

На правах рукописи

КОЗИНЕНКО Виталий Павлович

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

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Новосибирск – 2024

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

**Научный
руководитель**

Кириутин Алексей Сергеевич
кандидат химических наук, с.н.с. МТЦ СО РАН

**Официальные
оппоненты**

Польшаков Владимир Иванович
Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», г. Москва

Колоколов Даниил Игоревич
кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Отдела физико-химических исследований на атомно-молекулярном уровне Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

**Ведущая
организация**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

Защита диссертации состоится “03” июля 2024 года в 15-00 часов на заседании Диссертационного совета 24.1.150.01 при ФГБУН Институте химической кинетики и горения Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН) по адресу: 630090, Новосибирск, ул. Институтская, д. 3, конференц-зал.

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

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

Автореферат разослан “ ” _____ 2024 года

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



И. П. Поздняков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из основных инструментов химии, биологии, материаловедения и других областей науки и индустрии. В области медицины ядерный магнитный резонанс используется для проведения магнитно-резонансной томографии (МРТ) – важнейшего метода диагностики. 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}C , ^{15}N и др. Магнитные моменты данных ядер в несколько раз меньше (в 4 раза для ^{13}C , и в 10 раз для ^{15}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. На сегодняшний день известно множество различных физических и химических подходов для создания гиперполяризации, включая динамическую поляризацию ядер (ДПЯ), химическую поляризацию ядер (ХПЯ), индуцируемую параводородом поляризацию ядер (ИППЯ), оптическую накачку инертных газов и многие другие.

Наиболее перспективными с точки зрения биологических и клинических приложений являются методы динамической поляризации ядер и индуцируемой параводородом поляризации ядер. 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 [1]. При этом наиболее развитым с точки зрения методологии и более широко применяемым является метод ДПЯ с быстрым растворением образца. Данный подход, однако, имеет ряд недостатков, таких как высокая стоимость покупки и обслуживания оборудования и низкая скорость производства гиперполяризованного продукта. В то же время, метод ИППЯ позволяет создавать гиперполяризацию для наиболее востребованных биомолекул всего за несколько секунд и требует минимальных расходов на оборудование. 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) [2]. Предложенные подходы для повышения поляризации магнитных гетероядер, достигаемой с помощью ИППЯ, могут приблизить клиническое применение данного метода.

Степень разработанности темы исследования

Усиление сигналов ЯМР за счет ИППЯ находит все более широкое применение как в фундаментальных, так и в доклинических исследованиях. 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}C . В ряде работ показана высокая эффективность ^{13}C ИППЯ для наблюдения метаболических превращений как *in vitro*, так и *in vivo*. 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.

Метод поляризации в результате обратимого обмена с параводородом значительно расширяет область применения ИППЯ, позволяя усиливать сигналы ЯМР молекул субстрата, не подвергая их химическим превращениям. 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. 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 [3]. Помимо расширения списка подходящих субстратов, как и в случае ИППЯ с гидрированием, множество работ направлено на повышение эффективности SABRE поляризации ядер ^{13}C и ^{15}N . Так, актуальным направлением является развитие методов переноса поляризации в методе SABRE путем облучения образца осциллирующим магнитным полем в полях порядка десятков микротесла [4].

Цель 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}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}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}N в подходе SABRE в слабых полях при воздействии на спиновую систему поперечным магнитным полем на аудиочастоте без использования магнитного экрана.

Научная новизна

Выполнена оптимизация адиабатической двухрезонансной РЧ схемы, позволившая наблюдать рекордную поляризацию ядер ^{13}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}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}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

Оптимизация двухрезонансной адиабатической РЧ схемы для конверсии ИППЯ в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра, позволяет создавать рекордные усиления сигналов ядер ^{13}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}C малеата и многоспиновой системы ^{13}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}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}C в сильном магнитном поле ЯМР спектрометра.

2) Результаты численных расчетов и экспериментального исследования спиновой динамики переноса ИППЯ на ядра ^{13}C для трех различных экспериментальных схем в ультраслабых магнитных полях, показавшие, что наибольшая поляризация ядер ^{13}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}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.

Достоверность работы

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.

Апробация работы

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.

Личный вклад соискателя

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.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, содержит 44 рисунка 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.

