



Signal amplification by reversible exchange in various alcohol solvents

Hye Jin Jeong, Sung Keon Namgoong*

Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul 01797, Republic of Korea

Received Dec 17, 2021; Revised Dec 20, 2021; Accepted Dec 20, 2021

Abstract In the developed NMR hyperpolarization techniques, Signal amplification by reversible exchange (SABRE) technique is thought to be a promising method to overcome the low sensitivity of bio-NMR/MRI. Most experiments using SABRE have been done in methanol, which is biologically harmful solvent. Therefore, more biological friendly solvent, such as ethanol can be more appropriate solvent to be applicable in bio-NMR and MRI. As the proof of concept, successful hyperpolarization on pyridine via SABRE is carried out in ethanol and its enhancement factor is calculated to be more than 150 folds. To investigate more about its possibility of hyperpolarization in different alcohol solvents, methanol and propanol are used for SABRE in the same condition. The overall polarization trend in different external magnetic field is similar but its polarization number is decreased with higher molecular weight solvents (the order from methanol to propanol). This result indicates that the efficiency of SABRE is different from solvent system despite its same functional group and similar properties. Higher *para*-hydrogen concentration, higher partial pressure of *para*-hydrogen, and deuterated solvent can increase the hyperpolarization in any solvents. With these series of successful SABRE results, future studies on SABRE in more biofriendly environment, on more various solvent systems, and with more substrates are needed and it will be the firm basis for applying the SABRE system on the future bio-NMR/MRI.

Keywords: *para*-hydrogen, hyperpolarization, NMR, SABRE, solvent

서문

핵자기공명학을 이용한 NMR (Nuclear Magnetic Resonance)은 매우 유용한 분광학 기술이다. 간단한 유기물질의 구조 및 폴리머와 같은 큰 구조를 밝힐 수 있는 효과적인 방법일 뿐 아니라 유기물질간, 유기물-단백질 간의 상호작용, 거대분자의 동역학적 정보 등 상세한 내용까지도 얻을 수 있는 효율적인 분광학 기술이다. 특히 기본원리가 NMR과 같은 MRI (Magnetic Resonance Imaging) 기술은 인체 내부 조직을 스캔하거나 조영제등을 사용하여 원하는 부위 및 조직에 대하여 좋은 해상도를 얻어내는 의료 이미징 기술로 상대적으로 안전한 인체 이미징 기술로 잘 알려져 있다. 최근 볼츠만 분포로 설명되는 NMR과 MRI의 낮은 신호 감도를 극복하기 위하여 초분극의 원리를 이용하는 연구가 활발히 수행되어 왔다. 대표적인 방법으로 DNP (Dynamic Nuclear Polarization)¹과 CIDNP (Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization)², 초분극 ¹²⁹Xe^{3,4}, Parahydrogen^{5,6} 및 NV Center⁷ 등이 있다. 상대적으로 평이한 상태에서 낮은 비용 및 높은 효율성으로 초분극 전이를 원하는 물질에 실행시킬 수 있는 방법으로 알려진 파라수소를 사용하는 초분극 유도

* Address correspondence to: **Sung Keon Namgoong**, Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul 01797, Republic of Korea. Tel: 82-2-970-5658; E-mail: sknam@swu.ac.kr

방법으로 Parahydrogen induced polarization (PHIP)가 많이 보고되어 왔다.⁸⁻¹² 하지만, 이는 초분극 대상물질을 수소화반응을 사용하여 초분극을 유도하기때문에 대상물질에 대하여 지속적인 초분극을 유도하기에 한계가 있다.¹³⁻¹⁵ 반면, SABRE방법은 2009년에 처음 보고된 이후¹⁶, 이전 PHIP방법과 다르게 초분극 대상 물질에 대한 화학적 변형없이 초분극을 유도할 수 있다는 장점으로 인하여 최신 관련 연구가 급격하게 증가하고 있다.¹⁷⁻²⁰ 해당 초분극 연구가 최근에 주목받게 된 핵심적인 이유는 초분극 물질을 만들기 위한 DNP등의 다른 방법들에 비하여, 값싸고 유용한 물질인 수소를 사용하며 실시간으로 상온에서 지속적인 초분극을 물질의 변형없이 이를 수 있다는 장점이 있기 때문이다.²¹⁻²⁴ 이는 메커니즘상 Iridium과 같은 백금족 금속 촉매를 사용하여 파라수소와의 교환반응을 통해 파라수소의 초분극을 전이할 수 있고 또한 초분극 대상물질이 마찬가지로 교환반응을 통하여 파라수소로부터 초분극을 전이 받을 수 있기 때문이다. (그림 1)

