



The ALTADENA and PASADENA studies in benchtop NMR spectrometer

Howon So and Keunhong Jeong*

Department of Chemistry, Korea Military Academy, Seoul 01805, South Korea

Received Feb 19, 2019; Revised Feb 20, 2019; Accepted Feb 27, 2019

Abstract Parahydrogen induced hyperpolarization (PHIP) technique is extensively studied to increase the sensitivity of the conventional NMR spectroscopy and recently try to apply this advanced technique into the revolutionary future of the MRI. The other hyperpolarization technique, which is widely utilized, is DNP (Dynamic Nuclear Polarization)-based hyperpolarization one. Despite its great advances in these fields, it contains several drawbacks to overcome: fast relaxation time, expensive equipment is needed, long build-up time is required (several hours), and batch scale material is hyperpolarized. To overcome all those limitations, one can effectively harness the hyperpolarized spin state of parahydrogen. One important step for utilizing the spin state of parahydrogen is doing well-developed experiments of ALTADENA and PASADENA. Based on those concepts, we successfully obtain the hydrogenation signals of ALTADENA and PASADENA from styrene by using benchtop NMR spectrometer. Also those signals were conceptually analyzed and confirmed with different mechanisms. To our best knowledge, those experiments using 1.4T (benchtop NMR) is the first reported one. Considering these experiments, we hope that parahydrogen-based hyperpolarization transfer studies in NMR/MRI will be broadened in Korea in the future.

Keywords: parahydrogen, hyperpolarization, NMR, PHIP, PASADENA, ALTADENA

서 문

최신 NMR (Nuclear Magnetic Resonance) 분광학 기술 중에서 미래를 선도할 가장 촉망받는 기술 중 하나인 초분극 기술은 해당 기술을 이용하여 기존 분극의 정도를 극대화시키는 최신의 기술이며 이를 효율적으로 이용할 경우 기존 NMR을 이용한 유기물, 무기물 구조 연구를 비롯하여 물질간 상호작용에 따른 동역학 정보 연구 등에 큰 유용함을 제공할 것이다. 또한 같은 방식을 기본으로 거대 분자의 구조에 대한 연구에 있어서도 큰 진보를 이끌어 낼 수 있을 것이다. 실제로 MAS-DNP (Magic Angle Spinning-Dynamic Nuclear Polarization)을 이용하여 많은 단백질의 구조를 밝히는 연구가 세계적인 그룹에서 진행중에 있으며 심지어는 중간상태의 단백질 구조 및 병원성 응집 단백질 등에 대한 구조 정보도 초분극화 된 ^1H 와 ^{13}C , ^{15}N 의 정보를 사용하여 해당 정보를 추출해 분석하고 있다.^{1,2} 이는 NMR의 발전 뿐만 아니라, 가장 발전한 인체 조직 영상 장비인 MRI (Magnetic Resonance Imaging) 발전에도 큰 영향을 미칠것으로 기대된다.

이와같이 볼츠만 분포를 초월하는 상태를 만들어 초분극을 만드는 기술에 대한 접근은 앞에서 간단히 설명한 DNP^{3,4} 뿐만이 아니라, CIDNP (Chemically Induced Dynamic

*Address correspondence to: Keunhong Jeong, Department of Chemistry, Korea Military Academy, Seoul 01805, Republic of Korea, Tel: 82-2-2197-2845; E-mail: doas1mind@kma.ac.kr ; doas1mind@berkeley.edu

Nuclear Polarization),⁵ hyperpolarized ^{129}Xe ⁶⁻⁷ 등이 있으며, 최근에는 이들과 연관된 장비의 값을 낮추고, 초분극의 빠른 이완을 늦추기 위한 방법으로 Parahydrogen (파라수소, p-H₂)을 이용하는 방법이 많은 관심속에 연구되어 오고 있다.^{8,9}

