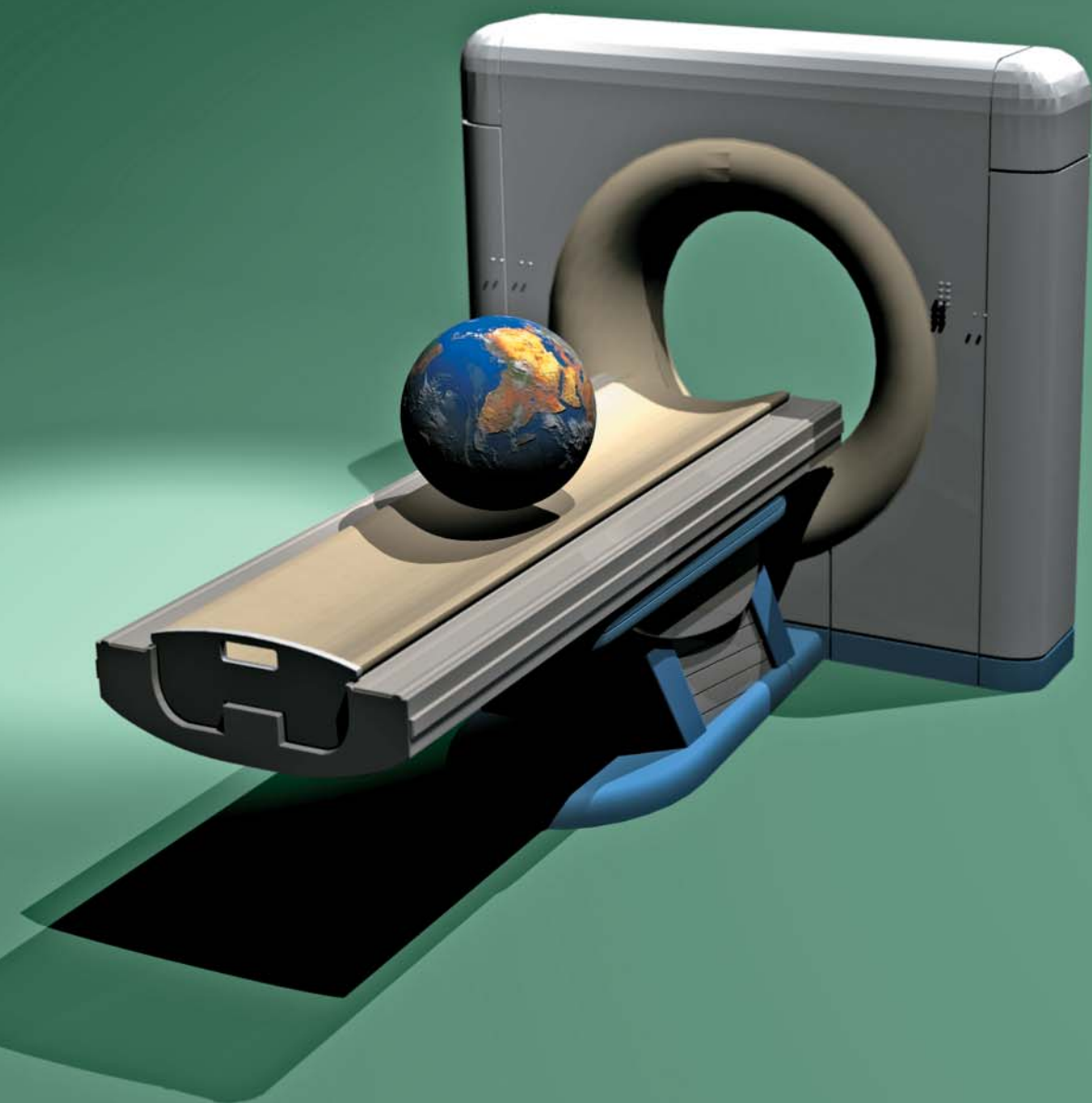


# ЯМР: раздвигая границы возможного



Ядерный магнитный резонанс является одним из основных спектроскопических методов в физической химии, ЯМР-спектроскопия уже давно превратилась в один из рутинных инструментов исследований в области химии, биологии, фармакологии, материаловедения и других дисциплин, а магнитно-резонансная томография стала неотъемлемой составляющей современной медицинской диагностики. Намечившаяся в последнее время тенденция к стиранию границ в магнитном резонансе, связанная с перекрестным использованием методик ЯМР жидкости, твердого тела и томографии, приводит к новым открытиям и новым научным проблемам