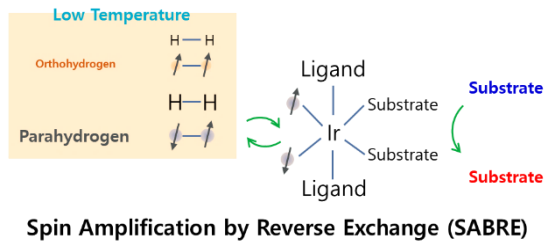


그림 1. 파라수소를 사용한 SABRE 초분극 원리를 설명하는 모식도.

이와 같이 이전과 다른 파라수소로부터 상온, 실시간, 반복적인 초분극 전이 시스템이 가능한 SABRE 초분극 방법은 특정 화합물의 작용기들 중에서 주로 아민 계열 물질의 경우에 적용될 수 있다. 이는 그림1에서 설명되는 Iridium과의 교환반응이 필요하기 때문이며 따라서 넓은 범위에서의 응용에는 한계가 있지만, 아미노산, 비타민, 뉴클레오타이드 등 아민계열 중 생물학적으로 중요한 물질이 다수 존재하며, 초분극의 전이가 큰 분자 내에서 먼 거리의 수소에도

가능한 연구가 최근 이어지고 있으므로 해당 방법을 이용한 초분극 물질 생성의 연구는 앞으로 기대되는 초분극 분야이다.²⁵⁻²⁶ 다만 해당 교환반응이 주로 메탄올과 같은 독성이 강한 용매에서 이뤄지는 단점이 있으므로 이를 bio-NMR/MRI에 적용하기 위해서는 독성용매 사용으로부터 벗어나기 위한 노력이 필요하다. 최근 물에서 SABRE를 하려는 노력이 이뤄져왔으나²⁷⁻²⁸ 그 효율이 낮으며 효율이 좋은 촉매의 경우는 물과 같은 생물학적으로 안전한 용매에서는 해당반응이 이뤄지지 않으므로 생물학적인 상황에서의 SABRE를 이용한 초분극 생성 및 응용은 기대하기 어렵다. 이에 생물학적으로 상대적으로 안전한 용매인 에탄올 등에서의 SABRE기반 초분극 물질 형성은 앞으로 해당분야에서 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. 이에 본연구에서는 SABRE 초분극을 대표적 초분극 전이가능 물질인 피리딘에 대하여 에탄올에서 성공적으로 실행하였으며 추가 메탄올, 프로판에서의 초분극을 실행하여 이를 비교하였다.

실험방법

모든 화학물질은 Sigma-aldrich 로부터 구매하여 사용하였다. 우선 액체질소를 사용하여 77 K의 온도에서 약 50%의 파라수소를 생성하였으며 이는 최근 보고된 방법으로 만든 초분극 생성기를 이용하였다.²⁹⁻³⁰ 샘플을 만들기 위하여 각각 메탄올, 에탄올, 프로판올 0.7 mL안에 피리딘을 초분극 대상물질로 사용하여 각 샘플에 10 μL (124 mM)를 섞었으며, 촉매인 [Ir(COD)(IMes)(Cl)] (2 mM)을 넣어 각 샘플에 완전 용해시켰다. 이후 50% 파라수소를 1 atm, 상온에서 버블링을 통하여 10분간 활성화를 시킨 후 매 스캔 전 1분간 추가 버블링을 한 후 60 MHz ¹H NMR 장비에서 (Magritek Spinsolve 60) 90° 펄스를 사용하여 신호를 측정하였다. 외부자기장의 세기에 따른 초분극 전이 정도를 측정하기 위하여 직접 제작한 솔레노이드 코일에 적정 전압/전류를 가하여 외부자기장을

조절하였다.(그림 2) 모든 NMR 스펙트럼관련 프로세싱은 Mnova 프로그램을 사용하였다.