파라수소는 양성자 핵 두개가 두개의 전자로 강하게 결합하고 있는 수소분자를 이용하는 방법이며 이에 대한 자세한 설명은 생략하고 좀더 자세한 내용은 최근에 출판된 관련 리뷰논문을 참고하는 것을 추천한다.¹⁰ 간단히 설명하면 파라수소는 orthohydrogen (오르쏘 수소)과 다르게 두 핵 스핀이 각기 다른 스핀상태로서 singlet 상태로 존재하며 이는 rotational state 파동함수와 연관되어 있으므로 rotational 파동함수가 대칭일때 비대칭인 파라수소 상태를 유도하게 되고 따라서 낮은온도에서 비대칭의 rotational 파동함수와 오르쏘 수소의 분극보다 그 분극의 크기가 큰 초분극 상태로 존재할 수 있게된다. 또한 spin forbidden transition이므로 오르쏘 상태와 파라 상태끼리는 transition이 양자역학적으로 불가능하여 파라수소의 형성후 반응 전/후 대칭성이 깨지지 않을 경우에는 초분극이 상대적으로 매우 오랜시간 지속되는 성질을 지녀 이를 효율적으로 이용할 수 있다. 따라서 반응 전/후 스핀상태에 대한 연구가 매우 중요하며 이를 정확하게 이해하여 초분극을 지속시킬수 있는 연구에 적용할 경우 그 파급효과가 상당할 것이다.

NMR이 지닌 많은 장점에 비하여 실제 산업에서 (on-site) 및 생활에서 휴대용 analyzer 로서 적용할 수 없는 결정적이유는 앞에서 설명한 바와같이 분극이 매우 작기 때문이며 따라서 강한 자기장이 필요하기

때문이다. 최근 이를 극복하기 위하여 휴대용으로 설치 및 사용이 가능한 NMR의 제작이 활발히 일어나고 있으며 이를 효율적으로 이용할 경우 산업현장 및 실생활에서 적용, 공장에서 생산되는 중간 물질 실시간 분석 및 환경물질 등을 분석할 수 있는 시스템을 구현할 수 있을것이다. 이에 상자석(영구자석)을 이용한 Benchtop NMR이 최근 영구자석 제조기술과 더불어 80MHz (proton기준)까지도 상용화되고 있다.¹¹

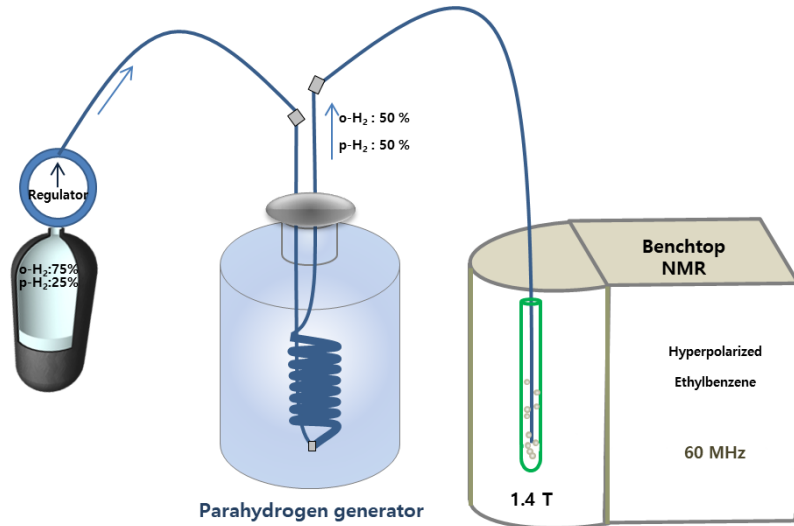
따라서 본 연구팀에서는 파라수소를 이용하여 상대적으로 작은 자기장에서 기인하는 작은 분극을 극복하는 초분극에 대한 연구를 활발히 하고 있으며 앞에서 설명한 바와같이 이를 적극적으로 효율적으로 적용하기위하여 파라수소를 이용한 반응 전/후 스핀상태에대한 연구를 수행하여 이전에 알려진 논문에서는 상대적으로 강한 자기장에서 수행되어왔던 ALTADENA (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment)¹²와 PASADENA (Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment)¹³에 대한 연구를 상대적으로 낮은 자기장인 1.4 T(60MHz NMR)에서 구현하는데 성공하였다. 현재까지 확인한 바에 의하면 ALTADENA와 PASADENA를 Benchtop NMR에서 성공적으로 수행한 경우는 해당연구 결과가 처음인것으로 확인되었다.