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

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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

Первая глава посвящена литературному обзору. В *разделе 1.1* описываются теоретические основы формирования усилений

сигналов ЯМР протонов в методе индуцируемой параводородом поляризации ядер с гидрированием. В *разделе 1.2.1* обсуждаются актуальность, а также достоинства и недостатки существующих методов конверсии синглетного порядка параводорода в поляризацию магнитных гетероядер в сильном поле ЯМР спектрометра. Приводятся основы формализма антипересечений уровней (АПУ) энергии спинового гамильтониана для описания экспериментов по конверсии ИППЯ. В *разделе 1.2.2* отмечается высокая эффективность конверсии ИППЯ в ультраслабых магнитных полях и проводится краткий анализ соответствующих АПУ. В *разделе 1.3.* описывается альтернативный способ создания ИППЯ за счет обратимой координации параводорода и субстрата на специальном металлоорганическом катализаторе (SABRE). В отличие от подхода ИППЯ с гидрированием, метод SABRE позволяет гиперполяризовать широкий круг молекулярных агентов в повторяющемся режиме. Также обсуждаются и ограничения данного метода, включая его низкую эффективность в сильных магнитных полях и невозможность поляризации ряда субстратов. В *разделе 1.4.* обсуждаются уникальные особенности молекулярных фотопереключателей на основе азобензолов, включая возможность создания долгоживущего спинового порядка для ядер $^{15}\text{N}_2$ -транс-азобензола.

Вторая глава посвящена краткому описанию экспериментальной установки и используемых субстратов и катализаторов для ИППЯ с гидрированием и SABRE. В *разделе 2.1.* описываются основные узлы установки, позволяющие проводить эксперименты ИППЯ для ультра-широкого диапазона магнитных полей в автоматическом режиме. В *разделе 2.2* представлена процедура оптимизации многократно повторяемых экспериментов ИППЯ с гидрированием. Модификация экспериментальной установки для проведения экспериментов SABRE с фотоизомеризацией азобензола обсуждается в *разделе 2.3.* Краткая информация об используемых образцах, включая список субстратов, катализаторов и растворителей приводится в *разделе 2.4.*

Третья глава посвящена представлению и обсуждению полученных результатов. В *разделе 3.1* представлена процедура оптимизации двухрезонансной адиабатической последовательности РЧ импульсов для конверсии ИППЯ в поляризацию ядер ^{13}C в

сильном поле ЯМР спектрометра. В данном методе после создания протонной ИППЯ путем гидрирования субстрата к спиновой системе прикладываются два РЧ поля — постоянное по протонному каналу и переключаемое по каналу ядер ^{13}C (рис. 1). Амплитуда второго изменяется от некоторого максимального значения до нуля, обеспечивая адиабатическое прохождение через АПУ. Для повышения эффективности данной импульсной последовательности был выполнен расчет оптимального профиля 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: $\xi_{ij} = \frac{1}{2\pi(E_i - E_j)} \cdot \left\langle i \left| \frac{d}{dt} \right| j \right\rangle$. Значение ξ_{ij} резко возрастает вблизи АПУ, поскольку в данной области разница энергий $E_{i,j}$ уровней уменьшается, и происходит смешивание состояний, т.е. увеличивается $d|j\rangle/dt$. Зафиксировав значение параметра адиабатичности, можно вычислить профиль, который обеспечит медленное переключение поля вблизи АПУ и быстрое вне области АПУ, сокращая общее время переноса при сохранении его эффективности. Примеры подобных оптимальных профилей и результаты численного моделирования динамики ^{13}C поляризации в процессе конверсии для двух изотопмеров диметилового эфира малеиновой кислоты представлены на рисунке 2.

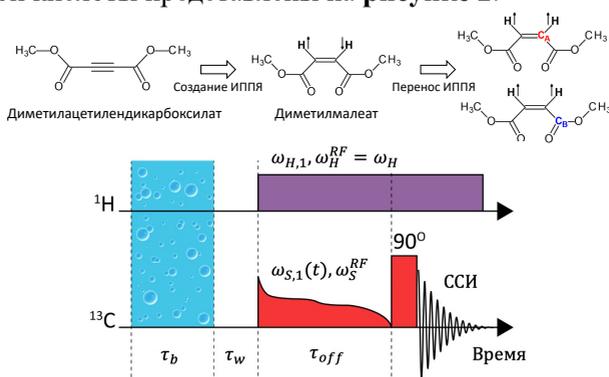


Рисунок 1. Гидрирование диметилацетилендикарбоксилата с получением диметилового эфира малеиновой кислоты (сверху). Импульсная последовательность для адиабатического переноса ИППЯ на ядро ^{13}C в сильном поле ЯМР спектрометра (снизу).