Одним из ведущих спектроскопических методов в химии является ядерный магнитный резонанс. ЯМР-спектроскопия растворов широко применяется при исследовании динамических процессов, включая разнообразные химические и биохимические реакции, конформационные превращения биомолекул, процессы формирования третичной структуры белков, взаимодействие биомолекул с другими молекулами и др. За развитие методов ЯМР для определения трехмерной структуры биомолекул в жидкости присуждена Нобелевская премия по химии (Курт Вютрих, 2002). ЯМР твердого тела нашел широкое применение при

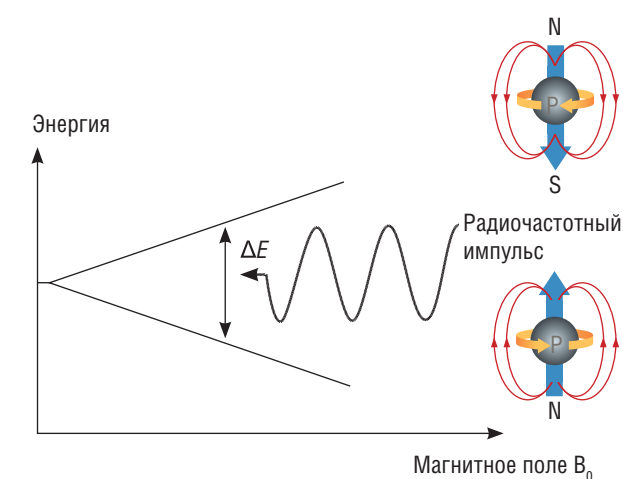
КОПТЮГ Игорь Валентинович – доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель научного направления «Магнитно-резонансная микротомография» МТЦ СО РАН. Автор и соавтор более 200 научных работ и 12 монографий и сборников

© И. В. Коптюг, 2023

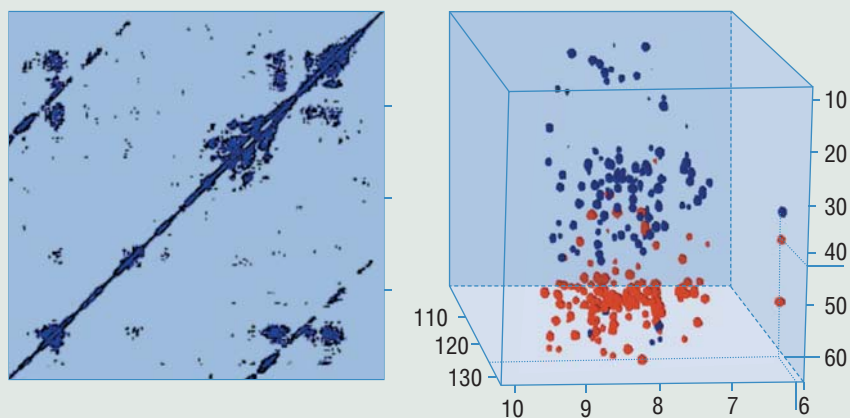
Ядерный магнитный резонанс основан на эффекте поглощения радиочастотной энергии веществом во внешнем магнитном поле. Этот процесс сопровождается изменением ориентации магнитных моментов (спинов) ядер. Отличие от сигнала эталонного вещества называется химическим сдвигом, который напрямую зависит от строения изучаемого соединения. Химический сдвиг обычно крайне мал и потому измеряется в миллионных долях (1 м. д. = 0,0001%). Современная ЯМР-спектроскопия устремлена во все более высокие магнитные поля, и к настоящему времени уже созданы приборы с частотой протонного ЯМР в 1000 МГц. Такое стремление объясняется тем, что отношение сигнал/шум в экспериментальном спектре ЯМР определяется энергией взаимодействия ядерных спинов с магнитным полем, пропорциональной величине этого поля. Спектральное разрешение также выше в более высоких полях

**Ключевые слова:** ЯМР-спектроскопия, магнитно-резонансная томография, МРТ, ЯМР-мышь, «ЯМР наизнанку», параводород, поляризация ядер.

**Key words:** NMR spectroscopy, magnetic resonance imaging, MRI, inside-out NMR, parahydrogen, nuclear spin polarization



Величина энергии  $\Delta E$ , необходимой для переориентации спина ядра, меняется в зависимости от его химического окружения. Так, ядра атомов одного сорта в различных окружениях в молекуле дают различные сигналы ЯМР



Многомерный ЯМР позволяет решать задачи, перед которыми «пасует» одномерная ЯМР-спектроскопия. Двумерный (слева) и трехмерный (справа) спектры ЯМР помогают решать проблему перекрытия линий в одномерном спектре ЯМР, возникающую в белковых молекулах вследствие большого числа атомов в сравнении с простым органическим соединением

исследовании состава и структуры различных материалов, их физико-химических превращений, химических реакций на поверхности гетерогенных катализаторов и многого другого. Такой раздел ЯМР, как *магнитно-резонансная томография*, позволяет неразрушающим и безвредным образом изучать морфологию и свойства живых объектов и протекающие в них сложные биопроцессы, включая течение крови, развитие различных патологий тканей, функциональную активность головного мозга и т. п.