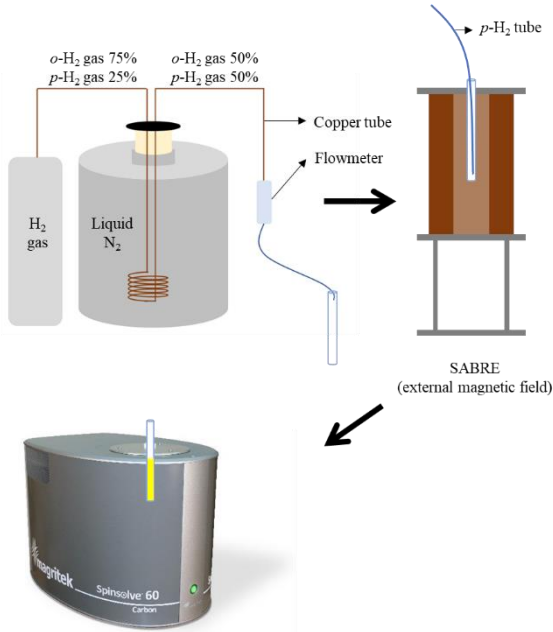


그림 2. SABRE 실험 방법 설명에 대한 모식도

실험결과

NMR 튜브 내의 샘플에 ~50% 초분극된 파라수소를 버블링한 후, Benchtop NMR 분광기를 통하여 관찰된 피리딘의 초분극 신호는 아래의 그림 3의 메커니즘에서처럼 Iridium SABRE 촉매와의 교환반응에 의하여 생성되며 이는 비단 촉매의 종류에 따라서 초분극의 경향 및 효율이 달라짐은 물론이고 용매에 따라서도 달라진다. 따라서 가장 널리 쓰이는 메탄올이 아닌 상대적으로 생물학적 용도로 사용이 가능한 에탄올에서 초분극을 유도하였으며 그림 4에서와 같이 초분극 신호가 크게 증폭됨을 확인하였다.

그림에서와 같이 에탄올 용매에서 약 100 G의 외부 자기장에서 SABRE를 실시하였으며 이에따른 초분극정도는 *ortho*-, *meta*-, *para*-에 위치하는 수소 순으로 초분극 정도가 감소함을 알 수 있다. 이에 대한 초분극 정도를 얻은 신호의 integral을 기준으로

계산하였을 경우 (I: integral, S: solvent, HP: 초분극 샘플, therm: 초분극 이전 샘플) 각각 약 150, 60, 3배의 신호증폭이 되었음을 보였다. 또한 SABRE의 경우 용매의 신호가 넓어진 이유는 T₂ 이완시간의 짧아짐에 의한 이유일 것으로 예상된다.

$$\epsilon = \frac{I_{HP}}{I_{therm}} \times \frac{S_{therm}}{S_{HP}} \tag{1}$$

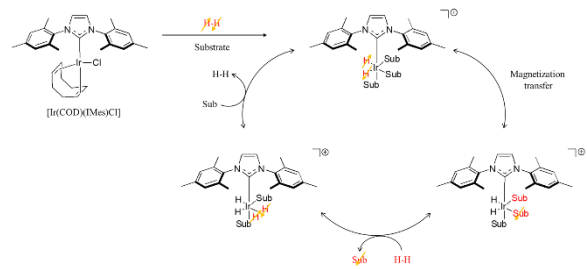


그림 3. [Ir(COD)(IMes)(Cl)] 촉매에 의하여 초분극 대상물질에 대하여 (Sub) 파라수소 스핀으로부터 초분극 전이 되는 메커니즘 (검은 색 초분극 대상물질로부터 붉은 색으로 초분극이 전이되는 모습)

