

---

---

# Aufbau und Anwendung einer Apparatur zur parawasserstoffgestützten Hyperpolarisation von Protonen und Heterokernen

---



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

**Vom Fachbereich Chemie  
der Technischen Universität Darmstadt**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

**Dissertation**

von

**Franziska Theiß**

Erstgutachter: Prof. Dr. Gerd Buntkowsky

Zweitgutachter: Apl. Prof. Dr. Torsten Gutmann

Darmstadt 2024

---

---

# Aufbau und Anwendung einer Apparatur zur parawasserstoffgestützten Hyperpolarisation von Protonen und Heterokernen

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)  
Genehmigte Dissertation von Franziska Theiß aus Darmstadt

Tag der Einreichung: 15. Januar 2024  
Tag der mündlichen Prüfung: 26. Februar 2024

Darmstadt, Technische Universität Darmstadt

Bitte zitieren Sie dieses Dokument als:  
URN: urn:nbn:de:tuda-tuprints-267557  
URL: <https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/id/eprint/26755>  
Jahr der Veröffentlichung auf TUprints: 2024

Dieses Dokument wird bereitgestellt von tuprints,  
E-Publishing-Service der TU Darmstadt  
<https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de>  
[tuprints@ulb.tu-darmstadt.de](mailto:tuprints@ulb.tu-darmstadt.de)

Veröffentlicht unter CC BY-NC-ND 4.0 International  
<https://creativecommons.org/licenses/>



---

Man merkt nie, was schon getan wurde,  
man sieht immer nur, was noch zu tun bleibt.  
**Marie Curie (1867-1934)**

Die vorliegende Arbeit wurde am Eduard-Zintl-Institut für Anorganische und Physikalische Chemie der Technischen Universität Darmstadt unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Gerd Buntkowsky in der Zeit von März 2020 bis Februar 2024 durchgeführt.

---



---

---

## Inhaltsverzeichnis

---

Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge	IV
Danksagung	VI
1. .... Einleitung	1
2. .... Motivation	4
3. .... Theoretische Grundlagen	7
3.1.    Physikalische Grundlagen der magnetischen Kernresonanz	7
3.1.1. Chemische Verschiebung	10
3.1.2. Indirekte Spin-Spin-Wechselwirkung (J-Kopplung)	11
3.2.    Thermische Polarisierung und Hyperpolarisierung	13
3.3.    Parawasserstoff-basierte Hyperpolarisierungstechniken	14
3.3.1. Der Parawasserstoff	14
3.3.2. Parawasserstoff-induzierte Polarisierung (PHIP)	17
3.3.3. Signalverstärkung durch reversiblen Austausch (SABRE)	20
4. .... Apparative Ausgangslage	25
4.1.    Apparativer Ausgangspunkt der Hydriereinheit	25
4.2.    Zusatz für das SABRE-Setup	26
5. .... Instrumentelle Entwicklung und Ergebnisse	28
5.1.    Weiterentwicklung der Magnetventilsteuering	28
5.1.1. Anwendung der automatischen Magnetventilschaltung für die Hydrierung von PPOBLG	29
5.1.2. Zusammenfassung	33
5.2.    Experimente in Magnetfeldern unterhalb von $8\ \mu\text{T}$	34
5.2.1. $^{15}\text{N}$ -SABRE an Pyridin	36
5.2.2. Limits der $^{15}\text{N}$ Sensitivität	37
5.2.3. SABRE-SHEATH Messungen von Thiourea	38
5.2.4. PHIP-SHEATH an Dimethylacetylendicarboxylat (DiMeADC)	42
5.2.5. Apparative Herausforderungen	43
5.2.6. Zusammenfassung	44
5.3.    Neuanordnung der Apparatur	45
5.3.1. PHIP für Ein-Scan $^{13}\text{C}$ -Spektren von DiMeADC	47
5.3.2. PHIP-SHEATH von Fmoc-L-Tyrosin(Propargyl)-OH	50
5.3.3. SABRE-SHEATH von Thiourea	53
5.3.4. SABRE-SHEATH von Pyridin	56
5.3.5. Zusammenfassung	57
5.4.    Erweiterungen durch ein Benchtop-NMR-Spektrometer (1,4 T)	59
5.4.1. Überblick über die gesamte Apparatur	59

5.4.2.	<sup>1</sup> H-PHIP-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop-Spektrometer	61
5.4.3.	<sup>13</sup> C-PHIP-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop Spektrometer	63
5.4.4.	<sup>13</sup> C-SABRE-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop Spektrometer	68
5.4.5.	<sup>15</sup> N-SABRE-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop-Spektrometer	69
5.4.6.	Zusammenfassung	73
6.....	Fazit und Ausblick	75
7.....	Anhang	79
7.1.	Hochfeld-NMR-Spektrometer	79
7.2.	Benchtop-NMR-Spektrometer	79
7.3.	Detaillierte Beschreibung der gesamten Apparatur	80
7.3.1.	Das Leitungssystem der Hydrierapparatur	80
7.3.2.	Gasleitungen	81
7.3.3.	Der Parawasserstoffgenerator	81
7.3.4.	Durchflusssteuerungspaneel	81
7.3.5.	Magnetventilbereich	82
7.3.6.	Steuerung mit dem PC des Hochfeld-Spektrometers	83
7.3.7.	Steuerung mit dem PC des Benchtop-Spektrometers	84
7.3.8.	Verbindung zwischen NMR-Röhrchen und Hydrierapparatur	84
7.3.9.	Der ZULF-MFC	85
7.4.	Methoden	86
7.4.1.	Allgemeine Prozedur von PASADENA-Experimenten	86
7.4.2.	SABRE-Experimente (Allgemein)	87
7.4.3.	SABRE-SHEATH (mit Motor nur am 11,7 T-Spektrometer)	87
7.4.1.	SABRE-SHEATH (manuell)	88
7.4.2.	MFC-SOT Experimente	89
7.5.	Chemikalien und chemische Reaktionen	91
7.5.1.	Hydrierung von PPOBLG	91
7.5.2.	SABRE-Messungen von Pyridin	93
7.5.3.	SABRE-Messungen von Thiourea	94
7.5.4.	Hydrierung von Dimethylacetylendicarboxylat DiMeADC	95
7.5.5.	Hydrierung von Fmoc-Tyrosin(Propargyl)-OH	96
7.5.6.	Hydrierung von Propargylalkohol	97
7.6.	Datenauswertung und Bestimmung von Verstärkungsfaktoren	98
7.7.	Berechnung der Hyperpolarisation in Prozent	99
7.8.	Ergänzende Spektren	100
7.8.1.	SABRE	100
7.8.2.	PHIP	106
7.9.	AU und Pulsprogramme	107
7.10.	Sonstiges	122

---

Abkürzungsverzeichnis	126
Literaturverzeichnis	129
Abbildungsverzeichnis	133
Erklärungen	140

---

---

## Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge

---

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht oder zur Veröffentlichung eingereicht:

### Wissenschaftliche Veröffentlichungen als Erstautorin

- [1] F. Theiss, L. Wienands, J. Lins, M. Alcaraz-Janßen, C.M. Thiele, G. Buntkowsky  
**Parahydrogen-induced polarization enables the single-scan NMR detection of a 236 kDa biopolymer at nanomolar concentrations**  
*Sci Rep* **13**, 10117 (2023).

### Wissenschaftliche Veröffentlichungen in Kooperation

- [1] L. Wienands, F. Theiss, J. Eills, L. Rösler, S. Knecht, G. Buntkowsky  
**Optimizing the Reaction Conditions for the Formation of Fumarate via Trans-Hydrogenation**  
*ApplMagnReson* **53**, 615–634 (2021)
- [2] M. Fleckenstein\*, K. Herr\*, F. Theiss, S. Knecht, L. Wienands, M. Brodrecht, M. Reggelin, G. Buntkowsky  
**A disintegrin derivative as a case study for PHIP labelling of disulfide bridged biomolecules**  
*Sci Rep* **12**, 2337 (2022).
- [3] G. Buntkowsky, F. Theiss, J. Lins, Y. Miloslavina, L. Wienands, A. Kiryutin, A. Yurkovskaya  
**Recent Advances in the Application of Parahydrogen in Catalysis and Biochemistry**  
*RSC Adv.* **12**, 12477-12506 (2022)
- [4] J. Lins, Y.A. Miloslavina, S. Carrara, L. Rösler, S. Hofmann, K. Herr, F. Theiss, L. Wienands, O. Avrutina, H. Kolmar, G. Buntkowsky  
**Parahydrogen-induced polarization allows 2000-fold signal enhancement in biologically active derivatives of the peptide-based drug octreotide**  
*Sci Rep* **13**, 6388 (2023)
- [5] M. Czarnota, A. Mames, M. Pietrzak, S. Jopa, F. Theiss, G. Buntkowsky, T. Ratajczyk  
**A Straightforward Method for the Generation of Hyperpolarized Orthohydrogen with a Partially Negative Line**  
*Angew. Chem. Int. Ed.* 2023, e202309188.



---

## Konferenz- und Tagungsbeiträge

- [1] F. Theiss, J. Lins, L. Wienands, S. Knecht, G. Buntkowsky  
**Automated PHIP Setup for Zero and Ultralow Field Experiments**  
AMPERE NMR School 2022, Zakopane, Polen, Book of Abstracts 06.2022
  
- [2] F. Theiss, G. Buntkowsky  
**Parahydrogen Induced Carbon Polarization on Small Molecules**  
AK Treffen, Rostock, Deutschland, 03.2023.
  
- [3] F. Theiss, G. Buntkowsky  
**From Hydrogen to Carbon – Polarization Transfer in Small Molecules**  
Physical Chemistry Seminar Series (NC State University), North Carolina, USA, 05.2023.

---

---

## Danksagung

---

Von sich zu behaupten ein wissenschaftliches Thema gefunden zu haben, das Erfüllung, Interesse, Freude, Leidenschaft und wahre Begeisterung hervorruft, das kann nicht jeder! Deshalb bin ich unbeschreiblich dankbar für die Gelegenheit, meine gesamte Doktorarbeit in einem großartigen Themengebiet durchführen zu können und ich möchte mich bei all denjenigen bedanken, die zu meiner Arbeit und dieser Erfahrung beigetragen haben.

In erster Linie möchte ich mich bei Prof. Dr. Gerd Buntkowsky bedanken. Dafür, dass er die „Hartnäckigkeit“ hatte mich aus der Synthesechemie zu holen, um mir ein Feld der (physikalischen) Chemie zu zeigen, welches mir unerwartet viel Freude bereitet. Ich möchte mich für die Möglichkeit der Promotion in seinem Arbeitskreis, das Vertrauen, die Zuversicht, die Gespräche und Hilfestellungen bedanken, die er mir während meiner Zeit der Dissertation entgegengebracht hat.

Für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens meiner Arbeit bedanke ich mich bei apl. Prof. Dr. Torsten Gutmann, sowie für die Unterstützung und Ratschläge während dieser Zeit.

Für die Ruhe in „Panikmomenten“, die guten Ratschläge, Tipps, Tricks und Hilfe in all meinen technischen Fragen danke ich Dr. Hergen Breitzke.

Ich möchte mich außerdem bei Dr. Timmy Schäfer bedanken mich in diesen Arbeitskreis hineingebracht zu haben und auch bei Dr. Stephan Knecht, für die Einarbeitung und Unterstützung.

Ein großer Dank geht an das PHIP-Team: Dr. Laura Wienands und Jonas Lins für die Zusammenarbeit, das gemeinsame Schrauben, Löten, Ausprobieren, Verzweifeln und die gemeinsame Freude, wenn Messungen geklappt haben. Ich danke auch dem PHIP-Team 2.0 die mich auf Trapp gehalten haben mit neuen Fragenstellungen und Herausforderungen.

In diesem Zuge möchte mich bei meinem ehemaligen Masteranten und nun geschätzten Kollegen Jan Kergaßner und all den andern Kollegen aus dem Arbeitskreis Buntkowsky für die Zusammenarbeit und das Arbeitsklima bedanken.

Ein besonderer Dank geht dabei an das Büro D209 bestehend aus Mark Höfler, Jonas Lins und Sonja Döller, für den fachlichen Austausch, die gegenseitige Motivation, eure Hilfsbereitschaft auch außerhalb des Büros und nicht zu vergessen, den „ein, zwei schnelle Helle“.

Ich bedanke mich bei allen die diese Arbeit Korrektur gelesen haben. Danke für eure Geduld mit mir. Eure Fragen, Anregungen und Hinweise haben mir weitergeholfen, dies hier zu schaffen.

Mein Dank gilt auch meinen Freunden, Sara Jedamzik, Yvonne Menke, Daniela Stanke & Michel Langer und Alina Borger für die Unterstützung und die Aufmunterungen. Im Besonderen möchte ich mich bedanken bei Markus Reisenhofer und Franziska Schwager, die mir eine große Hilfe beim Anfang finden sind und waren. Ein Dank von Herzen geht an Alexander Woitzel für zahlreiche Motivationsschubser, seine Zuversicht, Wertschätzung, die zahllosen RQs und seiner bedingungslosen Freundschaft.

Abschließend möchte ich meiner Familie danken, die mich in meiner Entscheidung zu studieren und zu promovieren unterstützt und mir auch abseits davon vieles ermöglicht haben. Danke für den Ansporn mich immer weiterzuentwickeln. Danke für die Geduld, Energie und Liebe die ich von euch Allen bekomme.

*Auch wenn ich diese Arbeit allein schreiben musste, hätte ich sie doch niemals ohne euch alle geschafft.*

---

## 1. Einleitung

---

In den 1940er Jahren wurde an unterschiedlichen Orten der Welt unabhängig voneinander Pionierarbeit auf dem Gebiet der Kernspinresonanz (engl.: *Nuclear Magnetic Resonance* NMR) geleistet. Die Physiker PURCELL<sup>[1]</sup>, BLOCH<sup>[2]</sup> und MENDELSSOHN legten damit den Grundstein, aus dem sich die heutige NMR-Spektroskopie und Magnetresonanztomographie (MRT)<sup>[3]</sup> entwickelte. 1952 wurden BLOCH und PURCELL für Ihre Arbeit mit dem Nobelpreis in Physik ausgezeichnet.

Die NMR-Spektroskopie basiert auf den quantenmechanischen Eigenschaften der Kernspins von Atomkernen. Es werden die Wechselwirkungen von Kernspins in einem starken äußeren Magnetfeld ( $B_0$ ) beobachtet, die durch angelegte magnetische Wechselfelder angeregt werden. Dabei ermöglicht ein NMR-Spektrum detaillierte Informationen über die chemische Struktur, die Zusammensetzung und chemische Umgebung von Molekülen zu erhalten.

Die vergangenen Jahrzehnte an Forschung im Bereich der NMR-Technologie brachten unter anderem supraleitende Magnete und damit höhere Magnetfelder, die Hochfeld-NMR-Spektroskopie (HF-NMR), mit  $B_0$ -Feldern über 7 Tesla bis aktuell maximal 28,2 T<sup>[4]</sup>, Zeugmatographie<sup>[3]</sup>, später als NMR-Imaging/NMR-Tomographie und inzwischen als Magnetresonanztomographie (MRT) bekannt und hochauflösende Festkörper-NMR-Techniken hervor. Ein höheres Magnetfeld erhöht die Empfindlichkeit und kann die spektrale Auflösung erhöhen. Die Spektren werden durch eine stärkere Verschiebung und durch basislinienseparierte Signale einfacher zu interpretieren. Einige der Entwicklungen waren nur möglich, da sich parallel die Computertechnik mit entwickelt hat.<sup>[5]</sup> Die NMR-Spektroskopie findet Anwendung in verschiedenen wissenschaftlichen Disziplinen wie Physik, Chemie, Biochemie, Medizin und Materialwissenschaften und hat sich inzwischen zu einem unverzichtbaren Instrument der modernen Spektroskopie entwickelt. Allgemein sind die NMR-Spektroskopie und ihr medizinisches Pendant, MRT, nicht-invasive und zerstörungsfreie Analysemethoden, was vor allem die Anwendung von MRT für die Medizin zur Tumordiagnostik, zur Diagnostik von Weichteilverletzungen, zur Analyse von Hirnverletzungen und Erkrankungen sowie anatomischen Strukturen ermöglicht, die mit Röntgentechniken nicht abgebildet werden.<sup>[6,7]</sup> Im chemischen Bereich dient die NMR-Spektroskopie als Technik zur chemischen (Reaktions-)Analyse, zur Strukturaufklärung, zur Prozessanalyse, zur Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle von z.B. Arzneimitteln.<sup>[8]</sup>

Die NMR-Spektroskopie und MRT unterliegen allerdings einer starken Limitierung durch ihre inhärent geringe Empfindlichkeit. Diese ist darauf zurückzuführen, dass die Signalintensität von den durch die ZEEMANN-Wechselwirkung bedingten geringen thermischen Besetzungszahldifferenzen abhängt. Ein leistungsfähiger Ansatz zur Lösung von Empfindlichkeitsproblemen ist der Einsatz nicht-thermischer Spin-Polarisation, sogenannter Hyperpolarisation (HP). Eine der ältesten Hyperpolarisationstechniken ist die dynamische Kernspinpolarisation (engl.: *Dynamic Nuclear Polarisation* DNP).<sup>[9]</sup> DNP basiert darauf hohe Elektronenspinpolarisation durch Mikrowellenstrahlung in Kernspinpolarisation zu überführen. Eine weitere Hyperpolarisationstechnik hat ihre Anfänge in den 1960 Jahren in Darmstadt. BARGON<sup>[10,11]</sup> beobachtete nach der radikalischen Polymerisation von Maleinsäureanhydrid einen Effekt von Signalen mit intensiven Absorptionslinien, die teilweise invertierte Phasen zeigten. Da hier die chemischen Reaktion als Grund für die Signalverstärkung definiert wurde, wurde der Begriff der chemisch induzierte dynamische Kernpolarisation (CIDNP) eingeführt.<sup>[10,12,13]</sup> Während der Erforschung der Fischer-Tropsch-Reaktion im Jahre 1979 bemerkten BRYNDZA und BERGMANN, dass sie ein CIDNP-ähnliches Phänomen ausschließlich Montags beobachten

---

konnten, wenn sie Proben untersuchten, die aus Lösungsmittel, einem Kobalt-Acetylen-Komplex und Wasserstoffgas bestanden. Diese Proben wurden vorher präpariert und bis zur Verwendung am Montag in flüssigem Stickstoff gelagert. Die verstärkten Antiphasensignale traten nur Montags auf und bei keiner Wiederholung an einem anderen Tag, weshalb BRYNDZA und BERGMANN den Begriff „Montagsphänomen“ verwendeten.<sup>[10]</sup> Sie hielten es für den Beweis für das Auftreten freier Radikale bei metallorganischen Hydrierungsreaktionen. 1986 veröffentlichten BOWERS und WEITEKAMP<sup>[14,15]</sup> ein Konzept und erste (NMR) Resultate zum Symmetriebruch von Parawasserstoff, welcher durch eine chemische Reaktion (paarweise Addition) möglich sein sollte. Der in Pasadena vorgestellte Effekt lieferte die Erklärung zu dem „Montagsphänomen“ und wurde namensgebend für das PASADENA-Experiment (engl.: *Parahydrogen and Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment*). Während der gekühlten Lagerung des Wasserstoffs in Anwesenheit eines Metallkatalysators wurde thermischer Wasserstoff durch Umwandlung mit Parawasserstoff angereichert und während der Experimente wurde die Hyperpolarisation durch den Parawasserstoff induziert.<sup>[10]</sup> Damit war die Parawasserstoff<sup>[16]</sup>induzierte Polarisation (engl.: *ParaHydrogen Induced Polarization PHIP*)<sup>[15,17]</sup> als Technik zur Signalverstärkung durch Hyperpolarisation in der Flüssigkeits-NMR-Spektroskopie entdeckt. Zunächst beschränkte sich die Anwendung der Signalverstärkung auf die Detektion von Protonen. Seit 2000 ist durch GOLDMAN<sup>[12]</sup>, GOLMAN<sup>[18]</sup> und Andere die Möglichkeit von PHIP hyperpolarisierten <sup>13</sup>C-Carboxylgruppen durch intramolekularen Polarisationstransfer bekannt. Die chemische Reaktion der Hydrierung machte PHIP allerdings zu einer destruktiven Methode bezüglich der Analyten. 2009 veröffentlichten DUCKETT *et al.*<sup>[19,20]</sup> eine reversible PHIP-Variante, welche die Signalverstärkung durch einen Polarisationstransfer von Parawasserstoffinduzierter Hyperpolarisation über einen Metallkomplex ermöglicht (engl.: *Signal Amplification By Reverse Exchange, SABRE*)<sup>[19–21]</sup>.

Ein großer Vorteil der parawasserstoffbasierten Hyperpolarisation gegenüber beispielsweise der DNP ist deren vergleichsweise kostengünstige und einfache Implementierung in der NMR-Spektroskopie, da kein Mikrowellen-erzeugendes zusätzliches Gerät benötigt wird. Wie 1979 gezeigt, kann Parawasserstoff bereits durch die Lagerung von Wasserstoffgas über einem Katalysator in flüssigem Stickstoff erzeugt werden. Inzwischen gibt es hierfür auch dedizierte Parawasserstoff-Generatoren um PHIP durch zusätzliche Hardware noch einfacher an handelsüblichen Flüssigkeits-NMR-Spektrometern verwenden zu können.<sup>[22,23]</sup>

Neben der Entwicklung von Techniken für die Überwindung der inhärent geringen Empfindlichkeit der NMR-Spektroskopie, werden auch die NMR-Spektrometer weiterentwickelt, denn Hochfeld-NMR-Spektrometer sind teuer in der Anschaffung und im Unterhalt. Die verwendeten supraleitenden Magneten benötigen permanente Kühlung durch flüssiges Helium und flüssigen Stickstoff. Damit einher geht ein gewisser Sicherheitsstandard der Infrastruktur des Labors, was dafür sorgt, das Hochfeld-NMR-Spektrometer eher in spezialisierten Analytiklaboren und von Forschungseinrichtungen verwendet werden.

Mit der Entwicklung leistungsstärkerer, platzsparender Permanentmagneten steigt das Interesse an der Verwendung sogenannter Benchtop-Spektrometer (BT).<sup>[24]</sup> Diese passen auf einen Labortisch oder in einen Abzug, sind in der Anschaffung kostengünstiger und erzeugen weniger Betriebskosten. Sie sind aktuell nur mit Magnetfeldern bis 2,3 T erhältlich. Das ist in Kombination mit einer großen Menge an Analyten ausreichend für eine Vielzahl von einfachen Analysen. Die Verwendung eines geringeren Magnetfeldes für die Aufnahme von NMR-Spektren bringt jedoch einige Herausforderungen mit sich. Das geringere externe Magnetfeld sorgt für kleinere Larmorfrequenzen, die in kleineren Energiedifferenzen zwischen den Spinzuständen und somit in kleineren Besetzungszahldifferenzen resultieren. Damit verringert

---

sich die Polarisation der Probe, welche proportional zur Intensität des NMR-Signals ist. Als Konsequenz nimmt die Sensitivität der NMR mit Verringerung des Feldes ab. Eine weitere Herausforderung ist die spektrale Auflösung, die bei niedrigerem Feld geringer wird.

Für X-Kerne, wie  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  kommt zusätzlich noch ihre geringe natürliche Häufigkeit hinzu. Mit dem niedrigeren Magnetfeld und geringer natürlicher Häufigkeit der Isotope ergeben sich schnell geringe Signal-zu-Rausch-Verhältnisse und das Detektionslimit wird erreicht. Hierzu addiert sich die geringe Empfindlichkeit, die sich aus einer geringen Konzentration von Analyten ergibt. Eine mögliche Lösung hierfür ist die Akkumulation von einer großen Anzahl einzelner Messungen. Durch die quadratische Abhängigkeit der Messzeit von der Anzahl der Scans verlängern sich die Messzeiten allerdings deutlich. PHIP stellt eine Lösung dar<sup>[25]</sup>, mit der die inhärente und magnetfeldabhängige geringe Empfindlichkeit ausgeglichen und eine konkurrenzfähige Spektrenqualität im Vergleich zur Qualität von HF-NMR-Spektrometern erreicht werden kann.

## 2. Motivation

Die Möglichkeit, die Intensität von NMR-Signalen durch Hyperpolarisationstechniken um mehrere Größenordnungen zu verstärken, führte zur Etablierung der PHIP-NMR-Spektroskopie und deren reversibler Variante (SABRE). Resultierend daraus gibt es heutzutage ein großes Potenzial für eine Vielzahl von interessanten Anwendungsmöglichkeiten der PHIP-NMR-Spektroskopie.

Auf den ersten Blick lässt sich erkennen, dass die kostengünstige PHIP-NMR-Spektroskopie potenziell für die Signalverstärkung während der Strukturanalyse genutzt werden kann. Diese rein wirtschaftliche Betrachtungsweise lässt jedoch das umfassende Potential von PHIP-NMR-Spektroskopie außer Acht. In nicht-biochemischen Forschungsbereichen kann PHIP-NMR-Spektroskopie beispielsweise in der Untersuchungen von Reaktionsmechanismen<sup>[16,26,27]</sup> oder Überwachung chemischer Prozesse in Mikroreaktoren<sup>[28]</sup> verwendet werden.

Das Potential der PHIP-NMR-Spektroskopie liegt in der Detektion von Molekülen mit hydrierbarer Mehrfachbindung in sehr niedrigen Konzentrationen, und es existiert eine Vielzahl von Prozessen, in denen hydrierbare Moleküle in äußerst geringen Konzentrationen vorkommen. Ein repräsentatives Beispiel hierfür ist der Citratzyklus (Abbildung 1) im menschlichen Körper. Er beschreibt den gesamten Prozess des Metabolismus von Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA), einem Produkt aus der Verstoffwechselung von Pyruvat, sowohl in gesunden Zellenansammlungen als auch in Tumorgewebe.<sup>[29,30]</sup>

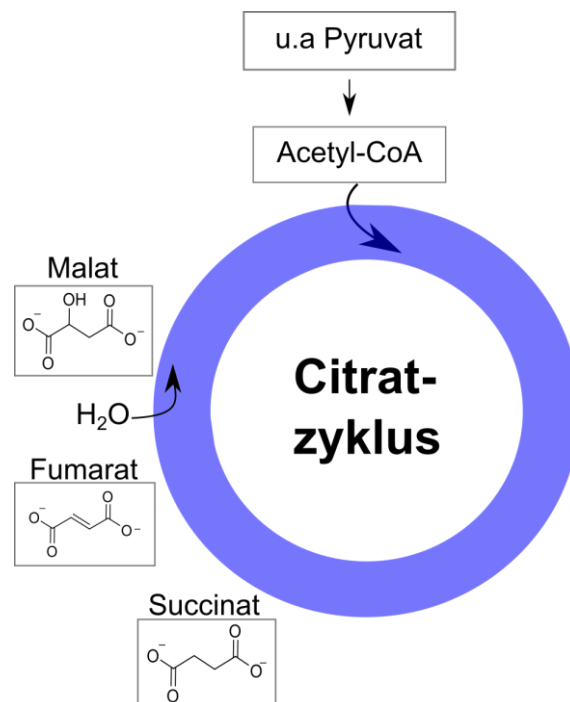


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Citratzyklus.

Der Citratzyklus stellt den energieliefernden Stoffwechsel für alle Zellen dar.<sup>[29,30]</sup> Die Differenzierung in gesunde oder entartete Zellen erfolgt trotz MRT und Computertomographie letztlich durch eine Biopsie und Histopathologie. Entartete Zellen weisen aufgrund eines veränderten Stoffwechsels einen erhöhten Verbrauch an Pyruvat und den Produkten des Citratzyklus, wie Fumarat, auf. Das führt zu einer erhöhten Konzentration dieser Substanzen in der Zellumgebung.<sup>[29-31]</sup>

---

Fumarat ist ein ungesättigtes Molekül und kann im Labor durch die Hydrierung von Acetylendicarbonsäure Dinatriumsalz erzeugt werden. Durch Verwendung von Parawasserstoff kann hyperpolarisiertes Fumarat erzeugt werden, welches in einen Organismus eingebracht werden könnte und in Tumorgewebe anreichert. Die Hyperpolarisation kann dann verwendet werden, um hochauflösende MRT-Bilder vom Gewebe zu erhalten und so Tumorzellen zu lokalisieren. PHIP-hyperpolarisierte, körpereigene Substanzen wie Fumarat könnten in der MRT an Stelle von schwermetallhaltigem Kontrastmittel verwendet werden. Aktuelle Forschungen<sup>[32]</sup> befassen sich mit genau diesem Ziel, die Signalverstärkung durch PHIP-NMR-Spektroskopie zukünftig im Rahmen non-invasiver medizinischer Diagnostik, bspw. zur Ermittlung von potenziell cancerogenen Zellansammlungen verwenden zu können.<sup>[32-34]</sup> Deshalb sind Fumarat sowie dessen Derivate forschungsrelevante Moleküle. Diese Forschung hat Anteil am Fortschritt der Wissenschaft im „Kampf gegen Krebs“. Weiterhin wird PHIP verstärkte NMR-Spektroskopie im Rahmen der Erforschung von Stoffwechselprozessen<sup>[35,36]</sup> wie dem Pyruvat-Stoffwechsel<sup>[37]</sup> und Stoffwechselteilreaktionen wie der (De-)Hydrierung von Fumarat<sup>[32-34,38]</sup> eingesetzt.

Ein weiteres Anwendungsgebiet und Forschungsgebiet mit biomedizinischem Hintergrund ist die Verwendung von PHIP-markierten Peptiden als pharmakologisch aktive Biomarker. Hierzu wird eine Aminosäure wie beispielsweise Tyrosin mit einer zusätzlichen ungesättigten Bindung versehen und anschließend für die Synthese von Peptiden wie SFTI-1<sup>[39]</sup> verwendet. Die ungesättigte Bindung wird als PHIP-Marker eingesetzt, und kann für Studien physiologischer Prozesse<sup>[40,41]</sup> in Bindungstaschen<sup>[39,41]</sup> hydriert werden.

Im Hinblick auf PHIP-NMR-Spektroskopie und der Vielzahl an unterschiedlichen Anwendungsbereichen ist die Entwicklung von Transfertechniken, die die eingebrachte Hyperpolarisation von den Protonen auf Heterokerne verschiebt, von Relevanz. Protonen haben gegenüber Heterokernen, wie <sup>13</sup>C und <sup>15</sup>N, zwei nennenswerte Nachteile. Protonen haben eine schnelle Kernspinrelaxation im Vergleich zu Heterokernen, die zu einem rapiden Verlust der Hyperpolarisation führt. Zusätzlich erschwert die vergleichsweise geringe Dispersion der chemischen Verschiebung die Auflösung der erhaltenen Signale. Letzteres führt zu einer erschwerten spektralen Zuordnung in protonenreichen Molekülen wie Peptiden und Polymeren. Daher kommen mehrdimensionale und heteronukleare NMR-Experimente zum Einsatz. Zusätzlich liefern Heterokerne Informationen, welche durch reine Protonen-NMR-Spektroskopie nicht erhalten werden können. Die Detektion dieser Kerne in der NMR-Spektroskopie birgt jedoch einige Probleme. Die kleineren gyromagnetischen Verhältnisse und geringeren natürlichen Häufigkeiten der NMR-aktiven Isotope verringern die Signalintensitäten deutlich. Die Hyperpolarisation durch PHIP-NMR-Spektroskopie liefert eine signifikante Erhöhung der Signalintensität, was in einer deutlichen Einsparung an Messzeit resultiert. Die längere Relaxationszeit der Atomkerne ermöglicht zudem die Durchführung komplexerer und längerer NMR-Experimente.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Fokus daher auf den Hyperpolarisationstransfer von Protonen auf Heterokerne, wie <sup>13</sup>C und <sup>15</sup>N, gelegt. Für die bestehende PHIP-NMR-Apparatur soll ein Transferverfahren etabliert werden, mit Hilfe dessen ZULF-Experimente (engl.: *Zero- and Ultralow Field*) durchgeführt werden können. Da bildgebende NMR-Techniken vorwiegend niedrige Magnetfelder nutzen, soll weiterhin ein Niedrigfeldspektrometer in die Apparatur mit eingebunden werden. Kernaspekt dieser Weiterentwicklung ist die Automatisierung der Messtechnik mit dem Ziel auch bei geringeren Magnetfeldern PHIP Signalverstärkung



---

untersuchen zu können. Dabei soll die durch die niedrige Magnetfeldstärke nochmals geringere Sensitivität des Benchtop-NMR-Spektrometers durch die PHIP-NMR-Technik ausgeglichen werden. Auf technischer Ebene muss dazu zunächst eine kontrollierte Parawasserstoff- und Inertgaszufuhr realisiert werden. Des Weiteren soll eine automatisierte und reproduzierbare experimentelle Durchführung, analog zur bestehenden Durchführung am HF-Spektrometer, etabliert werden. Die Untersuchung der Hyperpolarisation soll an beiden Spektrometern an Protonen,  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff- sowie  $^{15}\text{N}$ -Stickstoffkernen möglich sein, in natürlicher Häufigkeit und möglichst niedrigen Konzentrationen. Die PHIP-Experimente sollen an beiden Spektrometern automatisiert und mit möglichst wenig Eingriff des Experimentators möglich sein. Ebenso soll eine vollwertige, zeitgleiche Nutzung beider Spektrometer möglich sein.

Im Rahmen dieser Arbeit werden zunächst die Grundlagen der NMR-Spektroskopie und die der unterschiedlichen parawasserstoffbasierten Hyperpolarisationstechniken beschrieben. Anschließend wird die apparative Ausgangslage der bestehenden Apparatur aufgezeigt, gefolgt von der Beschreibung aller instrumentellen Entwicklungen. Die Ergebniskapitel sind jeweils untergliedert in die Beschreibung der apparativen Weiterentwicklung, gefolgt von der Validierung der Apparatur an einem Modellanalyten, sowie der Demonstration der jeweiligen Technik an einem forschungsrelevanten Substrat. Die Ergebnisse und Erkenntnisse jeder iterativen Entwicklung werden kurz zusammengefasst, bevor die daraus resultierenden Schlüsse zur nächsten Entwicklungsstufe führen. Abschließend wird ein Fazit über die Gesamtheit der Entwicklungen, sowie ein Ausblick für zukünftige Weiterentwicklungen gegeben. Daran schließt sich die detaillierte technische Beschreibung des Versuchsaufbaus sowie der Experimentalteil an.