Используя все возможные методы оптимизации, удалось получить усиление сигнала ядра ^{13}C в 43 200 раз для изоотомера C_A , что соответствует 35.2 % поляризации ^{13}C , и 29 000 раз для изоотомера C_B , что соответствует 23.5 % поляризации. Спектры ^{13}C ЯМР продукта после переноса ИППЯ представлены на **рисунке 3**. Видно, что сигналы гиперполяризованных молекул значительно интенсивней сигналов ядер ^{13}C растворителя, присутствующих в гораздо большей концентрации.

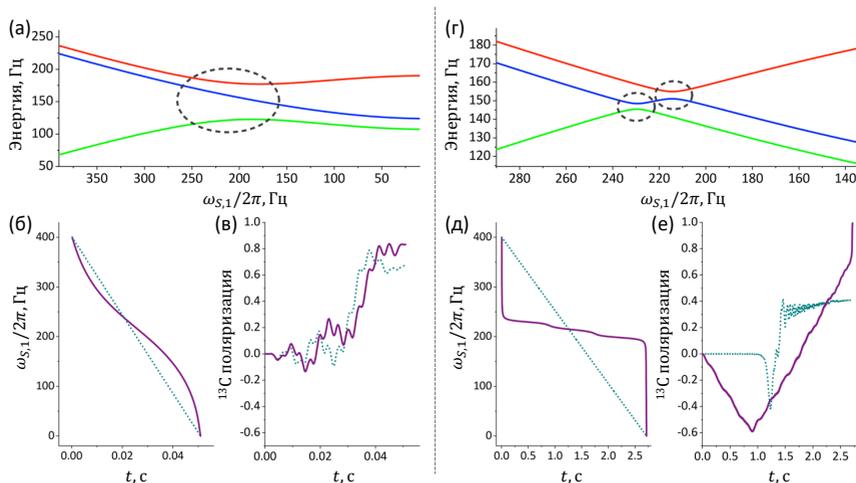


Рисунок 2. Уровни энергии спиновой системы как функция амплитуды ^{13}C РЧ возбуждения ω_S^1 для изоотомера C_A (а) и C_B (г). Линейный профиль переключения РЧ поля (точки) и профиль с постоянной адиабатичностью (сплошная линия) для изоотомера C_A (б) и C_B (д). Поляризация гетероядра как функция времени в случае линейного профиля (точки) и профиля с постоянной адиабатичностью (сплошная линия) для изоотомера C_A (в) и C_B (е).

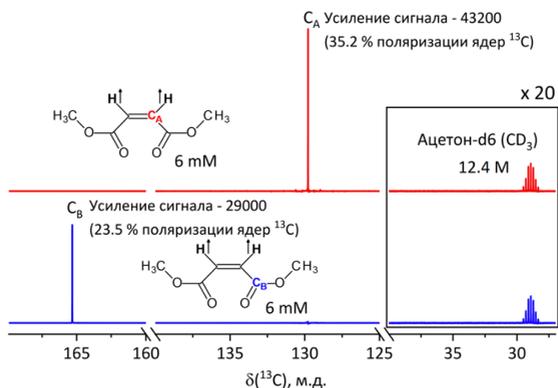


Рисунок 3. Гиперполяризованный ^{13}C ЯМР спектр изомеров C_A и C_B диметилового эфира малеиновой кислоты.

В *разделе 3.2* представлены результаты численных расчетов и экспериментов по конверсии ИППЯ в поляризацию ядер ^{13}C в ультраслабых магнитных полях. Исследовались три экспериментальные схемы, представленные на **рисунке 4**. Одной из целей проведения экспериментов с ИППЯ в ультраслабом поле в данной работе был сравнительный анализ эффективности различных методов переноса ИППЯ. В связи с этим, протоколы экспериментов были максимально приближены друг к другу для минимизации влияния экспериментальной ошибки.