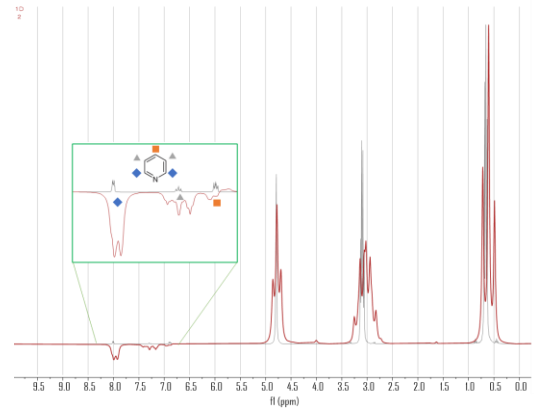


그림 4. 에탄올 용매에서의 SABRE 신호 증폭 (검은색 스펙트럼: 초분극 전, 붉은색: 초분극 후)

이에 더하여 외부 자기장의 변화에 따른 초분극 정도에 대한 연구를 실시하였다. 전자석을 사용하여 외부 자기장을 변화시켰으며 각 외부 자기장내에서 1분간

파라수소를 버블링한 후 초분극정도를 측정하였다. (그림 5) 이때 초분극정도와 스펙트럼 위상은 외부자기장에 따라 달라짐을 알 수 있으며 이는 파라수소의 다른 수소핵 스핀으로부터 기인함을 유추할 수 있다. 통상적인 SABRE의 결과처럼 약 70 G 부근에서 최대폭으로 초분극이 형성됨을 알 수 있으며 마찬가지로 *ortho*-수소가 가장 초분극이 잘되는 것으로 측정되었다.

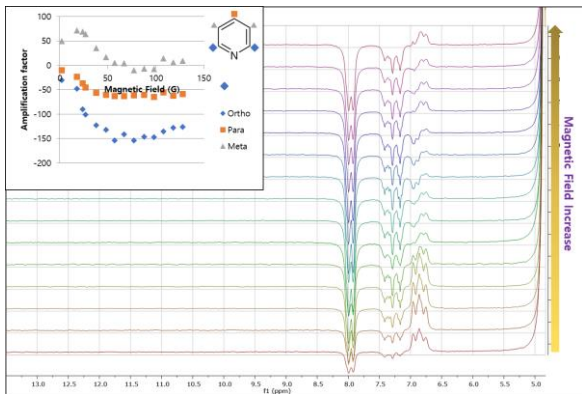


그림 5. 외부자기장의 세기에 따른 에탄올 용매내 피리딘의 초분극 정도 측정 결과

이와 같은 결과는 통상적으로 이뤄지는 메탄올 용매에서 보이는 결과이며 메탄올에 비하여 초분극 정도는 낮지만 (약 1/10배) 비슷한 경향성을 보이는 것으로 측정되었다. (그림 6) 이후 비슷하지만 다른 구조 (탄소의 길이가 하나 더 긴) 알코올성 용매에서도 초분극이 되는지 측정하기 위하여 프로판올을 용매로 사용하여 같은 조건에서 SABRE를 이용한 초분극을 실시하였다.

그림 6에서 나타나듯이 프로판올에서의 초분극에서도 외부자기장세기에 따른 초분극 정도의 측정도 비슷한 경향성을 보이며 초분극의 효율성은 에탄올에 비하여 약간 감소하는 것으로 측정되었다. 이는 같은 성질의 용매를 사용하더라도 매우 다른 SABRE 초분극이 유도됨을 나타내며 용매 탄소 체인의 길이가 길어짐에 따라 SABRE에 의한 초분극이 감소함을 보여준다.

