствующие гиперполяризованным ядрам ^{13}C пропил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата (сигналы $3f$ и $3d$ на рисунке 3.17 (б)) и енольным формам обоих соединений (сигналы $3f'/3d'$ и $2g'/2e'$ на рисунке 3.17 (б)).

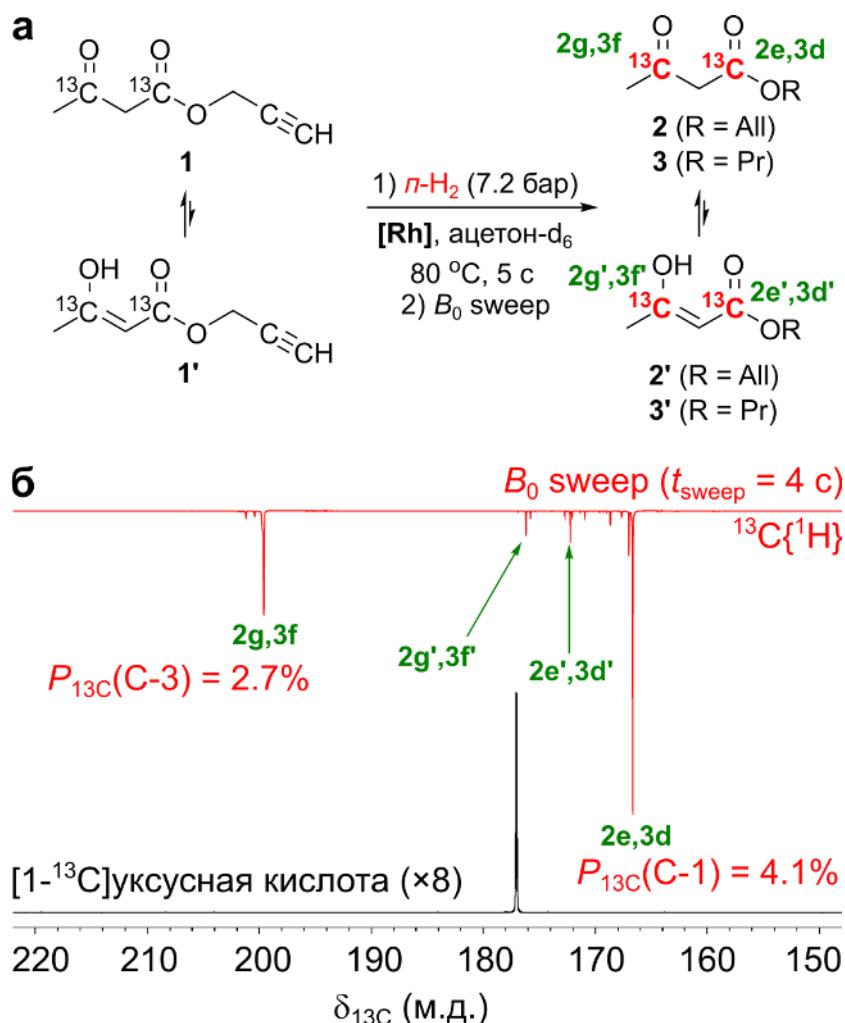


Рисунок 3.17. (а) Схема химических превращений в процессе гидрирования пропаргил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата с $n\text{-H}_2$ с последующим переносом поляризации на ядра ^{13}C . (б) Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, полученный непосредственно после переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C (красная кривая) с использованием метода B_0 sweep, и спектр ЯМР ^{13}C чистой [1- ^{13}C]уксусной кислоты в тепловом равновесии (черная кривая), увеличенный в 8 раз. В методе B_0 sweep были использованы следующие параметры: B_0 (начальное) = 25 нТл, B_0 (конечное) = 700 нТл, $t_{\text{sweep}} = 4$ с, полученные в результате оптимизации процедуры.

Для получения целевой биомолекулы ([1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата 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) [150]. Вместо этого наблюдались усиленные сигналы от енолятной формы аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата (рисунок 3.18). Следует отметить, что существуют два геометрических (E - и Z -) изомера енолятов. Таким образом, в щелочных условиях аллил ацетоацетат чрезвычайно быстро депротонируется, что приводит к образованию отрицательно заряженных стабильных енолятов (см. соединения Z -5/6 и E -5/6 на рисунке 3.18), которые ингибируют гидролиз.

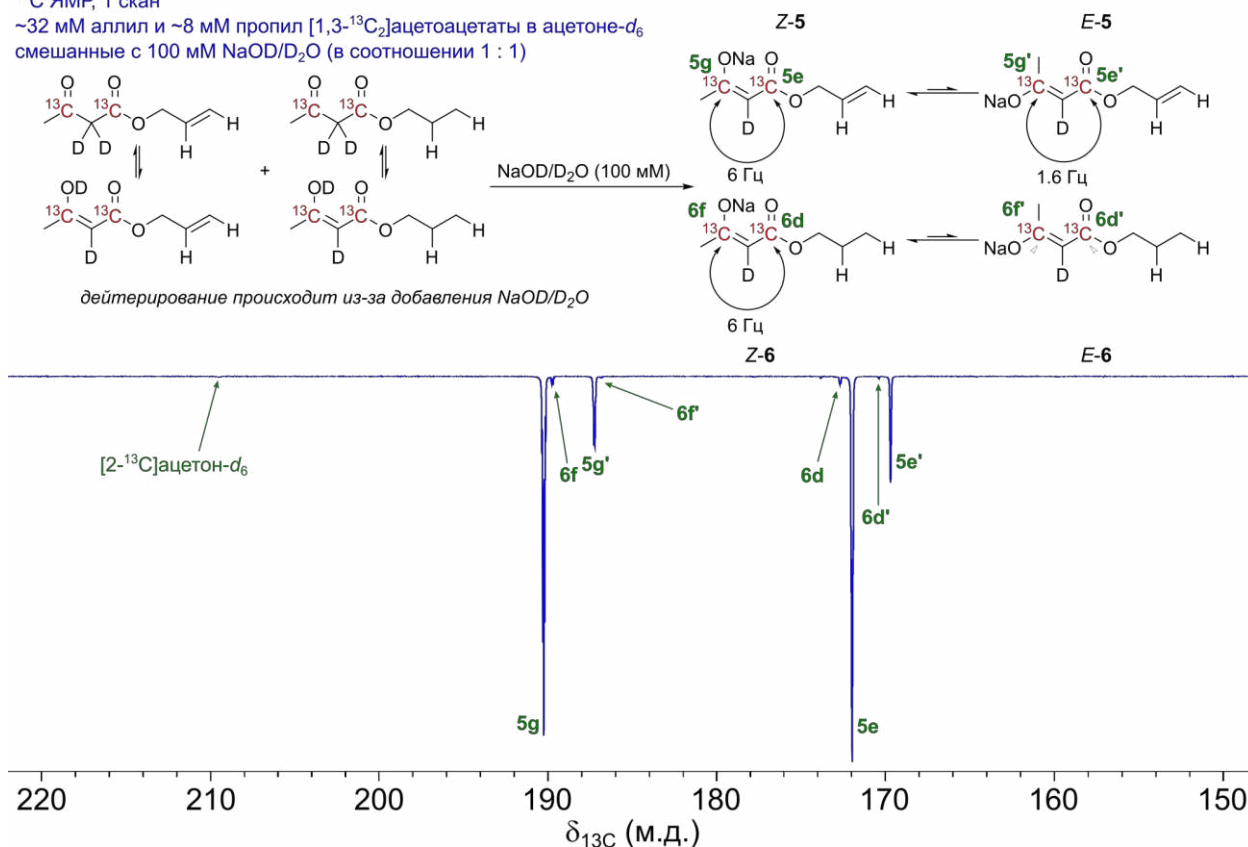
¹³C ЯМР, 1 скан~32 мМ аллил и ~8 мМ пропил [1,3-¹³C₂]ацетоацетаты в ацетоне-d₆ смешанные с 100 мМ NaOD/D₂O (в соотношении 1 : 1)

Рисунок 3.18. Спектр ЯМР ¹³C от гиперполяризованных продуктов гидрирования пропаргил [1,3-¹³C₂]ацетоацетата в ацетоне-d₆ с последующим добавлением 100 мМ раствора NaOD в D₂O (показана область 150–220 м.д.).

Для преодоления описанной выше проблемы реакцию гидролиза проводили в течение десятков секунд в жестких условиях – 1 М NaOD в D₂O (с добавлением 50 мМ аскорбата натрия для восстановления растворенного кислорода) при 100 °С и под давлением N₂, равным 4 бар. Для оценки скорости гидролиза варьировали время реакции (в частности, 15 с, 30 с, 60 с и 120 с; см. рисунок 3.19 (в)). Для всех исследованных временных точек наблюдались усиленные сигналы от ядер ¹³C енолята (области, соответствующие этим сигналам, выделены зеленым цветом на рисунке 3.19). Однако уже после 15 с гидролиза наблюдались сигналы от ядер ¹³C [1,3-¹³C₂]ацетоацетата (сигналы 4а и 4с на рисунке 3.19 (в)), что указывает на то, что гидролиз начинает происходить уже на таких временных масштабах. Одновременно с этим, во всех экспериментах наблюдались продукты разложения [1,3-¹³C₂]ацетоацетата – [2-¹³C]ацетон и карбонат-ион ¹³CO₃²⁻, (рисунок 3.19 (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 [2-¹³C]ацетона и ¹³CO₃²⁻ из гиперполяризованного [1,3-¹³C₂]ацетоацетата и их последующей T₁ релаксацией. Таким образом, для исследованных щелочных условий не удалось достичь полного гидролиза

енолятов **5** и **6**, избежав при этом разложения ацетоацетата. Важно отметить, что поляризация продуктов гидролиза затухала довольно быстро, поскольку времена релаксации T_1 ядер ^{13}C в енолятах относительно короткие ($T_1(^{13}\text{C}-1) \approx 20\text{--}22$ с и $T_1(^{13}\text{C}-3) \approx 17\text{--}18$ с). Детали измерения времен релаксации T_1 приведены в Приложении 7.

Также был исследован кислотный гидролиз в следующих условиях: 1 М DCl в D_2O , при 100 °С в течение 60 с под давлением N_2 , равным 4 бар. В результате были обнаружены усиленные сигналы, соответствующие исходным реагентам (**2**, **2'**, **3**, **3'**), а также усиленные сигналы от $^{13}\text{CO}_2$ и $[2\text{-}^{13}\text{C}]$ ацетона (рисунок 3.19 (б)). Это ожидаемо, поскольку хорошо известно, что β -кетокислоты легко разлагаются до CO_2 и соответствующего кетона в кислых условиях [232].

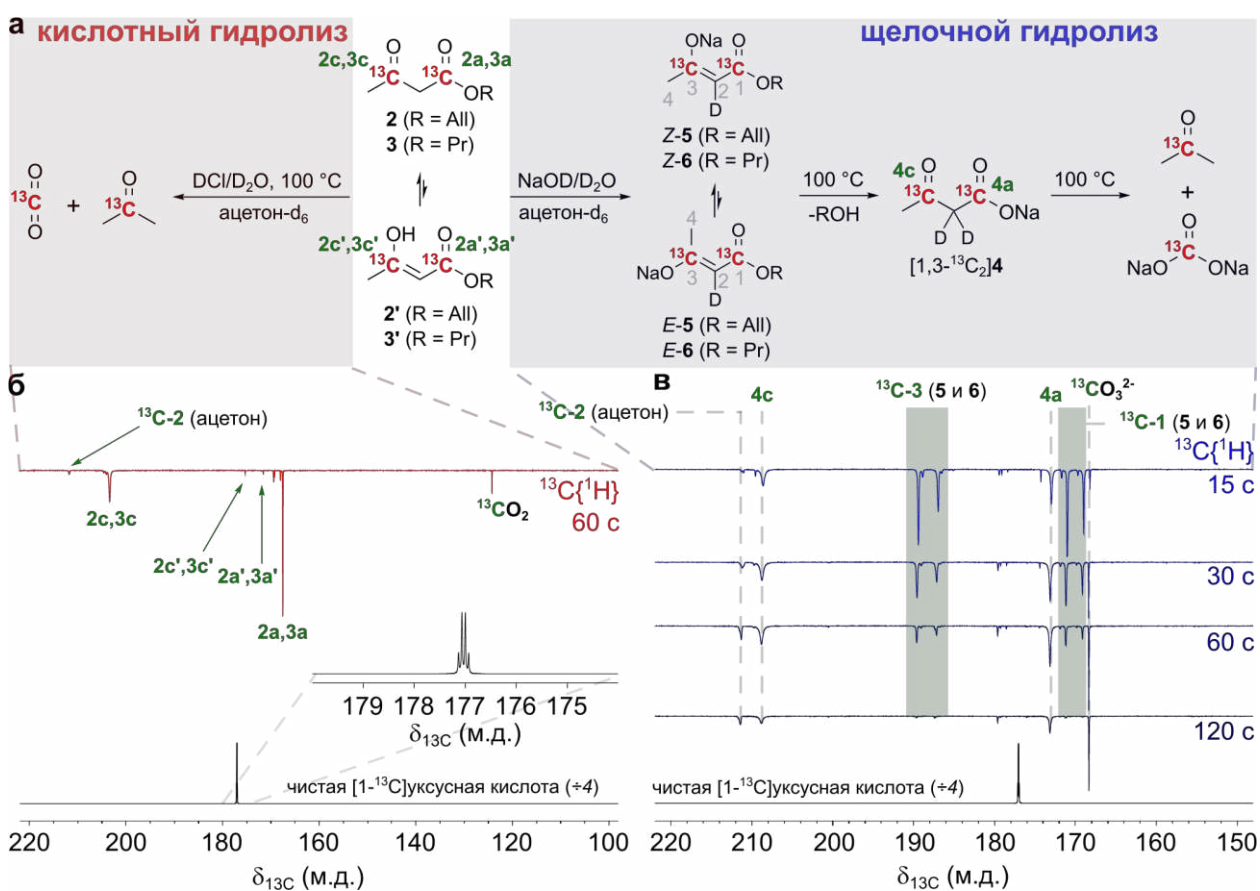


Рисунок 3.19. (а) Схема химических превращений при гидролизе аллил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата и его енольной формы в кислых (выделено красным, 1 М DCl/ D_2O) и щелочных условиях (выделено синим, 1 М NaOD/ D_2O) при 100 °С и давлении N_2 , равном 4 бар. (б) Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, полученный через 60 с после начала гидролиза аллил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата в кислых условиях (красная линия) и спектр ЯМР ^{13}C чистой $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ уксусной кислоты в состоянии теплового равновесия (черная линия, интенсивность уменьшена в 4 раза). (в) Спектры ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, полученные после начала гидролиза аллил $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата в щелочных условиях при различных временах (15 с, 30 с, 60 с, 120 с) (синие спектры) и спектр ЯМР ^{13}C чистой $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ уксусной кислоты в состоянии теплового равновесия, уменьшенный в 4 раза (черная линия, интенсивность уменьшена в 4 раза).

Для более глубокого понимания процессов, происходящих в щелочных условиях, была изучена динамика гидролиза в реальном времени с помощью спектроскопии ЯМР ^{13}C . Для этого сразу после добавления щелочного раствора образец помещали в спектрометр ЯМР, датчик которого был предварительно нагрет до $100\text{ }^\circ\text{C}$. Для отслеживания процесса гидролиза спектры ЯМР регистрировали каждые 15 с, прикладывая 22° РЧ-импульсы (рисунок 3.20 (б)). Было показано, что интенсивность сигналов ЯМР $[1,3\text{-}^{13}\text{C}_2]$ ацетоацетата достигал максимума примерно через 60 с, при этом в этот момент в спектрах также присутствуют сигналы от $[2\text{-}^{13}\text{C}]$ ацетона и $[^{13}\text{C}]$ карбоната. Сигнал $[^{13}\text{C}]$ карбоната достиг максимума через 90 с после начала эксперимента и детектировался в течение самого длительного времени (вплоть до 210 с), поскольку, вероятно, для него характерно наибольшее время релаксации T_1 среди всех присутствующих в образце гиперполяризованных соединений. В целом, полученная кинетика согласуется с другими наблюдениями, описанными выше: непосредственно после добавления основания аллил ацетоацетат мгновенно и количественно превращается в енолят, который затем медленно расходуется, гидролизуясь с образованием ацетоацетат-иона, который в конце концов разлагается на карбонат-ион и ацетон.

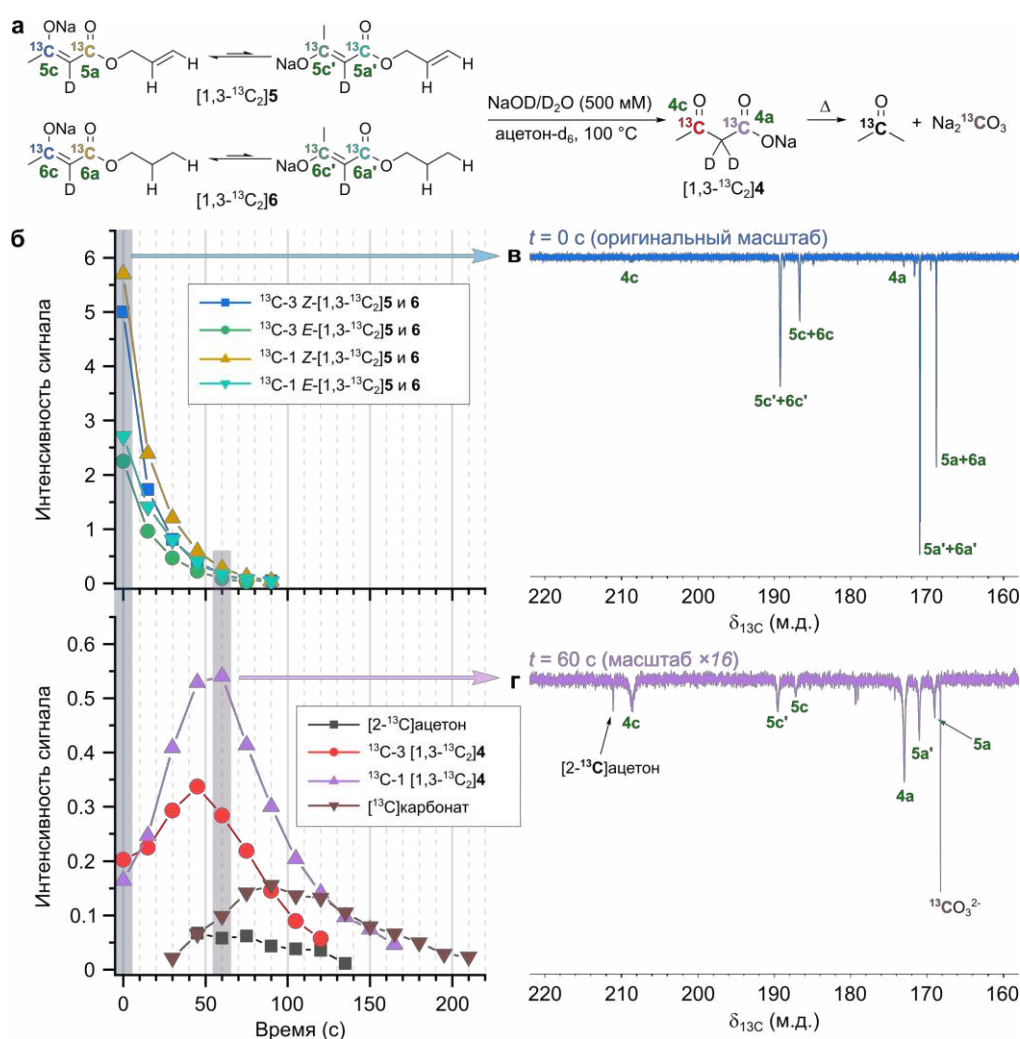


Рисунок 3.20. (а) Схема химических превращений в процессе гидролиза енолята аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата в щелочной среде при 100 °С. (б) Зависимость интегральной интенсивности усиленных сигналов от времени наблюдения внутри спектрометра ЯМР. (в) Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, полученный непосредственно сразу начала гидролиза в исходном масштабе. (г) Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, полученный после 60 с гидролиза, интенсивность спектра увеличена в 16 раз.