В методе непрерывного гидрирования в ультраслабом поле (протокол 1), описанном в *разделе 3.2.1*, когерентный перенос синглетного порядка происходит одновременно с образованием молекул продукта в реакции гидрирования. Данный метод переноса ИППЯ можно считать наиболее простым, поскольку интенсивность магнитного поля, в котором проводится гидрирование является единственным экспериментальным параметром, определяющим когерентную спиновую динамику. Тем не менее, неселективное распределение поляризации среди всех состояний, участвующих в АПУ, ограничивает его эффективность. В связи с этим разумное использование когерентной динамики системы в эксперименте с мгновенным переходом в область АПУ по протоколу 2 дает возможность повысить эффективность переноса ИППЯ. Такой переход, описанный в *разделе 3.2.2*, приведет к возникновению когерентностей между спиновыми состояниями, смешанными в АПУ, что позволяет селективно распределить поляризацию. При

этом наиболее широко используемым способом конверсии ИППЯ в ультраслабых полях является метод адиабатической развертки поля, представленный в разделе 3.2.3 и исследованный с помощью протокола 3.

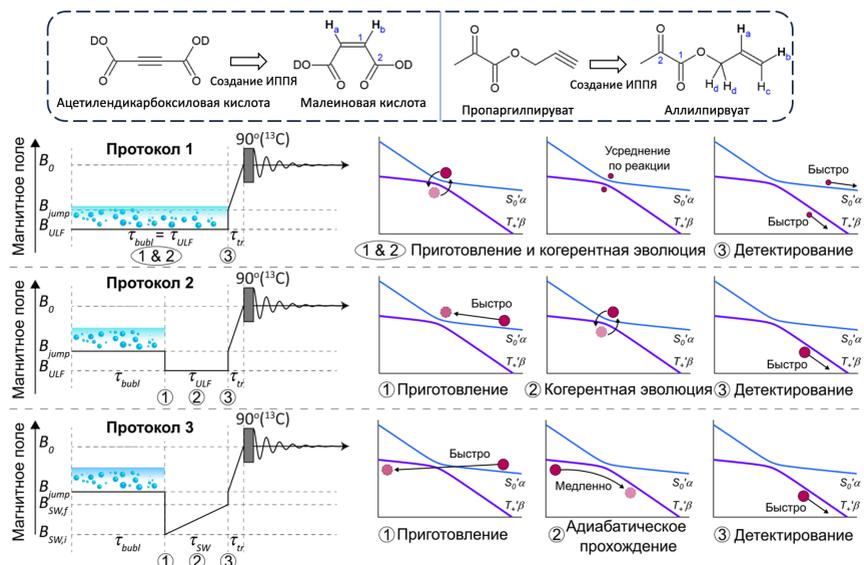


Рисунок 4. Реакции гидрирования, использованные для изучения переноса ИППЯ в ультраслабых магнитных полях (сверху). Экспериментальные протоколы для переноса ИППЯ путем: непрерывного гидрирования в ультраслабом поле (протокол 1), когерентного обмена в АПУ (протокол 2) и адиабатической развертки поля (протокол 3). Справа от экспериментальных протоколов приведены упрощенные схемы динамики населенностей спиновых состояний.

Полученные уровни как экспериментально наблюдаемой, так и рассчитанной численно ^{13}C поляризации в описанных экспериментальных протоколах представлены в таблице 1. Как видно, метод адиабатической развертки показывает наибольшую эффективность для рассмотренных спиновых систем. Результаты расчетов показывают, что данный подход обеспечивает оптимальную спиновую динамику переноса поляризации, тогда как экспериментально наблюдаемые уровни поляризации

свидетельствуют также о низкой чувствительностью метода к экспериментальным погрешностям.

Таблица 1. Экспериментально наблюдаемые и теоретически предсказанные (в скобках) уровни поляризации ^{13}C для рассматриваемых молекул продуктов.

Молекулы	Протокол 1	Протокол 2	Протокол 3
$^{13}\text{C}_1$ -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 %)
$^{13}\text{C}_2$ -аллилпируват	$-0.3 \pm 0.05 \%$ (-1.5 %)	$-0.03 \pm 0.01 \%$	$-1.3 \pm 0.04 \%$

В разделе 3.2.4 представлен простой подход для оптимизации профиля развертки магнитного поля, позволяющий учитывать полную спиновую систему без необходимости точного анализа структуры соответствующих АПУ (рис. 5). Первый шаг для нахождения профиля заключается в расчете полевой зависимости поляризации ^{13}C в экспериментах с гидрированием при фиксированном поле (протокол 1), амплитуда которой указывает на эффективность смешивания спиновых состояний в данном поле. Поэтому для выполнения условия адиабатичности необходимо медленно проходить области с высокой амплитудой, т. е. функция распределения времени развертки по полю должна быть пропорциональна значению полевой зависимости. Интегрирование этой функции позволяет получить зависимость времени переключения от поля $t_{SW}(B_{ULF})$, обратная функция к которой дает требуемый профиль развертки $B_{ULF}(t_{SW})$. В эксперименте с таким "оптимальным" профилем была достигнута большая эффективность переноса, чем с линейным профилем – поляризация $^{13}\text{C}_1$ -аллилпирувата была увеличена с 6.8 % до 8.7 %.

