

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

На правах рукописи

КОЗИНЕНКО ВИТАЛИЙ ПАВЛОВИЧ

**ИНДУЦИРУЕМАЯ ПАРАВОДОРОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИЯ ЯДЕРНЫХ  
СПИНОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПЕРЕКЛЮЧАЕМЫХ СТАТИЧЕСКИХ И  
ОСЦИЛЛИРУЮЩИХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ**

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

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:  
кандидат химических наук  
Кирютин Алексей Сергеевич

Новосибирск-2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 СИММЕТРИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА КАК ИСТОЧНИК УСИЛЕНИЯ СИГНАЛА ЯМР .....	14
1.2 КОНВЕРСИЯ СИНГЛЕТНОГО ПОРЯДКА ПАРАВОДОРА В ПОЛЯРИЗАЦИЮ МАГНИТНЫХ ГЕТЕРОЯДЕР В МЕТОДЕ ИППЯ С ГИДРИРОВАНИЕМ.....	17
1.2.1 Перенос поляризации в сильном магнитном поле .....	17
1.2.2 Перенос поляризации в ультраслабых магнитных полях.....	24
1.3 ПЕРЕНОС ПОЛЯРИЗАЦИИ В МЕТОДЕ ОБРАТИМОГО ОБМЕНА С ПАРАВОДОРОДОМ (SABRE) .....	28
1.4 ДОЛГОЖИВУЩИЙ СПИНОВЫЙ ПОРЯДОК $^{15}\text{N}_2$ -АЗОБЕНЗОЛА .....	34
ГЛАВА 2: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
2.1 УСТАНОВКА ЯМР С ВОЗМОЖНОСТЬЮ СОЗДАНИЯ ИНДУЦИРУЕМОЙ ПАРАВОДОРОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР В УЛЬТРА-ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ.....	37
2.2 ОПТИМИЗАЦИЯ МНОГОКРАТНО ПОВТОРЯЕМЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ИППЯ С ГИДРИРОВАНИЕМ .....	39
2.3 ЭКСПЕРИМЕНТЫ SABRE С ФОТОПЕРЕКЛЮЧЕНИЕМ АЗОБЕНЗОЛА..	40
2.4 ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	41
ГЛАВА 3: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	44
3.1 КОНВЕРСИЯ ИППЯ В ПОЛЯРИЗАЦИЮ ЯДЕР $^{13}\text{C}$ МЕТОДОМ APSOC С ПРОФИЛЕМ ПОСТОЯННОЙ АДИАБАТИЧНОСТИ.....	44
3.2 КОНВЕРСИЯ ИППЯ В ПОЛЯРИЗАЦИЮ ЯДЕР $^{13}\text{C}$ В УЛЬТРАСЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЯХ.....	51
3.2.1 Непрерывное гидрирование в постоянном поле.....	54
3.2.2 Когерентный перенос при мгновенном переключении поля.....	56
3.2.3 Адиабатическая развертка ультраслабого поля.....	58
3.2.4 Простая процедура оптимизации профиля развертки ультраслабого поля.....	60
3.3 ЯДЕРНАЯ СПИНОВАЯ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЯ АЗОБЕНЗОЛА.....	66

В МЕТОДЕ SABRE.....	66
3.3.1 Намагниченность и синглетный спиновый порядок <i>цис</i> -азобензола в экспериментах SABRE .....	66
3.3.2 Намагниченность <i>цис</i> - и <i>транс</i> -азобензола в экспериментах SABRE с фотопереключением.....	71
3.3.3 Синглетный спиновый порядок <i>транс</i> - <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -азобензола в экспериментах SABRE с фотопереключением.....	79
3.4 СОЗДАНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР <sup>15</sup> N В МЕТОДЕ SABRE С ПОМОЩЬЮ ОСЦИЛЛИРУЮЩИХ ПОПЕРЕЧНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ .....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	99
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ .....	101
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....	103
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из основных инструментов химии, биологии, материаловедения и других областей науки и индустрии [1–4]. В области медицины ядерный магнитный резонанс используется для проведения магнитно-резонансной томографии (МРТ) – важнейшего метода диагностики [5]. Ключевыми факторами, обеспечивающими широкое применение ЯМР и МРТ является высокая информативность данных методов в совокупности с их неинвазивностью. В то же время значительным ограничением ЯМР методик является их низкая чувствительность, обусловленная слабым взаимодействием магнитных моментов ядер с внешним магнитным полем. Вопрос чувствительности встает особо остро при наблюдении ЯМР магнитных гетероядер, таких как изотопы  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  и др. Магнитные моменты данных ядер в несколько раз меньше (в 4 раза для  $^{13}\text{C}$ , и в 10 раз для  $^{15}\text{N}$ ), чем у протонов, что в совокупности с низким природным содержанием изотопов делает их наблюдение крайне затруднительным и времязатратным.

Одним из основных факторов, ограничивающих чувствительность ЯМР, является низкая поляризация ядерных спинов в термодинамическом равновесии. При температурах порядка 300 К поляризация спинов протонов в поле 10 Тл составляет лишь около  $3 \cdot 10^{-5}$ . Таким образом, только три спина из почти ста тысяч вносят вклад в наблюдаемый сигнал ЯМР. Повышение энергии ЯМР переходов и, соответственно, повышение поляризации возможно за счет увеличения напряженности внешнего магнитного поля  $B_0$ . Однако данный подход требует значительных технических затрат при сравнительно небольшом выигрыше в чувствительности. Гораздо более эффективным методом повышения чувствительности ЯМР является создание неравновесной поляризации спиновой системы, называемой гиперполяризацией [6]. На сегодняшний день известно множество различных физических и химических

подходов для создания гиперполяризации, включая динамическую поляризацию ядер (ДПЯ) [7; 8], химическую поляризацию ядер (ХПЯ) [9; 10], индуцируемую параводородом поляризацию ядер (ИППЯ) [11; 12], оптическую накачку инертных газов [13] и многие другие.

Наиболее перспективными с точки зрения биологических и клинических приложений являются методы динамической поляризации ядер и индуцируемой параводородом поляризации ядер [14]. Оба подхода позволяют получать высокие уровни усиления сигналов ЯМР в жидкой фазе для широкого спектра биологически значимых молекул. Так, одним из актуальных направлений является применение ДПЯ и ИППЯ для исследования метаболических превращений с помощью *in vivo* МРТ. При этом наиболее развитым с точки зрения методологии и более широко применяемым является метод ДПЯ с быстрым растворением образца [15; 16]. Данный подход, однако, имеет ряд недостатков, таких как высокая стоимость покупки и обслуживания оборудования и низкая скорость производства гиперполяризованного продукта. В тоже время, метод ИППЯ позволяет создавать гиперполяризацию для наиболее востребованных биомолекул всего за несколько секунд и требует минимальных расходов на оборудование [14; 17–19]. Взрывной рост интереса к методу ИППЯ позволил ему вплотную приблизиться по эффективности к ДПЯ, однако его ключевым ограничением остаются более низкие уровни достигаемой поляризации.

Таким образом, повышение эффективности гиперполяризации в методе ИППЯ является актуальной задачей, требующей разработки новых и тщательного анализа существующих методов создания и детектирования ИППЯ. В данной диссертационной работе проводится развитие методологии ИППЯ в двух основных экспериментальных подходах: ИППЯ с гидрированием и поляризации в результате обратимого обмена с параводородом (SABRE, Signal Amplification By Reversible Exchange) [20]. Предложенные подходы для повышения поляризации магнитных гетероядер, достигаемой с помощью ИППЯ, могут приблизить клиническое применение данного метода.

### Разработанность темы

Усиление сигналов ЯМР за счет ИППЯ находит все более широкое применение как в фундаментальных, так и в доклинических исследованиях [6; 18; 21]. Основной причиной этого является простота данной методики и низкая стоимость оборудования, что особенно важно для создания коммерчески доступных решений для усиления сигналов ЯМР и МРТ. В связи с этим в последние годы происходит активный поиск новых соединений – субстратов, подходящих для создания гиперполяризации биологически значимых молекул с помощью подхода ИППЯ с гидрированием. Наиболее перспективным направлением при этом является конверсия ИППЯ в интегральную намагниченность магнитных гетероядер, в особенности ядер  $^{13}\text{C}$  [22–25]. В ряде работ показана высокая эффективность  $^{13}\text{C}$  ИППЯ для наблюдения метаболических превращений как *in vitro*, так и *in vivo* [26; 27]. Однако при сравнении с методом ДПЯ с растворением применение ИППЯ ограничено сравнительно низким уровнем достигаемой поляризации. При этом, несмотря на существование разнообразных методов переноса ИППЯ на гетероядра, достижение максимально возможных усилений сигнала требует тщательной оптимизации экспериментальных процедур для каждой выбранной молекулы [18; 28].

Метод поляризации в результате обратимого обмена с параводородом значительно расширяет область применения ИППЯ, позволяя усиливать сигналы ЯМР молекул субстрата, не подвергая их химическим превращениям [20; 29–31]. Изначально данный метод был применим только к субстратам, способным координироваться со специальным иридиевым катализатором, на котором происходит перенос поляризации с параводорода на ядра субстрата. Впоследствии список субстратов, подходящих для поляризации методом SABRE, значительно увеличился за счет развития подхода SABRE-Relay, основанного на использовании вспомогательного вещества, находящегося в химическом обмене как с катализатором, так и с субстратом [32; 33]. Однако ни одна из существующих на данный момент модификаций метода SABRE не применялась для гиперполяризации фото-переключаемых молекул на основе азобензола – важного класса соединений, представляющих интерес для

биохимии и фармакологии [34]. Помимо расширения списка подходящих субстратов, как и в случае ИППЯ с гидрированием, множество работ направлено на повышение эффективности SABRE поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$ . Так, актуальным направлением является развитие методов переноса поляризации в методе SABRE путем облучения образца осциллирующим магнитным полем в полях порядка десятков микротесла [35].

### **Цели и задачи работы**

Целью работы является развитие методов усиления сигналов ЯМР магнитных гетероядер за счет индуцируемой параводородом поляризации ядер для широкого диапазона магнитных полей;

В ходе выполнения работы решались следующие научные задачи:

- 1) повысить эффективность конверсии ИППЯ в намагниченность ядер  $^{13}\text{C}$  в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра с помощью оптимизации адиабатической двухрезонансной РЧ схемы;
- 2) определить наиболее эффективный способ конверсии ИППЯ в намагниченность ядер  $^{13}\text{C}$  в ультраслабом магнитном поле путем теоретического и экспериментального анализа различных схем переключения поля;
- 3) разработать метод гиперполяризации ядер *цис*- и *транс*-изомеров азобензола с использованием подхода SABRE и фотоизомеризации в ультраслабом магнитном поле;
- 4) разработать метод гиперполяризации ядер  $^{15}\text{N}$  в подходе SABRE в слабых полях при воздействии на спиновую систему поперечным магнитным полем на аудиочастоте без использования магнитного экрана.

### **Научная новизна работы**

Выполнена оптимизация адиабатической двухрезонансной РЧ схемы, позволившая наблюдать рекордную поляризацию ядер  $^{13}\text{C}$  в результате конверсии ИППЯ в сильном поле ЯМР спектрометра. В ходе оптимизации исследована эффективность оптимальных профилей переключения РЧ

возбуждения гетероядра, рассчитанных с помощью подхода “постоянной адиабатичности”.

Впервые проведен прямой сравнительный анализ различных методов конверсии ИППЯ в намагниченность ядер  $^{13}\text{C}$  в ультраслабом магнитном поле, в результате которого продемонстрировано превосходство метода адиабатической развертки поля. На основе полученных данных предложен простой и эффективный метод оптимизации профиля адиабатической развертки поля, требующий знания только констант спин-спиновых взаимодействий системы и применимый для многоспиновых систем.

Предложен метод гиперполяризации ядер *цис*- и *транс*-изомеров азобензола в методе SABRE с облучением образца светом. Прямая поляризация ядер *транс*-азобензола методом SABRE невозможна в силу стерических ограничений, поэтому объединение в одном эксперименте SABRE поляризации *цис*-азобензола и *цис-транс*-фотоизомеризации является единственным способом поляризовать *транс*-азобензол.

Предложен метод усиления сигналов ядер  $^{15}\text{N}$  за счет переноса SABRE поляризации в слабых полях под действием поперечного магнитного поля прилагаемого на аудиочастоте. Данный метод не требует использования магнитного экрана, сохраняя при этом высокую эффективность экспериментов SABRE, проводимых в ультраслабом магнитном поле.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Оптимизация двухрезонансной адиабатической РЧ схемы для конверсии ИППЯ в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра, позволяет создавать рекордные усиления сигналов ядер  $^{13}\text{C}$  молекул, в которых протоны, полученные из параводорода занимают химически эквивалентные позиции. Наиболее яркими примерами таких молекул являются малеаты и фумараты – широко применяемые как в промышленности, так и в фундаментальных исследованиях. В рамках данного подхода также продемонстрирована эффективность профиля переключения РЧ возбуждения, рассчитанного с помощью подхода “постоянной адиабатичности”, позволяющего ускорять конверсию синглетного порядка параводорода в намагниченность гетероядра.



Сравнительный анализ различных схем конверсии ИППЯ в ультраслабых магнитных полях расширяет знания о спиновой динамике данного процесса и позволяет строго обосновать преимущество метода адиабатической развертки поля перед другими схемами. Для данного метода предложен способ повышения эффективности конверсии ИППЯ за счет простой процедуры оптимизации профиля развертки поля, применимой к сложным многоспиновым системам и требующий только расчета или измерения полевой зависимости эффективности переноса поляризации. Особенности переноса ИППЯ в ультраслабых магнитных полях для различных спиновых систем продемонстрированы на примере трехспиновой системы  $^{13}\text{C}$  малеата и многоспиновой системы  $^{13}\text{C}$  аллилпирувата, представляющих большой интерес для биологических приложений ИППЯ.

Впервые продемонстрировано, что *цис-транс*-фотоизомеризация в ультраслабом магнитном поле сохраняет создаваемую SABRE гиперполяризацию ядер *цис*-азобензола, позволяя поляризовать также и ядра *транс*-азобензола несмотря на то, что его прямая координация с комплексом SABRE стерически затруднена. Предложенный на основе данного эффекта метод поляризации *цис-транс*-фотопереключаемых молекул значительно расширяет область применения метода SABRE.

Перенос ИППЯ на ядра  $^{15}\text{N}$  в экспериментах SABRE в слабых полях под действием поперечного магнитного поля прилагаемого на аудиочастоте позволяет достигнуть эффективности экспериментов SABRE, проводимых в ультраслабом магнитном поле, не используя при этом магнитный экран. Данная методика позволит существенно снизить стоимость оборудования для SABRE и сделает данный метод доступным для широкого круга лабораторий.

### **Методология и методы исследования**

Экспериментальная часть работы выполнялась на ЯМР спектрометре Bruker Avance III HD с протонной частотой 400 МГц. Для проведения экспериментов ИППЯ в ультрашироком диапазоне магнитных полей использовалась уникальная установка, разработанная сотрудниками МТЦ СО РАН и позволяющая проводить барботирование образца газом и быстрое

переключение магнитного поля в автоматическом режиме. Эксперименты по поляризации ядер *цис*- и *транс*-изомеров азобензола в методе SABRE с облучением образца светом проводились с помощью компактной лазерной системы, размещенной над верхним срезом установки. Для численных расчетов спиновой динамики в экспериментах ИППЯ были созданы авторские программы для пакета MATLAB.

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

- 1) Процедура оптимизации адиабатической двухрезонансной радиочастотной схемы с привлечением подхода “постоянной адиабатичности”, позволяющая повысить эффективность конверсии ИППЯ в намагниченность ядер  $^{13}\text{C}$  в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра.
- 2) Результаты численных расчетов и экспериментального исследования спиновой динамики переноса ИППЯ на ядра  $^{13}\text{C}$  для трех различных экспериментальных схем в ультраслабых магнитных полях, показавшие, что наибольшая поляризация ядер  $^{13}\text{C}$  наблюдается в подходе адиабатической развертки ультраслабого поля.
- 3) Метод оптимизации профиля адиабатической развертки ультраслабого поля, требующий знания только констант спин-спиновых взаимодействий системы и позволяющий повысить эффективность переноса ИППЯ даже в сложных многоспиновых системах.
- 4) Метод создания гиперполяризации ядер *транс*-азобензола за счет одновременного создания SABRE поляризации ядер *цис*-азобензола и проведения *цис-транс*-фотоизомеризации в ультраслабом магнитном поле.
- 5) Метод создания гиперполяризации ядер  $^{15}\text{N}$  при проведении экспериментов SABRE в статическом магнитном поле, превышающем магнитное поле Земли, с помощью осциллирующего поперечного магнитного поля, не требующий магнитного экрана и позволяющий достичь большей эффективности чем при использовании ультраслабых магнитных полей.

### **Степень достоверности результатов проведённых исследований**

Обеспечение достоверности описанных в диссертационной работе результатов и выводов достигалось за счет применения современных экспериментальных и теоретических методов. Воспроизводимость результатов в том числе обусловлена высокой степенью автоматизации экспериментальной установки, позволившей проводить многократные повторения измерений. Все экспериментальные и теоретические результаты находятся в согласии с известными и общепринятыми теоретическими моделями и опубликованными ранее данными. Корректность и значимость выводов, представленных в работе, также подтверждается публикациями в рецензируемых международных журналах.

### **Личный вклад автора**

Роль автора при выполнении работы заключалась в планировании и проведении экспериментов, выполнении теоретических исследований, обсуждении результатов и их оформлении для публикации в рецензируемых журналах. При участии автора проводилась модернизация экспериментальной установки для проведения нестандартных экспериментов с ИППЯ в переключаемых магнитных полях. Представленные в диссертации результаты получены лично автором, если иное не оговорено явным образом.

### **Апробация результатов**

Результаты и материалы диссертации были представлены на различных международных и всероссийских научных конференциях: Spin Physics, Spin Chemistry and Spin Technology 2018; V School for young scientists: Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics 2018; EUROISMAR2019; EUROMAR2020 on-line; Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics VI International School for Young Scientists 2020; Modern development of magnetic resonance 2022; X International Voevodsky conference 2022; Modern trends in organometallic chemistry and catalysis 2023; International Hyperpolarization conference 2023.

### Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано четыре научные статьи в рецензируемых научных изданиях:

1. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. Polarization of low- $\gamma$  nuclei by transferring spin order of parahydrogen at high magnetic fields // Journal of Magnetic Resonance. – 2019. – Vol. 309 – P. 106594.
2. Sheberstov K.F., **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Vieth H.-M., Ivanov K.L., Yurkovskaya A.V. Hyperpolarization of cis-15N,15N'-azobenzene by parahydrogen at ultralow magnetic fields // ChemPhysChem. – 2021. – Vol. 22. – № 14. – P. 1527-1534.
3. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V. Polarizing insensitive nuclei at ultralow magnetic fields using parahydrogen: A facile route to optimize adiabatic magnetic field sweeps // The Journal of Chemical Physics. – 2022. – Vol. 157. – № 17. – P. 174201.
4. Kiryutin A.S., **Kozinenko V.P.**, Yurkovskaya A.V. Photo-SABRE: Nuclear Spin Hyperpolarization of *cis-trans* Photoswitchable Molecules by Parahydrogen // ChemPhotoChem. – 2023. – Vol. 8 – P. e202300151.

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

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

### **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на 114 страницах машинописного текста, содержит 44 рисунок и 2 таблицы. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), результатов и обсуждения (глава 3), заключения, основных результатов и выводов, списка используемых сокращений, списка литературы из 105 наименований.

### **Благодарности**

Автор выражает глубокую благодарность А.С. Кирютину за научное руководство и помощь в подготовке и проведении экспериментов; благодарит А.В. Юрковскую за рекомендации и помощь в работе над диссертацией и К.Ф. Шеберстова за помощь при подготовке SABRE экспериментов с азобензолом и обсуждении результатов. Автор благодарен сотрудникам лаборатории теоретической спиновой химии и лаборатории фотохимических радикальных реакций за плодотворные дискуссии и вдохновляющую, творческую атмосферу. Особую благодарность автор выражает своему предыдущему научному руководителю и наставнику - Константину Львовичу Иванову, безвременно покинувшему этот свет, чей вклад в проделанную работу и в становление автора как специалиста трудно переоценить.

## ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 СИММЕТРИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА КАК ИСТОЧНИК УСИЛЕНИЯ СИГНАЛА ЯМР

Согласно принципу Паули, волновая функция двух частиц с полуцелым спином должна быть антисимметрична относительно перестановки этих частиц. Из этого следует, что волновая функция молекулярного водорода меняет знак при перестановке ядер. Из всех степеней свободы молекулы водорода только вращательные и ядерные спиновые волновые функции зависят от перестановки ядер. В результате требование антисимметрии полной волновой функции связывает эти степени свободы, обуславливая существование двух форм молекулярного водорода [36]. Возможные комбинации вращательных и ядерно-спиновых волновых функций имеют следующий вид:

$$\begin{aligned}\Psi_{\text{para}} &= \Psi_J^{\text{symm}}(\theta, \phi) \cdot \Psi_S^{\text{antisymm}} \\ \Psi_{\text{ortho}} &= \Psi_J^{\text{antisymm}}(\theta, \phi) \cdot \Psi_S^{\text{symm}},\end{aligned}\tag{1}$$

где  $\Psi_J(\theta, \phi)$  – волновая функция вращательного движения,  $\Psi_S$  – спиновая волновая функция.

Состояние  $\Psi_{\text{ortho}}$  с симметричной спиновой волновой функцией и антисимметричной вращательной соответствует ортоводороду. Для системы двух спинов  $1/2$  такое состояние имеет полный спин 1. Данному состоянию, называемому триплетным, отвечают три волновые функции, описывающие разные значения проекции полного спина, а именно:

$$\begin{aligned}|T_+\rangle &= |\alpha\alpha\rangle, \\ |T_0\rangle &= \frac{1}{\sqrt{2}} [|\alpha\beta\rangle + |\beta\alpha\rangle], \\ |T_-\rangle &= |\beta\beta\rangle,\end{aligned}\tag{2}$$

где  $|\alpha\alpha\rangle, |\alpha\beta\rangle, |\beta\alpha\rangle, |\beta\beta\rangle$  – зеемановские состояния для пары спинов  $1/2$ .

Параводородом называется состояние  $\Psi_{\text{para}}$  с антисимметричной спиновой и симметричной вращательной волновыми функциями. Спиновое состояние параводорода описывается синглетной волновой функцией

$$|S\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}} [|\alpha\beta\rangle - |\beta\alpha\rangle]. \quad (3)$$

В термическом равновесии при комнатной температуре концентрация параводорода в газе молекулярного водорода составляет чуть более 25 %. При охлаждении газа его вращательная энергия будет снижаться, в результате чего все больше молекул будут переходить в основное вращательное состояние, являющееся симметричным по перестановке ядер. Вследствие связи спиновых и вращательных степеней свободы это приведет к обогащению смеси параводородом. При температуре кипения водорода (20.3 К) концентрация параводорода достигает 99.86 %. Стоит, однако, учитывать, что скорость конверсии ортоводорода в параводород является крайне низкой, поскольку переходы между синглетным и триплетными состояниями запрещены правилами отбора. В связи с этим для обогащения пара компоненты водорода используют специальные катализаторы, содержащие парамагнитные центры (простейшим примером является древесный уголь), взаимодействие с которыми повышает вероятность орто-пара-конверсии. Пропуская водород через ячейку с катализатором, помещенную в жидкий азот, можно получить 50 % параводорода, чего зачастую уже достаточно для наблюдения усиления сигналов ЯМР. Использование гелиевых криостатов позволяет обогащать уже до 95 % параводорода. После конверсии параводород можно хранить при комнатной температуре в течение нескольких недель, если стенки сосуда для хранения не содержат парамагнитных примесей.

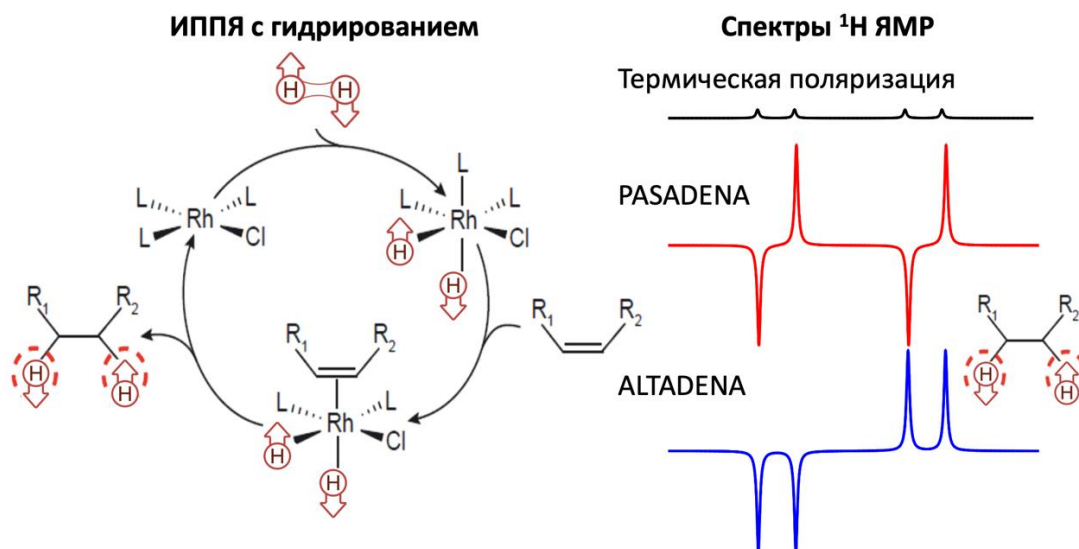
Поскольку полный спин параводорода равен нулю, его нельзя наблюдать методами ЯМР. Вследствие этого для конверсии неравновесного спинового порядка в наблюдаемые усиления сигналов ЯМР необходимо нарушить исходную симметрию спинов параводорода. В методе ИППЯ (индуцируемая параводородом поляризация ядер) нарушение симметрии происходит в процессе гомогенного каталитического гидрирования ненасыщенной C-C связи субстрата параводородом (рис. 1) [11; 12; 37]. При этом регистрация

ИППЯ будет возможна только в том случае, если в молекуле продукта гидрирования присоединенные протоны параводорода оказываются в химически или магнитно неэквивалентных позициях. Создаваемый в результате гидрирования спиновый порядок сильно зависит от условий проведения эксперимента. Так спиновый порядок и, соответственно, спектры, получаемые в методе ИППЯ, существенно зависят от интенсивности магнитного поля, в котором проводится гидрирование [38]. Так создание ИППЯ в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра приводит к формированию мультиплетной поляризации протонных спинов. В результате сигнал ЯМР каждого протона имеет антифазный характер, т. е. состоит из линий разного знака (см. рис. 1). Именно в такой постановке эксперимента эффект ИППЯ был впервые описан в литературе [11]. Данный метод регистрации ИППЯ и вид получаемых с его помощью спектров были названы PASADENA (Parahydrogen And Synthesis Allows Dramatically Enhanced Nuclear Alignment). Проведение гидрирования в слабом магнитном поле с последующим переносом образца в сильное поле ЯМР спектрометра позволяет конвертировать ИППЯ в интегральную намагниченность протонных спинов, в результате чего их сигналы состоят из линий одного знака (см. рис. 1). При этом величина магнитного поля должна отвечать условию сильной связи спинов  $|J| \gg |\Delta\nu|$ , когда разница их ларморовских частот  $\Delta\nu$ , становится меньше величины их скалярного спин-спинового взаимодействия  $J$ . Эксперименты по созданию ИППЯ в слабом поле были выполнены вскоре после первой демонстрации эффекта ИППЯ в литературе и были названы акронимом ALTADENA (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment) [39].

Несмотря на то что ИППЯ изначально создается на протонах, особый интерес представляет конверсия ИППЯ в намагниченность гетероядер, зачастую изотопов  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$ . Данные ядра характеризуются медленной спиновой релаксацией, что позволяет сохранять гиперполяризацию в течение нескольких минут и использовать ее для мониторинга биологических процессов, в том числе *in-vivo*. Помимо долгой релаксации, использование редких изотопов (1 % природного содержания для  $^{13}\text{C}$  и 0.36 % для  $^{15}\text{N}$ ) позволяет получать спектры ЯМР и изображения ЯМР, свободные от фоновых



сигналов. В то же время малость магнитных моментов данных ядер и низкое природное содержание делает их детектирование затруднительным даже с учетом гиперполяризации и вынуждает добиваться максимальной степени конверсии ИППЯ.



**Рисунок 1.** Формирование протонной ИППЯ в процессе гомогенного каталитического гидрирования ненасыщенной С–С связи субстрата параводородом (слева). Схематичные спектры  $^1H$  ЯМР, наблюдаемые при термической поляризации пары спинов и при создании ИППЯ в экспериментах PASADENA и ALTADENA (справа).

## 1.2 КОНВЕРСИЯ СИНГЛЕТНОГО ПОРЯДКА ПАРАВОДОРА В ПОЛЯРИЗАЦИЮ МАГНИТНЫХ ГЕТЕРОЯДЕР В МЕТОДЕ ИППЯ С ГИДРИРОВАНИЕМ

### 1.2.1 Перенос поляризации в сильном магнитном поле

Величина магнитного поля является ключевым фактором в экспериментах по конверсии ИППЯ в намагниченность магнитных гетероядер. Аналогично случаю протонов, все экспериментальные подходы по переносу ИППЯ можно разделить на проводимые в сильном и в слабом магнитных полях. Поскольку проведение экспериментов в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра не требует дополнительного оборудования для переключения магнитного поля, этот подход развивался в первую очередь и до сих пор остается востребован на практике. При этом, поскольку спины протонов и гетероядра находятся в состоянии слабой связи в любом магнитном поле, превышающем несколько микротесла, конверсия ИППЯ в намагниченность

гетероядра в сильном поле возможна только с помощью специальных последовательностей радиочастотных (РЧ) импульсов.

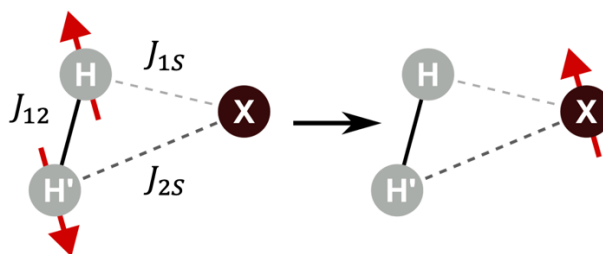
Стандартным подходом для усиления сигналов гетероядер в ЯМР является перенос протонной поляризации с помощью последовательности РЧ импульсов INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) [40]. Для использования в экспериментах по переносу ИППЯ последовательность INEPT необходимо модифицировать, что было теоретически и экспериментально показано М. Хааке и соавторами [41; 42]. Полученный вариант последовательности, названный PH-INEPT (parahydrogen-INEPT), и его многочисленные модификации до сих пор широко применяются в экспериментах с ИППЯ [23; 25; 38; 43]. Данный подход, однако, применим только для случаев, когда протоны, полученные из параводорода, занимают в продукте гидрирования химически неэквивалентные положения, и разница их ларморовских частот превышает величину их скалярного взаимодействия. Подобные системы достаточно часто встречаются в области ИППЯ, однако ряд биологически значимых молекул, подходящих для ИППЯ с гидрированием, например сукцинат и фумарат, содержат только химически эквивалентные протоны [44–46].

В случае систем с химически эквивалентными протонами, спиновую динамику удобно описывать в синглет-триплетно-зеemanовском базисе состояний (Singlet-Triplet-Zeeman, STZ), являющимся прямым произведением синглет-триплетного базиса пары протонов (уравнения (2) и (3)) и зеemanовского базиса гетероядра:

$$\text{STZ} = \{|S\rangle, |T_+\rangle, |T_0\rangle, |T_-\rangle\} \otimes \{|\alpha\rangle, |\beta\rangle\} \quad (4)$$

В результате парного присоединения двух протонов параводорода, состояния  $S\alpha$  и  $S\beta$  оказываются населены одинаково, что соответствует нулевой интегральной намагниченности гетероядра. Задача конверсии данного спинового порядка в намагниченность гетероядра может быть решена разными способами (рис. 2). Так, импульсные последовательности, предложенные М. Гольдманом [47], С. Кадлеком [48] и Д. Эйлзом [49] используют мощные РЧ импульсы для управления синглетным порядком. Теоретически достижимая поляризация гетероядра в данных методах часто

достигает ста процентов, однако на практике эффективность их может значительно снижаться за счет погрешностей в калибровке РЧ импульсов и наличия нерезонансных эффектов. Кроме того, настройка данных последовательностей затруднительна без точной информации о константах спин-спиновых взаимодействий в системе. Противоположным случаем можно считать метод SLIC (Spin Lock Induced Crossing), использующий продолжительный РЧ импульс малой мощности [50; 51]. Перенос ИППЯ методом SLIC является наиболее простым с точки зрения постановки эксперимента в силу минимального количества импульсов в последовательности, однако его эффективность резко снижается при наличии даже небольшой отстройки от резонанса гетероядра.



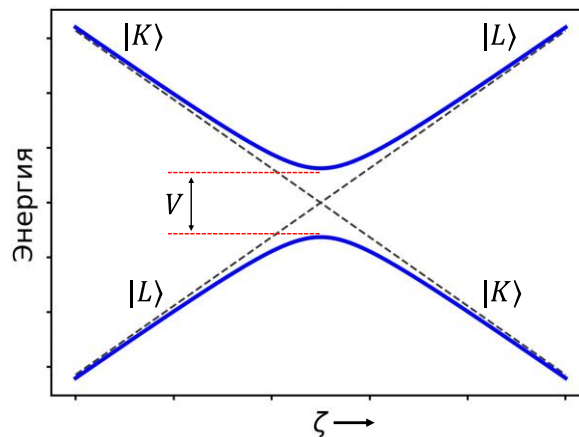
**Рисунок 2.** Схематическое изображение трехспиновой системы двух протонов и гетероядра X и конверсии синглетного порядка пары протонов в интегральную намагниченность ядра X.

Несмотря на отличия, все описанные выше методы основаны на возбуждении когерентностей между различными спиновыми состояниями. Другой класс методов для переноса поляризации основан на адиабатическом изменении параметров РЧ возбуждения. Идея данного подхода заключается в корреляции состояний при максимальном и минимальном значении какого-либо параметра РЧ возбуждения, зачастую его амплитуды. При достаточно медленном (адиабатическом) изменении амплитуды РЧ поля населенности состояния спиновой системы будут следовать за меняющимися уровнями энергии, что позволяет перераспределять поляризацию между ядрами. Ключевым фактором для успешного адиабатического переноса поляризации является наличие антипересечения спиновых уровней (АПУ) энергии при определенном значении изменяемого параметра. Подробное описание роли АПУ в создании и переносе гиперполяризации приводится в работах К. Л.

Иванова [52–54]. Обычно для описания АПУ удобно представить спиновый гамильтониан в виде суммы основного вклада  $\hat{H}_0$  и возмущения  $\hat{V}$

$$\hat{H}(\zeta) = \hat{H}_0(\zeta) + \hat{V}. \quad (5)$$

Основной гамильтониан зависит от стороннего параметра  $\zeta$  (например, амплитуды РЧ поля) и некоторые его уровни энергии пересекаются при определенном значении этого параметра. АПУ возникает, если возмущение смешивает состояния участвующие в пересечении уровней (рис. 3). В результате вырождение снимается, и при медленном прохождении через АПУ, населенности будут следовать за адиабатическими термами. При этом произойдет обмен населенностей между диабатическими термами  $|K\rangle$  и  $|L\rangle$ , что в ряде случаев и приводит к желаемому переносу поляризации ( $p_K \rightarrow p_L$  и  $p_L \rightarrow p_K$ ).