Чтобы подчеркнуть полную безопасность исследования для пациентов, ЯМР-томографии пришлось потерять в своем названии букву «Я» и назваться «МРТ». За создание метода МРТ Нобелевская премия была присуждена по физиологии/медицине (Пол Лаутербур и сэр Питер Мансфилд, 2003).

Однако существуют факторы, которые сдерживают более широкое развитие и применение ЯМР в науке и практике. К ним относятся высокая стоимость современного оборудования, необходимость размещения объекта исследования в буквальном смысле внутри прибора и ряд других факторов. В результате современные приборы для ЯМР и МРТ практически невозможно использовать, например, в условиях промышленного производства.

Тем не менее потенциал применения ЯМР на производстве весьма велик. Заманчивой является возможность определения химического состава различных смесей с непрерывным отбором проб из реактора или даже непосредственно внутри технологического трубопровода; свойств полимеров и эластомеров в условиях технологической линии; степени гидратации бетонных изделий и т. п. К сожалению, многие материалы технологических линий и процессов делают их несовместимыми с исследованиями методом ЯМР.

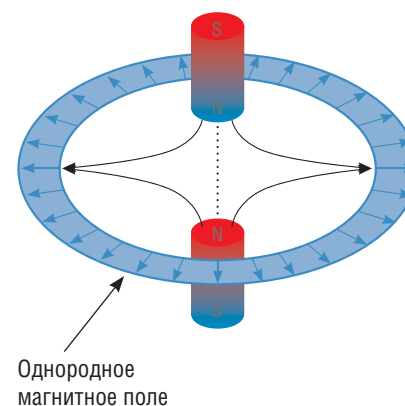
В частности, высокочастотное электромагнитное поле почти не проникает внутрь проводников, что не позволяет получать сигнал ЯМР от веществ в металлических контейнерах и трубопроводах. Значительные количества ионов железа в обычном цементе и различных парамагнитных ионов в горных породах негативным образом отражаются на величине регистрируемого сигнала.

Таким образом, лишь условия лаборатории (клиники) являются оптимальными для работы современных ЯМР-спектрометров и томографов, а за их пределами они, на первый взгляд, оказываются практически бесполезными. К счастью, это не так.

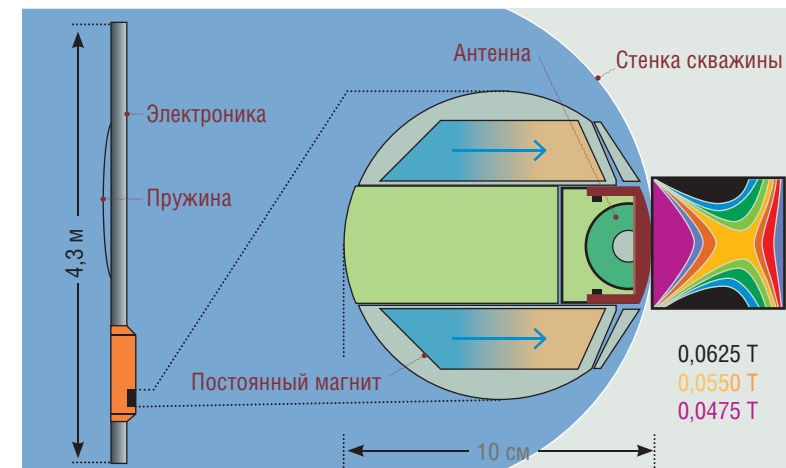
## Непривычный ЯМР

В последние годы в ЯМР наметился ряд новых тенденций, направленных на преодоление имеющихся ограничений. Примечательно, что порой это приводит к опровержению некоторых «непреложных истин». Так, в традиционном ЯМР дорогостоящий прибор в некотором смысле является «центром вселенной», вокруг которого «вращаются» и которому подчиняются объекты исследования. И если объект или процесс по характеристикам (форме, размеру, составу, температуре, давлению и т. п.) не удастся вписать в условия, диктуемые прибором, то его исследование методом ЯМР невозможно.