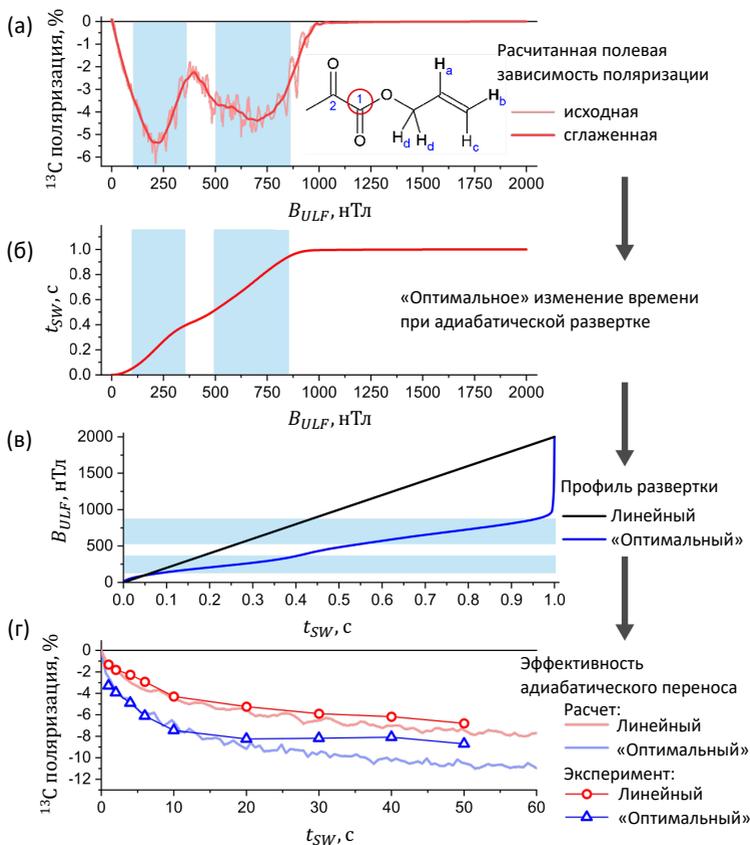


Рисунок 5. Смоделированная полевая зависимость поляризации ^{13}C для аллилпирувата (а). "Оптимальное" изменение времени полученное путем интегрирования смоделированной полевой зависимости (б). Линейный и "оптимальный" профиль развертки поля (в). Зависимость поляризации ^{13}C от длительности развертки поля с линейным и "оптимальным" профилями (г).

В *разделе 3.3* описываются эксперименты по созданию ядерной спиновой гиперполяризации азобензола в методе SABRE. Возможность прямой гиперполяризации ядер *цис*-азобензола с помощью SABRE демонстрируется в *разделе 3.3.1*. Поскольку при нормальных условиях азобензол находится в более стабильной *транс*-конформации, перед началом SABRE экспериментов образец облучался светом с длиной волны 308 нм для создания большой

ядер ^{15}N (усиление сигнала в 9 200 раз). (рис. 7). Стоит отметить, что существенное усиление сигнала наблюдается не только для ядер ^{15}N , но и для ядер ^{13}C (при естественном содержании изотопа) и даже для ядер ^1H . Для ядер ^{13}C наибольшая поляризации, равная 0.8 % (1 000 раз усиление) наблюдается для четвертичных углеродов, имеющих значительные константы спин-спиновой связи с ядрами ^{15}N и ненулевые константы связи с гидридными протонами.