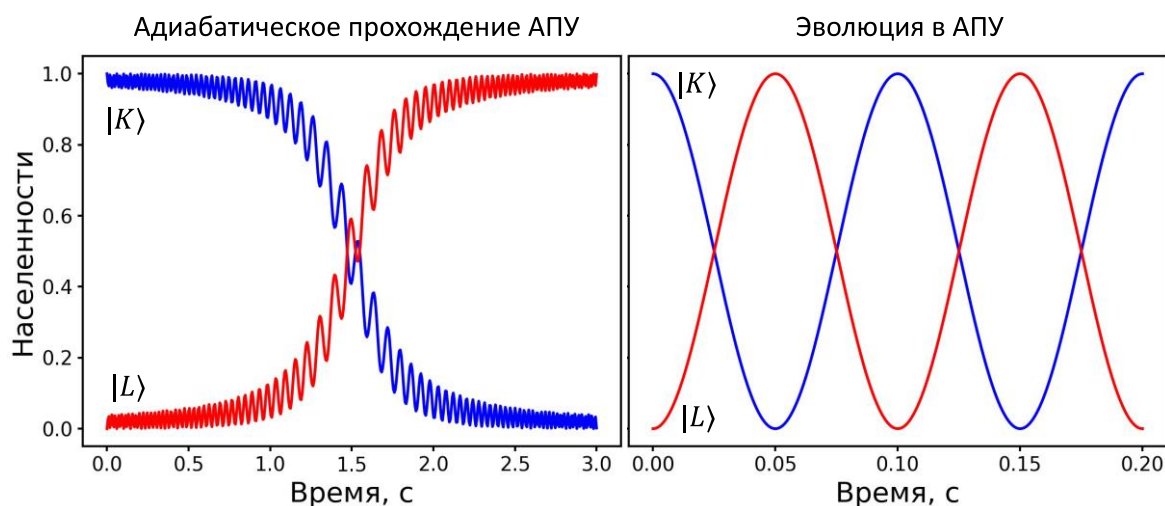
**Рисунок 3.** Антипересечение уровней энергии в двухуровневой системе.

Используя подход Ландау-Зенера [55], можно найти населенности состояний  $|K\rangle$  и  $|L\rangle$  после прохождения АПУ в том случае, если изначально  $p_K = 1$ , а  $p_L = 0$

$$p_K = \exp\left[-\frac{2\pi|V_{KL}|^2}{\mathcal{F}_{KL}}\right], p_L = 1 - p_K, \quad (6)$$

где  $V_{KL}$  – матричный элемент возмущения, смешивающего состояния,  $\mathcal{F}_{KL} = \frac{d}{dt}|E_k - E_l|$  отражает скорость изменения уровней энергии, т.е. скорость переключения параметра. В результате для успешного обмена населенностями скорость прохождения через АПУ должна быть меньше характерной скорости внутренней эволюции в системе. При этом обмен населенностями возможен и при мгновенном переносе системы в область АПУ. В случае, если система

изначально была приготовлена в одном из состояний, населенность начнет осциллировать между всеми состояниями, смешенными в АПУ. Выжидая оптимальное время эволюции системы, а затем мгновенно выходя из зоны АПУ, можно перенести населенность в желаемое состояние, как и при адиабатическом прохождении (рис .4).



**Рисунок 4.** Динамика населённости состояний спиновой системы при адиабатическом прохождении области АПУ (слева) и при эволюции после мгновенного перехода в АПУ (справа).

Адиабатический подход является сравнительно медленным способом переноса поляризации, однако множество работ демонстрируют его высокую эффективность. Для экспериментов в сильном поле наиболее развитым является метод APSOC (Adiabatic Passage Singlet Order Conversion), использующий АПУ во вращающейся системе координат для управления спиновым порядком [56; 57]. Первой предложенной областью применения последовательности APSOC была конверсия мультиплетной протонной ИППЯ, созданной в сильном поле, в интегральную намагниченность протонов путем выключения поперечного РЧ поля. Данный эксперимент имеет большое практическое значение, поскольку антифазные сигналы мультиплетной поляризации удается эффективно детектировать только в условиях высокой однородности магнитного поля, что не всегда выполняется на практике, особенно в области МРТ.

Для конверсии ИППЯ в намагниченность гетероядра последовательность APSOC необходимо модифицировать, что было показано А. Н. Правдивцевым и соавторами [54]. В данной постановке эксперимента необходимо

прикладывать два РЧ поля: постоянное на частоте протонов и переключаемое на частоте гетероядра. При этом рассматривались системы, в которых протоны, полученные из параводорода являются химически эквивалентными, т.е. имеют одинаковые ларморовские частоты. Гамильтониан системы таких протонов и гетероядра записывается следующим образом:

$$\hat{H} = -\omega_H\{\hat{I}_{1z} + \hat{I}_{2z}\} - \omega_S\hat{S}_z + 2\pi\{J_{12}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2) + J_{1S}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{S}}) + J_{2S}(\hat{\mathbf{I}}_2 \cdot \hat{\mathbf{S}})\}, \quad (7)$$

где  $\hat{\mathbf{I}}_i$  – оператор спина  $i$ -го протона,  $\hat{\mathbf{S}}$  – оператор спина гетероядра,  $\omega_{H,S}$  – ларморовские частоты протонов и гетероядра,  $J_{12}$  – константа спин-спинового взаимодействия протонов,  $J_{iS}$  – константа спин-спинового взаимодействия  $i$ -го протона и гетероядра.

При наличии двух поперечных РЧ полей гамильтониан (7) можно представить в дважды вращающейся системе координат (doubly rotating frame, DRF), что после удаления несекулярных членов и разделения на основную часть и возмущение приводит к следующему выражению:

$$\begin{aligned} \hat{H}_{0,DRF}(t) &= -\delta\omega_S\hat{S}_z + 2\pi\{J_{12}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2)\} - \omega_{H,1}(\hat{I}_{1x} + \hat{I}_{2x}) - \omega_{S,1}(t)\hat{S}_x, \\ \hat{V} &= 2\pi\{J_{1S}\hat{I}_{1z}\hat{S}_z + J_{2S}\hat{I}_{2z}\hat{S}_z\}. \end{aligned} \quad (8)$$

РЧ возбуждение по протонному каналу имеет амплитуду  $\omega_{H,1}$  и прикладывается на частоте протонов параводорода, в то время как РЧ поле на гетероядерном канале (с амплитудой  $\omega_{S,1}(t)$ , изменяемой от максимального значения в момент времени  $t = 0$  до нуля) имеет частоту  $\omega_S^{RF}$ , отличную от ларморовской частоты гетероядра  $\omega_S$  на  $\delta\omega_S$ . Для дальнейшего анализа гамильтониана нужно заметить, что в присутствии РЧ полей оси квантования спинов протонов и гетероядра будут отличны от оси  $z$ , направленной вдоль внешнего поля  $B_0$ . Так, для протонов эффективное магнитное поле, вдоль которого можно ввести ось квантования, совпадает с осью  $x$ . В то же время для гетероядра, из-за наличия резонансной отстройки, направление эффективного поля  $\omega_{S,eff}$  определяется векторной суммой полей, направленных вдоль осей  $x$  и  $z$  с амплитудами  $\omega_{S,1}$  и  $\delta\omega_S$  соответственно. В новой системе отчета основной гамильтониан примет следующий вид:

$$\hat{H}_{0,DRDTF}(t) = 2\pi J_{12}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2) - \omega_{H,1}(\hat{I}_{1z} + \hat{I}_{2z}) - \omega_{S,eff}(t)\hat{S}_z. \quad (9)$$

Секулярная часть спин-спинового взаимодействия протонов и гетероядра отвечает за возмущение  $\hat{V}$ , приводящее к формированию АПУ. Наиболее эффективное смешивание состояний происходит в области, где  $\omega_{H,1} \approx \omega_{S,eff}$ . Данное условие определяет допустимые значения амплитуд РЧ полей, а также оптимальную частоту РЧ возбуждения гетероядра. Значение резонансной отстройки также определяет, корреляция каких уровней произойдет при выключении РЧ поля, что позволяет управлять знаком намагниченности гетероядра.

Как было упомянуто ранее, недостатком подобного метода переноса ИППЯ является его низкая скорость, что неизбежно приводит к потерям поляризации за счет спиновой релаксации. При этом важно заметить, что скорость переключения параметра начинает играть заметную роль только в области возле АПУ. При удалении от АПУ разница между уровнями энергии становится гораздо больше возмущения, смешивающего состояния, в результате чего даже быстрое изменение параметра не может вызвать переходов между уровнями. Таким образом, оптимальный профиль переключения РЧ поля должен обеспечивать медленное переключение вблизи области АПУ и быстрое вне ее. В первых работах по методу APSOC зачастую использовался линейный профиль переключения либо профили, полученные с помощью простых аналитических функций. Однако наиболее корректным является подход к оптимизации профиля, учитывающий спиновую динамику системы при прохождении через АПУ.

В работах Б. А. Родина и соавторов [58–60] представлен метод оптимизации профиля адиабатического переключения РЧ поля, основанный на подходе постоянной адиабатичности. Для расчета такого профиля необходимо ввести параметр адиабатичности для пары состояний  $|i\rangle$  и  $|j\rangle$  следующего вида:

$$\xi_{ij} = \frac{1}{2\pi(E_i - E_j)} \cdot \left\langle i \left| \frac{d}{dt} \right| j \right\rangle. \quad (10)$$

В случае, если  $\xi_{ij} \ll 1$  для всех пар состояний системы, условие адиабатичности выполняется. Значение  $\xi_{ij}$  резко возрастает вблизи АПУ, поскольку в данной области разница энергией уровней уменьшается, и происходит смешивание состояний, т.е. увеличивается  $d|j\rangle/dt$ . Зафиксировав

значение параметра адиабатичности для всего процесса переноса, можно вычислить профиль, который обеспечит медленное переключение поля вблизи АПУ и быстрое вне области АПУ. Таким образом можно сократить общее время переноса, не уменьшая при этом его эффективность.

Подход постоянной адиабатичности успешно применялся для конверсии намагниченности протонов в синглетный спиновый порядок в экспериментах с термически поляризованными образцами. Данная задача, направленная на изучение долгого времени релаксации синглетного спинового порядка, имеет прямое отношение к переносу ИППЯ, поскольку, как было упомянуто ранее, изначально ИППЯ создается именно в форме синглетного порядка протонов. Тем не менее работ по оптимизации профиля переключения поля для конверсии ИППЯ в намагниченность гетероядра ранее не проводилось. Данная задача особенно актуальна, поскольку быстрый перенос поляризации критичен для получения максимального усиления сигналов, что особенно важно для биомедицинских приложений ИППЯ.

### 1.2.2 Перенос поляризации в ультраслабых магнитных полях

Несмотря на большую доступность методов ИППЯ в сильных магнитных полях, слабые магнитные поля на практике часто оказываются более подходящими для переноса ИППЯ. Отчасти это объясняется меньшими потерями поляризации, вызванными синглет-триплетной конверсией в слабых магнитных полях, когда два протона, полученные из молекулы параводорода, становятся химически неэквивалентными в промежуточных продуктах реакции или в молекуле продукта [25; 61]. В большинстве случаев, представляющих интерес для биомедицинских приложений, в методе ИППЯ с гидрированием обычно рассматривается перенос поляризации от протонов к ядрам  $^{13}\text{C}$ , в частности к карбонильным углеродам. Такие углероды, будучи изолированными от протонов, демонстрируют большое время  $T_1$  релаксации и встречаются во многих биологически значимых молекулах. Величина спин-спинового взаимодействия протонов с подобными ядрами  $^{13}\text{C}$  редко превышает единиц герц, что затрудняет выполнение условия сильной связи,



необходимое для переноса поляризации. Как было описано выше, в экспериментах в сильном поле, условие сильной связи не может быть выполнено, а перенос поляризации происходит с помощью РЧ полей. Разница ларморовских частот протонов и гетероядра определяется величиной внешнего поля  $B_0$  и разницей их гиромагнитных отношений:  $\Delta\nu = (\gamma_I - \gamma_S)B_0$ , где  $\gamma_{I,S}$  – гиромагнитные отношения протонов и гетероядра соответственно. В большинстве случаев для перехода в режим сильной связи протонов и ядер  $^{13}\text{C}$  необходимы магнитные поля ниже одной микротеслы. Данный диапазон полей часто называют ультраслабыми магнитными полями (ultralow field, ULF).

В контексте ИППЯ с гидрированием существует несколько возможных способов использования ультраслабых полей для переноса поляризации. Наиболее часто используется адиабатическое изменение магнитного поля либо от околонулевых значений до нескольких микротесла, либо от отрицательных до положительных значений. Этот подход, часто называемый циклированием магнитного поля, оказался одним из наиболее эффективных и надежных методов переноса ИППЯ. Так, циклирование магнитного поля применялось в работах Ф. Рейнери с соавторами, посвященных развитию методики ИППЯ с гидрированием боковой цепи [22; 27; 28]. В данных экспериментах ИППЯ создается гидрированием ненасыщенного спирта, соединенного с молекулой метаболита через эфирную связь. Конверсия ИППЯ в намагниченность ядра  $^{13}\text{C}$ , находящегося в остатке метаболита, позволяет впоследствии отделить остаток спирта путем гидролиза и получить чистый раствор метаболита с ядерными спинами в состоянии гиперполяризации.

Подробный теоретический анализ спиновой динамики ИППЯ при адиабатической развертке магнитного поля представлен в работе Эйлза и соавторов [62]. Как и в случае адиабатических методов в сильном поле, в данной задаче удобно использовать подход АПУ для анализа спиновой динамики. Простейшим случаем для демонстрации АПУ в ультраслабых полях является трехспиновая система из двух протонов и ядра  $^{13}\text{C}$ , что соответствует, например,  $^{13}\text{C}$ -малеату и  $^{13}\text{C}$ -фумарату. Гамильтониан данной системы записывается аналогично случаю сильного поля (7). Однако поскольку в данном случае рассматриваются магнитные поля, в которых протоны и

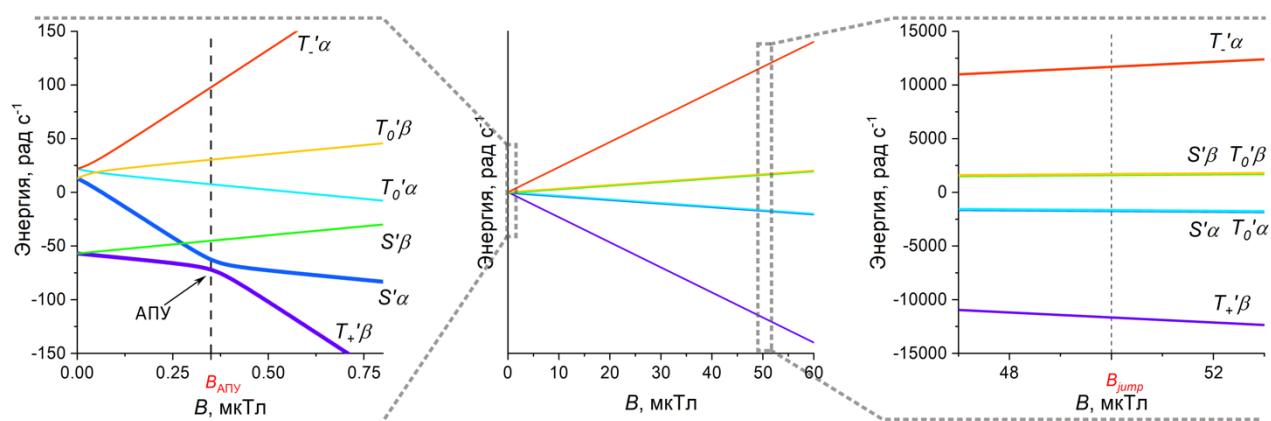
гетероядро переходят в режим сильной связи, несекулярной частью спин-спинового взаимодействия уже нельзя пренебречь. Также в данном подходе отсутствует РЧ возбуждение, а переключаемым параметром является величина поля вдоль оси  $z$ , от которого напрямую зависят ларморовские частоты протонов и гетероядра. Разбиение гамильтониана на основной вклад и возмущение, необходимое для формирования АПУ, принимает следующий вид:

$$\begin{aligned}\hat{H}_0(t) &= -\omega_H(t)\{\hat{I}_{1z} + \hat{I}_{2z}\} - \omega_S(t)\hat{S}_z \\ &\quad + 2\pi\{J_{12}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2) + J_{1S}(\hat{I}_{1z}\hat{S}_z) + J_{2S}(\hat{I}_{2z}\hat{S}_z)\}, \\ \hat{V} &= 2\pi\{J_{1S}(\hat{I}_{1x}\hat{S}_x + \hat{I}_{1y}\hat{S}_y) + J_{2S}(\hat{I}_{2x}\hat{S}_x + \hat{I}_{2y}\hat{S}_y)\}.\end{aligned}\quad (11)$$

Предполагая, что первоначально заселено только синглетное состояние протонов и что развертка идет от нулевых до положительных значений поля, мы должны учитывать только один АПУ (рис. 5), между состояниями  $S'\alpha$  и  $T'_+\beta$ . Здесь мы рассматриваем базис  $\mathbf{STZ}'$  для описания спиновых состояний системы. Этот базис является прямым продуктом зеемановского базиса  $Z$  для ядра  $^{13}\text{C}$  и синглет-триплетного базиса  $\mathbf{ST}'$  для двух протонов с учетом смешивания состояний  $S$  и  $T_0$ , индуцированного разницей констант гетероядерной спин-спиновой связи. Положение рассматриваемого АПУ зависит от значений констант протонной и протон-углеродной спин-спиновой связи следующим образом:

$$B_{\text{АПУ}} = 2\pi \frac{2J_{12} + \sqrt{4J_{12}^2 + (J_{1S} - J_{2S})^2} - (J_{1S} + J_{2S})}{4(\gamma_I - \gamma_S)}.\quad (12)$$

Для систем с большим числом спинов сложность детального анализа АПУ значительно возрастает, в результате чего аналитическое определение параметров АПУ становится нецелесообразным.



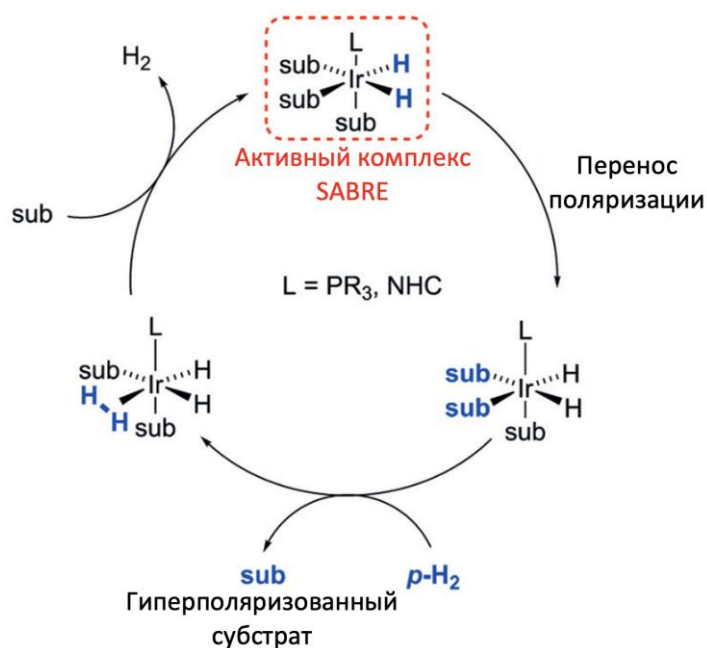
**Рисунок 5.** Уровни энергии трехспиновой системы, состоящей из двух протонов и одного ядра  $^{13}\text{C}$ , как функция внешнего магнитного поля. Крупным планом показаны два диапазона полей: ультраслабые поля, в которых происходит перенос ИППЯ (слева), и поля около 50 мкТл, при которых перенос поляризации невозможен (справа). Уровни энергии, участвующие в АПУ, приводящем к переносу поляризации, выделены жирными линиями.

Как и в случае последовательности APSOC, использование оптимального, а не линейного профиля развертки поля позволяет уменьшить длительность процесса конверсии за счет учета структуры соответствующих АПУ. Задача оптимизации профиля развёртки поля с помощью параметра постоянной адиабатичности была решена для трехспиновой системы  $^{13}\text{C}$ -фумарата [63]. Данный расчет, однако, не может быть выполнен, если помимо АПУ при переключении поля также возникают и пересечения некоторых уровней энергии, поскольку параметр адиабатичности будет стремиться к бесконечности в точке пересечения. Пересечения уровней возникают и в случае  $^{13}\text{C}$ -фумарата, однако для данной трехспиновой системы эту проблему можно легко решить, перейдя в базис состояний полного спинового момента. В данном базисе гамильтониан принимает блочно-диагональный вид, причем АПУ, ответственные за перенос ИППЯ, окажутся в блоках, в которых отсутствуют пересечения уровней. Вычисляя параметр адиабатичности только в этих блоках, можно успешно рассчитать профиль развертки поля. Описанный подход, однако, требует подробного анализа АПУ, участвующих в переносе поляризации, и применим только в том случае, если блочно-диагональный вид гамильтониана существует и позволяет отделить пересечения уровней от АПУ. Эта задача, решенная для трехспиновой системы, становится практически невыполнимой для многоспиновых систем, особенно когда значения

множества констант спин-спиновой связи системы имеют один и тот же порядок.

### 1.3 ПЕРЕНОС ПОЛЯРИЗАЦИИ В МЕТОДЕ ОБРАТИМОГО ОБМЕНА С ПАРАВОДОРОДОМ (SABRE)

Несмотря на активное развитие метода ИППЯ с гидрированием, он имеет два фундаментальных недостатка, а именно: необходимость химической модификация субстрата, что затрудняет проведение непрерывных повторяющихся экспериментов, и небольшое разнообразие биологически значимых соединений, получаемых в качестве продуктов гидрирования. В 2009 г. в группе профессора Даккета был обнаружен альтернативный способ создания ИППЯ за счет обратимой координации параводорода и субстрата на специальном металлоорганическом катализаторе [20]. Поскольку в процессе такого обратимого обмена не происходит химической модификации субстрата, данный метод, названный SABRE (Signal Amplification By Reversible Exchange), решает обе проблемы подхода ИППЯ с гидрированием, позволяя гиперполяризовать широкий круг молекулярных агентов в повторяющемся режиме. По данной причине метод SABRE привлек широкое внимание исследователей, и за последние годы было опубликовано множество работ, посвященных физическим и химическим процессам, приводящим к формированию ИППЯ в SABRE экспериментах. Оказалось, что уровень гиперполяризации субстрата в методе SABRE сильно зависит как от спиновой динамики параводорода и субстрата при их координации с катализатором, так и от параметров химического обмена [29; 30; 33]. Схематическое изображение процесса переноса поляризации в SABRE эксперименте представлено на рис. 6.



**Рисунок 6.** Схема переноса поляризации с параводорода на ядра субстрата в каталитическом цикле в методе SABRE. Здесь  $PR_3$  – лиганд на основе фосфина,  $NHC$  – лиганд на основе N-гетероциклического карбена.

Перенос поляризации с ядер параводорода на ядра субстрата в методе SABRE происходит в активном комплексе, образующемся при одновременной координации параводорода и субстрата на катализаторе. Обмен поляризацией становится возможен в том случае, если между гидридными протонами комплекса, полученными из параводорода, и ядрами субстрата имеются спин-спиновые взаимодействия. Поскольку связанная форма субстрата в активном комплексе непрерывно обменивается со свободным субстратом в растворе, поляризация будет постепенно накапливаться на ядрах свободной формы субстрата. Происходящий одновременно с этим обмен с параводородом обеспечивает возобновляемый источник поляризации в активном комплексе. При этом критически важно, чтобы время жизни комплекса позволяло обеспечить эффективный когерентный обмен поляризацией, обычно протекающий на временах порядка 0.05 с. Однако время жизни комплекса не должно быть слишком большим, поскольку в этом случае обмен субстрата с комплексом становится практически необратимым, что делает эффективную поляризацию свободного субстрата невозможной. Оказалось, что описанным требованиям удовлетворяют катализаторы на основе иридия, содержащие N-

гетероциклические карбены (N-heterocyclic carbene, NHC) в качестве лигандов [64].

Помимо выбора оптимальных химических условий, для проведения SABRE экспериментов также необходимо обеспечить эффективный когерентный перенос поляризации в активном комплексе. Как и в случае метода ИППЯ с гидрированием, процесс переноса поляризации сильно зависит от величины магнитного поля, в котором создается ИППЯ. В случае, если гидридные протоны и ядра субстрата в комплексе находятся в режиме сильной связи, перенос происходит спонтанно и не требует дополнительного воздействия на спиновую систему. В первых работах, SABRE поляризацию наблюдали в основном для протонов, для чего требовалось проводить эксперименты в полях порядка миллитесла [20; 52]. Для достижения данного диапазона полей достаточно разместить образец в остаточном поле магнита ЯМР спектрометра. В случае переноса поляризации на ядра  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$ , как и в методе ИППЯ с гидрированием, необходимо уменьшать магнитное поле до величины меньше микротесла, что невозможно сделать без специального магнитного экрана [65–67]. Данный метод, названный SABRE-SHEATH (Signal Amplification by Reversible Exchange in SHield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei) на текущий момент является основным методом поляризации магнитных гетероядер в подходе обратимого обмена с параводородом.

При проведении SABRE экспериментов в сильном поле ЯМР спектрометра перенос поляризации на гетероядра не может протекать спонтанно и происходит только под действием импульсов РЧ полей. Одним из методов такого переноса может служить двухрезонансный вариант последовательности APSOC, описанный в разделе 1.2.1. Однако, несмотря на ряд случаев успешного применения данного метода в SABRE экспериментах [68; 69], он не является оптимальным выбором для SABRE. Основная причина этого заключается в высокой чувствительности данной последовательности к неоднородности поля прилагаемого РЧ возбуждения. При этом в SABRE экспериментах, наибольшая поляризация свободного субстрата наблюдается при многократном повторении актов переноса поляризации, проводимых одновременно с барботированием образца параводородом, значительно

снижающим однородность магнитного поля. В связи с этим, более широкое применение нашел перенос SABRE поляризации методом SLIC (Spin-Lock Induced Crossing) [51; 70–72]. В данном подходе РЧ возбуждение прилагается только на частоте гетероядра, что обеспечивает высокую надежность относительно неоднородностей поля. Гамильтониан системы в методе SLIC записывается аналогично случаю последовательности APSOC (уравнения 8 и 9), за тем исключением, что поворот вращающейся системы координат достаточно выполнить только для гетероядра

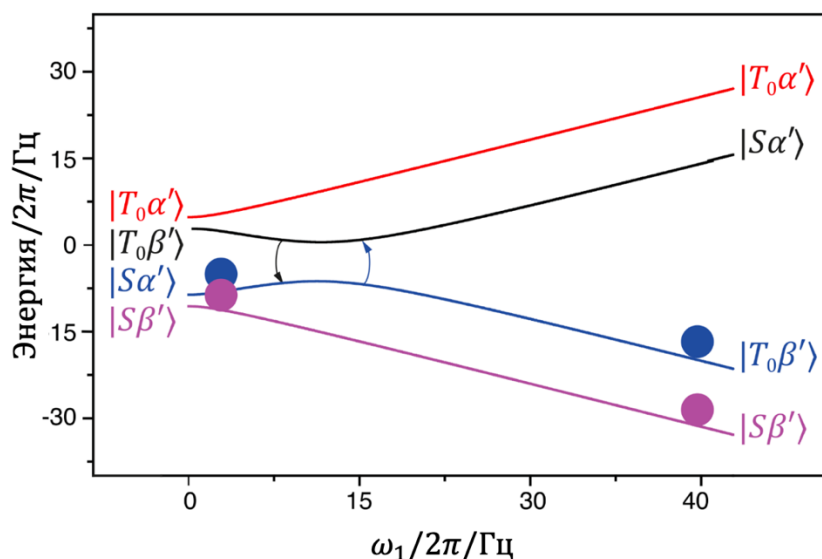
$$\begin{aligned}\hat{H}_{0,RTF}(t) &= 2\pi J_{12}(\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2) - \omega_H(\hat{I}_{1z} + \hat{I}_{2z}) - \omega_{S,\text{eff}}\hat{S}_z. \\ \hat{V} &= 2\pi J_{1S}\{\cos\theta_{\text{eff}}\hat{I}_{1z}\hat{S}_z + \sin\theta_{\text{eff}}\hat{I}_{1z}\hat{S}_x\}.\end{aligned}\quad (13)$$

Для простоты анализа в данном выражение предполагается, что только один из протонов имеет существенную константу спин-спинового взаимодействия с гетероядром ( $J_{1S} \gg J_{2S}$ ). Адиабатические уровни энергии гамильтониана  $\hat{H}_{0,DRTF}$  пересекаются в двух случаях

$$\begin{aligned}S\alpha' &\leftrightarrow T_0\beta', \omega_{S,\text{eff}} = 2\pi J_{12}, \\ S\beta' &\leftrightarrow T_0\alpha', \omega_{S,\text{eff}} = -2\pi J_{12},\end{aligned}\quad (14)$$

где  $\alpha'$  и  $\beta'$  отвечают зеemanовским состояниям спина гетероядра вдоль направления эффективного магнитного поля. В данном случае достаточно рассматривать лишь подпространство состояний  $S$  и  $T_0$  пары протонов, поскольку состояния  $S$  и  $T_{+,-}$  оказываются разделены большим зеemanовским взаимодействием. При выполнении одного из условий на пересечение уровней, т. е. при  $\omega_{S,\text{eff}} = \pm 2\pi J_{12}$ , возмущение  $\hat{V}$  из уравнения 13 приводит к смешиванию состояний и образованию АПУ. Пример обмена поляризации в АПУ для случая  $\omega_{S,\text{eff}} = 2\pi J_{12}$  представлен на рисунке 7. В результате обмена населенностями гетероядро окажется поляризовано вдоль направления эффективного поля, которое в случае нулевой отстройки от резонанса будет направлено вдоль поля  $\omega_{S,1}$ , т. е. перпендикулярно внешнему статическому полю. В случае SABRE в сильном магнитном поле данный факт имеет большое значение, поскольку разница ларморовских частот гетероядра в свободной и связанной с комплексом формах субстрата приведет к расфазировке подобной поляризации. Поэтому после применения SLIC импульса необходимо

обеспечить поворот поляризации и ее выравнивание с внешним статическим полем. В первой работе, демонстрирующей применимость данного подхода, поворот поляризации проводился с помощью 90-градусного импульса, селективно прилагаемого на частоте гетероядра в связанной форме субстрата [71]. В дальнейшем, однако, было показано, что большей эффективности можно добиться, обеспечивая условия АПУ при ненулевой отстройке [51; 61]. В данном случае в результате переноса ИППЯ, поляризация гетероядра будет сонаправлена с эффективным полем, имеющим ненулевую компоненту вдоль статического поля. Несмотря на то что только часть данной поляризации будет перенесена в свободную форму субстрата, при многократном повторении актов переноса подобный подход оказывается более оптимальным.



**Рисунок 7.** Обмен населенностями под действием РЧ возбуждения, приложенного к гетероядру в методе SLIC-SABRE [73].

Главным преимуществом SABRE в сильном поле является отсутствие потребности в дополнительном оборудовании для переключения магнитного поля, однако усиления сигналов в данном подходе зачастую оказываются ниже, чем в экспериментах с магнитным экраном. Отчасти такой эффект можно объяснить выравниванием населенностей синглетного  $S$  и центрального триплетного  $T_0$  состояний параводорода, приводящим к снижению поляризации параводорода в растворе [51; 61]. Подобная синглет-триплетная конверсия возникает в промежуточных продуктах каталитического цикла SABRE, когда гидридные протоны становятся химически неэквивалентны.

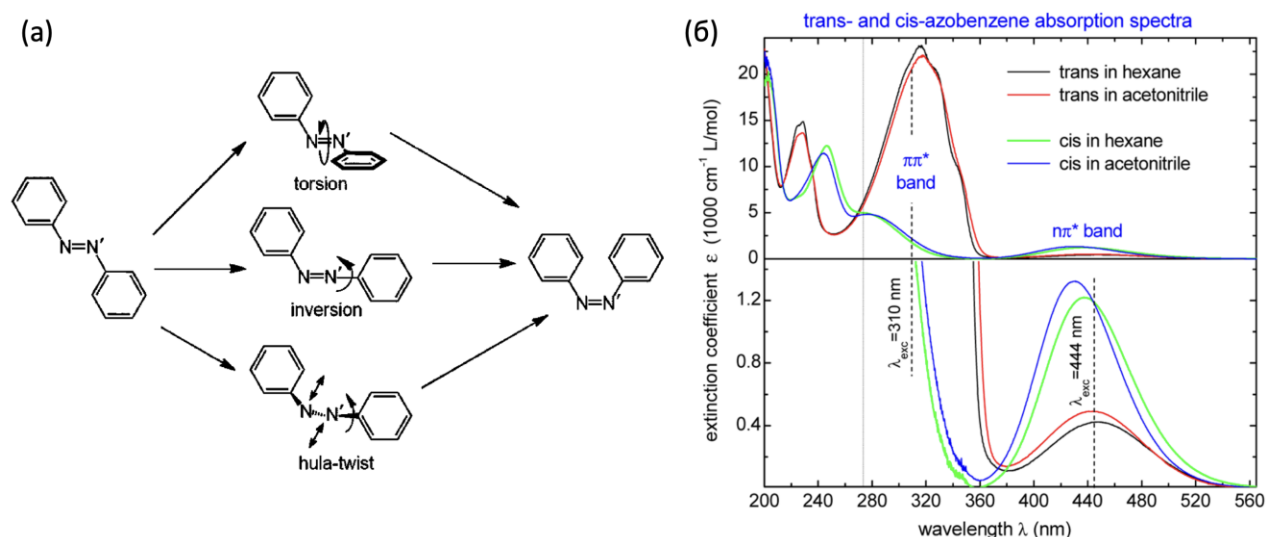


Данный эффект можно скомпенсировать, прикладывая 90-градусный импульс к спинам протонов, восстанавливающий часть разницы населенностей  $S$  и  $T_0$ , однако избежать его полностью не удастся. В то же время при уменьшении магнитного поля разница ларморовских частот протонов в различных комплексах становится незначительной, в результате чего снижается и интенсивность синглет-триплетной конверсии. В результате использование ультраслабых полей остается на текущий момент наиболее надежным и эффективным подходом к созданию SABRE поляризации.

Важно отметить, что хотя из вышеизложенного следует, что метод SABRE возможен только с субстратами, которые непосредственно координируют с активным комплексом, существуют методы, позволяющие расширить круг субстратов, подходящих для метода SABRE. Так, в методе SABRE-Relay в качестве посредника для переноса поляризации используется какая-либо молекула, способная химически обмениваться как с активным комплексом SABRE, так и с субстратом [32; 74]. В первых работах по SABRE-Relay для данной цели использовался дополнительный металлоорганический комплекс, способный обратимо связывать субстрат, поляризованный в основном активном SABRE комплексе. Наибольшее распространение, однако, получил вариант SABRE-Relay, в котором изначально в основном активном комплексе происходит поляризация протонов некоторого амина или аммония с последующей передачей этой поляризации субстрату путем протонного обмена. На сегодняшний день список субстратов подходящих для гиперполяризации методами SABRE и SABRE-Relay, включает множество соединений различных типов: гетероциклические соединения с азотом, аминокислоты, азотистые основания, сахара, органические кислоты и многие другие. Однако несмотря на столь интенсивное развитие, метод SABRE до сих пор не применялся для гиперполяризации такого перспективного класса соединений, как фотопереключаемые производные азобензола.

1.4 ДОЛГОЖИВУЩИЙ СПИНОВЫЙ ПОРЯДОК  $^{15}\text{N}_2$ -АЗОБЕНЗОЛА

За последнее десятилетие молекулярные фотопереклюатели на основе азобензолов нашли широкое применение в химии, биологии и фармакологии. Молекулярные фотопереклюатели являются перспективным инструментом химической биологии, поскольку позволяют динамически управлять химическими процессами с высоким пространственно-временным разрешением, используя свет в качестве внешнего контроллера [75; 76]. Типичными молекулярными фотопереклюателями являются органические молекулы, содержащие ароматические системы, изменяющие конформацию под действием света, что позволяет локально управлять их активностью. Среди молекулярных фотопереклюателей значительный класс составляют соединения на основе азобензола. Производные азобензола существуют в *цис*- и *транс*-конформациях, переходы между которыми могут быть индуцированы светом с определенной длиной волны (рис. 8) [77; 78]. Было показано, что такая фотоизомеризация может быть использована для изменения активности белков, для управления митозом с высокой пространственной точностью в выбранной клетке [76], для изучения биологической роли специфических рецепторов [79], а также для хранения солнечной энергии [80].



**Рисунок 8.** Пути изомеризации азобензола (а). Спектры поглощения *транс*-азобензола и *цис*-азобензола в ацетонитриле и н-гексане (б).