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, по крайней мере, некоторого 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 ^{13}C теряется в результате быстрой T_1 релаксации, наблюдаемой в интермедиатах (конкретно в енолятах **5** и **6**) в исследованных экспериментальных условиях. Например, начальная $P(^{13}\text{C}-1)$ для аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата **2** составляла 4,1%, тогда как $P(^{13}\text{C}-1)$ в [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетате составляла приблизительно 0,3% после 60 с гидролиза с 1 М NaOD при 100 °С в магнитном поле ≈ 100 мТл. Указанные выше значения поляризации по ядрам ^{13}C после гидролиза являются оценкой снизу, поскольку точно измерить концентрации [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата и [^{13}C]карбоната во время гидролиза не представлялось возможным. Оценка в 0,3% была рассчитана в предположении, что соединение **2** полностью превратилось в [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат, чего не происходило в реальных экспериментах поэтому данное значение является оценкой снизу.

Потенциально скорость гидролиза можно было бы увеличить, используя еще более жесткие условия (например, более высокую температуру и давление), хотя в этом случае разложение [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата на [2- ^{13}C]ацетон и [^{13}C]карбонат, вероятно, будет еще более значительным. Однако важно отметить, что гиперполяризованный [^{13}C]карбонат может быть использован для измерения рН, поскольку соотношение между формами карбоната зависит от значения рН [153]. Также широко известно, что рН является важным маркером изменений метаболизма в раковых клетках и данные изменения могут быть обнаружены *in vivo* с помощью МРТ ^{13}C с введением гиперполяризованного [^{13}C]бикарбоната [233]. В качестве альтернативы, возможно, удастся обнаружить метаболизм ацетоацетатных эфиров *in vivo*, тем самым исключив сложный этап гидролиза. В частности, в литературе было показано, что этил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат метаболизируется у крыс и может служить метаболическим маркером для гепатоцеллюлярной карциномы [234]. Таким образом, хотя подход, предложенный в данной работе, не позволяет

эффективно получать биосовместимый гиперполяризованный [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат, можно предположить, что его можно использовать для получения других перспективных гиперполяризованных агентов (таких как [^{13}C]бикарбонат и сложные эфиры [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата) с большим диагностическим потенциалом.

3.6 Изучение гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола методом CASH-SABRE

Как обсуждалось в Литературном обзоре, другим перспективным подходом для получения гиперполяризованных биомолекул является метод SABRE-SHEATH, позволяющий эффективно поляризовать биомолекулы по ядрам ^{15}N . Для потенциальных применений в МРТ диагностике особый интерес представляют нитроимидазолы, которые были эффективно гиперполяризованы с помощью метода SABRE-SHEATH [178]. Однако существенным ограничением существующих подходов, является необходимость очистки гиперполяризованного образца от токсичных растворителя и катализатора SABRE. Недавно был предложен подход CASH-SABRE [200], 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 ограничено 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. В данной части работы предлагается использовать подход CASH-SABRE для гиперполяризации [$^{15}\text{N}_3$]метронидазола. Схематично процесс гиперполяризации методом CASH-SABRE представлен на рисунке 1.8 в Литературном обзоре.

Для эксперимента CASH-SABRE предварительно смешивали 350 мкл D_2O , содержащего 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 [215]. Поляризатор был оснащен дополнительной ампулой-сатуратором, заполненной CDCl_3 , через которую подавался $p\text{-H}_2$ перед барботированием через ампулу ЯМР с образцом. Это необходимо для компенсации постепенного испарения хлороформа из основной ампулы ЯМР и поддержания стабильной работы в практически постоянных экспериментальных

условиях, что критически важно для получения воспроизводимых результатов. Схема экспериментальной установки и подробное описание экспериментальной процедуры представлены в экспериментальной части. Поскольку метронидазол растворим как в воде, так и в хлороформе, для корректного расчета уровней поляризации распределение MNZ между двумя фазами контролировалось для каждой экспериментальной точки с помощью спектров ЯМР ^1H в состоянии теплового равновесия.

Как предшественник катализатора SABRE, так и активированный катализатор SABRE не растворялись заметно в воде, поскольку во время эксперимента водная фаза оставалась бесцветной или лишь слегка окрашенной. Предшественник катализатора SABRE активировали путем непрерывного барботирования p-H_2 через смесь $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ со скоростью потока 20 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$ при давлении 7,8 бар. Активацию контролировали с помощью процедуры SABRE-SHEATH, а поток p-H_2 прерывали только для получения спектров ЯМР ^{15}N . Сигналы ЯМР ^{15}N гиперполяризованного MNZ в CDCl_3 (как в свободном состоянии, так и в связанном с катализатором состоянии) достигали плато примерно через 20 минут активации. Дальнейшее барботирование p-H_2 приводило к частичному испарению органической фазы. Поляризация ядер ^{15}N MNZ, растворенного в D_2O , достигала максимального уровня примерно через 2 часа активации, когда объемное соотношение $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ приближалось к 1 : 2. Таким образом, после активации раствор CASH-SABRE представлял собой смесь ≈ 350 мкл D_2O , содержащего ≈ 32 мМ MNZ, и ≈ 175 мкл CDCl_3 , содержащего ≈ 10 мМ активированного катализатора и ≈ 16 мМ свободного MNZ. Кривые активации в водной и органической фазе приведены в Приложении 8.

Важно отметить, что активной частицей процесса SABRE является нейтральный комплекс $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{MNZ})_2(\text{H})_2\text{Cl}]$, в котором один из двух лигандов MNZ и Cl занимают экваториальные положения, тогда как другой лиганд MNZ находится в аксиальном положении. Таким образом, гидриды химически неэквивалентны и имеют химические сдвиги ядер ^1H -23,9 и -25,3 м.д. (спектр ЯМР ^1H в области гидридов в тепловом равновесии представлен в Приложении 9). Быстрый обмен экваториального MNZ с его свободной формой в растворе приводит к накоплению поляризации в органической фазе. Гиперполяризованный MNZ, в свою очередь, экстрагируется в водную фазу. Следует отметить, что при удалении органической фазы и проведении эксперимента SABRE-SHEATH с оставшимся водным раствором не наблюдались усиленные сигналы от ядер ^{15}N , что дополнительно указывает на низкую растворимость активированного катализатора SABRE в воде. Биосовместимость полученного гиперполяризованного раствора была

дополнительно оценена с помощью измерений цитотоксичности *in vitro* методом МТТ, что будет описано ниже.

В данной работе показано, что $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазол в концентрации 32 мМ может быть эффективно гиперполяризован в водной среде с помощью подхода CASH-SABRE с коэффициентами усиления сигнала 46 000–52 000 в магнитном поле 1,4 Тл и значениями $P(^{15}\text{N}) = 2,5 \pm 0,3\%$, $2,2 \pm 0,3\%$ и $2,3 \pm 0,3\%$ для фрагментов $^{15}\text{NO}_2$, $^{15}\text{N-3}$ и $^{15}\text{N-1}$ метронидазола соответственно. Спектр гиперполяризованного MNZ представлен на рисунке 3.21. 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.

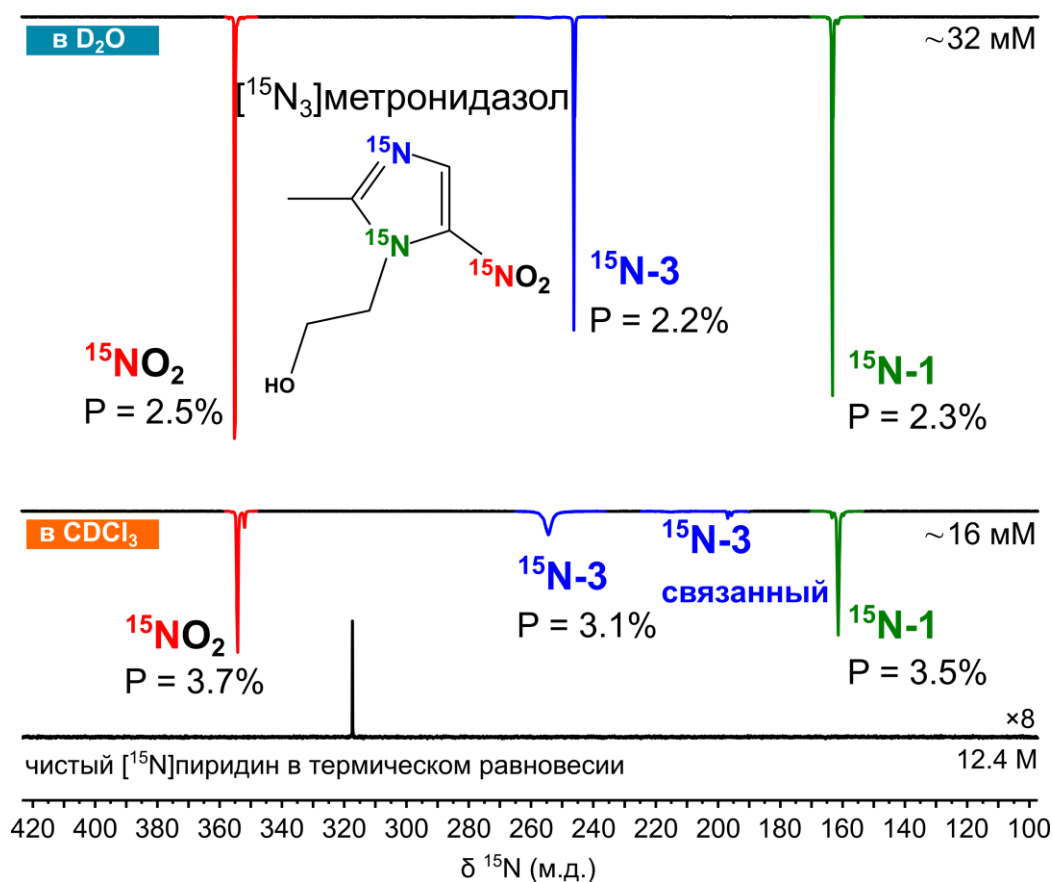


Рисунок 3.21. Спектры ЯМР ^{15}N от $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола, гиперполяризованного с помощью метода SABRE-SHEATH, полученные отдельно для водной и органической фаз. В нижней части рисунка представлен референсный спектр для чистого $[^{15}\text{N}]$ пиридина в состоянии теплового равновесия.

Результаты исследований динамики гиперполяризации MNZ суммированы на рисунке 3.22. В эксперименте CASH-SABRE подача новых порций $p\text{-H}_2$ позволяет не только накапливать поляризацию, но и увеличивает площадь поверхности раздела между двумя практически несмешивающимися жидкостями D_2O и CDCl_3 , так как наличие пузырьков $p\text{-H}_2$ создает границу раздела газ-жидкость-жидкость. Это, в свою очередь, влияет на эффективность фазового перехода гиперполяризованного MNZ из органической

фазы в водную. Было замечено, что увеличение скорости потока $p\text{-H}_2$ оказывает положительное влияние на уровни поляризации ядер ^{15}N (рисунок 3.22 (а) и (б)). Было показано, что в обеих фазах $P(^{15}\text{N})$ монотонно увеличивается с увеличением скорости потока $p\text{-H}_2$ до 150 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$ (что является максимальной скоростью потока, допустимой регулятором массовым расходомером газа в нашей установке).

Перенос поляризации с ядер ^1H на ядра ^{15}N осуществлялся путем барботирования $p\text{-H}_2$ при постоянном сверхнизком магнитном поле, в котором достигается режим сильной связи между ядрами. Ранее в литературе было установлено, что напряженность магнитного поля около 0,7 мкТл является оптимальной для переноса поляризации в MNZ [235]. Кинетика накопления поляризации на ядрах ^{15}N при напряженности поля около 0,7 мкТл показала, что характерные времена накопления поляризации T_b одинаковы для всех трех ядер ^{15}N в органической фазе и находятся в диапазоне 5–7 с (рисунок 3.22 (г)). Для MNZ в водной фазе характерные времена накопления были значительно больше, значения T_b составляли 20–24 с для всех трех ядер ^{15}N (рисунок 3.22 (в)).

Измерение времени спин-решеточной релаксации T_1 в сверхнизком поле осуществляли в серии экспериментов, проводимых вручную. После поляризации образца при оптимальном поле для переноса спинового порядка на ядра ^{15}N (0,7 мкТл) подачу потока $p\text{-H}_2$ прекращали, после чего образец выдерживали внутри магнитного экрана при 0,7 мкТл в течение варьируемого промежутка времени и затем переносили ампулу в спектрометр для регистрации спектров ЯМР ^{15}N . Для аппроксимации экспериментальных точек была использована стандартная функция моноэкспоненциального спада. В результате были определены следующие значения T_1 : 7–8 с в органической фазе (рисунок 3.22 (е)) и 23–27 с в водной фазе (рисунок 3.22 (д)) для всех трех ядер ^{15}N MNZ. Полученные величины T_1 близки к значениям T_b , что свидетельствует о том, что накопление поляризации лимитируется релаксационными процессами в магнитном поле порядка долей мкТл. Более высокие скорости релаксации T_1 в хлороформе по сравнению с метанолом можно объяснить присутствием дополнительного квадрупольного ядра (^{35}Cl или ^{37}Cl) в катализаторе SABRE $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{MNZ})_2(\text{H})_2\text{Cl}]$, который как раз растворен в органической фазе. Из литературы известно, что наличие квадрупольных ядер значительно снижает достижимую поляризацию в методе SABRE-SHEATH [236].

Для нахождения времен T_1 релаксации ядер ^{15}N в MNZ в магнитном поле 1,4 Тл для обеих фаз использовали последовательные 15° РЧ-импульсы. Регистрацию спектров проводили с интервалом между импульсами 30 с (для измерения T_1 в органической фазе) или 1 мин (для измерения T_1 в водной фазе). Применение малоугловых РЧ-импульсов

позволило определить времена релаксации T_1 для всех ядер ^{15}N MNZ всего в результате двух экспериментов (по одному на каждую фазу). Для аппроксимации экспериментальных точек была использована модифицированная функция моноэкспоненциального спада, учитывающая потерю намагниченности, обусловленную последовательным приложением РЧ-импульсов. В результате аппроксимации были получены следующие времена T_1 релаксации: $11,5 \pm 0,2$ 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 (а также аналогичная разница в значениях T_1 при 0,7 мкТл), 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*.

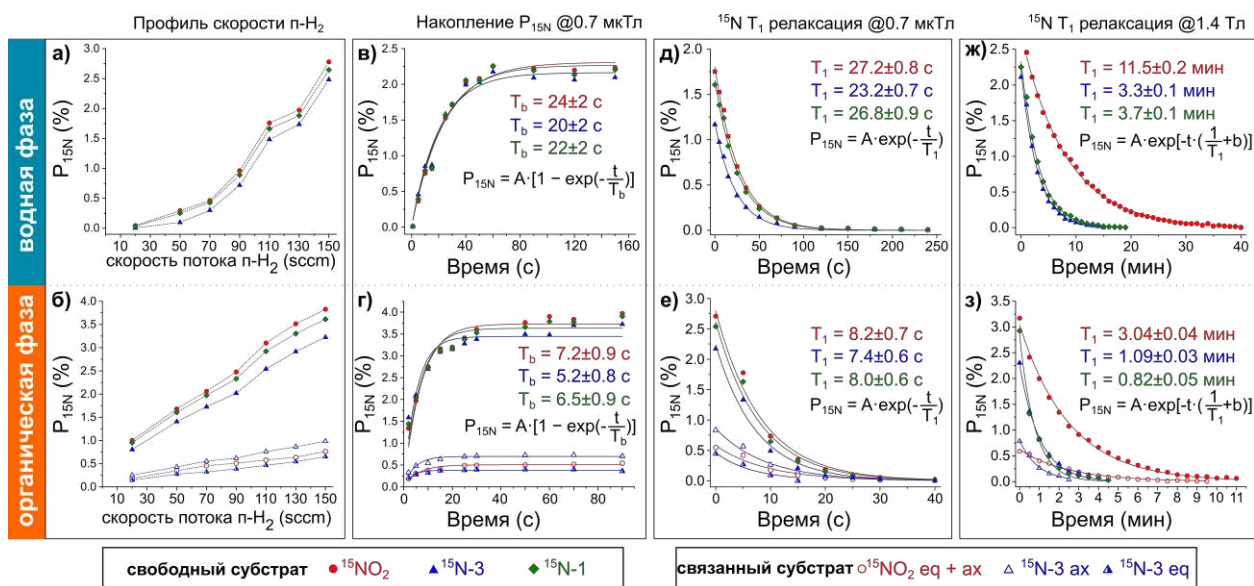


Рисунок 3.22. Гиперполяризация $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола в водной (верхняя панель) и органической (нижняя панель) фазах, осуществляемая с помощью метода SABRE-SHEATH. (а–б) Зависимость $P(^{15}\text{N})$ MNZ от скорости потока п- H_2 . (в–г) Накопление $P(^{15}\text{N})$ MNZ при 0,7 мкТл. (д–е) Релаксация $P(^{15}\text{N})$ MNZ при магнитном поле 0,7 мкТл. (ж–з) Релаксация $P(^{15}\text{N})$ MNZ при магнитном поле 1,4 Тл. Затухание сигнала от ядер ^{15}N при 1,4 Тл регистрировалось с использованием последовательных 15° РЧ-импульсов, подаваемых каждые 30 с (панель ж) или 1 мин (панель з) для расчета времени релаксации T_1 для всех ядер MNZ в органической (ж) или водной (з) фазах. Для каждого эксперимента представлены соответствующие уравнения, использованные для аппроксимации экспериментальных точек. В водной фазе наблюдались только сигналы от свободного MNZ; в органической фазе также наблюдались сигналы от MNZ, связанного с катализатором SABRE. Все данные были получены при 23°C , давлении п- H_2 7,8 бар и скорости потока п- H_2 150 ст. $\text{см}^3/\text{мин}$, если не указано иное.