---

### 3. Theoretische Grundlagen

---

In diesem Kapitel werden kurz die Grundlagen der NMR-Spektroskopie beleuchtet und die für die flüssig-NMR-Spektroskopie wichtigsten Wechselwirkungen ausführlicher beschrieben. Anschließend wird Hyperpolarisation eingeführt und die beiden für diese Arbeit relevanten, auf Parawasserstoff basierenden Techniken PHIP und SABRE erläutert. Abschließend werden unterschiedliche Polarisationsstransfertechniken, die für Messung von hyperpolarisierten X-Kernen verwendet werden, kurz zusammengefasst und die theoretischen Grundlagen hinter der Verwendung von Nullfeld-NMR-Spektroskopie erklärt.

Nur die für diese Arbeit relevanten Bereiche der Theorie werden ausführlicher hervorgehoben. Detaillierte Beschreibungen der umfangreichen Theorie der NMR-Spektroskopie werden an geeigneten Stellen durch Verweise auf die Literatur angeboten.

#### 3.1. Physikalische Grundlagen der magnetischen Kernresonanz

Wie bereits einleitend erwähnt, beruht die NMR-Spektroskopie auf den magnetischen Eigenschaften von Atomkernen. Kerne, die mittels NMR-Spektroskopie detektiert werden können, werden als NMR-aktiv bezeichnet. Eine von Null verschiedene Kernspinquantenzahl  $I$  ist hierzu Voraussetzung. Diese wird beispielsweise von den Kernen  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  ( $I=1/2$ ) erfüllt. Diese Kerne besitzen einen Spin-Drehimpuls  $\vec{P}$ , multipliziert mit dem gyromagnetischen Verhältnis  $\gamma$  ergibt sich das magnetische Moment  $\vec{\mu}$  (Gleichung, Gl. 1).<sup>[42-44]</sup>

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{P} \quad (1)$$

$\gamma$  ist eine kernabhängige Konstante und ein Maß für das durch den Spin hervorgerufene magnetische Moment. Der Spin-Drehimpuls  $P$  ist eine gequantelte Größe, dessen Eigenwerte nach Gleichung 2 berechnet werden können.

$$|\vec{P}| = \sqrt{I(I+1)}\hbar \quad (2)$$

Hierbei ist  $\hbar$  das reduzierte PLANKSCHE-Wirkungsquantum.

In einem statischen externen  $B_0$ -Feld entlang der Z-Achse orientieren sich die Spins so, dass  $P_z$  einem ganz- oder halbzahligen Vielfachen von  $\hbar$  entspricht (Gl. 3), wodurch eine makroskopische Magnetisierung in Feldrichtung erzeugt wird. Die Spins sind richtungsgequantelt, wobei die Orientierung von  $m$  abhängt.<sup>[42-44]</sup>

$$P_z = m \cdot \hbar \quad (3)$$

Aufgrund der Richtungsquantelung ergeben sich für die Spins  $2I+1$  mögliche Orientierungen. Wobei die möglichen Energieniveaus durch die magnetische Quantenzahl  $m$  ( $m=-I, -I+1 \dots I$ ) beschrieben werden. Es ergeben sich somit diskrete Energieniveaus. Die entsprechenden Energien lassen sich nach Gl. 4 ermitteln.

$$E_m = -m\hbar\gamma B_0 \quad (4)$$

Außerhalb des  $B_0$ -Feldes sind all diese Energieniveaus entartet. Die Aufhebung der Entartung durch ein magnetisches Feld wird als ZEEEMAN-Aufspaltung bezeichnet. Für einen Kernspin von  $I=1/2$  sind die erhaltenen Energieniveaus exemplarisch in Abbildung 2 dargestellt.<sup>[42–44]</sup>

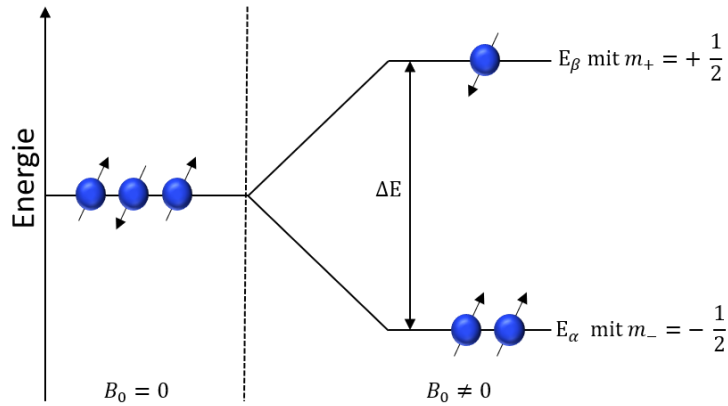


Abbildung 2: Darstellung der Energieniveaus eines  $1/2$ -Spin Kerns außerhalb eines  $B_0$ -Feldes, sowie die resultierende ZEEEMAN-Aufspaltung der Energieniveaus innerhalb eines  $B_0$ -Feldes.

Die Energiedifferenz zwischen zwei benachbarten Energieniveaus wird nach Gl. 5 berechnet.

$$\Delta E = E_\beta - E_\alpha = -m\hbar\gamma B_0 = \hbar\nu_L \quad (5)$$

Dabei ist  $\nu_L$  die Larmorfrequenz (Gl. 6), mit welcher ein Kernspin um die induzierte Ausrichtungsachse präzediert. Diese Präzession kommt daher, dass ein Kernspin vereinfacht betrachtet ein Vektor ist, der nicht parallel zum Magnetfeld stehen kann und einen Kreislauf bildet. Das äußere  $B_0$ -Feld erzeugt ein Drehmoment auf das magnetische Moment, was aufgrund der Drehimpulserhaltung darin resultiert, dass ein magnetischer Dipol kreisförmig um die Ausrichtungsachse des Magnetfelds rotiert. Die Rotationsfrequenz ist dabei abhängig von  $\gamma$ , also der Atomkernsorte und der Feldstärke des äußeren Magnetfeldes.<sup>[42–44]</sup>

$$\nu_L = -\frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad (6)$$

Das Anlegen eines magnetischen Wechselfeldes  $B_1$  mit der Frequenz  $\nu_1$  senkrecht zu  $B_0$  kann Übergänge zwischen den Niveaus erzeugen, wenn  $\nu_1$  des  $B_1$ -Feldes mit der Larmorfrequenz  $\nu_L$  des Kernspin übereinstimmt (Resonanz). In diesem Fall wird von  $\nu_1$  als Resonanzfrequenz gesprochen. Durch langsame, kontinuierliche Variation von  $\nu_1$  können die Resonanzfrequenzen der Kernspins einzeln angeregt werden. Während der Resonanz kommt es dann zur Absorption von Energie und Übergang eines Spins in das energetisch höhere Niveau. Diese absorbierte Leistung kann gemessen werden und es ergibt sich ein Spektrum von frequenzabhängigen Absorptionslinien.<sup>[5]</sup> Diese Technik der NMR wird als CW-NMR (engl.: *Continuous Wave NMR* CW-NMR) bezeichnet.<sup>[42–44]</sup>

Daneben gibt es eine weitere Technik, die gepulste NMR-Spektroskopie, welche heutzutage überwiegend verwendet wird.<sup>[5]</sup> Hierbei wird durch einen Radiofrequenzimpuls ( $B_1$ -Feld) für eine bestimmte Zeit  $t$  die Resonanzfrequenz einer Kernsorte ( $\gamma$ ) eingestrahlt. Alle Kernspins dieser Kernsorte werden dabei aus dem Gleichgewichtszustand des  $B_0$ -Feldes (Z-Achse) ausgelenkt. Die einzelnen magnetischen Momente präzedieren dann zusätzlich um das  $B_1$ -Feld. Der Winkel, in welchem die Magnetisierung rotiert wird, kann nach Gleichung (7) berechnet werden.

$$\theta = \gamma B_1 t \quad (7)$$

Nach Ende eines  $90^\circ$  Pulses ist die Magnetisierung in der X-Y-Ebene und präzisiert mit der Larmorfrequenz um  $B_0$  (Abbildung 3A). Diese Präzession induziert eine Wechselspannung in einer Detektorspule (B). Durch Rückkehr der Magnetisierung in den Ausgangszustand (Relaxation) wird die induzierte Spannung über die Zeit geringer, die Schwingung wird gedämpft und das Signal klingt ab (C).<sup>[44]</sup> Das Signal wird als freier Induktionszerfall (FID) bezeichnet und wurde 1946 von BLOCH<sup>[2]</sup> erstmalig beschrieben. 1966 präsentierten ERNST und ANDERSON<sup>[45]</sup> die Darstellung der Signale in der Frequenzdomäne durch Anwendung einer Fourier-Transformation (FT) auf den erhaltenen FID (D).<sup>[42-44]</sup>

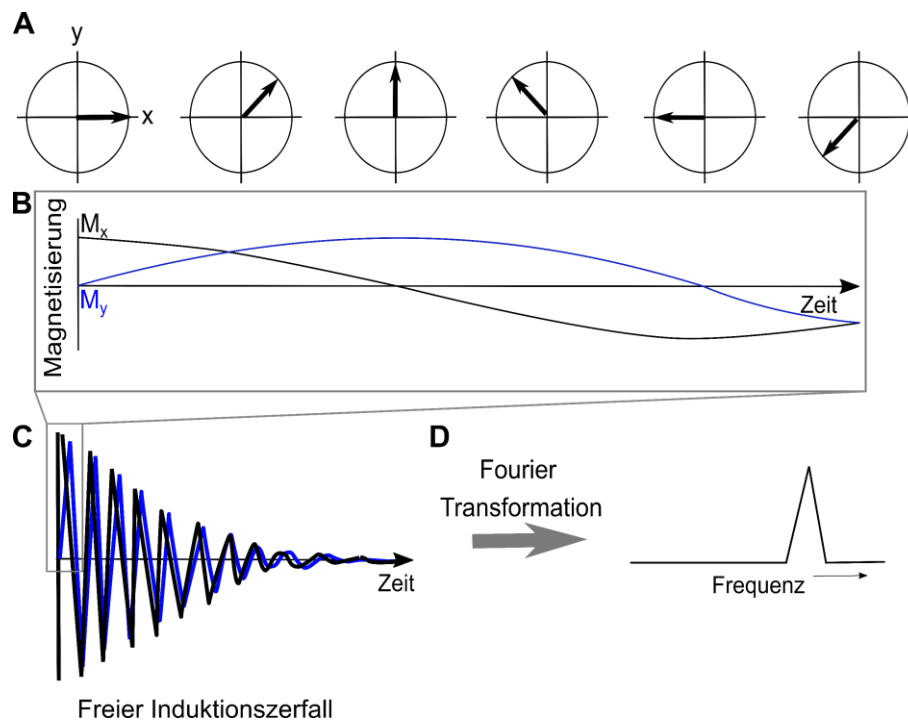


Abbildung 3: Darstellung A der Magnetisierung in der X-Y-Ebene und die sich während der Präzession verändernde Position, sowie B die Auftragung der Magnetisierungsanteile von X und Y gegen die Zeit. C zeigt den freien Induktionszerfall (FID), betrachtet über die gesamte Zeit bis zur Relaxation der Magnetisierung. D zeigt die Umwandlung des zeitabhängigen Signals durch Fourier Transformation in ein frequenzabhängiges Signal. (Abgeändert entnommen aus <sup>[43]</sup>)

Der Grund für die unterschiedlichen Eigenfrequenzen, die die Kernspins aufweisen, ist die Summe der auf sie einwirkenden Wechselwirkungen. Neben der ZEEMAN-Wechselwirkung mit dem  $B_0$ -Feld gibt es weitere Wechselwirkungen. Diese werden durch lokale Magnetfelder in Kernnähe hervorgerufen und liefern weitere relevante Informationen über das System. Diese Wechselwirkungen sind die Abschirmung oder Entschirmung des äußeren Feldes durch

---

Elektronenwolken (chemische Verschiebung), die indirekte Spin-Spin-Wechselwirkung (J-Kopplung), die dipolare Wechselwirkung mit anderen Kernspins und die Wechselwirkung eines eventuell vorhandenen elektrischen Kernquadrupolmomentes mit elektrischen Feldgradienten.<sup>[42-44]</sup>

Aufgrund der schnellen Molekülbewegung in Lösung sind von den erwähnten Wechselwirkungen nur die isotropen Wechselwirkungen im Spektrum zu sehen. Die richtungsabhängigen und anisotropen Wechselwirkungen werden durch schnelle Bewegungen ausgemittelt. Damit verbleiben nur der isotrope Anteil der chemischen Verschiebung und die Spin-Spin-Wechselwirkung (J-Kopplung) als Wechselwirkungen, die in den Spektren der Flüssigkeits-NMR zu beobachten sind. Diese werden im Folgenden näher erläutert.<sup>[42-44]</sup>

### 3.1.1. Chemische Verschiebung

Mit „chemischer Verschiebung“ ist ein Effekt gemeint, der die Abhängigkeit des magnetischen Feldes am Kernort von der Elektronendichte und damit von der chemischen Bindung des zugehörigen Atoms beschreibt. Eine quantenmechanische Beschreibung des Effekts wurde von N.F. RAMSEY<sup>[46]</sup> gegeben und übersteigt den Rahmen dieser Einführung.

In einer halbklassischen Betrachtungsweise kann der Effekt so veranschaulicht werden, dass durch das äußere  $B_0$ -Feld eine Stromdichte innerhalb der Elektronenwolke induziert wird ( $B_{ind}$ ), welche nach der LENZSCHEN-Regel ein Feld entgegengesetzt dem  $B_0$ -Feld ist. Der Kernspin wird durch das  $B_{ind}$  abgeschirmt und erfährt ein effektives Magnetfeld  $B_{eff}$ , ( $B_{eff} < B_0$ ). Zu dem Effekt der jeweiligen Elektronenwolke um den Kernspin addieren sich die unterschiedlichen Einflüsse der angebotenen Substituenten. Dieser Effekt wird letztlich als chemische Verschiebung beschrieben.<sup>[42,44]</sup>

In guter Näherung lässt sich die Resonanzfrequenz  $\nu_1$  und damit  $\delta_{iso}$  eines Kernspins mit Gleichung 8 berechnen.

$$\nu_L = \nu_1 = (1 - \sigma) \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (8)$$

Die Abschirmungskonstante  $\sigma$  drückt aus, mit welcher Stärke ein Kern von  $B_0$  abgeschirmt wird und ist eine Konstante nur für eine bestimmte chemische Umgebung. Daher ist eine theoretische Bestimmung der exakten Resonanzfrequenz  $\nu_1$  und damit  $\delta_{iso}$  eines Kernspins im NMR-Spektrum nur durch quantenchemische Berechnung möglich, da detaillierte Information über die Elektronendichte in Grund- und angeregten Zuständen benötigt werden.

Die chemische Verschiebung wird häufig in einer relativen Skala angegeben, um Messungen an unterschiedlichen Spektrometern besser vergleichen zu können.

$$\delta = \frac{\nu_{Probe} - \nu_{Referenz}}{\nu_{Referenz}} \cdot 10^6 \quad (9)$$

Die chemische Verschiebung in der  $\delta$ -Skala beschreibt den relativen Abstand in *parts per million* (ppm) zwischen den Signalen einer Probe und dem Signal eines gewählten Standards, welchem die Verschiebung 0 ppm zugewiesen ist. Für Protonen ( $^1\text{H}$ ) und Kohlenstoff ( $^{13}\text{C}$ ) ist dieser Standard Trimethylsilan (TMS). Zur Ermittlung der Verschiebung wird die Frequenzdifferenz zwischen dem Signal der Probe und dem des Standards durch die Resonanzfrequenz der Referenz dividiert (Gl. (9)). Durch diese Rechnung wird die Verschiebung eine

frequenzunabhängige Größe und damit über unterschiedliche Magnetfeldstärken hinweg konstant. Aus historischen Gründen geht die  $\delta$ -Skala von rechts, dem niedrigen Wertebereich, in welchem Kernspins aufgrund hoher Abschirmung resonieren, nach links zu den höheren Wertebereichen mit Signalen von Kernspinresonanzen mit geringerer Abschirmung (Entschirmung).<sup>[42–44]</sup>

### 3.1.2. Indirekte Spin-Spin-Wechselwirkung (J-Kopplung)

Die Spin-Spin-Wechselwirkung, auch skalare Kopplung oder J-Kopplung, beschreibt die indirekte Wechselwirkung zwischen zwei Kernspins über die Elektronenhülle. Genauer werden mehrere Interaktionen zusammengefasst, die alle die gleiche Symmetrie besitzen und über die bindungsbildenden  $\sigma$ -Elektronen übertragen werden. Abbildung 4 zeigt beispielhaft eine  ${}^2J_{\text{HH}}$ -Kopplung und die vorliegenden Interaktionen zwischen den Elektronen und Kernen. Die Nomenklatur der J-Kopplungen ergibt sich aus der Anzahl der übertragenden Bindung als hochgestellte vorgeschaltete Indizes und der betrachteten Atomkerne, zwischen denen die Kopplung betrachtet wird, als tiefgestellte Indizes.<sup>[42,47]</sup>

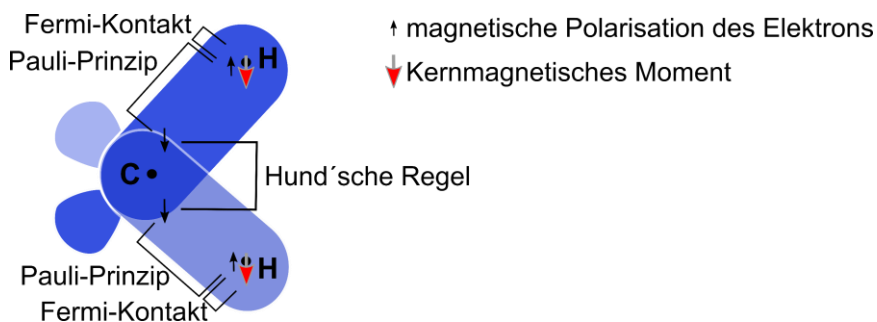


Abbildung 4: Darstellung der Interaktionen zwischen zwei Protonen über zwei chemische Bindungen ( ${}^2J_{\text{HH}}$ -Kopplung).

Der FERMI-Kontakt<sup>[48]</sup> stellt die magnetische Wechselwirkung zwischen Kern- und Elektronenspin dar. Aus dem  $\mu$  des H-Kernes resultiert eine antiparallele Ausrichtung der magnetischen Polarisation der Elektronenspins. Die  $\sigma$ -Elektronen sind ebenfalls antiparallel zueinander ausgerichtet, wie es durch das PAULI-Ausschlussprinzip beschrieben wird.<sup>[48]</sup> Die Verteilung der Elektronen des C-Kernes auf die Atomorbitale wird durch die HUND'schen<sup>1</sup> Regeln<sup>[49]</sup> beschrieben. Um eine energetisch möglichst günstigste Konfiguration des Gesamatoms zu erzeugen, richten sich die Elektronen in benachbarten Orbitalen parallel zueinander aus.<sup>[47,50]</sup>

In einem NMR-Spektrum führt die Summe dieser Wechselwirkungen, also die J-Kopplung, zu einer Aufspaltung von Resonanzpeaks, der Feinstruktur. Die entstehende Feinstruktur der Signale liefert Informationen über die Verknüpfung von Atomen in einem Molekül. Als Beispiel wird in Abbildung 5 die Feinstruktur der Methylengruppe von Ethanol gezeigt.<sup>[42]</sup>

<sup>1</sup> Die Nomenklatur der HUND'schen Regeln ist abhängig von der wissenschaftlichen Disziplin. Im Rahmen einer physikalischen Betrachtung handelt es sich um die 2te HUND

'sche Regel, die hier zu Grunde liegt.

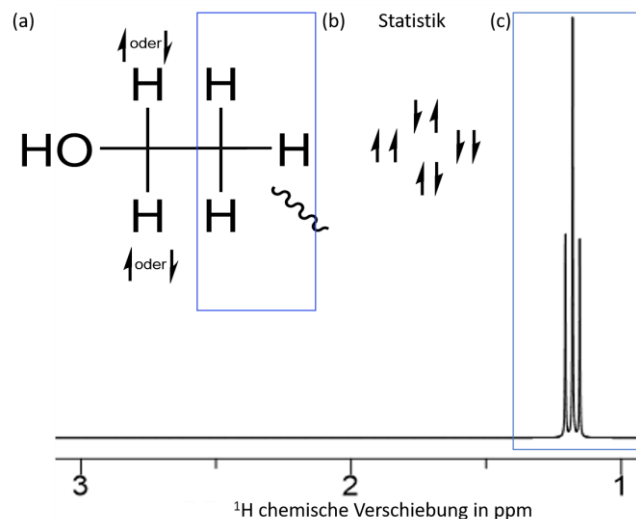


Abbildung 5: Ausschnitt des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums von Ethanol. (a) Struktur von Ethanol, die betrachtete Gruppe ist markiert. (b) Aus den Spin-Kopplungen zwischen den Methylenprotonen und den Methylprotonen entstehen die unterschiedlichen Signalintensitäten. (c) Die resultierende Feinstruktur stellt ein Tripletts dar, anhand welchem die Kopplungskonstante ausgelesen werden kann.

Für die Auswertung der Feinstruktur einfacher Spektren (Spinsystem A<sub>n</sub>X<sub>M</sub>) gelten folgende Regeln: (a) Die Anzahl der Linien bzw. die Multiplizität eines Signals kann mit Gleichung 10 bestimmt werden.

$$\text{Multiplizität} = n + 1 \quad (10)$$

n-Anzahl der koppelnden Kerne

(b) Die relativen Intensitäten der Linien innerhalb der Feinstruktur eines Spektrums wird durch das PASCALSche-Dreieck gegeben. (c) Die Kopplungskonstante [Hz] ist für miteinander koppelnde Kerne identisch und kann anhand der Linienabstände ausgelesen werden. (d) Sie nimmt mit zunehmendem Abstand der Kerne zueinander ab. (e) Kopplungen unter magnetisch äquivalenten Kernen sind nicht beobachtbar (innerhalb bspw. einer Methylengruppe). Diese Regeln erreichen ihre Grenzen bei Spektren höherer Ordnung, also von komplexen Systemen, mit starken Kopplungen, wenigen Gruppen äquivalenter Kerne und magnetisch inäquivalenter Kerne. Beispiele für solche Spektren sind A<sub>n</sub>B<sub>n</sub> oder AA'BB' Spinsysteme.

Die Aufspaltung durch eine J-Kopplung kann unterdrückt werden, indem eine Entkopplungssequenz verwendet wird. Ein von J<sub>CH</sub> entkoppeltes <sup>13</sup>C-Spektrum wird mit <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} angegeben. Dabei wird über einen längeren Zeitraum das Spinsystem der Protonen angeregt bspw. mit einer kontinuierlichen Einstrahlung oder über eine phasenmodulierte Anregung. Das Resultat ist ein Spektrum ohne Multiplizitäten. Für <sup>13</sup>C-Spektren bspw. ist dies von Vorteil, da die Aufspaltung in die Hyperfeinstruktur mit einer Verringerung der Signalhöhe einhergeht. Unter Signal-zu-Rauschen Verhältnis (engl.: *Signal to Noise Ratio*, SNR) wird im Rahmen dieser Arbeit das Verhältnis der Signalhöhe zur geschätzten mittleren Peakhöhe des Rauschens verstanden.

### 3.2. Thermische Polarisation und Hyperpolarisation

Wie einleitend bereits erwähnt, unterliegt die NMR-Spektroskopie und die bildgebende Technik, MRT, einer starken Limitierung durch ihre geringe Empfindlichkeit. Diese ist darauf zurückzuführen, dass die Signalintensität von dem Besetzungszahlverhältnis der ZEEMANN-Energieniveaus  $E_i$  der Kernspins abhängt. Das Verhältnis der Besetzung zwischen den Spins im angeregten Zustand  $N_1$  und den Spins im Grundzustand  $N_0$  folgt im thermischen Gleichgewicht der BOLTZMANN-Verteilung (Gl.11).<sup>[42]</sup> Daraus ergibt sich die Besetzungszahldifferenz  $\Delta N$  im Vergleich zur Gesamtzahl der Spins  $N$  nach Gl. 12.

$$\frac{N_1}{N_0} = \frac{e^{-\frac{E_\beta}{k_B T}}}{e^{-\frac{E_\alpha}{k_B T}}} = e^{-\frac{\gamma h B_0}{2\pi k_B T}} \quad (11)$$

$$\Delta N = N_1 - N_0 \approx N \frac{\gamma h B_0}{2\pi k_B T} \quad (12)$$

In den Gleichungen 11 und 12 sind neben  $\gamma$ , dem gyromagnetischen Verhältnis  $k_B$ , der BOLTZMANN-Konstante, und  $h$ , dem PLANCKschen-Wirkungsquantum, drei aufbauspezifische Parameter enthalten. Diese können durch Variation zu einer Änderung der Besetzungszahldifferenz  $\Delta N$  und damit Erhöhung der Signalintensität führen. Das Magnetfeld  $B_0$  oder die Gesamtzahl der Spins  $N$  können erhöht werden. Alternativ kann die Temperatur  $T$  gesenkt werden. In der Durchführbarkeit unterliegt dies allerdings Limitierungen. Die Verringerung der Temperatur ist beispielsweise begrenzt durch den Gefrierpunkt von eingesetzten Lösungsmitteln. Das  $B_0$ -Feld unterliegt technischen Beschränkungen, und die Gesamtzahl der Spins wird durch die eingesetzte Probenmenge bestimmt.

Eine andere Strategie zur Erhöhung der Sensitivität besteht darin Techniken mit nicht-thermischer Kernpolarisation, sogenannte Hyperpolarisationstechniken, zu verwenden. Diese erzeugen eine deutliche Überpopulation eines Energieniveaus und generieren damit ein nicht thermisches Besetzungszahlverhältnis, eine Hyperpolarisation. Abbildung 6 zeigt beispielhaft ein thermisches Besetzungszahlverhältnis im Vergleich zu dem Besetzungszahlverhältnis einer Probe im hyperpolarisierten Zustand.

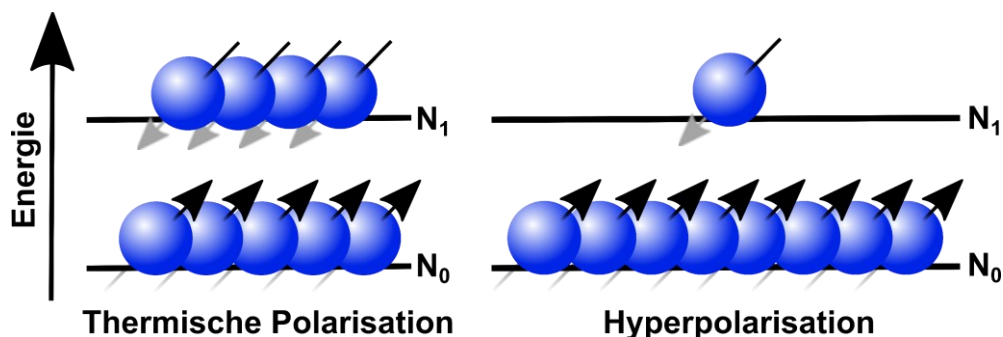


Abbildung 6: Veranschaulichung exemplarischer Besetzungen zweier Energieniveaus  $N_1$  und  $N_0$  mit thermischer Polarisation und Hyperpolarisation.



---

Hyperpolarisationstechniken können auch eingesetzt werden, um die Spin-Polarisation von einem hochpolarisierten „Spin-Reservoir“ auf Kernspins zu übertragen und so das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erhöhen. Die wichtigsten Vorteile dieser Techniken sind die Verringerung der Messzeit und der Substanzmenge, die für die Aufnahme von NMR-Spektren benötigt werden, sowie die Vereinfachung des Spektrums bei selektiver Hyperpolarisation. Eine Quantifizierung der Polarisationszunahme wird durch den Verstärkungsfaktor ( $\epsilon$ ) gegeben.

Hyperpolarisation erlaubt Strukturaufklärung, die unter Standardbedingungen aufgrund der geringen Sensitivität für NMR-Spektroskopie eine Herausforderung darstellen würde. Hyperpolarisationstechniken werden neben chemischer Strukturanalyse und Beobachtung von Reaktionsmechanismen mittels NMR-Spektroskopie auch für bildgebende diagnostische Verfahren verwendet.<sup>[51]</sup>

Angewendete Hyperpolarisationstechniken sind beispielsweise die DNP<sup>[9]</sup>, bei der Elektronenpolarisation auf Kerne übertragen wird. Eine weitere Hyperpolarisationstechnik ist SEOP (engl.: *Spin Exchange Optical Pumping*)<sup>[6,51,52]</sup>, bei welcher durch zirkular polarisiertes Licht Alkalimetallelektronen angeregt werden, die durch Stöße gegen Edelgas ihre Polarisation durch Spinaustausch übertragen können. Daneben gibt es die beiden parawasserstoffbasierten Techniken PHIP und SABRE. Beide verwenden Parawasserstoff als Quelle der Hyperpolarisation und werden in Kapitel 3.3.2 und Kapitel 3.3.3 detailliert erklärt.

Bei allen genannten Hyperpolarisationstechniken ist die Auslenkung aus dem thermischen Gleichgewichtszustand ein temporäres, reversibles Phänomen und wird sich daher zwangsläufig zur BOLTZMANN-Besetzung im thermischen Gleichgewicht entspannen.

### 3.3. Parawasserstoff-basierte Hyperpolarisationstechniken

Zum Verständnis der Parawasserstoff-basierten Hyperpolarisationstechniken und damit des PHIP-Effekts wird zunächst mit einer Erläuterung des Wasserstoffmoleküls, seiner Zustände und möglichen Wellenfunktionen begonnen.

#### 3.3.1. Der Parawasserstoff

Die Gesamtwellenfunktion eines Moleküls kann nach der BORN-OPPENHEIMER-Näherung in eine elektronische  $\varphi_{el}$ , eine Translations-  $\varphi_{trans}$ , eine Vibrations-  $\varphi_{vib}$ , eine Rotations-  $\varphi_{rot}$  und eine Kernspinwellenfunktion  $\varphi_{nuc}$  aufgeteilt werden.<sup>[47]</sup>

$$\Psi_{Total} = \varphi_{el} \cdot \varphi_{trans} \cdot \varphi_{vib} \cdot \varphi_{rot} \cdot \varphi_{nuc} \quad (13)$$

Für Kerne mit halbzahligem Spin besagt das PAULI-PRINZIP, dass die Gesamtwellenfunktion eines Moleküls, welches aus diesen Kernen zusammengesetzt ist, in Bezug auf die Vertauschung dieser antisymmetrisch sein muss. Unter diesem Aspekt wird nachfolgend Wasserstoff betrachtet. Wasserstoff in seiner molekularen, zweiatomigen Form ist ein stark gekoppeltes A<sub>2</sub>-Spinsystem.<sup>[47]</sup>

Bei Temperaturen unter 100°C können nur die Grundzustände der elektronischen und der Vibrationswellenfunktion des Wasserstoffs besetzt werden. Der elektronische Grundzustand ist ein symmetrischer Zustand. Der Vibrationsgrundzustand kann durch einen harmonischen Oszillator im Grundzustand ( $\nu = 0$ ) repräsentiert werden. Daraus ergibt sich auch hier ein



symmetrischer Grundzustand. Für molekularen Wasserstoff ergeben sich aufgrund der Entartung der Kernspinzustände  $2I+1$  vier Zustände: ein antisymmetrischer Kernzustand (Singulett-Zustand,  $S$ ) und drei symmetrische Kernzustände (Triplet-Zustände,  $T$ ) (Abbildung 7).<sup>[53]</sup>

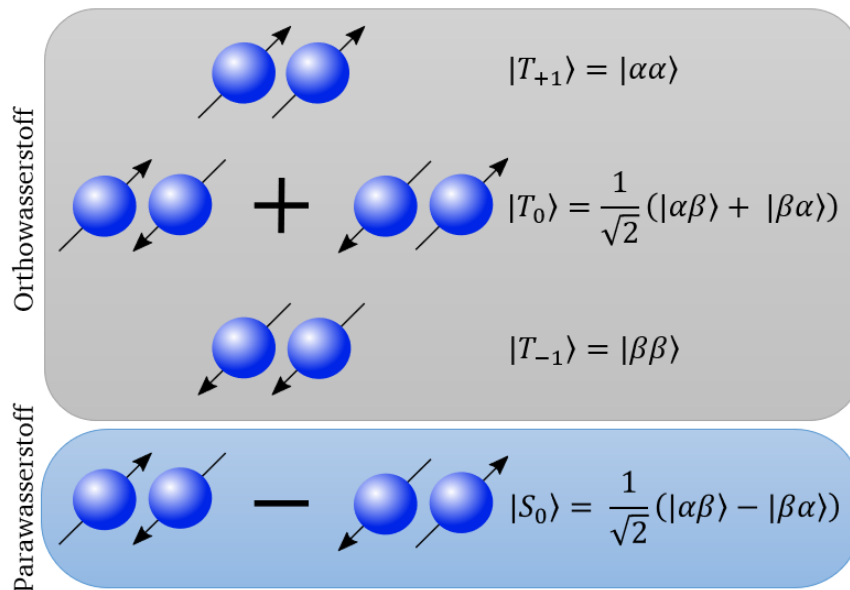


Abbildung 7: Darstellungen der Eigenzustände von molekularem Wasserstoff und Spinzustände in der Singulett-Triplett-Nomenklatur (bsp.  $T_{+1}$ ).