실험방법

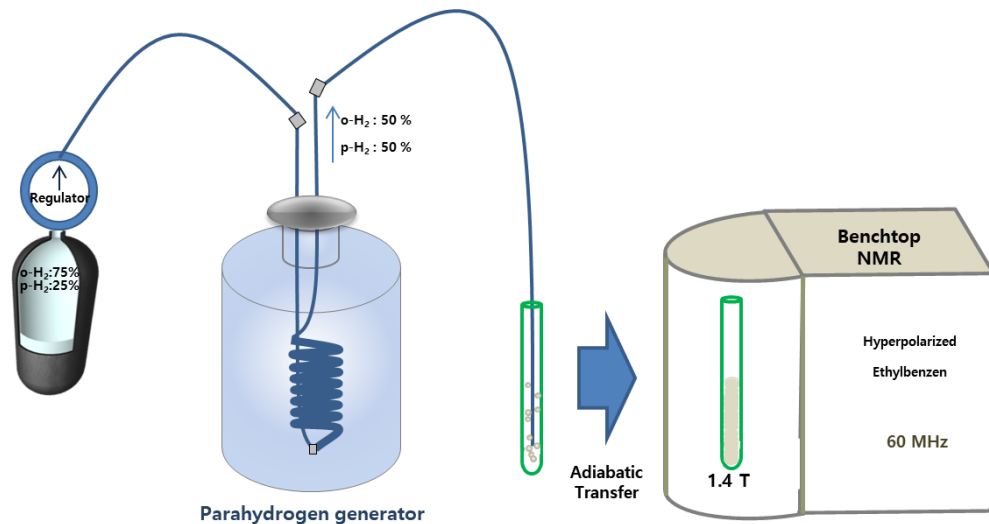
PASADENA의 스핀상태에 따른 초분극 신호를 얻기위하여 이전에 제작한 파라수소 생성기를 사용하여 약 50% 파라수소의 초분극을

얻었다.^{14,15} 이를 간단히 설명하면 extra pure 수소를 산화철로 채워진 열교환장치를 통과시키는데, 열교환장치는 액체질소에 담겨져 있기때문에 약 77K의 온도를 유지하고 있으며 수소기체는 열교환장치를 약 3 mL/min의

속도로 통과하도록 조절하여 23 도 1기압 조건에서 초분극된 파라수소를 사용하였다. 초분극된 파라수소를 styrene (Sigma Aldrich) 0.7 mL에 약 1 mg 의 chlorotris-(triphenylphosphine) -rhodium(I) (Sigma



PASADENA (Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment)



ALTADENA (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment)

그림 1. PASADENA와 ALTADENA 실험방법의 모식도. PASADENA의 경우에는 직접 1.4 T 자기장내에서 반응을 보내며 수소화된 반응의 신호를 얻었으며 ALTADENA의 경우에는 지구자기장에서 수소화 시킨후 빠르게 1.4T benchtop NMR에서 신호를 얻었다.

Aldrich) 가 담긴 5 mm NMR tube에 bubbling을 약 30 초간 실시한 후 Spinsolve spectrometer (Magritek, 60 MHz) 에서 90 도 ¹H pulse를 사용하여 양성자의 신호를 측정하였다. 이때 파라수소를 1/16" PTFE tube를 사용하여 약 1 m 가량 길이로 조절하여 Benchtop NMR 장비속으로 연결, 튜브에 직접 bubbling 하였으며 이를 통하여 수소화 반응이 1.4 T에서 실시간으로 실시 될 수 있도록 유지하였다. (** 초 순수 수소는 폭발의 위험이 있으므로 관련 시설 및 안전 장비를 갖춘 상태에서의 실험이 필요하다. **) 반면 ALTADENA 실험을 위해서는 PASADENA에서 이루어졌던 수소화 반응이 낮은자기장 (지구 자기장, ~32 uT)에서 이뤄질수있도록 약 30 초간 bubbling후 단열과정으로 Benchtop NMR로 옮기는 과정을 실시하였으며 이를 위해서는 빠르게 shuttling하여 신호를 측정할수 있도록 노력하였다 (1~ 2 초).