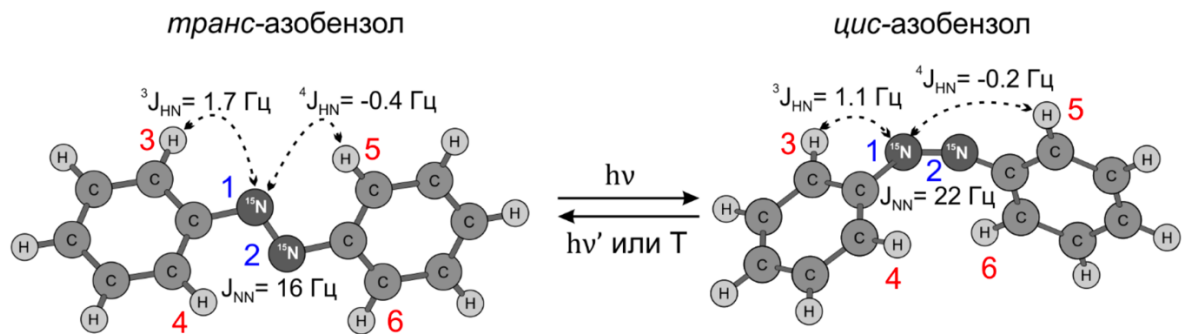
Подробное исследование ЯМР параметров *цис*- и *транс*-изомеров азобензола представлено в работах К. Ф. Шеберстова с соавт. [81; 82]. Особый интерес при этом представляет случай молекулы азобензола, изотопно обогащенной ядрами  $^{15}\text{N}$  по обоим положениям, поскольку симметрия  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола позволяет создавать и удерживать особый спиновый порядок, время жизни которого может превышать время жизни интегральной намагниченности в сотни раз. Подобный спиновый порядок, часто называемый долгоживущим, соответствует разнице населенностей между определенными состояниями спиновой системы, релаксационные переходы между которыми запрещены требованиями симметрии [83–85]. Простейшим и наиболее подробно исследованным примером долгоживущего спинового порядка является синглетный порядок пары эквивалентных спинов  $\frac{1}{2}$ . Собственным базисом такой системы является базис синглет-триплетных функций, рассмотренный ранее для случая ядерных спинов молекулярного водорода. Синглетный порядок (singlet order, SO) можно определить как разницу населенностей синглетного состояния и средней населенности триплетных состояний

$$SO = |S\rangle\langle S| - \frac{1}{3}(|T_+\rangle\langle T_+| + |T_0\rangle\langle T_0| + |T_-\rangle\langle T_-|). \quad (15)$$

Основным источником релаксации в системах связанных спинов является их прямое диполь-дипольное взаимодействие. Поскольку данное взаимодействие симметрично относительно перестановки спинов, а синглетное состояние антисимметрично, матричный элемент перехода между синглетным и триплетными состояниями будет равен нулю. В результате синглетный порядок оказывается невосприимчив к интенсивной диполь-дипольной релаксации, что обеспечивает долгое время его релаксации. Данное свойство синглетного порядка находит применение в исследованиях медленных процессов методом ЯМР, а также позволяет длительное время сохранять гиперполяризацию, созданную методами ИППЯ, ДПЯ и др.

Важно отметить, что синглетный порядок пары эквивалентных ядер невозможно наблюдать методами ЯМР, как это уже обсуждалось для случая параводорода. Однако, если спины являются химически или магнитно

неэквивалентными, использование специальных последовательностей РЧ импульсов позволяет конвертировать их интегральную намагниченность в синглетный порядок и обратно. В  $^{15}\text{N}_2$ -азобензоле ядра  $^{15}\text{N}$  имеют отличные друг от друга константы спин-спиновой связи с *орто*-протонами в кольце, т. е. являются магнитно неэквивалентными (рис. 9). Даже для упрощенной спиновой системы азобензола, включающей только пару ядер  $^{15}\text{N}$  и *орто*-протоны, выражение для оператора синглетного порядка значительно усложняется по сравнению со случаем пары спинов. В данном случае синглетный порядок можно определить как разницу средней населенности всех триплетных состояний и всех синглетных состояний пары ядер  $^{15}\text{N}$ . Поскольку данные состояния включают в себя и состояния протонных спинов, синглетный порядок в данном случае оказывается распределен между *орто*-протонами и ядрами  $^{15}\text{N}$ . Данный эффект позволяет создавать и детектировать синглетный порядок как посредством намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$ , так и намагниченности *орто*-протонов [81].



**Рисунок 9.** Структура *цис*- и *транс*-изомеров  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола с указанием констант спин-спиновых взаимодействий, важных для создания и детектирования синглетного порядка. Термически стабильным изомером является *транс*-азобензол, конверсия которого в *цис*-азобензол происходит при воздействии ультрафиолетового излучения.

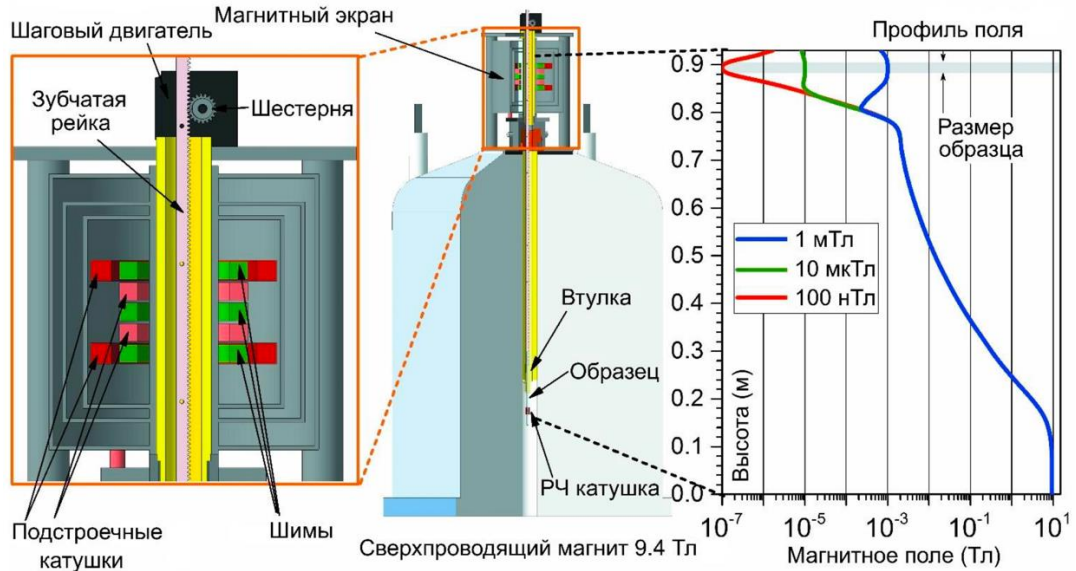
## ГЛАВА 2: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 УСТАНОВКА ЯМР С ВОЗМОЖНОСТЬЮ СОЗДАНИЯ ИНДУЦИРУЕМОЙ ПАРАВОДОРОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР В УЛЬТРА-ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Эксперименты проводились на установке на базе ЯМР-спектрометра Bruker Avance III HD (магнитное поле в зоне детектирования 9.4 Тл, резонансная частота протонов 400.13 МГц) с возможностью быстрого переключения магнитного поля, разработанной в Лаборатории ФРП МТЦ СО РАН к.х.н А. С. Кирютиным и д.ф.-м.н. Ю. А. Гришиным (рис. 10) [86]. Изменение магнитного поля в диапазоне от 9.4 Тл до 1 мТл происходит за счет позиционирования образца в остаточном поле сверхпроводящего магнита спектрометра. Для достижения более низких полей используется многослойный магнитный экран из магнитомягкого сплава (листовой пермаллой 79НМ), размещенный над верхним срезом теплого отверстия спектрометра. Для регулировки магнитного поля внутри экрана, между его слоями расположены индукционные катушки для настройки однородности поля и для управления его величиной. Изменяя ток в катушках, внутри экрана можно создавать магнитное поле в диапазоне от 5 нТл до 2 мТл. В экспериментах по адиабатическому переносу ИППЯ в ультраслабом поле, развертка магнитного поля производилась с помощью генератора сигналов специальной формы АКПП-3422/2, подключенного к катушке Гельмгольца, определяющей величину поля вдоль оси z.

Перемещение образца между зоной детектирования ЯМР спектрометра и магнитным экраном происходит с помощью пластиковой зубчатой рейки, к торцевой части которой присоединена втулка, удерживающая стандартную 5 мм ЯМР ампулу, содержащую образец. Движение рейки происходит вдоль оси теплого отверстия спектрометра, а ее позиционирование происходит с помощью шагового мотора, размещенного над магнитным экраном. Работа мотора контролируется с помощью ТТЛ импульсов, посылаемых из

стандартной консоли ЯМР спектрометра. В результате процесс переноса образца оказывается синхронизирован с последовательностью РЧ импульсов и задержек эксперимента. Минимальное время перемещения образца между зоной детектирования и магнитным экраном составляет 0.4 с.



**Рисунок 10.** Схема установки для проведения ЯМР экспериментов с переключением магнитного поля [86].

Переключение магнитного поля только за счет механического переноса образца не является оптимальным выбором для экспериментов с ИППЯ, поскольку не позволяет контролировать спиновую динамику во время переноса с достаточной точностью. В том случае, если поляризация создается внутри магнитного экрана, перемещение образца из зоны ультраслабого поля может приводить к нежелательному адиабатическому перераспределению поляризации. Причиной этого является достаточно медленное изменение магнитного поля во время движения образца, сравнимое со временами внутренней эволюции спиновой системы. Для преодоления данной проблемы система катушек магнитного экрана позволяет устанавливать внутри экрана промежуточное магнитное поле, величина которого значительно превышает диапазон ультраслабых полей. Включение и выключение этого поля происходит за 200 мкс, что гораздо быстрее любых времен эволюции системы. Таким образом: можно обеспечивать мгновенное переключение поля, в котором находится образец и не учитывать адиабатические эффекты при въезде или выезде образца из магнитного экрана.

Гидрирование образца параводородом проводилось с помощью самодельной автоматизированной системы подачи газа [87]. Вентили газовой системы контролируются с помощью TTL импульсов, аналогично системе для переключения поля, что позволяет управлять экспериментами с ИППЯ в произвольном магнитном поле, используя стандартный инструментарий для программирования импульсных ЯМР последовательностей. Параводород барботировался через образец с помощью специального адаптера, присоединяющегося через резьбовое соединение к 5 мм ЯМР ампуле для высокого давления (например, Wilmadglass 507-TR-7). Через адаптер к ампуле подключены две тефлоновые трубки – одна для подачи газа в образец, а вторая – для отвода. Проходя через входную трубку, газ через тонкий капилляр проходит до нижней части ампулы, где находится образец. Создавая разницу давлений между входной и выходной трубками, можно контролировать скорость потока газа, а, соответственно, и интенсивность барботирования.

## 2.2 ОПТИМИЗАЦИЯ МНОГОКРАТНО ПОВТОРЯЕМЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ИППЯ С ГИДРИРОВАНИЕМ

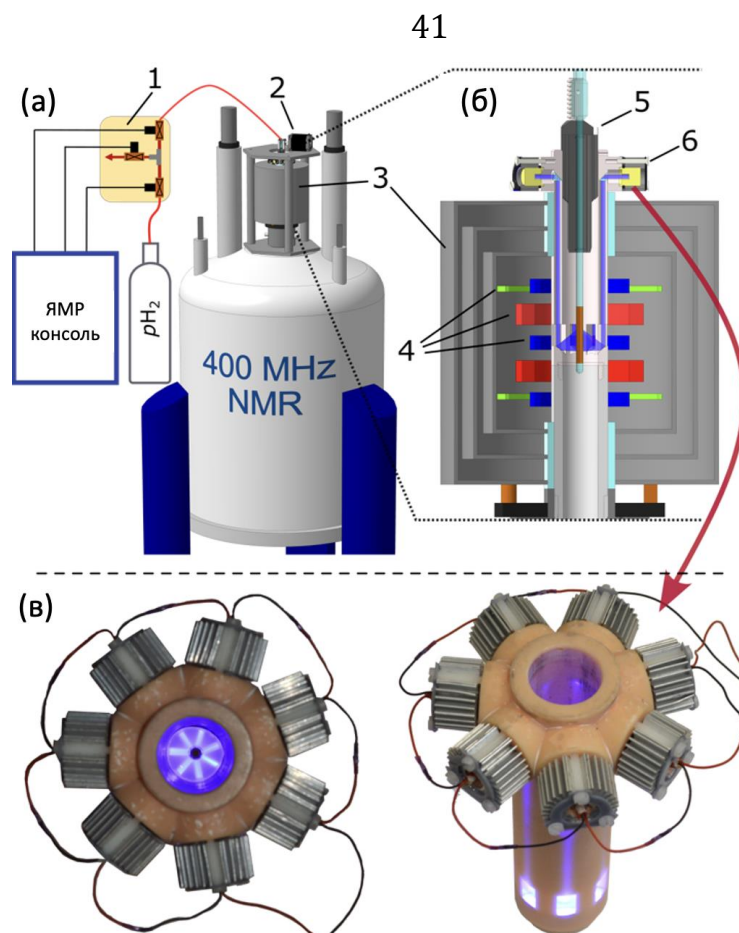
Оптимизация и тестирование экспериментальных процедур в методе ИППЯ с гидрированием представляет собой нетривиальную задачу. Основной проблемой является постепенное снижение наблюдаемых усилений сигналов во время серии экспериментов на одном образце, что происходит из-за расхода молекул субстрата в реакции и деградации катализатора гидрирования. Подобных трудностей не возникает в однократных экспериментах, когда небольшое количество субстрата полностью гидрируется за один акт барботирования параводородом. Однако данный подход нецелесообразен для задач оптимизации параметров эксперимента, когда требуется его многократное повторение. В связи с этим для определения зависимости усилений сигналов от экспериментальных параметров использовались образцы, содержащие субстрат в избытке по отношению к катализатору. Эмпирически было установлено, что образец с 200 мМ субстрата и 1 мМ катализатора позволяет провести 30–40 повторений эксперимента с

достаточным уровнем усиления сигналов. При оптимизации экспериментальных протоколов использовалось от трех до пяти контрольных точек с фиксированными значениями всех параметров, необходимых для отслеживания неизбежного уменьшения ИППЯ вследствие деградации катализатора. После всех оптимизаций проводилась серия однократных экспериментов для определения максимально возможного усиления сигнала гетероядра, которое может быть достигнуто при выбранном методе переноса ИППЯ. В данных экспериментах использовались образцы, содержащие 10 мМ субстрата и 4 мМ катализатора, что позволяет выполнять полное гидрирование субстрата за один акт барботирования параводорода.

### 2.3 ЭКСПЕРИМЕНТЫ SABRE С ФОТОПЕРЕКЛЮЧЕНИЕМ АЗОБЕНЗОЛА

Для проведения экспериментов по гиперполяризации *транс*- и *цис*-азобензола методом SABRE А. С. Кирютиным была разработана модификация экспериментальной установки, позволяющая проводить барботирования образца параводородом одновременно с облучением светом внутри магнитного экрана (рис. 11). Для облучения использовалось семь лазерных диодов с длиной волны 450 нм и суммарной оптической мощностью 1.2 Вт. Экспериментально было установлено, что мощное световое облучение позволяет увеличить скорость *цис-транс*-фотоизомеризации азобензола, что оказалось принципиально важным для эффективности SABRE поляризации. Для того чтобы минимизировать влияние тока, питающего лазерные диоды, на однородность ультраслабого поля внутри магнитного экрана, лазерные диоды располагались вне экрана, чуть выше его верхнего края. Оптический путь от каждого из лазеров до образца был организован по принципу перископа с двумя отражениями луча: сначала на призме, расположенной вблизи головки лазера, а затем на зеркальной поверхности, расположенной внутри оптического канала вблизи середины образца. Нижняя зеркальная поверхность имеет изогнутую цилиндрическую форму для растяжения изначально кругового лазерного пучка до эллиптической формы для лучшего освещения образца вдоль вертикальной оси.



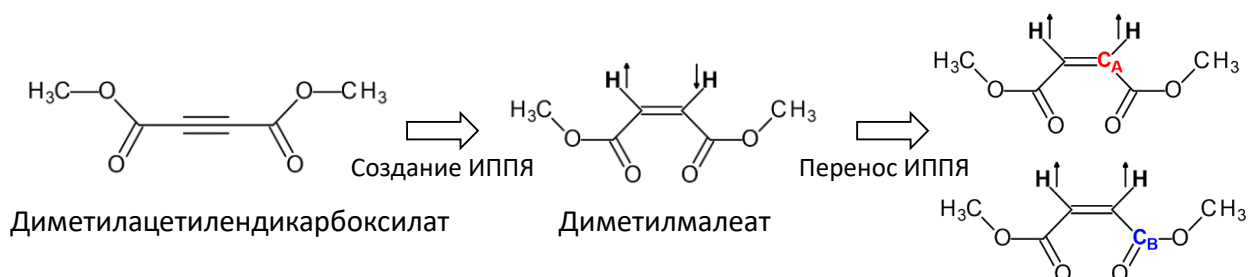


**Рисунок 11.** Экспериментальная установка, модифицированная для проведения фото-SABRE экспериментов. ЯМР спектрометр (а) с (1) установкой для барботирования параводорода, управляемой стандартным пультом ЯМР, (2) шаговым двигателем для перемещения образца и (3) магнитным экраном. В поперечном сечении магнитного экрана (б) видны (4) катушки индуктивности для регулировки поля, (5) каретка с образцом ЯМР и (6) блок источника света. Блок источника света объединяет семь лазерных диодов с длиной волны 450 нм, которые облучают образец через туннели с призмами, отклоняющими лазерные лучи в нужных направлениях. На фрагменте (в) представлены фотографии блока источника света в двух проекциях.

## 2.4 ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

В экспериментах по адиабатическому переносу ИППЯ в сильном поле ЯМР спектрометра использовались образцы, состоявшие из субстрата (диметилацетилендикарбоксилата) (CAS No. 762-42-5, Sigma Aldrich) и катализатора гидрирования (1,4-бис(дифенилфосфино)бутан(1,5-циклооктадиен)Rh(I) тетрафторбората) (Sigma-Aldrich, 341134) в 0.6 мл ацетона-d<sub>6</sub> (99.9 %, Deutero-GmbH). В результате гидрирования с помощью параводорода происходило превращение субстрата в диметилвый эфир малеиновой кислоты с двумя протонами, спиновый порядок которых можно

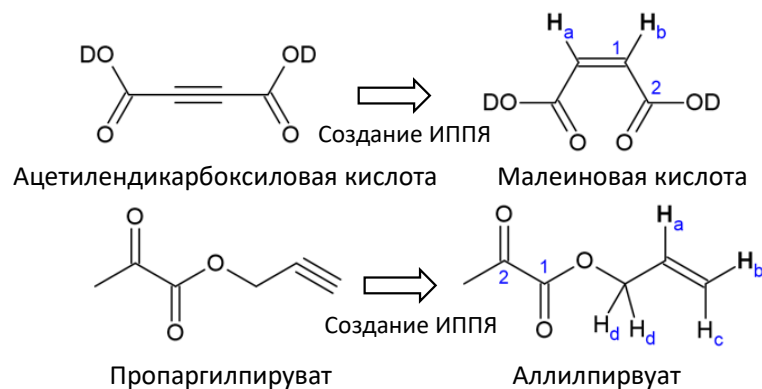
считать близком к синглетному. Конверсия этого спинового порядка в намагниченность ядра  $^{13}\text{C}$  исследовалась для двух изотопомеров молекулы, обозначенных как  $\text{C}_\text{A}$  и  $\text{C}_\text{B}$  (рис. 12). Ядра  $^{13}\text{C}$  в исследуемых соединениях присутствовали в количестве, отвечающем естественному содержанию изотопов (1.07 %).



**Рисунок 12.** Гидрирование диметилацетилендикарбоксилата с получением диметилового эфира малеиновой кислоты. Два выделенных протона в продукте получены из молекулы параводорода. Перенос поляризации в молекуле продукта происходит с протонов, полученных из молекулы параводорода на одно из ядер  $^{13}\text{C}$ , обозначенных как  $\text{C}_\text{A}$  и  $\text{C}_\text{B}$ .

Исследование переноса ИППЯ на ядра  $^{13}\text{C}$  в ультраслабом магнитном поле проводилось для малеиновой кислоты, получаемой каталитическим гидрированием ацетилендикарбоксилата (Sigma-Aldrich, A15207), и для аллилпирувата, получаемого гидрированием пропаргилпирувата (рис. 13). Малеиновая кислота представляет особый интерес для изучения ИППЯ, так как является простейшей спиновой системой для исследования переноса поляризации на гетероядра, состоящей всего из двух протонов и одного ядра  $^{13}\text{C}$ . Поскольку эксперименты проводились на естественном содержании изотопов, поляризация наблюдалась для двух изотопомеров:  $^{13}\text{C}_1$ -малеиновой кислоты с ядром  $^{13}\text{C}$  рядом с протонами и  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты с ядром  $^{13}\text{C}$  в карбонильном положении. Аллилпируват был использован для демонстрации эффективности методов переноса поляризации для более практических применений ИППЯ. Эта молекула образуется в результате гидрирования пропаргилпирувата, при этом изначально ИППЯ накапливается на протонах аллильного остатка. Последующий перенос поляризации на ядро  $^{13}\text{C}$ , расположенное в остатке пирувата, и отщепление остатка спирта путем гидролиза позволяет получить раствор гиперполяризованного метаболита. Эта методика, получившая название PHIP-SAH (Side Arm Hydrogenation,

гидрирование боковой цепи), активно используется для получения гиперполяризованных агентов для ЯМР и МРТ *in vivo*. В работе исследуется перенос поляризации для двух изотопомеров аллилпирувата, ядро  $^{13}\text{C}$  которых расположено в остатке пирувата.



**Рисунок 13.** Реакции гидрирования, использованные для изучения переноса ИППЯ в ультраслабых магнитных полях. При естественном содержании изотопа  $^{13}\text{C}$  в каждой молекуле продукта содержится не более одного ядра  $^{13}\text{C}$ . Исследовался перенос поляризации для изотопомеров с  $^{13}\text{C}$  в положениях 1 и 2.

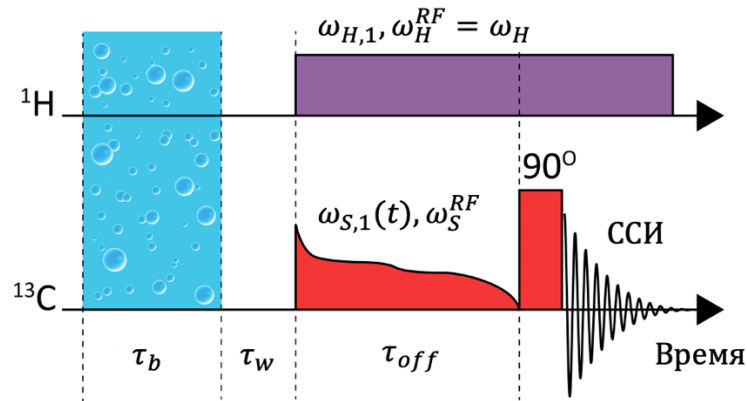
В экспериментах SABRE с фотоизомеризацией использовался  $^{15}\text{N}_2$ -азобензол, синтезированный профессором Х. Циммерманом как описано в работе [88]. Для стабилизации активного комплекса для переноса поляризации в раствор добавлялся диметилсульфоксид- $\text{d}_6$  (99.5%) (Deutero-GmbH, Германия). Известно, что использование диметилсульфоксида в качестве ко-субстрата во множестве случаев позволяет повысить уровень поляризации и воспроизводимость в экспериментах SABRE [89]. Пре-катализатор  $[\text{IrCl}(\text{1,5-циклооктадиен})(\text{IMes}=1,3\text{-бис}(2,4,6\text{-триметилфенил})\text{-1,3-дигидро-2H-имидазол-2-илиден})]$  был синтезирован, как описано в работе [82]. Экспериментальный образец состоял из 1 мМ прекатализатора, 56 мМ  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола и 200 мМ диметилсульфоксида- $\text{d}_6$  в 400 мкл метанола- $\text{d}_4$ . Перед проведением SABRE экспериментов образец барботировался инертным газом для удаления растворенного кислорода, а затем облучался лазером с длиной волны 450 нм в течение 10 минут для получения 25 % (14 мМ) стационарной концентрации *цис*-азобензола. Затем раствор барботировался параводородом в течение 10 минут для завершения образования активного SABRE комплекса.

### ГЛАВА 3: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

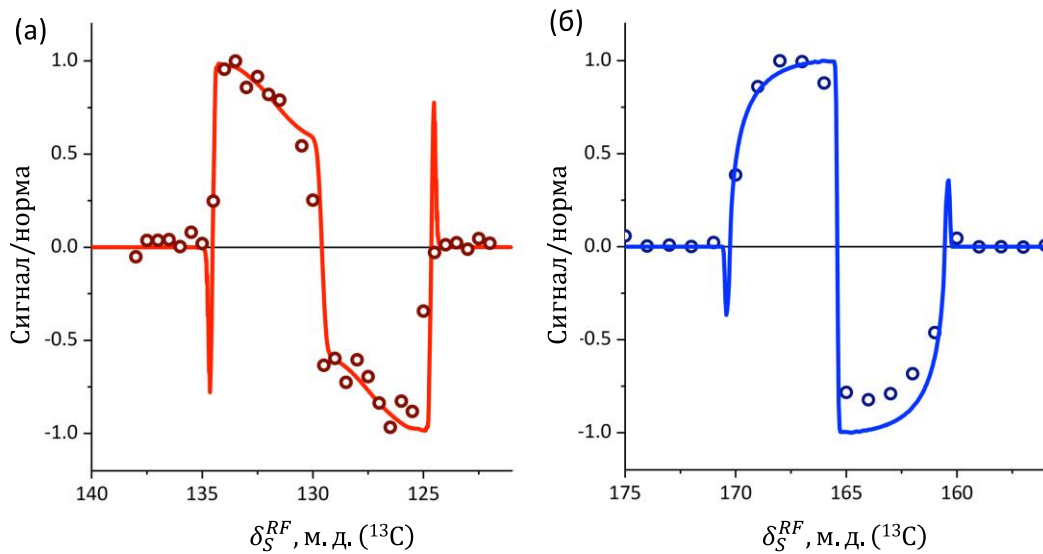
#### 3.1 КОНВЕРСИЯ ИППЯ В ПОЛЯРИЗАЦИЮ ЯДЕР $^{13}\text{C}$ МЕТОДОМ APSOC С ПРОФИЛЕМ ПОСТОЯННОЙ АДИАБАТИЧНОСТИ

Схема гетероядерной версии импульсной последовательности APSOC, используемой для конверсии ИППЯ в поляризацию ядра  $^{13}\text{C}$  в изотопмерах диметилового эфира малеиновой кислоты (см. рис. 12) представлена на рисунке 14. РЧ возбуждение по протонному каналу имеет постоянную амплитуду, а его частота совпадает с ларморовской частотой протонов молекулы продукта, полученных из параводорода. В то же время частота РЧ поля по каналу  $^{13}\text{C}$  должна отличаться от ларморовской частоты ядра  $^{13}\text{C}$ , на которое выполняется перенос поляризации, поскольку в противном случае невозможно выполнить корреляцию адиабатических состояний, соответствующую требуемому пути переноса. При этом величина резонансной отстройки не может быть произвольно большой, поскольку в этом случае при выключении поля не произойдет выполнения условия АПУ:  $\omega_{H,1} \approx \omega_{S,\text{eff}} = \sqrt{(\omega_{S,1})^2 + (\omega_S - \omega_S^{RF})^2}$  (рис. 15). Для простоты представления данных для двух изотопмеров, частота прилагаемого РЧ возбуждения выражается в терминах химического сдвига ядер  $^{13}\text{C}$  относительно эталонной частоты спектрометра  $\omega_{ref}^{RF}$ , так что  $\delta_S^{RF} = (\omega_{ref}^{RF} - \omega_S^{RF})/\omega_{ref}^{RF}$ . Также для успешного прохождения через АПУ начальная амплитуда РЧ поля по каналу  $^{13}\text{C}$   $\omega_{S,1}(0)$  должна немного превышать амплитуду РЧ поля по протонному каналу. При этом, увеличение амплитуды РЧ поля по протонному каналу расширяет диапазон допустимых отстроек для  $^{13}\text{C}$  РЧ поля. Численный расчет демонстрирующий данный эффект для случая линейного профиля выключения поля представлен на рисунке 16. Однако использование мощных РЧ полей имеет ряд недостатков. Во-первых, интенсивное РЧ облучение образца может приводить к его нагреву и вызывать конвекцию, в результате чего поляризованные молекулы будут

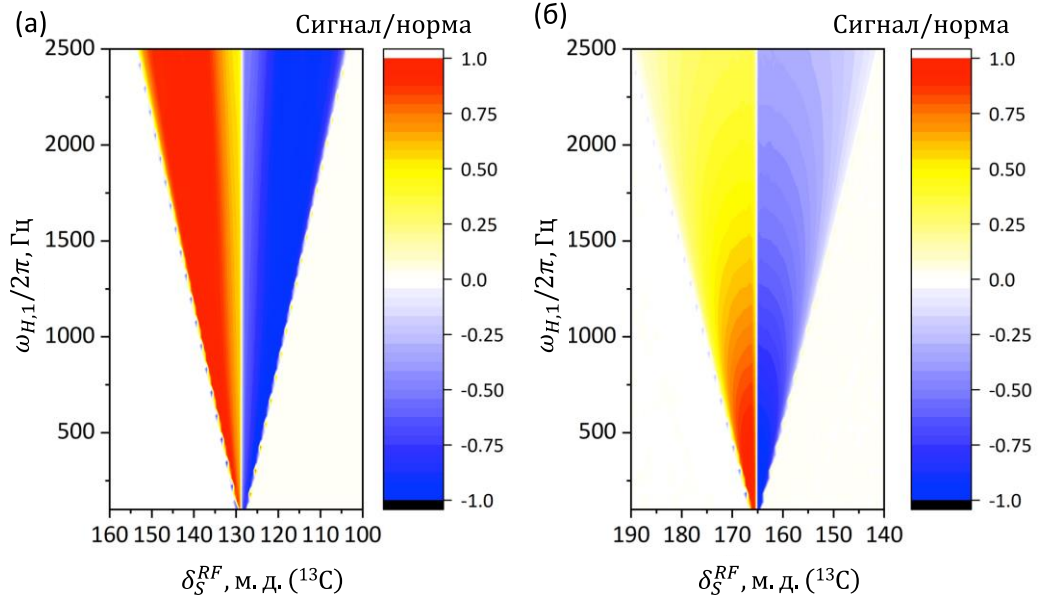
покидать чувствительную зону спектрометра, приводя к снижению сигнала. Во-вторых, увеличение начальной амплитуды переключаемого РЧ поля приводит к тому, что область АПУ значительно уменьшается относительно полного профиля переключения поля. В результате даже с оптимальным профилем удовлетворить условию адиабатичности становится достаточно сложно.



**Рисунок 14.** Импульсная последовательность APSOC для переноса ИППЯ на ядро  $^{13}\text{C}$  с оптимальным профилем переключения РЧ поля.



**Рисунок 15.** Зависимость эффективности переноса ИППЯ от частоты РЧ возбуждения  $\delta_S^{RF}$ . Амплитуда  $\omega_{H,1}/2\pi$  равна 500 Гц, начальная амплитуда  $\omega_{S,1}(t=0)/2\pi$  равна 600 Гц. (1) – зависимость для изотомера Са ( $\tau_{off} = 0.5$  s), (2) – зависимость для изотомера Св ( $\tau_{off} = 5$  s). Сплошные линии – численный расчёт, кружки – экспериментальные данные.



**Рисунок 16.** Зависимость эффективности переноса поляризации от частоты  $^{13}\text{C}$  РЧ возбуждения  $\delta_S^{RF}$  и амплитуды протонного РЧ поля  $\omega_{H,1}$  (численный расчет). (1) – зависимость для изотопомера С $\alpha$  ( $\tau_{off} = 0.5$  с), (2) – зависимость для изотопомера С $\beta$  ( $\tau_{off} = 5$  с).

Для расчета оптимального профиля удобно переписать параметр адиабатичности (10) в следующем виде:

$$\xi_{ij}(t) = \frac{1}{(2\pi(E_i - E_j))^2} \cdot \left\langle i \left| \frac{d\hat{H}_{DRF}(t)}{dt} \right| j \right\rangle. \quad (16)$$

Данное выражение необходимо усреднить по всем парам уровней системы, что позволяет определить обобщенный параметр адиабатичности

$$\langle \xi \rangle = \sqrt{\sum_{i,j} \xi_{ij}(t)^2} = \xi_0. \quad (17)$$

Поскольку единственным переключаемым параметром является амплитуда РЧ поля по каналу  $^{13}\text{C}$ , производная гамильтониана легко вычисляется как

$$\frac{d\hat{H}_{DRF}(t)}{dt} = -\hat{S}_x \frac{d\omega_{S,1}(t)}{dt}. \quad (18)$$

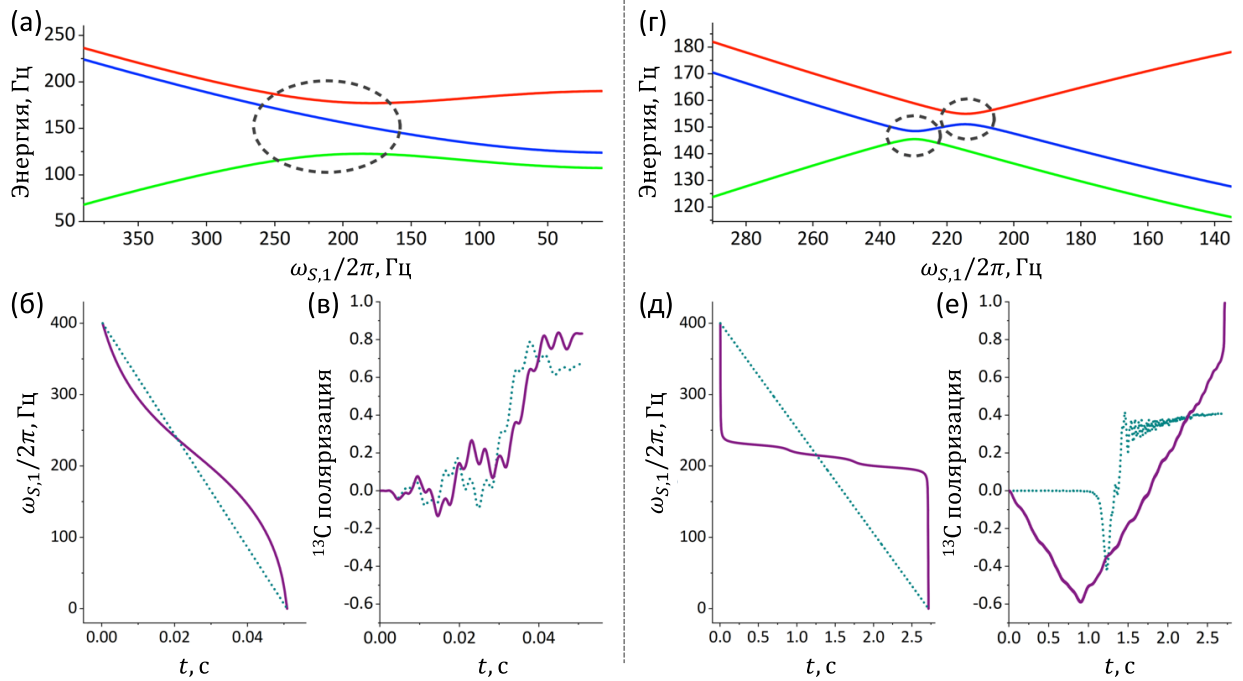
Комбинируя уравнения (16), (17) и (18), можно получить дифференциальное уравнение на амплитуду РЧ поля следующего вида:

$$\frac{d\omega_{S,1}(t)}{dt} = \pm \xi_0 \left( \sum_{ij} \frac{(|\hat{S}_x|_{ij})^2}{(2\pi(E_i - E_j))^4} \right)^{-\frac{1}{2}}, \quad (19)$$

численное решение которого в предположении о том, что  $\xi_0 = \text{const}$  позволяет найти желаемый оптимальный профиль переключения РЧ поля.

Диаграмма уровней энергии вблизи области АПУ для трехспиновых систем из двух протонов и спина гетероядра  $S_A$  или  $S_B$  изотопмеров диметилового эфира малеиновой кислоты представлена на рисунке 17. Также показаны линейный и оптимальный профили переключения РЧ поля и рассчитанная временная зависимость поляризации ядра  $^{13}\text{C}$  для линейного и оптимального профилей.