Der Begriff Parawasserstoff ( $p\text{-H}_2$ ) wird für den Singulett-Zustand verwendet, in dem die beiden Protonen einen Gesamtspin von Null aufweisen. Die Kernspinwellenfunktionen sind antisymmetrisch (Differenz) und dem PAULI-PRINZIP folgend ist die Rotationswellenfunktion symmetrisch. Orthowasserstoff ( $o\text{-H}_2$ ) bezeichnet die Zustände, in denen die Kernspinwellenfunktionen symmetrisch (Summe) und die Rotationswellenfunktionen antisymmetrisch sind. Bei den Rotationsquantenzahlen  $l$  ist eine niedrigere Zahl proportional zu einem energetisch niedrigeren Zustand. Den niedrigsten Rotationszustand mit  $l = 0$  kann somit nur Parawasserstoff einnehmen.

Die ortho-para-Gleichgewichtsverteilung lässt sich bestimmen durch die Betrachtung des  $\text{H}_2$ -Moleküls als linearer starrer Rotator. Für die Rotationsenergien  $E_{\text{rot}}$  eines solchen starren Rotators gilt Gleichung 14.<sup>[54]</sup>

$$E_{\text{rot}} = \Theta_R l(l+1) \cdot k_B = \frac{\hbar^2 l(l+1)}{2k_B m_{\text{red}} r^2} \quad (14)$$

Dabei ist  $\Theta_R$  die charakteristische Rotationstemperatur ( $\text{H}_2 = 85,36 \text{ K}^{[54]}$ ), welche neben den Konstanten  $\hbar$  und  $k_B$ , der reduzierte Masse  $m_{\text{red}}$  sowie dem Kernabstand  $r$ , in Gleichung 14 vorkommt.

Aus dieser Definition von  $E_{\text{rot}}$  kann die temperaturabhängige Gleichgewichtsverteilung von  $p\text{-H}_2$ - und  $o\text{-H}_2$ -Anteilen mittels der BOLTZMANN-Verteilung berechnet werden. Dabei ergeben sich für die para-Zustände gerade Werte für  $l$  ( $l = 0, 2, 4, \dots$ ) während für  $o\text{-H}_2$  die ungeraden Werte von  $l$  relevant sind. Jeder Zustand von  $l$  ist mit  $(2l+1)$  entartet. Aus der Summe über alle Niveaus ergibt sich Gleichung (15).

$$\frac{N_{para}}{N_{ortho}} = \frac{1 \sum_{l=0}^{\infty} (2l+1) \exp\left(-\frac{\Theta_R l(l+1)}{T}\right)}{3 \sum_{l=0}^{\infty} (2l+1) \exp\left(-\frac{\Theta_R l(l+1)}{T}\right)} \quad (15)$$

Die Gleichgewichtsbesetzung zwischen den Isomeren hängt wie in Gleichung 15 beschrieben von der Temperatur ab. Bei Raumtemperatur liegen o-H<sub>2</sub> zu p-H<sub>2</sub> in einem Verhältnis von 3:1 vor. Wenn der Parawasserstoffanteil angereichert werden soll, muss folglich der Rotationsgrundzustand höher besetzt werden. Dies geschieht bei Abkühlung des Wasserstoffs. Der Übergang der Spinzustände o-H<sub>2</sub> zu p-H<sub>2</sub> ineinander ist allerdings symmetriebedingt verboten. Durch Verwendung eines Umwandlungskatalysators wie FeO(OH) oder Aktivkohle ist es möglich, den p-H<sub>2</sub>-Gehalt abhängig von den Reaktionstemperatur anzureichern.<sup>[55]</sup>

Abbildung 8 veranschaulicht die Temperaturabhängigkeit der relativen Besetzung der Kernspinzustände im thermischen Gleichgewicht.

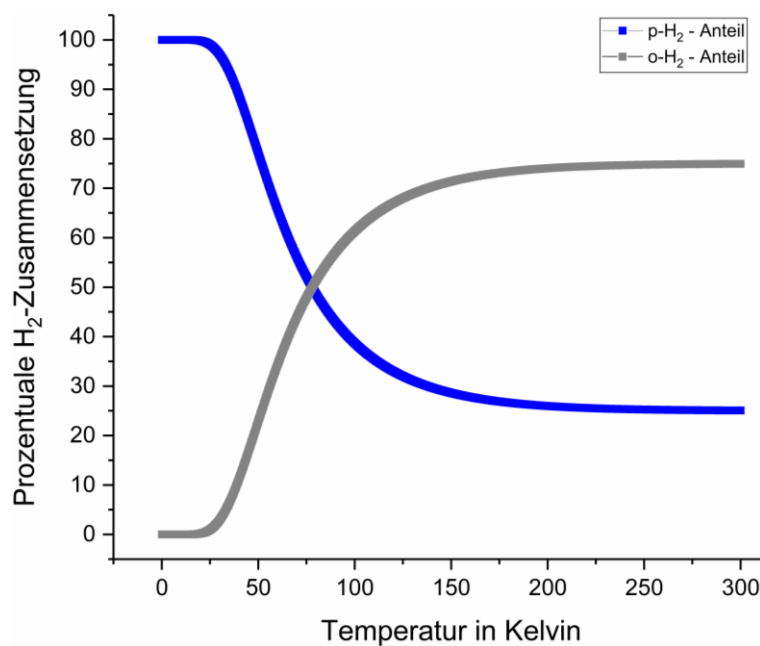


Abbildung 8: Auftragung der mittels Gleichung 14 berechneten H<sub>2</sub>-Zusammensetzungen bei unterschiedlichen Temperaturen. Mit den Werten  $l = 0, 2, 4$  für die para-Zustände und  $l = 1, 2, 3$  für die ortho-Zustände.

Der erhaltene Parawasserstoff kann bei Raumtemperatur katalysatorfrei in Gasflaschen gelagert werden. Energetisch betrachtet ist Parawasserstoff der stabilere Zustand des Wasserstoffmoleküls, weshalb eine Rückwandlung zu o-H<sub>2</sub> ohne Katalysator mehrere Wochen dauern kann. Aufgrund der symmetrischen Kernspinwellenfunktion weist p-H<sub>2</sub> keinen Gesamtspin auf und ist NMR-inaktiv.

### 3.3.2. Parawasserstoff-induzierte Polarisation (PHIP)

Nach Einführung des Parawasserstoffs wird folgend PHIP als Hyperpolarisationstechnik detaillierter beschrieben.

Das grundlegende Konzept von PHIP besteht darin eine nachweisbare Polarisation aus dem Singulett-Zustand des Parawasserstoffs zu erhalten. Im ersten Schritt eines PHIP-Experiments erfolgt eine chemische Modifikation des p-H<sub>2</sub>. Dazu wird eine Hydrierungsreaktion durchgeführt. Dabei erfolgt eine paarweise Addition des p-H<sub>2</sub> (A<sub>2</sub>-Spinsystem) an eine Doppel- oder Dreifachbindung durch einen Übergangsmetallbasierten Hydrierkatalysator. Nach der Hydrierung befinden sich die Protonen, die aus dem Parawasserstoff stammen, typischerweise an Stellen mit unterschiedlicher chemischer Verschiebung und bilden beispielsweise ein AX-Spinsystem (Abbildung 9).

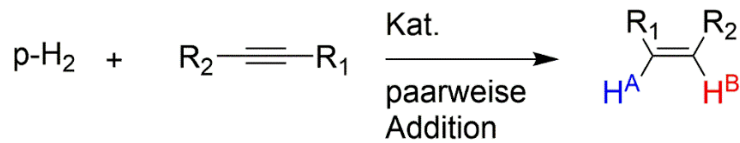


Abbildung 9: Schematische Darstellung der ersten von zwei möglichen paarweisen Additionen eines p-H<sub>2</sub>-Molekül an ein ungesättigtes Ausgangsmolekül.

Das Einbringen der Parawasserstoffspinordnung durch Hydrierung und die Änderung in der Symmetrie des p-H<sub>2</sub> ermöglicht dann die Anregung der Spinzustände der Parawasserstoffhydrate durch einen Anregungspuls. Dies resultiert in direkt messbarer Protonenhyperpolarisation.

In herkömmlichen thermischen NMR-Experimenten sind die erhaltenen Signale absorptiv. Bei PHIP hingegen sind die Signale aufgrund der Hyperpolarisation in den Zielmolekülen in Antiphase.<sup>[53]</sup>

Die Signalform hängt im Wesentlichen von dem Magnetfeld während der Hydrierungsreaktion ab. Hier wird PHIP in zwei unterschiedliche Reaktionsverfahren differenziert. Das erste, welches folgend betrachtet wird, ist PASADENA (engl.: *Parahydrogen and Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment*). Bei PASADENA (Abbildung 10) erfolgt die Hydrierung und die anschließende Detektion innerhalb des Magneten.<sup>[53]</sup>

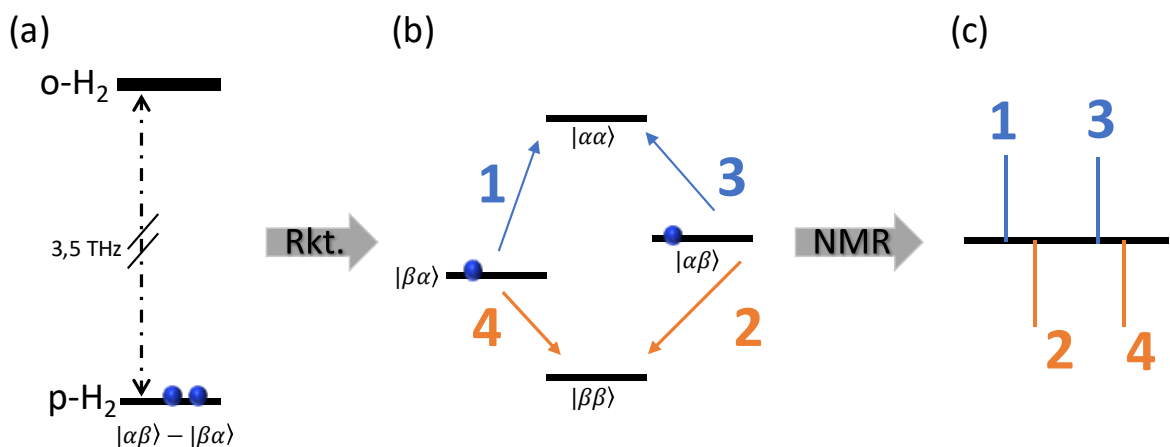


Abbildung 10: Darstellung der Veränderung der Spinzustände während eines PHIP-PASADENA Experiments. (a) Ausgangszustand vor der Hydrierung, (b) nach der Hydrierung im neuen Spinsystem mit dem neuen Populationszustand und (c) nach der NMR-Aufnahme resultierenden Signalform, alles im Inneren des Magneten.

Vor der Hydrierung gibt es keinen erlaubten Übergang zwischen den Singulett- und Triplett-Zuständen, solange die beiden Protonen im stark gekoppelten  $A_2$ -Spinsystem vorliegen (Abb. 10a). Die Überpopulation des Singulett-Zustandes ist unzugänglich für die NMR. In dem nach der Hydrierung gebildeten, schwach gekoppelten AX-Spinsystem bilden sich Superpositionen der Zustände. Dies bedeutet, dass die  $\alpha\beta$ - und  $\beta\alpha$ -Zustände Linearkombinationen der  $T_0$  und  $S_0$ -Zustandsfunktionen sind. Dadurch bekommen die entsprechenden Eigenfunktionen den gleichen Anteil an Singulett- und Triplett-Charakter. Da die Population in den Zuständen während der Reaktion konstant bleibt, sind im Idealfall nur die  $\alpha\beta$ - und  $\beta\alpha$ - Zustände besetzt (Abb. 10b). Es sind in diesem Spinsystem vier Übergänge erlaubt und resultieren in der Antiphasen-Signalform (Abb. 10c).<sup>[27,53]</sup>

Die zweite Variante ist ALTADENA (engl.: *Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment*). Hier findet die Hydrierung in einem niedrigen Magnetfeld statt, wobei das Signal nach Transport ins Hochfeld mittels Pulsanregung detektiert werden kann (Abbildung 11).

In einem niedrigen Magnetfeld (engl.: *Low Field, LF*) ist der Übergang zwischen dem Singulett- und den entarteten Triplett-Zuständen weiterhin nicht möglich (Abb. 11a). Allerdings werden die Unterschiede in der chemischen Verschiebung im Vergleich zur J-Kopplung geringer. Unter idealisierten Bedingungen, d.h. bei Abwesenheit zusätzlicher J-Kopplungen zu Kernen, die nicht aus  $p\text{-H}_2$  stammen, ändert die Addition von  $p\text{-H}_2$  an eine ungesättigte Bindung nichts an der Population des Singulett-Zustands (Abb. 11b). Wird das Zielmolekül adiabatisch ins HF überführt, wird auch die Population im energetisch niedrigen Singulett-Zustand in den entsprechenden, energetisch niedrigeren Zustand bei hohem Feld übertragen (Abb. 11c). Die Zustände  $\alpha\alpha$ ,  $\beta\beta$  und  $\alpha\beta$  sind magnetfeldunabhängig und werden bei der Überführung in das HF nicht besiedelt. Die Population des energetisch niedrigen Zustands ist im Vergleich zu den anderen, unbesetzten Zuständen im Überschuss. Während des anschließenden NMR-Experiments sind nur zwei Übergänge erlaubt und resultieren in der entsprechenden Signalform (Abb. 11d).<sup>[53]</sup>

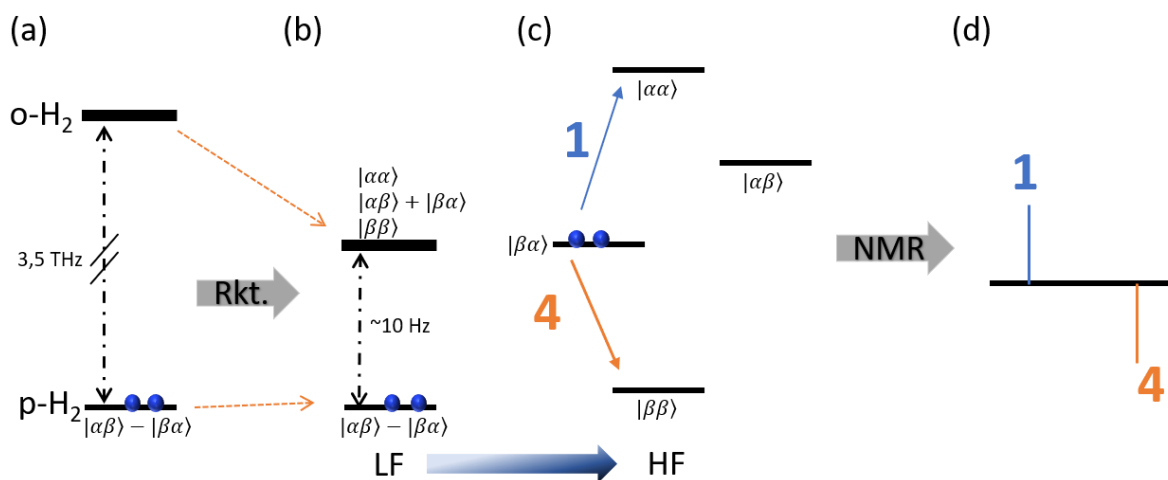


Abbildung 11: Darstellung der Veränderung der Spinzustände während eines PHIP-ALTADENA Experiments. (a) Ausgangszustand vor der Hydrierung, (b) Zustand nach der Hydrierung im neuen Spinsystem, dem anschließenden adiabatischen Transfer vom LF zum HF mit neuem Populationszustand (c) und dem abschließenden NMR-Spektrum mit der daraus resultierenden Signalform (d).

---

PHIP stellt in Bezug auf das Anfangssubstrat eine destruktive Technik dar, dennoch hat sich PHIP in den letzten Jahren vor allem in den Bereichen der Untersuchung der Reaktionsmechanismen von Hydrierungen und als Quelle der Signalverstärkung für hochauflösende NMR-Spektroskopie etabliert. PHIP bedient sich einer schnellen und kostengünstigen Quelle für Hyperpolarisation, welche zudem eine sehr hohe Polarisation erzielen kann. PHIP kombiniert, wie aktuelle Forschungen zeigen, eine große Vielfältigkeit an Anwendungsbereichen mit einem kostengünstigen Aufbau und hohem Durchsatz und ist durch Spinordnungstransfertechniken (Kapitel 3.3.3) nicht nur exklusiv für Protonenverstärkung nutzbar.<sup>[27,56]</sup> Aufgrund der wachsenden Anzahl an PHIP-Variationen wird die Version, in der das Substrat hydriert und vermessen wird, als h-PHIP (engl.: *hydrogenativ*-PHIP) bezeichnet. Ein Beispiel für die Vielfältigkeit ist die weitere Möglichkeit von PHIP-X,<sup>[57]</sup> welche die Hyperpolarisation aus PHIP mit der Polarisationsübertragung kombiniert.<sup>[57]</sup> Die Verstärkung durch PHIP macht sich auch PH-INEPT<sup>[58,59]</sup> (engl.: *Parahydrogen Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer*) zu Nutze, um mit einer Pulssequenz die Protonenverstärkung über die skalare Kopplung auf X-Kerne zu übertragen. Eine weitere Technik ist PHIP-SAH (engl.: *Side-Arm Hydrogenation*)<sup>[35,60]</sup>, bei welcher eine Seitenkette wie die Vinylgruppe von Vinylacetat hydriert wird. Anschließend wird die Spinordnung des Parawasserstoffs (bspw. via PH-INEPT) auf einen <sup>13</sup>C-Kern des Zielmoleküls übertragen und abschließend die Seitenkette abgespalten.<sup>[60]</sup> Neuere Forschung befassen sich auch mit PHIP-Katalysatoren, deren Aktivität nicht durch die Wasserstoffzugabe, sondern durch Licht gesteuert wird, um bessere Kontrolle über den Startzeitpunkt zu erhalten.<sup>[61]</sup>

Eine Herausforderung für die Verwendung von PHIP in der Biochemie und (MRT-)Bildgebung, und damit in *in-vivo*-Experimenten, ist der Hydrierkatalysator, welcher häufig auf seltenen Erden basiert und in der Regel homogen verwendet wird. Die Abtrennung von Katalysator und hyperpolarisiertem Agens steht hier im Fokus der Forschung. Vereinzelt konnten diese Herausforderungen bereits überwunden werden. So wurde 2021 hyperpolarisiertes Fumarat durch Präzipitation erhalten und erfolgreich als Kontrastmittel zur Krebserkennung im MRT verwendet.<sup>[32,33]</sup> Andere Lösungsansätze bilden Versuche zu PHIP in der Gasphase unter Verwendung von heterogenen Katalysatoren, um die anschließende Abtrennung zwischen Katalysator und Substrat zu erleichtern.

### 3.3.3. Signalverstärkung durch reversiblen Austausch (SABRE)

Dieses Kapitel fasst die Grundlagen der Signalverstärkung durch reversiblen Austausch (SABRE) zusammen und zeigt den SABRE-Reaktionsmechanismus.<sup>[19–21,62–66]</sup> Anschließend wird der für diese Arbeit relevante magnetfeldabhängige Spinordnungstransfer (engl.: *Spin-Order-Transfer*, SOT), also der Transfer von bspw. p-H<sub>2</sub>-induzierter Hyperpolarisation auf X-Kerne, wie bspw. <sup>13</sup>C, ausführlich beschrieben.

SABRE ist eine Variante von PHIP, da die Hyperpolarisation ebenfalls durch p-H<sub>2</sub> erzeugt wird. Im Gegensatz zu anderen PHIP-Experimenten ist SABRE aber in der Lage Moleküle mit p-H<sub>2</sub> zu hyperpolarisieren, ohne sie chemisch zu verändern, weshalb in SABRE-Experimenten kein Hydrierkatalysator zur Anwendung kommt. Stattdessen wird ein Transferkatalysator verwendet, der die Spin-Ordnung von p-H<sub>2</sub> auf das Substrat (Sub) überträgt. Hier haben sich neben CRABTREE's Katalysator [Ir(COD)(PCy<sub>3</sub>)(Py)]<sup>+</sup>BF<sub>4</sub><sup>-</sup><sup>[49,63]</sup> Iridium-N-heterozyklische Carbenkomplexe<sup>[63,67,68]</sup> etabliert.<sup>[62–64,67,69]</sup> Abbildung 12 zeigt den Iridium-N-heterozyklischen Carbenkomplex [Ir(H)<sub>2</sub>(IMes)(Py)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> der in dieser Arbeit verwendet wurde.

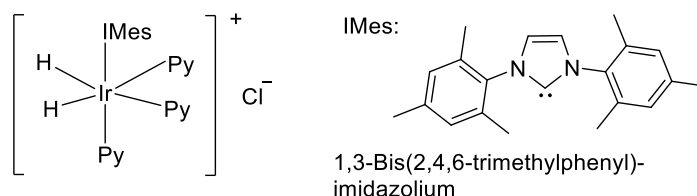


Abbildung 12: Darstellung des in dieser Arbeit verwendeten Iridium-N-heterozyklischen Carbenkomplexes [Ir(H)<sub>2</sub>(IMES)(Py)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>.

IMES (1,3-Bis(2,4,6-trimethylphenyl)-imidazolium) ist der N-heterozyklische Carbenligand. Das Pyridin (Py) fungiert exemplarisch als Substrat, kann allgemein aber auch als ein austauschbares Auxiliar verwendet werden. Bevor der Katalysator (Kat.) allerdings die in Abbildung 12 gezeigte SABRE-aktive Struktur einnimmt, muss der Präkatalysator (Abb. 13a) aktiviert werden. Dabei durchläuft der Ir-Katalysator eine irreversible strukturelle Modifikation (Abbildung 13b),<sup>[62–65]</sup> in welcher die schwach bindenden Liganden Cyclooctadien (COD), sowie Chlor durch p-H<sub>2</sub> und Substrat (Sub) (alternativ ein Auxiliar oder koordinierendes Lösungsmittel) verdrängt werden (Abb. 13b). Erhalten wird [Ir(H)<sub>2</sub>(IMes)(Py)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> als SABRE-aktiver Katalysator. Wenn das Substrat und die Hydride an das Katalysatorzentrum gebunden sind, kann die Spinordnung von den p-H<sub>2</sub>-Hydriden auf das Substrat übertragen werden (Abbildung 13c). Anschließend dissoziiert das hyperpolarisierte Substrat und die freie Bindungsstelle wird mit p-H<sub>2</sub> besetzt (Abb. 13d). Die nicht mehr polarisierten Hydride werden durch neues Substrat oder polarisierte Hydride ausgetauscht (Abb. 13e) und die Polarisationsübertragung beginnt erneut.<sup>[62–65]</sup> Während der SABRE-Reaktion wird durch die Zufuhr von p-H<sub>2</sub> kontinuierlich hyperpolarisiertes Substrat in der Lösung angereichert. Eine NMR-Messung kann sowohl freies Substrat, als auch koordiniertes Substrat detektieren. Nach vollständiger Relaxation der Hyperpolarisation kann durch erneute Zugabe von p-H<sub>2</sub> die Hyperpolarisation auf dem Substrat erneut angereicherter werden. Dadurch ist die Polarisation via SABRE ein reversibler Prozess.



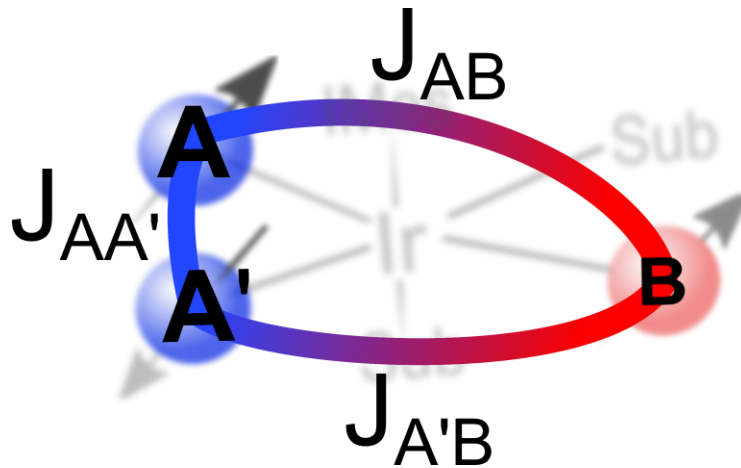


Abbildung 14: Darstellung des temporär in der Äquatorialebene des Polarisationsübertragungskomplexes gebildeten J-Kopplungsnetzwerkes (AA'B-Spinsystem).

In Abbildung 14 stehen A und A' für die hyperpolarisierten Hydride ( $p\text{-H}_2$ ) und B für den Zielkern im Substrat. Die Kerne sind durch die dargestellten  $J_{AA'}$ ,  $J_{AB}$  und  $J_{A'B}$ -Kopplungen miteinander gekoppelt. Die Spinzustände der Hydride werden nachfolgend über die Singulett-Triplet-Nomenklatur (Kapitel 3.3.1, Abbildung 7) beschrieben. Der Zielkern B entspricht einem isolierten Spin und wird daher durch die ZEEMANN-Zustände  $|\alpha\rangle$  und  $|\beta\rangle$  beschrieben. Diese starke Kopplung erlaubt das Vermischen der Spinzustände. Die möglichen Spinzustände können Tabelle 1 entnommen werden.<sup>[63,64,70–72]</sup>

Tabelle 1: Auflistung aller möglichen Eigenzustände des AA'B Systems.<sup>[72]</sup>

$ S_0\alpha\rangle$	$ T_-\alpha\rangle$	$ T_0\alpha\rangle$	$ T_+\alpha\rangle$
$ S_0\beta\rangle$	$ T_-\beta\rangle$	$ T_0\beta\rangle$	$ T_+\beta\rangle$

Die kontinuierliche Zufuhr von  $p\text{-H}_2$  sorgt dafür, dass alle Hydride im Singulett-Zustand vorliegen. Von den möglichen gemischten Spinzuständen sind dadurch nur noch  $|S_0\alpha\rangle$  und  $|S_0\beta\rangle$  besetzt.

Solche starken Spin-Spin-Kopplungen werden bspw. schon im  $B_0$ -Feld von Niedrigfeld-NMR-Spektrometern durch die dominierende ZEEMAN-Aufspaltung unterdrückt. Anders für Spinsysteme in einem Null- und Nahenullfeld (engl.: *Zero- and Ultralow Field, ZULF*), wie bspw. bei 200 nT. Hier wird die ZEEMAN-Aufspaltung und damit einhergehend die Larmorfrequenz der Kerne geringer als die Größe der Spin-Spin-Wechselwirkungen.

In einem System, in dem keine Spin-Spin-Wechselwirkungen vorhanden sind, würde bei einem bestimmten Magnetfeld eine Kreuzung der Energieniveaus auftreten (Abbildung 15A). Am Kreuzungspunkt sind die Energieniveaus entartet. Aufgrund einer vorhandenen Spin-Spin-Kopplung wird diese Entartung jedoch aufgehoben und die Kreuzung vermieden (Abbildung 15B). Es entsteht eine Anti-Kreuzung der Niveaus (engl.: *Level Anti Crossing, LAC*).<sup>[63,64,70–72]</sup>



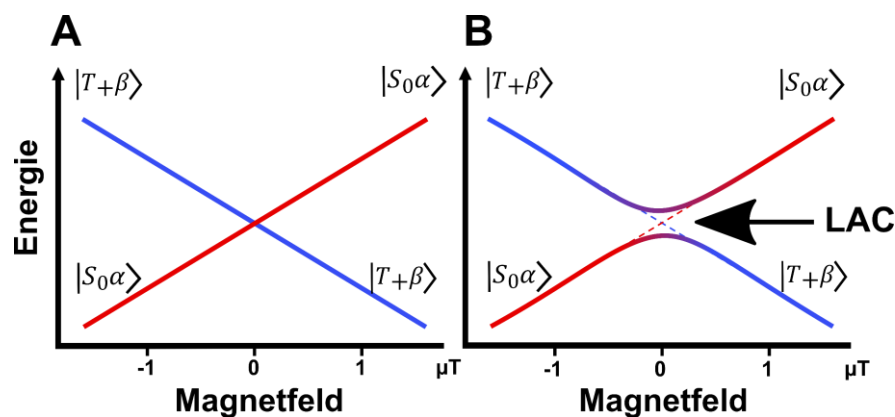


Abbildung 15: Darstellung der Energieniveaus in Abhängigkeit von exemplarischen Magnetfeldern. (A) in Abwesenheit von Spin-Spin-Wechselwirkungen und (B) mit Betrachtung der Spin-Spin-Wechselwirkung und Entstehung eines LAC.

Ein LAC setzt damit zwei Bedingungen voraus; zum einen die annähernde Übereinstimmung der Energien zweier Zustände, zum anderen eine starke Kopplung, die es erlaubt, dass die Zustände sich vermischen.

In Tabelle 2 werden alle Zustände des Drei-Spinsystems aufgelistet, die im ZULF die Bedingungen für ein LAC erfüllen.<sup>[63,64,70–72]</sup>

Tabelle 2: Auflistung von vermiedenen Kreuzungen zwischen den Zuständen im Spinsystem.<sup>[72]</sup>

$ S_0\alpha\rangle$	$\leftrightarrow$	$ T_+\beta\rangle$
$ S_0\beta\rangle$	$\leftrightarrow$	$ T_-\alpha\rangle$
$ T_0\beta\rangle$	$\leftrightarrow$	$ T_-\alpha\rangle$
$ T_0\alpha\rangle$	$\leftrightarrow$	$ T_+\beta\rangle$

Im LAC-Bereich kommt es zu einer Spinzustandsmischung, die im gezeigten Beispiel den Übergang zwischen den Zuständen  $|S_0\alpha\rangle$  und  $|T_+\beta\rangle$  ermöglicht. Bei einem Übergang während der Zustandsmischung geht  $S_0$  in  $T_+$  und damit gekoppelt  $\alpha$  in  $\beta$  über. Die thermische Population der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zustände wird verändert, was in einer Überpopulation auf dem  $\beta$ -Zustand resultiert.<sup>[63,64,70–72]</sup>

Dabei sind ein nicht-adiabatischer und ein adiabatischer Polarisationstransfer möglich (Abb. 16). Eine Probe wird (nicht-adiabatisch) möglichst schnell in einen LAC-Bereich gebracht, beispielsweise durch Wasserstoffzufuhr in einem statischen ZULF. Bevölkert ist dabei dann bspw. das Niveau  $|S_0\alpha\rangle$ . Anschließend erfolgt eine Entwicklungszeit, in welcher sich die Spinzustände übertragen können (A2). Der  $|S_0\alpha\rangle$  Zustand geht dabei in den  $|T_+\beta\rangle$  Zustand über. Abschließend erfolgt ein weiterer sprunghafter Transport aus dem LAC ins NMR-Magnetfeld (A3). Für einen adiabatischen Polarisationstransfer (Abbildung 16B) wird das Magnetfeld kontinuierlich geändert (engl.: *Magnetic Field Change/Cycle*, MFC). Dabei wird sich dem LAC angenähert und es durchfahren, währenddessen geht der  $|S_0\alpha\rangle$ - in den  $|T_+\beta\rangle$ -Zustand über (Abb. 16 B3).<sup>[63,71–74]</sup> Diese Technik wird als MFC-SOT bezeichnet. Anschließend kann die Probe ins NMR-Magnetfeld transportiert werden.

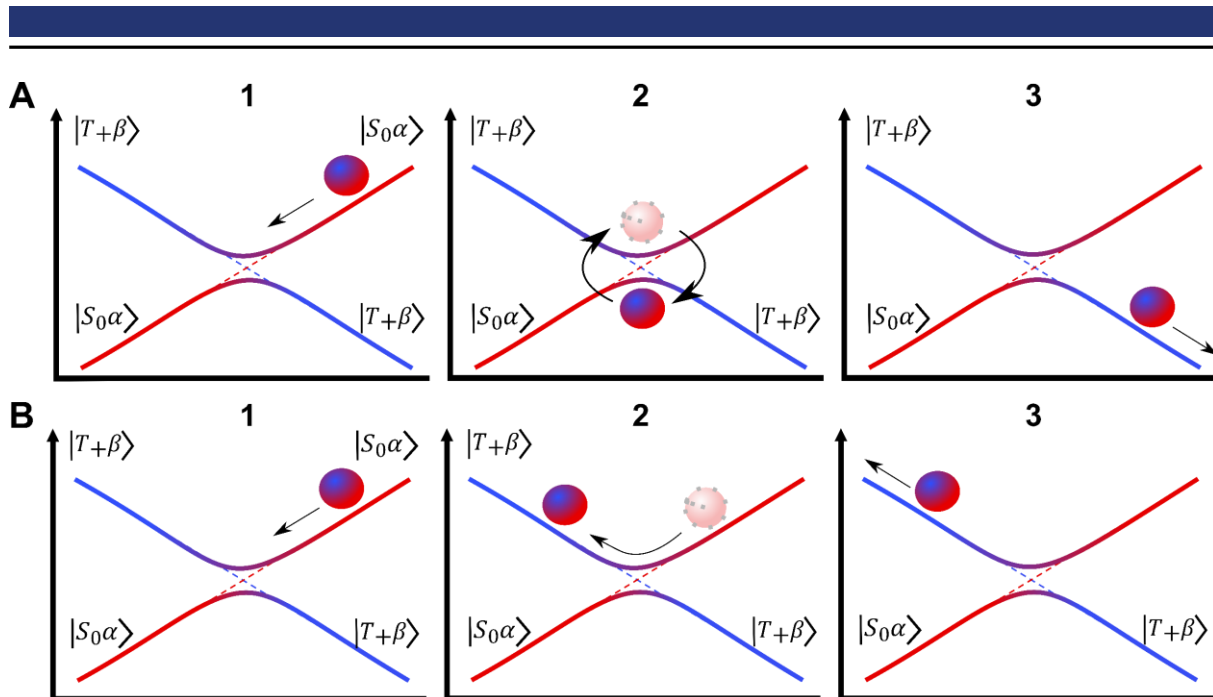


Abbildung 16: Schemata der unterschiedlichen Polarisationstransfers im Bereich des LAC. (A) der nicht-adiabatische Transfer und (B) der adiabatische Transfer, der im Rahmen des MFC-SOT erfolgt. (Abgeändert entnommen aus [64])

Befinden sich die Proben nach dem Spinordnungstransfer (SOT) im HF-Regime (NMR-Magneten) treten erneut ZEEMAN-Aufspaltung auf, wodurch eine Entmischung der Spinzustände verhindert wird. Die NMR-Detektion des hyperpolarisierten X-Kern Systems kann erfolgen. Die erhaltenen hyperpolarisierten Signale werden häufig als Emissionslinien, also mit entgegengesetzter Phase zu den thermischen Signalen detektiert.<sup>[63,64,70–72]</sup> Eine Liste von möglichen Substraten, sowie die betrachteten Kerne, die mittels SABRE polarisiert wurden, können der Literatur<sup>[64]</sup> entnommen werden.