실험결과

통상적인 NMR을 사용하여 측정하는 보통의 상태 (볼츠만 상태에서의 분극기준) 에서는 가능한 에너지 상태들의 높은 자기장내에서의 지만효과에 의한 분극의 차이로부터 기인하는 스핀 분극 전이에 따른 신호가 생성되며 이로인한 신호의 상이 일치 하는 반면, PASADENA 상황에서처럼 상대적으로 높은 자기장에서 파라수소에 의한 수소화 반응이 일어날 경우, 초분극된 파라수소의 핵스핀 파동함수는 $\Psi = (1/\sqrt{2}) \cdot (\alpha\beta - \beta\alpha)$ 이므로 $\alpha\beta$ 와 $\beta\alpha$ 에너지 상태에 초분극 상태가 형성되게

된다. 따라서 이로부터 나타날수 있는 신호는 아래의 그림에서처럼 4가지 전이가 가능하며 따라서 반대의 상이 같은 신호에서 겹쳐서 나타난다.

반면 ALTADENA의 경우는 지구자기장인 상대적으로 낮은 자기장에서 파라수소에 의한 수소화 반응 후에 높은 자장으로 단열과정으로 옮겨지게 되며 이때 효율적인 단열과정이 일어났을때 그림에서처럼 $\alpha\beta$ 또는 $\beta\alpha$ 에너지 상태 중 안정한 상태로의 초분극 상태를 만들게 되어 아래의 그림처럼 두개의 각각 상이 다른 신호만을 만들어 내게 된다.

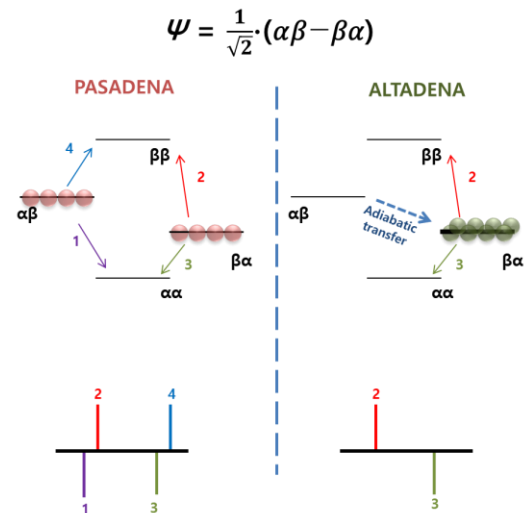


그림 2. 파라수소의 파동함수와 해당 파동함수로부터 기인한 PASADENA와 ALTADENA의 다른 자기장세기 및 상태에서의 초분극화된 스핀상태의 그림.

이와같은 이론을 바탕으로 각각의 다른조건에서 styrene으로부터 ethylbenzen으로 수소화 반응후 초분극화된 상태의 물질을 Benchtop NMR 분광기를 통하여 관찰된 신호의 각기다른 상의 스펙트럼을 얻음으로써 본 연구에서 제시한 ALTADENA와 PASADENA가

상대적으로 낮은 자기장인 Benchtop NMR (~ 1.4 T) 내에서 성공적으로 구현되었음을 증명하였다.

그림에서 보듯이 파라수소가 styrene의 이중결합과 수소화반응이 진행됨에 따라 생성되는 ethyl proton의 화학적 이동에서 다른 형태의 상의 스펙트럼이 나타남을 보여주고 있으므로 실질적으로 단열과정에 의하여 스핀상태가 변했음을 증명해주고 있다.