Далее была оценена биосовместимость полученного водного раствора гиперполяризованного MNZ. Для этого исследование жизнеспособности клеток *in vitro* проводили в широком диапазоне концентраций на линии клеток эмбриональной почки человека HEK293T с использованием МТТ-теста в трех повторениях для каждой концентрации. Для исследуемых растворов готовили трехкратные серийные разведения в среде DMEM/F-12. Инкубацию проводили в течение 1 ч с использованием различных объемных долей гиперполяризованного раствора (1,2; 3,7; 11,1 и 33,3%). Результаты МТТ-теста после 1 ч инкубации представлены на рисунке 3.23. Выживаемость клеток не претерпевала значимых изменений в течение 1 часа инкубации клеток с полученным водным раствором MNZ, собираемый после гиперполяризации методом CASH-SABRE, при объемных долях вплоть до 33%. Выживаемость клеток выражена в процентах относительно контрольного эксперимента, в котором к клеткам добавляли только среду DMEM/F-12 без каких-либо дополнительных соединений. Кроме того, был проведен дополнительный эксперимент с водным раствором коммерчески доступного метронидазола (с природным изотопным содержанием), растворенного в H₂O до той же концентрации (32 мМ). В этом эксперименте намеренно было исключено возможное цитотоксическое действие как иридия, так и D₂O. Однако статистически значимых изменений выживаемости клеток обнаружено не было (рисунок 3.23). Таким образом, МТТ-тест указывает на то, что концентрация иридия в водном растворе, полученном методом CASH-SABRE, относительно низка. При этом из литературы известно, что активированный иридиевый комплекс оказывает выраженное цитотоксическое действие [237].

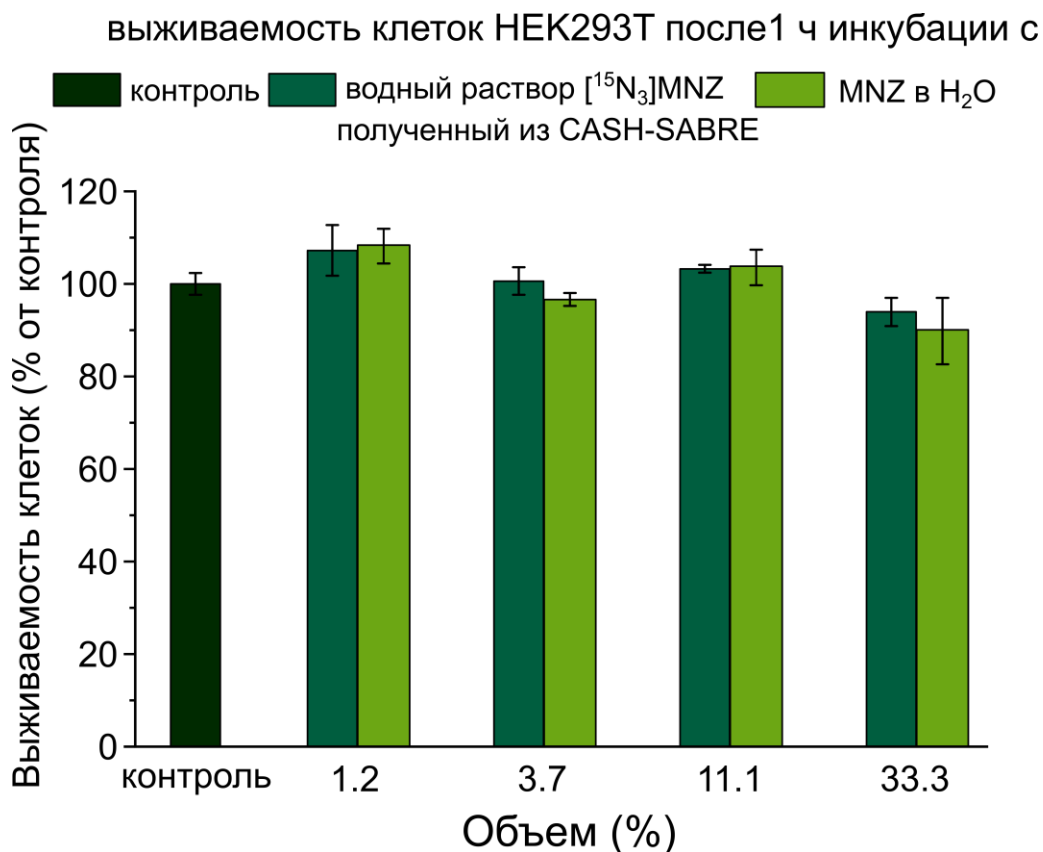


Рисунок 3.23. Выживаемость клеток *in vitro* оценивали с помощью теста МТТ. Клетки эмбриональной почки человека HEK293T инкубировали в течение 1 ч с водным раствором [¹⁵N₃]метронидазола, полученного из метода CASH-SABRE. Контрольный эксперимент проводили с раствором MNZ (с природным изотопным содержанием), растворенным в H₂O до концентрации 32 мМ. Жизнеспособность клеток представлена в процентах от контроля. Данные представляют собой среднее значение трех независимых экспериментов со стандартным отклонением.

Далее был проведен элементный анализ с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС). Остаточное содержание Ir в водном растворе MNZ (полученного из метода CASH-SABRE) составило 20 ± 2 мкг/мл, что соответствует концентрации катализатора Ir $\approx 100 \pm 10$ мкМ. Таким образом, концентрация Ir понижается примерно в 100 раз (с 10 мМ до 100 мкМ). В другой работе, посвященной гиперполяризации пирувата с помощью метода SABRE, была достигнута аналогичная эффективность очистки от катализатора [177]. Конкретно, в работе Де Маиссена и соавторов для очистки использовался следующий подход: после проведения гиперполяризации растворитель испарялся, затем осадок растворялся в водной среде (в которой катализатор нерастворим) и, наконец, водный раствор фильтровался для избавления от катализатора. Данный подход привел к остаточной концентрации Ir равной 44 мкМ, сравнимой с остаточной концентрацией, полученной в данной работе.

Более того, перед введением *in vivo/in vitro* раствор гиперполяризованного субстрата обычно разбавляют физиологическим раствором или клеточной средой, поэтому ожидаемая концентрация I_r в конечном растворе составляет 33–50 мкМ в зависимости от степени разбавления. В оригинальной работе, посвященной методу CASH-SABRE сообщалось о верхнем пределе остаточной концентрации I_r в водной фазе, равном 1,5 мкМ [200]. Данное различие может быть связано с тем фактом, что эффективность разделения катализатора I_r зависит от субстрата, используемого в CASH-SABRE, поскольку он влияет на растворимость катализатора SABRE в воде. Однако важно отметить, что полученное в оригинальной работе значение (1,5 мкМ) — это приблизительная оценка, полученная на основе анализа УФ спектров для обеих фаз. Отсутствие линии поглощения, соответствующей активированному комплексу I_r в $CDCl_3$, в УФ спектрах водной фазы считалось свидетельством низкой концентрации I_r . Однако I_r может присутствовать в $CDCl_3$ и D_2O в различных комплексах с различными свойствами поглощения. Таким образом, элементный анализ однозначно является более точным методом для оценки остаточной концентрации I_r в сравнении с методом УФ спектроскопии.

Известно, что хлороформ обладает по крайней мере некоторой растворимостью в воде. Однако концентрация $CDCl_3$ в полученных водных растворах не контролировалась. Как обсуждалось в литературе [200], продувка азотом может быть полезна для снижения концентрации $CDCl_3$. Также использование липофильной смолы для дополнительной очистки может быть адаптировано из метода PHIP-SAH [124]. Более того, может быть использована очистка путем связывания иридия с использованием функционализированных силикагелей до уровней, допустимых для внутривенного введения [193,194,238]. Ожидается, что автоматизация и оптимизация может привести к повышению эффективности процедуры CASH-SABRE и достижения еще лучших значений поляризации. Более того, релаксация ^{15}N в субмикротесловых магнитных полях крайне неблагоприятна, и проведение таких экспериментов с использованием недавно разработанных импульсных подходов SABRE-SHEATH [179], которые используют более высокие поля со значительно более благоприятными значениями T_1 , также может оказаться важным для дальнейшего повышения эффективности поляризации.

В заключение, был предложен новый подход для гиперполяризации $[^{15}N_3]$ метронидазола методом CASH-SABRE в водной среде. Данный подход позволил получить $P(^{15}N) = 2,5 \pm 0,3\%$, $2,2 \pm 0,3\%$ и $2,3 \pm 0,3\%$ для групп $^{15}NO_2$, $^{15}N-3$ и $^{15}N-1$ соответственно для 32 мМ MNZ в D_2O . Было показано, что время релаксации T_1 для группы $^{15}NO_2$ составляет порядка 12 мин при клинически значимом магнитном поле 1,4 Тл, что

открывает широкие возможности для длительной регистрации сигналов от гиперполяризованного образца. Предложенный в данной работе подход был оптимизирован для получения водных растворов MNZ с эффективной очисткой от катализатора. МТТ тест на клетках эмбриональной почки человека HEK293T продемонстрировал биосовместимость полученного водного раствора. Остаточная концентрация Ir (100 ± 10 мкМ) была оценена с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Данная часть работы открывает путь для исследований метаболизма нитроимидазолов *in vitro* и *in vivo* с использованием гиперполяризованных образцов для магнитно-резонансного анализа.

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}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 РНП-САН аллил [^{13}C]формиат и аллил [$1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетат были поляризованы до следующих уровней поляризации: $P(^1\text{H}) = 16,6\%$ и $P(^{13}\text{C}) = 1,7\%$ для аллил [^{13}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 [$1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата. Гидролиз гиперполяризованного аллил [^{13}C]формиата приводит к образованию [^{13}C]формиата натрия с $P(^{13}\text{C}) = 0,4\%$. В жестких щелочных условиях гиперполяризованный аллил [$1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата гидролизуеться до [$1,3\text{-}^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата с его последующим разложением на гиперполяризованные [$2\text{-}^{13}\text{C}$]ацетон и [^{13}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.

Приложения

Приложение 1. Волновые функции ЯСИ этилена

Первоначально в базисе Зеемана можно записать шестнадцать ядерных спиновых волновых функций этилена. Ядерный спин-гамильтониан для молекулы этилена выглядит следующим образом:

$$H = -\omega I_z + 2\pi \sum_{i < j} J_{ij} (I_i \cdot I_j), \quad (\text{П.1.1})$$

где I_i, I_j – операторы ядерного спина для спинов i и j соответственно ($i, j = 1, \dots, 4$); J_{ij} – КССВ между спинами i и j ; I_z – проекция оператора ядерного углового момента на ось z ; ω – частота угловой прецессии.

Для нахождения ядерных спиновых собственных функций этилена необходимо провести операцию симметризации в группе D_{2h} путем диагонализации ядерного спин-гамильтониана с использованием молекулярной системы отсчета, показанной на рисунке ниже.

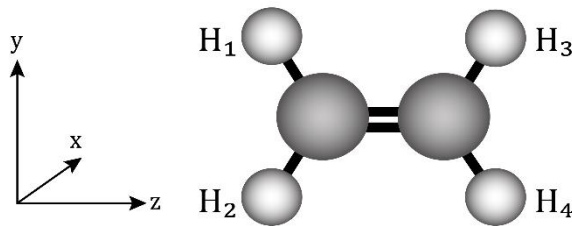


Рисунок П.1.1. Система отсчета и нумерация протонов в этилене, использованные в данной работе.

После симметризации в группе D_{2h} получаем следующие собственные функции, соответствующие различным ЯСИ этилена:

$$I = 2 \in A_g^q: \left\{ \begin{array}{l} \varphi_1 = |\alpha\alpha\alpha\alpha\rangle \\ \varphi_2 = \frac{|\alpha\alpha\alpha\beta\rangle}{2} + \frac{|\alpha\alpha\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\alpha\beta\alpha\alpha\rangle}{2} + \frac{|\beta\alpha\alpha\alpha\rangle}{2} \\ \varphi_3 = \frac{|\alpha\alpha\beta\beta\rangle}{\sqrt{6}} + \frac{|\alpha\beta\alpha\beta\rangle}{\sqrt{6}} + \frac{|\alpha\beta\beta\alpha\rangle}{\sqrt{6}} + \frac{|\beta\alpha\alpha\beta\rangle}{\sqrt{6}} + \frac{|\beta\alpha\beta\alpha\rangle}{\sqrt{6}} + \frac{|\beta\beta\alpha\alpha\rangle}{\sqrt{6}}, \\ \varphi_4 = \frac{|\alpha\beta\beta\beta\rangle}{2} + \frac{|\beta\alpha\beta\beta\rangle}{2} + \frac{|\beta\beta\alpha\beta\rangle}{2} + \frac{|\beta\beta\beta\alpha\rangle}{2} \\ \varphi_5 = |\beta\beta\beta\beta\rangle \end{array} \right.$$

$$\begin{aligned}
I = 1 \in B_{1u}^t: & \begin{cases} \varphi_6 = \frac{|\beta\beta\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\beta\beta\alpha\beta\rangle}{2} - \frac{|\beta\alpha\beta\beta\rangle}{2} - \frac{|\alpha\beta\beta\beta\rangle}{2} \\ \varphi_7 = -\frac{|\beta\beta\alpha\alpha\rangle}{\sqrt{2}} + \frac{|\alpha\alpha\beta\beta\rangle}{\sqrt{2}} \\ \varphi_8 = -\frac{|\alpha\alpha\alpha\beta\rangle}{2} - \frac{|\alpha\alpha\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\alpha\beta\alpha\alpha\rangle}{2} + \frac{|\beta\alpha\alpha\alpha\rangle}{2} \end{cases}, \\
I = 1 \in B_{2u}^t: & \begin{cases} \varphi_9 = -\frac{|\beta\beta\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\beta\beta\alpha\beta\rangle}{2} - \frac{|\beta\alpha\beta\beta\rangle}{2} + \frac{|\alpha\beta\beta\beta\rangle}{2} \\ \varphi_{10} = -\frac{|\beta\alpha\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}} + \frac{|\alpha\beta\alpha\beta\rangle}{\sqrt{2}} \\ \varphi_{11} = \frac{|\alpha\alpha\alpha\beta\rangle}{2} - \frac{|\alpha\alpha\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\alpha\beta\alpha\alpha\rangle}{2} - \frac{|\beta\alpha\alpha\alpha\rangle}{2} \end{cases}, \\
I = 1 \in B_{3g}^t: & \begin{cases} \varphi_{12} = -\frac{|\beta\beta\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\beta\beta\alpha\beta\rangle}{2} + \frac{|\beta\alpha\beta\beta\rangle}{2} - \frac{|\alpha\beta\beta\beta\rangle}{2} \\ \varphi_{13} = -\frac{|\alpha\beta\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}} + \frac{|\beta\alpha\alpha\beta\rangle}{\sqrt{2}} \\ \varphi_{14} = -\frac{|\alpha\alpha\alpha\beta\rangle}{2} + \frac{|\alpha\alpha\beta\alpha\rangle}{2} + \frac{|\alpha\beta\alpha\alpha\rangle}{2} - \frac{|\beta\alpha\alpha\alpha\rangle}{2} \end{cases},
\end{aligned}$$

$$I = 0 \in A_g^{Sa}: \left\{ \varphi_{15} = \frac{1}{2\sqrt{1-\mu+\mu^2}} (-\mu |\beta\beta\alpha\alpha\rangle + |\beta\alpha\beta\alpha\rangle + (\mu-1)|\beta\alpha\alpha\beta\rangle + (\mu-1)|\alpha\beta\beta\alpha\rangle + |\alpha\beta\alpha\beta\rangle - \mu|\alpha\alpha\beta\beta\rangle), \right.$$

$$I = 0 \in A_g^{Sb}: \left\{ \varphi_{16} = \frac{1}{2\sqrt{3(1-\mu+\mu^2)}} ((\mu-2)|\beta\beta\alpha\alpha\rangle - (2\mu-1)|\beta\alpha\beta\alpha\rangle + (\mu+1)|\beta\alpha\alpha\beta\rangle + (\mu+1)|\alpha\beta\beta\alpha\rangle - (2\mu-1)|\alpha\beta\alpha\beta\rangle + (\mu-2)|\alpha\alpha\beta\beta\rangle), \right.$$

$$\mu = \frac{\sqrt{J_g^2 + J_c^2 + J_t^2 - (J_g * J_c + J_g * J_t + J_t * J_c)} - (J_c - J_g)}{J_g - J_t},$$

где J_g, J_c и J_t — КССВ в этилене для геминальных, цис- и транс-протонов соответственно (приведены ниже в Приложении 3).