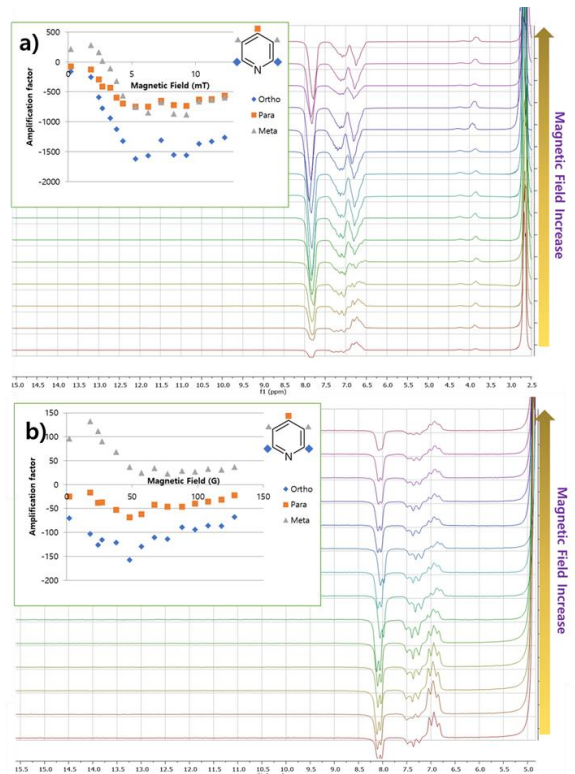


그림 6. 메탄올 (a), 프로판올 (b)에서의 외부자기장세기에 따른 초분극 효율 프로파일 및 스펙트럼

결론

파라수소를 사용하는 SABRE 초분극 방법은 앞으로 bio-NMR/MRI 에 직접 적용할 수 있는 매우 유망한 초분극 방법이 될 것으로 예상된다. 이를 보다 넓은 범위에 적용하기 위하여 통상적으로 이뤄졌던 생물학적으로 독성이 강한 메탄올이 아닌 에탄올에서 피리딘 구조내 수소 초분극을 SABRE 방법을 사용하여 성공적으로 수행하였다. 해당 초분극은 상온, 상압 (1 atm), 1 분간 ~ 50% 파라수소를 버블링한 결과 약 150 배 이상의 신호 증폭을 보였으며 이는 메탄올을 용매로 사용했을 때 비하여 낮은 신호 증폭이지만, 파라수소의 비율을 높이고, 부분 압력을 높일 경우 더 큰 신호 증폭을 보일 것으로 예측된다. 또한 프로판올에서의 SABRE 초분극을

추가적으로 수행한 결과 외부자기장에 따라 비슷한 경향으로 초분극의 효율을 보이는 것으로 확인되었으나 에탄올에 비하여 초분극의 정도가 다소 낮은 것으로 측정되었다. 같은 알코올의 작용기를 가진 용매에서 이루어지는 SABRE 초분극의 경향에서도 탄소의 길이에 따라서 초분극이 달라지는 경향을 보였으며 탄소의 길이가 길어짐에 따라서 초분극이 감소하는 경향을 확인하였다.

해당 연구는 앞으로 이어질 바이오 친화적인 조건에서의 SABRE 초분극 실현을 앞당길 수 있을 것으로 기대되며 여러 용매 조건에서의 초분극 측정을 통하여 기존 메탄올 기반 SABRE 관련 연구의 지평을 넓힐 수 있을 것으로 기대된다. 이에 더하여 본 연구 결과를 통하여 앞으로 관련 파라수소 기반 초분극 NMR/MRI 분야의 발전을 앞당길 수 있기를 기대한다.