Создание открытых и мобильных систем для ЯМР и МРТ привело в некотором смысле к смене основной парадигмы, в результате чего в центре оказался объект исследования. Для решения широкого спектра задач за пределами исследовательской лаборатории в большинстве случаев приходится отказываться от применения высокопольных сверхпроводящих магнитов.



Основной принцип «ЯМР наизнанку» состоит в том, что геометрия магнитов и конфигурация их взаимного расположения выбираются таким образом, чтобы область однородности постоянного магнитного поля размещалась вне устройства. Молекулы, находящиеся именно в этой области, и дают сигнал ЯМР, регистрируемый в эксперименте. Например, конфигурация постоянного и переменного магнитных полей датчика, используемого для ЯМР-каротажа буровых скважин, такова, что объем, в пределах которого выполнены условия резонансного поглощения энергии ядерными спинами молекул, расположен внутри горной породы, образующей стенки скважины. По: (Jackson et al., 1980; Kleinberg et al., 1992)



Использование постоянных магнитов позволяет создавать относительно недорогие специализированные устройства, предназначенные для исследования конкретного объекта и оптимизированные для решения той или иной конкретной задачи. Сегодня достигнут значительный прогресс на пути создания переносных (до 10–20 кг) и мобильных (несколько десятков кг) систем.

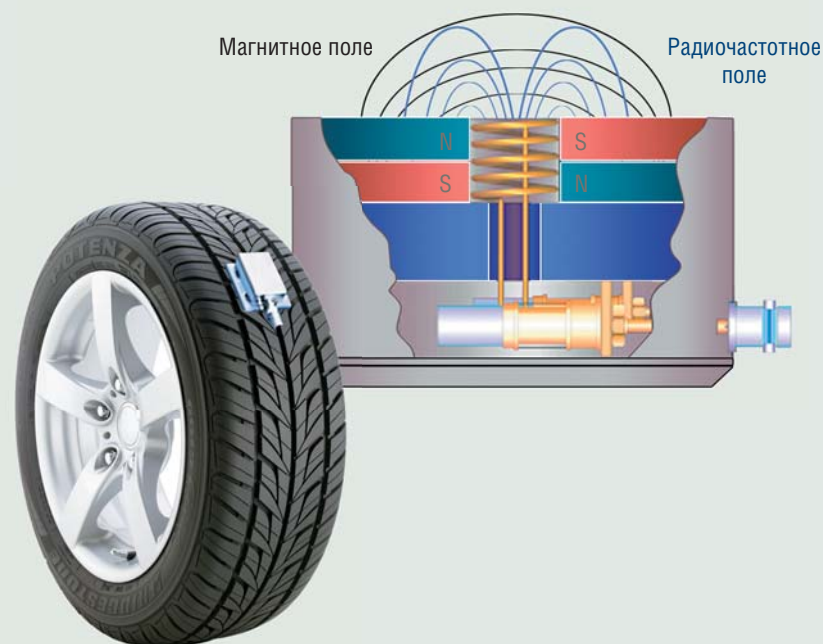
Другая важная концепция – «ЯМР наизнанку» – позволяет отказаться от необходимости размещения объекта исследования внутри датчика (магнита). Для этого применяются магниты и радиочастотные катушки, которые создают соответствующую чувствительную область хоть и вблизи устройства, но за его пределами. Отказ от использования сверхвысоких полей, на первый взгляд, противоречит присущему ЯМР стремлению во все более высокие поля для повышения чувствительности и спектрального разрешения, однако преимущества, связанные с мобильностью устройства и отсутствием ограничений на размер и форму исследуемого объекта, могут в ряде случаев оказаться куда важнее.

Двигателем прогресса в области «ЯМР наизнанку» стали нефтедобыча и нефтеразведка. Именно для ЯМР-каротажа нефтяных скважин впервые было создано устройство, опускаемое в буровую скважину на глубину до 10 км для изучения наличия и свойств жидкой фазы (нефти и воды) в породе, характеристик порового пространства стенок скважины и взаимодействия жидкости с поверхностью пор.

На основе этой концепции создан также и ЯМР-эндоскоп, который имеет внешний диаметр 1,7 мм (!) и может вводиться в крупные сосуды человека для диагностики их состояния.

Одной из наиболее успешных разработок мобильного ЯМР стала ЯМР-мышь – портативный датчик, первоначально предназначавшийся для исследования свойств резинотехнических изделий. С его помощью можно определять состояние покрышки автомобиля без демонтажа колеса, степень поперечного сшивания цепей полимера, исследовать процессы вулканизации, старения полимеров и их набухания в растворе.