Die Verwendung eines Nullfelds, was in einem magnetisch abgeschirmten Bereich, sogenannten Schild, erzeugt wird, wird als SABRE-SHEATH (engl.: *SABRE in SHield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei*)<sup>[75]</sup> bezeichnet.

Der SOT bildet die Grundlage für SABRE, ist aber nicht auf SABRE-Experimente beschränkt. Beispielsweise entstehen während des h-PHIP im Bereich der neuen Bindung ähnliche bis gleiche Spinsysteme, die der beschriebenen Theorie ebenfalls folgen.<sup>[71–73]</sup> Durch Einbringen einer h-PHIP-Probe in ein ZULF können LACs erzeugt werden. Der SOT ermöglicht dann die Messung von Hyperpolarisation auf X-Kernen.<sup>[71,72]</sup> Der MFC-SOT wird in der aktuellen Forschung auch im Rahmen von h-PHIP-Experimenten<sup>[33,74]</sup> verwendet. Eine andere Technik des SOT ist der spontane Übertrag. Dabei erfolgt ein SOT in einem statischen Feld ohne weitere Einflüsse<sup>[22,76]</sup> und der RF-SOT. Bei dieser Technik wird der SOT initiiert durch Resonanzfrequenzpulse (RF-SOT).<sup>[22,58,77]</sup> Ein Beispiel für eine Resonanzfrequenzpulsfolge ist die INEPT-Sequenz<sup>[78]</sup>, welches in PH-INEPT<sup>[22,60]</sup> Anwendung findet.

## 4. Apparative Ausgangslage

Im nachfolgenden Kapitel wird die apparative Ausgangssituation beschrieben, auf welcher diese Arbeit aufbaut.

### 4.1. Apparativer Ausgangspunkt der Hydriereinheit

Die ursprüngliche Apparatur, auf Basis derer die Weiterentwicklung im Rahmen dieser Arbeit erfolgt, ist in Abbildung 17 dargestellt. Die Apparatur bestand aus drei Abschnitten: dem p-H<sub>2</sub>-Generator, dem manuellen Bereich und den Magnetventilen mit Anschluss an das NMR-Röhrchen. Es konnte zwischen Helium als verwendetem Inertgas, sowie thermischem Wasserstoff oder Parawasserstoff gewählt werden.

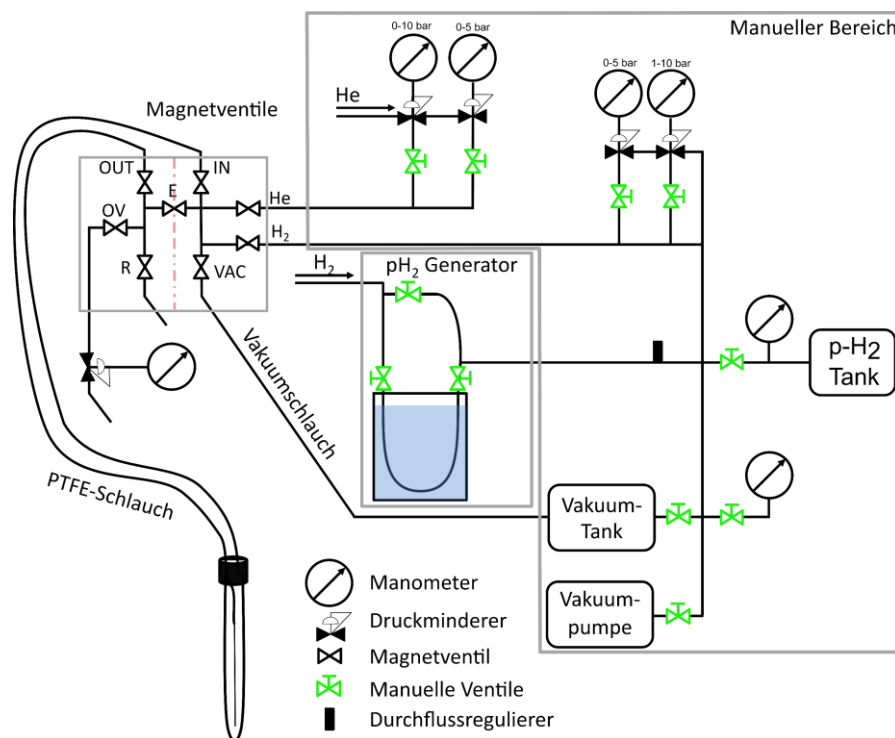


Abbildung 17: Schematische Darstellung der technischen Ausgangslage der Apparatur, abgeändert entnommen aus Literatur<sup>[23]</sup>. Zur Steuerung der Gasströme sind manuelle Ventile, sowie elektrisch schaltbare Magnetventile verbaut. Die grünen Ventile können ausschließlich manuell bedient werden.

Das Zentrum der Apparatur stellt der p-H<sub>2</sub>-Generator dar. Die Parawasserstoffanreicherung wurde mit einem Parawasserstoffgenerator von Advanced Research Systems Inc. durchgeführt, welcher einen Anreicherungsgrad von 98 % Parawasserstoff erreicht. Nachdem der p-H<sub>2</sub> im p-H<sub>2</sub>-Generator angereichert wurde, konnte es in einem p-H<sub>2</sub>-Tank gespeichert oder direkt verwendet werden. Die Gase wurden dazu durch ein Kupferrohrsystem geleitet. Die gewünschten Gasdrücke für die Messungen wurden mit Hilfe von Druckminderern manuell eingestellt.

Um Experimente durchzuführen, wurden die Magnetventile im Magnetventilbereich in unterschiedlichen Schaltungsmustern geöffnet und geschlossen. Der Magnetventilbereich kann an der gestrichelten Linie in Abb. 17. in zwei Bereiche unterteilt werden. Der Einlassbereich umfasste die Ventile zur Steuerung der Gase (He, H<sub>2</sub>), das Vakuumventil (VAC) und das Ventil,

---

das die Gaszufuhr zur Probe steuert (IN). Der Auslassbereich wurde durch das Ventil, welches aus dem Probenröhrchen zurückführt (OUT), und den Ventilen, welche die Apparatur zum Raum hin öffnen (OV und R), gebildet. Verbunden waren diese beiden Bereiche durch das Equilibrium-Ventil (E). Wenn dieses Ventil geöffnet war, stellte sich ein Druckgleichgewicht über dem Magnetventilbereich ein. Wenn das E-Ventil geschlossen war, wurde eine Druckdifferenz zwischen dem Einlass- und dem Auslassbereich erzeugt. Der Druckunterschied wurde an dem Druckminderer justiert, welcher dem OV-Ventil nachgeschaltet war. Bei einem Ungleichgewicht zwischen dem Einlass- und dem Auslassbereich, strömte das Gas durch die Probe und stieg in Form von Blasen auf. Um eine Vermischung von Gasen im Einlassbereich zu verhindern, konnte der gesamte Magnetventilbereich, sowie das Probenröhrchen, über das VAC-Ventil evakuiert werden. Zum vollständigen Entlasten des Druckes im System wurde das Ventil R verwendet. Um die Hydrierreaktion zu stoppen, konnte ein schneller Wechsel von Wasserstoff zu Helium durchgeführt werden. In der gezeigten Ausgangslage ließen sich die Magnetventile bereits automatisch über das Pulsprogramm kontrollieren.

Der Fokus der durchgeführten Experimente lag auf Protonen-NMR-Messungen. Dafür stand ein BRUKER AVANCE III NMR-Spektrometer bei 11,7 T (500 MHz,  $^1\text{H}$ -Frequenz) zur Verfügung.

#### 4.2. Zusatz für das SABRE-Setup

Zunächst wird der Stand des SABRE-Setups, auf dessen Basis die in dieser Arbeit besprochenen SABRE-Experimente durchgeführt wurden, skizziert.

Im Gegensatz zu (PHIP)PASADENA-Messungen benötigen SABRE-Experimente ein niedrigeres Magnetfeld um einen SOT durchführen zu können. Die 20  $\mu\text{T}$ , welche das Erdmagnetfeld im Labor erreicht, sind dabei bereits adäquat niedrig. Um Forschung im Bereich der Feldabhängigkeit von SOTs durchführen zu können, wurde ein Aufsatzrohr auf das Innenrohr des 11,7 T Magneten aufgesteckt. Die p-H<sub>2</sub>-Zufuhr erfolgte in unterschiedlichen Höhen innerhalb des Aufsatzes. Um den SOT zu verbessern mussten niedrigere Magnetfelder erzeugt werden. Daher wurden drei  $\mu$ -Metallabschirmungen ineinander gestellt (Anhang Abbildung 75). In das Innere dieser drei Abschirmungen wurden unterschiedlich positionierte Kupferspulen eingebaut. Durch Stromzufuhr erzeugen diese ihrerseits statische Magnetfelder. Werden diese Magnetfelder entgegen dem äußeren Feld ausgerichtet, so heben sich die Magnetfelder gegenseitig auf und im Inneren der Abschirmungen wird ein Nahenullfeld erreicht. Dies ermöglicht es, unterschiedliche Feldstärken zu erzeugen. Das sogenannte  $\mu$ -Metallschild wurde über das Aufsatzrohr geführt und somit direkt oberhalb des Spektrometers positioniert (Abb. 18a-c). Um die Operationszeiten des Experimentes zu verkürzen, wird ein Schrittmotor mit Zahnrad verwendet, um zwei Zahnstangen (je 10x6x1500 mm) mit befestigter Probenhalterung innerhalb von weniger als einer Sekunde zwischen Probenkopf und  $\mu$ -Metallschild zu bewegen. Die Position der Zahnstange wird durch eine Lichtschranke kontrolliert, deren Komponenten links und rechts neben der Zahnstange befestigt sind. Die Motorposition wird angegeben in „gezählte Zahnstangenzähne“ und ist daher einheitenlos. Erreicht der Lichtstrahl den Lichtschrankensensor, wird der Motor automatisch gestoppt. Eine Nahaufnahme des hier beschriebenen Motorbereiches ist in Abbildung 18b zu sehen. Zur Kontrolle der Probenposition wird nach jedem Aufbau des SABRE-Setups ein Motortest durchgeführt (Abb. 18d). Hierbei wird ein Feldgradient angelegt und eine Wasser-Deuterium Probe an einer Position angeregt und das Protonenspektren aufgenommen. Der Motor fährt die

Probe aus dem Probenkopf heraus und wieder hinein, mit anschließender Messung des Protonenspektrums. Dieser Prozess wird mehrere Male wiederholt. Verändert sich die chemische Verschiebung des Peaks nicht, ist die Positionierung der Probe reproduzierbar.

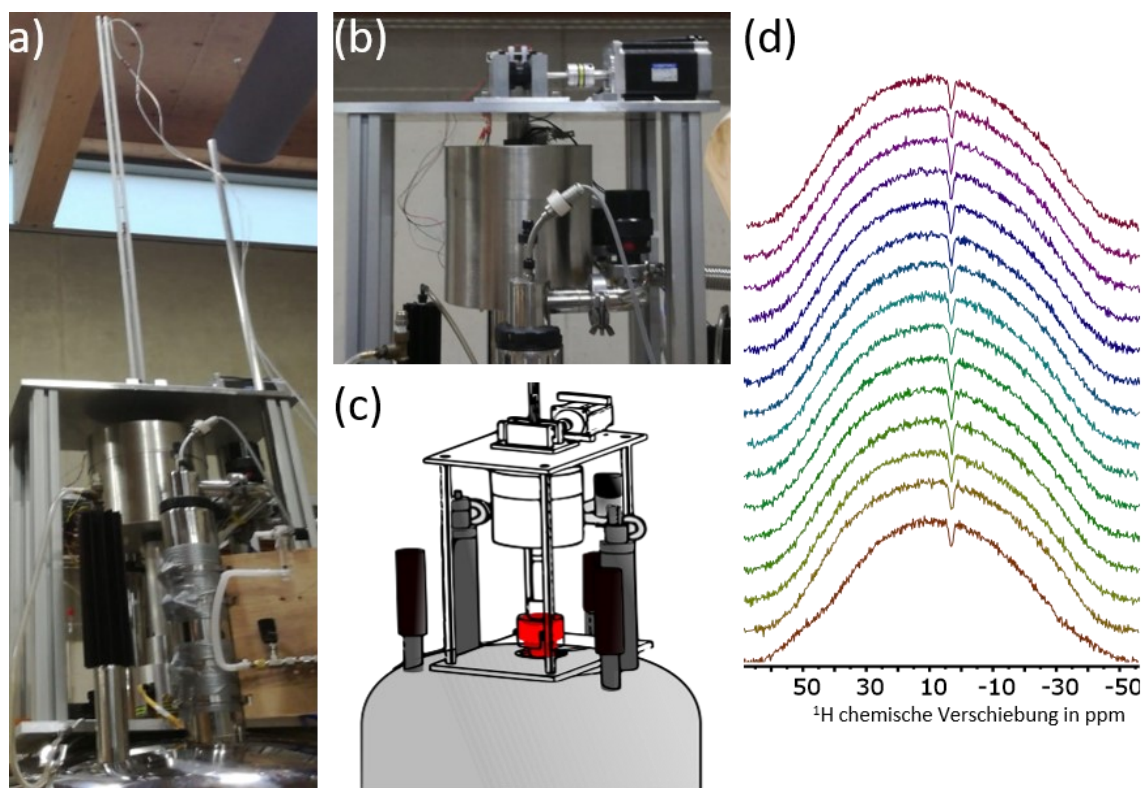


Abbildung 18: Darstellung der apparativen Erweiterung für SABRE-Messungen (SABRE-Setup). Zu sehen ist in (a) das  $\mu$ -Metallschild, sowie die Unterseite der Platte mit dem Schrittmotor und der halb herausgefahrenen Zahnstange mit Verbindung zur Hydrierapparatur. In (b) ist eine Seitenansicht des Motors und des Lichtschrankenbereiches oberhalb der Platte und des  $\mu$ -Metallschildes darunter zu sehen. (c) zeigt eine Zeichnung des montierten SABRE-Setup auf dem Magneten (d) zeigt die zur Verifizierung der konstanten Motorpositionierung aufgenommenen Protonenspektren.

Die Gaszufuhr erfolgt über die Hydrierapparatur mit der automatischen Magnetventilsteuerung über das Pulsprogramm. Die Steuerung des Schrittmotors erfolgt ebenfalls über das Pulsprogramm. Der Strom in den Spulen des  $\mu$ -Metallschildes ist indirekt über die angelegte Spannung steuerbar. Der Steuerrechner des 11,7 T-NMR-Spektrometers wird mit der Spannungsquelle der Spulen (Rohde & Schwarz HMP4040) verbunden, welche die Spannung an den Spulen und damit das Magnetfeld im Schild steuert. Dazu wird ein AU-Programm (changeBlow4) verwendet, welches neben der Feldstärkenänderung auch den Start der Messungen kontrolliert.

Mit dieser voll automatisierten Messapparatur kann ein SABRE-SHEATH-basiertes Feldabhängigkeitsexperiment in nur wenigen Minuten durchgeführt werden. Dieses Setup wird für die in Kapitel 5.2 gezeigten SABRE-Messungen verwendet. Das SABRE-Zusatz ist baugleich dem in Literatur<sup>[79]</sup> vorgestellten.

---

## 5. Instrumentelle Entwicklung und Ergebnisse

---

Die Ergebnisse dieser Arbeit werden in den nachfolgenden Kapiteln aufgezeigt und diskutiert. Die einzelnen Entwicklungsschritte der Apparatur werden stückweise näher beleuchtet und die Anwendbarkeit an Beispielreaktionen demonstriert.

Das Zusammenspiel der Hardwarekomponenten, sowie die Zeit zwischen dem Ende der Hydrierung und Aufnahme der Messungen, sind wichtige Aspekte für die erfolgreiche Aufnahme von parawasserstoffbasierten HP-Spektren. Deshalb wird zunächst die Automatik der Hydriereinheit optimiert, um die Experimente effizienter automatisiert durchführen zu können. Danach wird der Polarisationstransfer auf X-Kerne (in natürlicher Häufigkeit) implementiert, untersucht und optimiert. Hierzu wird das Verfahren von Null- und nahe-Nullfeld-basierten Hyperpolarisationstransfers verwendet. Abschließend wird ein BT-NMR-Spektrometer in das Hydriersystem integriert, sowie die bereits etablierten HP-Techniken auf das BT-Spektrometer transferiert.

### 5.1. Weiterentwicklung der Magnetventilsteuerung

Die Modernisierung der Steuerung der Magnetventile erfolgt mittels eines Mikrocontrollers (Arduino UNO, ausgestattet mit einem Atmel Atmega 328P), der mit den TTL-Ausgängen (Transistor-Transistor-Logik) des IPSO der AVANCE III Konsole verbunden ist. Diese TTL-Ausgänge können von der Spektrometersoftware angesteuert werden. Über eine Bibliothek werden den einzelnen Ventilen Nummern zugewiesen, die über die TTL-Ausgänge ausgegeben werden. Der Mikrocontroller setzt diese Nummern in ein Schaltsignal für das entsprechende Ventil um. Dies ermöglicht es, die Magnetventile über Pulsprogramme des 11,7 T Spektrometers zu steuern. Da die Ausgänge des Mikrocontrollers nicht genügend Spannung und Leistung bereitstellen können um die Ventile zu schalten, wurde eine Treiberschaltbox (GATE-Treiber) gebaut. Die Box enthält ein Netzteil und die Treiberschaltung (MOSFET), die je nach Eingangssignal (0 oder 5 V) den jeweiligen Magneten des Ventils mit Strom (280 bis 460 mA bei 24 V) versorgt. Der Treiber kann nicht nur über den Mikrocontroller gesteuert werden, sondern auch manuell über einen Kippschalter. Die Kippschalter sind notwendig, um das Experiment in den richtigen Ausgangszustand zu bringen, bevor die automatische Steuerung übernimmt, und um den Aufbau einschließlich der angeschlossenen Probe vor der Injektion in den Magneten auf Gasdichtheit zu testen.

Die neue Benennung der Ventile reduziert zukünftig den benötigten Programmieraufwand und vereinfacht die Kommandos, die benötigt werden, um ein neues Ventilschaltungsmuster in ein Pulsprogramm zu implementieren. Die Programme werden anwenderfreundlicher und gewinnen dadurch an Übersichtlichkeit. Beispielhaft ist der Hydrierungspart in der neuen und alten Schreibweise in Tabelle 3 zusammengefasst und kommentiert.



Tabelle 3: Ausschnitt aus dem bis 2019 verwendeten Pulsprogramm (links) und dem modernisierten Pulsprogramm (rechts), am Beispiel der Schaltung zur Hydrierung.

Pulsprogramme vor dem Arduino (Ausschnitte aus: sabre)	Pulsprogramme seit dem Arduino (Ausschnitte aus: PHIP_SER_TEST_FT)
<pre> ;;;bubbling with H2;;;;; to make PHIP 100m setnmr3 12 ;W2 H2 open 100m setnmr3^12 ;W2 H2 close 100m setnmr3 14 ;W6 E open 100m setnmr3^14 ;W6 E close 100m setnmr3 12 ;W2 H2 open (d12 setnmr3 10) (d12 setnmr4 8) ;U5,W3 IN and OUT open (start H2 bubbling) 100m setnmr3^12 ;W2 H2 close 100m setnmr3 14 ;W6 E open to equalize pressure (stop bubbling) ;sum of delays d12+2 seconds! </pre>	<pre> ;;;BEGIN pH2 BUBBLING BLOCK VALVES_OFF ;all Valves closed IN_ON OUT_ON E_ON pH2_ON ;static pH2 1s ;delay 3 ;loop marker for 2D-experiment R_ON E_OFF ;switch R_ON start bubbling d12 ;Bubbling time pH2 E_ON R_OFF ;stop bubbling 50m d13 ;wait for bubbles to disappear  ;;; END pH2 BUBBLING BLOCK </pre>
<pre> Öffnen des p-H<sub>2</sub> Magnet Ventil: 100m setnmr3 12 ;W2 H2 open </pre>	<pre> Öffnen des p-H<sub>2</sub> Magnet Ventil: pH2_ON </pre>

### 5.1.1. Anwendung der automatischen Magnetventilschaltung für die Hydrierung von PPOBLG

Die Schaltzeit der Magnetventile liegt im Bereich von wenigen Millisekunden. Dies ermöglicht es zeitkritische Messungen, wie beispielsweise Messungen von sehr geringen Konzentrationen oder die Bestimmung von Reaktionskinetiken, durchzuführen.

Demonstriert werden diese Messungen an einem langkettigen Homopolypeptid, Poly- $\gamma$ -(4-propargyloxy)-benzyl-L-glutamat, kurz PPOBLG. Motivierend für diese Untersuchungen ist der geringe Kenntnisstand, der zum Thema hyperpolarisierte langkettige Polymere und Peptide (>100 kDa) vorhanden ist. Gründe hierfür könnten sein, dass Polymere zur Linienverbreiterung aufgrund der langen Rotationskorrelationszeiten neigen, was bei PHIP-Experimenten zur Auslöschung der PHIP-Antiphasensignale führen könnte. Langkettige Polymere bzw. große Peptide sind für Grundlagen- und reaktionsmechanistische Forschung daher eher ungeeignet. PPOBLG mit einem Molekulargewicht von 236 kDa ist daher das erste PHIP-verstärkte Homopolypeptid.

Angefangen wird mit einer Messreihe mit abnehmender Konzentration des Peptides, um die geringste mögliche Konzentration zu ermitteln, bei welcher ein PHIP-Signal in einer PASADENA-Messung detektiert werden kann. Ausgewertet wird das erhaltene Protonenspektrum einer ein-Scan-Messung mit hyperpolarisierten Signalen bei 6 ppm und 5,5-5,0 ppm. Die verwendeten Konzentrationen (Tabelle 4) werden so lange gesenkt, bis die Nachweisgrenze erreicht ist. Herausfordernd dabei war das Zusammenspiel zwischen Hydrierzeit, Analytkonzentration und Katalysatorkonzentration. Bei zu geringer Konzentration des Analyts musste die Hydrierzeit angepasst werden, damit die Reaktion nicht zu schnell wird und die

Hyperpolarisation vor Start der Messung bereits relaxiert war. Daraus ergeben sich zwei Konzentrationsreihen, eine mit sechs Messpunkten (45 s Hydrierung) und eine mit drei Messpunkten (20 s Hydrierung). Die errechneten Signalverstärkungen werden in Abbildung 19 gegen die eingesetzte Konzentration aufgetragen.

Tabelle 4: Zusammenfassung der Konzentration von PPOBLG und der während der Hydrierung verwendeten Hydrierzeit, sowie die erhaltene Verstärkung  $\epsilon$ , mit Fehlerbereichen.

<b>c(PPOBLG)</b> / $\mu\text{M}$	<b>p-H<sub>2</sub> Zeit</b> / s	<b><math>\epsilon</math> <sup>1</sup>H</b> ~5,2 ppm
10,27	45	23 ± 1
5,13	45	33 ± 5
2,57	45	48 ± 7
1,03	45	63 ± 11
0,77	45	67 ± 8
0,66	45	83 ± 3
0,39	20	167 ± 7
0,15	20	217 ± 22
0,12	20	394 ± 48

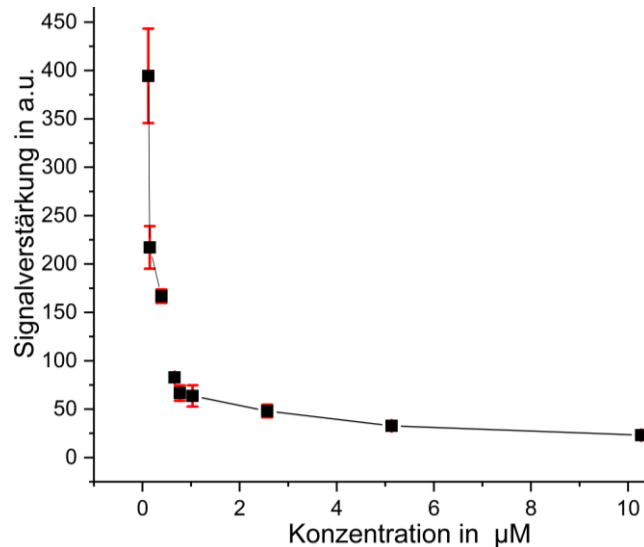


Abbildung 19: Auftragung der Verstärkungsfaktoren gegen die eingesetzte Konzentration von PPOBLG. Die jeweiligen Messpunkte einer Messreihe sind miteinander verbunden.

In Abbildung 19 ist ein Trend von steigenden Signalverstärkungen bei geringer werdender Konzentration zu sehen. Bei gleichbleibenden Reaktionsparametern und sinkender PPOBLG Konzentration, kann allerdings kein PHIP-Signal mehr detektiert werden. Um erneut PHIP-Signalverstärkungen in Ein-Scan-Messung detektieren zu können, müssen die Hydrierreaktionen mindestens hinsichtlich ihrer Hydrierzeit an die Proben angepasst werden. Daher entstehen vier einzelne Experimente, in denen jeweils PHIP-Signale detektiert werden können (Tabelle 5).

Tabelle 5: Zusammenfassung der Reaktionsansätze für die Versuche zur Hydrierung von PPOBLG, sowie die verwendete Hydrierzeit und die errechneten Verstärkungen.

<b>c(PPOBLG)</b> / $\mu\text{M}$	<b>p-H<sub>2</sub> Zeit</b> / s	<b><math>\epsilon</math> (<sup>1</sup>H)</b> 5,5-5,0 ppm
<b>0,071</b>	10	~666 ± 88
<b>0,053</b>	10	~801 ± 137
<b>0,035</b>	5	/
<b>0,013</b>	6.5	/



Der PHIP-relevante Ausschnitt der erhaltenen ein-Scan-NMR-Spektren der Konzentrationen 0,071 bis 0,013  $\mu\text{M}$  wird in Abbildung 20 dargestellt. Bei keiner dieser Konzentrationen war es möglich, ein anschließendes thermisches Spektrum zu detektieren, weshalb für 0,017 und 0,053  $\mu\text{M}$  die Verstärkungen  $\epsilon$  unter der Annahme von linearem Verhalten (und der Gleichung (17)) abgeschätzt wurden.

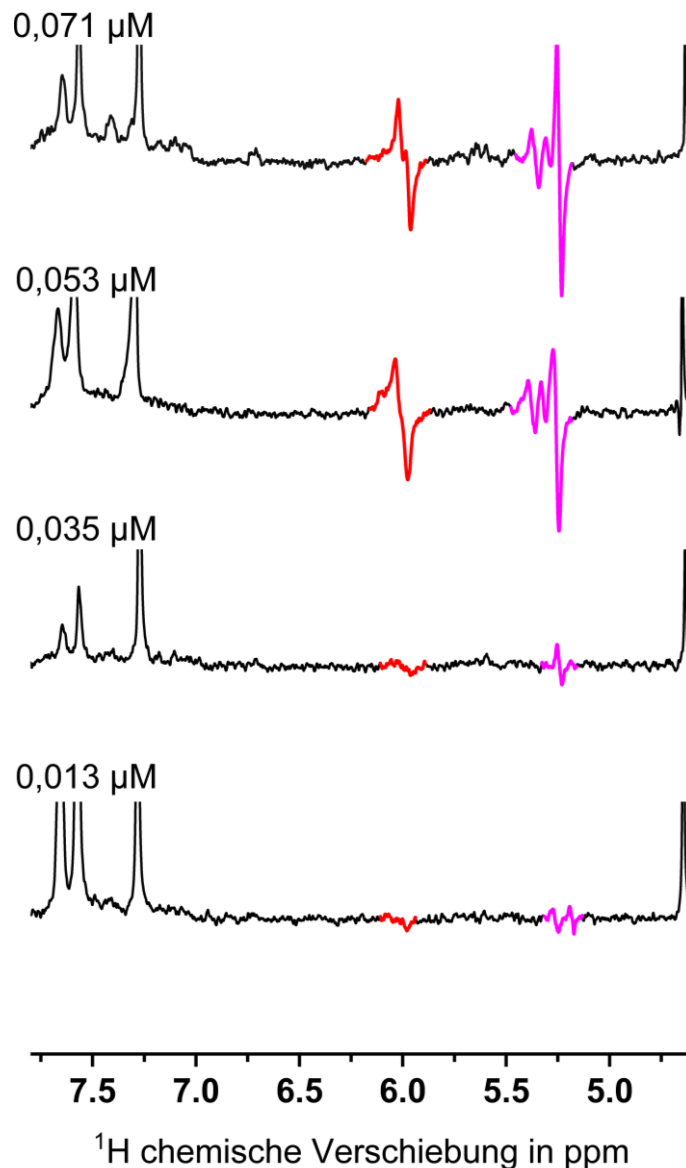


Abbildung 20: Ausschnitte des jeweiligen PHIP-relevanten ppm-Bereichs aus den erhaltenen Ein-Scan-NMR-Spektren der Konzentrationen 0,071 bis 0,013  $\mu\text{M}$ .

Für die beiden niedrigsten Konzentrationen sind die Versuchsparameter zu unterschiedlich, um  $\epsilon$  anhand einer Extrapolation der Messreihen (Tabelle 4) kalkulieren zu können. Das geringste noch detektierbare PHIP-Signal in einem Scan wurde bei einer Substratkonzentration von 13 nM erhalten. Das SNR der HP-Signale beträgt etwa 1. Diese Messreihe hat damit das Detektionslimit des Spektrometers erreicht. Zur Veranschaulichung ist das Spektrum mit der Konzentration von 13 nM in Abbildung 21 vollständig und im Vergleich zu dessen thermischem Spektrum gezeigt.

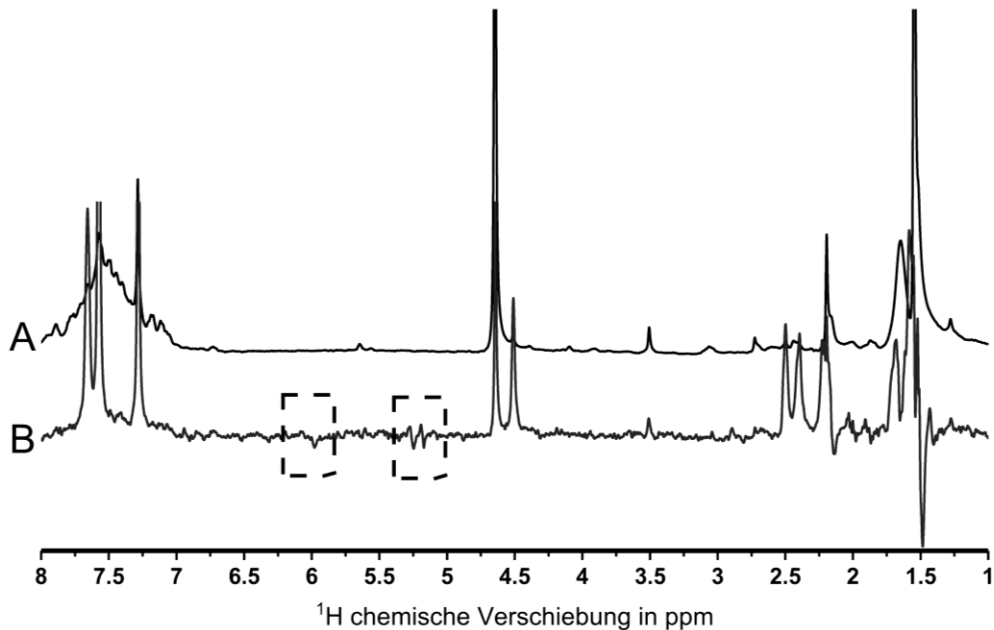


Abbildung 21: Vergleich zwischen A, dem mit 16 Scans aufgenommenen thermischem Spektrum, und B, dem PHIP-Spektrum einer 13 nM Polymerlösung. Die Messbedingungen sind 13 nM PPOBLG, 1,5 mM [Rh(dppb)(COD)]BF<sub>4</sub> mit 6,5 s Zufuhr von 7 bar p-H<sub>2</sub>. Das PHIP-Spektrum zeigt ein deutliches PHIP-Signal der terminalen Protonen der Vinylgruppe bei einem einzigen Scan. Hinweis: Das PHIP-Signal bei 1,5 ppm stammt vom Katalysator.

Eine besondere Herausforderung bei der PHIP-Hyperpolarisation des PPOBLG ist die im Vergleich zu kleineren Oligopeptiden relativ kurze T<sub>1</sub>-Relaxationszeit der hyperpolarisierten Protonen. Bei 11,7 T liegen die typischen T<sub>1</sub>-Zeiten von Oligopeptiden ungefähr bei 3 s. Im Gegensatz dazu beträgt die T<sub>1</sub>-Zeit für die hyperpolarisierten Protonen des PPOBLG nur etwa 1,1 s, d.h. um einen Faktor drei kleiner. Dies verkürzt das Beobachtungsfenster der Hyperpolarisation. Aus technischen Gründen ist es allerdings notwendig, zwischen dem Ende der Hydrierungsreaktion und der NMR-Detektion eine Wartezeit von 1,5 s zu setzen, vor allem um der Probe Zeit zu geben, ihre Homogenität nach dem Blubbern wiederherzustellen und um interne Schaltzeiten zu berücksichtigen. Während dieser Verzögerung wird bereits ein Teil der Hyperpolarisation durch Relaxationsprozesse zerstört.