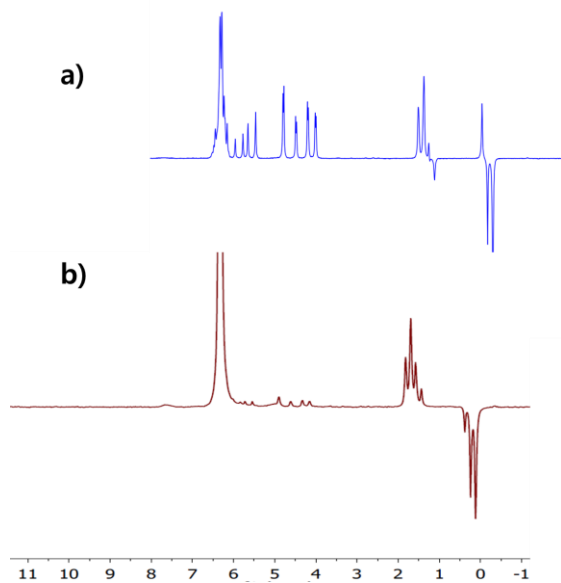


그림 3. 1.4 T Magritek Benchtop NMR 분광기를 통해 얻은 ^1H NMR 스펙트럼 (a), PASADENA의 스펙트럼을 보여주고있으며 (b), ALTADENA의 스펙트럼을 보여주고있음.

결론

본 연구실에서는 이전의 상업화된 파라수소 생성기에 비하여 기능 및 초분극의 정도는 낮지만 간단하게 제작할 수 있고 실험 간 문제가 생길 경우, 쉽게 정비할 수 있으며, 이동 가능한 소형의 파라수소 생성기를 제작하는데 성공하였다. 이 생성기를 기반으로 다양한 파라수소를 이용한 초분극 실험을 진행중에 있으며 최근 파라수소의 스핀상태를 이용하여 초분극을 여러 이웃 스핀 및 주변 스핀에 전이할수 있는 실험을 구현하기위하여 노력중에 있다. 이를 위하여 정확한 스핀상태의 예측 및 확인이 매우 중요하며 이를 기반으로 앞서 서론에서 이야기한 초분극 이후 신호이완의 시간을 늦추기위한 노력을 지속하고 있다. 가장 유력한 방법은 singlet state의 초분극상태를 이용하는 것이며 이는 파라수소를 이용할 경우에 그 가능성을 매우 높일수 있다. Pairwise 수소화반응이 일어나고난 후 해당 물질의 초분극된 수소가 singlet state 일 경우 스핀이완 시간이 매우 길어질 것이기 때문이다. 스핀이완을 조절할 수 있는 이와같은 방법은 PASADENA 와 ALTADENA 의 정확한 구현으로부터 시작할 수 있으며 이를 기반으로 앞으로 SABRE (Signal Amplification By Reversible Exchange) 관련 연구를 통한 초분극 전이 메커니즘 연구를 비롯한 파라수소 초분극 관련 NMR/MRI 연구가 한층 발전할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 한국표준과학연구소 World Class Laboratory (WCL) 연구비와 육군사관학교 화랑대연구소 연구비 지원에 의해 지원되었으며 이에 감사합니다.

References

1. S. Hediger, D. Lee, F. Mentink-Vigier and G.D. Paëpe, *eMgaRes* **7**, 105 (2018)
2. Ü. Akbey and H. Oschkinat, *J. Magn. Reson.* **29**, 213(2016)
3. H. Ko, G. Gong, G. Jeong, I. Cho, H. Seo, and Y. Lee, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **19**, 124 (2015)
4. J. H. Shim, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **21**, 114 (2017)
5. J. Lee and J. H. Lee, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **21**, 1 (2017)
6. Y. Bai, P. A. Hill, and I. J. Dmochowski, *Anal. Chem.* **84**, 9935 (2012).
7. C. Witte and L. Schröder, *NMR Biomed.* **26**, 788 (2013).
8. K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **20**, 114 (2016)
9. S. Kwon, S. Min, H. Chae, S. K. Namgoong, and K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **21**, 126 (2017)
10. J. Shim and K. Jeong, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **22**, 1 (2018)
11. S. D. Riegel and G. M. Leskowitz, *TrAC Trends Anal. Chem.* **83**, 27 (2016)
12. I. V. Koptyug, V. V. Zhivonitko, and K V Kovtunov, *ChemPhysChem* **11**, 2086 (2010)
13. P. J. Carson, C. R. Bowers, and D. P. Weitekamp, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 11821 (2001)
14. K. Jeong, S. Min, H. Chae, and S. K. Namgoong, *Magn. Reson. Chem.* **56**, 1089 (2018)
15. K. Jeong, S. Min, H. Chae, and S. K. Namgoong, *Magn. Reson. Chem.* **57**, 44 (2019)