ЯМР-мышь характеризуется значительной неоднородностью приложенного постоянного магнитного поля, что в традиционном ЯМР считается большим недостатком. Однако именно большой градиент магнитного поля устройства позволяет исследовать такие нетрадиционные объекты, как



Устройство ЯМР-мышь имеет датчик размером с ладонь. П-образный магнит создает постоянное магнитное поле, которое быстро уменьшается по направлению от поверхности датчика. Значительный градиент магнитного поля в комбинации с переменным магнитным полем определяет в пространстве небольшую область чувствительности датчика, которая находится за его пределами. Изменение частоты переменного поля позволяет перемещать чувствительную область вглубь исследуемого объекта. Значительная величина градиента постоянного поля полезна и для МРТ-исследований твердых материалов с пространственным разрешением в десятки микрон.  
По: (Blumich et al., 2008)

армированные стальным кордом покрышки, железобетонные конструкции, конвейерные ленты и т. п. Ведь многие исследования невозможно выполнить с использованием традиционного ЯМР в однородном поле – изучить, скажем, состояние знаменитой Моны Лизы, так как для этого потребуются отделить от объекта исследования небольшой фрагмент. Бесконтактные измерения с помощью устройств типа ЯМР-мышь переводят такие исследования в разряд возможных.

## Игра на магнитном поле

Обычно для получения высокого спектрального разрешения в ЯМР-спектроскопии требуется максимально однородное магнитное поле. Таким образом, может показаться, что устройства типа ЯМР-мышь с однородностью поля в десятки и сотни миллионных долей неприменимы для ЯМР-спектроскопии. Но и это препятствие преодолимо, причем как за счет создания устройств с более однородными магнитными полями, так и за счет развития и применения новых методов регистрации сигнала в существенно неоднородных магнитных полях. Поэтому в настоящее время развитие методов спектроскопии ЯМР в неоднородных магнитных полях занимает важное место в магнитном резонансе.

Достижения современного ЯМР способны обеспечить приемлемую чувствительность даже в слабых и сверхслабых магнитных полях, включая ЯМР в магнитном поле Земли (0,00005 Тл). Именно на пути в слабые и сверхслабые магнитные поля специалистов поджидал один из сюрпризов. До недавнего времени считалось, что такие поля бесполезны для спектроскопических приложений ЯМР. Действительно, различия в химических сдвигах ядер в низких полях наблюдать не удается. Но было экспериментально установлено, что спин-спиновые взаимодействия ядер



Этот миниатюрный спектрометр ЯМР с полем 2 Тл позволяет, например, измерить спектр ЯМР  $^1\text{H}$  этанола на частоте 44,2 МГц. Сорок лет назад спектры такого качества можно было получить только с помощью ЯМР высокого разрешения. Однородность постоянного магнитного поля достаточна для различения сигналов от трех групп молекулы.  
По: (Blumich et al., 2008)

обеспечивают достаточное количество спектральной информации для интерпретации спектров ЯМР, регистрируемых в полях порядка 0,01 Тл.

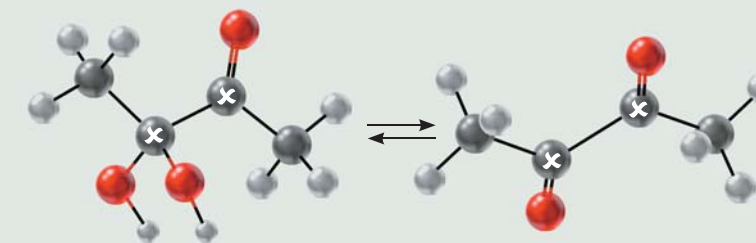
Развитие приложений в слабых полях позволяет преодолеть и еще одно ограничение ЯМР, казавшееся неизбежным, а именно невозможность регистрации сигнала ЯМР от объекта, заключенного в металлический контейнер.

## Спиновые долгожители

При нормальных условиях для протонов в жидкости времена ядерной спиновой релаксации обычно лежат в секундном диапазоне. Это означает, что спиновая система полностью «забывает» о любом внешнем воздействии через несколько секунд. Однако многие современные ЯМР- и МРТ-эксперименты построены на том, что регистрация сигнала происходит не сразу, а спустя определенное время после исходного возбуждения спиновой системы. Из-за «забывчивости» спиновой системы не удается измерять низкие скорости течения жидкостей и газов, малые коэффициенты диффузии молекул, слабые межспиновые взаимодействия и многое другое. И до недавнего времени казалось, что это серьезное ограничение обойти уж точно невозможно.