Приложение 2. Расчет времени хранения этилена в шприце

Для корректного анализа кинетики равновесия ЯСИ этилена необходимо понимать, какое эффективное время удерживаются молекулы этилена во время наполнения шприца. Предположим, что молекулы этилена втягиваются в шприц с постоянной скоростью во времени (T). Часть молекул этилена будет удерживаться в шприце в течение 0 секунд (те, которые попали в шприц в последний момент времени), а часть – в течение T секунд (те, которые попали в шприц в первый момент времени). Также предположим, что газ в шприце идеально перемешан, и процесс установления равновесия между ЯСИ этилена происходит моноэкспоненциально с постоянной времени T_{short} согласно следующему уравнению:

$$A = A_0 e^{-\frac{t}{T_{short}}}. \quad (\text{П.2.1})$$

Тогда среднее значение «поляризованного» сигнала ансамбля молекул этилена (\bar{A}) можно найти как определенный интеграл значения сигнала этилена (A_0), нормированного на время, необходимое для заполнения шприца:

$$\bar{A} = \frac{\int_0^T A_0 e^{-\frac{t}{T_{short}}} dt}{T} = \frac{A_0 \cdot T_{short}}{T} \left(1 - e^{-\frac{T}{T_{short}}}\right). \quad (\text{П.2.2})$$

Исходя из эргодической гипотезы, можно предположить, что усреднение по времени эквивалентно усреднению по ансамблю. Тогда:

$$\bar{A} = A_0 e^{-\frac{\bar{t}}{T_{short}}} = \frac{A_0 \cdot T_{short}}{T} \left(1 - e^{-\frac{T}{T_{short}}}\right). \quad (\text{П.2.3})$$

Таким образом, эффективное время хранения молекул этилена во время наполнения шприца можно описать следующим образом:

$$\bar{t} = -T_{short} \ln \left(\frac{T_{short}}{T} \left(1 - e^{-\frac{T}{T_{short}}}\right) \right). \quad (\text{П.2.4})$$

Приложение 3. КССВ для этилена и 2-бромэтанола

Значения КССВ для этилена были взяты из литературы [222]. Значения КССВ для 2-бромэтанола (BrEtOD) из литературы [227] были использованы в качестве отправной точки, а затем корректировались до тех пор, пока моделированные спектры не соответствовали данным. BrEtOD представляет из себя AA'BB' или AA'XX' систему в зависимости от напряженности магнитного поля используемого спектрометра ЯМР. Вид его спектра ЯМР определяется двумя геминальными константами J_{gem} и двумя вицинальными константами J_{vic} . В случае спектров ЯМР от AA'BB' системы удобно использовать симметричные параметры взаимодействия, определенные и приведенные в таблице ниже.

Таблица П.3.1. Параметры симметричного взаимодействия для BrEtOD взятые из литературы и их скорректированные значения.

Параметры симметричного взаимодействия	Из литературы [227], Гц	Экспериментальные, Гц
$K = J_{gem}(CH_2OD) + J_{gem}(CH_2Br)$	-22,55	-23,4
$M = J_{gem}(CH_2Br) - J_{gem}(CH_2OD)$	1,85	1,8
$N = J_{vic} + J'_{vic}$	11,50	10,4
$L = J_{vic1} - J'_{vic} $	1,40	2,4

Константа К определяет положение слабоинтенсивных спутных сигналов в спектрах PASADENA ЯМР 1H от гиперполяризованного BrEtOD; таким образом, было найдено значение К, равное -23,4 Гц. Константы М, N и L были найдены из спектров ЯМР 1H в тепловом равновесии, полученных при 1,4 Гл. Геминальные КССВ в BrEtOD были определены как -12,6 и -10,8 Гц. Для определения того, какое значение относится к группе CH_2Br , а какое к группе CH_2OD , были использованы приведенные в литературе [239] значения геминальных констант связи $10,2 \pm 0,2$ и $10,8 \pm 0,4$ Гц для CH_2DBr и CH_2DOH соответственно. На основе этих данных КССВ -10,8 Гц отнесена к группе CH_2Br , а значение -12,65 Гц к группе CH_2OD . Значения J_{vic} и J'_{vic} в значительной степени определяются конформационными свойствами фрагмента X- CH_2 - CH_2 -Y и представляют собой усредненные по вращению константы. Определенные данные суммированы на рисунке П.3.1 ниже.

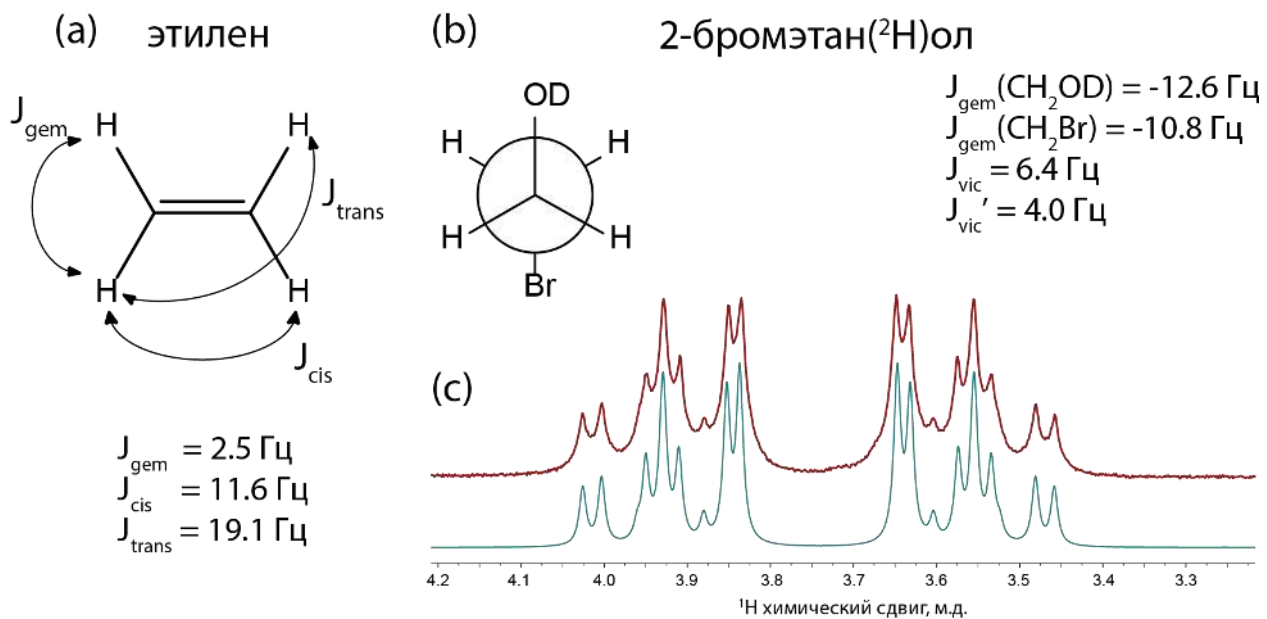


Рисунок П.3.1. КССВ для этилена (а) и 2-бромэтанола (б), использованные в данной работе. (с) Экспериментальный (красный) спектр ЯМР ^1H для 2-бромэтанола, полученный на настольном спектрометре ЯМР с напряженностью магнитного поля 1,4 Тл, и соответствующий моделированный спектр (бирюзовый).

Приложение 4. КССВ для аллил [¹³C]формиата

Значения КССВ были скорректированы для достижения наилучшего соответствия экспериментальных спектров ЯМР ¹H, находящихся в тепловом равновесии, с моделируемыми. Полученные константы приведены в таблице П4.1.

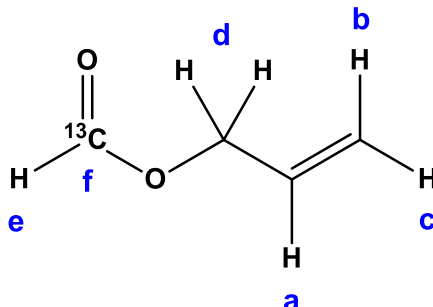


Рисунок П.4.1. Схема аллил [¹³C]формиата с обозначением ядер.

Таблица П.4.1. КССВ и химические сдвиги для аллил [¹³C]формиата, использованные для моделирования экспериментов в расчетах MFC по переносу поляризации с ядер ¹H на ядра ¹³C. Обозначения протонов в молекуле указаны на рисунке П.4.1 выше.

Сигнал	-CH= (a)	=CH ₂ (b)	=CH ₂ (c)	-OCH ₂ (d)	формильный H (e)	¹³ C (f)	
δ, м.д.	5,9544	5,3407	5,2266	4,644	8,16	161,4	
<i>J</i> , Гц	-CH= (a)	×	17,22	10,5	5,6		
	=CH ₂ (b)		×	1,5	1,6		
	=CH ₂ (c)			×	1,36		
	-OCH ₂ (d)				×	1,0	3,8
	формильный H (e)					×	227,4
	¹³ C (f)						×

Приложение 5. Кодировка структур в главе, посвященной гиперполяризации [1,3-¹³C₂]ацетоацетата

Структуры соединений, использованных в данном исследовании и наблюдавшихся в спектрах ЯМР. Различные типы атомов водорода и углерода обозначены жирными зелеными метками. Нумерация ядер начинается от конца углеводородной цепи и продолжается до противоположного конца молекулы в ацетоацетатном фрагменте.

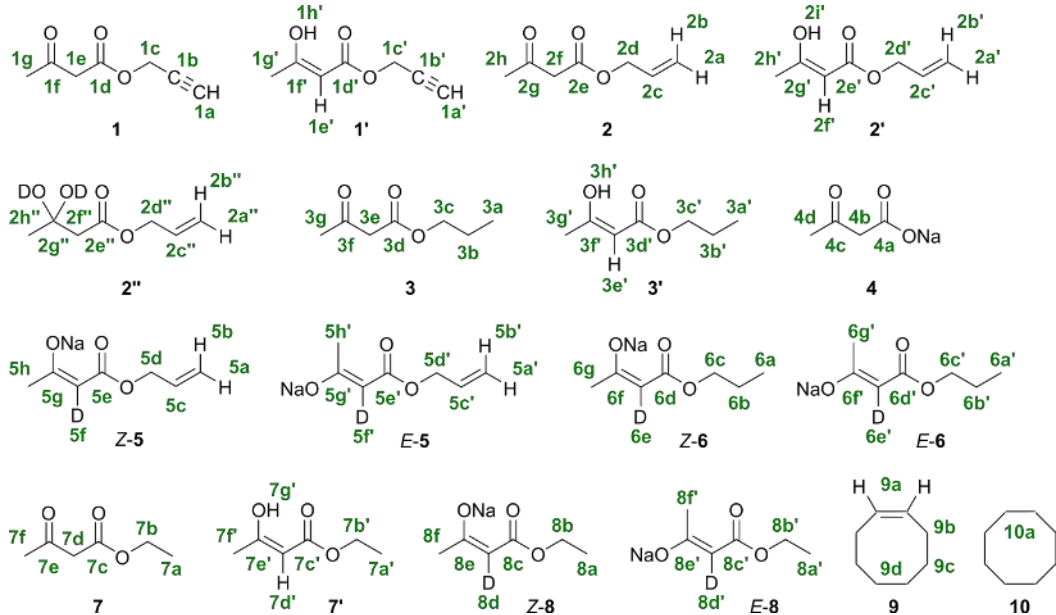


Рисунок П.5.1. Формулы различных соединений, обнаруженных в работе, посвященной гиперполяризации [1,3-¹³C₂]ацетоацетата, с кодировкой ядер.

Приложение 6. Кинетический анализ для гидрирования пропаргил ацетоацетата

Кинетический анализ проводился к.х.н. Олегом Георгиевичем Сальниковым из лаборатории магнитно-резонансной микротомографии Международного Томграфического Центра СО РАН.

Кинетический анализ данных, полученных при тепловом равновесии

Сначала, была рассмотрена химическая кинетика реакции гидрирования без гиперполяризации. Предполагается, что реакция гидрирования является реакцией псевдопервого порядка и протекает по следующей схеме:



Данная кинетическая схема описывается следующей системой дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{d[1]}{dt} = -k_1[1] \\ \frac{d[2]}{dt} = k_1[1] - k_2[2] \\ \frac{d[3]}{dt} = k_2[2] \end{cases} \quad (\text{П.6.2})$$

Начальные ограничения следующие: $[1]|_{t=0} = C_0$, $[2]|_{t=0} = [3]|_{t=0} = 0$. Решение системы уравнений П.6.2 хорошо известно:

$$\begin{cases} [1] = C_0 e^{-k_1 t} \\ [2] = \frac{C_0 k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \\ [3] = C_0 \left(1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1} \right) \end{cases} \quad (\text{П.6.3})$$

Соответствующие мольные χ_i рассчитываются как

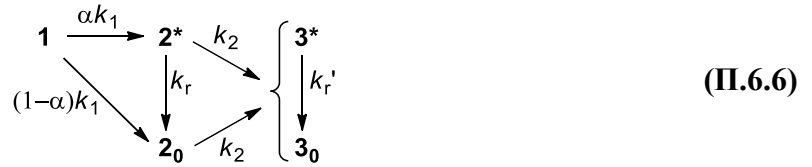
$$\begin{cases} \chi_1 = e^{-k_1 t} \\ \chi_2 = \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \\ \chi_3 = 1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1} \end{cases} \quad (\text{П.6.4})$$

Селективность к образованию **2** могут быть рассчитаны как

$$S_2(t) = \frac{[2]}{[2] + [3]} \cdot 100\% = \frac{[2]}{C_0 - [1]} \cdot 100\% = \frac{k_1 (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t})}{(k_2 - k_1)(1 - e^{-k_1 t})} \cdot 100\% \quad (\text{П.6.5})$$

Кинетический анализ данных, полученных спектров ЯМР ^1H с гиперполяризацией

Теперь введем понятие гиперполяризации и процесс релаксации к рассмотренному выше анализу. Предполагается, что в таком случае процесс описывается следующей кинетической схемой:



где $\mathbf{2}^*$ и $\mathbf{3}^*$ это гиперполяризованные молекулы, в то время как $\mathbf{2}_0$ и $\mathbf{3}_0$ – это соответствующие молекулы в тепловом равновесии. Коэффициент α отражает тот факт, что только часть молекул $\mathbf{2}$ являются гиперполяризованными в результате ряда причин: исходная доля п-Н_2 была равна 50%, а не 100%; релаксационные процессы во время каталитического цикла; синглет-триплетная конверсия п-Н_2 на катализаторе; возможное непарное присоединение молекулы п-Н_2 к субстрату. Дальнейшее гидрирование любой из форм $\mathbf{2}^*$ и $\mathbf{2}_0$ могут приводить к образованию молекул как $\mathbf{3}^*$ так и $\mathbf{3}_0$, поскольку (i) гиперполяризация может быть создана в результате парного присоединения п-Н_2 к $\text{C}=\text{C}$ связи молекул $\mathbf{2}^*$ или $\mathbf{2}_0$ ($\mathbf{2}^*/\mathbf{2}_0 \rightarrow \mathbf{3}^*$), (ii) гиперполяризация может быть сохранена в реакции гидрирования молекулы $\mathbf{2}^*$ ($\mathbf{2}^* \rightarrow \mathbf{3}^*$), (iii) гиперполяризация может релаксировать к тепловому равновесию во время этого процесса ($\mathbf{2}^* \rightarrow \mathbf{3}_0$), или (iv) гидрирование молекулы $\mathbf{2}_0$ может не привести к гиперполяризации ($\mathbf{2}_0 \rightarrow \mathbf{3}_0$). Однако, поскольку цель данного анализа заключается в отслеживании только гиперполяризацию целевой молекулы $\mathbf{2}$, нет необходимости различать молекулы $\mathbf{3}^*$ и $\mathbf{3}_0$ и учитывать релаксацию $\mathbf{3}^*$.

Для решения кинетической схемы (6) относительно $[\mathbf{2}^*]$ и $[\mathbf{2}]$, необходимо решить следующую систему дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases}
 \frac{d[\mathbf{1}]}{dt} = -\alpha k_1[\mathbf{1}] - (1-\alpha)k_1[\mathbf{1}] = -k_1[\mathbf{1}] \\
 \frac{d[\mathbf{2}^*]}{dt} = \alpha k_1[\mathbf{1}] - (k_2 + k_r)[\mathbf{2}^*] \\
 \frac{d[\mathbf{2}_0]}{dt} = (1-\alpha)k_1[\mathbf{1}] + k_r[\mathbf{2}^*] - k_2[\mathbf{2}_0]
 \end{cases}
 \quad (П.6.7)$$

Используя начальные ограничения $[\mathbf{1}]|_{t=0} = C_0$, $[\mathbf{2}^*]|_{t=0} = [\mathbf{2}_0]|_{t=0} = 0$ и факт, что дифференциальные уравнения для $[\mathbf{1}]$ абсолютно эквивалентны уравнениям П.6.2 и П.6.7, понятно, что:

$$[\mathbf{1}] = C_0 e^{-k_1 t}
 \quad (П.6.8)$$

Подстановка из уравнения П.6.8 в дифференциальное уравнение для $[\mathbf{2}^*]$ дает

$$\frac{d[\mathbf{2}^*]}{dt} = \alpha k_1 C_0 e^{-k_1 t} - (k_2 + k_r)[\mathbf{2}^*] \quad (\text{П.6.9})$$

Это неоднородное линейное дифференциальное уравнение первого порядка, которое может быть решено с использованием стандартного подхода поиска решения на основе решения соответствующего однородного уравнения. Соответствующее однородное уравнение

$$\frac{d[\mathbf{2}^*]}{dt} = -(k_2 + k_r)[\mathbf{2}^*] \quad (\text{П.6.10})$$

имеет решение

$$[\mathbf{2}^*] = C e^{-(k_2+k_r)t} \quad (\text{П.6.11})$$

Тогда, решение неоднородного уравнения П.6.9 имеет вид

$$[\mathbf{2}^*] = C(t)e^{-(k_2+k_r)t} \quad (\text{П.6.12})$$

Подставим уравнение П.6.12 в уравнение П.6.9 и получим:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}(C(t)e^{-(k_2+k_r)t}) &= \frac{dC(t)}{dt}e^{-(k_2+k_r)t} - (k_2 + k_r)C(t)e^{-(k_2+k_r)t} \\ &= \alpha k_1 C_0 e^{-k_1 t} - (k_2 + k_r)C(t)e^{-(k_2+k_r)t} \end{aligned} \quad (\text{П.6.13})$$

Получаем следующее дифференциальное уравнение для $C(t)$:

$$\frac{dC(t)}{dt} = \alpha k_1 C_0 e^{(k_2+k_r-k_1)t} \quad (\text{П.6.14})$$

Интегрируя уравнение П.6.14, получаем:

$$C(t) = \int \alpha k_1 C_0 e^{(k_2+k_r-k_1)t} dt = \frac{\alpha k_1 C_0 e^{(k_2+k_r-k_1)t}}{k_2 + k_r - k_1} + C' \quad (\text{П.6.15})$$

Следовательно, решение уравнения П.6.9 имеет вид

$$[\mathbf{2}^*] = \frac{\alpha k_1 C_0 e^{-k_1 t}}{k_2 + k_r - k_1} + C' e^{-(k_2+k_r)t} \quad (\text{П.6.16})$$

Константа C' может быть найдена, используя начальные ограничения $[\mathbf{2}^*]|_{t=0} = 0$:

$$0 = \frac{\alpha k_1 C_0}{k_2 + k_r - k_1} + C' \Rightarrow C' = -\frac{\alpha k_1 C_0}{k_2 + k_r - k_1} \quad (\text{П.6.17})$$

Таким образом, итоговое решение для $[\mathbf{2}^*]$

$$[\mathbf{2}^*] = \frac{\alpha k_1 C_0}{k_2 + k_r - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-(k_2+k_r)t}) \quad (\text{П.6.18})$$

Отметим, что $[2^*]$ это молярная поляризация для **2**,

$$\text{Molar } P_{1H}(2) = \frac{\alpha k_1 C_0}{k_2 + k_r - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-(k_2 + k_r)t}) \quad (\text{П.6.19})$$

Уровень поляризации **2** может быть рассчитан как

$$P_2 = \frac{[2^*]}{[2^*] + [2_0]} \cdot 100\% \quad (\text{П.6.20})$$

Это означает, что намного проще найти зависимость от времени для суммы $[2^*] + [2_0]$, чем для $[2_0]$ в отдельности. Действительно,

$$\begin{aligned} \frac{d([2^*] + [2_0])}{dt} &= \alpha k_1 [1] - (k_2 + k_r)[2^*] + (1 - \alpha)k_1 [1] + k_r [2^*] - k_2 [2_0] = \\ &= k_1 [1] - k_2 ([2^*] + [2_0]) \end{aligned} \quad (\text{П.6.21})$$

Это уравнение аналогично дифференциальному уравнению для $[2]$ в уравнении П.6.2. Следовательно, его решение будет следующим

$$[2^*] + [2_0] = \frac{C_0 k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (\text{П.6.22})$$

и поляризация **2** может быть рассчитана как

$$\begin{aligned} P_2 &= \frac{\frac{\alpha k_1 C_0}{k_2 + k_r - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-(k_2 + k_r)t})}{\frac{C_0 k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t})} \cdot 100\% = \\ &= \frac{\alpha (k_2 - k_1) (e^{-k_1 t} - e^{-(k_2 + k_r)t})}{(k_2 + k_r - k_1) (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t})} \cdot 100\% \end{aligned} \quad (\text{П.6.23})$$

Однако, схема реакции, показанная в уравнении П.6.6 оправдана только во время гидрирования. Логично предположить, что после остановки барботирования п-Н₂, все реакции гидрирования прекращаются и только релаксационные процессы продолжают. Таким образом, во время задержки между остановкой барботирования п-Н₂ и началом регистрации спектра ЯМР, сигнал от $[2^*]$ падает на некоторую величину из-за релаксационных процессов, в то время как сумма $[2^*] + [2_0]$ остается постоянной. Данное падение $[2^*]$ может быть устранено за счет введения фактора потери поляризации σ в качестве множителя в числителе уравнения П.6.23 (предполагается, что трансфер образца из Земного магнитного поля в спектрометр ЯМР занимает одно и тоже время в различных экспериментах и следовательно фактор σ остается постоянным).