Die Hyperpolarisation resultiert aus der Hydrierungsreaktion, damit ist sie abhängig von der Reaktionskinetik der Hydrierung. Für die Hydrierungsreaktion relevant sind drei Komponenten, die Analytkonzentration ([A]), die Katalysatorkonzentration ([B]) und die p-H<sub>2</sub>-Konzentration ([C]) (Kontrolliert über die Hydrierzeit). Die Konzentrationen von p-H<sub>2</sub> und dem Katalysator sind hierbei theoretisch so hoch gewählt, dass diese über die gesamte Reaktion betrachtet, konstant bleiben sollten ([B] >> [A], [C] >> [A]). Damit sollte sich eine Reaktion pseudo erster Ordnung ergeben, deren Zeitgesetz durch Gl. 16 beschrieben wird.

$$[A](t) = [A]_0 e^{-k_1 t} \quad (16)$$

Das Zeitgesetz zeigt eine exponentielle Abhängigkeit der Konzentration [A] von der Reaktionszeit t. Die pro Zeiteinheit generierte Konzentration an hyperpolarisiertem Analyten ([A](t)) ist abhängig von der Anfangskonzentration ([A]<sub>0</sub>).

---

Für das detektierbare NMR-Signal bedeutet eine geringe Analytkonzentration bei vorgegebener Hydrierzeit eine geringere absolute Intensität des hyperpolarisierten Zustands. Diese geringe Signalintensität würde durch Relaxationsprozesse wiederum in kürzerer Zeit unter das Detektionslimit abfallen, als bei einem HP-Signal einer höher konzentrierten Probe. Wenn dennoch Signal detektierbar ist, kann es zur Unterschätzung des Verstärkungsfaktors kommen, da die maximale Intensität durch Relaxation bereits vor der Detektion (deutlich) verringert worden wäre. Höhere Substratkonzentrationen sind dahingehend weniger anfällig für Fehler, wie bereits anhand der Fehlerbereiche in Tabelle 4 und Abbildung 19 demonstriert wurde.

### 5.1.2. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde zum ersten Mal die erfolgreiche PHIP-Hyperpolarisierung eines Polypeptids mit einem Molekulargewicht über 100 kDa am Beispiel des 236 kDa langkettigen Homopolypeptids PPOBLG gezeigt. PPOBLG zeigt selbst bei nanomolaren Konzentrationen unter PASADENA-Bedingungen eine sehr hohe PHIP-Aktivität. Alle PHIP-Signale der Reaktanten und hyperpolarisierten Produkte konnten zugeordnet werden. Die NMR-Spektren des Hydrierungsprodukts zeigten nur Veränderungen, die durch die Hydrierung der ungesättigten Anteile in den Seitenketten verursacht wurden, aber keine Veränderungen im Polymergerüst. Bei einem solchen Polymer wurde anfänglich erwartet, dass die Linienverbreiterung aufgrund der langen Rotationskorrelationszeiten des Moleküls zu einer Auslöschung der PHIP-Antiphasensignale führt. Die Ergebnisse haben diese Erwartung allerdings nicht bestätigt. Auch hat sich gezeigt, dass das Polymer verglichen mit kleineren Oligopeptiden eine relativ kurze  $T_1$ -Relaxationszeit aufweist. Die mögliche Aufnahmezeit für PHIP-Spektren wird limitiert durch die Reaktionskinetik und Spin-Relaxationsprozesse. Daher müssen die Reaktionsbedingungen, also das Zusammenspiel aus Hydrierungszeit, Katalysatorkonzentration und Analytkonzentration, und der Zeitablauf der Messung optimiert werden. Ohne die automatischen PASADENA-Messungen mit schnellen Schaltzeiten zwischen Hydrierung und Detektion wäre diese gezeigte Reaktionsverfolgung für Konzentrationen bis zu 13 nM daher nicht möglich. Wie in Abbildung 21 zu sehen, ist die minimale Konzentration bei 13 nM erreicht, bedingt durch die Detektionsgrenze des Spektrometers. Das SNR der HP-Signale beträgt in diesem Fall fast 1. Bei niedrigeren Konzentrationen würden die HP-Signale im Grundrauschen untergehen.

## 5.2. Experimente in Magnetfeldern unterhalb von 8 $\mu$ T

Auf Basis der in Kapitel 4.2 beschriebenen SABRE-Apparatur mit Probenshuttle, automatisch schaltbaren Magnetventilen und magnetischer Feldänderungen (MFC) werden im folgenden Kapitel Messungen gezeigt, welche die Anwendung von SABRE, SABRE-SHEATH und MFC demonstrieren, und auftretende instrumentelle Herausforderungen beschreiben. Die gezeigten Messungen dienen als Benchmark für instrumentelle Weiterentwicklungen.

Zunächst wird untersucht, welcher Bereich im SABRE-Setup den stärksten SOT ermöglicht, also die intensivsten Emissionssignale erzeugt. Die Signalintegrale der hyperpolarisierten Pyridinsignale werden aufgetragen gegen die Position der Probe im Setup (Abbildung 22). Im  $\mu$ -Metallschild liegt dabei ein statisches Magnetfeld von etwa 500 nT an. Der  $p$ -H<sub>2</sub> Zufluss erfolgt über die Hydrierapparatur unter Verwendung der automatischen Magnetventilsteuerung.

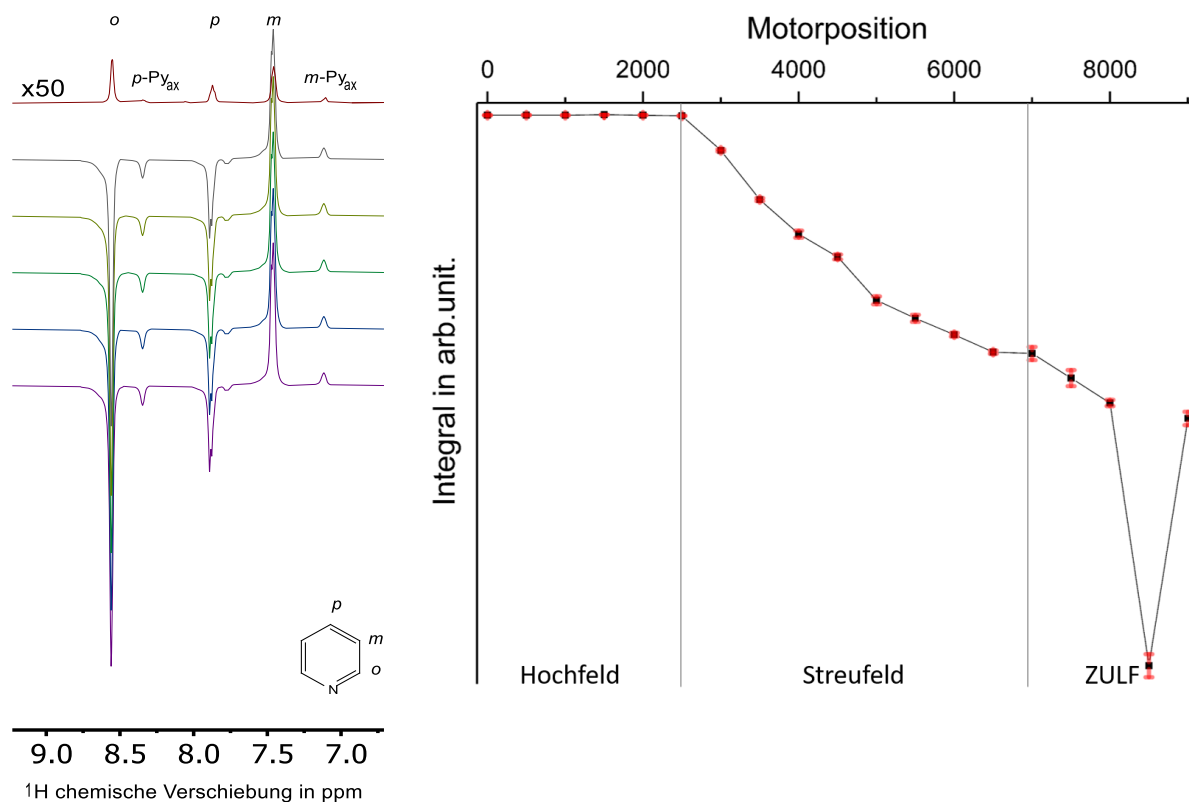


Abbildung 22: Links: Vergleich von thermischen und durch SABRE polarisierte Protonenmessung. Rechts: Auftragung der jeweils erhaltenen SABRE bedingten negativen Signalintensität der hyperpolarisierten Messungen gegen die Motorposition, die die Probe während der Hydrierung im Aufbau eingenommen hat.

In Abbildung 22 (links) sind fünf <sup>1</sup>H-SABRE-Spektren am Beispiel der Position 8500 und ein vergrößertes, thermisches <sup>1</sup>H-Spektrum von Pyridin (Py) in Anwesenheit von IrIMes dargestellt. Die Signale bei 8,51 ppm *ortho*- (*o*), 7,79 ppm *para*- (*p*) und 7,38 ppm *meta*- (*m*) können den Protonen von freiem Pyridin zugeordnet werden. Das erhaltene SABRE-Spektrum zeigt die für die Technik typischen verstärkten Emissionslinien. Zwischen den freien Pyridinsignalen sind bei 8,28 ppm (*p*-Py<sub>eq</sub>) und 7,06 ppm (*m*-Py<sub>ax</sub>) Signale von an Iridium koordiniertem Pyridin zu beobachten. Die fünfmaligen Wiederholungen zeigen die Reproduzierbarkeit der Messungen

mit dem Aufbau und ermöglicht gleichzeitig die Angabe eines Fehlerintervalls für die Auftragung der verschiedenen gemessenen Positionen in Abhängigkeit der erhaltenen Signalintegrale (rechts). Der Abweichungsbereich für die Messwerte wird anhand der fünf aufgenommen SABRE-Spektren pro Position bestimmt. Die gemessenen Signale bei einer Motorposition von 8500 (ZULF-Bereich) sind die intensivsten Emissionssignale der Versuchsreihe und zeigen die größte Verstärkung für das meta-positionierte Proton von Pyridin (8,5 ppm). Für das Signal bei 8,51 ppm kann hier eine Verstärkung von 334 ermittelt werden, was einer Protonenpolarisation von 1,34 % entspricht. Allerdings befindet sich die gemessene Mitte des  $\mu$ -Metallschildes bei einer Motorposition von 8900. Durch eine Magnetsonde (FLUXGATE) gemessen, stellt dies den Bereich der höchsten Abschirmung des äußeren Magnetfeldes dar. Zudem befindet sich die Probe bei 8900 im Zentrum des kontrollierbaren Magnetfeldes, was für die nachfolgenden SOT-Experimente essenziell ist. Anhand der Pyridinprobe wird die für einen SOT der Protonenpolarisation auf  $^{13}\text{C}$  optimale Magnetfeldstärke untersucht. Dazu wird eine Reihe an  $^{13}\text{C}$ -Spektren aufgenommen, die bei unterschiedlichen Magnetfeldstärken innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes mit p- $\text{H}_2$  versetzt wurden. Der Vergleich der Signalintensität gegen das verwendete Magnetfeld in nT wird in Abbildung 23 gezeigt, ebenso wie die erhaltenen Verstärkungen im Bereich nahe des Nullfelds.

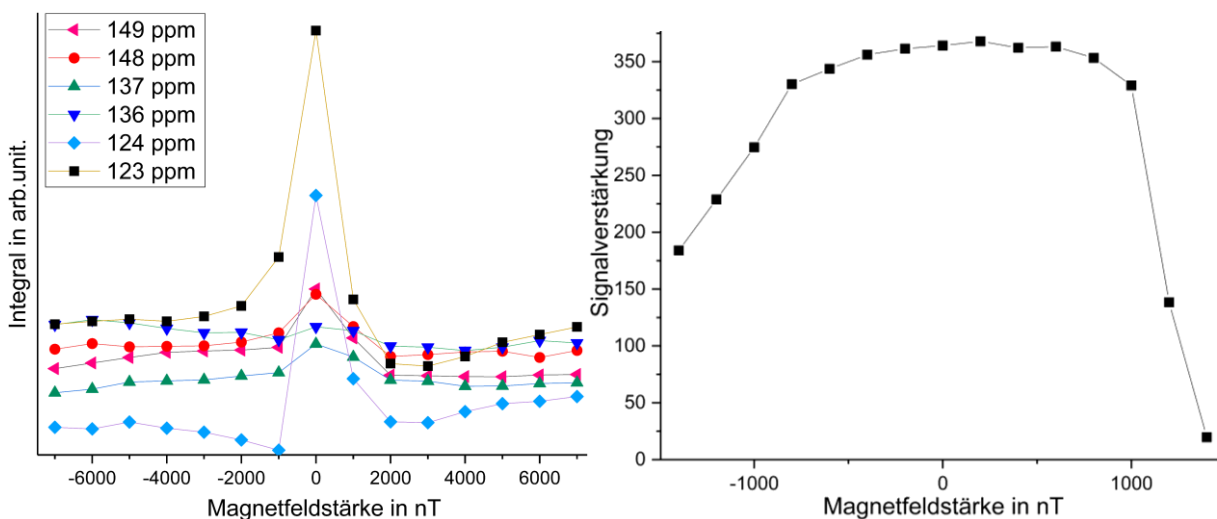


Abbildung 23: Links: Auftragung des sich verändernden Signalintegrals von Py- $^{13}\text{C}$  bei unterschiedlichen Magnetfeldern, gemessen über einen Bereich von -7000 bis 7000 nT in je 1  $\mu\text{T}$  Schritten. Rechts: die erhaltene Signalverstärkung, aufgetragen gegen die Magnetfeldstärke im Bereich von -1400 bis 1400 in 200 nT Schritten, am Beispiel des 123 ppm Signals von Pyridin.

Abbildung 23 zeigt, dass alle Py-Signale den gleichen Trend in Bezug auf ihre magnetfeldabhängigen Integrale zeigen. Ein Maximum kann hier nahe 0 nT detektiert werden. Wird ein schmalerer Bereich von 1400 nT bis -1400 nT in je 200 nT Schritten getestet und die Signalverstärkungen gegen die Magnetfeldstärke aufgetragen, wird ein Verlauf erhalten, der in Abbildung 23 rechts gezeigt ist. Das Maximum der Verstärkung kann dabei mit  $\epsilon = 367$  für die Messung bei 200 nT bestimmt werden. Dies entspricht einer  $^{13}\text{C}$ -Polarisation von 0,37 %.

### 5.2.1. $^{15}\text{N}$ -SABRE an Pyridin

Stickstoff ist neben Wasserstoff, Kohlenstoff und Sauerstoff eines der am häufigsten in biologischen Systemen auftretenden Elemente, wie zum Beispiel in Biomolekülen wie Aminosäuren oder Nucleobasen. Das NMR-aktive  $^{15}\text{N}$ -Isotop hat allerdings eine noch geringere natürliche Häufigkeit (0,37 %) als  $^{13}\text{C}$  (1,1 %), daher sind schnelle und einfache Messtechniken mit hyperpolarisiertem  $^{15}\text{N}$  von nicht-isotopenmarkierten Molekülen von großem wissenschaftlichem Interesse. Nach erfolgreicher HP auf  $^{13}\text{C}$  als X-Kern werden daher Experimente zur Hyperpolarisation von  $^{15}\text{N}$  durchgeführt.

Die Messungen erfolgen bei einer Motorposition von 8900, da an dieser Position die beste Kontrolle über das Magnetfeld im  $\mu$ -Metallschild vorliegt. In Abbildung 24 sind vergleichend ein thermisches und ein hyperpolarisiertes Spektrum bei 500 nT nach Wasserstoffzufuhr, in Anwesenheit von IrIMes, von  $^{15}\text{N}$ -Pyridin dargestellt. Beide wurden nach einen  $\frac{\pi}{2}$ -Puls auf dem  $^{15}\text{N}$ -Kanal aufgenommen.

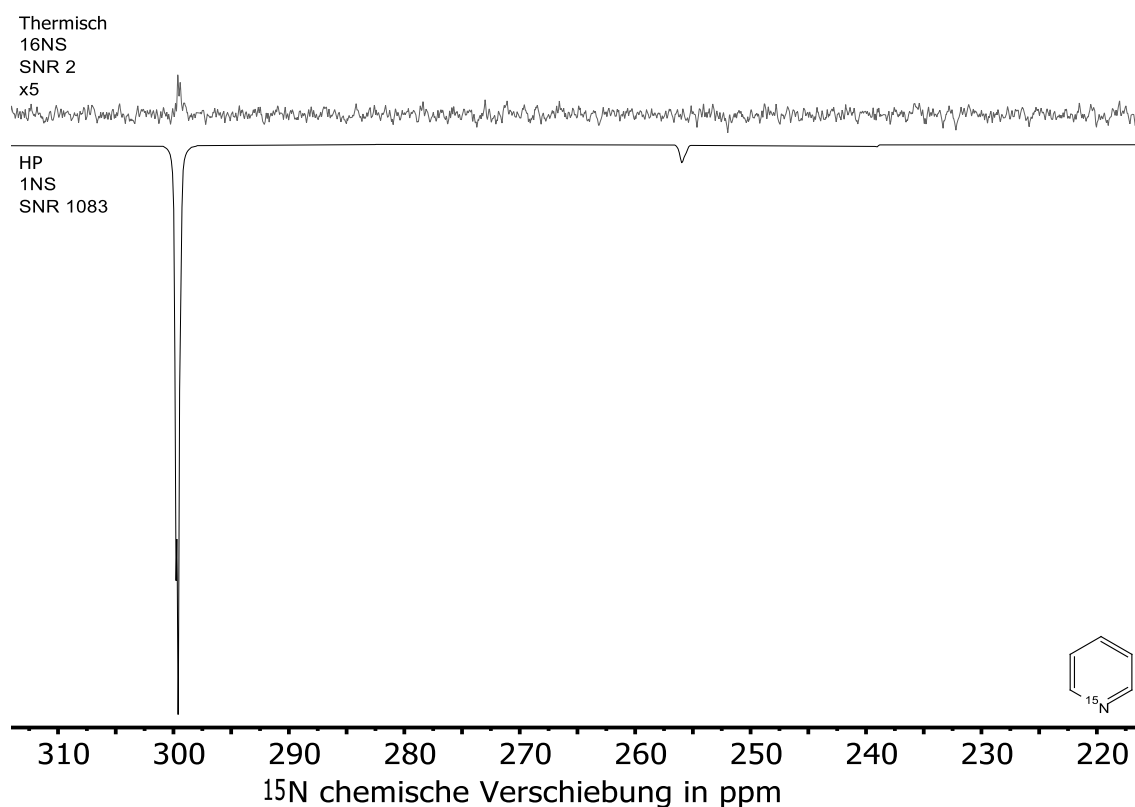


Abbildung 24: Vergleich eines 16 Scan Spektrums von thermisch polarisiertem Pyridin und einem Ein-Scan Spektrum von hyperpolarisiertem Pyridin. Die Hyperpolarisation erfolgt mittels SABRE-SHEATH nach einer Wasserstoffzufuhr bei 500 nT, einer Probe von  $61 \mu\text{M}$   $^{15}\text{N}$ -Pyridin und 2 mg/mL IrIMes in Aceton- $\text{d}_6$ .

In Abbildung 24 ist (oben) in einer 5-fachen Vergrößerung ein Spektrum von thermisch polarisiertem Pyridin nach 16 Scans abgebildet. Darunter ist das Spektrum des hyperpolarisierten Zustandes der gleichen Probe dargestellt. Das Signal bei 300 ppm lässt sich der chemischen Verschiebung des  $^{15}\text{N}$  von freiem Pyridin zuordnen. Das Signal bei 255 ppm wird dem Katalysator-Pyridin-Komplex zugeordnet. Die Signalverstärkung für das intensive Signal bei 300 ppm wurde zu 1668 bestimmt. Damit wurde erfolgreich gezeigt, dass der SOT auf  $^{15}\text{N}$  ebenfalls in guter Qualität möglich ist.

### 5.2.2. Limits der $^{15}\text{N}$ Sensitivität

Die erhöhte Sensitivität, die durch das SABRE-Setup erreicht werden kann, wird anhand von Messungen mit geringen Konzentrationen an Pyridin in Abbildung 25 gezeigt. Dafür werden die bereits untersuchten Reaktions- und Transferbedingungen zur Aufnahme verwendet. Einzig die Konzentration des  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridin wird von  $61\ \mu\text{M}$  (Abbildung 24) auf  $20\ \mu\text{M}$  verringert. Zusätzlich wird eine Probe mit  $200\ \mu\text{M}$  Pyridin mit natürlicher  $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit vermessen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 25 gezeigt.

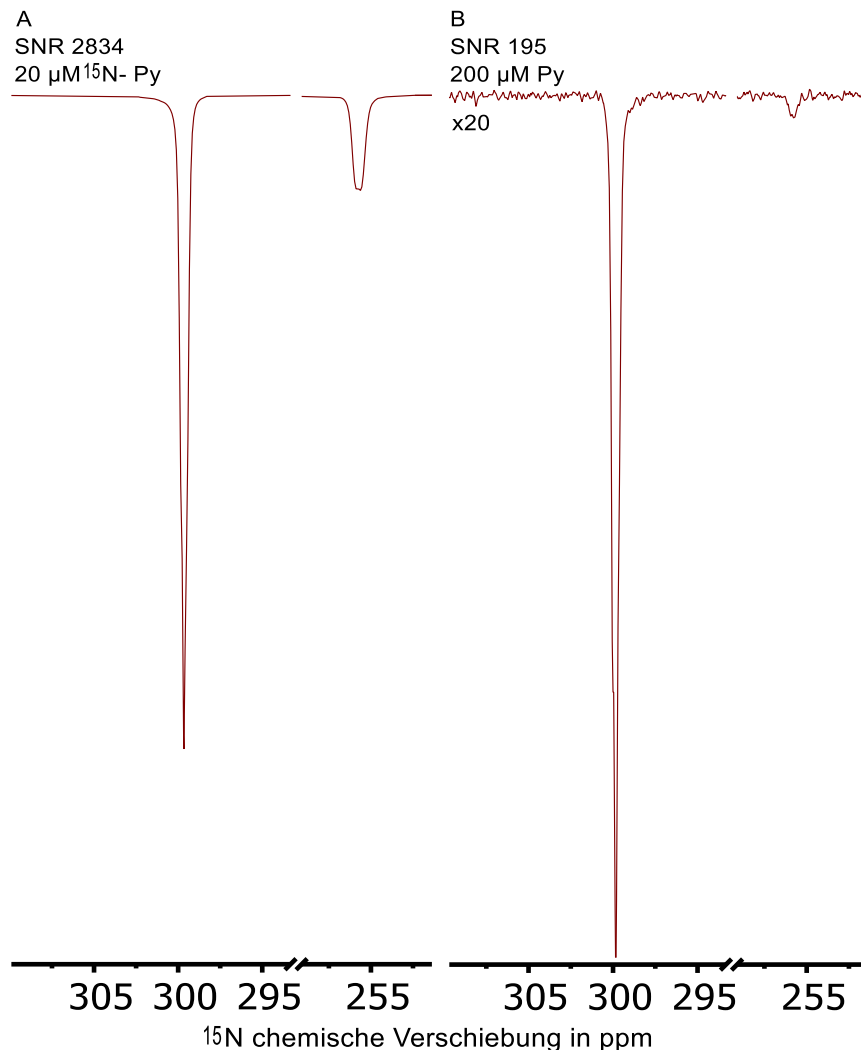


Abbildung 25: Darstellung der  $^{15}\text{N}$ -Spektren, einer  $20\ \mu\text{M}$   $^{15}\text{N}$ -Pyridinprobe, sowie einer  $200\ \mu\text{M}$  Pyridinprobe mit natürlicher Häufigkeit von  $^{15}\text{N}$ .

Die beiden in Abbildung 25 gezeigten  $^{15}\text{N}$  Spektren zeigen nach je einer Ein-Scan-Messung die erwarteten  $^{15}\text{N}$ -Pyridinsignale. Beide Proben wurden nach 20 s  $p\text{-H}_2$ -Zufuhr bei 200 nT an der Position 8900 im  $\mu$ -Metallschild aufgenommen. Das Spektrum A zeigt die Probe mit einer  $^{15}\text{N}$ -Pyridinkonzentration von  $20\ \mu\text{M}$ . B hingegen zeigt das Spektrum von  $200\ \mu\text{M}$  Pyridin mit natürlicher  $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit. Damit sind rein rechnerisch von den initial verwendeten  $200\ \mu\text{M}$  Pyridin nur rund  $0,8\ \mu\text{M}$  Pyridinmoleküle mit dem NMR-aktiven  $^{15}\text{N}$ -Isotop in der Probe

---

enthalten. Die Konzentration an  $^{15}\text{N}$ -Isotopen ist also nochmals geringer, als in der gering konzentrierten  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Probe. Die Aufnahme eines thermischen Spektrums der nicht-markierten Probe ist in einem realistischen Zeitraum nicht möglich. Die Verstärkungsfaktoren werden errechnet unter Verwendung einer externen Standardprobe von  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkiertem Pyridin ( $200\ \mu\text{M}$ ) (Anhang 7.8.1, Abbildung 69). Der Verstärkungsfaktor für A ist 145, was einer Polarisation von 0,06 % entspricht. Unter Berücksichtigung eines Faktors von 0,37 % aufgrund der unterschiedlichen Häufigkeit der  $^{15}\text{N}$ -Isotopen ergibt sich für die Messung  $B\ \varepsilon = 23643$  mit einer Polarisation von 9,6 %.

Die Messungen veranschaulichen die durch Hyperpolarisation und das SABRE-SHEATH-Setup erhaltene Möglichkeit, erfolgreich  $^{15}\text{N}$ -Spektren von Proben mit niedrigen Konzentrationen von  $^{15}\text{N}$ -Isotopen in einem Scan zu messen.

### 5.2.3. SABRE-SHEATH Messungen von Thiourea

Im Anschluss an die Messungen mit Pyridin wird der Aufbau an einem Anwendungsbeispiel, dem Thiourea (Thioharnstoff) getestet.

Thiourea ist das Schwefelderivat von Urea (Harnstoff) und wird unter anderem als (Organo)Katalysator für die Isomerisierung von Maleinsäure in Fumarsäure verwendet.<sup>[80]</sup> In der Pharmazie wird Thiourea für die Umsetzung zu Thiobarbituraten<sup>[81]</sup> verwendet, welche als Schlaf-, Beruhigungs- oder Betäubungsmittel Anwendung finden. Aufgrund seiner Struktur wäre Thiourea zudem als SABRE-Marker für bspw. Biomoleküle geeignet. Vor diesem Hintergrund und wegen dieser Reihe an Anwendungsgebieten stellt Thiourea ein interessantes Molekül für die Forschung dar. Sofern die Koordination an den SABRE-Katalysator möglich ist,

können SABRE-Experimente zur Signalverstärkung durchgeführt werden.

Die Koordination von Liganden, die aufgrund ihrer Struktur oder Affinität gering an den IrIMes-Komplex binden, kann durch die Verwendung von DMSO oder Pyridin als schwach bindender Hilfsstoff verbessert werden. Das sogenannte Auxiliar hilft bei der Aktivierung und löst sich anschließend aus der Koordination. Die geschaffene freie Stelle kann von einem neuen Liganden eingenommen werden. Bei Substraten, deren Koordinationsverhalten unbekannt ist, kann ein Auxiliar prophylaktisch verwendet werden.

Analog zu den Messungen an Pyridin, werden zunächst HP-Protonenmessungen durchgeführt und die erhaltenen Ergebnisse in Abbildung 26 dargestellt. Gemessen wird eine Probe aus Thiourea, IrIMes und Py als Auxiliar.



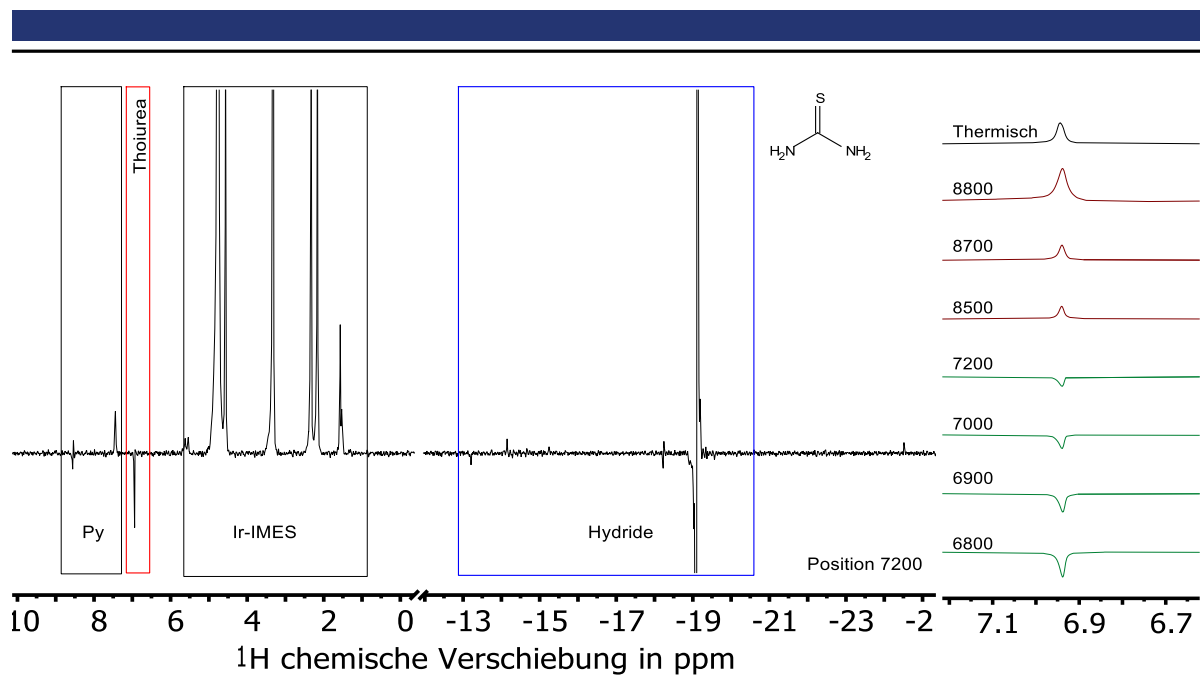


Abbildung 26: HP-Protonenspektrum von Thiourea mittels SABRE. Zu sehen sind Pyridin als Auxiliär, IrIMes, Thiourea und Signale vom Hydrid-Katalysator-Komplex. Rechts sind die Thioureasignale bei unterschiedlichen Motorpositionen aufgetragen. Alle Messungen erfolgten in Methanol- $d_4$ .

In Abbildung 26 ist die für die SABRE-Technik typische verstärkte Emissionslinie bei 6,91 ppm zu erkennen. Dies ist die erwartete Verschiebung für das Thioureasignal. Daneben können Signale des Auxiliärs Pyridin detektiert werden. Der Katalysator zeigt im Bereich von 1 bis 5 ppm NMR-Signale. Im Bereich von -19 ppm werden ebenfalls Antiphasensignale detektiert. Signale, die in diesem Bereich auftreten, können typischerweise Hydriden zugeordnet werden.<sup>[82]</sup> Daher wird vermutet, dass es sich bei diesen Resonanzlinien auch hier um Hydride handelt, die an den SABRE-Katalysator gebunden sind. Das Auftreten wird nicht weiter untersucht.

In Abb. 26 rechts ist zudem eine Vergrößerung des Thioureasignals nach Wasserstoffzufuhr bei unterschiedlichen Motorpositionen abgebildet. Dabei fällt auf, dass sich das Signal von einem Absorptionssignal erst nach mehreren Messungen in das erwartete Emissionssignal verändert. Hier wird zunächst vermutet, dass der Aufenthalt im  $\mu$ -Metallschild während der 10 s  $p$ - $H_2$ -Zufuhr zu kurz war und das thermische Signal noch dominiert, denn die Probenkonzentration wurde für  $^{13}C$ -Messungen gewählt und ist damit ausreichend hoch, um in einem Scan Signale von thermisch polarisierten Protonen zu messen. Die allgemeine SABRE-Aktivität ist jedoch an dieser Stelle gezeigt worden.

Im Anschluss an die Protonenmessungen erfolgen Messungen mit einem Polarisationstransfer auf  $^{13}C$ . Aufgrund eines thermischen Spektrums einer höherkonzentrierten Probe von Thiourea ( $^{13}C$  in natürlicher Häufigkeit) wird ein einzelnes Signal bei 184 ppm erwartet (Abb. 27A). Die SABRE-SHEATH-Messung wird bei einer Motorposition 8900 und 200 nT durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind in Abbildung 27 aufgetragen.