В случае изотомера  $S_A$  уровни энергии образуют "тройное" АПУ с большим энергетическим расщеплением, определяемым константой спин-спиновой связи протон-углерод  $J_{1S}$ , равной 168 Гц. Большой размер данного АПУ позволяет удовлетворить условию адиабатичности даже при достаточно быстром прохождении, в результате чего существенной разницы в форме между линейным и оптимизированным профилем нет, а эффективность переноса поляризации сопоставима для обоих профилей. В случае изотомера  $S_B$  в диаграмме уровней энергии имеются две области АПУ, отличные друг от друга. Для каждого АПУ минимальное расщепление между уровнями относительно невелико из-за меньшей константы связи  $J_{1S}$ , равной 13.7 Гц. В результате профиль, рассчитанный с помощью подхода постоянной адиабатичности существенно отличается от линейного профиля – его наклон максимален вне области АПУ и практически равен нулю вблизи обоих АПУ. Поскольку вследствие малого размера АПУ их медленное прохождение становится критически важным, оптимальный профиль демонстрирует в данном случае большую эффективность по сравнению с линейным профилем.

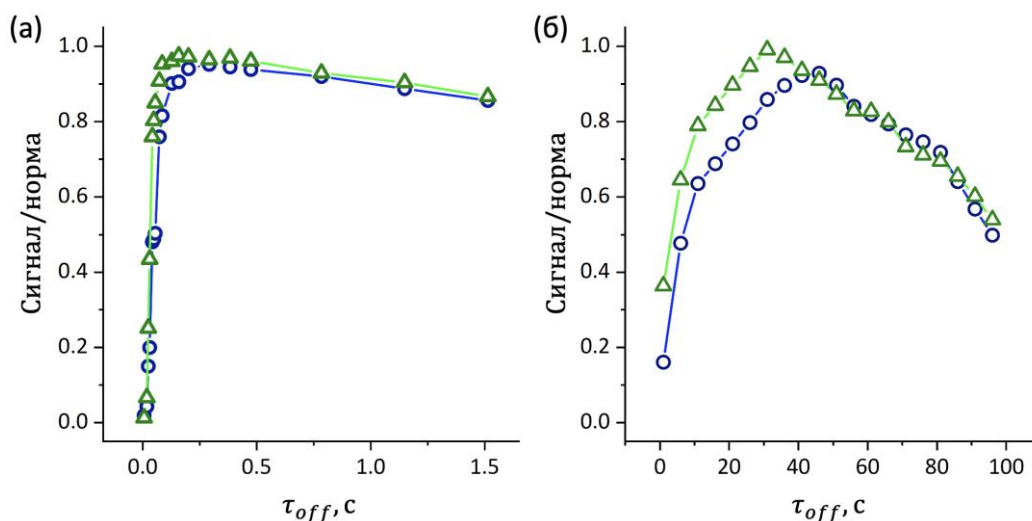


**Рисунок 17.** Уровни энергии спиновой системы как функция амплитуды  $^{13}\text{C}$  РЧ возбуждения  $\omega_S^1$  для изотомера  $\text{C}_A$  (а) и  $\text{C}_B$  (г). Линейный профиль переключения РЧ поля (точки) и профиль с постоянной адиабатичностью (сплошная линия) для изотомера  $\text{C}_A$  (б) и  $\text{C}_B$  (д). Поляризация гетероядра как функция времени в случае линейного профиля (точки) и профиля с постоянной адиабатичностью (сплошная линия) для изотомера  $\text{C}_A$  (в) и  $\text{C}_B$  (е). Для изотомера  $\text{C}_A$  для обоих профилей использовались следующие параметры моделирования:  $\tau_{off} = 0.05$  с,  $\omega_{S,1}(t=0)/2\pi = 400$  Гц,  $\delta_S^{RF} = 134$  м.д.,  $\omega_{H,1}/2\pi = 300$  Гц. Для изотомера  $\text{C}_B$ :  $\tau_{off} = 2.6$  с,  $\omega_{S,1}(t=0)/2\pi = 400$  Гц,  $\delta_S^{RF} = 134$  м.д.,  $\omega_{H,1}/2\pi = 300$  Гц. Штрихованные круги в (а) и (г) выделяют области АПУ.

Зависимость эффективности переноса поляризации от времени выключения РЧ возбуждения ядер  $^{13}\text{C}$  ( $\tau_{off}$ ) для изотомеров  $\text{C}_A$  (подграфик а) и  $\text{C}_B$  (подграфик б), измеренная с помощью линейного профиля и профиля “постоянной адиабатичности”, представлена на рисунке 18. Для изотомера  $\text{C}_A$  поляризация гетероядра достигает максимума при времени переключения 0.25 с, причем эффективность линейного и оптимального профилей одинакова. В случае изотомера  $\text{C}_B$  оптимальное значение  $\tau_{off}$  равно 26 с для оптимального и 38 с для линейного профиля. Различные зависимости от времени выключения для изотомеров  $\text{C}_A$  и  $\text{C}_B$  обусловлены различием констант спин-спиновой связи между протонами и соответствующими ядрами углерода. Для изотомера  $\text{C}_A$  константа связи между протонами и углеродом равна 168 Гц, что приводит к большему расщеплению АПУ и более быстрому переносу поляризации, причем эффективность переноса почти не зависит от



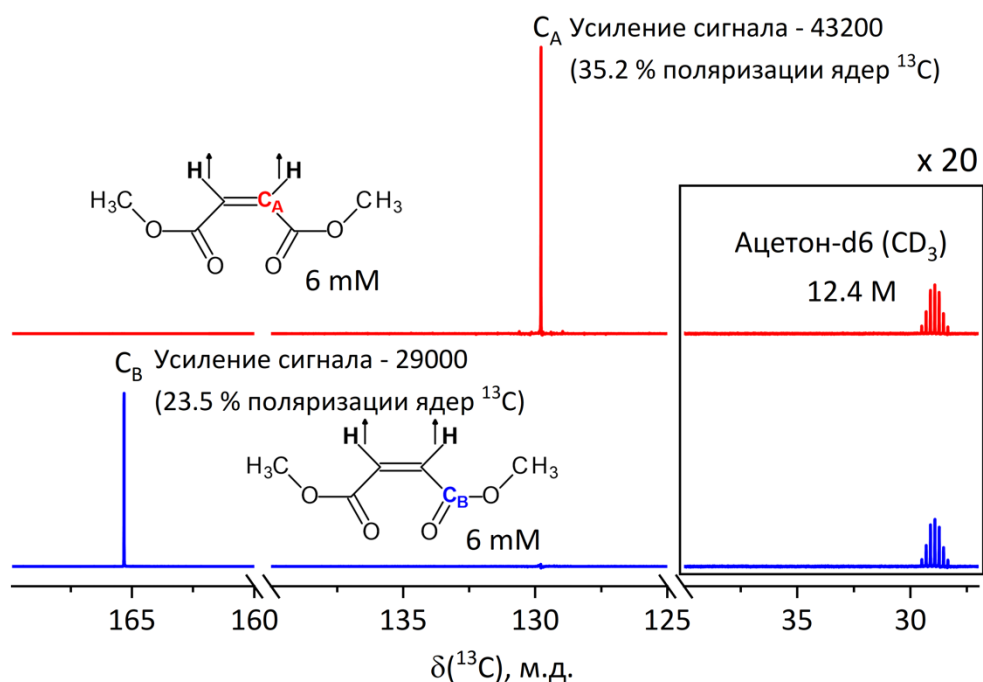
профиля переключения поля. Для изотопомера  $C_B$  константа связи равна 13.7 Гц, поэтому области АПУ более узкие, что затрудняет выполнение условия адиабатичности при переключении. В этом случае оптимальный профиль, предполагающий медленное прохождение через АПУ, увеличивает максимальную эффективность переноса поляризации на 10 %.



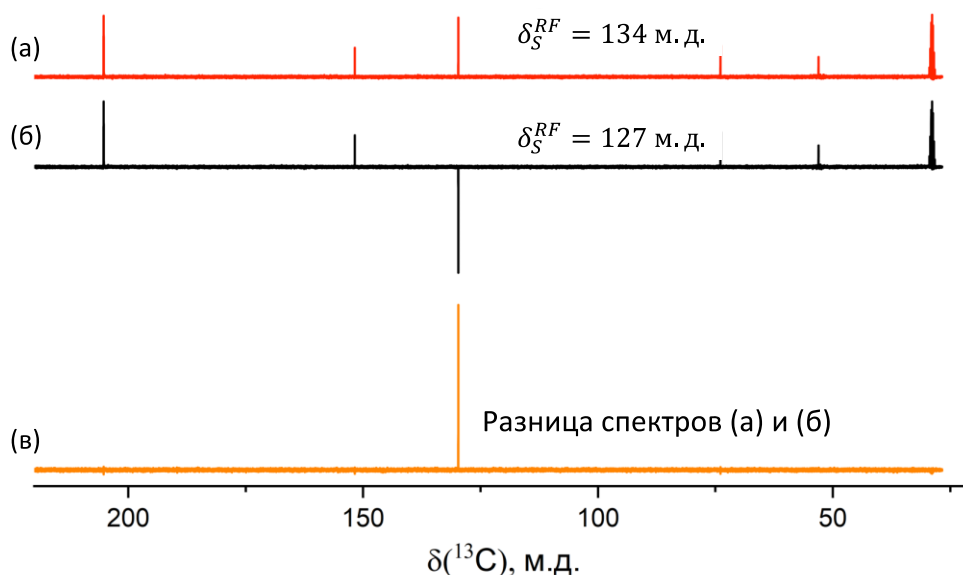
**Рисунок 18.** Зависимость эффективности переноса поляризации от времени выключения  $^{13}C$  РЧ возбуждения  $\tau_{off}$  для изотопомеров  $C_A$  (а) и  $C_B$  (б). Кружки – линейный профиль переключения РЧ поля, треугольники – профиль с “постоянной адиабатичностью”.

Используя все возможные методы оптимизации, удалось получить усиление сигнала ядра  $^{13}C$  в 43 200 раз для изотопомера  $C_A$ , что соответствует 35.2 % поляризации  $^{13}C$ , и 29 000 раз для изотопомера  $C_B$ , что соответствует 23.5 % поляризации. Спектры  $^{13}C$  ЯМР продукта после переноса ИППЯ представлены на рисунке 19. Видно, что сигналы гиперполяризованных молекул значительно интенсивней, сигналов ядер  $^{13}C$  растворителя, присутствующих в гораздо большей концентрации. Однако в некоторых случаях, даже при усилении за счет ИППЯ сигналы ядер исследуемых молекул могут оказаться сравнимы или меньше фоновых сигналов термически поляризованных молекул (растворителя, других компонентов смеси и т.д.). В данной ситуации оказывается полезна зависимость знака намагниченности, создаваемой из ИППЯ в методе APSOC от частоты РЧ возбуждения гетероядра (рис. 15). Проводя два эксперимента, при частоте возбуждения меньше и больше резонансной частоты гетероядра, а затем отнимая один из другого, можно получить спектр, содержащий только сигнал ядра, для которого

производилась конверсия ИППЯ в намагниченность (рис. 20). Данная процедура позволяет значительно повысить селективность метода ИППЯ.



**Рисунок 19.** Гиперполяризованный  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектр изотопомеров  $\text{C}_\text{A}$  и  $\text{C}_\text{B}$ . Концентрация гиперполяризованного продукта, давшего вклад в сигнал в каждом из экспериментов равна 6 мМ, в то время как концентрация термически поляризованного растворителя (ацетон- $\text{d}_6$ ), использованного как эталон, была равна 12.5 М.



**Рисунок 20.** Гиперполяризованные  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры изотопомера  $\text{C}_\text{A}$ , полученный с различными значениями частоты  $^{13}\text{C}$  РЧ возбуждения (а) и (б). Разница спектров (а) и (б), содержащая только сигнал гиперполяризованного ядра (в).

### 3.2 КОНВЕРСИЯ ИППЯ В ПОЛЯРИЗАЦИЮ ЯДЕР $^{13}\text{C}$ В УЛЬТРАСЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЯХ

Можно выделить три основных варианта переноса поляризации в АПУ в ультраслабых магнитных полях: (i) – адиабатическое прохождение через АПУ путем медленного изменения магнитного поля, (ii) – когерентный обмен, индуцированный мгновенным переключением поля и (iii) – проведение гидрирования непосредственно в поле, отвечающем АПУ. В первых двух подходах создание синглетного порядка протонов за счет ИППЯ происходит в поле, в котором формирование АПУ невозможно, например, в поле в несколько десятков микротесла (см. рис. 5), после чего происходит переключение поля, мгновенное или адиабатическое. В простом случае спиновой системы, состоящей из двух протонов и ядра  $^{13}\text{C}$ , при формировании ИППЯ состояния  $S'_0\alpha$  и  $S'_0\beta$ , отвечающие синглетному состоянию протонов, окажутся одинаково заселены, что соответствует нулевой интегральной намагниченности ядра  $^{13}\text{C}$ . В результате целью эксперимента по конверсии ИППЯ в ультраслабом поле является обмен населенностями между состояниями  $S'_0\alpha$  и  $T'_+\beta$ , что позволяет в теории создать стопроцентную поляризацию гетероядра. Обмен населенностями при адиабатическом прохождении через область АПУ является одним из наиболее широко используемых способов конверсии ИППЯ в ультраслабых полях [63; 90; 91]. Однако в пренебрежении экспериментальными факторами, того же результата можно достичь путем мгновенного перехода в область АПУ. Такой переход приведет к возникновению когерентностей между спиновыми состояниями, смешанными в АПУ, и, выждав половину периода эволюции этой когерентности и совершив обратный прыжок в более сильное поле, можно достичь того же уровня обмена населенностями, что и при адиабатическом прохождении (см. рис. 4). Этот подход напоминает метод SLIC (Spin Lock Induced Crossing), часто используемый в экспериментах с синглетными состояниями [49; 50]. Тот факт, что спиновая система, помещенная в АПУ, осциллирует между смешанными состояниями, приводит к варианту (iii) переноса поляризации, в котором когерентный перенос синглетного порядка происходит одновременно с

образованием молекул продукта в реакции гидрирования. Для определения получаемого спинового порядка необходимо усреднить матрицу плотности по всему периоду реакции, который обычно длится несколько секунд. Из-за того, что все акты образования новых молекул происходят независимо, это приводит к расфазировке создаваемых когерентностей и их затуханию, что делает этот подход несколько похожим на эксперименты ИППЯ в сильном поле типа PASADENA. Фактически такой подход является стандартной техникой, используемой для переноса поляризации в экспериментах SHEATH-SABRE в ультраслабых полях (однако в SABRE положения АПУ сильно сдвинуты в результате химического обмена). Данный метод переноса ИППЯ можно считать наиболее простым, поскольку интенсивность магнитного поля, в котором проводится гидрирование является единственным экспериментальным параметром, определяющим когерентную спиновую динамику. Максимальный перенос поляризации происходит в магнитном поле, соответствующем АПУ спиновой системы в молекуле продукта. Для простых спиновых систем можно определить положение АПУ аналитически, но в больших спиновых системах с несколькими АПУ необходимо либо численно рассчитывать полевою зависимость эффективности переноса поляризации, либо измерять ее экспериментально.

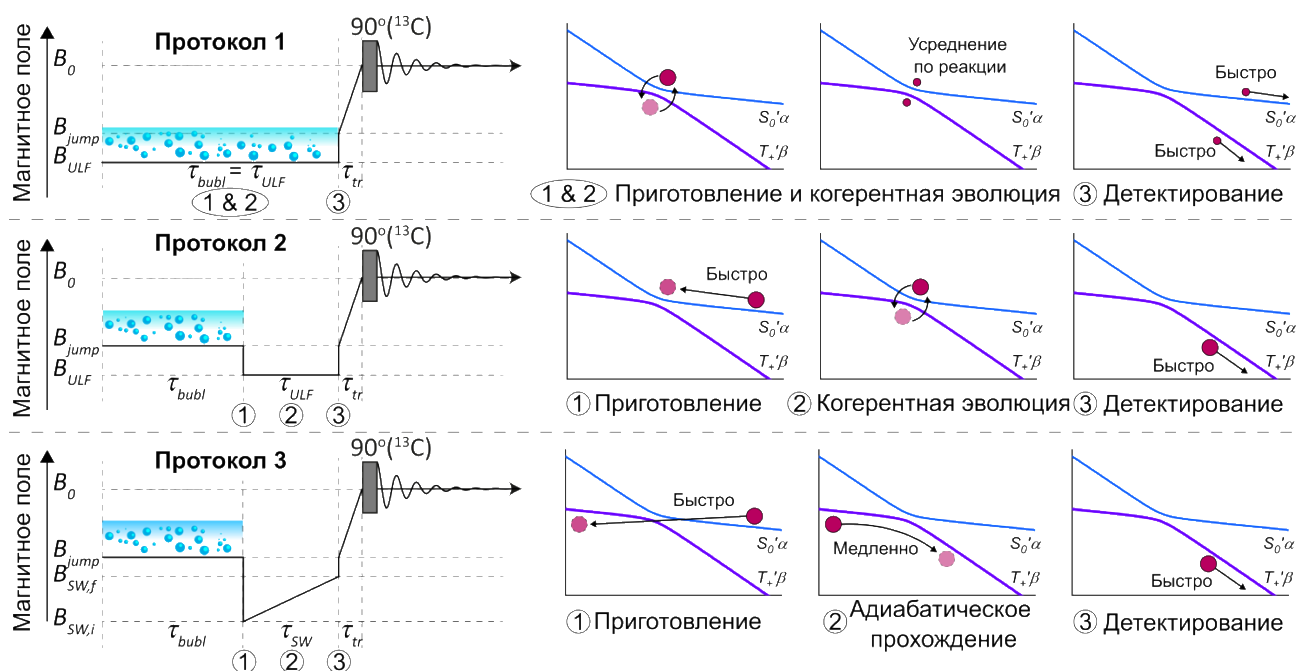
Одной из целей проведения экспериментов с ИППЯ в ультраслабом поле в данной работе был сравнительный анализ эффективности описанных методов переноса ИППЯ. В связи с этим, протоколы экспериментов были максимально приближены друг к другу для минимизации влияния экспериментальной ошибки. В качестве первого шага была изучена полевая зависимость эффективности переноса поляризации на ядра  $^{13}\text{C}$  в методе гидрирования в постоянном поле. Соответствующий экспериментальный протокол 1, представленный на рис. 21, включает: (1) непрерывное барботирование образца параводородом в поле  $B_{ULF}$  в течение времени  $\tau_{bubl}$ , которое в данном случае совпадает с периодом эволюции в ультраслабом магнитном поле  $\tau_{ULF}$ , (2) мгновенный скачок поля до промежуточного поля  $B_{jump}$ , (3) перенос образца в зону детектирования и (4) детектирование  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектра жестким девяностоградусным импульсом. Значение поля  $B_{jump}$  было

установлено равным 50 мкТл, что выше любого возможного АПУ для рассматриваемых молекул (см. рис. 5). Данный мгновенный скачок поля обеспечивает неадиабатический переход от поля АПУ к сильному полю, что повышает воспроизводимость эксперимента и упрощает расчеты.

На втором этапе для изучения когерентной природы переноса ИППЯ в ультраслабом поле были проведены эксперименты согласно протоколу 2, представленному на рис. 21: (1) барботирование образца параводородом в поле  $B_{jump}$  для формирования ИППЯ на протонах продукта, (2) мгновенное переключение поля до ультраслабого поля  $B_{ULF}$  с последующей свободной эволюцией поляризации в течение времени  $\tau_{ULF}$ , (3) мгновенное включение поля  $B_{jump}$ , (4) перенос образца в зону детектирования и (5) детектирование спектра  $^{13}\text{C}$  ЯМР жестким девяностоградусным РЧ импульсом. Эффективность переноса поляризации в данном эксперименте зависит от двух параметров, а именно, от величины ультраслабого поля и от времени эволюции в нем. Оптимальное значение  $B_{ULF}$  в данном случае совпадает со значением, получаемым в экспериментах по протоколу 1, поскольку в обоих протоколах оптимальное поле отвечает одинаковым АПУ. Таким образом, для этого типа переноса необходимо было определить только зависимость эффективности переноса ИППЯ от периода эволюции  $\tau_{ULF}$ .

На следующем этапе было проведено исследование адиабатического переноса ИППЯ с помощью экспериментального протокола 3, представленного на рис. 21. Данный протокол аналогичен протоколу 2, за исключением того, что после завершения барботирования магнитное поле мгновенно снижается до околонулевого значения (50 нТл) с последующей медленной разверткой до некоторого максимального значения. Эта экспериментальная схема включает три параметра – начальное  $B_{SW,i}$  и конечное  $B_{SW,f}$  поля развертки и ее длительность  $\tau_{SW}$ . Предыдущие исследования показали, что развертка поля от нуля до нескольких микротесла обеспечивает более высокую поляризацию ядер  $^{13}\text{C}$ , чем инверсия поля от отрицательных до положительных значений [63]. По этой причине, в данной работе начальное поле было установлено равным 50 нТл (минимально достижимое поле в магнитном экране), а конечное поле – 2 мкТл. Таким образом, для оптимизации этого протокола

переноса ИППЯ была исследована только зависимость поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  от длительности развертки поля.



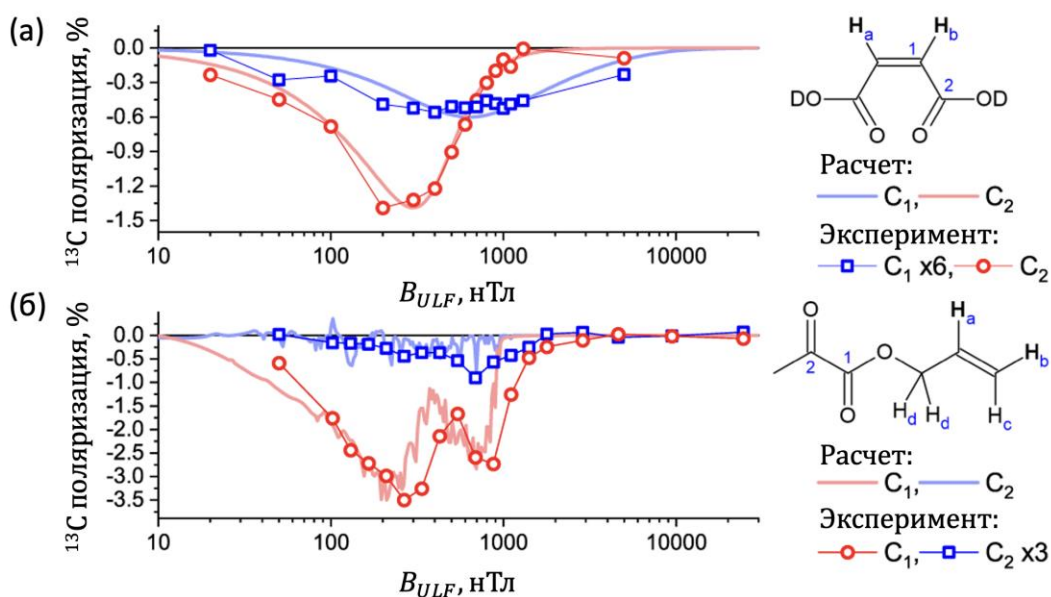
**Рисунок 21.** Экспериментальные протоколы для переноса ИППЯ путем: непрерывного гидрирования в ультраслабом поле (верхний ряд), когерентного обмена в АПУ (средний ряд) и адиабатической развертки поля (нижний ряд). Справа от экспериментальных протоколов приведены упрощенные схемы динамики населенностей спиновых состояний, приводящей к переносу поляризации в соответствующем эксперименте. Длительности на рисунках не отражают реальных временных масштабов.

### 3.2.1 Непрерывное гидрирование в постоянном поле

Полевые зависимости сигналов  $^{13}\text{C}$ , полученные для всех рассматриваемых изотопомеров малеиновой кислоты и аллилпирувата в протоколе 1 (см. рис. 21) представлены на рис. 22. Для трехспиновой системы из двух протонов и одного ядра  $^{13}\text{C}$  существует четыре АПУ в ультраслабых полях, два в положительных полях и два в отрицательных, расположенных симметрично относительно нулевого поля. Для  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты АПУ возникают в полях  $-292$  нТ,  $-137$  нТ,  $137$  нТ и  $292$  нТ. В случае протонов, изначально находящихся в синглетном состоянии, и положительных полей для переноса ИППЯ имеет значение только АПУ в поле  $292$  нТл, которое вызывает смешивание состояний  $S'_0\alpha$  и  $T'_+\beta$  (как обсуждалось в разделе 1.2.2). АПУ в поле  $137$  нТ соответствует смешиванию состояний  $T'_0\alpha$  и  $T'_+\beta$  и становится активным

только при выполнении адиабатической развертки поля от отрицательных значений к положительным. Единственное активное АПУ обеспечивает гладкий вид полевой зависимости с единственным максимумом. Ситуация для  $^{13}\text{C}_1$ -малеиновой кислоты аналогична, однако полевая зависимость для данного изотопмера значительно шире, что отражает более сильное расщепление уровней в области АПУ из-за сильной спин-спиновой связи протон–углерод. Экспериментально наблюдаемые полевые зависимости находятся в качественном согласии с расчетами, но эффективность переноса в  $^{13}\text{C}_1$ -малеиновой кислоте была значительно ниже, чем в  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоте. Это различие, вероятно, вызвано гораздо более быстрой релаксацией ядра  $^{13}\text{C}_1$  по сравнению с ядром  $^{13}\text{C}_2$  из-за сильного дипольного взаимодействия с близким протоном.

В случае  $^{13}\text{C}$ -аллилпирувата аналитическое определение АПУ становится затруднительным по нескольким причинам. Во-первых, спиновая система в этом случае содержит девять спинов, причем многие константы спин-спиновой связи имеют один порядок величины. Это делает анализ АПУ трудоемким, поскольку в данном случае невозможно уменьшить размерность гамильтониана, опуская из рассмотрения спины с малыми константами связи. Во-вторых, путь переноса поляризации в данном случае не является прямым, поскольку константы связи между протонами, полученными из параводорода, и ядром  $^{13}\text{C}$  пренебрежимо малы [43]. В результате перенос поляризации происходит посредством протонов  $\text{CH}_2$  группы аллильного остатка молекулы, поскольку они имеют существенные константы спин-спиновой связи как с протонами параводорода, так и с ядром  $^{13}\text{C}$  в остатке пирувата. Полевая зависимость  $^{13}\text{C}_1$  аллилпирувата имеет два ярко выраженных максимума и множество более мелких особенностей, в отличие от гладких зависимостей для  $^{13}\text{C}$ -малеиновой кислоты. В случае ядра  $^{13}\text{C}_2$  в аллилпирувате константы связи с протонами  $\text{CH}_2$  группы относительно малы, что приводит к низкой эффективности переноса поляризации и сложной форме полевой зависимости. В эксперименте, из-за перемешивания раствора в неоднородном магнитном поле, резкие особенности полевой зависимости наблюдать не удастся, однако на качественном уровне измеренные данные хорошо согласуются с расчетами.



**Рисунок 22.** Полевая зависимость поляризации  $^{13}\text{C}$  для случая непрерывного гидрирования в фиксированном ультраслабом поле (протокол 1) для малеиновой кислоты (а) и аллилпирувата (б).

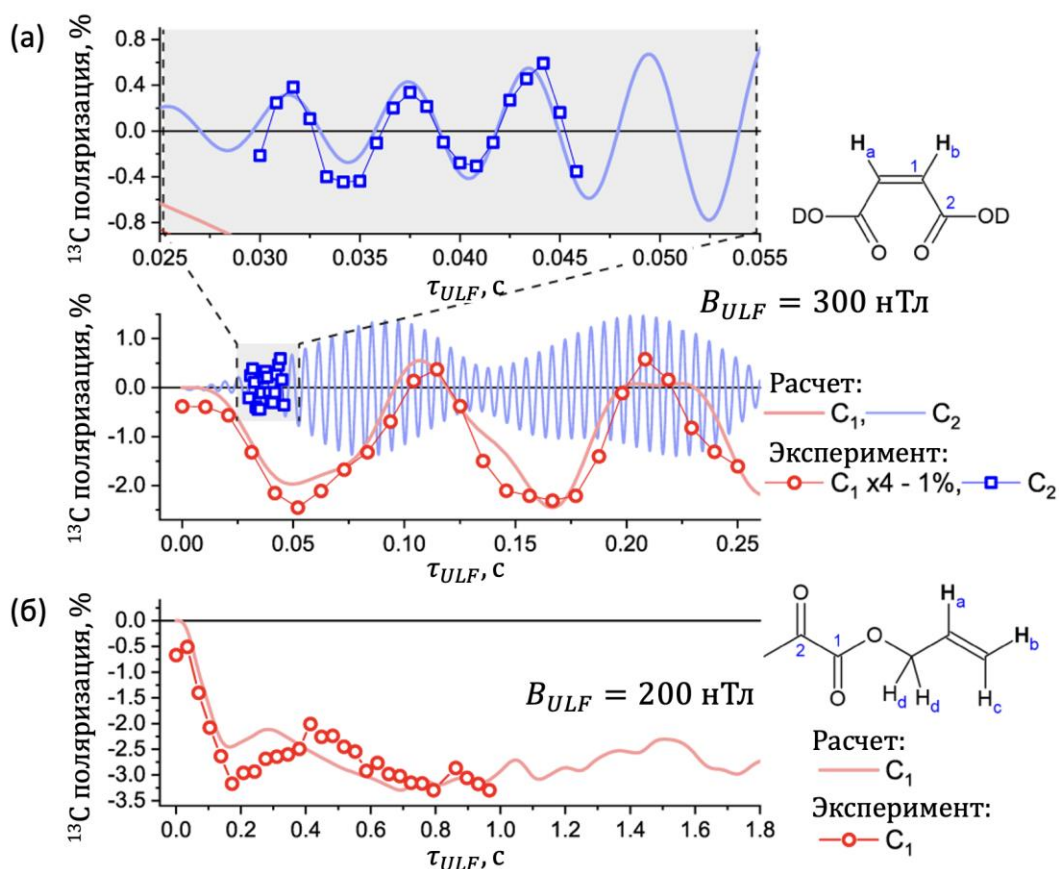
### 3.2.2 Когерентный перенос при мгновенном переключении поля

Непрерывное гидрирование в поле, где выполняется условие АПУ, обеспечивает относительно эффективный и простой способ переноса ИППЯ, однако усреднение по времени и тот факт, что начальная поляризация распространяется неселективно среди всех состояний, участвующих в АПУ, ограничивает его эффективность. В связи с этим разумное использование когерентной динамики системы в АПУ в эксперименте по протоколу 2 дает возможность повысить эффективность переноса ИППЯ. На рис. 23.а показана зависимость эффективности переноса поляризации от времени эволюции в магнитном поле 300 нТл для малеиновой кислоты, измеренная согласно протоколу 2. Это поле соответствует максимуму полевой зависимости для  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты (см. рис. 22). Для  $^{13}\text{C}_1$ -малеиновой кислоты при этом наблюдается не только когерентный перенос поляризации, но и перенос поляризации за счет гетероядерного дипольного взаимодействия во время гидрирования в поле 50 мкТл. Это приводит к дополнительной положительной поляризации в  $^{13}\text{C}_1$ -малеате, которая не зависит от времени эволюции в



ультраслабом поле. После вычитания этой некогерентной части из экспериментально измеренной поляризации, полученные осцилляции когерентного переноса находятся в хорошем согласии с расчетом. Для  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты проведение экспериментов по протоколу 2 позволяет повысить наблюдаемую поляризацию ядер  $^{13}\text{C}$  с 1.4 % в эксперименте с фиксированным полем (протокол 1) до 2.4 % для когерентного переноса с временем эволюции 0.05 с в магнитном поле 300 нТл. Однако численное моделирование предсказывает еще большую разницу в эффективности: 35 % для переноса в фиксированном магнитном поле и 84 % для когерентного переноса. Экспериментально наблюдаемая разница между когерентным подходом и подходом с фиксированным полем меньше, чем ожидалось, из-за большей устойчивости последнего к экспериментальным погрешностям. В частности, он не требует точной настройки временных задержек эксперимента и допускает отклонение от оптимального значения поля.

В случае  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата, когерентное перераспределение ИППЯ также имеет место, однако наблюдаемые осцилляции менее выражены, чем в случае малеиновой кислоты (см. рис. 23.б). Вероятной причиной этого является наличие множества взаимодействующих ядерных спинов, участвующих в процессе переноса поляризации, что приводит к эффективному усреднению когерентностей. Таким образом, вместо сильных модуляций наблюдается только плавное нарастание поляризации ядра  $^{13}\text{C}$  в течение первых 200 мс эволюции в ультраслабом поле, а затем небольшие осцилляции вокруг среднего уровня поляризации. В эксперименте с периодом эволюции  $\tau_{ULF} = 0.2$  с поляризация ядра  $^{13}\text{C}$  достигала только 3.3 %, что даже ниже максимального значения 3.5 %, полученного в эксперименте с фиксированным полем. В экспериментах с когерентным переносом поляризации не было получено заметного усиления сигнала  $^{13}\text{C}$  для  $^{13}\text{C}_2$ -аллилпирувата.



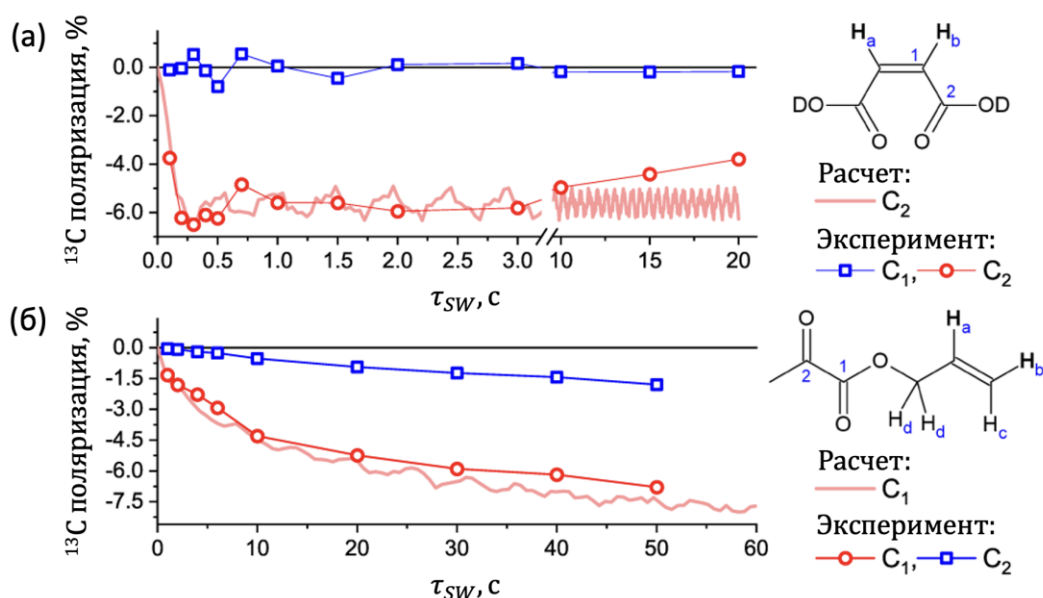
**Рисунок 23.** Зависимость поляризации  $^{13}\text{C}$  от времени эволюции в ультраслабом поле в эксперименте по когерентному переносу (протокол 2) для малеата (а) и аллилпирувата (б).

### 3.2.3 Адиабатическая развертка ультраслабого поля

Для  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты развертка магнитного поля успешно обеспечивает адиабатическое прохождение через область АПУ, обеспечивая высокие уровни усиления сигнала  $^{13}\text{C}$ . Как эксперимент, так и расчеты показывают, что даже довольно быстрая развертка поля, с общим временем переключения меньше 1 с обеспечивает максимальную эффективность переноса (рис. 24.а). Более длительная развертка приводит лишь к медленному уменьшению наблюдаемой поляризации ядра  $^{13}\text{C}$ , вызванному релаксацией. Наибольшая поляризация  $^{13}\text{C}$ , полученная в этом типе эксперимента, составила 6.5 %, что более чем в четыре раза больше, чем в экспериментах с фиксированным полем, и более чем в два раза больше, чем в экспериментах с когерентным переносом. Между тем моделирование спиновой динамики предсказывает почти одинаковую эффективность переноса поляризации для

когерентного переноса и адиабатической развертки поля. Причину этого расхождения между моделированием и экспериментом следует искать в недостаточной надежности метода когерентного переноса и его чувствительности к погрешностям реального эксперимента. Для  $^{13}\text{C}_1$ -малеиновой кислоты развертка поля не приводит к заметной поляризации  $^{13}\text{C}$  ни в эксперименте, ни в моделировании. Это результат наличия широкой области АПУ для спиновой системы данного изотомера, развертка поля через которое не обеспечивает необходимый путь переноса поляризации.