Неожиданный, но приятный сюрприз нашелся и здесь. Оказалось, что даже в жидкости при нормальных условиях спиновая система может «помнить» о своей предистории многократно дольше, чем это диктуется временами релаксации ядерных спинов. Это связано с существованием так называемых *долгоживущих состояний* спиновых систем, времена жизни которых могут превышать времена обычной релаксации на порядок и более.

Надо сказать, что в настоящее время удивление вызывает не сам



Манипулировать долгоживущими состояниями можно с помощью химической реакции. В исходной молекуле диацетил  $\text{CH}_3^{13}\text{C}(=\text{O})^{13}\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$  с карбонильными группами, мечеными изотопом  $^{13}\text{C}$ , два атома  $^{13}\text{C}$  являются эквивалентными и формируют долгоживущее состояние с  $I=0$ . При добавлении воды образуется моногидрат  $\text{CH}_3^{13}\text{C}(=\text{O})^{13}\text{C}(\text{OH})_2\text{CH}_3$ , в котором два атома  $^{13}\text{C}$  становятся неэквивалентными. Это позволяет манипулировать состояниями спинов этих ядер и регистрировать их сигнал ЯМР. Добавление ацетона вновь сдвигает равновесие в сторону диацетилла и воссоздает долгоживущее состояние с  $I=0$ .  
По: (Warren et al., 2009)

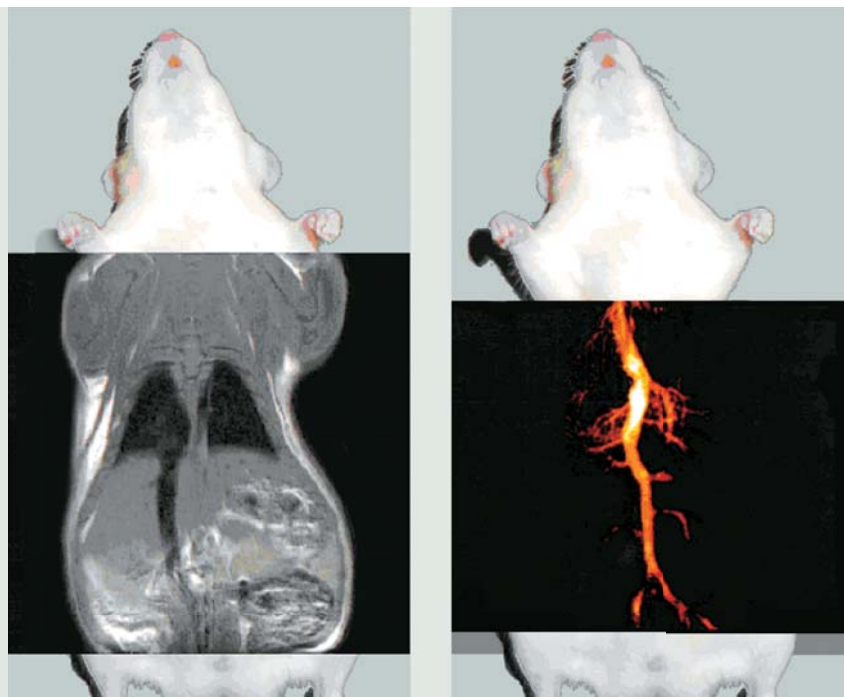
факт существования таких состояний, а то, каким же образом сообществу специалистов в области ЯМР удавалось не замечать этого на протяжении многих лет. Ведь объяснение природы таких состояний достаточно очевидно: это ядерные спиновые состояния групп эквивалентных атомов с нулевым полным суммарным спином. А если нет спина, то нет и ядерной спиновой релаксации.

В результате время жизни такого состояния может на порядки превышать времена спиновой релаксации, что можно использовать для значительного расширения применимости ЯМР к исследованию медленных физических и химических процессов. Однако не все так просто, поскольку состояние с нулевым спином не регистрируется в ЯМР-эксперименте. Трюк состоит в том, чтобы на время приложения импульсной последовательности и регистрации сигнала сделать ядра неэквивалентными, а в промежутке между различными интервалами эволюции спиновой системы эту эквивалентность восстановить.

Такая операция возможна благодаря, например, воздействию постоянного и переменного магнитных полей, обратимых химических превращений и др. Интересные примеры использования долгоживущих состояний включают исследование медленных диффузионных процессов и динамики медленных химических превращений. Однако это лишь первые шаги, и научное сообщество ожидает новые достижения и сюрпризы.

## Параводородный усилитель

Другим примером долгоживущего спинового состояния является *пара-водород* – ядерный спиновый изомер молекулы  $\text{H}_2$  с нулевым суммарным спином. Для использования особых свойств параводорода также необходимо сделать два атома водорода неэквивалентными. Так, еще в 1987 г.