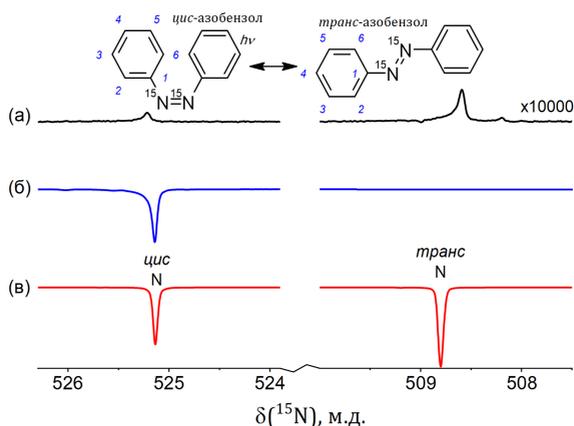


Рисунок 7. Спектры ^{15}N ЯМР образца, содержащего $^{15}\text{N}_2$ -азобензол в метаноле- d_4 с добавлением катализатора IrImes и диметилсульфоксида- d_6 после облучения светом в течение 10 минут, измеренные для термической поляризации в поле 9.4 Тл (а), спектры после проведения SABRE без облучения светом при барботировании параводородом (б), и спектры после проведения фото-SABRE при облучении светом (в).

В разделе 3.4 описываются эксперименты по созданию создания поляризации ядер ^{15}N в методе SABRE с помощью осциллирующих поперечных магнитных полей в полях порядка 100 микротесла. Схема эксперимента SLIC-SABRE в слабом магнитном поле представлена на рисунке 8 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 поле

спектрометра и детектирование ЯМР спектра. В “нерезонансном” варианте метода 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 “резонансном” подходе 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”.

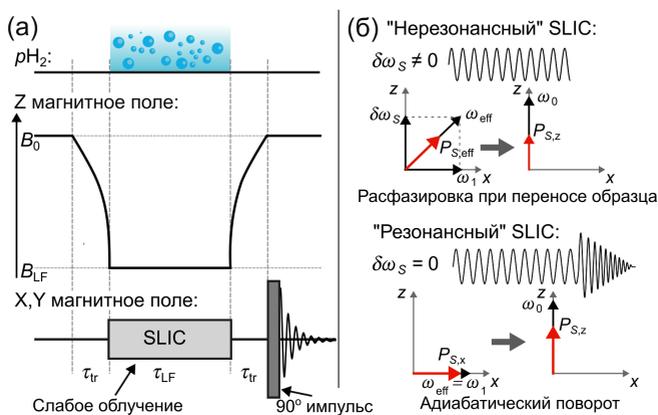


Рисунок 8. Экспериментальная схема SLIC-SABRE в слабом магнитном поле (а). Два варианта реализации метода SLIC со схематическим изображением формы SLIC импульса и динамики создания поляризации гетероядра (б).

Оценка эффективности SLIC-SABRE в слабом поле была проведена на образце, содержащем в равных количествах смесь пиридина и полностью дейтерированного пиридина (рис. 9). В качестве основы для сравнения была измерена полевая зависимость поляризации ядер ^{15}N свободного пиридина в полях порядка микротесла внутри магнитного экрана (эксперимент SABRE-SHEATH). В “нерезонансной” версии SLIC-SABRE наблюдалась ожидаемая картина – отсутствие поляризации на резонансе и два

максимума разного знака при определенных значениях резонансной отстройки. “Резонансный” вариант эксперимента позволил достичь наибольшей поляризации ядер ^{15}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».