Для  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата адиабатический перенос поляризации становится более сложным. Это обусловлено свойствами спиновой системы молекулы, а именно, чрезвычайно слабыми спин-спиновыми связями между ядром  $^{13}\text{C}$  и протонами, полученными из параводорода, и лишь умеренными связями с протонами  $\text{CH}_2$  группы, которые выступают как медиатор для переноса поляризации. В результате в эксперименте и в моделировании наблюдается медленное нарастание поляризации при увеличении длительности развертки (см. рис. 24.б). Даже развертка длительностью 50 с не позволяет достичь отчетливого максимума эффективности переноса. Для сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными первые были нормированы на поляризацию  $^{13}\text{C}$ , равную 8 %, соответствующую экспериментально достижимой поляризации для  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата без учета релаксационных потерь. Численное моделирование показывает значение поляризации 56 % для  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата для трехминутной развертки, что значительно превышает теоретические значения поляризации для фиксированного поля (6.4 %) и для когерентного переноса (6.4 %). Однако экспериментально наблюдаемый уровень  $^{13}\text{C}$  поляризации в адиабатическом эксперименте составляет только 6.8 %, что значительно ниже предсказанного значения. Различие моделирование и эксперимента можно объяснить как релаксационными потерями при долгом переключении поля, так и неидеальной конфигурацией магнитного поля внутри экрана. Адиабатическая развертка поля также позволяет наблюдать перенос поляризации для  $^{13}\text{C}_2$ -аллилпирувата, однако, как и в предыдущих экспериментах, его эффективность гораздо ниже, чем для  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата.



**Рисунок 24.** Зависимость поляризации  $^{13}\text{C}$  от длительности развертки поля в экспериментах по адиабатическому переносу (протокол 3) для малеиновой кислоты (а) и аллилпирувата (б).

### 3.2.4 Простая процедура оптимизации профиля развертки ультраслабого поля

Высокая скорость адиабатического переноса в изотопомере  $^{13}\text{C}_2$ -малеиновой кислоты обусловлена сильной магнитной неэквивалентностью спиновой системы  $AA'X$ , т. е. большой разницей констант спин-спиновой связи с ядром  $^{13}\text{C}$  между двумя протонами, полученными из параводорода. Иная ситуация наблюдается для  $^{13}\text{C}_2$ -фумарата, *транс*-изомера малеата, спиновая система которого характеризуется слабой магнитной неэквивалентностью протонов. В этом случае, как было подробно изучено в работе Б. А. Родина с соавт. [58], линейная развертка поля в аналогичном экспериментальном протоколе требует длительности не менее 3 с для достижения максимальной эффективности переноса. Также было продемонстрировано, что оптимизация профиля переключения поля с помощью подхода постоянной адиабатичности, описанного в разделе 3.1, позволяет ускорить перенос поляризации. Однако для расчета такого профиля необходимо провести детальный теоретический анализ, включая идентификацию всех АПУ, имеющих отношение к процессу переноса, и всех состояний, изначально заселенных при создании ИППЯ. Эта

задача, решенная для трехспиновой системы, становится практически невыполнимой для многоспиновых систем, особенно когда величина множества констант спин-спиновой связи системы имеет один и тот же порядок.

В данной работе предложен простой и удобный подход для оптимизации профиля развертки магнитного поля, основанный на знании зависимости эффективности переноса поляризации от величины магнитного поля. Он позволяет учитывать полную спиновую систему без необходимости точного анализа структуры соответствующих АПУ. В качестве модельной системы использовался  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпириват, адиабатический перенос ИППЯ в котором обсуждался выше. Первый шаг для нахождения профиля заключается в расчете полевой зависимости поляризации  $^{13}\text{C}$  в экспериментах с гидрированием при фиксированном поле (протокол 1). Для данной задачи гамильтониан спиновой системы в произвольном слабом поле  $B$  записывается следующим образом:

$$H(B) = -B \left( \gamma_H \sum_i \hat{I}_{z,i} + \gamma_C \hat{S}_z \right) + 2\pi \sum_{l < k} J_{lk} (\hat{I}_l \cdot \hat{I}_k), \quad (20)$$

где  $\gamma_H, \gamma_C$  – гиромагнитные отношения для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ,  $\hat{I}_{z,i}$  –  $z$ -проекция оператора спина для  $i$ -го протона,  $\hat{S}_z$  –  $z$ -проекция оператора спина для ядра  $^{13}\text{C}$ ,  $J_{lk}$  – константа спин-спинового взаимодействия  $l$ -го и  $k$ -го спинов,  $\hat{I}_l$  – оператор спина  $l$ -го ядра, и суммирование идет по всем магнитным ядрам молекулы.

Для задания начальной матрицы плотности можно предположить, что единственным населенным состоянием является синглетное состояние протонов параводорода, а все остальные ядра в системе являются неполяризованными

$$\hat{\rho}_0 = 2^{-N} \hat{\mathbb{E}} + 2^{2-N} (\hat{I}_1 \cdot \hat{I}_2) \quad (21)$$

где  $N$  – число магнитных ядер в рассматриваемой молекуле.

Данную матрицу плотности необходимо переписать в собственном базисе гамильтониана, определенного в (20):

$$\hat{\sigma} = T \hat{\rho}_0 T^{-1}, \quad (22)$$

где  $T$  – унитарная матрица, состоящая из собственных векторов (20).

Поскольку синглетное состояние не является собственным состоянием рассматриваемого гамильтониана, в результате преобразования (22) возникают нуль-квантовые когерентности, а исходная поляризация частично перераспределяется. Согласно протоколу 1 это происходит одновременно с реакцией гидрирования. Для простоты можно положить, что реакция протекает равномерно во времени, и усреднить матрицу плотности за период барботирования  $\tau_{bubl}$

$$\bar{\hat{\sigma}}_{ij}(\tau_{bubl}) = \frac{1}{\tau_{bubl}} \int_0^{\tau_{bubl}} \hat{\sigma}_{ij} e^{-i2\pi\nu_{ij}t} dt = \hat{\sigma}_{ij} e^{i\pi\nu_{ij}t} \frac{\sin(\pi\nu_{ij}t)}{\pi\nu_{ij}t}, \quad (23)$$

где  $\nu_{ij}$  разность энергий между  $i$ -м и  $j$ -м спиновыми состояниями.

В большинстве практических случаев реакция гидрирования протекает в течение нескольких секунд, так что все когерентности оказываются подавлены. Таким образом, только населенности матрицы плотности сохраняются после периода барботирования

$$\bar{\hat{\sigma}}_{ij} = \hat{\sigma}_{ij} \delta_{ij}. \quad (24)$$

Взятие следа от произведения полученной матрицы плотности и оператора поляризации  $\hat{P}_z = 2^{1-N} \hat{S}_z$  ядра  $^{13}\text{C}$  позволяет получить желаемую полевую зависимость

$$P_{^{13}\text{C}}(B) = \text{Tr}(\hat{P}_z \bar{\hat{\sigma}}). \quad (25)$$

Небольшие выбросы и осцилляции в полевой зависимости не оказывают существенного влияния на эффективность переноса поляризации, поэтому полевую зависимость можно сгладить, применяя фильтр Савицкого-Голая (рис. 25.а). Полученная кривая показывает, что перенос поляризации эффективно происходит по крайней мере в двух АПУ примерно при 210 нТл и примерно при 700 нТл. Однако это не истинные положения АПУ, поскольку, во-первых, АПУ в отрицательных полях влияют на положения максимумов полевой зависимости, смещая их, а во-вторых, в многоспиновых системах трудно определить АПУ, непосредственно отвечающие за перенос поляризации. Тем не менее амплитуда полевой зависимости в конкретном поле указывает на эффективность переноса поляризации в этой точке. Поэтому при развертке поля необходимо медленно проходить области с высокой амплитудой полевой

зависимости, чтобы удовлетворить условию адиабатичности. Таким образом, можно считать, что функция распределения времени развертки по полю должна быть пропорциональна значению полевой зависимости

$$\rho_t(B) = C \cdot P_{^{13}\text{C}}(B), \quad (26)$$

где  $\rho_t(B)$  – распределение времени развертки по полю,  $P_{^{13}\text{C}}(B)$  –  $^{13}\text{C}$  поляризация, получаемая в поле  $B$  в эксперименте с фиксированным полем (протокол 1),  $C$  – коэффициент пропорциональности.

Далее суммарное время развертки поля до достижения некоторого  $B_{ULF}$  находится интегрированием зависимости  $\rho_t(B)$  от нуля до желаемого  $B_{ULF}$  (рис.25.б):

$$t_{SW}(B_{ULF}) = \int_0^{B_{ULF}} \rho_t(B) dB = C \int_0^{B_{ULF}} P_{^{13}\text{C}}(B) dB, \quad (27)$$

где  $B_{ULF}$  – рассматриваемое магнитное поле.

Графическая инверсия зависимости  $t_{SW}(B_{ULF})$ , полученная простой сменой осей времени и поля на графике, дает оптимизированную форму профиля развертки поля  $B_{ULF}(t_{SW})$ , показанную на рис. 25.в. При необходимости общая длительность развертки поля может быть скорректирована путем линейного растяжения этого профиля вдоль оси времени. В уравнении (27) это соответствует регулировке коэффициента  $C$ . Из данных, представленных на рис. 25.г видно, что в эксперименте с таким "оптимальным" профилем была достигнута большая эффективность переноса, чем с линейным профилем. Наблюдается как более быстрый рост при коротких длительностях развертки, так и большая поляризация после продолжительной развертки поля. Так, экспериментально полученная поляризация  $^{13}\text{C}$ -аллилпировата после 50 с развертки была увеличена с 6.8 % для линейного профиля до 8.7 % для оптимального профиля. В целом подобная оптимизация развертки представляет особый интерес в случаях, когда условия постоянной адиабатичности трудновыполнимы. Ярким примером является рассматриваемый эксперимент ИППЯ с гидрированием боковой цепи в аллилпировате.

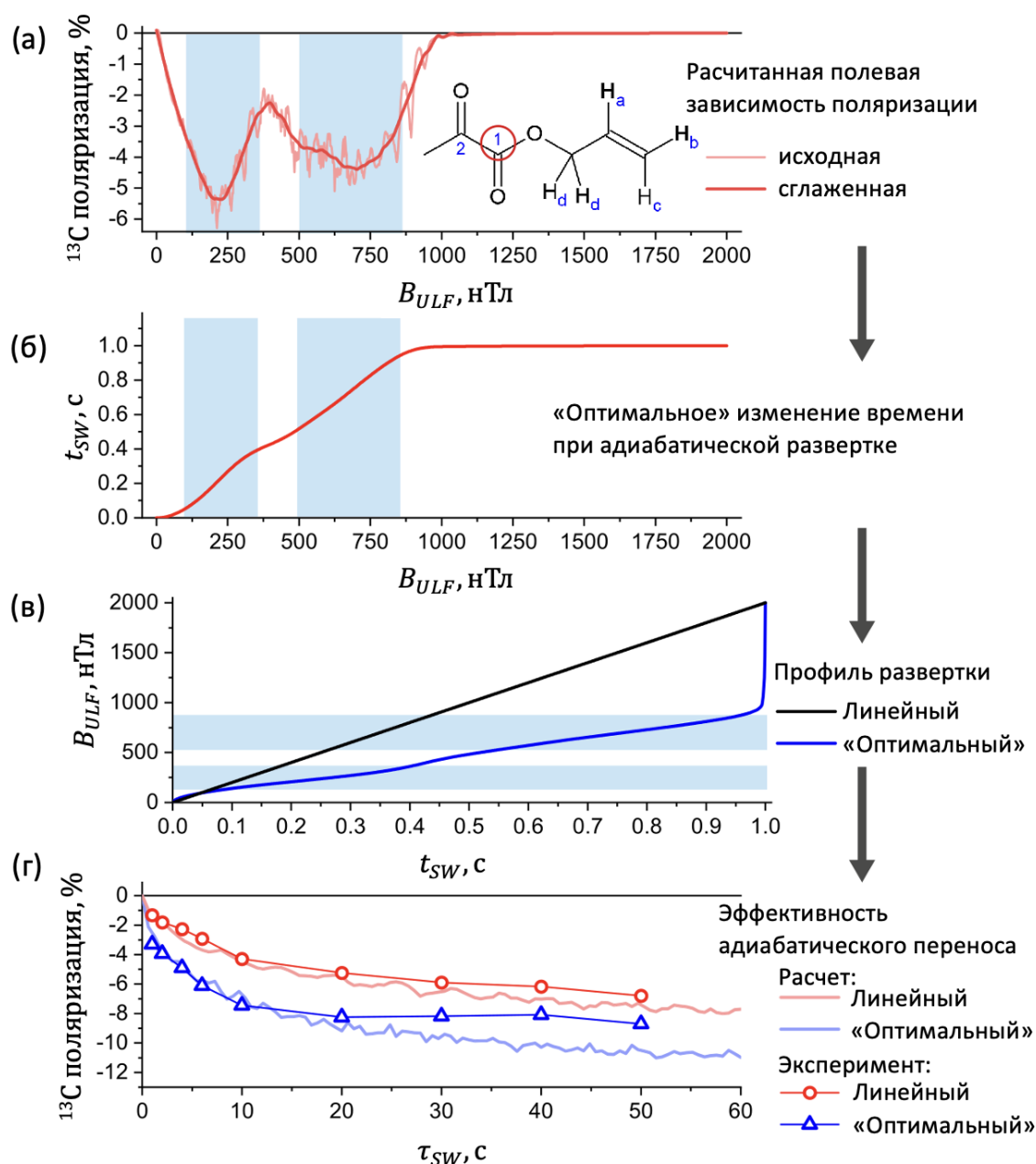
Более того, из представленного выше также следует, что та же процедура выполнима даже без расчета полевой зависимости, поскольку ее можно заменить экспериментально измеренной зависимостью. Как было показано выше, такие эксперименты с фиксированным полем (протокол 1) просты в реализации, а получаемая зависимость показывает хорошее согласие с моделированием. Таким образом, простая интерполяция таких данных или их подгонка подходящими аналитическими функциями позволяет легко рассчитать оптимальный профиль развертки магнитного поля.

Полученные уровни как экспериментально наблюдаемой, так и рассчитанной численно  $^{13}\text{C}$  поляризации в рассмотренных экспериментальных протоколах представлены в таблице 1. Теоретически рассчитанная поляризация соответствует идеализированному случаю 100% содержания параводорода, отсутствия спиновой релаксации и полностью оптимальных параметров переноса поляризации. Для случая экспериментов по развертке поля по протоколу 3 приведены результаты расчета только для линейной развертки поля длительностью 100 с.

**Таблица 1.** Экспериментально наблюдаемые ( $P(^{13}\text{C})_{\text{exp}}$ ) и теоретически предсказанные ( $P(^{13}\text{C})_{\text{calc}}$ ) уровни поляризации  $^{13}\text{C}$  для рассматриваемых молекул продуктов.

Молекула	$P(^{13}\text{C})_{\text{exp}} (P(^{13}\text{C})_{\text{calc}}), \%$			
	Протокол 1	Протокол 2	Протокол 3 (линейный)	Протокол 3 ("оптимальный")
$^{13}\text{C}_1$ -малеиновая кислота	$-0.1 \pm 0.05$ (-17)	(-48)	(-40)	-
$^{13}\text{C}_2$ -малеиновая кислота	$-1.4 \pm 0.1$ (-35)	$-2.4 \pm 0.2$ (-84)	$-6.5 \pm 0.2$ (-82)	-
$^{13}\text{C}_1$ -аллилпируват	$-3.5 \pm 0.2$ (-6.4)	$-3.3 \pm 0.3$ (-6.5)	$-6.8 \pm 0.4$ (-56)	$-8.7 \pm 0.3$
$^{13}\text{C}_2$ -аллилпируват	$-0.3 \pm 0.05$ (-1.5)	$-0.03 \pm 0.01$	$-1.3 \pm 0.04$	$-2.2 \pm 0.05$





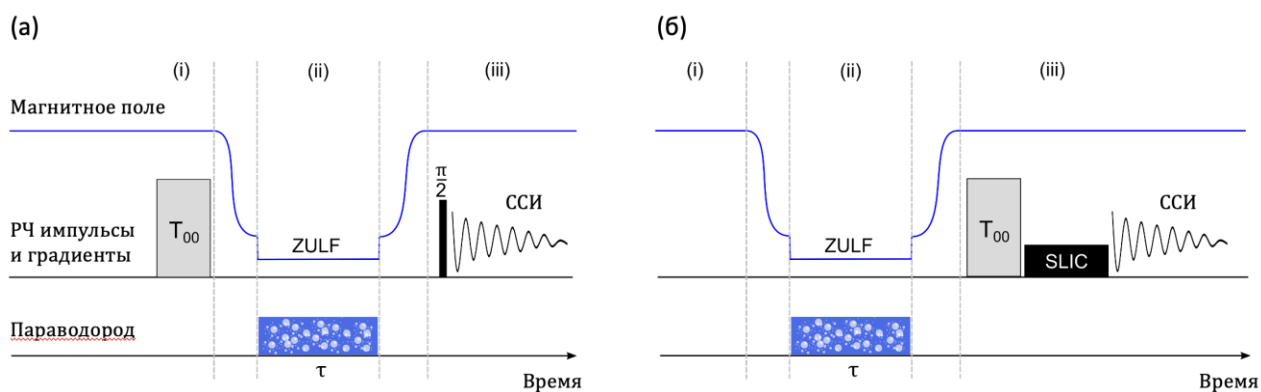
**Рисунок 25.** Смоделированная полевая зависимость поляризации  $^{13}\text{C}$  для случая непрерывного гидрирования при фиксированном ультраслабом поле для аллилпирувата (а). "Оптимальное" изменение времени в эксперименте с адиабатической разверткой поля, полученное путем интегрирования смоделированной полевой зависимости (б). Линейный и "оптимальный" профиль развертки поля (в). Зависимость поляризации  $^{13}\text{C}$  от длительности развертки поля с линейным и "оптимальным" профилями (г).

### 3.3 ЯДЕРНАЯ СПИНОВАЯ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЯ АЗОБЕНЗОЛА В МЕТОДЕ SABRE

#### 3.3.1 Намагниченность и синглетный спиновый порядок *цис*-азобензола в экспериментах SABRE

Возможность гиперполяризации ядер *цис*-азобензола с помощью SABRE уже была показана ранее [92], однако в рамках данного крупномасштабного исследования многих соединений информация о SABRE непосредственно азобензола была ограничена, а уровень достигнутой поляризации был практически равен нулю. В связи с этим далее представлено подробное исследование SABRE поляризации *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в экспериментах, по созданию гиперполяризованной намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$  и  $^1\text{H}$  и по созданию гиперполяризованного синглетного порядка пары спинов  $^{15}\text{N}$ .

Спиновая система *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола содержит множество неэквивалентных ядер, в результате чего перенос поляризации в данной молекуле представляет собой достаточно сложный процесс. В ультраслабом магнитном поле гиперполяризация распространяется по всем ядрам в состоянии сильной связи, позволяя поляризовать удаленные спины, включая протоны в фенильных кольцах молекулы. Это похоже на предыдущие исследования метронидазола, где удаленные спины гиперполяризуются через сеть спин-спиновых связей [93]. Метод SABRE также позволяет гиперполяризовать различные спиновые порядки, особый интерес среди которых представляют намагниченность ядер  $^{15}\text{N}$  и синглетный порядок спиновой пары  $^{15}\text{N}$ . Возможность гиперполяризации долгоживущего синглетного порядка с помощью SABRE ранее была показана для субстратов на основе диазиринов [94].



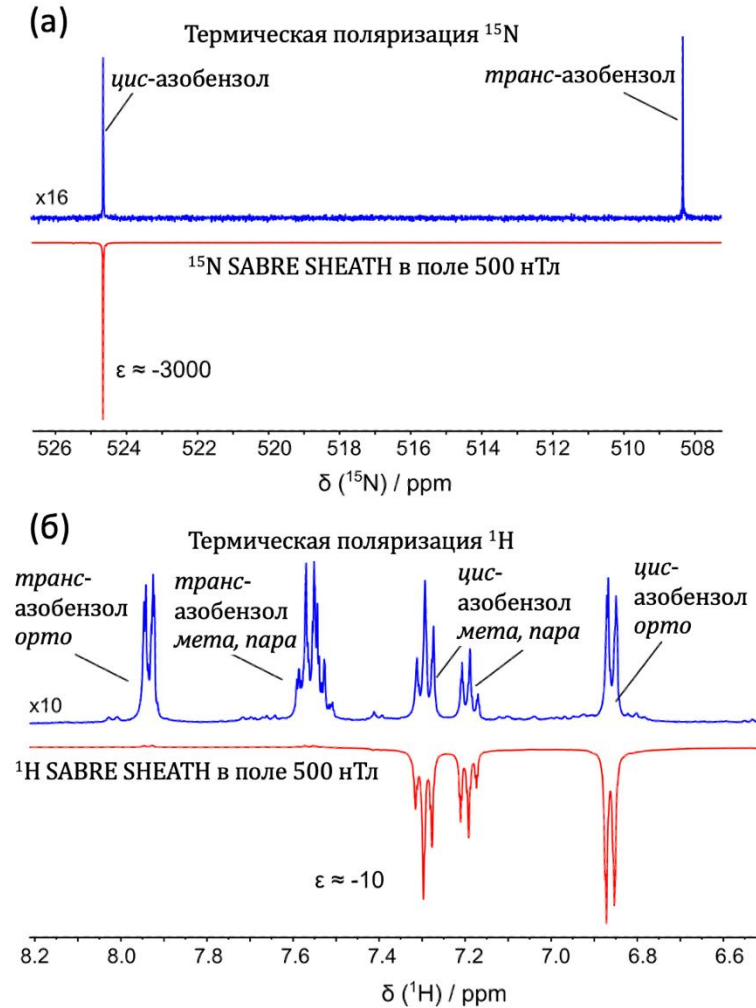
**Рисунок 26.** Экспериментальные протоколы SABRE для поляризации *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола. (а) Эксперимент SHEATH-SABRE с предварительным (i) разрушением равновесной намагниченности в сильном поле ЯМР спектрометра с последующим переносом образца в магнитный экран, (ii) барботированием параводородом в ультраслабом магнитном поле в течение времени  $\tau$ , и (iii) обратным переносом образца и детектированием сигнала ЯМР жестким РЧ импульсом. (б) Эксперимент SHEATH-SABRE для наблюдения гиперполяризованного синглетного порядка спиновой пары  $^{15}\text{N}$  в *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензоле. В данном случае детектирование осуществляется с помощью SLIC-импульса. Блок  $T_{00}$  обозначает фильтр на основе жестких РЧ импульсов синхронизированных с импульсными градиентами поля; подробности в работе [95].

Поскольку при нормальных условиях азобензол находится в более стабильной *транс*-конформации, перед началом SABRE экспериментов образец облучался светом с длиной волны 308 нм. Это позволяло конвертировать *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензол в *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензол таким образом, что отношение их концентраций составляло 1:1. При проведении экспериментов SHEATH-SABRE согласно протоколу, представленному на рис. 26.а, поляризация наблюдалась только на ядрах *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, что можно заключить из сравнения термического и гиперполяризованного спектров (рис. 27.а). При этом максимальной поляризации удавалось достичь при величине ультраслабого поля, равной 500 нТл. Отсутствие гиперполяризации для *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола можно объяснить стерическими ограничениями на его координацию с SABRE комплексом. Для показанного спектра коэффициент усиления составил  $\epsilon \approx 3000$ . Он рассчитывался как отношение интегральной интенсивности спектра SABRE SHEATH к интенсивности, наблюдаемой в спектре термически поляризованного образца. Для получения обоих спектров использовался один и тот же образец, но в случае термической поляризации спектр усреднялся по 128 накоплениям сигнала, чтобы получить приемлемое отношение сигнал/шум.

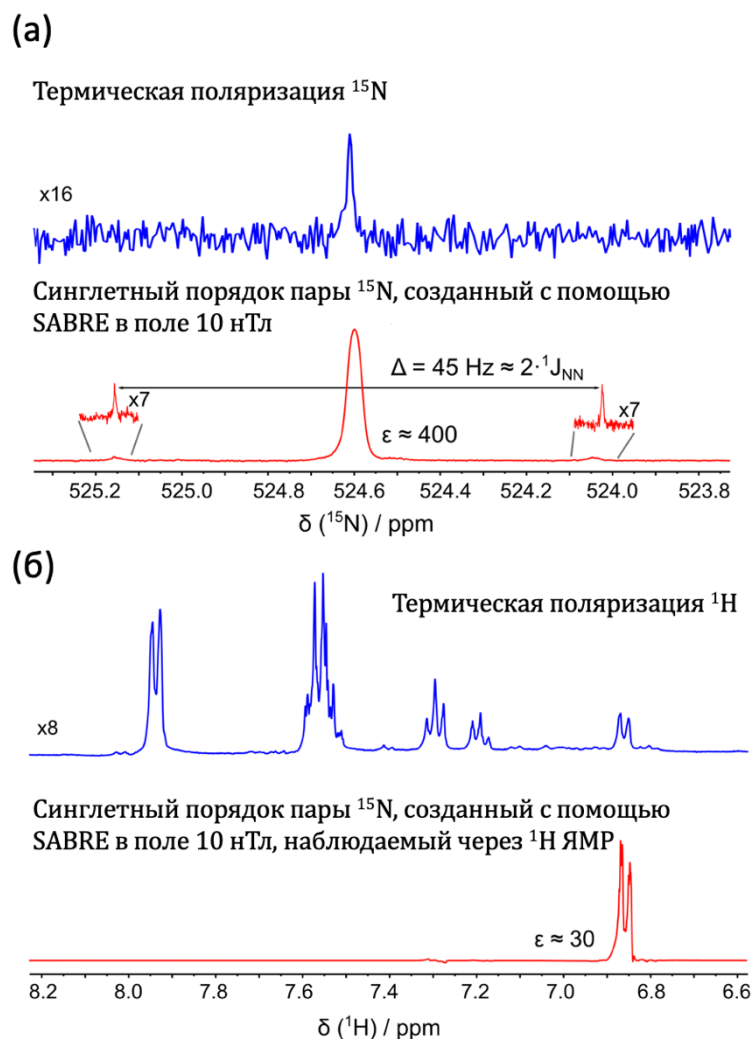
В описанных экспериментальных условиях протоны *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола также были гиперполяризованы (см. рис. 27.б). Коэффициенты усиления достигали значения  $\varepsilon \sim 10$  для каждой из протонных групп. Это примерно на два порядка меньше, чем коэффициенты усиления для сигналов ядер  $^{15}\text{N}$ . Разница может быть частично объяснена тем, что протоны имеют в  $\sim 10$  раз большее абсолютное значение гиромагнитного отношения, и поэтому в равновесном состоянии дают в  $\sim 10$  раз более сильные сигналы по сравнению с ядрами  $^{15}\text{N}$ . Еще один порядок величины может быть объяснен слабой спин-спиновой связью между ядрами  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$ , что делает перенос поляризации менее эффективным. Еще одно возможное объяснение заключается в том, что времена релаксации спинов  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$  существенно отличаются в поле 500 нТл, но в данном случае они не измерялись.

С использованием экспериментальной схемы, показанной на рис. 26.б, были получены спектры ЯМР, отвечающие синглетному порядку спиновой пары ядер  $^{15}\text{N}$  свободного *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола. После создания поляризации внутри магнитного экрана и переноса образца в поле ЯМР спектрометра, прикладывался так называемый  $T_{00}$  фильтр, который уничтожал все спиновые порядки, кроме синглетного. Следующий за этим SLIC-импульс преобразовывал гиперполяризованный синглетный порядок спиновой пары  $^{15}\text{N}$  либо в когерентность ядер  $^{15}\text{N}$  (рис. 28.а), либо в когерентность орто-протонов *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола (рис. 28.б). Благодаря  $T_{00}$  фильтру и селективному возбуждению данные спектры ЯМР содержат вклад только от гиперполяризованного сигнала. В спектре  $^{15}\text{N}$  ЯМР синглетного порядка наблюдалась специфическая спектральная особенность: основная линия была окружена слабыми сателлитами, величина расщепления между которыми равнялась примерно двум константам спин-спиновой связи внутри пары ядер  $^{15}\text{N}$ . Эти сателлиты соответствуют усиленным внешним синглет-триплетным когерентностям, которые иногда можно наблюдать в экспериментах ЯМР с синглетными парами почти эквивалентных спинов [96]. В отличие от намагниченности, синглетный порядок наиболее эффективно формируется при создании поляризации в нулевом магнитном поле; с увеличением поля уровень поляризации постепенно падает до нуля. В широком диапазоне

магнитных полей (от  $10^{-5}$  до  $10^{-2}$  Т) уровень гиперполяризации синглетного порядка практически не изменяется. Эта зависимость несколько напоминает результаты экспериментов SABRE по изучению синглетного порядка спиновой пары  $^{15}\text{N}$  в диазиринах [94].



**Рисунок 27.** Спектры  $^{15}\text{N}$  (а) и  $^1\text{H}$  (б) ЯМР, демонстрирующие сигналы  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в термическом равновесии (синие сигналы) и после гиперполяризации SABRE в поле 500 нТл (красные сигналы). Фазы в спектрах SABRE были установлены относительно соответствующего термического спектра. Спектр  $^{15}\text{N}$  ЯМР термической поляризации, показанный в (а), был получен с 128 накоплениями сигнала.



**Рисунок 28.** Спектры  $^{15}\text{N}$  ЯМР (а) и  $^1\text{H}$  ЯМР (б), демонстрирующие сигналы  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в термическом равновесии (синий) и после гиперполяризации SABRE SHEATH в поле 10 нТл и детектирования синглетного порядка спиновой пары  $^{15}\text{N}$  (красный). Тепловой спектр в (а) был получен с четырьмя накоплениями сигналов с развязкой протонов. Это позволило сузить линию и увеличить отношение сигнал/шум. Гиперполяризованный спектр  $^{15}\text{N}$  содержит сателлиты, отвечающие внешним синглет-триплетным когерентностям.

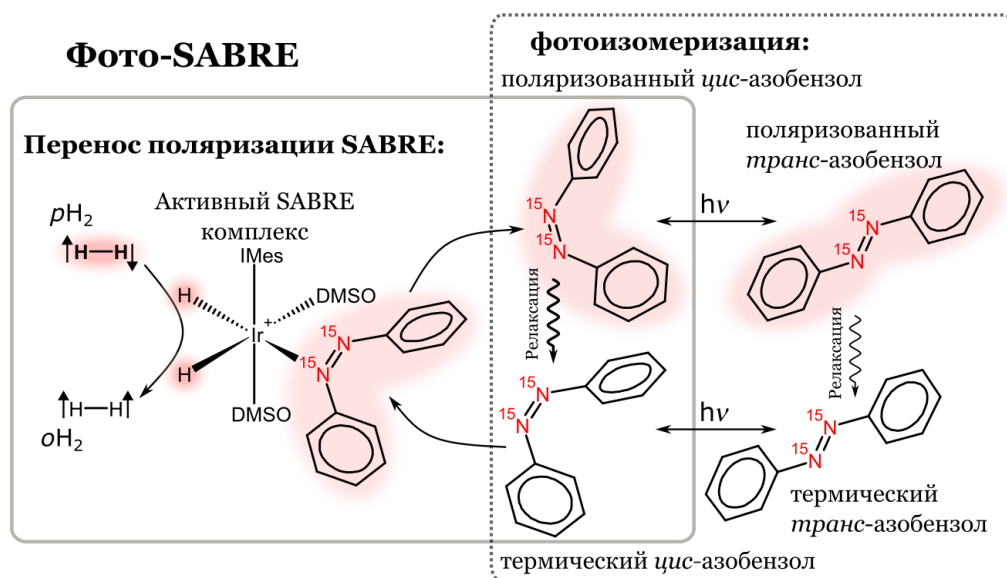
Время релаксации создаваемого синглетного порядка практически не зависело от магнитного поля и составляло примерно 10 с, что не превышает времени продольной релаксации ядер  $^{15}\text{N}$  в *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензоле. Подобное отсутствие долгоживущего характера, однако, ожидаемо для данной системы и согласуется с предыдущими наблюдениями. Одна из причин заключается в том, что *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензол в образце находится в химическом обмене между свободной и связанной с SABRE комплексом формами, причем последняя имеет в целом гораздо меньшее время релаксации и подвержена дополнительным воздействиям, способным вызвать релаксацию синглетного порядка спиновой пары  $^{15}\text{N}$ . Вторая причина заключается в том, что даже в свободной форме

молекулярная геометрия *цис*-азобензола не является симметричной, что позволяет дипольным взаимодействиям между протонами в фенильных кольцах и ядрами  $^{15}\text{N}$  приводить к релаксации синглетного порядка.

### 3.3.2 Намагниченность *цис*- и *транс*-азобензола в экспериментах SABRE с фотопереключением

Несмотря на то, что прямая поляризация ядер *транс*-азобензола методом SABRE невозможна в силу стерических ограничений, объединение в одном эксперименте SABRE поляризации *цис*-азобензола и *цис-транс*-фотоизомеризации позволяет успешно поляризовать *транс*-азобензол. Так, аналогично тому, как облучение ультрафиолетом приводит к конверсии *транс*-азобензола в *цис*-азобензол, облучение *цис*-азобензола светом видимого диапазона приводит к обратной конверсии [77]. В том случае, если облучение светом проводится одновременно с барботированием образца параводородом, SABRE поляризация, создаваемая на ядрах *цис*-азобензола, будет эффективно переноситься на ядра *транс*-азобензола. Данный процесс возможен, так как фотоизомеризация происходит гораздо быстрее характерных времен эволюции ядерных спинов и не влияет на созданную гиперполяризацию. Таким образом в данном эксперименте одновременно происходят два обратимых процесса: обмен параводорода и *цис*-азобензола с SABRE комплексом и фотоиндуцированные переходы между *транс*- и *цис*-конформациями (рис. 29). В результате неравновесный спиновый порядок параводорода сначала переносится в поляризацию ядер *цис*-азобензола, которая затем переходит в поляризацию ядер *транс*-азобензола. Крайне важно при этом, чтобы *транс*-азобензол также подвергается обратной фотоизомеризации, которая восстанавливает в растворе концентрацию *цис*-азобензола, готового к повторной поляризации на SABRE комплексе. Стационарное соотношение *цис*- и *транс*-изомеров азобензола можно контролировать с помощью выбора длины волны облучения. Оптимальное синхронное протекание этих процессов приводит к эффективному накоплению поляризации на обоих изомерах. Поскольку и азобензол, и иридиевый SABRE

комплекс фотостабилен, данная методика позволяет многократно повторять процесс создания гиперполяризации.



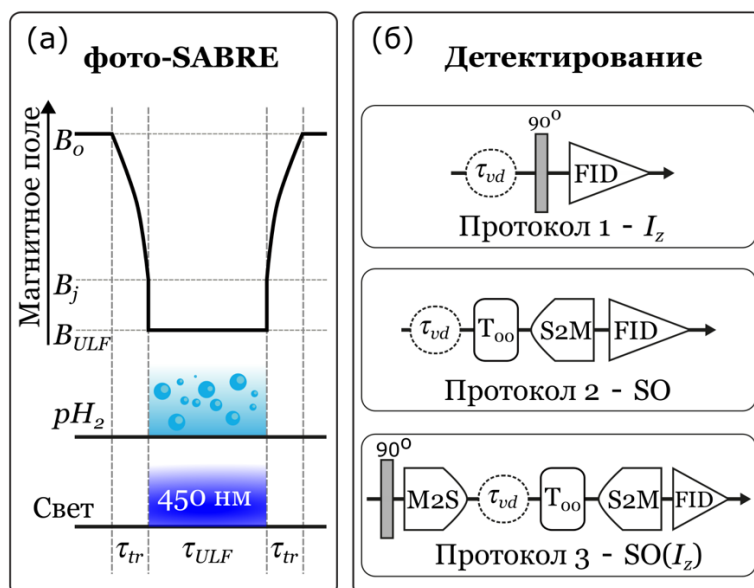
**Рисунок 29.** Создание поляризации в эксперименте фото-SABRE с  $^{15}N_2$ -азобензолом. Левая часть: перенос поляризации с молекулы параводорода на ядра *цис*-азобензола, обратимо связывающийся с SABRE комплексом. Правый часть: фотоиндуцированная изомеризация азобензола, сохраняющая гиперполяризацию ядер. Розовые облака символизируют ядерную гиперполяризацию. IMes означает 1,3-димезитилимидазол-2-илиден, DMSO - диметилсульфоксид лигандов в комплексе Ir-IMes,  $pH_2$  и  $oH_2$  - пара и ортоводород.