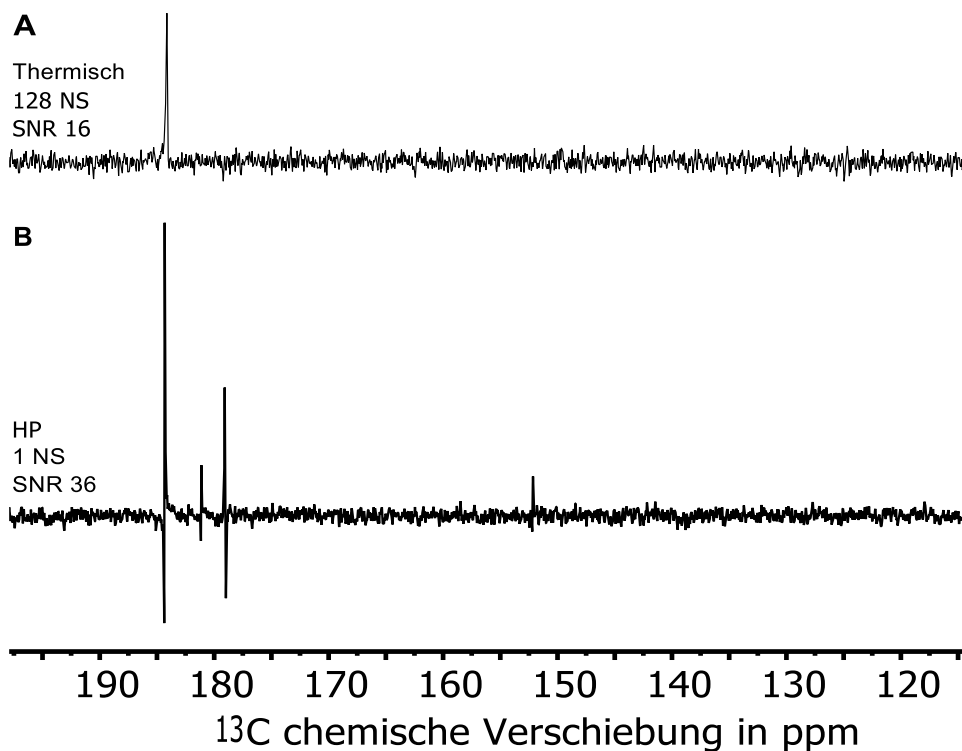


Abbildung 27: Vergleich eines thermischen  $\{^1\text{H}\}$ - $^{13}\text{C}$ -Spektrums von Thiourea nach 128 Scans und einem mit SABRE-SHEATH hyperpolarisierten Thiourea- $^{13}\text{C}$ -Spektrum nach 1 Scan.

In Abbildung 27B können mehrere  $^{13}\text{C}$ -Signale in der SABRE-Messungen detektiert werden. Beim Signal bei 184 ppm handelt es sich um das erwartete frei in der Lösung vorliegende Thiourea. Bei 182 und 179 und 151 ppm können ebenfalls Signale detektiert werden. Hier wird vermutet, dass es sich dabei um Thiourea handelt, welches in unterschiedlicher Ausrichtung an den Katalysator koordiniert, da die Signale nicht das typische Aufspaltungsmuster aufweisen, das aus der Koppelung mit Protonen entstanden sein könnte und später auch bei  $^1\text{H}$ -entkoppelten Spektren auftritt. Im Vergleich zum thermischen Spektrum kann, unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Konzentrationen, eine Verstärkung von ungefähr 189 erreicht werden, was einer gesamten Polarisation von 0,19 % entspricht.

Nachfolgend soll untersucht werden, bei welcher Magnetfeldstärke der SOT für Thiourea das Maximum bezüglich des Signalintegrals aufweist. Dazu werden zwei Messreihen bei Position 8900 mit variierenden Magnetfeldstärken durchgeführt. Der Bereich von 500 nT bis -500 nT wird in 100 nT Schritten getestet (Rot, rund), sowie 300 nT bis -300 nT in 10 nT Schritten (Blau, eckig). Die Integrale der erhaltenen Signale bei 184 ppm werden in Abbildung 28 gegen die Magnetfeldstärke aufgetragen.

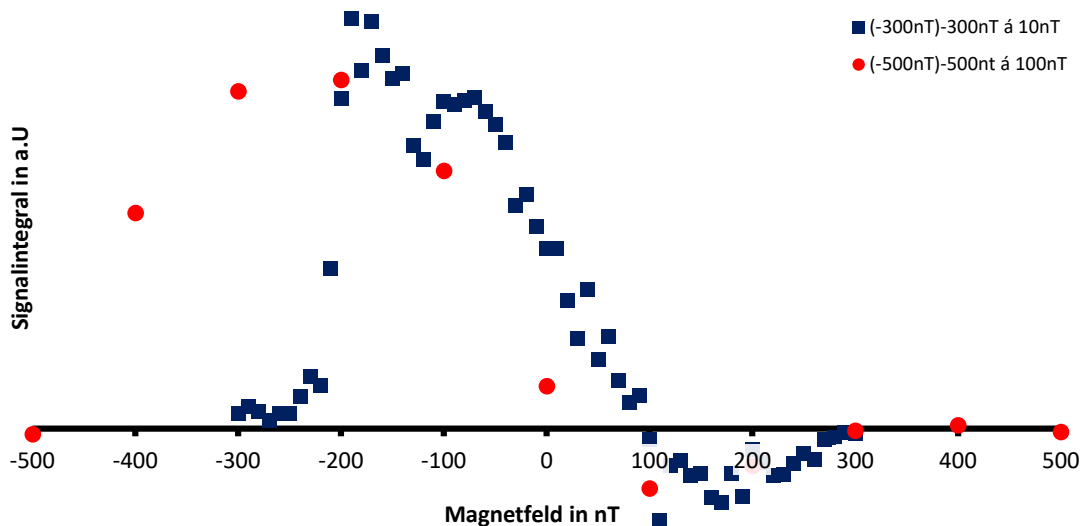


Abbildung 28: Auftragung von  $^{13}\text{C}$ -Signalintegralen gegen die während der Begasung verwendeten Magnetfeldstärke zur Ermittlung optimaler Bedingungen des SOT. Als rote Punkte dargestellt sind die Ergebnisse im Magnetfeldbereich von 500 nT bis -500 nT, in 100 nT Schritten. In blauen Vierecken dargestellt sind die Ergebnisse im Bereich von 300 nT bis -300 nT, in 10 nT Schritten.

Beide Messreihen zeigen für hyperpolarisiertes Thiourea einen ähnlichen Trend. Dabei liegt das Maximum der erhaltenen Signalintegrale für beide Messreihen zwischen -100 nT und -200 nT.

Trotz Verwendung des optimalen Magnetfeldes für den SOT kann bei einer Detektion von  $^{15}\text{N}$ -Kernen erwartungsgemäß kein NMR-Signal erhalten werden. Das  $^{15}\text{N}$ -Isotop hat eine zu geringe natürliche Häufigkeit und ein ebenfalls geringes gyromagnetisches Verhältnis, was die NMR-Aufnahme deutlich erschwert. Hier müsste zunächst eine Isotopenmarkierung oder eine Erhöhung der Probenkonzentration erfolgen, neben weiteren Anpassungen des Reaktionsansatzes und anderer Parameter.

### 5.2.4. PHIP-SHEATH an Dimethylacetylendicarboxylat (DiMeADC)

Die apparative Durchführung von PHIP-Messungen erfolgt analog zu den SABRE-Messungen. Hypothetisch betrachtet könnte dann auch im Anschluss an ein h-PHIP-Experiment die induzierte Polarisation auf  $^{13}\text{C}$  übertragbar werden. Auf Basis dieser Hypothese wird das beschriebene SABRE-SHEATH-Setup für PHIP verwendet.

Dazu wird die Hydrierung von Dimethylacetylendicarboxylat (DiMeADC) betrachtet. Das entstehende Dimethylmaleinat (DiMeMa) bildet im Bereich der neuen Bindungen ein AA'B-Spinsystem, analog zu Maleinsäure, dem *cis*-Isomer der Butendisäure.<sup>[72]</sup> Das Isomer Dimethylfumarat (DiMeF), ist aufgrund seiner pharmazeutischen Anwendung als Therapeutikum bei remittierender multipler Sklerose von wissenschaftlichem Interesse.<sup>[83]</sup> DiMeMa und DiMeF sind Strukturderivate von Fumarsäure (*trans*-Butendisäure) und Fumarat, welches als hyperpolarisiertes Kontrastmittel in der MRT erforscht wird.<sup>[32]</sup>

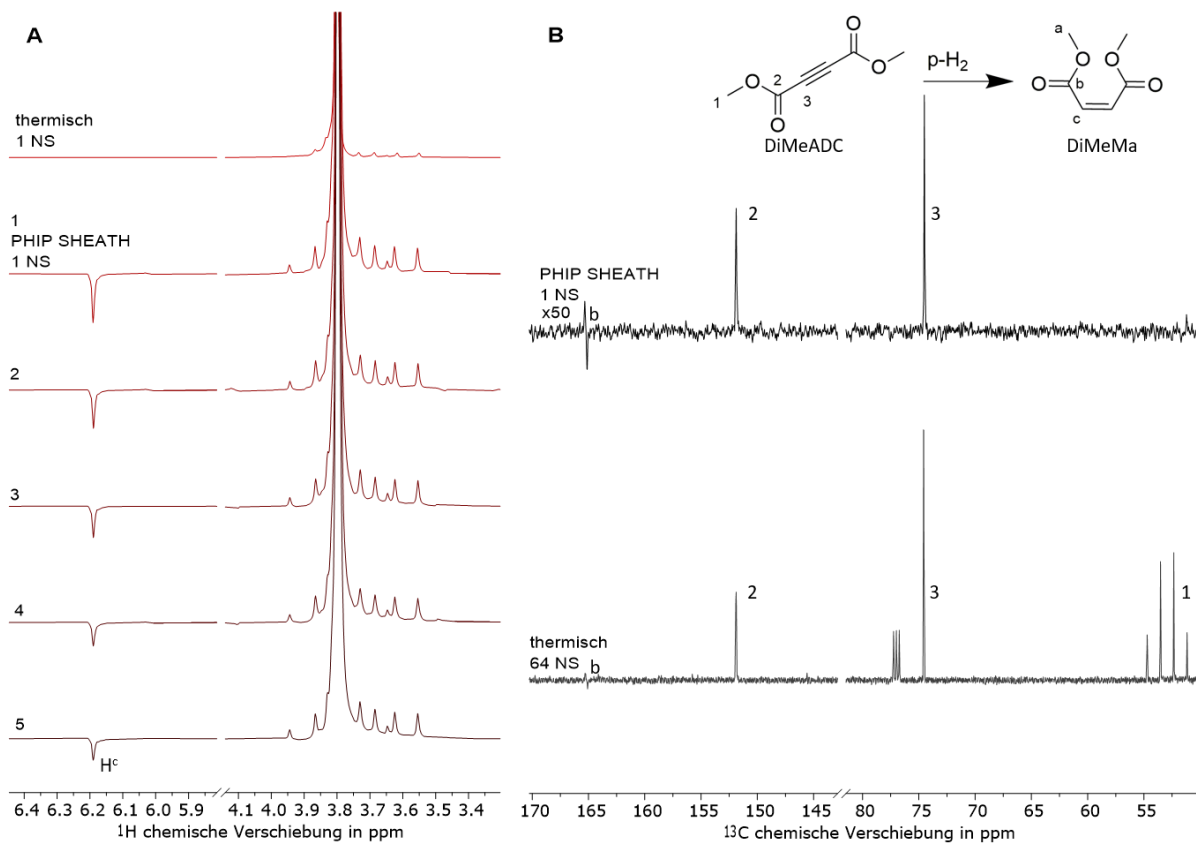


Abbildung 29: Protonen- und  $^{13}\text{C}$ -Spektren der Hydrierung von DiMeADC zu DiMeMa. Links: Gemessene Protonenspektren von DiMeMa (1-5) im Vergleich zum thermischen Protonenspektrum (je 1 Scan). Rechts: Gemessene  $^{13}\text{C}$ -Spektren (1 Scan) im Vergleich zum thermischen  $^{13}\text{C}$ -Spektrum (64 Scans).

Abbildung 29A zeigt die erhaltenen Protonenspektren nach je 10 s Hydrierung bei ungefähr 500 nT. Es können die SABRE-typischen Emissionslinien detektiert werden, entgegen der Erwartung von Antiphasen PHIP-Signalen. Die Messung wurde fünf Mal wiederholt mit dem Ergebnis, dass das HP-Signal (6,2 ppm) mit voranschreitender Reaktion geringer wird. PHIP ist eine irreversible Technik, die Edukt verbraucht. Die gleiche Signalintensität kann nur durch ein Wechseln auf eine frische Probe erreicht werden. Das aufgenommene thermische Spektrum

---

zeigt kein HP-Signal und auch kein thermisches Signal an der gleichen Position, daher wird die Signalverstärkung am messbaren Lösungsmittelsignal als interner Standard errechnet. Das hyperpolarisierte Signal der ersten Messung erreicht eine Verstärkung von ungefähr 550.

Die gezeigte Hyperpolarisation des Protonensignals mit dem Setup eröffnet die Möglichkeit des Polarisationstransfers auf  $^{13}\text{C}$ -Kerne. In Abbildung 29B wird ein erhaltenes  $^{13}\text{C}$ -Spektrum gezeigt. Die Hydrierung erfolgt analog zur Protonenmessung bei der Motorposition 8500 und 500 nT, nach 10 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr. Mittels eines einzelnen Scans kann bei einer Verschiebung von 165 ppm das HP-Signal des Carbonylkohlenstoffs, des Hydrierprodukt detektiert werden. Der Polarisationstransfer auf  $^{13}\text{C}$  ist damit nachgewiesen. Ein thermisches Signal kann in einer anschließenden Messung (5 min später) nach 64 Scans detektiert werden. Diese beiden  $^{13}\text{C}$ -Signale bei 165 ppm werden miteinander verglichen, die erhaltene Signalverstärkung nimmt einen Wert von 8 an.

### 5.2.5. Apparative Herausforderungen

Der häufige Gebrauch des Schrittmotors erzeugt eine mechanische Belastung auf den Probenkopf und die Klemmhalterung des Spektrometerinnenrohres. Durch das schnelle Transportieren, sowie das abrupte Abbremsen der Probe, kommt es zu einer Kraftübertragung und in seltenen Fällen zum Aufsetzen der Probenhalterung auf der Verjüngung des Innenrohres. Dies resultiert wiederholt in Schäden am Spulenbereich des Probenkopfes und führt zu einem Absacken des gesamten Innenrohres inklusive der Shimröhre und des Probenkopfes um bis zu 10 mm. Dies sorgt wiederum dafür, dass sich die Feldhomogenität reduziert, bis hin zum vollständigen Signalverlust.

Kontrollen des Magnetfeldes innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes zeigen, dass die angelegten Spannungen für die Spulen über die Zeit zu unterschiedlichen Feldstärken führten. Innerhalb einer Experimentreihe bleiben die Daten zwar vergleichbar, der Vergleich von Experimenten, welche zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt wurden, zeigt jedoch Unterschiede in den erhaltenen Signalintegralen (Intensitäten) und die Messungen sind nicht mehr reproduzierbar. Die wahrscheinlichste Erklärung für diese Beobachtung ist eine Änderung der Magnetfelder innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes, das sich im Laufe der Zeit durch das Streufeld des 11,7 T Magneten aufmagnetisiert. Der Faktor der Feldänderung ist jedoch unbekannt und scheint sich kontinuierlich zu verändern. Die Kontrolle über das Magnetfeld im  $\mu$ -Metallschild während einer Messung ist damit stark fehlerbehaftet, da nicht bekannt ist, wie schnell und stark die Magnetisierung des Metallschildes erfolgt.

---

### 5.2.6. Zusammenfassung

Das SABRE-Setup mit dem automatischen Probenshuttle ermöglicht unkomplizierte, schnelle und zunächst reproduzierbare Messungen. Durch das automatische, motorbasierte Transportverfahren kann eine Probe in unter einer Sekunde zwischen dem  $\mu$ -Metallschild und dem Probenkopf transportiert werden. Das ermöglicht es geringe Mengen an Polarisation (von geringen Konzentrationen) oder schnell relaxierende Polarisation (von Protonen) aufzunehmen. Die Möglichkeit von solchen automatisierten Messungen mit reproduzierbaren Ergebnissen, sind im Hinblick auf die rasante Entwicklung der Forschung und dem Zeitmangel für die umfassende Analytik von besonderer Wichtigkeit, vor allem für industrielle Anwendungen.

Das eingebaute  $\mu$ -Metallschild ermöglicht es unterschiedlichste, magnetfeldabhängige, SOT-basierte Messungen durchzuführen, mit guten Ergebnissen. Protonenmessungen sind weiterhin ohne Aufwand möglich. Mit dem Setup ist es zudem möglich in einem einzelnen Scan  $^{13}\text{C}$ -Spektren von Proben, mit  $^{13}\text{C}$  in natürlicher Häufigkeit, zu detektieren, ohne große Mengen an Substrat zu verwenden. Selbst Messungen von hyperpolarisiertem  $^{15}\text{N}$  sind mittels eines Scans möglich. Dabei kann eine  $^{15}\text{N}$ -Isotopenmarkierung hilfreich sein, wie Messungen ohne  $^{15}\text{N}$ -Isotopenmarkierung an Pyridin gezeigt haben. Weiter werden die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale zweier Proben, Thiourea und DiMeADC, erfolgreich verstärkt. Für Thiourea mit SABRE-SHEATH kann eine  $^{13}\text{C}$ -Signalverstärkung von mindestens 189 erreicht werden. Für DiMeADC mit PHIP-SHEATH wird eine  $^{13}\text{C}$ -Verstärkung von 8 erreicht.

### 5.3. Neuordnung der Apparatur

In diesem Kapitel werden die Lösungsansätze vorangegangener Herausforderungen dargestellt und anschließend PHIP- und SABRE-Messungen an der weiterentwickelten Apparatur gezeigt, sowie die Ergebnisse diskutiert.

Im Hinblick auf geplante Erweiterungen um einen weiteren NMR-Magneten und zur Erhöhung der Stabilität des Nullfelds, sowie zur Prävention von Schäden am NMR-Probenkopf, wird das  $\mu$ -Metallschild außerhalb der Fünf-Gauß-Linie des Hochfeldspektrometers positioniert. Dadurch wird einer Magnetisierung des Metallschildes entgegengewirkt. Des Weiteren fällt die mechanische Belastung durch das Probeshütteln weg. Das  $\mu$ -Metallschild wird entmagnetisiert und das Nullfeld für die neue Position eingestellt. Es erreicht ein tatsächliches Minimum von  $2\ \mu\text{T}$ . Dieser Umbau geht mit neuen Herausforderungen einher, wie der Positionierung der Probe im  $\mu$ -Metallschild, dem Probentransport und einem neuen AU-Programm für die automatische Steuerung.

Abbildung 30 zeigt einen Überblick über die Apparatur nach dem Umbau. Die Apparatur kann in drei Bereiche unterteilt werden: (A) Der Parawasserstoffgenerator, (B) die Ventilschaltung (inkludiert den manuellen Bereich und den Magnetventilbereich), und (C) das  $\mu$ -Metallschild und der Detektionsbereich.

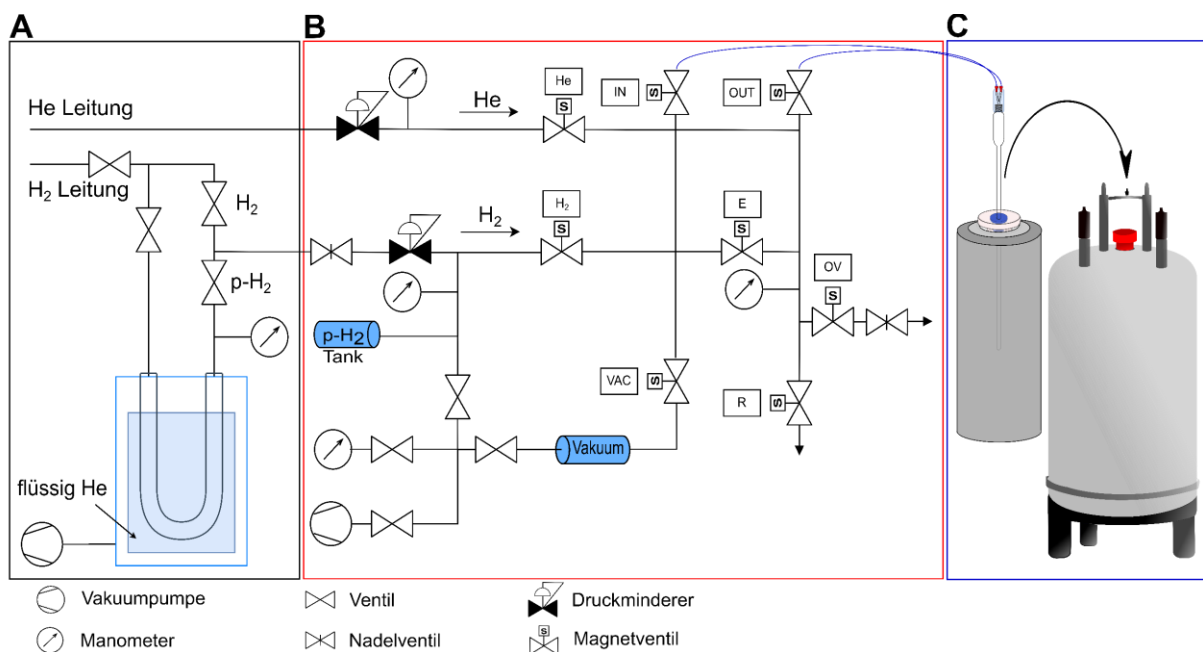


Abbildung 30: Aufbau der Hydrierapparatur unter Verwendung des  $\mu$ -Metallschildes, mit manuellem Transfer der Probe in das HF-Spektrometer.

Durch den Umbau treten neue Herausforderungen auf, die zwecks reibungsloser Verwendbarkeit der Apparatur überwunden werden müssen. Um einen Polarisationstransfer auf X-Kerne zu ermöglichen wird ein MFC verwendet, der das minimal einstellbare Magnetfeld von  $2\ \mu\text{T}$  beinhaltet. Der MFC deckt den ZULF-Bereich ab und wird folgend als ZULF-MFC bezeichnet. Abbildung 31 zeigt den ZULF-MFC und die parallel erfolgenden Gasoperationen während eines Experiments.

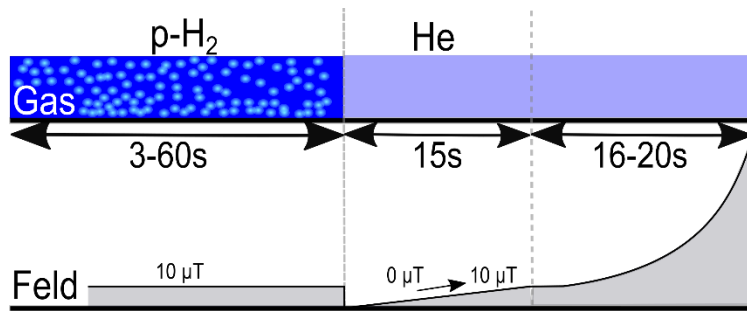


Abbildung 31: Darstellung der unterschiedlichen Magnetfelder des automatisierten ZULF-MFC im  $\mu$ -Metallschild und die parallelen ablaufenden, automatisierten Gasströme, die vor der Detektion durchlaufen werden.

Im Anschluss daran liegt der Probentransport zwischen dem  $\mu$ -Metallschild und dem NMR-Magneten im Fokus der Optimierung. Dieser erfolgt bei diesem Aufbau (Abbildung 30) manuell, wodurch die mechanische Belastung auf dem Probenkopf wegfällt. Allerdings könnten unterschiedlich lange Wartezeiten und Aufbewahrung der Probe im Erdmagnetfeld den SOT beeinflussen. Damit der Transport selbst reproduzierbar bleibt und sich nicht unterschiedlich auf die Experimente auswirkt, wird eine vorgegebene Zeit von 20 s für den Transport eingeplant.

Das Timing der Hydrierung, des MFCs, der Transportzeit und dem Start der Messung übernimmt ein neu entwickeltes AU-Programm (Fieldsweepau1). Eine gekürzte Version ist in Abbildung 32 grafisch zusammengefasst.

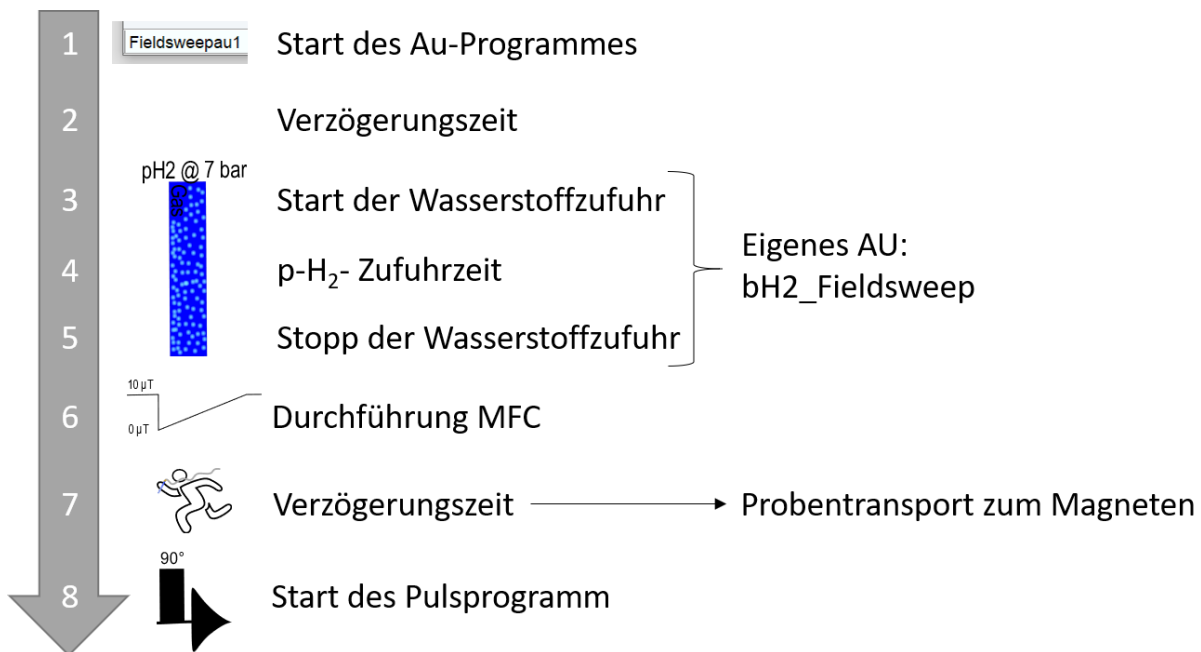


Abbildung 32: Skizze der unterschiedlichen Operationen, die in dem Haupt-AU-Programm (Fieldsweepau1) zusammengefasst sind.



### 5.3.1. PHIP für Ein-Scan $^{13}\text{C}$ -Spektren von DiMeADC

Vorangegangene Experimente mit DiMeADC haben bereits gezeigt, dass ein SOT auf  $^{13}\text{C}$  prinzipiell möglich ist. Nach der Umstrukturierung der Apparatur und den anschließenden Optimierungsschritten erfolgen die ersten PHIP MFC-SOT Experimente an dieser Probe. Diese Experimente zeigen eine neue Problematik auf. Die Positionierung der Probe im Schild erwies sich als unzureichend reproduzierbar. Durch den vorherigen SABRE-Aufbau ist bekannt, dass die Positionierung im Magnetfeld einen Einfluss auf den Polarisationstransfer hat. Die genauen Magnetfelder an Positionen außerhalb des Zentrums des Schildes sind während des MFC nicht bekannt und können nicht direkt kontrolliert werden. Ist die Probe zu hoch (Abbildung 33A) oder zu niedrig positioniert (Abbildung 33B), erzeugt der Transfer bereits in einem Scan ein  $^{13}\text{C}$ -Signal, allerdings mit geringer Signalintensität. Zum Vergleich wird die DiMeADC Probe in eine abgeschätzte Mittelposition in das Schild gebracht (Abb. 33C). Eine genaue Ausmessung innerhalb eines schnell ablaufenden Experiments wäre zeitlich nicht möglich. Diese Abschätzung der Mittelpositionen stellt allerdings einen systematischen Fehler in der Datenerhebung dar. Daher wird eine Probenhalterung entwickelt, um die reproduzierbare Positionierung der Probe in dem ausgemessenen Mittelbereich im  $\mu$ -Metallschild zu garantieren (Abb. 33 Insert). Das Insert wird in seiner Bauart so ausgerichtet, dass die Probenlösung im Zentrum des kontrollierten Magnetfeldbereiches fixiert wird. Die anschließend erhaltenen Messergebnisse werden in Abbildung 33D gezeigt.

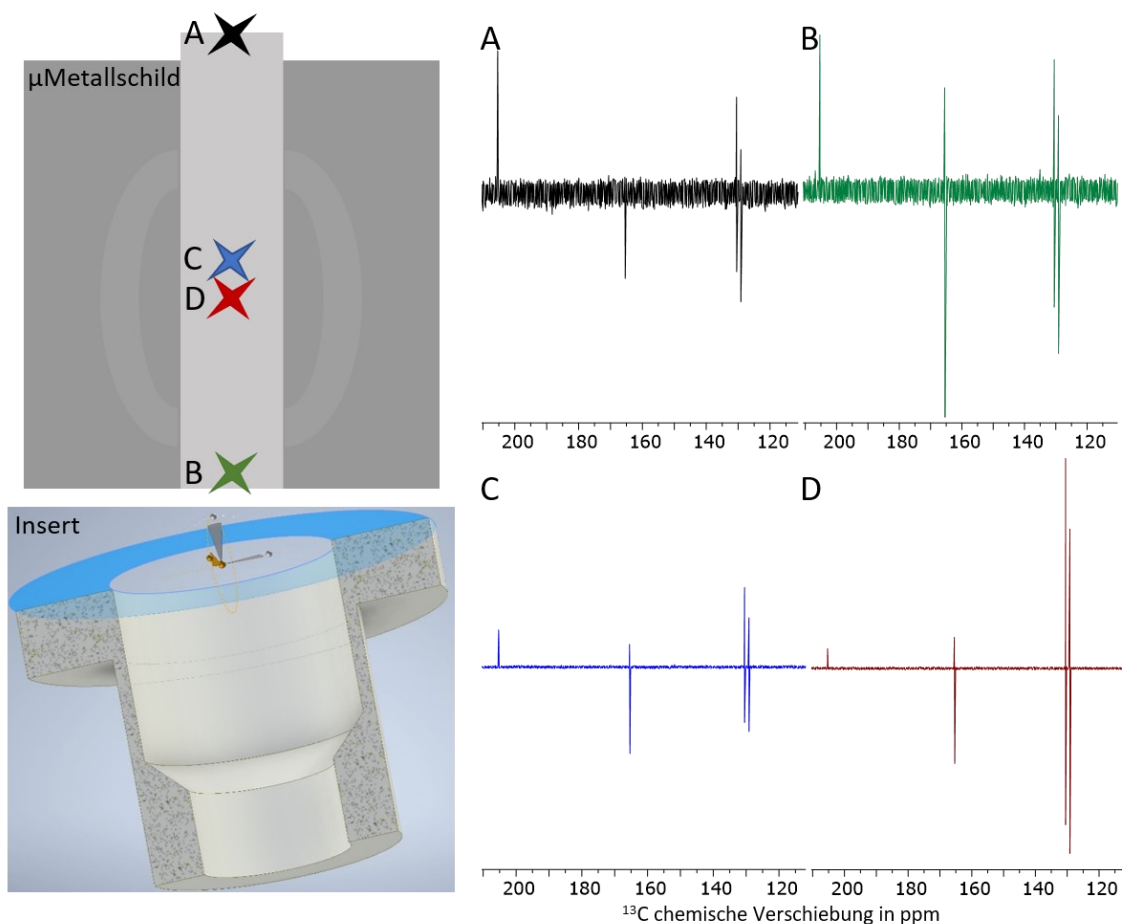


Abbildung 33: Skizze des  $\mu$ -Metallschildes sowie die Markierungen der Positionen A-D für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Positionen im  $\mu$ -Metallschild auf das Ergebnis des SOT. Die nach einem Scan erhaltenen  $^{13}\text{C}$ -Spektren (A-D) sind abgebildet, ebenso das entwickelte Insert für eine vorgegebene Probenpositionierung.

In Abbildung 33A-D werden jeweils die  $^{13}\text{C}$ -Messergebnisse der Hydrierung von DiMeADC mit 20 s p- $\text{H}_2$  bei etwa 10  $\mu\text{T}$  und einem anschließendem ZULF-MFC gezeigt. Die hyperpolarisierten Signale sind die für h-PHIP typischen Antiphasensignale. Werden die Signalintensitäten der erhaltenen DiMeMa-Signale (130 ppm; 165 ppm) miteinander verglichen, können erwartungsgemäß die intensivsten Signale nach der Verwendung des ZULF-MFC-SOT im Zentrum des  $\mu$ -Metallschild erhalten werden (Abbildung 33D). Alle Spektren zeigen die Messergebnisse einer nicht  $^1\text{H}$ -entkoppelten ein-Puls  $^{13}\text{C}$ -Messung nach einem Scan. Da keine thermischen Spektren von dieser DiMeMa-Probe aufgenommen werden konnten, werden die Verstärkungsfaktoren gegen das Acetonsignal (205 ppm) als interner Standard abgeschätzt.

Tabelle 6: Zusammenfassung der Ergebnisse für den Verstärkungsfaktor  $\epsilon$ , die daraus resultierende HP in % und die ungefähre Zeitersparnis für die HP-Messung gegenüber einer thermischen Messung.

	A	B	C	D
<b><math>\epsilon</math></b>	20	96	184	288
<b>HP in %</b>	0,02	0,10	0,19	0,29
<b>Zeitersparnis in min</b>	418	9239	33810	82854
<b>Zeitersparnis in Tagen</b>	0,29	6,4	23,5	57,5

Die Experimente, die nicht im Zentrum des Schilds stattfanden, zeigen einen schwächeren SOT. Die abgeschätzte Mittelposition C stellt bereits eine Verbesserung dar. Die durch das Insert optimierte Position D zeigt eine um 1450 % größere Polarisation als die Position A.

Der Vergleich mit den bereits erhaltenen Ergebnissen für DiMeADC (Kapitel 5.2.4) zeigt eine deutliche Erhöhung des Verstärkungsfaktors durch das Einrichten des  $\mu$ -Metallschildes an der neuen Position. Neben der Hardwareoptimierung können die Parameter der Hydrierungsreaktion optimiert werden. Ein einfacher erster Schritt für eine größere  $^{13}\text{C}$ -Polarisation ist die Erhöhung der Hydrierungsdauer, um eine möglichst hohe Polarisation der Probe zu erzielen. Wird eine Hydrierungsdauer von 60 s statt 20 s aufgewendet, kann folgendes Spektrum (Abbildung 34) erhalten werden.