Магнитно-резонансная томография позволяет по сигналу ЯМР  $^1\text{H}$  получить анатомическое изображение мыши (слева) и ангиографическое изображение кровеносных сосудов по сигналу ЯМР  $^{13}\text{C}$  после внутривенного введения гиперполяризованного контрастного агента (справа). Ангиографическое изображение получено за 0,9 с благодаря огромному усилению сигнала ЯМР в результате эффекта ИППЯ для диметилового эфира малеиновой кислоты, возникающего при гидрировании соединения-предшественника параводородом.  
По: (Golman et al., 2001)

было показано, что использование параводорода в гомогенных каталитических реакциях гидрирования непредельных соединений приводит к значительному усилению сигнала ЯМР в продуктах реакции – так называемой индуцированной параводородом поляризации ядер (ИППЯ). Это усиление может составлять порядка 10 000 в магнитных полях современных ЯМР-спектрометров.

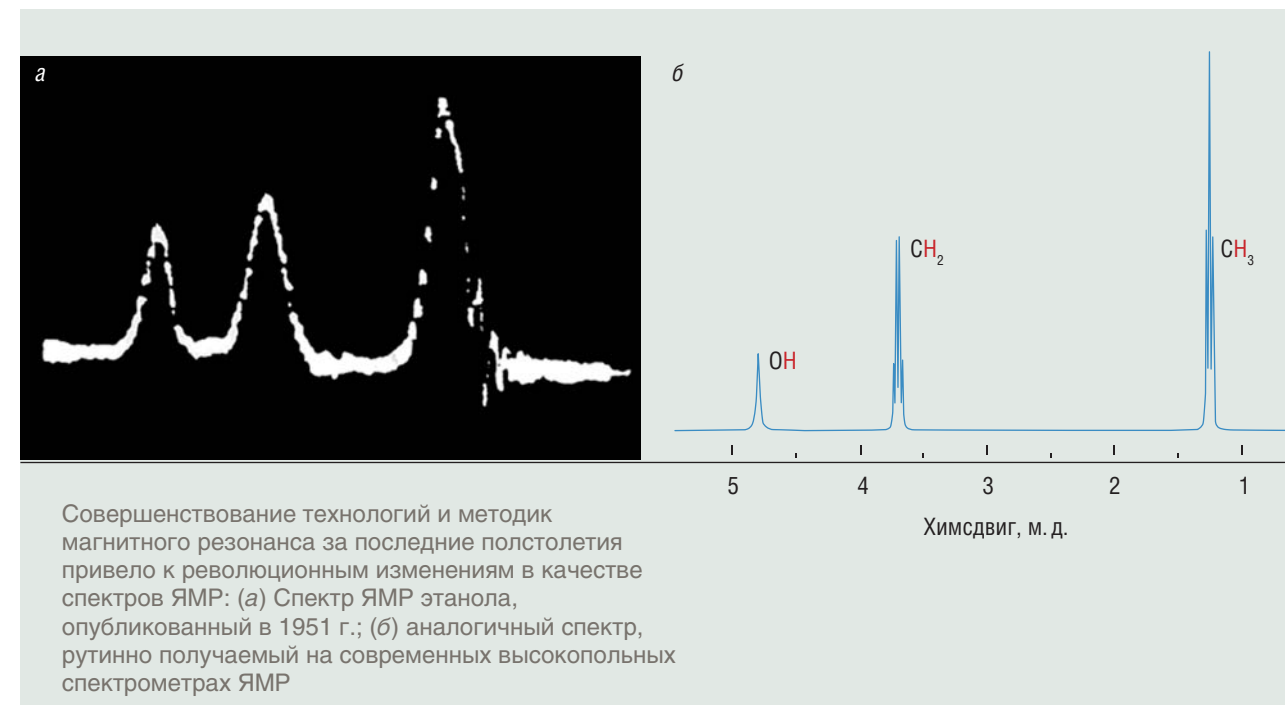
Такое огромное усиление сигнала значительно расширяет возможности применения ЯМР в гомогенном катализе, позволяя более детально исследовать механизмы гомогенных каталитических процессов, регистрировать методом ЯМР короткоживущие промежуточные состояния и т. п. Более того, усиление сигнала ЯМР на несколько порядков имеет серьезные последствия и для МРТ. Так, в настоящее время ведутся работы по исследованию методами ЯМР/МРТ процессов метаболизма *in vivo*, когда введенное в живой организм поляризованное вещество претерпевает там биохимические превращения, позволяя усиливать сигнал ЯМР продуктов этих превращений. Для этих же целей используются и другие методы гиперполяризации ядерных спинов.