Экспериментальная схема метода SABRE с фотопереключением (или фото-SABRE) включающая этап конверсии спинового порядка параводорода в поляризацию ядер субстрата в нулевом или ультраслабом магнитном поле при облучении светом представлена на рис. 30.а. Эксперимент начинается в поле спектрометра  $B_0$ , после того, как все ядерные спины в образце достигают термического равновесия. Затем образец за время  $\tau_{tr} \sim 0.4$  механически переносится в область магнитного экрана с магнитным полем внутри  $B_j = 50$  мкТл. Затем магнитное поле менее чем за 0.2 мс снижается до величины  $B_{ULF}$ , которая контролируемо изменяется в диапазоне от 10 нТл до 20 мкТл. Перенос поляризации на ядра субстрата происходит при облучении светом с одновременным барботированием образца параводородом в течение времени  $\tau_{ULF}$  (порядка 200 с). Для наблюдения созданной поляризации магнитное поле увеличивается до  $B_j$  путем отключения компенсирующего тока в катушках, и образец возвращается в поле  $B_0$  для ЯМР-детектирования. Поле  $B_j$  выбиралось



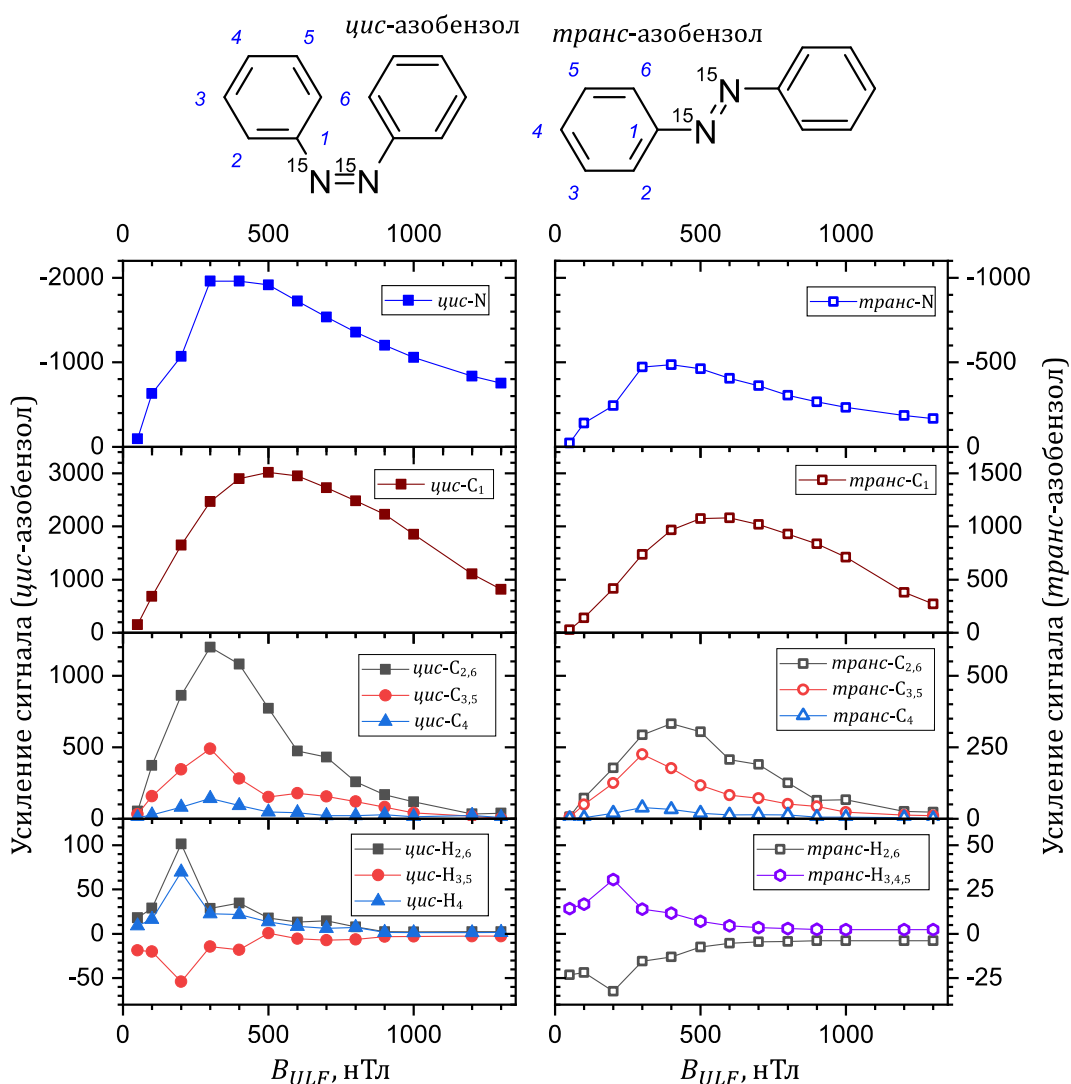
таким образом, чтобы  $B_j \gg B_{ULF}$ , чтобы ядерные спины в образце покидали поле  $B_{ULF}$  неадиабатическим образом (см. раздел 2.2).

Для детектирования гиперполяризации в методе фото-SABRE использовались три протокола, показанных на рис. 30.б. Протокол 1 представляет собой стандартное детектирование интегральной намагниченности с помощью неселективного 90 градусного РЧ импульса и последующую регистрацию сигнала спада свободной индукции (ССИ). Фурье-преобразование ССИ дает желаемый спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  или  $^{15}\text{N}$  в зависимости от канала спектрометра, используемого для регистрации сигнала. В протоколе 2 для наблюдения синглетного порядка сначала применяется градиентный  $T_{00}$  фильтр, пропускающий только синглетный порядок, а затем последовательность импульсов "синглет-намагниченность" (singlet to magnetization, S2M) преобразует его в наблюдаемую намагниченность. Также изучалась возможность получения синглетного порядка из интегральной намагниченности ядер, полученной с помощью SABRE (протокол 3). В этом случае последовательность импульсов аналогична протоколу 2, но с предварительным преобразованием намагниченности в синглетный порядок с помощью последовательности импульсов "намагниченность-синглет" (magnetization to singlet, M2S). Во всех протоколах детектирующая последовательность импульсов может быть применена с добавлением переменной задержки  $\tau_{vd}$ , необходимой для изучения релаксации создаваемого спинового порядка.



**Рисунок 30.** Схематическое изображение эксперимента фото SABRE с переключением магнитного поля и облучением светом в области ультраслабого поля (а). Различные протоколы ЯМР-детекции гиперполяризации в методе фото SABRE (б).  $T_{00}$  – градиентный фильтр, пропускающий только синглетный порядок [95]. M2S и S2M – импульсные последовательности, использующие последовательность спинового эха для преобразования намагниченности в синглетный порядок и синглетного порядка в намагниченность соответственно [97].  $\tau_{vd}$  – изменяемая задержка перед импульсной последовательностью детектирования.

Аналогично случаю ИППЯ с гидрированием, эффективность переноса поляризации в методе SABRE сильно зависит от величины внешнего магнитного поля. Поскольку когерентный перенос поляризации происходит только вблизи области АПУ, величина оптимального поля для переноса поляризации  $B_{ULF}$  определяется топологией спин-спиновых связей в активном SABRE комплексе. Экспериментальное определение данной полевой зависимости для  $^{15}N_2$ -азобензола проводилось с помощью протокола 1 (рис.30.б). Зависимости фото-SABRE индуцированной поляризации для ядер  $^1H$ ,  $^{13}C$  и  $^{15}N$  в *цис*- и *транс*- $^{15}N_2$ -азобензоле от  $B_{ULF}$  имеют максимум в 200 нТл для протонов и 400 нТл для  $^{13}C$  и  $^{15}N$  (рис. 31). Эти зависимости имеют одинаковую форму для обоих изомеров с меньшими амплитудами, наблюдаемыми для *транс*-азобензола, что свидетельствует о том, что поляризация *транс*-изомера образуется только в результате фотоизомеризации из поляризованного *цис*-изомера. Отметим, что оптимальные значения магнитного поля отличаются для разных магнитных изотопов, но близки для одинаковых изотопов в двух изомерах.



**Рисунок 31** Полевая зависимость фото-SABRE в области ультраслабых полей. Усиление сигнала для ядер  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  показано для *цис*-азобензола (слева) и *транс*-азобензола (справа). Образец облучался светом в течение всего времени барботирования в ультраслабом поле. Для детектирования использовался протокол 1.

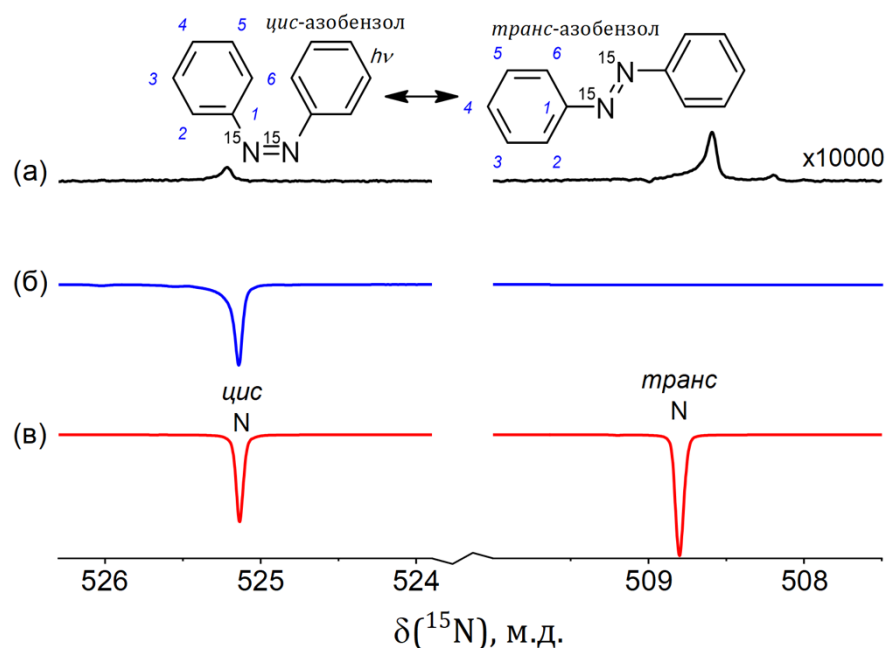
Далее приведены спектры и уровни усиления сигнала, полученные в экспериментах фото-SABRE при оптимальных значениях ультраслабого поля для соответствующих ядер. Без облучения светом во время барботирования параводородом поляризация ядер  $^{15}\text{N}$  наблюдалась только для *цис*-азобензола (рис. 32.б), как и в экспериментах, описанных в разделе 3.3.1. Облучение образца светом во время барботирования приводит к переносу поляризации на ядра *транс*-азобензола (рис. 32.в). Примечательно, что создание поляризации ядер *транс*-изомера практически не влияет на поляризацию ядер *цис*-изомера, что свидетельствует о сложном балансе обратимых реакций, составляющих процесс фото-SABRE.

Стоит отметить, что существенное усиление сигнала наблюдается не только для ядер  $^{15}\text{N}$ , но и для ядер  $^{13}\text{C}$  (при естественном содержании изотопа) и даже для ядер  $^1\text{H}$ . Как и в случае экспериментов SABRE только с поляризацией ядер только *цис*-азобензола, усиления сигналов ядер  $^1\text{H}$  в методе фото-SABRE также находятся на сравнительно низком уровне. При этом поляризация *орто*- и *пара*-протонов *цис*-азобензола положительна, а *мета*-протонов – отрицательна, в то время как в *транс*-азобензоле *орто*-протоны имеют отрицательную поляризацию, а *мета*- и *пара*-протоны – положительную (рис. 33). Для ядер  $^{13}\text{C}$  наибольшая поляризации наблюдается для четвертичных углеродов, имеющих значительные константы спин-спиновой связи с ядрами  $^{15}\text{N}$  и ненулевые константы связи с гидридными протонами (рис. 34). Ядра  $^{13}\text{C}$  в *орто*-положениях колец также получают часть поляризации параводорода, в то время как для более удаленных углеродов в *мета*- и *пара*-положениях усиления сигналов находятся уже на низком уровне.

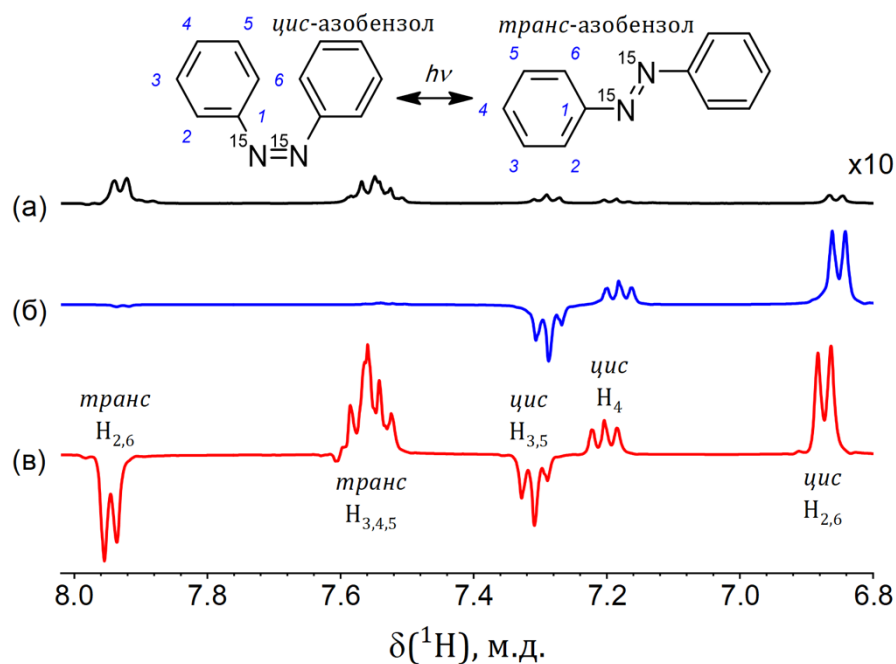
Для оценки усиления сигнала  $\epsilon$  для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$  рассчитывалось отношение сигнала, полученного с помощью SABRE, к соответствующему сигналу ядер в термическом равновесии в поле 9.4 Тл. Для ядер  $^{13}\text{C}$  в качестве эталона использовался чистый сигнал растворителя метанола- $\text{d}_4$  (24.7 М). Усиление сигнала  $\epsilon$  в поле 9.4 Тл и уровни поляризации,  $P$ , представлены в таблице 2. Уровни усиления сигналов, по-видимому, обратно коррелирует со значением ультраслабого поля  $B_{ULF}$ , при котором наблюдается максимум поляризации для данных ядер, и наиболее низки для ядер  $^1\text{H}$ , для которых максимум наблюдается ниже 300 нТл. Эта тенденция отражает величину константы спин-спиновой взаимодействия между гидридными протонами и ядрами азобензола в комплексе SABRE, которая является наибольшей для  $^{15}\text{N}$  и наименьшей для  $^1\text{H}$ .

**Таблица 2.** Усиление сигнала  $\epsilon$  в поле 9.4 Тл и поляризации  $P$  в экспериментах фото-SABRE с  $^{15}\text{N}_2$ -азобензолом. Перенос поляризации в SABRE для  $^1\text{H}$  происходил при в поле 200 нТл, а для  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  – 400 нТл.

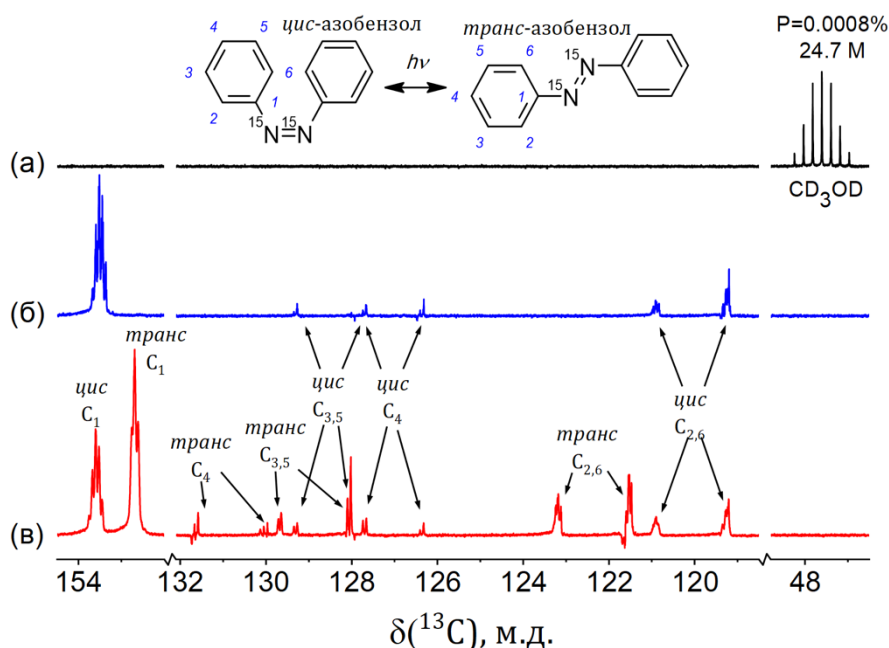
Ядро		H <sub>2,6</sub>	H <sub>3,5</sub>	H <sub>4</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2,6</sub>	C <sub>3,5</sub>	C <sub>4</sub>	N
транс-азобензол	$\epsilon$	34	32	32	3200	1000	-	-	-9200
	$P, \%$	0.1	0.1	0.1	2.62	0.8	-	-	-3.01
цис-азобензол	$\epsilon$	98	66	58	6200	1300	-	-	-23000
	$P, \%$	0.31	0.21	0.18	5.05	1.08	-	-	-7.51



**Рисунок 32.** Спектры  $^{15}\text{N}$  ЯМР образца, содержащего 56 мМ  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в метаноле- $d_4$  с добавлением 1 мМ катализатора IrMes и 200 мМ диметилсульфоксида- $d_6$  после облучения светом в течение 10 минут, измеренные с помощью термической поляризации в поле 9.4 Тл (а), спектры после проведения SABRE без света при барботировании параводородом (б), и спектры после проведения фото-SABRE при облучении светом (в). Перенос поляризации SABRE осуществлялся в поле 400 нТл.



**Рисунок 33.** Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР образца, содержащего 56 мМ  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в метаноле- $d_4$  с добавлением 1 мМ катализатора IrMes и 200 мМ диметилсульфоксида- $d_6$  после облучения светом в течение 10 минут, измеренные с помощью термической поляризации в поле 9.4 Тл (а), спектры после проведения SABRE без света при барботировании параводородом (б), и спектры после проведения фото-SABRE при облучении светом (в). Перенос поляризации SABRE осуществлялся в поле 200 нТл.

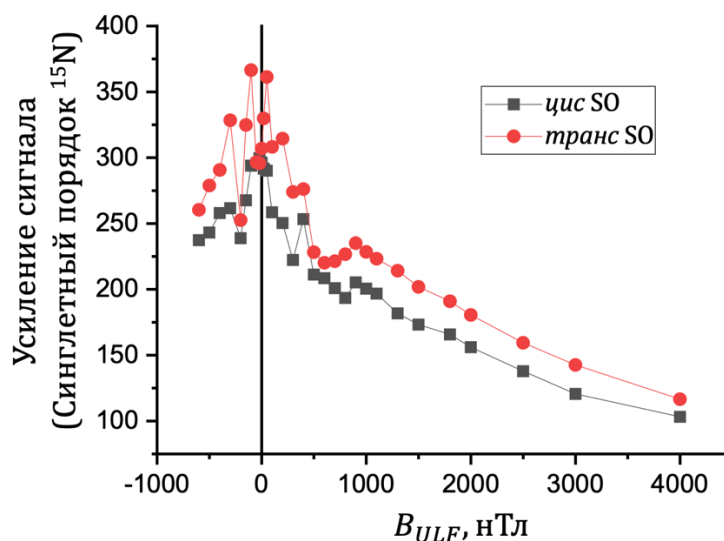


**Рисунок 34.** Спектры  $^{13}\text{C}$  ЯМР образца, содержащего 56 мМ  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в метаноле- $d_4$  с добавлением 1 мМ катализатора IrMes и 200 мМ диметилсульфоксида- $d_6$  после облучения светом в течение 10 минут, измеренные с помощью термической поляризации в поле 9.4 Тл (а), спектры после проведения SABRE без света при барботировании параводородом (б), и спектры после проведения фото-SABRE при облучении светом (в). Перенос поляризации SABRE осуществлялся в поле 400 нТл.

### 3.3.3 Синглетный спиновый порядок *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в экспериментах SABRE с фотопереключением

Проведены эксперименты, демонстрирующие уникальную способность *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола сохранять спиновую гиперполяризацию в виде долгоживущего синглетного спинового порядка пары ядер  $^{15}\text{N}$  в течение десятков минут. Существует два способа исследования долгой жизни синглетного порядка в  $^{15}\text{N}_2$ -азобензоле в методе фото-SABRE: (1) непосредственная гиперполяризация синглетного порядка в оптимальном ультраслабом поле (протокол 2, см. рис. 30.б) и (2) гиперполяризация интегральной намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$  азобензола в ультраслабом поле и последующее ее преобразование в синглетный порядок в поле ЯМР спектрометра с помощью специальной импульсной последовательности (M2S) (протокол 3, см. рис. 30.б). Гиперполяризация синглетного порядка также возможна для *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, однако в этом случае синглетный порядок не имеет признаков долгой жизни.

Зависимость эффективности прямой гиперполяризации синглетного порядка от магнитного поля была измерена экспериментально (рис. 35). В отличие от интегральной намагниченности, оптимальное магнитное поле для гиперполяризации синглетного порядка близко к нулю. Точка зависимости ровно в 0 нТл на рис. 35 выбивается из тренда из-за экспериментального ограничения. После настройки однородности нулевого поля в магнитном экране сохраняются остаточные поперечные поля и линейные градиенты поля, что не позволяет контролируемо создавать магнитные поля величиной менее 5–10 нТл.



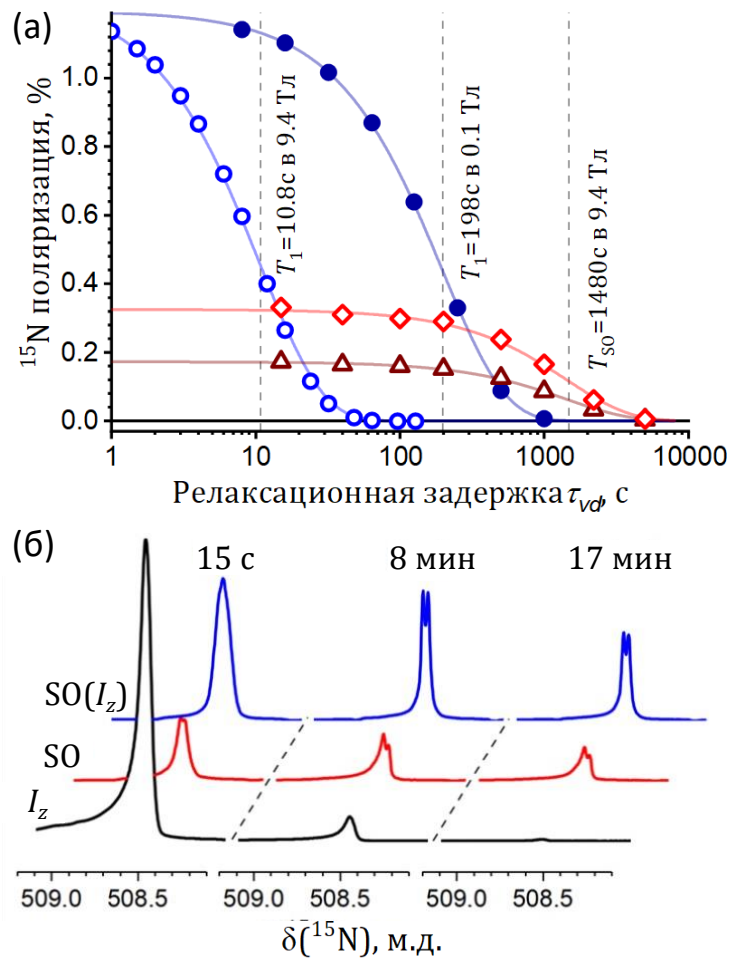
**Рисунок 35.** Синглетный порядок *цис*- и *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, создаваемый в фото-SABRE в зависимости от магнитного поля. Эксперимент проводился над образцом, содержащим 2 мМ IrImes, 40 мМ  $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в метаноле- $d_4$ . Для детектирования сигнала использовался протокол 2.

В связи с описанным выше ограничением, эксперименты с прямым детектированием синглетного порядка (протокол 2) проводились с величиной ультраслабого поля, равной 10 нТл. После создания поляризации, образец переносился в поле ЯМР-спектрометра, где к нему прикладывалось непрерывное РЧ облучение одновременно по каналам ядер  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$ . Предыдущие эксперименты по созданию синглетного порядка из термической поляризации ядер *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола показали, что непрерывное воздействие РЧ поля на ядра  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$  обеспечивает наибольшее время жизни синглетного порядка. С помощью фото-SABRE было измерено время релаксации синглетного порядка, оказавшееся равным  $1480 \pm 80$  с (рис. 35.а), что превосходит ранее опубликованные результаты, полученные с использованием термической поляризации (около 1000 с). Кроме того, измеренное время релаксации синглетного порядка примерно в 150 раз превышает время  $T_1$  релаксации ядер  $^{15}\text{N}$  в поле 9.4 Тл ( $10.8 \pm 0.2$  с) и в семь раз превышает самое длинное время  $T_1$  ядер  $^{15}\text{N}$ , измеренное в поле 0.1 Тл, ( $198 \pm 2$  с). Столь длительное время жизни спинового порядка в SABRE-эксперименте удивительно, поскольку в обычных SABRE экспериментах молекулы субстрата непрерывно обмениваются с активным комплексом, что ускоряет релаксацию гиперполяризованного спинового порядка. Однако в методе фото-SABRE *транс*-изомер азобензола в отсутствие света не



обменивается с комплексом, что позволяет сохранять гиперполяризацию в виде синглетного порядка в течение почти получаса.

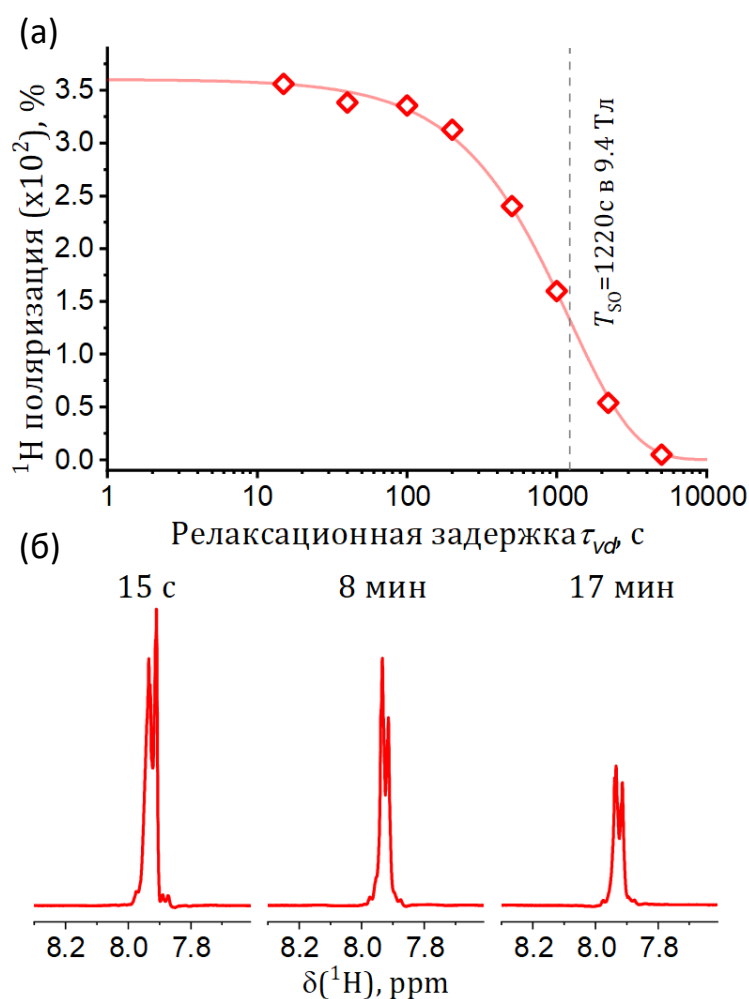
Основным недостатком описанного подхода является низкий уровень усиления сигнала, при прямой поляризации синглетного порядка в близком к нулю поле (протокол 2, см рис. 30.б). В связи с этим были проведены эксперименты, включающие гиперполяризацию интегральной намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$  в поле 400 нТл с последующим преобразованием ее в синглетный порядок в поле ЯМР спектрометра с помощью последовательности импульсов M2S (протокол 3, см рис. 30.б). Время жизни синглетного порядка, измеренное в данном эксперименте совпадает со временем жизни, измеренным при прямой поляризации синглетного порядка, однако уровень усиления сигнала оказывается выше. Такой экспериментальный подход позволил наблюдать 0.33 % поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  при нулевой релаксационной задержке в сильном поле, в отличие от 0.17 %, наблюдаемых при прямой поляризации синглетного порядка. Эти значения в четыре раза меньше поляризации, получаемой из интегральной намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$  (1.2 %), однако через 50 с в поле 9.4 Тл сигналы интегральной намагниченности снижаются почти до нуля, в то время как сигнал, полученный с помощью SO синглетного порядка практически, не теряет в интенсивности. В поле 0.1 Тл сигналы намагниченности наблюдаются дольше, но сигналы синглетного порядка начинают превышать их по интенсивности через 8 минут и отчетливо наблюдаются даже через 17 минут (рис. 36.б).



**Рисунок 36.** (а) Кинетика релаксации интегральной намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$  *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в поле 9.4 Тл (синие открытые кружки) и в поле 0.1 Тл (темно-синие заполненные кружки), а также кинетика релаксации синглетного порядка в поле 9.4 Тл при непрерывном РЧ облучении ядер  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$ . Релаксация синглетного порядка была измерена методом прямой поляризации синглетного порядка (протокол 2) (коричневые открытые треугольники) и методом создания синглетного порядка из поляризованной интегральной намагниченности ( $SO(I_z)$ ) (протокол 3) (красные открытые ромбы). (б) Спектры ЯМР  $^{15}\text{N}$  *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, полученные с помощью интегральной намагниченности (черный низ,  $I_z$ ), синглетного порядка (красный средний,  $SO$ ) и синглетного порядка, созданного из чистой намагниченности (синий верх,  $SO(I_z)$ ) после различных релаксационных задержек в поле 9.4 Тл. Магнитное поле для переноса поляризации фото-SABRE было равно 400 нТл в экспериментах с интегральной намагниченностью ( $I_z$ ) и синглетным порядком, созданным из интегральной намагниченности ( $SO(I_z)$ ), и 10 нТл – в экспериментах с прямой поляризацией синглетного порядка.

Примечательно также, что долгоживущий синглетный порядок *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола фактически является общим спиновым порядком двух ядер  $^{15}\text{N}$  и четырех *орто*-протонов азобензола, что позволяет детектировать не только посредством ЯМР ядер  $^{15}\text{N}$ , но также и ядер  $^1\text{H}$ . Для демонстрации данной возможности проводились эксперименты по прямой поляризации синглетного порядка в околонулевом поле (протокол 2, см рис. 30.б) с последующим

применением последовательности импульсов S2M через протонный канал. Однако применение импульсной последовательности S2M к протонам оказалось неэффективным, вероятно, потому что она воздействует на все протоны азобензола, снижая эффективность желаемой конверсии спинового порядка. Вместо этого был использован мягкий SLIC-импульс (Spin-Lock Induced Crossing), находящийся в резонансе с *орто*-протонами азобензола. Наблюдение синглетного порядка через протонный канал после изменяемой задержки под двумя РЧ полями позволило измерить время релаксации синглетного порядка, равное  $1220 \pm 40$  с (рис. 37). Уменьшение времени жизни синглетного порядка, относительно измеренного посредством ядер  $^{15}\text{N}$ , можно объяснить несовершенством детектирования методом SLIC и взаимодействием *орто*-протонов с протонами в *мета*- и *пара*-положениях. Доступ к долгоживущему спиновому порядку через протоны представляет большой интерес для области МРТ, поскольку такие эксперименты не требуют оборудования для детектирования магнитных гетероядер, не распространенного в типичных МРТ томографах.



**Рисунок 37.** (а) Кинетика релаксации синглетного порядка *trans*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола в поле 9.4 Тл при непрерывном РЧ облучении ядер  $^1\text{H}$  и  $^{15}\text{N}$ , измеренная посредством орто-протонов. (б) Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР орто-протонов *trans*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, полученные с помощью синглетного порядка после различных задержек в поле 9.4 Тл. Перенос поляризации фото-SABRE происходил в поле 10 нТл.

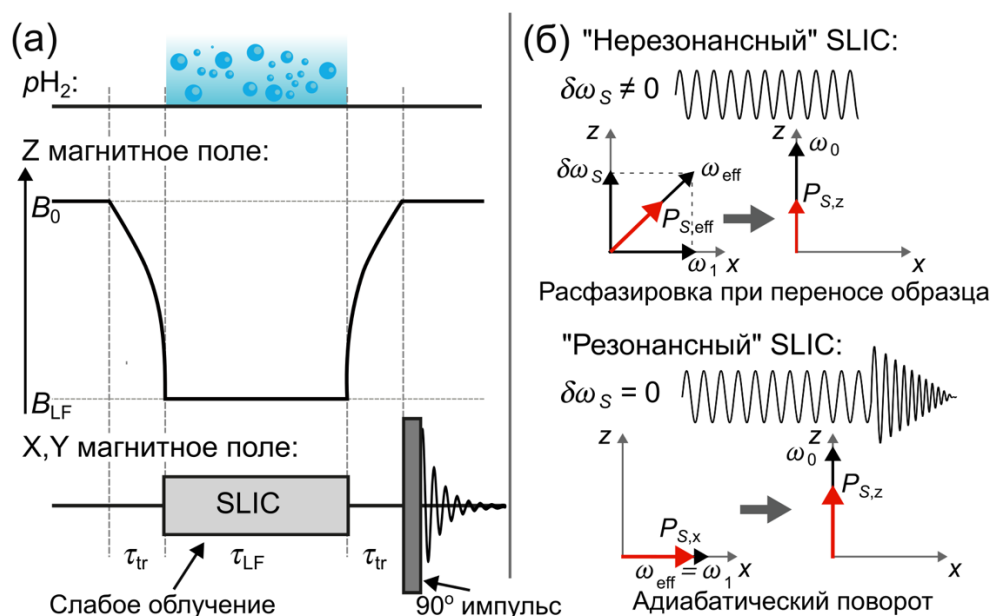
### 3.4 СОЗДАНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР $^{15}\text{N}$ В МЕТОДЕ SABRE С ПОМОЩЬЮ ОСЦИЛЛИРУЮЩИХ ПОПЕРЕЧНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Представленные выше эксперименты по гиперполяризации ядерных спинов азобензола проводились в подходе SHEATH-SABRE, когда смешивание спиновых состояний, необходимое для переноса поляризации, происходит в магнитном поле порядка одной микротеслы. Как было показано в разделах 1.2.1 и 1.3, переносить спиновый порядок параводорода на гетероядра можно и в сильном поле ЯМР спектрометра, например, при облучении гетероядра РЧ полем в методе SLIC. При этом спиновая динамика подобного переноса поляризации не зависит от величины внешнего поля и может проводится и в

слабых полях. Подобный подход уже был успешно применен для поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  в молекуле пирувата [35; 98], однако его эффективность для других гетероядер ранее не была показана. Кроме того, в данных работах перенос поляризации проводился внутри магнитного экрана, хотя величина используемого статического поля составляла порядка 50–100 мкТл, что превышает магнитное поле Земли (25–50 мкТл). Далее демонстрируется реализация метода SLIC-SABRE в слабом поле позволяющая достичь высоких уровней поляризации, не используя при этом магнитный экран.