Если включить 100% в фактор σ , получается следующая формула наблюдаемой поляризации $P_{2,obs}$:

$$P_{2,obs} = \frac{\sigma\alpha(k_2 - k_1)(e^{-k_1t} - e^{-(k_2+k_r)t})}{(k_2 + k_r - k_1)(e^{-k_1t} - e^{-k_2t})} \% \quad (\text{П.6.24})$$

Как обсуждалось в Результатах, соотношение соединений **1–3** меняется в зависимости от времени барботирования H_2 . Соединение **1** полностью реагирует в первые 3 секунды гидрирования в то время как конверсия **2** в **3** значительно медленнее. На рисунке Пб.1 показаны мольные доли этих соединений в зависимости от t . Для фитирования мольных долей χ_{1-3} были использованы следующие функции:

$$\begin{aligned} \chi_1 &= e^{-k_1t} \\ \chi_2 &= \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1t} - e^{-k_2t}), \\ \chi_3 &= 1 - \frac{k_2e^{-k_1t} - k_1e^{-k_2t}}{k_2 - k_1} \end{aligned} \quad (\text{П.6.25})$$

как следует из анализа кинетической модели двух последовательных реакций псевдопервого порядка (уравнение П.6.4):



В результате фитирования были получены константы скорости k_1 и k_2 . Полученные значения представлены на рисунке П.б.1 ниже. Данные значения были использованы для фитирования зависимости молярной поляризации ядер ^1H и селективности к образованию аллил ацетоацетата в зависимости от времени барботирования H_2 .

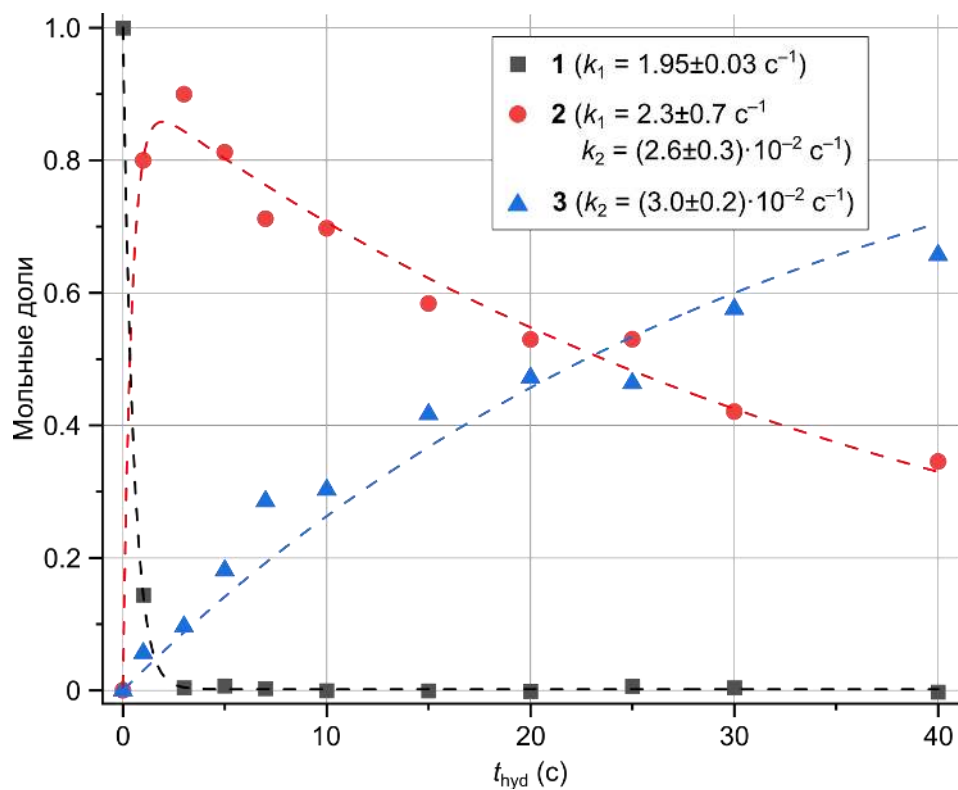


Рисунок П.6.1. Мольные доли соединений 1–3 в растворе в зависимости от продолжительности барботирования N_2 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ и давлении N_2 7 бар.

Приложение 7. Измерение времени релаксации T_1 для аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата и его енолятов

Измерения времени релаксации T_1 проводились путем последовательного приложения РЧ-импульсов к гиперполяризованному образцу аллил [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата в ацетоне- d_6 до (рисунок П.7.1 (а)) и после переноса поляризации с ядер ^1H на ядра ^{13}C (рисунок П.7.1 (б)), а также после добавления 100 мкл 1 М раствора NaOD в D_2O (с 50 мМ аскорбата натрия) для облегчения образования енолятной формы (рисунок П.7.1 (в)). Последующее образование иона [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ацетоацетата **4** из **5** не наблюдалось в анализируемых спектрах ЯМР ^{13}C , что указывает на то, что наблюдаемое затухание сигналов обусловлено только релаксацией T_1 .

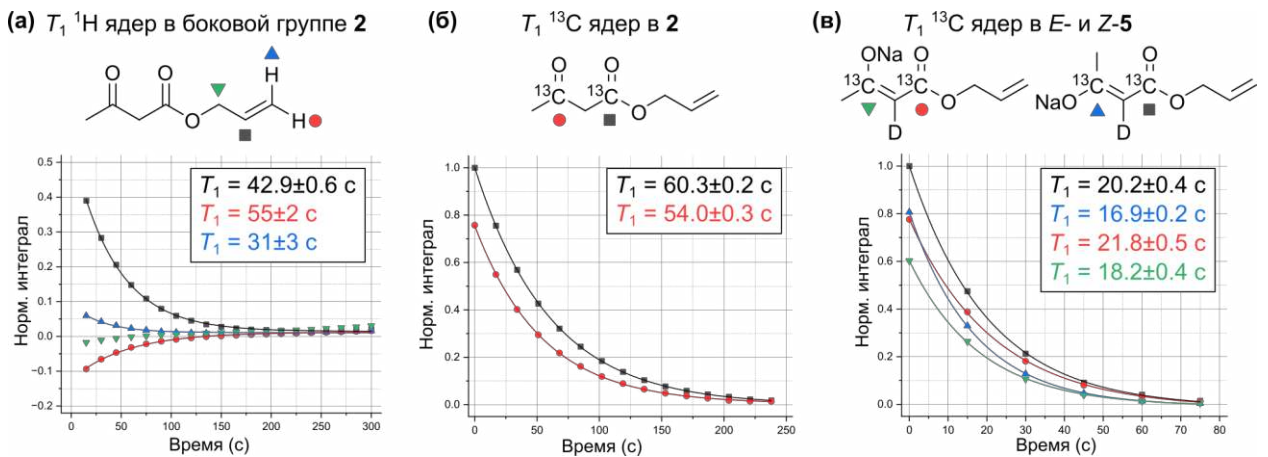


Рисунок П.7.1. Релаксационные кривые T_1 (а) для ядер ^1H в боковой группе соединения **2** (25° РЧ-импульс), (б) для ядер ^{13}C в ацетоацетатном фрагменте соединения **2** (25° РЧ-импульс) и (в) для ядер ^{13}C в енолятных соединениях *E*- и *Z*-**5** (17° РЧ-импульс), измеренные при 9,4 Тл. Экспериментальные точки были аппроксимированы с помощью экспоненциальной функции $y(t) = A \cdot \exp(-t/T_1) + y_0$.

Приложение 8. Кривые активации для $[^{15}\text{N}_3]$ метронидазола

Кривые активации

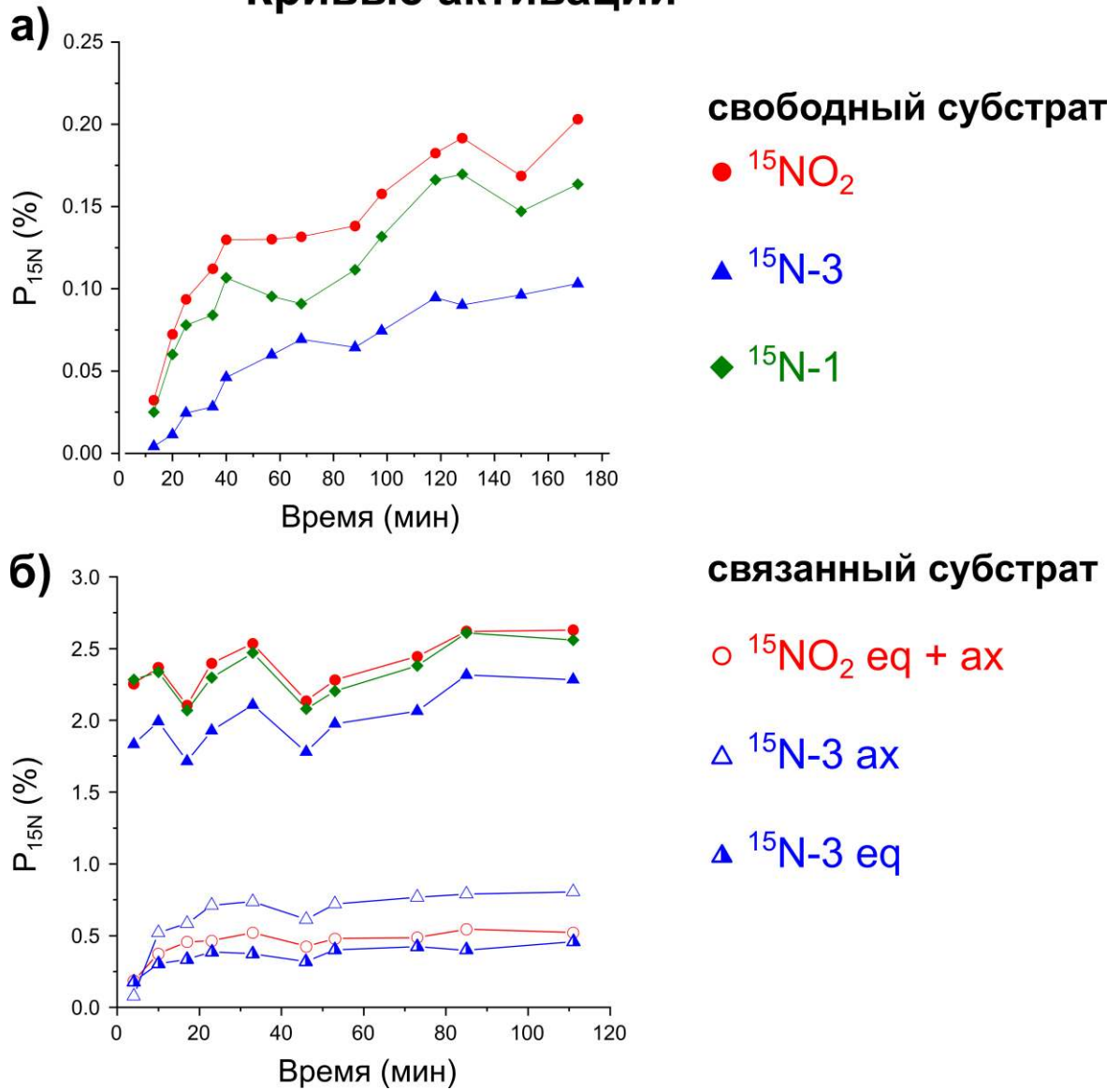


Рисунок П.8.1. Кинетика активации катализатора SABRE отслеживалась с использованием процедуры SABRE-SHEATH. Сигналы ЯМР ^{15}N от гиперполяризованного MNZ в зависимости от продолжительности активации (непрерывное барботирование p-H_2) представлены для (а) водной и (б) органической фаз. Эксперимент проводился при $23\text{ }^\circ\text{C}$, давлении p-H_2 7,8 бар, скорости потока газа $20\text{ ст. см}^3/\text{мин}$ и $0,7\text{ мкТл}$. Поток p-H_2 прерывался только для регистрации спектров ЯМР ^{15}N .

Приложение 9. Спектры ЯМР ^1H от смеси SABRE

Спектр ЯМР ^1H от смеси SABRE представлен ниже на рисунке П.9.1. Два сигнала при -23,88 и -25,32 м.д. соответствуют гидридам в комплексе $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{MNZ})_2(\text{H})_2\text{Cl}]$. Синглетный сигнал от гидридов в комплексе $[\text{Ir}(\text{IMes})(\text{MNZ})_3(\text{H})_2]\text{Cl}$ наблюдается при -23,08 м.д.

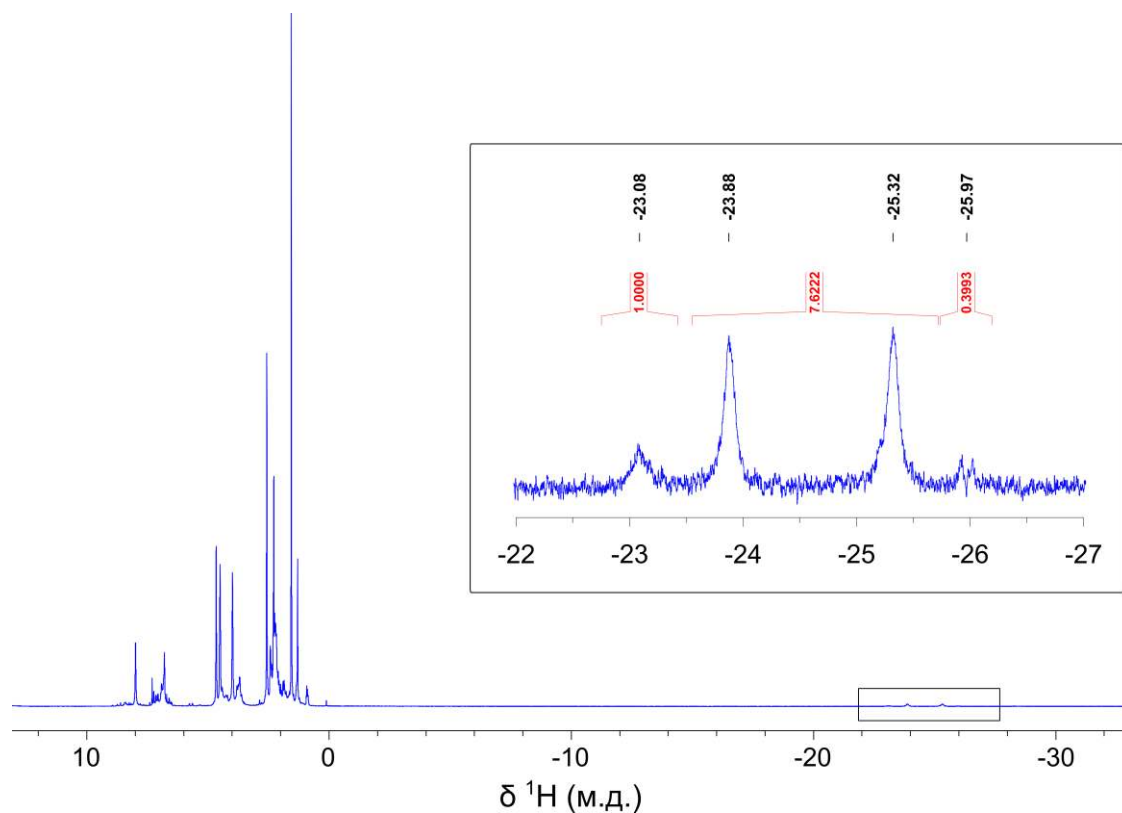


Рисунок П.9.1. Спектр ЯМР ^1H органической фазы (CDCl_3) смеси CASH-SABRE с $^{15}\text{N}_3$ метронидазолом в состоянии теплового равновесия. Область гидридов представлена на вставке. Ампула ЯМР была заполнена водородом до давления до 6,2 бар. Спектр был получен с 64 накоплениями сигнала на спектрометре ЯМР с напряженностью поля 7,05 Тл.