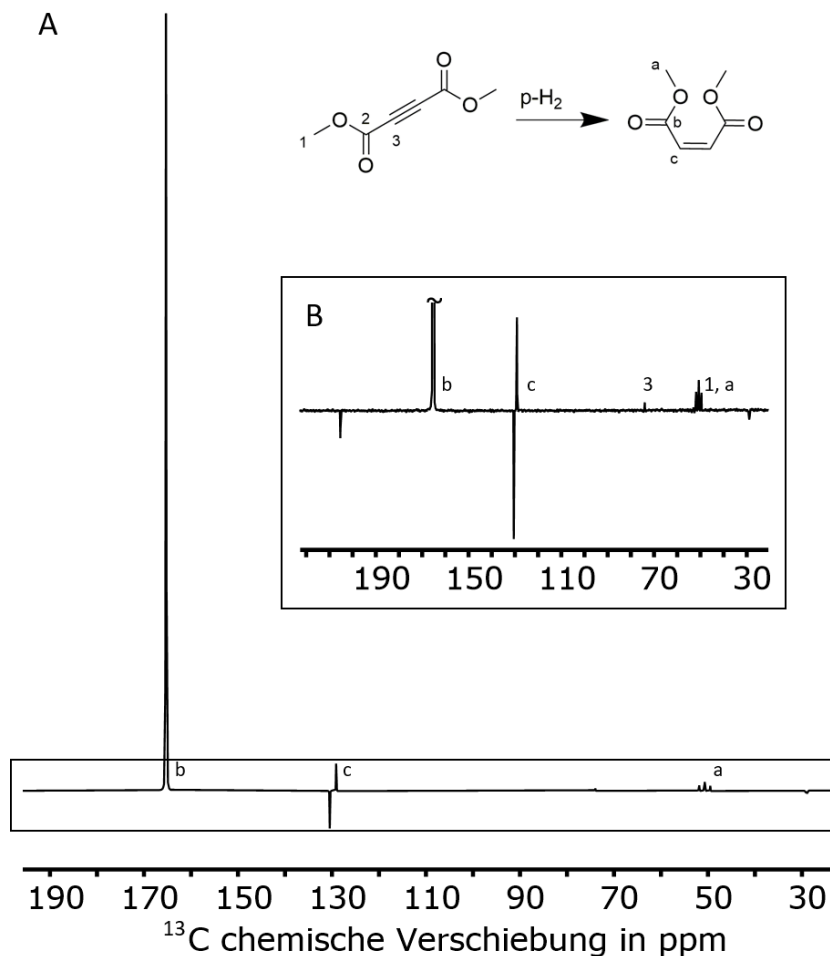


Abbildung 34:  $\{^1\text{H}\}$ - $^{13}\text{C}$ -Spektrum von DiMeADC nach 60 s Hydrierung und dem ZULF-MFC im  $\mu$ -Metallschild zur Demonstration einer Messung mit längerer Hydrierungszeit. A zeigt das gesamte Spektrum und B zeigt eine Vergrößerung des markierten Bereichs. Aufgenommen in Aceton- $\text{d}_6$ .

Diese Messung ist ein Beispiel für den Einfluss von Magnetfeld und Hydrierzeit auf die Ergebnisse. Alle Kohlenstoffkerne (a-c) befanden sich für den SOT in dem gleichen Magnetfeld, dennoch zeigt das Signal bei 165 ppm (Carbonylkohlenstoff, b) die intensivste Verstärkung und ist zudem ein reines Emissionssignal. Das Methylgruppensignal (52 ppm, a) erfährt kaum Verstärkung. Auf Basis der Grundlagen zum LAC wird vermutet, dass der gewählte MFC für den  $^{13}\text{C}$ -Kern von a die Bedingungen für einen Transfer nicht erfüllt. Der MFC ist auch für den Transfer auf c nicht optimal, da dies zwar hyperpolarisiert, aber als Antiphasensignal detektiert wird. In Abbildung 33D, bei welcher der gleiche MFC verwendet wird, ist das Signal bei 130 ppm (c) das, welches am intensivsten und in Phase detektiert wird. Der Transfer zeigt damit eine Zeitabhängigkeit. Bei einer längeren Hydrierzeit, und damit einer längeren Verweilzeit im  $\mu$ -Metallschild, wird die Polarisation auf dem Carbonylkohlenstoff (165 ppm, b) erhöht. Dieser Effekt kann verwendet werden, um einen selektiven MFC zu entwickeln.

Für diese Hydrierung von DiMeADC konnte eine Verstärkung von 3390 und eine Polarisation von 3,42 % erhalten werden. Um das Signal bei 165 ppm im thermischen Spektrum mit

gleichem Integral messen zu können, müsste eine Messzeit von 21,8 Jahren aufgewendet werden.

### 5.3.2. PHIP-SHEATH von Fmoc-L-Tyrosin(Propargyl)-OH

Mit dem gezeigten Aufbau als Grundlage und den Erfahrungen und Ergebnissen der vorangegangenen Experimente mit DiMeADC soll ein (ZULF-)MFC-SOT anhand eines Anwendungsbeispiels durchgeführt werden. Als Anwendungsbeispiel wird Fmoc-L-Tyrosin(Propargyl)-OH (Einbuchstabencode für Tyrosin: Y) verwendet. Dieses wurde bereits als mögliches PHIP-Label für bioaktive Peptide<sup>[39,41]</sup> untersucht. Die erfolgreiche Verstärkung durch h-PHIP auf Protonen ist für diese Probe bereits gezeigt worden<sup>[39,41]</sup>, weshalb an dieser Stelle auf eine Wiederholung verzichtet wird. Der Fokus liegt damit auf einer Signalverstärkung der <sup>13</sup>C-Signale.

Bei einem Substrat-zu-Katalysator-Verhältnis von 4:1 kann <sup>13</sup>C-Hyperpolarisation detektiert werden. Das resultierende Spektrum ist in Abbildung 35B gezeigt. Zum Vergleich werden in Abbildung 35 zudem das Ausgangsspektrum A von Fmoc-Y(Propargyl)-OH und das Produktspektrum C einer Fmoc-Y(Allyl)-OH-Probe gezeigt.

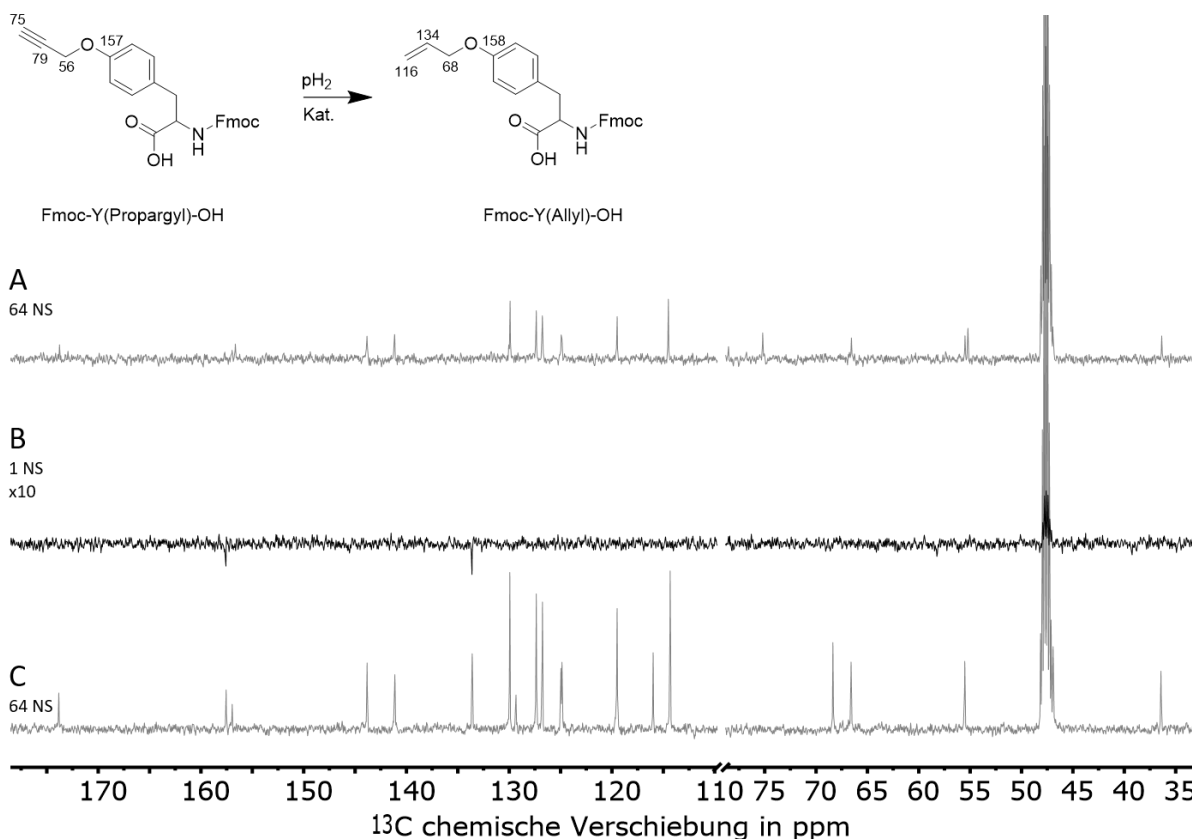


Abbildung 35: <sup>13</sup>C-NMR-Spektren von (A) thermischem Fmoc-Y(Propargyl)-OH, (B) <sup>13</sup>C-PHIP-NMR-Spektrum von Fmoc-Y(Propargyl)-OH und (C) von thermischem Fmoc-Y(Allyl)-OH, welches als Produkt des ersten Hydrierungsschrittes von Fmoc-Y(Propargyl)-OH hervorgeht. Zusätzlich gezeigt sind die Strukturformel unter Angabe der chemischen Verschiebung der relevanten Signale zur besseren Differenzierung zwischen dem Produkt und dem Edukt im PHIP-Spektrum (1 Scan, 10x vergrößert).

Die erhaltenen Signale bei 157 ppm und 133 ppm können dem Allylether des Produkts zugeordnet werden. Dazu wird Spektrum C verwendet. Zudem können die in Messung C erhaltenen Signale von Fmoc-Y(Allyl)-OH als externer Standard verwendet werden, um eine Verstärkung der Signale aus Messung B zu ermitteln. Es wird die Verstärkung der Signale bei 133 ppm und 157 ppm berechnet. Tabelle 7 fasst alle errechneten Ergebnisse für den Verstärkungsfaktor  $\epsilon$ , der HP in % und die theoretische Zeitersparnis zusammen.

Tabelle 7: Zusammenfassung des Verstärkungsfaktors  $\epsilon$ , der HP in % und der Zeitersparnis, für die Signale der HP-Allylfunktionalität.

	133 ppm	157 ppm
$\epsilon$	27	55
HP in %	0,03	0,06
Zeitersparnis in min	745	3003

Mit dem gezeigten Aufbau und der MFC-SOT Technik ist es damit möglich, das PHIP-Label nicht mehr ausschließlich über Protonenmessungen, sondern auch über die  $^{13}\text{C}$ -Kerne zu detektieren. Dies ist im Hinblick auf zweidimensionale Messungen von Interesse, ebenso wie für Messungen, die ohne Hyperpolarisation unwirtschaftlich lange Messzeiten benötigen würden. Es entstehen neue Möglichkeiten für Strukturbestimmungen, die allerdings nicht Teil dieser Arbeit sind.

Weitere Erhöhungen der Signalverstärkung und des SNR unterliegen der Optimierung der Probenzusammensetzung und Reaktionsparameter, was kein Bestandteil der vorliegenden Arbeit ist. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Erhöhung und dem Verständnis des SOT. Hierzu wird Propargylalkohol als Analyt verwendet. Dies stellt den Baustein einer ungesättigten Bindung dar, der als PHIP-Label durch eine Etherbindung an Fmoc-Y gebunden wird, um obiges Fmoc-Y(Propargyl)-OH zu bilden.

Abbildung 36A und B zeigen  $^{13}\text{C}$ -Spektren von Propargylalkohol und dem Hydrierprodukt Allylalkohol. Abschnitt C zeigt ein hyperpolarisiertes Spektrum von der Hydrierung von 14 mM Propargylalkohol nach 30 s.

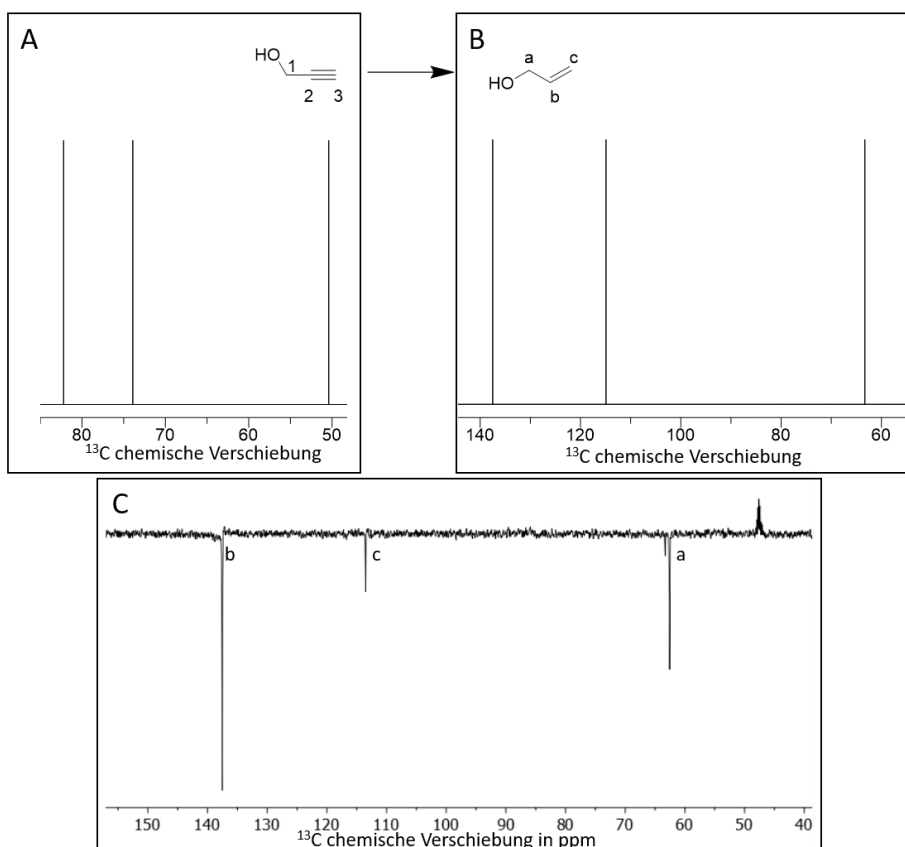


Abbildung 36: Darstellung von (A) Propargyl- und Allylalkohol (B) (Entnommen aus Datenbank<sup>[84]</sup>); sowie das HP-Spektrum (1 Scan) einer Hydrierung von 14 mM Propargylalkohol nach 30 s p-H<sub>2</sub> und einem ZULF-MFC in Methanol-d<sub>4</sub> unter Anwesenheit des Katalysators für die PHIP Messungen.

Wie in Abb. 36C zu sehen, können durch den MFC-SOT alle im Molekül enthaltenen <sup>13</sup>C-Kerne hyperpolarisiert werden. Die durch den Transfer gegebene Hyperpolarisation ist dabei ausreichend dafür, dass selbst eine geringe Konzentration detektiert werden kann.

Die Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$  für die Signale der jeweiligen <sup>13</sup>C-Kerne werden unter Zuhilfenahme des Lösungsmittels als interner Standard berechnet. Die erhaltenen Ergebnisse, sowie die errechnete HP in % und die Zeitersparnis werden in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Zusammenfassung der Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$ , der HP in % und der Zeitersparnis für die Signale des HP-Allylalkohols.

	a	b	c
$\epsilon$	1934	4106	459
HP in %	1,95	4,15	0,46
Zeitersparnis in min	3739138	16859270	210997
Zeitersparnis in Jahren	7	32	0,4

Nachdem gezeigt wurde, dass h-PHIP mit anschließendem MFC-SOT und Detektion auf <sup>13</sup>C-Kerne mit großer Verstärkung möglich ist, wird die SABRE-SHEATH-Fähigkeit der Apparatur überprüft.

### 5.3.3. SABRE-SHEATH von Thiourea

In diesem Kapitel wird sich zunächst auf die Hyperpolarisation von Thiourea beschränkt. Der schnelle Shuttletransfer mittels Schrittmotor zwischen HF und Nullfeld wird durch einen manuellen Transport (ca. 20 s) ersetzt. Zunächst wird daher getestet, ob diese Technik funktioniert und weiterhin hyperpolarisierte Signale detektiert werden können. Für die gezeigten Messungen bleibt das Feld im  $\mu$ -Metallschild auf  $2\ \mu\text{T}$  statisch. Während des Transports findet eine (langsamere) adiabatische Feldänderung statt, was nach der LAC-Theorie einen verstärkenden Einfluss auf den SOT haben könnte.

Die Messungen erfolgen zunächst unter Einsatz von DMSO als Auxiliar, da dessen  $^{13}\text{C}$ -Signal bei einer Verschiebung von 40 ppm zu detektieren ist, und damit nicht im Bereich des interessanten Thioureasignal (185 ppm) liegt (Abbildung 37A, B). Bei einer vergleichenden Messreihe wird auf das Auxiliar verzichtet, um eventuelle Unterschiede zu detektieren (Abb.37 C, D).

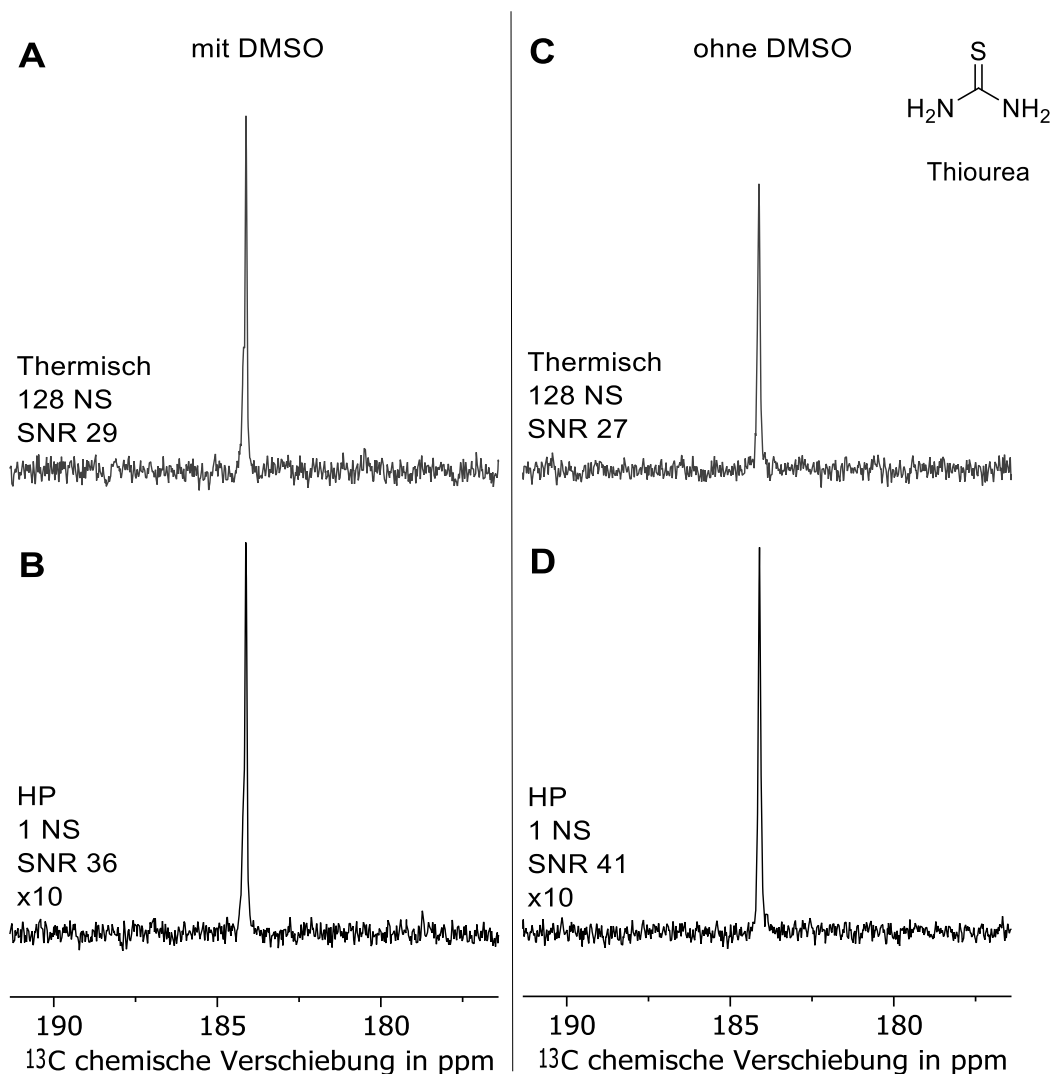


Abbildung 37: Ausschnitte aus den thermischen  $^{13}\text{C}$ -Spektren von thermischen Thiourea (A und C), sowie die Spektren der SABRE-SHEATH-Messungen (nach Hydrierung bei  $2\ \mu\text{T}$ ) mit DMSO (B) und ohne DMSO (D). (vollständige Spektren im Anhang in Abbildung 65). Die  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messungen wurden aufgenommen in Methanol- $d_4$ .

In Abbildung 37 ist das jeweils erhaltene  $^{13}\text{C}$ -Spektrum der erfolgten Messungen an Thiourea aufgetragen. Spektrum A und C zeigen jeweils einen Ausschnitt aus den thermischen Spektren, die nach 128 Scans detektiert wurden. Spektrum B und D zeigen jeweils einen Ausschnitt der Spektren nach den SABRE-SHEATH-Experimenten nach je einer Ein-Scan-Messung. Die erhaltenen  $^{13}\text{C}$ -Spektren des hyperpolarisierten Thiourea werden als Absorptionssignal erhalten. Eine thermische Aufnahme gleicher Signale in nur einem Scan ist nicht möglich, daher kann eine Verwechslung ausgeschlossen werden.

Tabelle 9 fasst die Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$ , sowie die erreichte prozentuale Hyperpolarisation und die theoretische Zeitersparnis zusammen.

Tabelle 9: Zusammenfassung des Verstärkungsfaktors  $\epsilon$ , der HP in % und der Zeitersparnis für die Messungen an Thiourea.

	<b>B</b>	<b>D</b>
	<b>Mit DMSO</b>	<b>Ohne DMSO</b>
<b><math>\epsilon</math></b>	18	18
<b>HP in %</b>	0,02	0,02
<b>Zeitersparnis in min</b>	325	325

Die Messungen zeigen zum einen, dass SABRE-SHEATH induzierte  $^{13}\text{C}$ -Polarisation weiterhin uneingeschränkt möglich ist. Zudem zeigen die Messungen, durch das Erreichen gleicher Verstärkungsfaktoren, dass DMSO als Auxiliar für dieses Experiment keinen Einfluss auf den SOT hat. Müsste erst eine Koordination von DMSO an den Katalysator erfolgen, bevor Thiourea koordinieren kann, würden geringere Signale bei den Messungen ohne DMSO erwartet werden. Da dies nicht der Fall, ist konnte gezeigt werden, dass Thiourea kein Auxiliar zur Koordination an den SABRE-Katalysator benötigt. Gleichzeitig kann an diesen Messungen die Reproduzierbarkeit der experimentellen Durchführung gezeigt werden. Der Verstärkungsfaktor von 18 ist allerdings um ein 11-faches niedriger als der, der bei 10 s p-H<sub>2</sub> mit dem Shuttle nach einer optimierten Messung erreicht wurde ( $\epsilon=189$ ). Daher wird nachfolgend getestet, welche Verstärkung erreicht werden kann, wenn die p-H<sub>2</sub> Zufuhr auf 60 s verlängert wird.



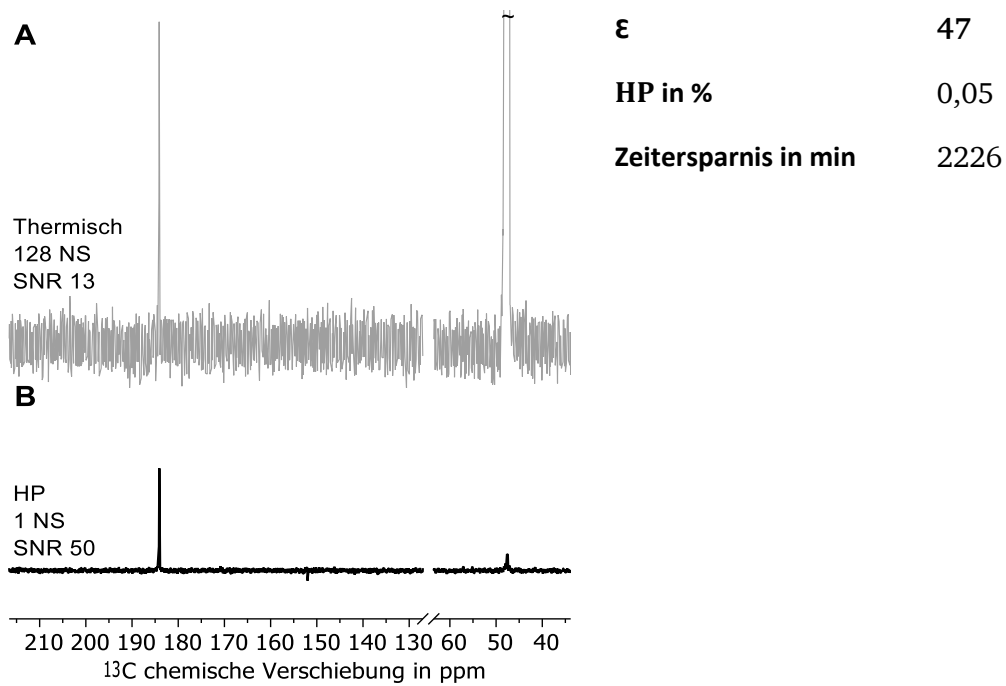


Abbildung 38:  $^{13}\text{C}$ -Spektren von thermisch polarisiertem Thiourea (A), sowie das SABRE-SHEATH-Spektrum B und die Auflistung von  $\epsilon$ , HP in % und der Zeitersparnis. Die  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messungen wurden aufgenommen in Methanol- $d_4$ .

Durch einfache Verlängerung der p- $\text{H}_2$ -Zufuhrzeit konnte die prozentuale Polarisierung der Probe erhöht und das Signal weiter verstärkt werden.

### 5.3.4. SABRE-SHEATH von Pyridin

Nach dem erfolgreichen Transfer der Spinordnung auf  $^{13}\text{C}$ , ist die Untersuchung des Transfers auf  $^{15}\text{N}$  von Interesse.

Eine Probe von  $^{15}\text{N}$ -Isotopenmarkiertem Pyridin wird dafür verwendet. Für einen Test eignet sich diese Probe eher, als eine Probe von Pyridin mit natürlicher Häufigkeit an  $^{15}\text{N}$ . In nachfolgender Abbildung sind die erhaltenen  $^{15}\text{N}$ -Spektren dargestellt.

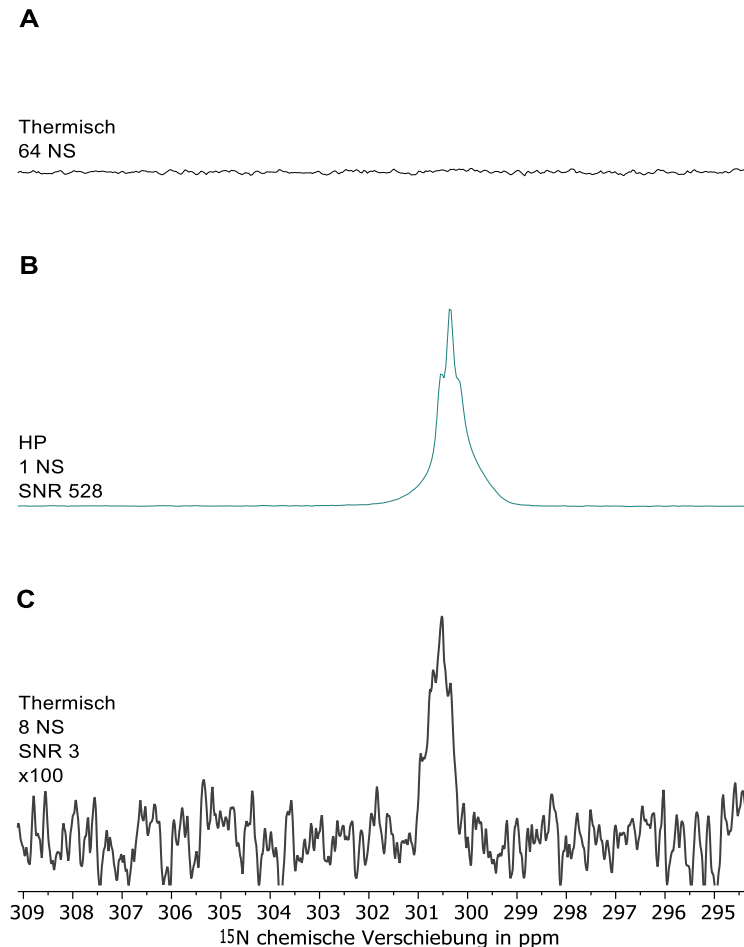


Abbildung 39: Vergleich eines thermischen Spektrums A nach 64 Scans und dem (1 Scan) hyperpolarisierten  $^{15}\text{N}$ -Spektrum B von  $^{15}\text{N}$ -Pyridin, nach 60 s Hydrierung bei  $2\ \mu\text{T}$ . Spektrum C zeigt eine thermische Messung der Probe mit verlängerter Pulsdauer. Alle Spektren wurden ohne Entkopplung und in Methanol- $\text{d}_4$  aufgenommen.

Die Detektion von thermisch polarisiertem Signal im Spektrum A war nach 64 Scans nicht möglich. Nach Zufuhr von  $\text{p-H}_2$  bei  $2\ \mu\text{T}$  und anschließender Messung mit denselben Akquisitionsparametern, kann ein  $^{15}\text{N}$ -Signal bei 300 ppm detektiert werden. Dieses Signal ist das erwartete  $^{15}\text{N}$ -Pyridin mit erkennbarem Aufspaltungsmuster. Zur groben Abschätzung eines Verstärkungsfaktors wird die Anregungspulsdauer von  $30\ \mu\text{s}$  auf  $60\ \mu\text{s}$  verlängert, um bei einer anderen Auslenkung thermisch polarisiertes Signal von  $^{15}\text{N}$  zu erhalten. Unter der Annahme, dass Spektrum C ein thermisches  $^{15}\text{N}$ -Spektrum zu B darstellt, wird der  $\epsilon$  zu 212 errechnet. Die Polarisation der Probe entspricht nach der Hyperpolarisation einem Wert von 0,09 %.

### 5.3.5. Zusammenfassung

Die Neugestaltung der Apparatur hat zur Folge, dass das  $\mu$ -Metallschild an einem anderen Ort im Raum positioniert ist. Durch den Umbau ist das  $\mu$ -Metallschild besser zugänglich für die Magnetsonde und schnelle Kontrollen des Magnetfelds. Für diesen Ort wird das Nullfeld neu eingestellt und anschließend die nullfeldbasierten Experimente wiederholt. Weiter wird ein neues AU-Programm geschrieben, das die Automatisierung der Gasströme und den Start der Messung, sowie den neuen Transport berücksichtigt und die Abfolge so miteinander verknüpft, dass der Experimentator nur den Transport durchführen muss. Der manuelle Transport erfolgt langsamer und durch das Streufeld des 11,7 T Magneten entsteht eine Feldänderung über einen größeren Magnetfeldbereich. Dabei wird vermutet, dass der neue Transport verringerte Auswirkungen auf die detektierbare Intensität der Signale hat, da während der verlängerten Transportzeit die Relaxation der Polarisation voranschreitet. Durch die langsamere Relaxation der X-Kerne kann dennoch Signal detektiert werden. Da der Umbau nur die Durchführung von Hyperpolarisationstransferexperimenten im Nullfeld und nahe-Nullfeld betrifft, ist die verlängerte Transportzeit unerheblich für die Detektion von Protonen. Die ersten HP- $^{13}\text{C}$ -Messungen werden an DiMeADC durchgeführt. Mit Hilfe dieser Messungen wird die Probenposition im  $\mu$ -Metallschild standardisiert und optimiert. Ein Insert wird designed und im Vergleich zu unterschiedlichen Probenpositionen getestet. Nach der Optimierung durch das Insert wird ein Verstärkungsfaktor  $\epsilon$  von 288 und damit eine  $^{13}\text{C}$ -Polarisation von 0,29 % erreicht. Nach Optimierung der Reaktionszeit kann ein  $\epsilon$  von 3390 erreicht werden. Bei diesen Experimenten sorgt der Umbau für erhöhte Verstärkungen der  $^{13}\text{C}$ -Signale im Vergleich zu vor dem Umbau. Anschließend wird Fmoc-Y(Propargyl)-OH getestet. Dies zeigt bei einem Substrat-Katalysator-Verhältnis von 4:1 eine detektierbare Hyperpolarisation auf den  $^{13}\text{C}$ -Kernen der neu gebildeten Allylfunktionalität. Der Verstärkungsfaktor von 55 ergibt bereits eine Messzeiteinsparung von 50 h. Die weitere Optimierung erfolgt an einem Teilstrukturmotiv des Fmoc-Y(Propargyl)-OH, dem Propargylalkohol. Für diese Probe wird ein Verstärkungsfaktor von bis zu 4106 erreicht, wobei jeder  $^{13}\text{C}$ -Kern des Moleküls hyperpolarisiert wird. Nachdem an drei Beispielen eine durch h-PHIP mit anschließendem MFC-SOT mögliche  $^{13}\text{C}$ -Hyperpolarisation gezeigt wurden, werden SABRE-SHEATH-Experimente getestet. Die Experimente werden am Beispiel von Thiourea gezeigt. Eine  $^{13}\text{C}$ -Verstärkung von 18 konnte zunächst erreicht werden. Im Vergleich zwischen Messungen mit und ohne Auxiliar konnte festgestellt werden, dass ein Auxiliar für Thiourea nicht notwendig ist. Eine anschließende Messung ohne Auxiliar und mit längere p- $\text{H}_2$ -Zufuhr lieferte einen Verstärkungsfaktor von 47. Anschließend an den Test der  $^{13}\text{C}$ -Verstärkung von Thiourea wird versucht durch Polarisationstransfer Hyperpolarisation auf dem  $^{15}\text{N}$  einer Pyridinprobe zu erzeugen. Das erfolgreich erhaltene Signal erreicht eine Verstärkung von 212.