Схема эксперимента SLIC-SABRE в слабом магнитном поле представлена на рис. 38.а и включает в себя: (1) релаксацию спинов образца к термическому равновесию в сильном поле ЯМР спектрометра, (2) перенос образца в слабое магнитное поле, (3) барботирование параводорода через образец, одновременное с облучением образца поперечным полем, (4) перенос образца в область детектирования спектрометра и регистрацию ЯМР спектра неселективным девяностоградусным РЧ импульсом. Как было описано в разделе 1.3, использовать SLIC импульс в экспериментах SABRE можно двумя способами (рис.38.б). В первом подходе, называемом в дальнейшем “нерезонансным”, импульс прикладывается с небольшой отстройкой от резонанса гетероядра, что приводит к созданию поляризации вдоль эффективного поля, имеющего ненулевые компоненты как вдоль статического поля, так и перпендикулярно ему. В отличие от экспериментов в сильном поле, в случае слабого поля ларморовские частоты гетероядра в связанной и свободной форме субстрата совпадают, что позволяет накапливать поляризацию вдоль эффективного поля в свободной форме. Однако при переносе в сильное поле спектрометра образец проходит через области значительно неоднородного поля, в результате чего компоненты поляризации, перпендикулярные статическому полю, окажутся подавлены в результате расфазировки. Во втором подходе, называемом “резонансным”, SLIC импульс прикладывается на резонансе гетероядра и создание поляризации происходит вдоль оси, перпендикулярной статическому полю. Изменяя затем амплитуду и частоту возбуждения (чтобы обеспечить выход из резонанса), данную поляризацию можно адиабатически повернуть соосно со статическим полем.

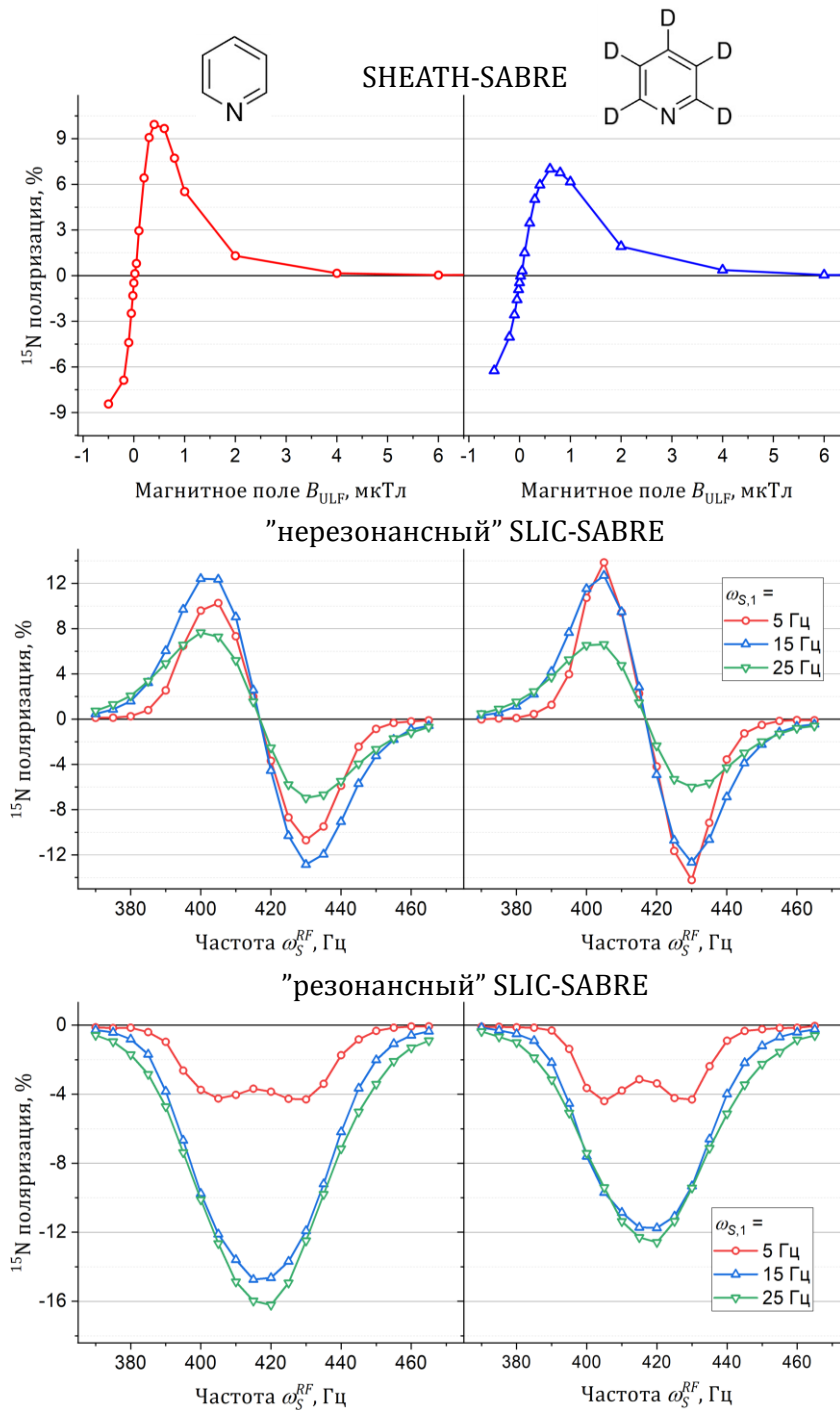
Таким образом, вся созданная поляризация будет сохранена при переносе образца в сильное поле, что делает “резонансный” подход более эффективным, чем “нерезонансный”.



**Рисунок 38.** Экспериментальная схема SLIC-SABRE в слабом магнитном поле (а). Два варианта реализации метода SLIC со схематическим изображением формы SLIC импульса и динамики создания поляризации гетероядра (б).

Первые эксперименты по оценке эффективности SLIC-SABRE в слабом поле были проведены на образце, содержащем в равных количествах смесь пиридина и полностью дейтерированного пиридина. В качестве основы для сравнения была измерена полевая зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  свободного пиридина в полях порядка микротесла внутри магнитного экрана (эксперимент SABRE-SHEATH) (рис. 39). По сравнению с протонированным пиридином уровни поляризации для дейтерированного пиридина оказались ниже, а максимум его полевой зависимости приходится на более высокие поля. Данный результат согласуется с известными данными [65]. В экспериментах SLIC-SABRE были получены зависимости поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  от частоты SLIC импульса при фиксированном значении статического поля, равном 100 мкТл. Частота варьировалась в диапазоне около 420 Гц, что соответствует ларморовской частоте ядер  $^{15}\text{N}$  в данном поле. В “нерезонансной” версии SLIC-SABRE наблюдалась ожидаемая картина – отсутствие поляризации на резонансе и два максимума разного знака при определенных значениях резонансной отстройки (см. рис. 39). Наличие двух максимумов объясняется

выполнением условий двух разных АПУ в уравнении (14) при положительной и отрицательной отстройках от резонанса. Наибольшая поляризация при этом наблюдалась для нутационной частоты SLIC импульса, равной 15 Гц. Для дейтерированного пиридина в экспериментах такого типа наблюдалась более высокая поляризация ядер  $^{15}\text{N}$  по сравнению с протонированным соединением, а также иная зависимость от нутационной частоты SLIC импульса. Данный эффект можно объяснить различным влиянием протонов и дейтронов в кольце пиридина на спиновую динамику под действием SLIC импульса, однако установление его истинной природы требует дальнейшего анализа. В «резонансной» версии SLIC-SABRE после непрерывного импульса поперечного поля его амплитуда линейно уменьшалась от 50 Гц до нуля одновременно с увеличением частоты на 50 Гц. Это обеспечивало адиабатический выход из условия резонанса и поворот созданной поляризации соосно с направлением статического поля. Данный вариант эксперимента позволил достичь наибольшей поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  для протонированного пиридина, почти двукратно превышающей поляризацию, наблюдаемую в методе SABRE-SHEATH. При этом для дейтерированного пиридина эффективность «резонансной» версии не превышает эффективности «нерезонансной».

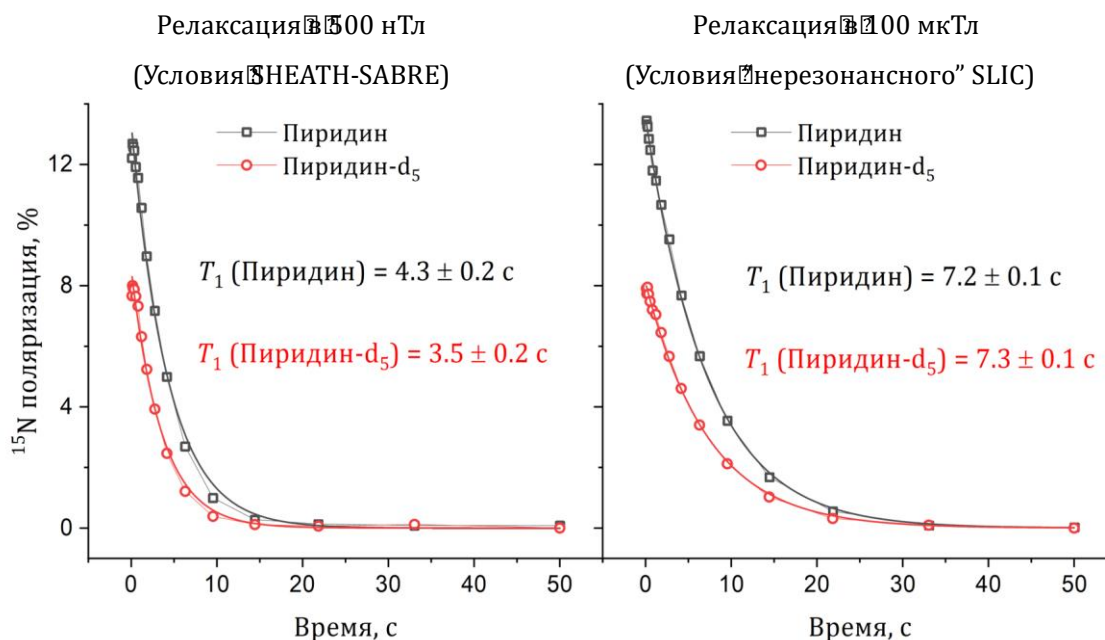


**Рисунок 39.** Полевая зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  в эксперименте SHEATH-SABRE (вверху) для пиридина (слева) и пиридина-d<sub>5</sub> (справа). Зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  от частоты SLIC импульса в эксперименте SLIC-SABRE в поле 100 мкТл для пиридина (слева) и пиридина-d<sub>5</sub> (справа) для "нерезонансного" (в середине) и "резонансного" (внизу) варианта. Образец состоял из 20 мМ пиридина, 20 мМ пиридина-d<sub>5</sub> и 2 мМ катализатора SABRE в 500 мкл метанола-d<sub>4</sub>.

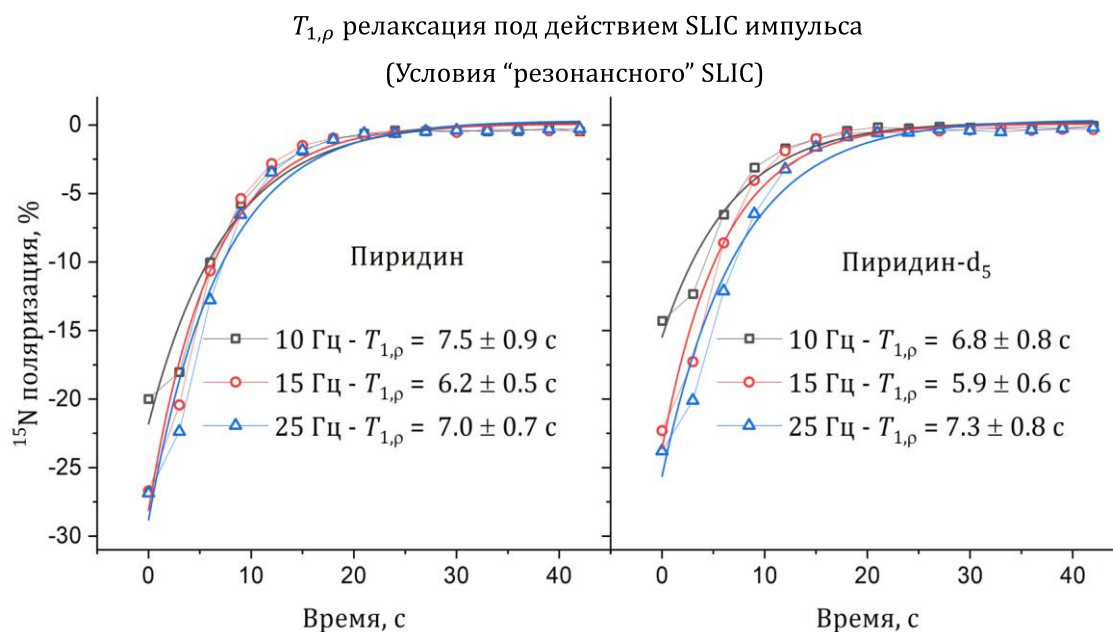
Для объяснения различий в эффективности методов SHEATH и SLIC были измерены времена продольной  $T_1$  релаксации ядра  $^{15}\text{N}$  пиридина в поле 500 нТл и в поле 100 мкТл. В поле 500 нТл, отвечающем условиям SHEATH-SABRE, времена  $^{15}\text{N}$   $T_1$  релаксации равны 4.3 с для протонированного пиридина



и 3.6 с для дейтерированного, что отчасти может определять более высокую поляризацию первого (рис. 40). В то же время в поле 100 мкТл, где проводится эксперимент SLIC-SABRE, времена  $^{15}\text{N}$   $T_1$  релаксации протонированного и дейтерированного пиридина практически совпадают и равны примерно 7.3 с (см. рис. 40). Это может служить причиной более высокой поляризации обоих соединений в методе “нерезонансного” SLIC, где в процессе SABRE накапливается именно продольная поляризация, релаксирующая со временем  $T_1$ . Для метода “резонансного” SLIC определяющим является время  $T_{1,\rho}$ , описывающее релаксацию намагниченности, удерживаемой вдоль направления поперечного осциллирующего поля, в данном случае SLIC импульса. Измеренные времена  $T_{1,\rho}$  оказались порядка 7 с для протонированного и дейтерированного пиридина, без выраженной зависимости от амплитуды SLIC импульса (рис. 41). Таким образом, объяснить большую эффективность “резонансного” SLIC для протонированного пиридина по сравнению с дейтерированным на основании только релаксационных эффектов не удастся.



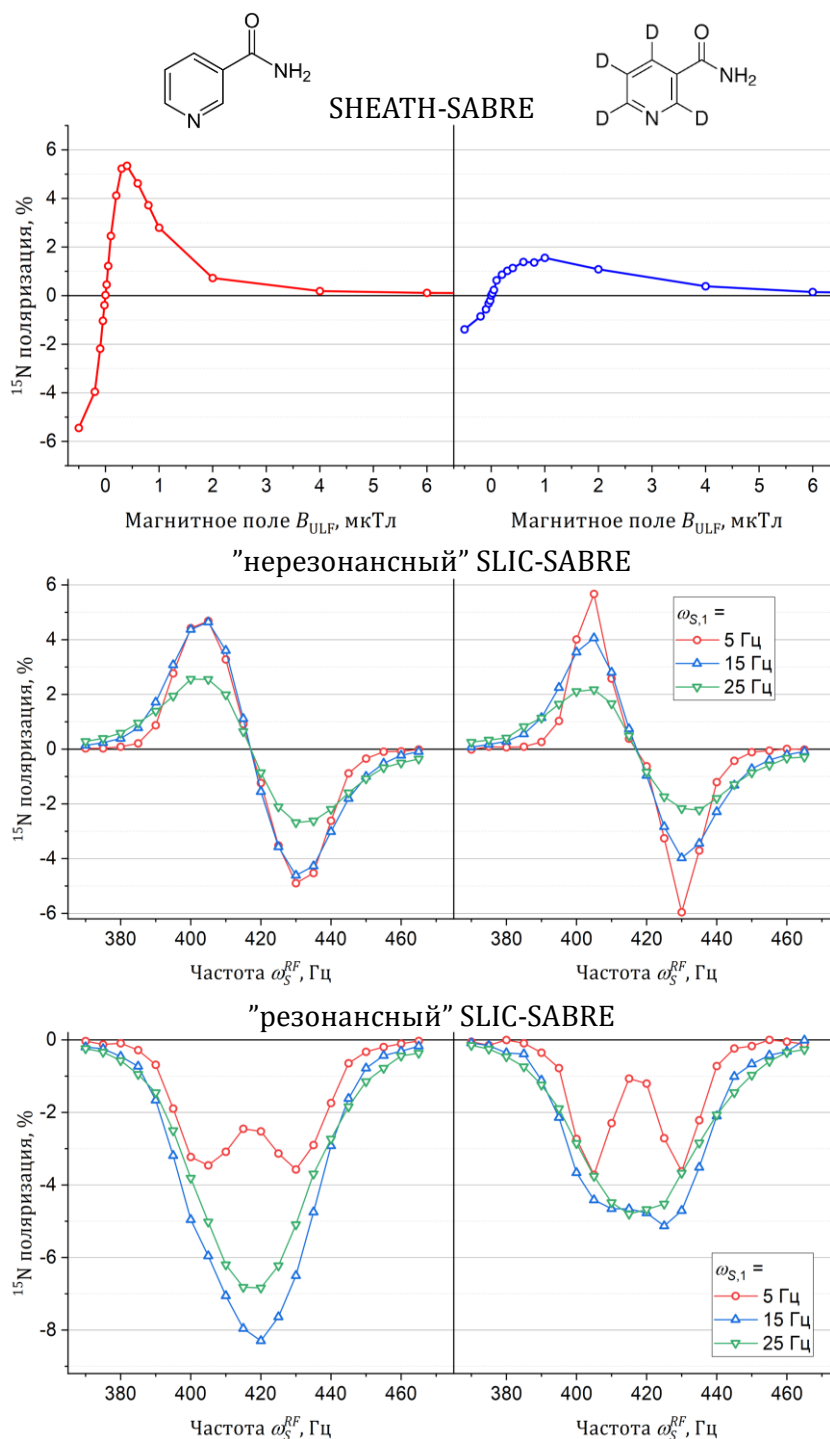
**Рисунок 40.**  $^{15}\text{N}$   $T_1$ -релаксация пиридина и пиридина- $\text{d}_5$  в поле 0.5 мкТл (слева) и 100 мкТл (справа), измеренная с помощью метода SABRE-SHEATH.



**Рисунок 41.**  $^{15}\text{N}$   $T_{1,\rho}$ -релаксация пиридина (слева) и пиридина-d<sub>5</sub> (справа) в поле 100 мкТл под действием SLIC импульсов различной амплитуды.

Аналогичное сравнение эффективности методов SHEATH-SABRE и двух вариантов SLIC-SABRE было выполнено для протонированного и дейтерированного никотинамида, важной биомолекулы, известной, также как витамин-В<sub>3</sub>. В данном случае SHEATH-SABRE создает значительно более высокую поляризацию для протонированного никотинамида по сравнению с дейтерированным (рис. 42). То же самое происходит и с "резонансным" вариантом SLIC, в то время как в случае "нерезонансного" SLIC эксперимента с дейтерированным соединением снова наблюдается более высокая поляризация (см. рис. 42). В целом, как и в случае пиридина, "резонансный" SLIC для протонированного никотинамида дает самую высокую поляризацию ядер  $^{15}\text{N}$ , однако в данном случае она уже не настолько превышает результат, достигаемый в методе SHEATH. Снижение уровней поляризации относительно случая пиридина можно объяснить отличием в скорости обмена молекул субстрата с активным комплексом. Значительное влияние эффектов обмена на уровни поляризации в SABRE подтверждается как экспериментальными данными, так и аналитическими и численными расчетами [29; 70; 99]. Стоит отметить, что форма полученных зависимостей от частоты SLIC импульса практически совпадает для случаев пиридина и никотинамида, а также для их дейтерированных версий. Это говорит о том, что, как и SHEATH-SABRE, метод

SLIC-SABRE практически не требует дополнительной оптимизации в зависимости от выбранного субстрата, т.е. является универсальным подходом для SABRE экспериментов.

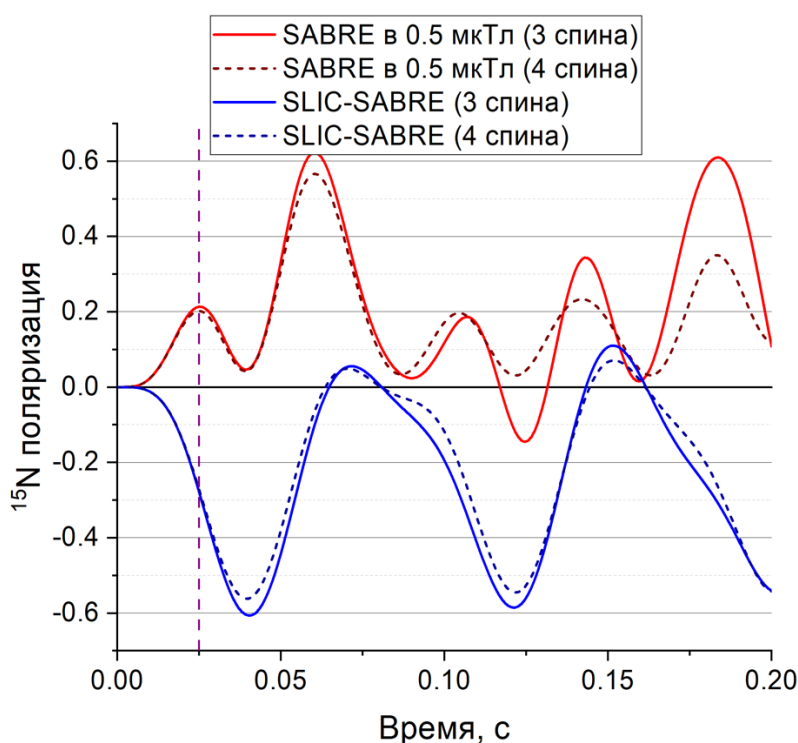


**Рисунок 42.** Полевая зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  в эксперименте SHEATH-SABRE (вверху) для никотинамида (слева) и никотинамида- $\text{d}_4$  (справа). Зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  от частоты SLIC импульса в эксперименте SLIC-SABRE в поле 100 мкТл для пиридина (слева) и пиридина- $\text{d}_5$  (справа) для "нерезонансного" (в середине) и "резонансного" (внизу) варианта. Образец состоял из 20 мМ никотинамида, 20 мМ никотинамида- $\text{d}_4$ , 100 мМ ДМСО- $\text{d}_6$  и 2 мМ катализатора SABRE в 500 мкл метанола- $\text{d}_4$ .

В работе А. Б. Шмидта с соавт. [35] большая эффективность SLIC-SABRE по сравнению с SHEATH-SABRE применительно к поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  пирувата объясняется более медленной релаксацией ядер  $^{13}\text{C}$  в условиях SLIC-SABRE. Кроме того, использование дейтерированного пирувата в данном случае позволяет дополнительно уменьшить скорость релаксации для метода SLIC-SABRE и таким образом повысить достигаемый уровень поляризации. Тем не менее данные соображения оказываются лишь ограниченно применимы для случая ядер  $^{15}\text{N}$ , как было показано выше на примере пиридина.

Для более подробного сравнения эффективности SHEATH-SABRE и SLIC-SABRE было проведено численное моделирование динамики формирования поляризации ядра  $^{15}\text{N}$  в активном SABRE комплексе в данных методах. Расчет производился для трех- и четырехспиновой систем (рис. 43). В случае системы трех спинов учитывались только спины протонов параводорода и ядра  $^{15}\text{N}$ , в то время как для четырех-спиновой системы также учитывался дополнительный протон субстрата, связанный спин-спиновым взаимодействием только с ядром  $^{15}\text{N}$ . В результате для системы трех спинов оба метода демонстрируют схожие максимальные уровни достижимой поляризации, однако метод SLIC-SABRE обеспечивает более простую спиновую динамику. При учете дополнительного магнитного ядра в субстрате динамика формирования поляризации в методе SHEATH-SABRE усложняется, поскольку в условиях ультраслабого поля, все магнитные ядра системы участвуют в переносе поляризации. В то же время, для метода SLIC-SABRE учет еще одного спина практически не влияет на эволюцию системы, поскольку слабый SLIC импульс селективно воздействует только на ядро  $^{15}\text{N}$ , связанное с протонами параводорода. Стоит также учесть, что в данном моделировании учитывалась только когерентная спиновая динамика в статичном комплексе, без учета химического обмена. В реальных экспериментальных условиях активный SABRE комплекс находится в состоянии постоянного обмена как со свободным водородом, так и со свободным субстратом, в результате чего, наибольшее значение играет поляризация, создаваемая в первые десятки миллисекунд когерентной эволюции. С данной точки зрения SLIC-SABRE также оказывается

предпочтителен, поскольку обеспечивает более быстрый рост поляризации на коротких временах, как видно из расчета.



**Рисунок 42.** Численный расчет динамики формирования поляризации в методах SHEATH-SABRE и SLIC-SABRE для случая статического активного комплекса.

Для моделирования спиновой динамики переноса поляризации в методе SABRE с учетом химического обмена можно воспользоваться уравнениями теории встреч на матрицу плотности

$$\begin{cases} \frac{d\hat{\rho}_S}{dt} = \hat{L}_S \hat{\rho}_S - W_a \hat{\rho}_S + k_d \text{Tr}_{H_2} \{ \hat{\rho}_C \} \\ \frac{d\hat{\rho}_C}{dt} = \hat{L}_C \hat{\rho}_C - k_d \hat{\rho}_C + W_a (\hat{\rho}_S \otimes \hat{\rho}_{H_2}^f) \end{cases}, \quad (28)$$

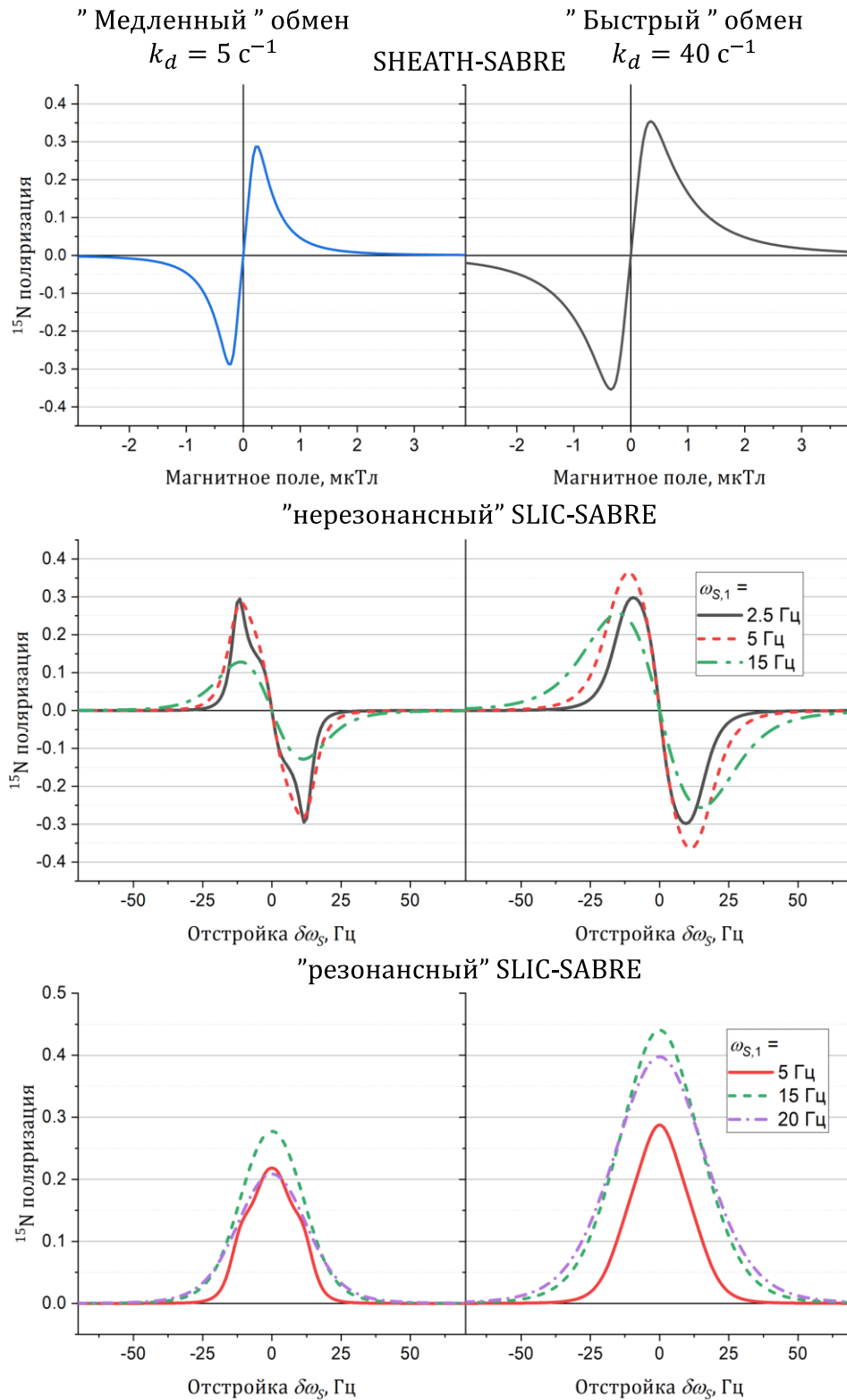
в которых индекс  $S$  относится к свободному субстрату, а индекс  $C$  — к SABRE комплексу;  $\hat{\rho}_{H_2}^f$  представляет собой матрицу плотности свободного молекулярного водорода. Операторы Лиувилля  $\hat{L}_{S,C}$  включают в себя как когерентную, так и некогерентную спиновую динамику (спиновую релаксацию). Остальные члены в уравнении (28) описывают обратимый химический обмен, в том числе диссоциацию с константой  $k_d$  и ассоциацию со скоростью  $W_a = k_a \frac{[C]}{[S]}$ , где  $[C]$  и  $[S]$  — концентрации катализатора и свободного субстрата, соответственно. Данные уравнения описывают наиболее простую модель химического обмена, когда учитывается только диссоциация и

ассоциация субстрата и активного комплекса. Обменом параводорода с комплексом при этом пренебрегается, а его спиновый порядок предполагается неизменным. Для экспериментов в слабых и ультраслабых магнитных полях, спиновый порядок параводорода можно считать равным синглетному, в отличие от случая сильного поля, когда требуется учитывать синглет-триплетную конверсию [61]. Несмотря на все упрощения, данный подход к моделированию позволяет качественно воспроизводить наблюдаемые экспериментальные данные [33; 100].

Моделирование полевой зависимости в эксперименте SHEATH-SABRE было выполнено с использованием уравнений (28) и гамильтониана (11), описывающего динамику спиновой системы в ультраслабом магнитном поле. Для расчета зависимости от резонансной отстройки в методе SLIC-SABRE использовался гамильтониан (13), описывающий динамику спиновой системы под действием SLIC импульса, прилагаемого к гетероядру. Для учета релаксации использовался формализм теории Рэдфилда, а в качестве механизма рассматривались локальные флуктуации магнитного поля [101]. Релаксационные параметры были взяты из полученных выше экспериментальных измерений релаксации. Для оценки эффективности “нерезонансной” версии метода наблюдаемой величиной в расчете была поляризация вдоль оси статического поля, в то время как в случае “резонансной” версии наблюдаемой была поляризация вдоль направления поперечного поля.

В результате проведенный расчет хорошо согласуется с экспериментальными зависимостями (рис.43). В приближении “медленного” обмена ( $k_d = 5 \text{ с}^{-1}$ ) уровень теоретической поляризации для всех методов составляет порядка 30 %. Оптимальное магнитное поле в методе SHEATH-SABRE согласно расчету равняется 400 нТл. Для “нерезонансного” SLIC-SABRE максимальная поляризация достигается при использовании нутационной частоты SLIC импульса от 2.5 Гц до 5 Гц, а для “резонансного” оптимальная нутационная частота равняется уже 15 Гц. В случае более быстрого обмена ( $k_d = 40 \text{ с}^{-1}$ ), использование “нерезонансного” SLIC-SABRE позволяет получить поляризацию, равную 37 %. В случае “резонансного” SLIC-SABRE максимальная

поляризация достигает уже 45 %. При этом максимум поляризации в методе SHEATH-SABRE в данных условиях обмена оказался равен 35 %. Таким образом расчет с учетом химического обмена показывает равную эффективность методов SLIC-SABRE и SHEATH-SABRE применительно к созданию поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  в условиях “медленного” обмена и большую эффективность первого при ускорении обмена. Данный результат позволяет качественно объяснить экспериментально наблюдаемую разницу в эффективности SHEATH и SLIC для пиридина и никотинамида на основании скоростей обмена данных молекул с активным комплексом. Для достижения же количественного согласия между экспериментом и расчетом необходимо использовать более сложную модель химического обмена, учитывающую нелинейные эффекты [102].

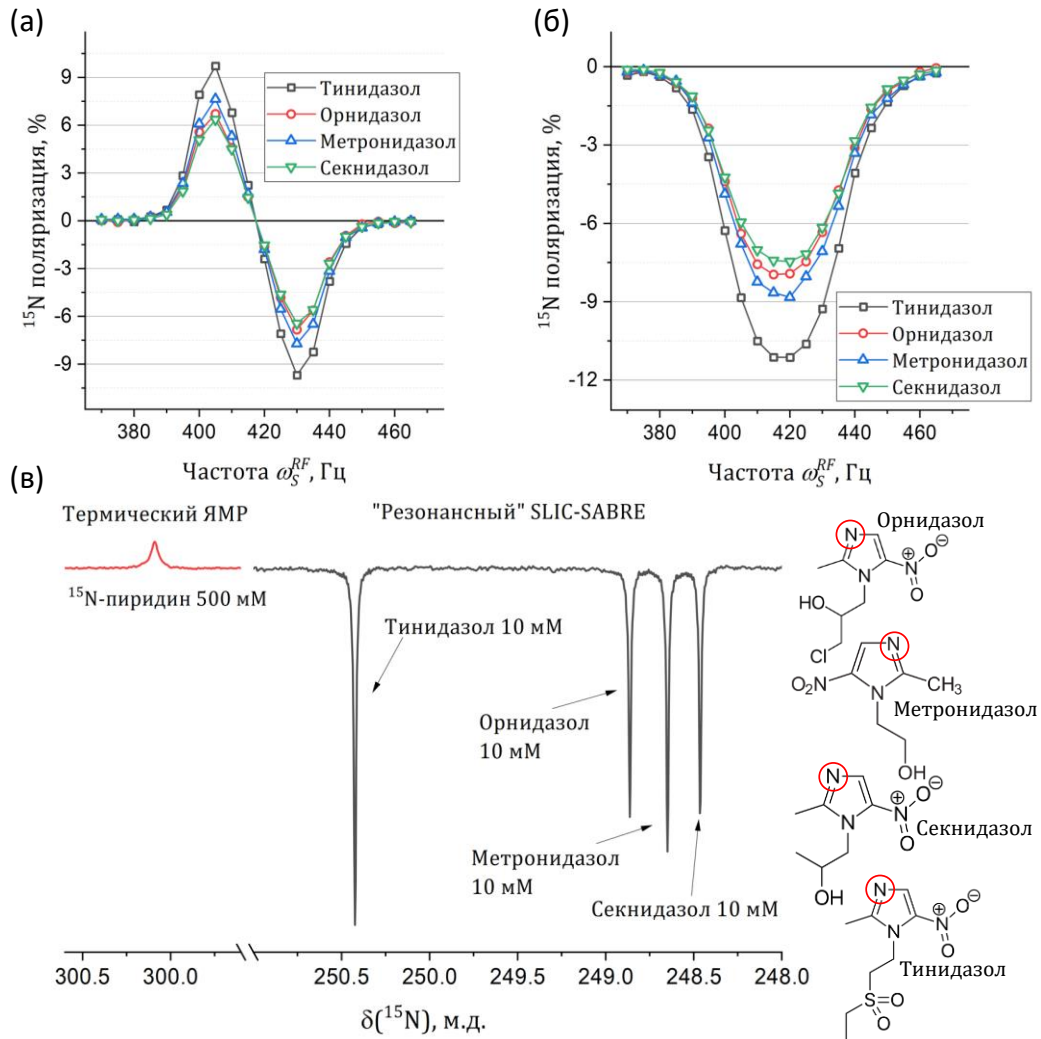


**Рисунок 43.** Численное моделирование SABRE поляризации в приближении "медленного" (слева) и "быстрого" (справа) обмена субстрата. Результаты численного расчета полевой зависимости поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  в эксперименте SHEATH-SABRE (вверху). Результаты численного расчета зависимости поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  от резонансной отстройки SLIC импульса в эксперименте SLIC-SABRE в поле 100 мкТл для "нерезонансного" (в середине) и "резонансного" (внизу) варианта. Отношение концентрации катализатора к концентрации субстрата было выбрано равным 1/10.