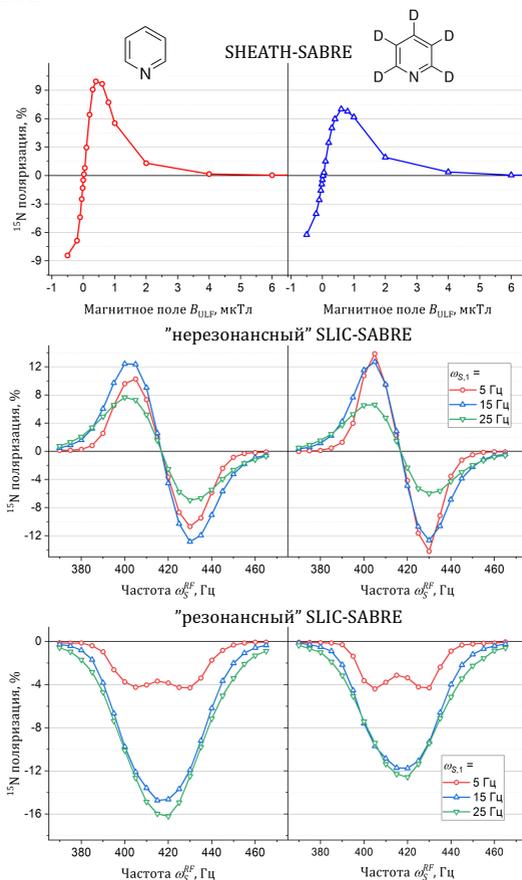


Рисунок 9. Полевая зависимость поляризации ядер ^{15}N в эксперименте SHEATH-SABRE (вверху) для пиридина (слева) и пиридина- d_5 (справа). Зависимость поляризации ядер ^{15}N от частоты SLIC импульса в эксперименте SLIC-SABRE в поле 100 мкТл для пиридина (слева) и пиридина- d_5 (справа) для "нерезонансного" (в середине) и "резонансного" (внизу) варианта.

Также с применением SLIC-SABRE были проведены эксперименты по одновременной поляризации ядер ^{15}N в молекулах метронидазола, тинидазола, секнидазола и орнидазола. Данные противомикробные препараты имеют сходное строение и являются оптимальными субстратами для SABRE экспериментов. Наибольшая поляризация в 10 % наблюдалась для тинидазола, что может объясняться более оптимальными скоростями обмена с активным комплексом для данной молекулы. Как и в экспериментах с пиридином, “резонансный” вариант метода SLIC позволил достичь большей поляризации, чем “нерезонансный”.

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}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}C малеата и многоспиновой системы ^{13}C аллилпирувата показано, что и в численных расчетах, и в эксперименте подход адиабатической развертки ультраслабого поля позволяет достигнуть наибольшей поляризации ядер ^{13}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}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}N для *цис*-азобензола и 3 % для *транс*-азобензола.

5) Предложен метод эффективного переноса поляризации на ядра ^{15}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}N для пиридина, никотинамида, а также ряда противомикробных препаратов, включая метронидазол, тинидазол, секнидазол и орнидазол, что демонстрирует универсальность метода.

Публикации автора по теме диссертации

1. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. Polarization of low- γ 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*- ^{15}N , $^{15}\text{N}'$ -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.

Тезисы докладов автора по теме диссертации

1. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V., Ivanov K.L. Polarization of low- γ nuclei by transferring spin order of parahydrogen at

- high magnetic fields. // EuroIsmar 2019, 25-30 August 2019 (*Berlin, Germany*)
2. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V., Vieth H-M., Ivanov K.L. Transfer of parahydrogen-induced polarization at high and low magnetic fields to create hyperpolarized biomolecules// Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics VI International School for Young Scientists 2020, 10-15 September 2020 (*online*)
 3. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V. Modern methods of transferring nuclear polarization induced by parahydrogen utilizing ultra-low magnetic fields // Modern development of magnetic resonance, 1-5 November 2021 (*Kazan, Russia*)
 4. **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 // Modern development of magnetic resonance, 3-7 October 2022 (*Kazan, Russia*)
 5. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V. Parahydrogen induced hyperpolarization of insensitive nuclei at ultralow magnetic fields // Modern Trends in Organometallic Chemistry and Catalysis (Mark Volpin), 23-27 May 2023 (*Moscow, Russia*)
 6. **Kozinenko V.P.**, Kiryutin A.S., Yurkovskaya A.V. Advantages of photo-sabre: long lived hyperpolarization of trans 15N2-azobenzene is formed by combining sabre of cis-isomer with in situ photoisomerization in ZULF // International Hyperpolarization Conference (HYP) 2023, 24-28 September 2023 (*Leipzig, Germany*)

Литература

1. Nagel, L. Parahydrogen-Polarized [1-¹³C]Pyruvate for Reliable and Fast Preclinical Metabolic Magnetic Resonance Imaging / L. Nagel [et al.] // *Advanced Science*. – 2023. – P. 2303441.
2. 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.
3. Beharry, A.A. Azobenzene photoswitches for biomolecules / A.A. Beharry, G.A. Woolley // *Chemical Society Reviews*. – 2011. – Vol. 40. – № 8. – P. 4422.
4. Schmidt, A.B. Over 20% Carbon-13 Polarization of Perdeuterated Pyruvate Using Reversible Exchange with Parahydrogen and Spin-Lock Induced Crossing at 50 μ T / A.B. Schmidt [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2023. – Vol. 14. – № 23. – P. 5305–5309.