В то же время в гетерогенных каталитических процессах получение ИППЯ до недавнего времени считалось невозможным, поскольку гетерогенным катализаторам промышленного гидрирования присущ совершенно иной механизм реакции, который, казалось, не дает шансов для наблюдения ИППЯ. Однако и на этом

направлении у «невозможного» удалось отбить новые территории для научных исследований и практических приложений магнитного резонанса. Оказалось, что для ряда гетерогенных катализаторов гидрирования можно наблюдать усиление сигнала ЯМР продукта при использовании в реакции параводорода.

Этот примечательный факт делает возможным разработку новых высокочувствительных методов ЯМР для каталитических исследований, а также создание высокоэффективных процессов для получения гиперполяризованных чистых жидкостей и газов, на основе которых можно развивать новейшие биомедицинские и технические приложения метода ЯМР/МРТ. Развитие методов гиперполяризации ядерных спинов имеет особую актуальность в контексте упомянутых выше исследований и приложений в слабых и сверхслабых магнитных полях, где вопросы чувствительности имеют первоочередное значение, а получаемые коэффициенты усиления сигнала еще выше.

Итак, магнитный резонанс преодолел очередной виток спирали своего развития. В результате мы получили возможность регистрировать в слабых и неоднородных магнитных полях спектры примерно такого же качества, которое в ЯМР высокого разрешения было доступно полвека назад. Возникает вопрос: а является ли такое «развитие» движением вперед? Без сомнения, да. Технологии и методики постоянно совершенствуются, и еще через некоторое



Совершенствование технологий и методик магнитного резонанса за последние полстолетия привело к революционным изменениям в качестве спектров ЯМР: (а) Спектр ЯМР этанола, опубликованный в 1951 г.; (б) аналогичный спектр, рутинно получаемый на современных высокопольных спектрометрах ЯМР

время качество спектров в низких и неоднородных полях приблизится к тому, которое доступно сегодня при использовании высокопольных спектрометров ЯМР.

Однако наиболее важным аспектом здесь является то, что делается это отнюдь не как альтернатива высокопольной ЯМР-спектроскопии и томографии, а как развитие метода с целью его распространения на огромный круг существенно иных задач, которые по-прежнему не могут быть решены с помощью суперсовременного и супердорогостоящего высокопольного оборудования. В результате такой диверсификации направлений развития метода ЯМР и доступных приложений границы возможного в магнитном резонансе удалось существенно раздвинуть. И это еще далеко не предел.

Редакция благодарит к. х. н. Н. И. Сорокина и к. г.-м. н. В. Д. Ермикова за помощь в подготовке статьи

#### Литература

- Blumich B., Perlo J., Casanova F. *Mobile single-sided NMR* // *Progr. NMR Spectr.* 2008. V. 52. P. 197–269.
- Blumich B., Anferova S., Kremer K., et al. *Unilateral NMR for quality control: The NMR-MOUSE* // *Spectroscopy*. 2003. V. 18. P. 18–32.
- Blumich B., Casanova F., Appelt S. *NMR at low magnetic fields* // *Chem. Phys. Lett.* 2009. V. 477. P. 231–240.
- Blumich B., Casanova F., Dabrowski M., et al. *Small-scale instrumentation for nuclear magnetic resonance of porous media* // *New J. Phys.* 2011. V. 13. 015003.
- Kleinberg R. L., Sezginer A., Griffin D. D., Fukuhara M. *Novel NMR apparatus for investigating an external sample* // *J. Magn. Reson.* 1992. V. 97. P. 466–485.
- Koptyug I. V., Kovtunov K. V., Burt S. R., Anwar M. S., et al. *Para-Hydrogen-induced polarization in heterogeneous hydrogenation reactions* // *J. Amer. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 5580–5586.
- Kovtunov K. V., Beck I. E., Bukhtiyarov V. I., Koptyug I. V. *Observation of parahydrogen-induced polarization in heterogeneous hydrogenation on supported metal catalysts* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008. V. 47. P. 1492–1495.
- Pileio G., Carravetta M., Hughes E., Levitt M. H. *The long-lived nuclear singlet state of  $^{15}\text{N}$ -nitrous oxide in solution* // *J. Amer. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 12582–12583.
- Sarkar R., Vasos P. R., Bodenhausen G. *Singlet-state exchange NMR spectroscopy for the study of very slow dynamic processes* // *J. Amer. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 328–334.
- Warren W. S., Jenista E., Branca R. T., Chen X. *Increasing hyperpolarized spin lifetimes through true singlet eigenstates* // *Science*. 2009. V. 323. P. 1711–1714.