Как отмечалось ранее, одним из недостатков экспериментов SABRE, проводимых в сильном поле ЯМР спектрометра, является необходимость селективного воздействия на спины связанной формы субстрата. При использовании неселективного РЧ возбуждения можно достичь только незначительных уровней поляризации, поскольку в данном случае невозможно многократно повторять акты переноса поляризации на комплексе, при этом накапливая ее на ядрах свободного субстрата. Однако, если информация о химических сдвигах ядер в связанной форме отсутствует, настройка подобного селективного воздействия становится практически невозможной. К дополнительным ограничениям данного подхода также можно отнести трудности при одновременной поляризации нескольких субстратов, поскольку химические сдвиги ядер разных молекул в связанной форме могут существенно отличаться.

Для метода SLIC-SABRE в низких полях подобные эффекты не являются помехой, поскольку в данных полях резонансные частоты всех магнитных ядер одного типа совпадают. При этом воздействие на ядра свободного субстрата также не создает проблем, поскольку из-за отсутствия разницы химических сдвигов для свободной и связанной формы обмен между ними не будет приводить к расфазировке поляризации. Для демонстрации данного преимущества метода были проведены эксперименты по одновременной поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  в молекулах метронидазола, тинидазола, секнидазола и орнидазола. Данные противомикробные препараты имеют сходное строение и являются оптимальными субстратами для SABRE экспериментов [93; 103–105]. При этом химические сдвиги ядер  $^{15}\text{N}$  данных молекул отличаются как в свободной, так и в связанной формах. В экспериментах SLIC-SABRE в слабом поле удалось успешно создать высокую поляризацию ядер  $^{15}\text{N}$  для эквимольной смеси данных молекул (рис. 44). Наибольшая поляризация наблюдалась для тинидазола, что может объясняться более оптимальными скоростями обмена с активным комплексом для данной молекулы. Как и в экспериментах с пиридином и никотинамидом, “резонансный” вариант метода SLIC позволил достичь большей поляризации, чем “нерезонансный”.



**Рисунок 44.** Зависимость поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  от частоты SLIC импульса в эксперименте SLIC-SABRE в поле 100 мкТл для орнидазола, метронидазола, секнидазола и тинидазола для "нерезонансного" (а) и "резонансного" (б) вариантов. Сравнение термического ЯМР спектра образца, содержащего 500 мМ  $^{15}\text{N}$  меченного пиридина, и спектра после эксперимента "резонансного" SLIC-SABRE с образцом, содержащим смесь субстратов с естественным содержанием изотопов (в). Красные кружки обозначают ядро  $^{15}\text{N}$ , на которое происходил перенос поляризации. Образец содержал по 10 мМ каждого из субстратов, 100 мМ ДМСО- $d_6$  и 2 мМ катализатора SABRE в 500 мкл метанола- $d_4$ .

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполнена оптимизация двухрезонансной импульсной последовательности для адиабатической конверсии ИППЯ в намагниченность гетероядра в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра, позволившая наблюдать значительные усиления сигналов ядер  $^{13}\text{C}$  диметилового эфира малеиновой кислоты. Продемонстрирована эффективность расчета профиля развертки РЧ возбуждения с помощью подхода “постоянной адиабатичности”, позволяющего ускорить конверсию синглетного порядка параводорода в намагниченность гетероядра для рассматриваемой импульсной последовательности. Выполнено экспериментальное и теоретическое исследование трех различных схем для конверсии ИППЯ в намагниченность в ультраслабых магнитных полях на примере трехспиновой системы  $^{13}\text{C}$  малеата и многоспиновой системы  $^{13}\text{C}$  аллилпирувата, показавшее преимущество метода адиабатической развертки поля перед другими схемами. Предложен простой способ повышения эффективности конверсии ИППЯ в методе адиабатической развертки поля за счет простой процедуры оптимизации профиля развертки. Данная оптимизация проводится на основе полевой зависимости средней поляризации гетероядра, как экспериментальное обнаружение, так и численное моделирование которой является достаточно простой задачей даже для многоспиновых систем.

Показана возможность эффективной гиперполяризации намагниченности и синглетного порядка спиновой пары  $^{15}\text{N}$  в молекуле *цис*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола с помощью метода SABRE. Продемонстрировано, что объединение *цис-транс*-фотоизомеризации в ультраслабом магнитном поле с SABRE *цис*-азобензола позволяет создавать гиперполяризацию ядер *транс*-азобензола несмотря на то, что его прямая координация с комплексом SABRE стерически затруднена. Предложенный подход, названный фото-SABRE, в том числе позволил создать гиперполяризованный долгоживущий спиновый порядок пары  $^{15}\text{N}$  в молекуле *транс*- $^{15}\text{N}_2$ -азобензола, время жизни которого

под действием двойного РЧ возбуждения составило порядка 25 минут, что на два порядка превышает время релаксации намагниченности ядер  $^{15}\text{N}$ .

Исследован перенос поляризации на ядра  $^{15}\text{N}$  в методе SABRE в поле 100 мкТл под действием осциллирующего магнитного поля. Данный подход аналогичен эксперименту SLIC-SABRE, проводимому в сильном поле под действием радиочастотных магнитных полей. В случае слабых магнитных полей, необходимая частота осциллирующего магнитного поля не превышает 1 кГц. На примере стандартных SABRE субстратов – пиридина и никотинамида – продемонстрировано, что поляризация ядер  $^{15}\text{N}$  в экспериментах SLIC-SABRE в поле 100 мкТл может значительно превышать поляризацию в экспериментах, проводимых в ультраслабых полях. При этом ключевым преимуществом SLIC-SABRE является возможность проведения экспериментов без дорогостоящего магнитного экрана. Для объяснения высокой эффективности метода SLIC-SABRE в слабых магнитных полях проведены измерения времен релаксации ядер  $^{15}\text{N}$ , а также выполнено численное моделирование динамики создания поляризации в рассматриваемых экспериментальных условиях.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

- 1) Показано, что оптимизация двухрезонансной адиабатической РЧ последовательности для конверсии ИППЯ в намагниченность гетероядра в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра с привлечением подхода “постоянной адиабатичности” позволяет сократить время переноса поляризации и повысить наблюдаемые уровни усиления сигналов. Для данной экспериментальной схемы получены значения поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  диметилового эфира малеиновой кислоты, достигающие 35 %, что является рекордным результатом для ИППЯ в сильном поле для соединений с естественным содержанием изотопов.
- 2) Проведено теоретическое и экспериментальное сравнение различных схем для конверсии ИППЯ в намагниченность в ультраслабых магнитных полях: гидрирования в постоянном поле, когерентного переноса при мгновенном переключении поля и адиабатической развертки ультраслабого поля. На примере трехспиновой системы  $^{13}\text{C}$  малеата и многоспиновой системы  $^{13}\text{C}$  аллилпирувата показано, что и в численных расчетах, и в эксперименте подход адиабатической развертки ультраслабого поля позволяет достигнуть наибольшей поляризации ядер  $^{13}\text{C}$ .
- 3) Предложен способ повышения эффективности конверсии ИППЯ в методе адиабатической развертки поля за счет простой процедуры оптимизации профиля развертки, требующей знания только констант спин-спиновой связи и легко выполнимой даже для многоспиновых систем. Применение оптимального профиля позволило получить 8.7 % и 2.2 % поляризации ядер  $^{13}\text{C}$  для многоспиновых систем  $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата и  $^{13}\text{C}_2$ -аллилпирувата, при уровнях поляризации в 6.8 % и 1.3 % в случае линейного профиля.
- 4) Впервые показано, что объединение *цис-транс*-фотоизомеризации в ультраслабом магнитном поле с SABRE *цис*-азобензола позволяет

создавать гиперполяризацию ядер *транс*-азобензола несмотря на то, что его прямая координация с комплексом SABRE стерически затруднена. При проведении эксперимента SABRE без облучения светом наблюдалась только поляризация ядер *цис*-азобензола, в то время как облучение светом позволило наблюдать 7.5 % поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  для *цис*-азобензола и 3 % для *транс*-азобензола.

- 5) Предложен метод эффективного переноса поляризации на ядра  $^{15}\text{N}$  в методе SABRE в слабом статическом магнитном поле под действием осциллирующего поля. Данный подход не требует дорогостоящего магнитного экрана, а его эффективность в полтора раза превышает эффективность SABRE в ультраслабом поле. С использованием предложенного метода получены высокие уровни поляризации ядер  $^{15}\text{N}$  для пиридина, никотинамида, а также ряда противомикробных препаратов, включая метронидазол, тинидазол, секнидазол и орнидазол, что демонстрирует универсальность метода.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

РЧ: радиочастота, радиочастотный

PHIP: parahydrogen induced polarization, индуцированная параводородом поляризация ядер

ИППЯ: см. PHIP

PASADENA: Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment

ALTADENA: Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment

PHIP-SAH: PHIP Side Arm Hydrogenation, ИППЯ с гидрированием боковой цепи

APSOC: Adiabatic Passage Singlet Order Conversion

SABRE: Signal Amplification By Reversible Exchange, усиление сигналов в результате обратимого обмена

SABRE-SHEATH: SABRE in SHield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei

INEPT: Insensitive Nuclei Enhanced Polarization Transfer

SLIC: Spin-Lock Induced Crossing

ДПЯ: динамическая поляризация ядер

ХПЯ: химическая поляризация ядер

ZULF: Zero- to UltraLow Field, нулевое и ультраслабое поле

ULF: UltraLow Field, ультраслабое поле

LAC: Level Avoided Crossing, антипересечение уровней

АПУ: см. LAC

S2M: Singlet to Magnetization, синглет в намагниченность

M2S: Magnetization to Singlet, намагниченность в синглет

ppm: parts-per-million, миллионная доля ( $10^{-6}$ )

ТТЛ: транзисторно-транзисторная логика

ССИ: спад свободной индукции (ядер)

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Levitt, M.H.** Spin dynamics: basics of nuclear magnetic resonance. Spin dynamics / M.H. Levitt. – John Wiley & Sons, 2008. – 714 p. – ISBN 978-0-470-51118-3.
2. **Keeler, J.** Understanding NMR spectroscopy / J. Keeler. – John Wiley & Sons, 2005. – 459 p. – ISBN 0-470-01787-2.
3. **Günther, H.** NMR spectroscopy: basic principles, concepts and applications in chemistry. NMR spectroscopy / H. Günther. – Third, completely revised and updated edition. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. – 718 p. – ISBN 978-3-527-33000-3.
4. **Ernst, R.R.** Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions : The international series of monographs on chemistry / R.R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun. – Repr. with corr. – Oxford: Clarendon Pr, 1994. – 14. – 610 p. – ISBN 978-0-19-855629-9.
5. **Lauterbur, P.C.** Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance / P.C. Lauterbur // Nature. – 1973. – Vol. 242. – Image Formation by Induced Local Interactions. – № 5394. – P. 190–191.
6. **Eills, J.** Spin Hyperpolarization in Modern Magnetic Resonance / J. Eills [et al.] // Chemical Reviews. – 2023. – Vol. 123. – № 4. – P. 1417–1551.
7. **Overhauser, A.W.** Polarization of Nuclei in Metals / A.W. Overhauser // Physical Review. – 1953. – Vol. 92. – № 2. – P. 411–415.
8. **Abragam, A.** Principles of dynamic nuclear polarisation / A. Abragam, M. Goldman // Reports on Progress in Physics. – 1978. – T. 41. – № 3. – C. 395–467.
9. **Closs, G.L.** Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization / G.L. Closs // Advances in Magnetic and Optical Resonance. – Elsevier, 1974. – Vol. 7. – P. 157–229.
10. **Bargon, J.** Kernresonanz-Emissionslinien während rascher Radikalreaktionen: I. Aufnahmeverfahren und Beispiele / J. Bargon, H. Fischer, U. Johnsen // Zeitschrift für Naturforschung A. – 1967. – Vol. 22. – Kernresonanz-Emissionslinien während rascher Radikalreaktionen. – № 10. – P. 1551–1555.
11. **Bowers, C.R.** Parahydrogen and synthesis allow dramatically enhanced



nuclear alignment / C.R. Bowers, D.P. Weitekamp // Journal of the American Chemical Society. – 1987. – Vol. 109. – № 18. – P. 5541–5542.

12. **Natterer, J.** Parahydrogen induced polarization / J. Natterer, J. Bargon // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 1997. – Vol. 31. – № 4. – P. 293–315.

13. **Walker, T.G.** Spin-exchange optical pumping of noble-gas nuclei / T.G. Walker, W. Happer // Reviews of Modern Physics. – 1997. – Vol. 69. – № 2. – P. 629–642.

14. **Nagel, L.** Parahydrogen-Polarized [1- <sup>13</sup>C]Pyruvate for Reliable and Fast Preclinical Metabolic Magnetic Resonance Imaging / L. Nagel [et al.] // Advanced Science. – 2023. – P. 2303441.

15. **Ardenkjær-Larsen, J.H.** Increase in signal-to-noise ratio of > 10,000 times in liquid-state NMR / J.H. Ardenkjær-Larsen [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2003. – Vol. 100. – № 18. – P. 10158–10163.

16. **Nelson, S.J.** Metabolic Imaging of Patients with Prostate Cancer Using Hyperpolarized [1- <sup>13</sup>C]Pyruvate / S.J. Nelson [et al.] // Science Translational Medicine. – 2013. – Vol. 5. – № 198.

17. **Ding, Y.** Rapidly Signal-enhanced Metabolites for Atomic Scale Monitoring of Living Cells with Magnetic Resonance / Y. Ding [et al.] // Chemistry–Methods. – 2022. – Vol. 2. – № 7. – P. e202200023.

18. **Hune, T.** Metabolic Tumor Imaging with Rapidly Signal-Enhanced 1-<sup>13</sup>C-Pyruvate-d<sub>3</sub> / T. Hune [et al.] // ChemPhysChem. – 2023. – Vol. 24. – № 2. – P. e202200615.

19. **Korchak, S.** Pulsed Magnetic Resonance to Signal-Enhance Metabolites within Seconds by utilizing *para*-Hydrogen / S. Korchak [et al.] // ChemistryOpen. – 2018. – Vol. 7. – № 5. – P. 344–348.

20. **Adams, R.W.** Reversible Interactions with *para*-Hydrogen Enhance NMR Sensitivity by Polarization Transfer / R.W. Adams [et al.] // Science. – 2009. – Vol. 323. – № 5922. – P. 1708–1711.

21. **Green, R.A.** The theory and practice of hyperpolarization in magnetic resonance using parahydrogen / R.A. Green [et al.] // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 2012. – Vol. 67. – P. 1–48.

22. **Reineri, F.** ParaHydrogen Induced Polarization of  $^{13}\text{C}$  carboxylate resonance in acetate and pyruvate / F. Reineri, T. Boi, S. Aime // Nature Communications. – 2015. – Vol. 6. – № 1. – P. 5858.
23. **Korchak, S.** Over 50 %  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  Polarization for Generating Hyperpolarized Metabolites—A *para* -Hydrogen Approach / S. Korchak, S. Mamone, S. Glöggl // ChemistryOpen. – 2018. – Vol. 7. – № 9. – P. 672–676.
24. **Shchepin, R.V.** Parahydrogen Induced Polarization of 1- $^{13}\text{C}$ -Phospholactate- $d_2$  for Biomedical Imaging with >30,000,000-fold NMR Signal Enhancement in Water / R.V. Shchepin [et al.] // Analytical Chemistry. – 2014. – Vol. 86. – № 12. – P. 5601–5605.
25. **Berner, S.** SAMBADENA Hyperpolarization of  $^{13}\text{C}$ -Succinate in an MRI: Singlet-Triplet Mixing Causes Polarization Loss / S. Berner [et al.] // ChemistryOpen. – 2019. – Vol. 8. – SAMBADENA Hyperpolarization of  $^{13}\text{C}$ -Succinate in an MRI. – № 6. – P. 728–736.
26. **Eills, J.** Real-Time Nuclear Magnetic Resonance Detection of Fumarase Activity Using Parahydrogen-Hyperpolarized [1- $^{13}\text{C}$ ]Fumarate / J. Eills [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2019. – Vol. 141. – № 51. – P. 20209–20214.
27. **Cavallari, E.**  $^{13}\text{C}$  MR Hyperpolarization of Lactate by Using ParaHydrogen and Metabolic Transformation in Vitro / E. Cavallari [et al.] // Chemistry - A European Journal. – 2017. – Vol. 23. – № 5. – P. 1200–1204.
28. **Cavallari, E.** Studies to enhance the hyperpolarization level in PHIP-SAH-produced  $^{13}\text{C}$ -pyruvate / E. Cavallari [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 289. – P. 12–17.
29. **Barskiy, D.A.** SABRE: Chemical kinetics and spin dynamics of the formation of hyperpolarization / D.A. Barskiy [et al.] // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 2019. – Vols. 114–115. – SABRE. – P. 33–70.
30. **Rayner, P.J.** Signal Amplification by Reversible Exchange (SABRE): From Discovery to Diagnosis / P.J. Rayner, S.B. Duckett // Angewandte Chemie International Edition. – 2018. – Vol. 57. – Signal Amplification by Reversible Exchange (SABRE). – № 23. – P. 6742–6753.
31. **Rayner, P.J.** Hyperpolarisation of weakly binding N-heterocycles using signal amplification by reversible exchange / P.J. Rayner [et al.] // Chemical Science. – 2021. – Vol. 12. – № 16. – P. 5910–5917.

32. **Roy, S.S.** SABRE-Relay: A Versatile Route to Hyperpolarization / S.S. Roy [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2018. – Vol. 9. – SABRE-Relay. – № 5. – P. 1112–1117.
33. **Knecht, S.** Theoretical description of hyperpolarization formation in the SABRE-relay method / S. Knecht [et al.] // *The Journal of Chemical Physics*. – 2020. – Vol. 153. – № 16. – P. 164106.
34. **Beharry, A.A.** Azobenzene photoswitches for biomolecules / A.A. Beharry, G.A. Woolley // *Chemical Society Reviews*. – 2011. – Vol. 40. – № 8. – P. 4422.
35. **Schmidt, A.B.** Over 20% Carbon-13 Polarization of Perdeuterated Pyruvate Using Reversible Exchange with Parahydrogen and Spin-Lock Induced Crossing at 50  $\mu$ T / A.B. Schmidt [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2023. – Vol. 14. – № 23. – P. 5305–5309.
36. **Bonhoeffer, K.F.** Experiments on para- and orthohydrogen / K.F. Bonhoeffer, P. Harteck // *Die Naturwissenschaften*. – 1929. – Vol. 17. – № 11. – P. 182–182.
37. **Bowers, C.R.** Transformation of Symmetrization Order to Nuclear-Spin Magnetization by Chemical Reaction and Nuclear Magnetic Resonance / C.R. Bowers, D.P. Weitekamp // *Physical Review Letters*. – 1986. – Vol. 57. – № 21. – P. 2645–2648.
38. **Korchak, S.E.** Para-hydrogen induced polarization in multi-spin systems studied at variable magnetic field / S.E. Korchak [et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2009. – Vol. 11. – № 47. – P. 11146.
39. **Pravica, M.G.** Net NMR alignment by adiabatic transport of parahydrogen addition products to high magnetic field / M.G. Pravica, D.P. Weitekamp // *Chemical Physics Letters*. – 1988. – Vol. 145. – № 4. – P. 255–258.
40. **Morris, G.A.** Sensitivity enhancement in nitrogen-15 NMR: polarization transfer using the INEPT pulse sequence / G.A. Morris // *Journal of the American Chemical Society*. – 1980. – Vol. 102. – Sensitivity enhancement in nitrogen-15 NMR. – № 1. – P. 428–429.
41. **Haake, M.** Efficient NMR Pulse Sequences to Transfer the Parahydrogen-Induced Polarization to Hetero Nuclei / M. Haake, J. Natterer, J. Bargon // *Journal of the American Chemical Society*. – 1996. – Vol. 118. – № 36. – P. 8688–8691.
42. **Barkemeyer, J.** Hetero-NMR Enhancement via Parahydrogen Labeling / J.

Barkemeyer, M. Haake, J. Bargon // Journal of the American Chemical Society. – 1995. – Vol. 117. – № 10. – P. 2927–2928.

43. **Svyatova, A.** PHIP hyperpolarized [1-<sup>13</sup>C]pyruvate and [1-<sup>13</sup>C]acetate esters via PH-INEPT polarization transfer monitored by <sup>13</sup>C NMR and MRI / A. Svyatova [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 5646.

44. **Knecht, S.** Rapid hyperpolarization and purification of the metabolite fumarate in aqueous solution / S. Knecht [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2021. – Vol. 118. – № 13. – P. e2025383118.

45. **Ripka, B.** Hyperpolarized fumarate *via* parahydrogen / B. Ripka [et al.] // Chemical Communications. – 2018. – Vol. 54. – № 86. – P. 12246–12249.

46. **Dagys, L.** Deuteron-Decoupled Singlet NMR in Low Magnetic Fields: Application to the Hyperpolarization of Succinic Acid\*\* / L. Dagys [et al.] // ChemPhysChem. – 2022. – Vol. 23. – Deuteron-Decoupled Singlet NMR in Low Magnetic Fields. – № 19. – P. e202200274.

47. **Goldman, M.** Conversion of a proton pair para order into <sup>13</sup>C polarization by rf irradiation, for use in MRI / M. Goldman, H. Jóhannesson // Comptes Rendus Physique. – 2005. – Vol. 6. – № 4–5. – P. 575–581.

48. **Kadlecek, S.** Optimal transfer of spin-order between a singlet nuclear pair and a heteronucleus / S. Kadlecek [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2010. – Vol. 205. – № 1. – P. 9–13.

49. **Eills, J.** Singlet order conversion and parahydrogen-induced hyperpolarization of <sup>13</sup>C nuclei in near-equivalent spin systems / J. Eills [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2017. – Vol. 274. – P. 163–172.

50. **DeVience, S.J.** Preparation of Nuclear Spin Singlet States Using Spin-Lock Induced Crossing / S.J. DeVience, R.L. Walsworth, M.S. Rosen // Physical Review Letters. – 2013. – Vol. 111. – № 17. – P. 173002.

51. **Knecht, S.** Efficient conversion of anti-phase spin order of protons into <sup>15</sup>N magnetisation using SLIC-SABRE / S. Knecht [et al.] // Molecular Physics. – 2019. – Vol. 117. – № 19. – P. 2762–2771.

52. **Pravdivtsev, A.N.** Level Anti-Crossings are a Key Factor for Understanding *para*-Hydrogen-Induced Hyperpolarization in SABRE Experiments / A.N. Pravdivtsev [et al.] // ChemPhysChem. – 2013. – Vol. 14. – № 14. – P. 3327–3331.

53. **Ivanov, K.L.** The role of level anti-crossings in nuclear spin hyperpolarization / K.L. Ivanov [et al.] // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 2014. – Vol. 81. – P. 1–36.
54. **Pravdivtsev, A.N.** Highly Efficient Polarization of Spin-1/2 Insensitive NMR Nuclei by Adiabatic Passage through Level Anticrossings / A.N. Pravdivtsev [et al.] // The Journal of Physical Chemistry Letters. – 2014. – Vol. 5. – № 19. – P. 3421–3426.
55. **Zener, C.** Non-adiabatic crossing of energy levels / C. Zener // Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character. – 1932. – Vol. 137. – № 833. – P. 696–702.
56. **Kiryutin, A.S.** Manipulating spin hyper-polarization by means of adiabatic switching of a spin-locking RF-field / A.S. Kiryutin [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2013. – Vol. 15. – № 34. – P. 14248.
57. **Kiryutin, A.S.** Exploiting adiabatically switched RF-field for manipulating spin hyperpolarization induced by *para* hydrogen / A.S. Kiryutin [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2015. – Vol. 143. – № 23. – P. 234203.
58. **Rodin, B.A.** Constant-adiabaticity pulse schemes for manipulating singlet order in 3-spin systems with weak magnetic non-equivalence / B.A. Rodin [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2021. – Vol. 327. – P. 106978.
59. **Rodin, B.A.** Using optimal control methods with constraints to generate singlet states in NMR / B.A. Rodin [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 291. – P. 14–22.
60. **Rodin, B.A.** Constant-adiabaticity radiofrequency pulses for generating long-lived singlet spin states in NMR / B.A. Rodin [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2019. – Vol. 150. – № 6. – P. 064201.
61. **Markelov, D.A.** Singlet to triplet conversion in molecular hydrogen and its role in parahydrogen induced polarization / D.A. Markelov [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2021. – Vol. 23. – № 37. – P. 20936–20944.
62. **Eills, J.** Polarization transfer via field sweeping in parahydrogen-enhanced nuclear magnetic resonance / J. Eills [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2019. – Vol. 150. – № 17. – P. 174202.
63. **Rodin, B.A.** Constant-adiabaticity ultralow magnetic field manipulations of parahydrogen-induced polarization: application to an AA'X spin system / B.A. Rodin [et

al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2021. – Vol. 23. – Constant-adiabaticity ultralow magnetic field manipulations of parahydrogen-induced polarization. – № 12. – P. 7125–7134.

64. **Cowley, M.J.** Iridium N-Heterocyclic Carbene Complexes as Efficient Catalysts for Magnetization Transfer from *para* -Hydrogen / M.J. Cowley [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2011. – Vol. 133. – № 16. – P. 6134–6137.

65. **Kiryutin, A.S.** Complete magnetic field dependence of SABRE-derived polarization / A.S. Kiryutin [et al.] // *Magnetic Resonance in Chemistry*. – 2018. – Vol. 56. – № 7. – P. 651–662.

66. **Truong, M.L.** <sup>15</sup>N Hyperpolarization by Reversible Exchange Using SABRE-SHEATH / M.L. Truong [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2015. – Vol. 119. – № 16. – P. 8786–8797.

67. **Theis, T.** Microtesla SABRE Enables 10% Nitrogen-15 Nuclear Spin Polarization / T. Theis [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2015. – Vol. 137. – № 4. – P. 1404–1407.

68. **Markelov, D.A.** Adiabatic approach for heteronuclear SABRE hyperpolarization at high magnetic field / D.A. Markelov [et al.] // *Journal of Magnetic Resonance Open*. – 2023. – Vols. 16–17. – P. 100139.

69. **Pravdivtsev, A.N.** Transfer of SABRE-derived hyperpolarization to spin ½ heteronuclei / A.N. Pravdivtsev [et al.].

70. **Pravdivtsev, A.N.** Chemical Exchange Reaction Effect on Polarization Transfer Efficiency in SLIC-SABRE / A.N. Pravdivtsev [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 2018. – Vol. 122. – № 46. – P. 9107–9114.

71. **Theis, T.** LIGHT-SABRE enables efficient in-magnet catalytic hyperpolarization / T. Theis [et al.] // *Journal of Magnetic Resonance*. – 2014. – Vol. 248. – P. 23–26.

72. **Vaneckhaute, E.** Reversible Parahydrogen Induced Hyperpolarization of <sup>15</sup>N in Unmodified Amino Acids Unraveled at High Magnetic Field / E. Vaneckhaute [et al.] // *Advanced Science*. – 2023. – Vol. 10. – № 23. – P. 2207112.

73. **Rodin, B.A.** Representation of population exchange at level anti-crossings / B.A. Rodin, K.L. Ivanov // *Magnetic Resonance*. – 2020. – Vol. 1. – № 2. – P. 347–365.

74. **Iali, W.** Using *para* hydrogen to hyperpolarize amines, amides, carboxylic

acids, alcohols, phosphates, and carbonates / W. Iali, P.J. Rayner, S.B. Duckett // Science Advances. – 2018. – Vol. 4. – № 1. – P. eaao6250.

75. **Velema, W.A.** Photopharmacology: Beyond Proof of Principle / W.A. Velema, W. Szymanski, B.L. Feringa // Journal of the American Chemical Society. – 2014. – Vol. 136. – Photopharmacology. – № 6. – P. 2178–2191.

76. **Borowiak, M.** Photoswitchable Inhibitors of Microtubule Dynamics Optically Control Mitosis and Cell Death / M. Borowiak [et al.] // Cell. – 2015. – Vol. 162. – № 2. – P. 403–411.

77. **Cattaneo, P.** An ab initio study of the photochemistry of azobenzene / P. Cattaneo, M. Persico // Physical Chemistry Chemical Physics. – 1999. – Vol. 1. – № 20. – P. 4739–4743.

78. **Quick, M.** Photoisomerization Dynamics and Pathways of *trans* - and *cis* - Azobenzene in Solution from Broadband Femtosecond Spectroscopies and Calculations / M. Quick [et al.] // The Journal of Physical Chemistry B. – 2014. – Vol. 118. – № 29. – P. 8756–8771.

79. **Rovira, X.** OptoGluNAM4.1, a Photoswitchable Allosteric Antagonist for Real-Time Control of mGlu 4 Receptor Activity / X. Rovira [et al.] // Cell Chemical Biology. – 2016. – Vol. 23. – № 8. – P. 929–934.

80. **Jerca, F.A.** Advances and opportunities in the exciting world of azobenzenes / F.A. Jerca, V.V. Jerca, R. Hoogenboom // Nature Reviews Chemistry. – 2021. – Vol. 6. – № 1. – P. 51–69.

81. **Sheberstov, K.F.** Generating and sustaining long-lived spin states in  $^{15}\text{N},^{15}\text{N}'$ -azobenzene / K.F. Sheberstov [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 20161.

82. **Sheberstov, K.F.** *cis* Versus *trans*-Azobenzene: Precise Determination of NMR Parameters and Analysis of Long-Lived States of  $^{15}\text{N}$  Spin Pairs / K.F. Sheberstov [et al.] // Applied Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 49. – *cis* Versus *trans*-Azobenzene. – № 3. – P. 293–307.

83. **Carravetta, M.** Theory of long-lived nuclear spin states in solution nuclear magnetic resonance. I. Singlet states in low magnetic field / M. Carravetta, M.H. Levitt // The Journal of Chemical Physics. – 2005. – Vol. 122. – № 21. – P. 214505.

84. **Carravetta, M.** Beyond the  $T_1$  Limit: Singlet Nuclear Spin States in Low

Magnetic Fields / M. Carravetta, O.G. Johannessen, M.H. Levitt // *Physical Review Letters*. – 2004. – Vol. 92. – Beyond the  $T_1$  Limit. – № 15. – P. 153003.

85. **Carravetta, M.** Long-Lived Nuclear Spin States in High-Field Solution NMR / M. Carravetta, M.H. Levitt // *Journal of the American Chemical Society*. – 2004. – Vol. 126. – № 20. – P. 6228–6229.

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

87. **Kiryutin, A.S.** A highly versatile automatized setup for quantitative measurements of PHIP enhancements / A.S. Kiryutin [et al.] // *Journal of Magnetic Resonance*. – 2017. – Vol. 285. – P. 26–36.

88. **Kownacki, I.** Synthesis, structure and catalytic activity of the first iridium(I) siloxide versus chloride complexes with 1,3-mesitylimidazolin-2-ylidene ligand / I. Kownacki [et al.] // *Journal of Organometallic Chemistry*. – 2008. – Vol. 693. – № 2. – P. 321–328.

89. **Colell, J.F.P.** Rational ligand choice extends the SABRE substrate scope / J.F.P. Colell [et al.] // *Chemical Communications*. – 2020. – Vol. 56. – № 65. – P. 9336–9339.

90. **Jóhannesson, H.** Transfer of para-hydrogen spin order into polarization by diabatic field cycling / H. Jóhannesson, O. Axelsson, M. Karlsson // *Comptes Rendus Physique*. – 2004. – Vol. 5. – № 3. – P. 315–324.

91. **Cavallari, E.** Effects of Magnetic Field Cycle on the Polarization Transfer from Parahydrogen to Heteronuclei through Long-Range J-Couplings / E. Cavallari [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2015. – Vol. 119. – № 31. – P. 10035–10041.

92. **Colell, J.F.P.** Generalizing, Extending, and Maximizing Nitrogen-15 Hyperpolarization Induced by Parahydrogen in Reversible Exchange / J.F.P. Colell [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2017. – Vol. 121. – № 12. – P. 6626–6634.

93. **Shchepin, R.V.** Hyperpolarizing Concentrated Metronidazole  $^{15}\text{NO}_2$  Group over Six Chemical Bonds with More than 15 % Polarization and a 20 Minute Lifetime / R.V. Shchepin [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2019. – Vol. 25. – № 37. – P. 8829–8836.



94. **Theis, T.** Direct and cost-efficient hyperpolarization of long-lived nuclear spin states on universal  $^{15}\text{N}_2$ -diazirine molecular tags / T. Theis [et al.] // *Science Advances*. – 2016. – Vol. 2. – № 3. – P. e1501438.
95. **Pileio, G.** Singlet NMR methodology in two-spin-1/2 systems / G. Pileio // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. – 2017. – Vols. 98–99. – P. 1–19.
96. **Sheberstov, K.F.** Excitation of singlet–triplet coherences in pairs of nearly-equivalent spins / K.F. Sheberstov [et al.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2019. – Vol. 21. – № 11. – P. 6087–6100.
97. **Tayler, M.C.D.** Singlet nuclear magnetic resonance of nearly-equivalent spins / M.C.D. Tayler, M.H. Levitt // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2011. – Vol. 13. – № 13. – P. 5556.
98. **Pravdivtsev, A.N.** LIGHT-SABRE Hyperpolarizes  $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Pyruvate Continuously without Magnetic Field Cycling / A.N. Pravdivtsev [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2023. – Vol. 127. – № 14. – P. 6744–6753.
99. **Kiryutin, A.S.**  $^{15}\text{N}$  SABRE Hyperpolarization of Metronidazole at Natural Isotope Abundance / A.S. Kiryutin, A.V. Yurkovskaya, K.L. Ivanov // *ChemPhysChem*. – 2021. – Vol. 22. – № 14. – P. 1470–1477.
100. **Knecht, S.** Quantitative description of the SABRE process: rigorous consideration of spin dynamics and chemical exchange / S. Knecht [et al.] // *RSC Advances*. – 2016. – Vol. 6. – Quantitative description of the SABRE process. – № 29. – P. 24470–24477.
101. **Redfield, A.G.** The Theory of Relaxation Processes / A.G. Redfield // *Advances in Magnetic and Optical Resonance*. – Elsevier, 1965. – Vol. 1. – P. 1–32.
102. **Pravdivtsev, A.N.** Simulating Non-linear Chemical and Physical (CAP) Dynamics of Signal Amplification By Reversible Exchange (SABRE) / A.N. Pravdivtsev, J. Hövener // *Chemistry – A European Journal*. – 2019. – Vol. 25. – № 32. – P. 7659–7668.
103. **Iali, W.**  $^{15}\text{N}$  hyperpolarisation of the antiprotozoal drug ornidazole by Signal Amplification By Reversible Exchange in aqueous medium / W. Iali [et al.] // *Magnetic Resonance in Chemistry*. – 2021. – Vol. 59. – № 12. – P. 1199–1207.
104. **Kabir, M.S.H.** Nitrogen-15 and Fluorine-19 Relaxation Dynamics and Spin-Relayed SABRE-SHEATH Hyperpolarization of Fluoro- $[\text{}^{15}\text{N}_3]$ metronidazole / M.S.H.

Kabir [et al.] // The Journal of Physical Chemistry A. – 2023. – Vol. 127. – № 23. – P. 5018–5029.

105. **Barskiy, D.A.** Over 20%  $^{15}\text{N}$  Hyperpolarization in Under One Minute for Metronidazole, an Antibiotic and Hypoxia Probe / D.A. Barskiy [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2016. – Vol. 138. – № 26. – P. 8080–8083.