Список сокращений

- ATLADENA – Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Enables Net Alignment
- CASH-SABRE – Catalyst Separated Hyperpolarization Through SABRE
- d-DNP – dissolution Dynamic Nuclear Polarization; ДПЯ с последующим растворением образца
- ICP-AES – Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy
- LDH – Лактатдегидрогеназа
- MFC – Magnetic Field Cycling
- MNZ – метронидазол
- MRSI – Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging; Пространственно-Разрешенная Спектроскопия ЯМР
- NS – Number of Scans
- OPSY – Only Parahydrogen Spectroscopy
- PASADENA – Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment
- PHIP-SAH – ParaHydrogen Induced Polarization by Side Arm Hydrogenation
- RedOx – Окислительно-Восстановительный
- RG – Receiver Gain
- SABRE – Signal Amplification By Reversible Exchange; Усиление Сигнала За Счет Обратимого Обмена
- SABRE-SHEATH – SABRE in SHield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei; SABRE в магнитном экране для переноса поляризации на гетероядра
- SE – Signal Enhancement; Усиление Сигнала
- АПУ – Антипересечение Уровней Энергии
- ДПЯ – Динамическая Поляризация Ядер
- ИППЯ – Индуцированная Параводородом Поляризация Ядер
- ИСП-АЭС – Атомно-Эмиссионной Спектроскопии с Индуктивно Связанной Плазмой
- КССВ – Константа Спин-Спинового Взаимодействия
- MPT – Магнитно-Резонансная Томография
- o-H₂ – ортоводород
- p-H₂ – параводород

ПЭМ – Просвечивающая Электронная Микроскопия

РФЭС – Рентгеновская Фотоэлектронная Спектроскопия

РЧ – Радиочастотный

СООП – Спин-Обменная Оптическая Поляризация

ССИ – Спад Свободной Индукции

ХПЯ – Химическая Поляризация Ядер

ЭПР – Электронный Парамагнитный Резонанс

ЯМР – Ядерный Магнитный Резонанс

м.д. – миллионная доля, 10^{-6}

Список литературы

1. Eills J. и др. Spin Hyperpolarization in Modern Magnetic Resonance // *Chem. Rev.* 2023. Т. 123, № 4. С. 1417–1551.
2. Hövener J. и др. Parahydrogen-Based Hyperpolarization for Biomedicine // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018. Т. 57, № 35. С. 11140–11162.
3. Pokochueva E. V. и др. Heterogeneous Catalysis and Parahydrogen-Induced Polarization // *ChemPhysChem.* 2021. Т. 22, № 14. С. 1421–1440.
4. Zhivonitko V. V. и др. Nuclear Spin Isomers of Ethylene: Enrichment by Chemical Synthesis and Application for NMR Signal Enhancement // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013. Т. 52, № 50. С. 13251–13255.
5. Liberti M. V., Locasale J. W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? // *Trends Biochem. Sci.* 2016. Т. 41, № 3. С. 211–218.
6. Kurhanewicz J. и др. Hyperpolarized ¹³C MRI: Path to Clinical Translation in Oncology // *Neoplasia.* 2019. Т. 21, № 1. С. 1–16.
7. Reineri F., Boi T., Aime S. ParaHydrogen Induced Polarization of ¹³C carboxylate resonance in acetate and pyruvate // *Nat. Commun.* 2015. Т. 6, № 1. С. 5858.
8. Chen W. и др. Metabolism of hyperpolarized ¹³C-acetoacetate to β -hydroxybutyrate detects real-time mitochondrial redox state and dysfunction in heart tissue // *NMR Biomed.* 2019. Т. 32, № 6. С. e4091.
9. Bar-Even A. Formate Assimilation: The Metabolic Architecture of Natural and Synthetic Pathways // *Biochemistry.* 2016. Т. 55, № 28. С. 3851–3863.
10. Adams R. W. и др. Reversible Interactions with para-Hydrogen Enhance NMR Sensitivity by Polarization Transfer // *Science.* 2009. Т. 323, № 5922. С. 1708–1711.
11. Rashed F. B. и др. Cellular mechanism of action of 2-nitroimidazoles as hypoxia-selective therapeutic agents // *Redox Biol.* 2022. Т. 52. С. 102300.
12. Дзюба С. А. Основы магнитного резонанса. 2025.
13. Brewer W., Kopp M. Brute-force nuclear orientation // *Hyperfine Interact.* 1976. Т. 2, № 1. С. 299–305.
14. Hirsch M. L. и др. Brute-Force Hyperpolarization for NMR and MRI // *J. Am. Chem. Soc.* 2015. Т. 137, № 26. С. 8428–8434.
15. Peat D. T. и др. Low-field thermal mixing in [1-¹³C] pyruvic acid for brute-force hyperpolarization // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. Т. 18, № 28. С. 19173–19182.
16. Overhauser A. W. Polarization of Nuclei in Metals // *Phys. Rev.* 1953. Т. 92, № 2. С. 411–415.
17. Carver T. R., Slichter C. P. Polarization of Nuclear Spins in Metals // *Phys. Rev.* 1953. Т. 92, № 1. С. 212–213.
18. Hu K.-N. и др. Dynamic Nuclear Polarization with Biradicals // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. Т. 126, № 35. С. 10844–10845.
19. Abragam A., Goldman M. Principles of dynamic nuclear polarisation // *Rep. Prog. Phys.* 1978. Т. 41, № 3. С. 395–467.
20. Kobayashi T. и др. Dynamic Nuclear Polarization Solid-State NMR in Heterogeneous Catalysis Research // *ACS Catal.* 2015. Т. 5, № 12. С. 7055–7062.
21. Liao W.-C. и др. Dynamic Nuclear Polarization Surface Enhanced NMR spectroscopy (DNP SENS): Principles, protocols, and practice // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2018. Т. 33. С. 63–71.
22. Ardenkjær-Larsen J. H. и др. Increase in signal-to-noise ratio of > 10,000 times in liquid-state NMR // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2003. Т. 100, № 18. С. 10158–10163.
23. Ardenkjær-Larsen J. H. On the present and future of dissolution-DNP // *J. Magn. Reson.* 2016. Т. 264. С. 3–12.
24. Warburg O. On the Origin of Cancer Cells // *Science.* 1956. Т. 123, № 3191. С. 309–314.
25. Gallagher F. A. и др. Imaging breast cancer using hyperpolarized carbon-13 MRI // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2020. Т. 117, № 4. С. 2092–2098.
26. Nelson S. J. и др. Metabolic Imaging of Patients with Prostate Cancer Using Hyperpolarized [1-¹³C]Pyruvate // *Sci. Transl. Med.* 2013. Т. 5, № 198.
27. Cunningham C. H. и др. Hyperpolarized ¹³C Metabolic MRI of the Human Heart: Initial Experience // *Circ. Res.* 2016. Т. 119, № 11. С. 1177–1182.

28. Woitek R. и др. Hyperpolarized Carbon-13 MRI for Early Response Assessment of Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients // *Cancer Res.* 2021. Т. 81, № 23. С. 6004–6017.
29. Goodson B. M. Nuclear Magnetic Resonance of Laser-Polarized Noble Gases in Molecules, Materials, and Organisms // *J. Magn. Reson.* 2002. Т. 155, № 2. С. 157–216.
30. Mugler J. P., Altes T. A. Hyperpolarized¹²⁹Xe MRI of the human lung // *J. Magn. Reson. Imaging.* 2013. Т. 37, № 2. С. 313–331.
31. Weiland E. и др. 129Xenon NMR: Review of recent insights into porous materials // *Microporous Mesoporous Mater.* 2016. Т. 225. С. 41–65.
32. Witte C. и др. Hyperpolarized Xenon for NMR and MRI Applications // *J. Vis. Exp.* 2012. № 67. С. 4268.
33. Landau L. D., Lifshitz E. M. Quantum Mechanics. Non-relativistic theory. 3-е изд. Nauka, 1989.
34. Jonischkeit T., Woelk K. Hydrogen Induced Polarization–Nuclear-Spin Hyperpolarization in Catalytic Hydrogenations without the Enrichment of Para- or Orthohydrogen // *Adv. Synth. Catal.* 2004. Т. 346, № 8. С. 960–969.
35. Chapovsky P. L., Zhivonitko V. V., Koptyug I. V. Conversion of Nuclear Spin Isomers of Ethylene // *J. Phys. Chem. A.* 2013. Т. 117, № 39. С. 9673–9683.
36. Chapovsky P. L., Hermans L. J. F. NUCLEAR SPIN CONVERSION IN MOLECULES // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1999. Т. 50, № 1. С. 315–345.
37. Komatsu K., Murata M., Murata Y. Encapsulation of Molecular Hydrogen in Fullerene C60 by Organic Synthesis // *Science.* 2005. Т. 307, № 5707. С. 238–240.
38. Meier B. и др. Spin-Isomer Conversion of Water at Room Temperature and Quantum-Rotor-Induced Nuclear Polarization in the Water-Endofullerene H₂O@C₆₀ // *Phys. Rev. Lett.* 2018. Т. 120, № 26. С. 266001.
39. Kravchuk T. и др. A Magnetically Focused Molecular Beam of Ortho-Water // *Science.* 2011. Т. 331, № 6015. С. 319–321.
40. Гельмуханов Ф. X., Шалагин А. М. Светоиндуцированная диффузия газов // *Письма в ЖЭТФ.* 1979. Т. 29, № 12. С. 773–776.
41. Sun Z.-D., Takagi K., Matsushima F. Separation and Conversion Dynamics of Four Nuclear Spin Isomers of Ethylene // *Science.* 2005. Т. 310, № 5756. С. 1938–1941.
42. Kawakita H. и др. Nuclear Spin Temperature and Deuterium-to-Hydrogen Ratio of Methane in Comet C/2001 Q4 (NEAT) // *Astrophys. J.* 2005. Т. 623, № 1. С. L49–L52.
43. Dickens J. E., Irvine W. M. The Formaldehyde Ortho/Para Ratio as a Probe of Dark Cloud Chemistry and Evolution // *Astrophys. J.* 1999. Т. 518, № 2. С. 733–739.
44. Kawakita H. и др. The Spin Temperature of NH₃ in Comet C/1999S4 (LINEAR) // *Science.* 2001. Т. 294, № 5544. С. 1089–1091.
45. Dello Russo N. и др. Water Production Rates, Rotational Temperatures, and Spin Temperatures in Comets C/1999 H1 (Lee), C/1999 S4, and C/2001 A2 // *Astrophys. J.* 2005. Т. 621, № 1. С. 537–544.
46. Bowers C. R., Weitekamp D. P. Transformation of Symmetrization Order to Nuclear-Spin Magnetization by Chemical Reaction and Nuclear Magnetic Resonance // *Phys. Rev. Lett.* 1986. Т. 57, № 21. С. 2645–2648.
47. Bowers C. R., Weitekamp D. P. Parahydrogen and synthesis allow dramatically enhanced nuclear alignment // *J. Am. Chem. Soc.* 1987. Т. 109, № 18. С. 5541–5542.
48. Pravica M. G., Weitekamp D. P. Net NMR alignment by adiabatic transport of parahydrogen addition products to high magnetic field // *Chem. Phys. Lett.* 1988. Т. 145, № 4. С. 255–258.
49. Morran P. D. и др. Activation of H₂ by halogenocarbonylbis(phosphine)rhodium(I) complexes. The use of parahydrogen induced polarisation to detect species present at low concentration // *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1999. № 22. С. 3949–3960.
50. Chinn M. S., Eisenberg R. Rates of catalytic hydrogenation estimated spectroscopically through enhanced resonances // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. Т. 114, № 5. С. 1908–1909.
51. Colebrooke S. A. и др. Hydrogenation Studies Involving Halobis(phosphine)–Rhodium(I) Dimers: Use of Parahydrogen Induced Polarisation To Detect Species Present at Low Concentration // *Chem. – Eur. J.* 2004. Т. 10, № 10. С. 2459–2474.
52. Blazina D. и др. NMR Studies of Ru₃(CO)₁₀(PMe₂Ph)₂ and Ru₃(CO)₁₀(PPh₃)₂ and Their H₂ Addition Products: Detection of New Isomers with Complex Dynamic Behavior // *J. Am. Chem. Soc.* 2001. Т. 123, № 40. С. 9760–9768.

53. Aime S. и др. Investigating Pathways of Molecular H₂ Exchange in (μ-H)₂Os₃(CO)₁₀ // *Organometallics*. 2001. Т. 20, № 13. С. 2924–2927.
54. Hasnip S. K. и др. New products in an old reaction: isomeric products from H₂ addition to Vaska's complex and its analogues // *Chem. Commun.* 1999. № 17. С. 1717–1718.
55. Permin A. B., Eisenberg R. One-Hydrogen Polarization in Hydroformylation Promoted by Platinum–Tin and Iridium Carbonyl Complexes: A New Type of Parahydrogen-Induced Effect // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. Т. 124, № 42. С. 12406–12407.
56. Fox D. J. и др. A Model Iridium Hydroformylation System with the Large Bite Angle Ligand Xantphos: Reactivity with Parahydrogen and Implications for Hydroformylation Catalysis // *Inorg. Chem.* 2006. Т. 45, № 18. С. 7197–7209.
57. Kirss R. U., Eisenberg R. Para-hydrogen-induced polarization in rhodium complex-catalyzed hydrogenation reactions // *J. Organomet. Chem.* 1989. Т. 359, № 1. С. C22–C26.
58. Kating P. и др. Nuclear singlet/triplet mixing during hydrogenations with parahydrogen: an in situ NMR method to investigate catalytic reaction mechanisms and their kinetics. 2. Homogeneous hydrogenation of 1,4-dihydro-1,4-epoxynaphthalene using different rhodium catalysts // *J. Phys. Chem.* 1993. Т. 97, № 50. С. 13313–13317.
59. Bargon J. и др. NMR-detection of intermediates during homogeneous hydrogenation of dienes using parahydrogen // *Tetrahedron Lett.* 1990. Т. 31, № 40. С. 5721–5724.
60. Harthun, A., Bargon J., Selke R. In situ NMR study of the rhodium(I)-catalyzed hydrogenation of the allene 1-methoxy-propa-1,2-diene using parahydrogen // *Tetrahedron Lett.* 1994. Т. 35, № 42. С. 7755–7758.
61. Koptyug I. V. и др. *para*-Hydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Hydrogenation Reactions // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. Т. 129, № 17. С. 5580–5586.
62. Kovtunov K. V. и др. Observation of Parahydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Hydrogenation on Supported Metal Catalysts // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008. Т. 47, № 8. С. 1492–1495.
63. Kovtunov K. V. и др. Parahydrogen-induced polarization (PHIP) in heterogeneous hydrogenation over bulk metals and metal oxides // *Chem Commun.* 2014. Т. 50, № 7. С. 875–878.
64. Burueva D. B. и др. Pairwise Parahydrogen Addition Over Molybdenum Carbide Catalysts // *Top. Catal.* 2020. Т. 63, № 1–2. С. 2–11.
65. Salnikov O. G. и др. A Mechanistic Study of Thiophene Hydrodesulfurization by the Parahydrogen-Induced Polarization Technique // *ChemCatChem.* 2015. Т. 7, № 21. С. 3508–3512.
66. Kovtunov K. V. и др. Parahydrogen-Induced Hyperpolarization of Gases // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2020. Т. 59, № 41. С. 17788–17797.
67. Kovtunov K. V. и др. Parahydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Catalytic Processes // *Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy* / под ред. Kuhn L. Т. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. Т. 338. С. 123–180.
68. Salnikov O. G. и др. Evaluation of Activation Energies for Pairwise and Non-Pairwise Hydrogen Addition to Propyne Over Pd/Aluminosilicate Fiberglass Catalyst by Parahydrogen-Induced Polarization (PHIP) // *Appl. Magn. Reson.* 2014. Т. 45, № 10. С. 1051–1061.
69. Pokochueva E. V. и др. Mechanistic in situ investigation of heterogeneous hydrogenation over Rh/TiO₂ catalysts: selectivity, pairwise route and catalyst nature // *Faraday Discuss.* 2021. Т. 229. С. 161–175.
70. Mitchell S., Pérez-Ramírez J. Single atom catalysis: a decade of stunning progress and the promise for a bright future // *Nat. Commun.* 2020. Т. 11, № 1. С. 4302.
71. Liu J. Single-atom catalysis for a sustainable and greener future // *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2020. Т. 22. С. 54–64.
72. Cheng N. и др. Single-Atom Catalysts: From Design to Application // *Electrochem. Energy Rev.* 2019. Т. 2, № 4. С. 539–573.
73. Samantaray M. K. и др. The Comparison between Single Atom Catalysis and Surface Organometallic Catalysis // *Chem. Rev.* 2020. Т. 120, № 2. С. 734–813.
74. Liu J. и др. Supported single-atom catalysts: synthesis, characterization, properties, and applications // *Environ. Chem. Lett.* 2018. Т. 16, № 2. С. 477–505.
75. Liu L., Corma A. Evolution of Isolated Atoms and Clusters in Catalysis // *Trends Chem.* 2020. Т. 2, № 4. С. 383–400.
76. Wang A., Li J., Zhang T. Heterogeneous single-atom catalysis // *Nat. Rev. Chem.* 2018. Т. 2, № 6. С. 65–81.