감사의 글

이 논문은 2020학년도 서울여자대학교 연구년수혜 및 2021 교내 연구비 지원을 받았음

References

1. H. Ko, G. Gong, G. Jeong, I. Cho, H. Seo, and Y. Lee, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **19**, 124 (2015)
2. J. Im, and J. H. Lee, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **21**, 1 (2017)
3. T. Walker, and W. Happer, *Rev. Mod. Phys.* **69**, 629 (1997)
4. C. Witte, and L. Schroeder, *NMR Biomed.* **26**, 788 (2013)
5. C. Bowers, and D. Weitekamp, *Phys. Rev. Lett.* **57**, 2645 (1986)
6. J. Natterer, and J. Bargon, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **31**, 293 (1997)
7. K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **20**, 114 (2016)
8. K. V. Kovtunov, O. G. Salnikov, V. V. Zhivonitko, I. V. Skovpin, V. I. Bukhtiyarov, and I. V. Koptuyug, *Top Catal.* **59**, 1686 (2016)
9. U. Obenaus, S. Lang, R. Himmelmann, and M. Hunger, *J. Phys. Chem. C*, **121**, 9953 (2017)
10. K. H. Kim, J. W. Choi, C. S. Kim, and K. Jeong, *Fuel* **255**, 115845 (2019)
11. J. Shim, and K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **22**, 1 (2018)
12. H. So, and K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **23**, 6 (2019)
13. O. G. Salnikov, K. V. Kovtunov, and I. V. Koptuyug, *Sci. Rep.* **5**, 13930 (2015)
14. F. Reineri, T. Boi, and S. Aime, *Nature Comm.* **6**, 5858 (2015)
15. T. C. Eisenschmid, R. U. Kirss, P. P. Deutsch, S. I. Hommeltoft, R. Eisenberg, J. Bargon, R. G. Lawler, and A. L. Balch, *J. Am. Chem. Soc.* **109**, 8089 (1987)
16. R.W. Adams, J.A. Aguilar, K.D. Atkinson, M.J. Cowley, P.I.P. Elliott, S.B. Duckett, G.G.R. Green, I.G. Khazal, J. Lopez-Serrano, and D.C. Williamson, *Science* **323**, 1708 (2009)
17. S. Min, H. Chae, H. J. Jeong, K. Kim, S. K. Namgoong, and K. Jeong, *Analyst* **146**, 6478 (2021)
18. H. J. Jeong, S. Min, and K. Jeong, *Analyst* **145**, 6478 (2020)
19. H. Chae, S. Min, H. J. Jeong, S. K. Namgoong, S. Oh, K. Kim, and K. Jeong, *Anal. Chem.* **92**, 10902 (2020)
20. S. Kim, S. Min, H. Chae, H. J. Jeong, S. K. Namgoong, S. Oh, and K. Jeong, *Molecules* **25**, 3347 (2020)
21. T. Theis, M. L. Truong, A. M. Coffey, R. V. Shchepin, K. W. Waddell, F. Shi, B. M. Goodson, W. S. Warren, and E. Y. Chekmenev, *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 1404 (2015).
22. W. Jiang, L. Lumata, W. Chen, S. Zhang, Z. Kovacs, A. D. Sherry, and C. Khemtong, *Sci. Rep.* 9104 (2015)
23. T. Theis, M. Truong, A. M. Coffey, E. Y. Chekmenev, and W. S. Warren, *J. Magn. Reson.* **248**, 23 (2014)
24. F. Shi, A. M. Coffey, K. W. Waddell, E. Y. Chekmenev, and B. M. Goodson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 7495 (2014)

25. H. J. Jeong, S. Min, H. Chae, S. Kim, G. Lee, S. K. Namgoong, and K. Jeong, *Sci. Rep.* **10**, 1 (2020)
26. K. Them, F. Ellermann, A. N. Pravdivtsev, O. G. Salnikov, I. V. Skovpin, I. V. Koptug, R. Herges, and J. B. Hovener, *J. Am. Chem. Soc.* **143**, 13694 (2021)
27. S. Lehmkuhl, M. Emondts, L. Schubert, P. Spannring, J. Klankermayer, B. Blümich, and P. M. Schleker, *Chem. Phys. Chem* **18**, 2426 (2017)
28. J. F. P. Colell, M. Emondts, A. W. J. Logan, K. Shen, J. Bae, R. V. Shchepin, G. X. Ortiz, P. Spannring, Q. Wang, S. J. Malcolmson, E. Y. Chekmenev, M. C. Feiters, F. P. J. T. Rutjes, B. Blümich, T. Theis, and W. S. Warren, *J. Am. Chem. Soc* **139**, 7761 (2017)
29. K. Jeong, S. Min, H. Chae, S. K. Namgoong, *Magn. Reson. Chem.* **57**, 44 (2019)
30. K. Jeong, S. Min, H. Chae, S. K. Namgoong, *Magn. Reson. Chem.* **56**, 1089 (2018)