77. Zhang H. и др. Single-Atom Catalysts: Emerging Multifunctional Materials in Heterogeneous Catalysis // *Adv. Energy Mater.* 2018. Т. 8, № 1. С. 1701343.
78. Yan H. и др. Single-Atom Pd1/Graphene Catalyst Achieved by Atomic Layer Deposition: Remarkable Performance in Selective Hydrogenation of 1,3-Butadiene // *J. Am. Chem. Soc.* 2015. Т. 137, № 33. С. 10484–10487.
79. Campbell C. T., Parker S. C., Starr D. E. The Effect of Size-Dependent Nanoparticle Energetics on Catalyst Sintering // *Science*. 2002. Т. 298, № 5594. С. 811–814.
80. Qin R. и др. Strategies for Stabilizing Atomically Dispersed Metal Catalysts // *Small Methods*. 2018. Т. 2, № 1. С. 1700286.
81. Burueva D. B., Stakheev A. Y., Koptyug I. V. Pd-based bimetallic catalysts for parahydrogen-induced polarization in heterogeneous hydrogenations // *Magn. Reson.* 2021. Т. 2, № 1. С. 93–103.
82. Wang W. и др. Tuning Pd–Au Bimetallic Catalysts for Heterogeneous Parahydrogen-Induced Polarization // *J. Phys. Chem. C*. 2018. Т. 122, № 2. С. 1248–1257.
83. Bukhtiyarov A. V. и др. Bimetallic Pd–Au/Highly Oriented Pyrolytic Graphite Catalysts: from Composition to Pairwise Parahydrogen Addition Selectivity // *J. Phys. Chem. C*. 2018. Т. 122, № 32. С. 18588–18595.
84. Burueva D. B. и др. Selective Single-Site Pd–In Hydrogenation Catalyst for Production of Enhanced Magnetic Resonance Signals using Parahydrogen // *Chem. – Eur. J.* 2018. Т. 24, № 11. С. 2547–2553.
85. Pei Y. и др. Pairwise semi-hydrogenation of alkyne to cis-alkene on platinum-tin intermetallic compounds // *Nanoscale*. 2020. Т. 12, № 15. С. 8519–8524.
86. Du Y. и др. Mesoporous Silica Encapsulated Platinum–Tin Intermetallic Nanoparticles Catalyze Hydrogenation with an Unprecedented 20% Pairwise Selectivity for Parahydrogen Enhanced Nuclear Magnetic Resonance // *J. Phys. Chem. Lett.* 2022. Т. 13, № 18. С. 4125–4132.
87. Borodziński A., Bond G. C. Selective Hydrogenation of Ethyne in Ethene-Rich Streams on Palladium Catalysts. Part 1. Effect of Changes to the Catalyst During Reaction // *Catal. Rev.* 2006. Т. 48, № 2. С. 91–144.
88. Yarulin A. E. и др. Structure sensitivity of selective acetylene hydrogenation over the catalysts with shape-controlled palladium nanoparticles // *Kinet. Catal.* 2012. Т. 53, № 2. С. 253–261.
89. McCue A. J., Anderson J. A. Recent advances in selective acetylene hydrogenation using palladium containing catalysts // *Front. Chem. Sci. Eng.* 2015. Т. 9, № 2. С. 142–153.
90. López N., Vargas-Fuentes C. Promoters in the hydrogenation of alkynes in mixtures: insights from density functional theory // *Chem Commun.* 2012. Т. 48, № 10. С. 1379–1391.
91. Huang F. и др. Atomically Dispersed Pd on Nanodiamond/Graphene Hybrid for Selective Hydrogenation of Acetylene // *J. Am. Chem. Soc.* 2018. Т. 140, № 41. С. 13142–13146.
92. Kovtunov K. V. и др. Heterogeneous addition of H₂ to double and triple bonds over supported Pd catalysts: a parahydrogen-induced polarization technique study // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012. Т. 14, № 31. С. 11008.
93. Skovpin I. V. и др. Gas-Phase Hydrogenation with Parahydrogen Over Immobilized Vaska's Complex // *Z. Für Phys. Chem.* 2017. Т. 231, № 3. С. 575–592.
94. Skovpin I. V. и др. Generating Parahydrogen-Induced Polarization Using Immobilized Iridium Complexes in the Gas-Phase Hydrogenation of Carbon–Carbon Double and Triple Bonds // *Appl. Magn. Reson.* 2013. Т. 44, № 1–2. С. 289–300.
95. Skovpin I. V., Zhivonitko V. V., Koptyug I. V. Parahydrogen-Induced Polarization in Heterogeneous Hydrogenations over Silica-Immobilized Rh Complexes // *Appl. Magn. Reson.* 2011. Т. 41, № 2–4. С. 393–410.
96. Skovpin I. V. и др. Anchored complexes of rhodium and iridium for the hydrogenation of alkynes and olefins with parahydrogen // *Catal. Sci. Technol.* 2022. Т. 12, № 10. С. 3247–3253.
97. Salnikov O. G. и др. Clinical-Scale Batch-Mode Production of Hyperpolarized Propane Gas for MRI // *Anal. Chem.* 2019. Т. 91, № 7. С. 4741–4746.
98. Salnikov O. G. и др. Heterogeneous Parahydrogen Pairwise Addition to Cyclopropane // *ChemPhysChem*. 2018. Т. 19, № 20. С. 2621–2626.
99. Golman K. и др. Parahydrogen-induced polarization in imaging: Subsecond ¹³C angiography // *Magn. Reson. Med.* 2001. Т. 46, № 1. С. 1–5.
100. Bhattacharya P. и др. Towards hyperpolarized ¹³C-succinate imaging of brain cancer // *J. Magn. Reson.* 2007. Т. 186, № 1. С. 150–155.

101. Goldman M. и др. Design and implementation of ^{13}C hyper polarization from para-hydrogen, for new MRI contrast agents // *Comptes Rendus Chim.* 2005. Т. 9, № 3–4. С. 357–363.
102. Chekmenev E. Y. и др. PASADENA Hyperpolarization of Succinic Acid for MRI and NMR Spectroscopy // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Т. 130, № 13. С. 4212–4213.
103. Chekmenev E. Y. и др. Hyperpolarized ^1H NMR Employing Low γ Nucleus for Spin Polarization Storage // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. Т. 131, № 9. С. 3164–3165.
104. Levitt M. *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance.* 2008.
105. Shchepin R. V. и др. PASADENA Hyperpolarized ^{13}C Phospholactate // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. Т. 134, № 9. С. 3957–3960.
106. Shchepin R. V. и др. Parahydrogen Induced Polarization of 1- ^{13}C -Phospholactate-d₂ for Biomedical Imaging with >30,000,000-fold NMR Signal Enhancement in Water // *Anal. Chem.* 2014. Т. 86, № 12. С. 5601–5605.
107. Ripka B. и др. Hyperpolarized fumarate via parahydrogen // *Chem. Commun.* 2018. Т. 54, № 86. С. 12246–12249.
108. Eills J. и др. Real-Time Nuclear Magnetic Resonance Detection of Fumarase Activity Using Parahydrogen-Hyperpolarized [1- ^{13}C]Fumarate // *J. Am. Chem. Soc.* 2019. Т. 141, № 51. С. 20209–20214.
109. Wienands L. и др. Optimizing the Reaction Conditions for the Formation of Fumarate via Trans-Hydrogenation // *Appl. Magn. Reson.* 2022. Т. 53, № 3–5. С. 615–634.
110. Knecht S. и др. Rapid hyperpolarization and purification of the metabolite fumarate in aqueous solution // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2021. Т. 118, № 13. С. e2025383118.
111. Gierse M. и др. Parahydrogen-Polarized Fumarate for Preclinical in Vivo Metabolic Magnetic Resonance Imaging // *J. Am. Chem. Soc.* 2023. Т. 145, № 10. С. 5960–5969.
112. Chukanov N. V. и др. Synthesis of Unsaturated Precursors for Parahydrogen-Induced Polarization and Molecular Imaging of 1- ^{13}C -Acetates and 1- ^{13}C -Pyruvates via Side Arm Hydrogenation // *ACS Omega.* 2018. Т. 3, № 6. С. 6673–6682.
113. Ferrer M.-J. и др. Adiabatic Passage through Level Anticrossings in Systems of Chemically Inequivalent Protons Incorporating Parahydrogen: Theory, Experiment, and Prospective Applications // *J. Am. Chem. Soc.* 2022. Т. 144, № 45. С. 20847–20853.
114. Jagtap A. P., Mamone S., Glöggler S. Molecular precursors to produce para-hydrogen enhanced metabolites at any field // *Magn. Reson. Chem.* 2023. Т. 61, № 12. С. 674–680.
115. Ketterling A. A. и др. Caryllic acid transvinylation as catalysed by complexes of palladium acetate with phenanthroline-like ligands // *Appl. Catal.* 1990. Т. 66, № 1. С. 123–131.
116. Ziriakus J. и др. Ruthenium-Catalyzed Transvinylation – New Insights // *Adv. Synth. Catal.* 2013. Т. 355, № 14–15. С. 2845–2859.
117. Korchak S., Jagtap A. P., Glöggler S. Signal-enhanced real-time magnetic resonance of enzymatic reactions at millitesla fields // *Chem. Sci.* 2021. Т. 12, № 1. С. 314–319.
118. Korchak S. и др. Pulsed Magnetic Resonance to Signal-Enhance Metabolites within Seconds by utilizing para-Hydrogen // *ChemistryOpen.* 2018. Т. 7, № 5. С. 344–348.
119. Salnikov O. G. и др. Heteronuclear Parahydrogen-Induced Hyperpolarization via Side Arm Hydrogenation // *ChemPhysChem.* 2025. Т. 26, № 13. С. e202401119.
120. Salnikov O. G. и др. Parahydrogen-Induced Polarization of 1- ^{13}C -Acetates and 1- ^{13}C -Pyruvates Using Sidearm Hydrogenation of Vinyl, Allyl, and Propargyl Esters // *J. Phys. Chem. C.* 2019. Т. 123, № 20. С. 12827–12840.
121. Cavallari E. и др. ^{13}C MR Hyperpolarization of Lactate by Using ParaHydrogen and Metabolic Transformation in Vitro // *Chem. – Eur. J.* 2017. Т. 23, № 5. С. 1200–1204.
122. Carrera C. и др. ParaHydrogen Polarized Ethyl-[1- ^{13}C]pyruvate in Water, a Key Substrate for Fostering the PHIP-SAH Approach to Metabolic Imaging // *ChemPhysChem.* 2021. Т. 22, № 11. С. 1042–1048.
123. Itoda M. и др. Structural exploration of rhodium catalysts and their kinetic studies for efficient parahydrogen-induced polarization by side arm hydrogenation // *RSC Adv.* 2019. Т. 9, № 32. С. 18183–18190.
124. Bondar O. и др. Effect of the hydrogenation solvent in the PHIP-SAH hyperpolarization of [1- ^{13}C]pyruvate // *Catal. Today.* 2022. Т. 397–399. С. 94–102.
125. Korchak S., Mamone S., Glöggler S. Over 50 % ^1H and ^{13}C Polarization for Generating Hyperpolarized Metabolites—A para-Hydrogen Approach // *ChemistryOpen.* 2018. Т. 7, № 9. С. 672–676.

126. Dagys L. и др. Robust parahydrogen-induced polarization at high concentrations // *Sci. Adv.* 2024. Т. 10, № 30. С. eado0373.
127. Ellermann F. и др. Spying on parahydrogen-induced polarization transfer using a half-tesla benchtop MRI and hyperpolarized imaging enabled by automation // *Nat. Commun.* 2023. Т. 14, № 1. С. 4774.
128. Markelov D. A. и др. Singlet to triplet conversion in molecular hydrogen and its role in parahydrogen induced polarization // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2021. Т. 23, № 37. С. 20936–20944.
129. Berner S. и др. SAMBADENA Hyperpolarization of ^{13}C -Succinate in an MRI: Singlet-Triplet Mixing Causes Polarization Loss // *ChemistryOpen*. 2019. Т. 8, № 6. С. 728–736.
130. Mohiuddin O. и др. Rapid in situ carbon-13 hyperpolarization and imaging of acetate and pyruvate esters without external polarizer // *Commun. Chem.* 2024. Т. 7, № 1. С. 240.
131. Green R. A. и др. The theory and practice of hyperpolarization in magnetic resonance using parahydrogen // *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2012. Т. 67. С. 1–48.
132. Stewart N. J. и др. Long-range heteronuclear J-coupling constants in esters: Implications for ^{13}C metabolic MRI by side-arm parahydrogen-induced polarization // *J. Magn. Reson.* 2018. Т. 296. С. 85–92.
133. Pravdivtsev A. N., Ellermann F., Hövener J.-B. Selective excitation doubles the transfer of parahydrogen-induced polarization to heteronuclei // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2021. Т. 23, № 26. С. 14146–14150.
134. Svyatova A. и др. PHIP hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate and $[1-^{13}\text{C}]$ acetate esters via PH-INEPT polarization transfer monitored by ^{13}C NMR and MRI // *Sci. Rep.* 2021. Т. 11, № 1. С. 5646.
135. Mamone S. и др. A Field-Independent Method for the Rapid Generation of Hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]$ Pyruvate in Clean Water Solutions for Biomedical Applications // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2022. Т. 61, № 34. С. e202206298.
136. Dagys L. и др. Nuclear hyperpolarization of $(1-^{13}\text{C})$ -pyruvate in aqueous solution by proton-relayed side-arm hydrogenation // *The Analyst*. 2021. Т. 146, № 5. С. 1772–1778.
137. Pravdivtsev A. N. и др. Symmetry Constraints on Spin Order Transfer in Parahydrogen-Induced Polarization (PHIP) // *Symmetry*. 2022. Т. 14, № 3. С. 530.
138. Salnikov O. G. и др. Effects of Deuteration of ^{13}C -Enriched Phospholactate on Efficiency of Parahydrogen-Induced Polarization by Magnetic Field Cycling // *J. Phys. Chem. C*. 2018. Т. 122, № 43. С. 24740–24749.
139. Marshall A. и др. Radio-Frequency Sweeps at Microtesla Fields for Parahydrogen-Induced Polarization of Biomolecules // *J. Phys. Chem. Lett.* 2023. Т. 14, № 8. С. 2125–2132.
140. Tayler M. C. D., Gladden L. F. Scalar relaxation of NMR transitions at ultralow magnetic field // *J. Magn. Reson.* 2019. Т. 298. С. 101–106.
141. Haake M., Natterer J., Bargon J. Efficient NMR Pulse Sequences to Transfer the Parahydrogen-Induced Polarization to Hetero Nuclei // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. Т. 118, № 36. С. 8688–8691.
142. Ding Y. и др. Rapidly Signal-enhanced Metabolites for Atomic Scale Monitoring of Living Cells with Magnetic Resonance // *Chemistry–Methods*. 2022. Т. 2, № 7. С. e202200023.
143. Hune T. и др. Metabolic Tumor Imaging with Rapidly Signal-Enhanced $1-^{13}\text{C}$ -Pyruvate- d_3 // *ChemPhysChem*. 2023. Т. 24, № 2. С. e202200615.
144. Goldman M. и др. Hyperpolarization of ^{13}C through order transfer from parahydrogen: A new contrast agent for MRI // *Magn. Reson. Imaging*. 2005. Т. 23, № 2. С. 153–157.
145. Eills J. и др. Polarization transfer via field sweeping in parahydrogen-enhanced nuclear magnetic resonance // *J. Chem. Phys.* 2019. Т. 150, № 17. С. 174202.
146. Pravdivtsev A. N. и др. Level Anti-Crossings are a Key Factor for Understanding para-Hydrogen-Induced Hyperpolarization in SABRE Experiments // *ChemPhysChem*. 2013. Т. 14, № 14. С. 3327–3331.
147. Cavallari E. и др. Metabolic Studies of Tumor Cells Using $[1-^{13}\text{C}]$ Pyruvate Hyperpolarized by Means of PHIP-Side Arm Hydrogenation // *ChemPhysChem*. 2019. Т. 20, № 2. С. 318–325.
148. Cavallari E. и др. In-vitro NMR Studies of Prostate Tumor Cell Metabolism by Means of Hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]$ Pyruvate Obtained Using the PHIP-SAH Method // *Front. Oncol.* 2020. Т. 10. С. 497.
149. Cavallari E. и др. The ^{13}C hyperpolarized pyruvate generated by ParaHydrogen detects the response of the heart to altered metabolism in real time // *Sci. Rep.* 2018. Т. 8, № 1. С. 8366.

150. Stevanato G. и др. Real-Time Pyruvate Chemical Conversion Monitoring Enabled by PHIP // *J. Am. Chem. Soc.* 2023. Т. 145, № 10. С. 5864–5871.
151. Ding Y. и др. Real-time cell metabolism assessed repeatedly on the same cells para-hydrogen induced polarization // *Chem. Sci.* 2023. Т. 14, № 28. С. 7642–7647.
152. Nagel L. и др. Parahydrogen-Polarized [1-13C]Pyruvate for Reliable and Fast Preclinical Metabolic Magnetic Resonance Imaging // *Adv. Sci.* 2023. Т. 10, № 30. С. 2303441.
153. Santi M. D. и др. Parahydrogen-enhanced pH measurements using [1-13C]bicarbonate derived from non-enzymatic decarboxylation of [1-13C]pyruvate-d3 // *The Analyst.* 2024. Т. 149, № 20. С. 5022–5033.
154. Fries L. M. и др. Real-Time Metabolic Magnetic Resonance Spectroscopy of Pancreatic and Colon Cancer Tumor-Xenografts with Parahydrogen Hyperpolarized 1-13C Pyruvate-d3 // *Chem. – Eur. J.* 2024. Т. 30, № 51. С. e202400187.
155. Hune T. L. K. и др. Hyperpolarized Multi-organ Spectroscopy of Liver and Brain Using 1-13C-Pyruvate Enhanced via Parahydrogen // *Appl. Magn. Reson.* 2023. Т. 54, № 11–12. С. 1283–1295.
156. <https://www.nvision-quantum.com/>
157. Choudhury F. K. Mitochondrial Redox Metabolism: The Epicenter of Metabolism during Cancer Progression // *Antioxidants.* 2021. Т. 10, № 11. С. 1838.
158. Chen C.-L. и др. Mitochondrial redox regulation and myocardial ischemia-reperfusion injury // *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 2022. Т. 322, № 1. С. C12–C23.
159. Chang H. T., Olson L., Schwartz K. A. Ketolytic and glycolytic enzymatic expression profiles in malignant gliomas: implication for ketogenic diet therapy // *Nutr. Metab.* 2013. Т. 10, № 1. С. 47.
160. Porporato P. E. и др. Mitochondrial metabolism and cancer // *Cell Res.* 2018. Т. 28, № 3. С. 265–280.
161. Danhier P. и др. Cancer metabolism in space and time: Beyond the Warburg effect // *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.* 2017. Т. 1858, № 8. С. 556–572.
162. Von Morze C. и др. Direct assessment of renal mitochondrial redox state using hyperpolarized 13C-acetoacetate // *Magn. Reson. Med.* 2018. Т. 79, № 4. С. 1862–1869.
163. Najac C. и др. In vivo investigation of hyperpolarized [1,3-13C2]acetoacetate as a metabolic probe in normal brain and in glioma // *Sci. Rep.* 2019. Т. 9, № 1. С. 3402.
164. Miller J. J. и др. Hyperpolarized ketone body metabolism in the rat heart // *NMR Biomed.* 2018. Т. 31, № 6. С. e3912.
165. Brosnan M. E., Brosnan J. T. Formate: The Neglected Member of One-Carbon Metabolism // *Annu. Rev. Nutr.* 2016. Т. 36, № 1. С. 369–388.
166. Blanchard J. W. и др. Zero- to ultralow-field nuclear magnetic resonance J-spectroscopy with commercial atomic magnetometers // *J. Magn. Reson.* 2020. Т. 314. С. 106723.
167. Zhao Y. и др. Selective Decomposition of Formic Acid over Immobilized Catalysts // *Energy Fuels.* 2011. Т. 25, № 8. С. 3693–3697.
168. Rayner P. J. и др. Fine-tuning the efficiency of para-hydrogen-induced hyperpolarization by rational N-heterocyclic carbene design // *Nat. Commun.* 2018. Т. 9, № 1. С. 4251.
169. Cowley M. J. и др. Iridium N-Heterocyclic Carbene Complexes as Efficient Catalysts for Magnetization Transfer from para-Hydrogen // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. Т. 133, № 16. С. 6134–6137.
170. Rayner P. J. и др. Delivering strong 1H nuclear hyperpolarization levels and long magnetic lifetimes through signal amplification by reversible exchange // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2017. Т. 114, № 16.
171. Theis T. и др. Microtesla SABRE Enables 10% Nitrogen-15 Nuclear Spin Polarization // *J. Am. Chem. Soc.* 2015. Т. 137, № 4. С. 1404–1407.
172. Truong M. L. и др. 15N Hyperpolarization by Reversible Exchange Using SABRE-SHEATH // *J. Phys. Chem. C.* 2015. Т. 119, № 16. С. 8786–8797.
173. Shchepin R. V. и др. 15N Hyperpolarization of Imidazole-15N2 for Magnetic Resonance pH Sensing via SABRE-SHEATH // *ACS Sens.* 2016. Т. 1, № 6. С. 640–644.
174. Barskiy D. A. и др. Over 20% 15N Hyperpolarization in Under One Minute for Metronidazole, an Antibiotic and Hypoxia Probe // *J. Am. Chem. Soc.* 2016. Т. 138, № 26. С. 8080–8083.
175. Zeng H. и др. Optimization of SABRE for polarization of the tuberculosis drugs pyrazinamide and isoniazid // *J. Magn. Reson.* 2013. Т. 237. С. 73–78.
176. Iali W. и др. Hyperpolarising Pyruvate through Signal Amplification by Reversible Exchange (SABRE) // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019. Т. 58, № 30. С. 10271–10275.

177. De Maissin H. и др. In Vivo Metabolic Imaging of [1-13C]Pyruvate-d3 Hyperpolarized By Reversible Exchange With Parahydrogen // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023. Т. 62, № 36. С. e202306654.
178. Barskiy D. A. и др. SABRE: Chemical kinetics and spin dynamics of the formation of hyperpolarization // *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2019. Т. 114–115. С. 33–70.
179. Salnikov O. G. и др. Parahydrogen-based NMR signal amplification by reversible exchange (SABRE): Recent advances and applications // *Mendeleev Commun.* 2023. Т. 33, № 5. С. 583–596.
180. Dingsdag S. A., Hunter N. Metronidazole: an update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms // *J. Antimicrob. Chemother.* 2018. Т. 73, № 2. С. 265–279.
181. Bonnet M. и др. Next-Generation Hypoxic Cell Radiosensitizers: Nitroimidazole Alkylsulfonamides // *J. Med. Chem.* 2018. Т. 61, № 3. С. 1241–1254.
182. Muz B. и др. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy // *Hypoxia.* 2015. С. 83.
183. Hendrickson K. и др. Hypoxia imaging with [F-18] FMISO-PET in head and neck cancer: Potential for guiding intensity modulated radiation therapy in overcoming hypoxia-induced treatment resistance // *Radiother. Oncol.* 2011. Т. 101, № 3. С. 369–375.
184. Cheng J. и др. 18F-Fluoromisonidazole PET/CT: A Potential Tool for Predicting Primary Endocrine Therapy Resistance in Breast Cancer // *J. Nucl. Med.* 2013. Т. 54, № 3. С. 333–340.
185. Kizaka-Kondoh S., Konse-Nagasawa H. Significance of nitroimidazole compounds and hypoxia-inducible factor-1 for imaging tumor hypoxia // *Cancer Sci.* 2009. Т. 100, № 8. С. 1366–1373.
186. Masaki Y. и др. The accumulation mechanism of the hypoxia imaging probe “FMISO” by imaging mass spectrometry: possible involvement of low-molecular metabolites // *Sci. Rep.* 2015. Т. 5, № 1. С. 16802.
187. Guarin D. O. и др. Development of Dissolution Dynamic Nuclear Polarization of [¹⁵N₃]Metronidazole: A Clinically Approved Antibiotic // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023. Т. 62, № 31. С. e202219181.
188. Shchepin R. V. и др. Hyperpolarizing Concentrated Metronidazole 15NO₂ Group over Six Chemical Bonds with More than 15 % Polarization and a 20 Minute Lifetime // *Chem. – Eur. J.* 2019. Т. 25, № 37. С. 8829–8836.
189. Manoharan A. и др. Achieving Biocompatible SABRE: An in vitro Cytotoxicity Study // *ChemMedChem.* 2018. Т. 13, № 4. С. 352–359.
190. Rayner P. J., Duckett S. B. Signal Amplification by Reversible Exchange (SABRE): From Discovery to Diagnosis // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018. Т. 57, № 23. С. 6742–6753.
191. Truong M. L. и др. Irreversible Catalyst Activation Enables Hyperpolarization and Water Solubility for NMR Signal Amplification by Reversible Exchange // *J. Phys. Chem. B.* 2014. Т. 118, № 48. С. 13882–13889.
192. Colell J. F. P. и др. Direct Hyperpolarization of Nitrogen-15 in Aqueous Media with Parahydrogen in Reversible Exchange // *J. Am. Chem. Soc.* 2017. Т. 139, № 23. С. 7761–7767.
193. Kidd B. E. и др. Facile Removal of Homogeneous SABRE Catalysts for Purifying Hyperpolarized Metronidazole, a Potential Hypoxia Sensor // *J. Phys. Chem. C.* 2018. Т. 122, № 29. С. 16848–16852.
194. Robertson T. B. R., Clarke L. J., Mewis R. E. Rapid SABRE Catalyst Scavenging Using Functionalized Silicas // *Molecules.* 2022. Т. 27, № 2. С. 332.
195. Ettetdgui J. и др. Perfluorinated Iridium Catalyst for Signal Amplification by Reversible Exchange Provides Metal-Free Aqueous Hyperpolarized [1-¹³C]-Pyruvate // *J. Am. Chem. Soc.* 2024. Т. 146, № 1. С. 946–953.
196. Shi F. и др. Heterogeneous Solution NMR Signal Amplification by Reversible Exchange // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014. Т. 53, № 29. С. 7495–7498.
197. Shi F. и др. Nanoscale Catalysts for NMR Signal Enhancement by Reversible Exchange // *J. Phys. Chem. C.* 2015. Т. 119, № 13. С. 7525–7533.
198. Kovtunov K. V. и др. Heterogeneous Microtesla SABRE Enhancement of 15N NMR Signals // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017. Т. 56, № 35. С. 10433–10437.
199. Schmidt A. B. и др. Catalyst-Free Aqueous Hyperpolarized [1-13C]Pyruvate Obtained by Re-Dissolution Signal Amplification by Reversible Exchange // *ACS Sens.* 2022. Т. 7, № 11. С. 3430–3439.
200. Iali W. и др. Achieving High Levels of NMR-Hyperpolarization in Aqueous Media With Minimal Catalyst Contamination Using SABRE // *Chem. – Eur. J.* 2017. Т. 23, № 44. С. 10491–10495.

201. Iali W. и др. ^{15}N hyperpolarisation of the antiprotozoal drug ornidazole by Signal Amplification By Reversible Exchange in aqueous medium // *Magn. Reson. Chem.* 2021. Т. 59, № 12. С. 1199–1207.
202. Skovpin I. V. и др. Nonequilibrium Nuclear Spin States of Ethylene during Acetylene Hydrogenation with Parahydrogen over Immobilized Iridium Complexes // *Dokl. Phys. Chem.* 2023. Т. 512, № 2. С. 149–157.
203. Lang M., Lang-Fugmann S., Steglich W. 4-Hydroxy[1- ^{13}C]Benzoic Acid // *Organic Syntheses*. 1-е изд. / под ред. Kende A. S., Freeman J. P. Wiley, 2003. С. 113–113.
204. Yoshizawa K., Toyota S., Toda F. Solvent-free Claisen and Cannizzaro reactions // *Tetrahedron Lett.* 2001. Т. 42, № 45. С. 7983–7985.
205. Verniest G., Padwa A. Gold- and Silver-Mediated Cycloisomerizations of N-Propargylamides // *Org. Lett.* 2008. Т. 10, № 19. С. 4379–4382.
206. Moulder J. и др. *Handbook of X-ray photoelectron spectroscopy*. 2-е изд. USA: Perkin-Elmer Corp., Eden Prairie, MN, 1992.
207. XPSPEAK.
208. Yamada T. и др. Application of Thiol-Modified Dual-Pore Silica Beads as a Practical Scavenger of Leached Palladium Catalyst in C–C Coupling Reactions // *Org. Process Res. Dev.* 2019. Т. 23, № 4. С. 462–469.
209. Huang L. и др. On the Roles of Solid-Bound Ligand Scavengers in the Removal of Palladium Residues and in the Distinction between Homogeneous and Heterogeneous Catalysis // *Inorg. Chem.* 2011. Т. 50, № 6. С. 2094–2111.
210. Holsboer F., Beck W., Bartunik H. D. X-Ray photoelectron and Mössbauer spectroscopy of triphenylphosphine–iridium complexes // *J Chem Soc Dalton Trans.* 1973. № 17. С. 1828–1829.
211. Fernando N. K. и др. Structural and Electronic Effects of X-ray Irradiation on Prototypical $[\text{M}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ Catalysts // *J. Phys. Chem. A.* 2021. Т. 125, № 34. С. 7473–7488.
212. Skovpin I. V. и др. Anchored complexes of rhodium and iridium for the hydrogenation of alkynes and olefins with parahydrogen // *Catal. Sci. Technol.* 2022. Т. 12, № 10. С. 3247–3253.
213. Квон Р. И. и др. Сравнительное РФЭС исследование состава и электронного состояния иридия в свободном и закрепленном биядерном комплексе $[\text{Ir}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ // *Журнал Структурной Химии*. 2023. Т. 64, № 2. С. 106142.
214. Pravdivtsev A. N., Kozinenko V. P., Hövener J.-B. Only Para-Hydrogen Spectroscopy (OPSY) Revisited: In-Phase Spectra for Chemical Analysis and Imaging // *J. Phys. Chem. A.* 2018. Т. 122, № 45. С. 8948–8956.
215. Nantogma S. и др. MATRESHCA: Microtesla Apparatus for Transfer of Resonance Enhancement of Spin Hyperpolarization via Chemical Exchange and Addition // *Anal. Chem.* 2024. Т. 96, № 10. С. 4171–4179.
216. Cavallari E. и др. Studies to enhance the hyperpolarization level in PHIP-SAH-produced C^{13} -pyruvate // *J. Magn. Reson.* 2018. Т. 289. С. 12–17.
217. Balzan R. и др. Pyruvate cellular uptake and enzymatic conversion probed by dissolution DNP-NMR: the impact of overexpressed membrane transporters // *Magn. Reson. Chem.* 2017. Т. 55, № 6. С. 579–583.
218. Barskiy D. A. и др. NMR Signal Enhancement for Hyperpolarized Fluids Continuously Generated in Hydrogenation Reactions with Parahydrogen // *J. Phys. Chem. A.* 2015. Т. 119, № 6. С. 996–1006.
219. Huang F. и др. Palladium nanoclusters immobilized on defective nanodiamond-graphene core-shell supports for semihydrogenation of phenylacetylene // *J. Energy Chem.* 2019. Т. 33. С. 31–36.
220. Huang F. и др. Atomically Dispersed Pd on Nanodiamond/Graphene Hybrid for Selective Hydrogenation of Acetylene // *J. Am. Chem. Soc.* 2018. Т. 140, № 41. С. 13142–13146.
221. Kovtunov K. V. и др. New aspects of parahydrogen-induced polarization for C^2 – C^3 hydrocarbons using metal complexes // *Russ. Chem. Bull.* 2021. Т. 70, № 12. С. 2382–2389.
222. Lynden-Bell R. M., Sheppard N. High-Resolution nuclear-magnetic-resonance spectra of hydrocarbon groupings VI. The hydrogen spectra of carbon- 13 substituted ethane, ethylene and acetylene // *Proc. R. Soc. Lond. Ser. Math. Phys. Sci.* 1962. Т. 269, № 1338. С. 385–403.
223. Bhaduri S., Mukesh D. *Homogeneous Catalysis: Mechanisms and Industrial Applications*. 1-е изд. Wiley, 2014.

224. Haake M., Barkemeyer J., Bargon J. Symmetry Breakdown during Parahydrogen-Labeling of Symmetric Substrates : Proton Spin Polarization and Singlet/Triplet Mixing due to ^{13}C -Isotopes in Natural Abundance // *J. Phys. Chem.* 1995. Т. 99, № 49. С. 17539–17543.
225. Burueva D. В. и др. Single-Site Heterogeneous Catalysts: From Synthesis to NMR Signal Enhancement // *Chem. – Eur. J.* 2019. Т. 25, № 6. С. 1420–1431.
226. Lee I. и др. Tuning selectivity in catalysis by controlling particle shape // *Nat. Mater.* 2009. Т. 8, № 2. С. 132–138.
227. Hirst R. C., Grant D. M. Analysis of A2B2 NMR Spectra. II. Nonsymmetrical 1,2-Disubstituted Ethanes // *J. Chem. Phys.* 1964. Т. 40, № 7. С. 1909–1918.
228. Chapovsky P. L., Hermans L. J. F. Nuclear Spin Conversion In Polyatomic Molecules // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1999. Т. 50, № 1. С. 315–345.
229. Sun Z.-D., Takagi K., Matsushima F. Separation and Conversion Dynamics of Four Nuclear Spin Isomers of Ethylene // *Science*. 2005. Т. 310, № 5756. С. 1938–1941.
230. Joalland В. и др. Pulse-Programmable Magnetic Field Sweeping of Parahydrogen-Induced Polarization by Side Arm Hydrogenation // *Anal. Chem.* 2020. Т. 92, № 1. С. 1340–1345.
231. Eills J. и др. Polarization transfer via field sweeping in parahydrogen-enhanced nuclear magnetic resonance // *J. Chem. Phys.* 2019. Т. 150, № 17. С. 174202.
232. Smith M. В., March J. *March's Advanced Organic Chemistry*; 2006.
233. Gallagher F. A. и др. Magnetic resonance imaging of pH in vivo using hyperpolarized ^{13}C -labelled bicarbonate // *Nature*. 2008. Т. 453, № 7197. С. 940–943.
234. Jensen P. R. и др. Hyperpolarized [1,3- $^{13}\text{C}_2$]ethyl acetoacetate is a novel diagnostic metabolic marker of liver cancer // *Int. J. Cancer*. 2015. Т. 136, № 4.
235. Yi A. P. и др. Solvent Effects in Hyperpolarization of ^{15}N Nuclei in [$^{15}\text{N}_3$]Metronidazole and [$^{15}\text{N}_3$]Nimorazole Antibiotics via SABRE-SHEATH // *Anal. Sens.* 2024. Т. 4, № 6. С. e202400045.
236. Birchall J. R. и др. Quantifying the effects of quadrupolar sinks via ^{15}N relaxation dynamics in metronidazoles hyperpolarized via SABRE-SHEATH // *Chem. Commun.* 2020. Т. 56, № 64. С. 9098–9101.
237. Manoharan A. и др. Achieving Biocompatible SABRE: An in vitro Cytotoxicity Study // *ChemMedChem*. 2018. Т. 13, № 4. С. 352–359.
238. Barskiy D. A. и др. Rapid Catalyst Capture Enables Metal-Free *para* -Hydrogen-Based Hyperpolarized Contrast Agents // *J. Phys. Chem. Lett.* 2018. Т. 9, № 11. С. 2721–2724.
239. Bernstein H. J., Sheppard N. Sign of Geminal HH Coupling Constants in Methanes and the Effect of Substitution // *J. Chem. Phys.* 1962. Т. 37, № 12. С. 3012–3014.

Благодарности

Автор выражает благодарность своему предыдущему научному руководителю в период 2020 г. – д.х.н. **Ковтунову Кириллу Викторовичу**, который предоставил автору возможность начать работать в такой бурно развивающейся области и задал невероятный импульс. Ковтунов К. В. был выдающимся ученым, который скоропостижно ушел из жизни.

Автор выражает благодарность своему руководителю во время подготовки дипломной работы, д.х.н. и чл.-корр. РАН **Коптюгу Игорю Валентиновичу** за многочисленные советы и помощь на всех этапах научной карьеры.

Особую благодарность автор выражает своему научному руководителю к.х.н. **Буруевой Дударии Баировне** за чуткое научное руководство, терпение и поддержку на всех этапах становления научной карьеры в непростых жизненных обстоятельствах.

Автор выражает благодарность всем своим коллегам из лаборатории и в частности: к.х.н. **Бабенко Семену Владимировичу** за совместное проведение части экспериментов и моделирование спиновой динамики; к.х.н. **Сальникову Олегу Георгиевичу** за всестороннюю помощь в планировании части экспериментов и обсуждении соответствующих результатов; к.х.н. **Сковпину Ивану Владимировичу** за совместное проведение части экспериментов и обсуждение соответствующих результатов; к.х.н. **Чуканову Никите Владимировичу** за синтез всех предшественников необходимых для данной работы; **Мустафину Назиму Рафилевичу** за совместное проведение части экспериментов и синтез некоторых предшественников.

Автор выражает благодарность к.х.н. **Ковтуновой Ларисе Михайловне** за приготовление большинства использовавшихся в работе катализаторов; к.х.н. **Просвирину Игорю Петровичу** и д.х.н. **Бухтиярову Андрею Валерьевичу** за характеризацию катализаторов методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии; д.б.н. **Разумову Ивану Алексеевичу** за проведение тестов по жизнеспособности клеток; д.х.н. **Костину Геннадью Александровичу** за помощь в измерении остаточного содержания иридия методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой; д.х.н. **Стахееву Александру Юрьевичу** за предоставление катализаторов; Ph.D. **Фэй Хуану** и профессору **Хунъян Лю** за предоставление катализаторов и ПЭМ-изображения; д.ф.-м.н. **Чаповскому Павлу Львовичу** за плодотворное обсуждение результатов, посвященных ядерным спиновым изомерам.

Автор выражает благодарность всем своим немецким коллегам, открывшим ему дорогу в международную науку и в частности: **Трофимову Ивану Андреевичу** за совместное проведение экспериментов, обсуждение результатов и помощь в адаптации;

Ph.D. **Шмидту Андреасу** за теплый прием во Фрайбурге и научное руководство на протяжении всей стажировки.

Автор выражает свою сердечную благодарность всем своим многочисленным друзьям и в особенности **Скотниковой Анне Константиновне** за поддержку на всех этапах обучения в университете и аспирантуре.

Автор также выражает искреннюю благодарность своей семье (матери - **Связовой Ирине Сергеевне**, отцу – **Связову Владимиру Семеновичу**, дедушке – **Григорьеву Сергею Ивановичу**, бабушке – **Григорьевой Людмиле Владимировне**) за создание теплой атмосферы, способствующей научной работе.