Bei den Messungen ist auffällig, dass sich für SABRE-Messungen das eigentlich charakteristische Emissionssignal als Absorptionssignal zeigt. Die Ursache dafür wird in dem veränderten Transport vermutet. Die Kernspins haben durch den langsamen Transport zusätzliche Evolutionszeit, die bei dem Shuttle durch die hohe Geschwindigkeit nicht vorhanden war. Zusätzlich kommt es dadurch zu ersten Relaxationsprozessen. Dass es sich bei den erhaltenen Absorptionssignalen um hyperpolarisierte Signale handelt, ist im Vergleich zu den thermischen Spektren ersichtlich, da eine Signalaufnahme thermischer Signale bei den Proben nicht in einem Scan möglich war.

---

Die h-PHIP-Experimente und SABRE-SHEATH-Experimente zur  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -Verstärkung sind nach der Neuordnung weiterhin möglich. Die Ergebnisse nach der jeweiligen experimentellen Durchführung sind reproduzierbar, trotz des manuellen Transportes, der ein erhöhtes Potential hat, Messfehler zu erzeugen. Messfehler durch Transport werden durch die strikte Taktung des AU-Programm verhindert. Im Vergleich zu den Shuttle-Experimenten werden für die SABRE-Experimente geringere Verstärkungsfaktoren erreicht. Für die PHIP-Messungen hat sich der SOT auf  $^{13}\text{C}$  erhöht. Seit dem Umbau wurde keine weitere Schädigung am Probenkopf, Aufmagnetisierung des  $\mu$ -Metallschildes oder ein Absacken der Fallröhre mehr beobachtet.

## 5.4. Erweiterungen durch ein Benchtop-NMR-Spektrometer (1,4 T)

In diesem Kapitel wird kurz die Installation des 1,4 T BT-NMR zusammengefasst. Die aktuelle Apparatur wird zunächst kurz beschrieben, um einen Überblick über den gesamten Aufbau zu erhalten. Anschließend werden Ergebnisse von HP-Messungen unter Verwendung des BT-Spektrometers gezeigt und mit den Ergebnissen des HF-Spektrometers verglichen. Dabei wird sich auf die Ergebnisse des BT-Spektrometers fokussiert, da die Leistung des HF-Spektrometers im vorangegangenen Kapitel ausführlich beschrieben ist.

### 5.4.1. Überblick über die gesamte Apparatur

Die Apparatur wird nach der Installation des BT-NMR-Spektrometers so erweitert, dass die Aufnahme von HP-Experimenten auch mit dem BT-Spektrometer erfolgen kann. Der durch die Erweiterung neu entstehende Versuchsaufbau besteht aus fünf Abschnitten, die in Abbildung 40 schematisch dargestellt werden. Eine detaillierte Einzelbeschreibung zu jedem der Abschnitte und Bauteile befindet sich in Kapitel 7.3.

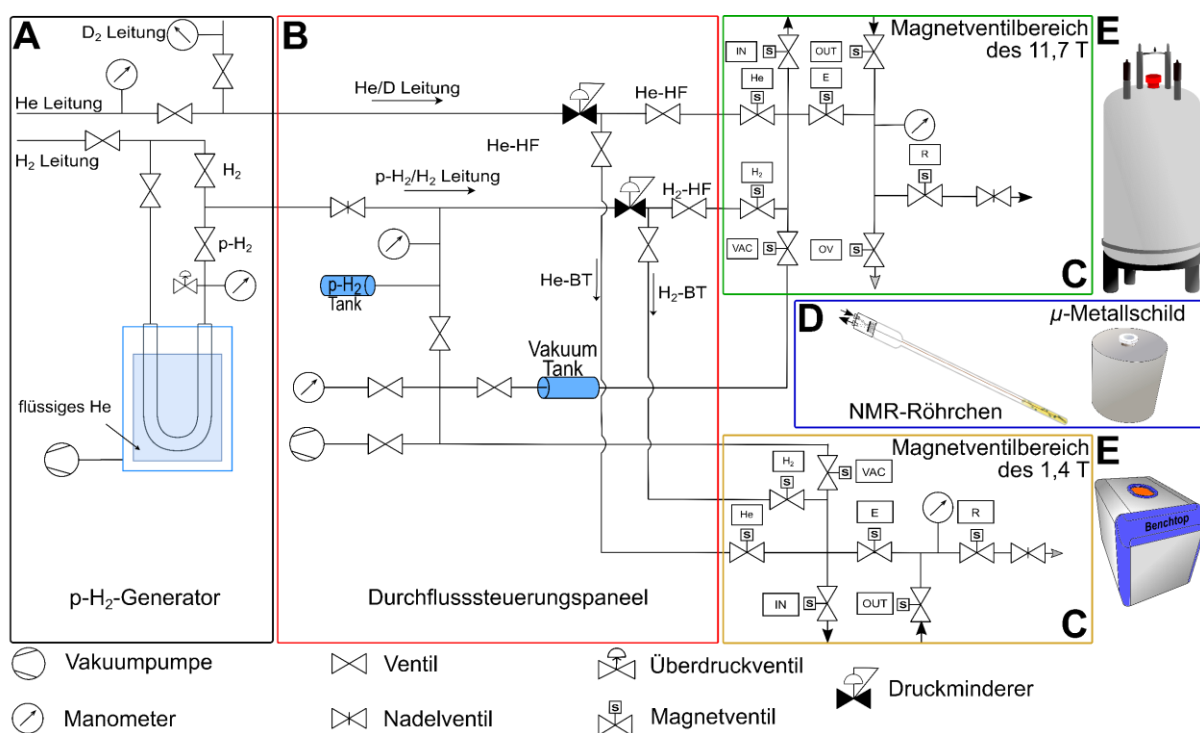


Abbildung 40: Schematische Darstellung des gesamten Versuchsaufbaus.

Der erste Teil (A) besteht aus den Gaseingängen ( $H_2$ ,  $D_2$ ,  $He$ ) und dem Parawasserstoffgenerator. Dieser Abschnitt ermöglicht die Auswahl des Reaktionsgases ( $p-H_2$  oder thermischer Wasserstoff) und die Wahl zwischen Helium als Inertgas oder  $D_2$ -Gas. Die Deuterium-Gasleitung wurde für Isotopenaustauschexperimente eingebaut. In diesem Abschnitt wird die Vorauswahl der zu verwendenden Gase getroffen und die jeweiligen Ventile für den Gasfluss eingestellt. Die Leitungen führen weiter in den zweiten Abschnitt, dem Durchflusssteuerungspaneel (B). Dieser Abschnitt enthält manuelle Ventile, um den Gasfluss und dessen Richtung zu kontrollieren. Die jeweiligen Wege werden durch die Wahl von

---

Wasserstoff, Inertgasversorgung und Spektrometer (11,7 T oder 1,4 T) bestimmt. Ebenso wird in diesem Bereich der Gasdruck eingestellt und abgelesen. Neben den Gasleitungen ist eine Vakuumleitung angeschlossen, die das Evakuieren des Generators und der Wasserstoffleitung ermöglicht. Auch von der Vakuumleitung führt jeweils eine Abzweigung zu den Spektrometern. Die Gas- und Vakuumleitungen können entweder zu einem oder gleichzeitig zu beiden NMR-Spektrometern geschaltet werden. Abschnitt drei (C) der Apparatur bilden die Magnetventilbereiche der jeweiligen Spektrometer. Hier werden die Gasleitungen zusammengeführt und durch Öffnen und Schließen der Magnetventile das Anlegen eines Gasflusses und Vakuums zum Probenröhrchen gesteuert. Um schnelle Schaltzeiten für bspw. eine hoch aufgelöste Reaktionskinetik zu erhalten, werden die Magnetventile vom jeweiligen Betriebsrechner des Spektrometers gesteuert. Abschnitt vier beinhaltet die Reaktionshardware (D), also das NMR-Röhrchen und das  $\mu$ -Metallschild. Das NMR-Röhrchen wird an flexible PTFE-Schläuche angeschlossen, welche wiederum über Magnetventile an die Hydrierungsapparatur angeschlossen sind. Damit ist es möglich die Probe während der Messungen mit p-H<sub>2</sub> zu versetzen, unabhängig davon, ob sie sich innerhalb eines Magneten oder innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes befindet. Das  $\mu$ -Metallschild befindet sich an einem zentralen Punkt, an dem es von beiden Spektrometern mit der an die Hydrierapparatur angeschlossen Probe erreicht werden kann. Der finale, fünfte Abschnitt umfasst die verwendeten NMR-Spektrometer (E), die beide ohne Modifikationen integriert werden.

### 5.4.2. <sup>1</sup>H-PHIP-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop-Spektrometer

Das BT-Spektrometer wird zunächst auf seine Einsatzfähigkeit für pH<sub>2</sub>-basierte Experimente validiert. Begonnen wird dabei mit den automatisierten PASADENA-Experimenten. Die Verwendung der automatisierten Magnetventile und die programmierte Schaltung kontrollieren die Hydrierung im Magneten und eröffnen die Möglichkeit Reaktionen ohne Verlust der Hyperpolarisation direkt zu vermessen. Zum Vergleich der Ergebnisse werden die Experimente an beiden Spektrometern durchgeführt. Dies ermöglicht einen Vergleich des Signal-Rausch-Verhältnisses und der Signalauflösung.

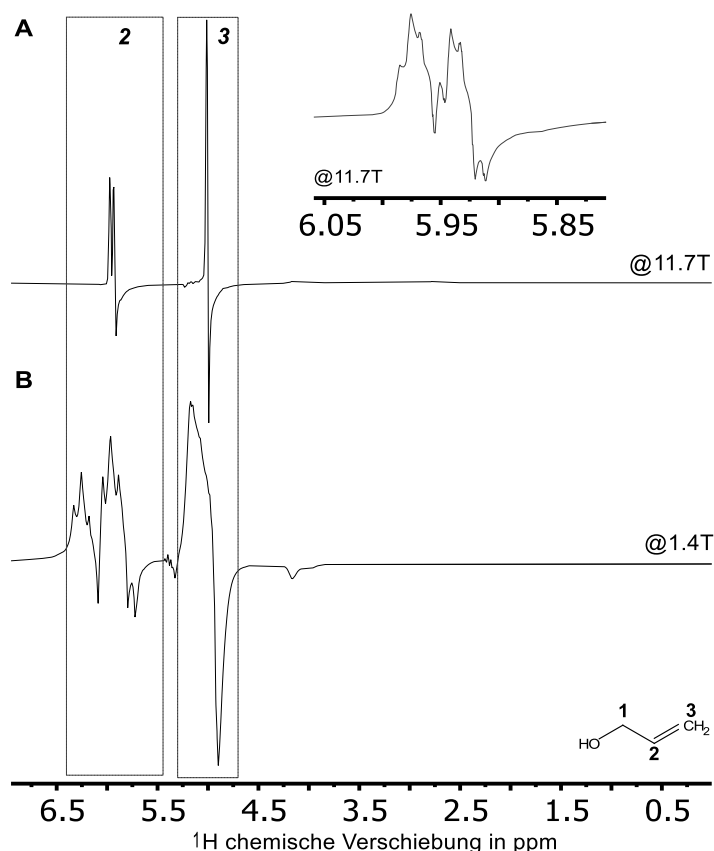


Abbildung 41: Beispielhafte Spektren von Protonen-PASADENA-Messungen in den 11,7 T- und 1,4 T-Magneten. Beide Spektren wurden mit einem einzigen Scan, nach einer Hydrierung der Probe, erfasst.

Abbildung 41 zeigt zwei typische Spektren, die nach einer Hydrierung in den jeweiligen NMR-Magneten beobachtet werden können. Das im 11,7 T-Magneten aufgenommene Spektrum weist ein SNR von 45000 auf (bei 5,1 ppm, FWHM: 10 Hz). Im Vergleich dazu weisen die im 1,4-T-Magneten gemessenen Signale bei ~5,1 ppm ein SNR von 18200 (FWHM: 12 Hz) auf. Die Linienbreite des BT-Spektrums, und die damit verbundene geringere Auflösung resultieren aus dem niedrigeren Magnetfeld (1,4 T). Die Linienform des Signals bei ~5,5-6,5 ppm ist in beiden Spektren ähnlich, wie an dem vergrößerten Ausschnitt des 11,7 T-Spektrums zu sehen ist.

Neben den Ein-Scan PASADENA-Experimenten zur Bestimmung von Signalverstärkungen ist die Aufnahme von Hydrierkinetik-Experimenten von Interesse. Es handelt sich dabei um zeitaufgelöste Experimente (Pseudo-2D). Die Hydrierung der Probe wird abhängig von der Hydrierzeit betrachtet. Durch diese Messungen kann beispielsweise die Reaktionsordnung einer

Hydrierung bestimmt oder die Veränderung im NMR-Spektrum während einer mehrstufigen Hydrierungsreaktionen beobachtet werden.<sup>[38]</sup> Durch Letzteres kann bspw. die Selektivität eines Katalysators bestimmt werden. Die genannten Messungen nutzen thermischen Wasserstoff. Wird ein Pseudo-2D-Experiment mit p-H<sub>2</sub> durchgeführt, können zudem Informationen über die optimale p-H<sub>2</sub> Zufuhrzeit erhalten werden. Dadurch wird das Zeitfenster bestimmt, in dem sich eine große Menge an Hyperpolarisation in der Probe aufgebaut hat, welche über SOT in messbare X-Kernpolarisation umgewandelt werden kann.

Im Folgenden wird ein solches Pseudo-2D-Experiment mit p-H<sub>2</sub> demonstriert. Die Steuerung der Hydrierungsreaktionen erfolgt über die von dem Computer des 1,4 T Spektrometer gesteuerten Magnetventile (Kapitel 7.3.7). Die Detektion der Reaktion erfolgt über (Pseudo-2D) <sup>1</sup>H-NMR-Messungen. Dabei wechselt sich die p-H<sub>2</sub> Zufuhr und die (Ein-Scan) <sup>1</sup>H-Messung ab. Nach der Auftragung der erhaltene Signalintegrale der PHIP-Signale des Allylkohols und der Propanolsignale gegen die Hydrierzeit, wird die in Abbildung 42A gezeigte Grafik erhalten. Anhand dieser Grafik kann die ideale Hydrierzeit bestimmt werden. Zusätzlich wird eine Abschätzung der kinetischen Ordnung ermöglicht.

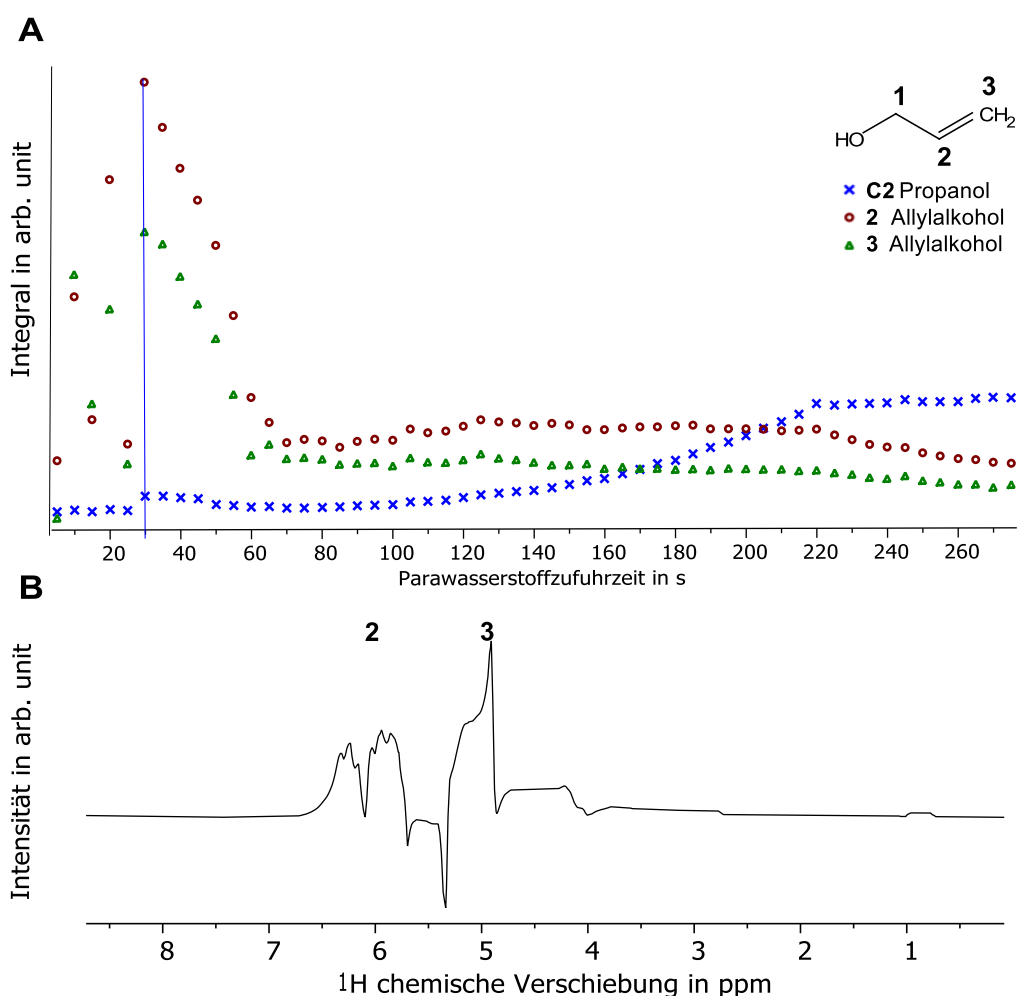


Abbildung 42: (A) zeigt die Ergebnisse der Signalintensität der NMR-gestützten Reaktionsverfolgung einer mehrstufigen Hydrierungsreaktion von Propargylalkohol zu Propanol über Allylkohol, aufgetragen gegen die verwendete Hydrierungszeit zwischen den Messungen. (B) Beispielhaftes Spektrum, welches nach 30 s Hydrierzeit am Signalmaximum aufgenommen wurde. Das Maximum wird in A nochmal mittels einer Hilfslinie angezeigt.



---

Technisch bedingt wird nach jeder Gaszufuhr eine kurze Totzeit eingebaut, um den letzten entstehenden Gasblasen Zeit zu geben, aus der Lösung zu entweichen und die Homogenität des Magnetfeldes wiederherzustellen. Diese Zeit von zwei Sekunden ist ein Erfahrungswert und in der Regel ausreichend lang. In seltenen Fällen bleiben jedoch einige Gasblasen zurück, die starke Verzerrungen der Linienform zufolge haben. Dies führt zu Abweichungen im Trend des Graphen. Dieses Phänomen kann in Abb. 42A nach 15 s und 25 s beobachtet werden. Für eine Bestimmung der Kinetik würden diese Punkte nicht berücksichtigt werden. Der erkennbare Verlauf der Integrale des Allylkoholsignals zeigt den Verlauf einer Reaktion erster Ordnung. Diese ist typisch für den Abbau des Substrates bei Folgereaktionen. Genauer liegt hier erneut eine Reaktion pseudo erste Ordnung vor (siehe Kapitel 5.1.1).

Anhand von Abbildung 42A kann ebenfalls abgelesen werden, dass das Signalmaximum des  $^1\text{H}$ -Allylkoholsignals nach einer  $p\text{-H}_2$ -Zufuhrzeit von insgesamt 30 s auftritt. Abbildung 42B zeigt das Spektrum am Signalmaximum. Die Antiphasen-PHIP-Signale des Allylkohols (5,9 ppm, 5,1 ppm) dominieren das Spektrum. Im Signalmaximum beträgt das SNR des Signals (5,1 ppm) etwa 7510. Nach dem Signalmaximum beginnt die Intensität der HP-Signale abzunehmen und sich einem konstanten Wert anzunähern. Die Signalintensität von Propanol beginnt zu steigen, was einen Konzentrationsanstieg des Endproduktes bedeutet. Die Messung wird nach über 260 s gesamter  $p\text{-H}_2$ -Zufuhrzeit beendet, da die prinzipielle Überprüfung der Funktionsfähigkeit des BT-Spektrometers abgeschlossen und das Maximum an Signalintensität überschritten ist.

Ein großes Signalintegral weist auf einen hohen Reaktionsumsatz in der vorgegebenen Zeiteinheit hin und ist ein Indikator für eine große Menge an polarisiertem Produkt in der Probe. Dies stellt eine Bedingung für ein MFC-SOT-Experimente dar. Des Weiteren sollte die  $p\text{-H}_2$ -Zufuhrzeit so kurz wie möglich sein, um einen Polarisationsverlust zu vermeiden. Gleichzeitig sollte sie lang genug für einen ausreichenden Reaktionsumsatz sein, jedoch nicht zu lang, um Neben- und Folgereaktionen zu vermeiden. Daher gibt in diesem Beispiel das Signalmaximum von 30 s (Abbildung 42A) die optimale  $p\text{-H}_2$ -Zufuhrzeit an.

### 5.4.3. $^{13}\text{C}$ -PHIP-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop Spektrometer

In diesem Abschnitt werden die erhaltenen Ergebnisse von MFC-SOT-gestützten  $^{13}\text{C}$ -Experimenten mit der Aufnahme im BT-Spektrometer gezeigt und diskutiert. Die Hyperpolarisation der  $^{13}\text{C}$ -Kerne soll es ermöglichen, im BT-Spektrometer trotz geringer Konzentration und natürlicher Häufigkeit auswertbare Spektren in kurzer Zeit messen zu können.

Mit dem aktuellen Aufbau (Abbildung 40) sind verschiedene Varianten zur magnetischen Feldänderung möglich. Die erste Variante der Feldvariation bedient sich des natürlichen Streufeldes um das BT-Spektrometer (Labor-MFC). In der Labor-MFC-Variante wird die Probe automatisiert hydriert, allerdings innerhalb des Streufeldes des 11,7T, weshalb dessen Magnetventilbereich verwendet wird. Anschließend wird die Probe zum 1,4 T-Magneten transportiert. Dabei durchläuft die hydrierte Probe unterschiedliche Magnetfelder vor der Messung. Im verwendeten Feldprofil (Abbildung 43) fällt das Magnetfeld von 25 mT ab und durchschreitet den Bereich des Erdmagnetfeldes ( $20\ \mu\text{T}$ ), um anschließend auf 1,4 T innerhalb des BT-Spektrometers anzusteigen.

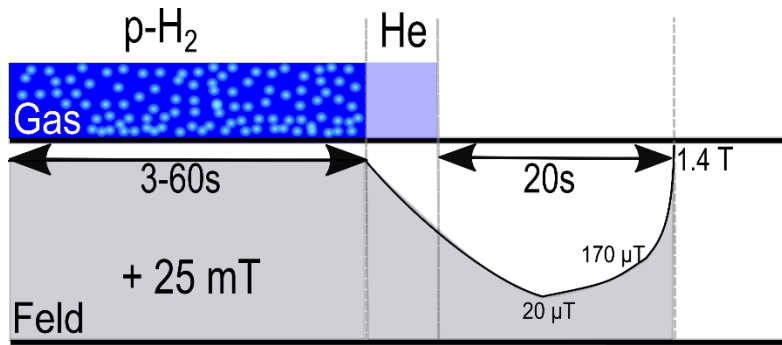


Abbildung 43: Darstellung der unterschiedlichen Magnetfelder und parallel ablaufenden automatisierten Gasströme, die vor der Detektion durchlaufen werden.

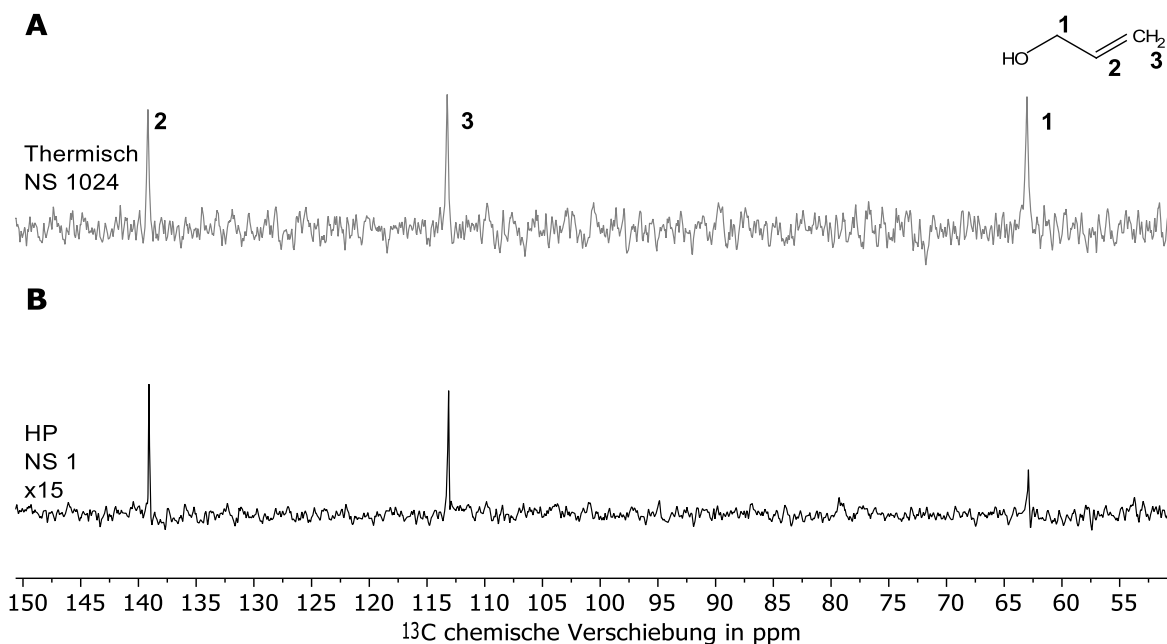


Abbildung 44: Spektrum A zeigt ein thermisches  $^{13}\text{C}$ -Spektrum von Allylalkohol mit 1024 Scans als externe Referenz, gemessen als  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Experiment bei 1,4 T. Hyperpolarisiertes  $^{13}\text{C}$ -Spektrum von Allylalkohol (B), erhalten nach Durchführung einer Hydrierung (30 s) und einem SOT nach mit dem Labor-MFC, gefolgt von einer Ein-Scan  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messung bei 1,4 T. Beide Proben wurden in Aceton- $d_6$  aufgenommen.

Abbildung 44A zeigt das Spektrum einer Allylalkoholprobe nach 1024 Scans. Das hyperpolarisierte  $^{13}\text{C}$ -Spektrum in Abbildung 44B kann nach einem einzigen Scan erhalten werden. Die detektierten Signale können alle dem Reaktionsprodukt Allylalkohol zugeordnet werden. Es können keine Lösungsmittelsignale nachgewiesen werden, da sie im Zeitrahmen der Reaktion keine ausreichende thermische Polarisation erfahren. Zur Bestimmung der Verstärkung kann das in A gemessene Signalintegral als externer Standard verwendet werden. Unter der Annahme eines vollständigen Probenumsatzes während der Hydrierung kann für  $\epsilon$  ein Wert von 41 berechnet werden. Dies stellte eine Untergrenze dar, da zunächst keine Aussagen über den Umsatz getätigt werden können. Der Verstärkungsfaktor  $\epsilon$  ergibt eine  $^{13}\text{C}$ -Polarisation von  $4,8 \cdot 10^{-3} \%$ , die thermische Polarisation wäre  $1,2 \cdot 10^{-4} \%$ . Das SNR entspricht 8,26. Wie es für  $^{13}\text{C}$  in natürlicher Häufigkeit und geringer Konzentration zu erwarten ist, kann ein thermisches Spektrum der hydrierten Probe weder in einem einzigen Scan, noch in einer

---

angemessenen Zeitspanne aufgenommen werden. Eine PHIP-<sup>13</sup>C-Messung, welche hyperpolarisierte <sup>13</sup>C-Signale detektiert, benötigt inklusive des Transfers etwa eine Minute. Die Messung der Standardlösung hat bereits 6 h 36 min in Anspruch genommen. Damit wurde durch die Apparatur und den Labor-MFC bereits mindestens 6 h 35 min eingespart. Das ist allerdings nur ein Minimum, da bei dieser groben zeitlichen Betrachtung die unterschiedliche Konzentration an Allylalkohol in der Probe vernachlässigt wird.

Die geringere Empfindlichkeit des BT-Spektrometers zeigt in der vorangegangenen Messung den positiven Effekt, dass in einer Ein-Scan-Messung nur die hyperpolarisierten Signale detektiert werden. Dies vereinfacht die Signalzuordnung.

Die Nutzung des Labor-MFC geht jedoch mit einigen Einschränkungen einher. Das "natürliche" Magnetfeld der Umgebung muss bekannt sein und zufällig die Bedingungen für einen LAC in der Probe erfüllen. Für einige Moleküle ist jedoch ein Magnetfeld im ZULF-Bereich erforderlich. Zusätzlich erfolgt die Hydrierung bei dem Labor-MFC über den Magnetventilbereich des 11,7 T-Spektrometers, weshalb die Probe vor der Messung noch von diesem getrennt werden muss, was zusätzlich Zeit kostet und die Wasserstoff- oder Schutzgasatmosphäre unterbricht.

Die genannten Einschränkungen werden umgangen, wenn der durch die am 11,7 T-Spektrometer durchgeführten Transferversuche bekannte ZULF-MFC und das bereits vorhandenen  $\mu$ -Metallschild verwendet werden. Die Hydrierexperimente und der Polarisationstransfer erfolgen dabei computergesteuert. Durch die Verwendung des neuen Magnetventilbereiches des 1,4 T-Magneten entfällt das zwischenzeitliche Abkoppeln der Probe von der Hydrierapparatur und die Wasserstoff- oder Schutzgasatmosphäre bleibt während der gesamten Messung erhalten. Durch den kontrollierbaren ZULF-MFC wird erwartet, dass auch im BT-Spektrometer <sup>13</sup>C-Messungen von Molekülen wie bspw. DiMeADC oder Thiourea möglich sind. Für die Überprüfung der Technik wird auf den bereits als Standard etablierten MFC zurückgegriffen (Abbildung 31). Dieser deckt zunächst einen möglichst großen Bereich an Magnetfeldern nahe null Tesla ab. Zum Vergleich zwischen BT- und Hochfeld-Spektrometer wird der ZULF-MFC verwendet, um Messungen von hyperpolarisierten <sup>13</sup>C-Spektren an beiden Spektrometern zu ermöglichen. Dabei wird jeweils der zugehörige Magnetventilbereich und Spektrometercomputer für die Steuerung verwendet. Abbildung 45 veranschaulicht exemplarisch die erhaltenen Ergebnisse.

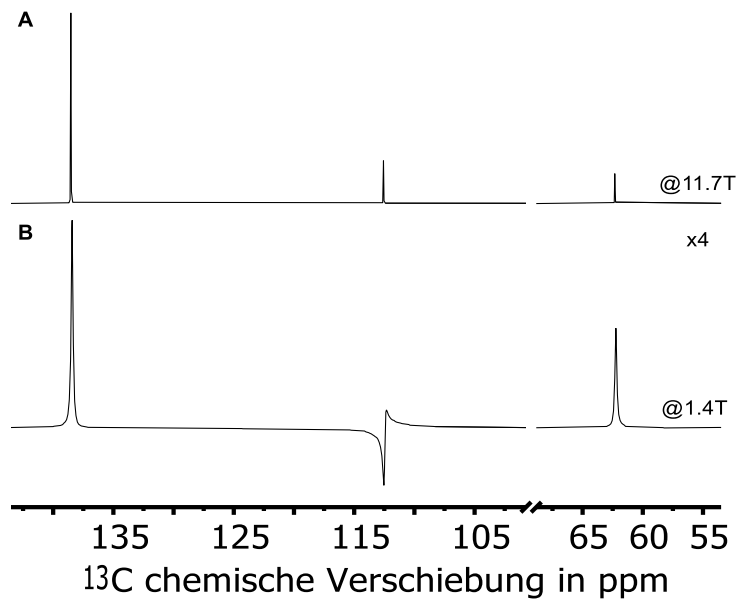


Abbildung 45:  $^{13}\text{C}$ -Spektren nach Durchführung je eines MFC-SOT-Experiments, aufgenommen bei 11,7 T (A) und 1,4 T (B). Alle Spektren wurden in einem Ein-Scan  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Experiment gemessen. Die Experimente erfolgten in Aceton- $\text{d}_6$  unter Anwesenheit von PHIP-Kat.

Abbildung 45 zeigt die Ergebnisse von  $^{13}\text{C}$ -Messungen, die mit dem ZULF-MFC durchgeführt wurden. Die Spektren wurden je einmal bei 11,7 T (A) und einmal bei 1,4 T (B) aufgenommen. Die Messung bei 11,7 T zeigte ein hyperpolarisiertes Signal bei 140 ppm mit einem SNR von 500. Der berechnete Verstärkungsfaktor  $\epsilon$  beträgt 585, was einer Zeitersparnis von 8 Monaten und einer Polarisation von 0,59 % entspricht. Die Messung bei 1,4 T ergibt  $\epsilon = 2071$  für das gleiche Signal (Zeitersparnis von 8 Jahren) und entspricht einer Polarisation von 0,24 %. Der Verstärkungsfaktor innerhalb des 1,4 T-Magnetfelds wird anhand einer externen Standardmessung von Allylalkohol berechnet (Abbildung 44A). Der beobachtbare SNR für das Signal bei 140 ppm beträgt hier 110.

Die beiden gezeigten MFC-Techniken werden am Anwendungsbeispiel von DiMeADC wiederholt. Nachfolgend werden beispielhaft zwei der erhaltenen Messungen gezeigt.

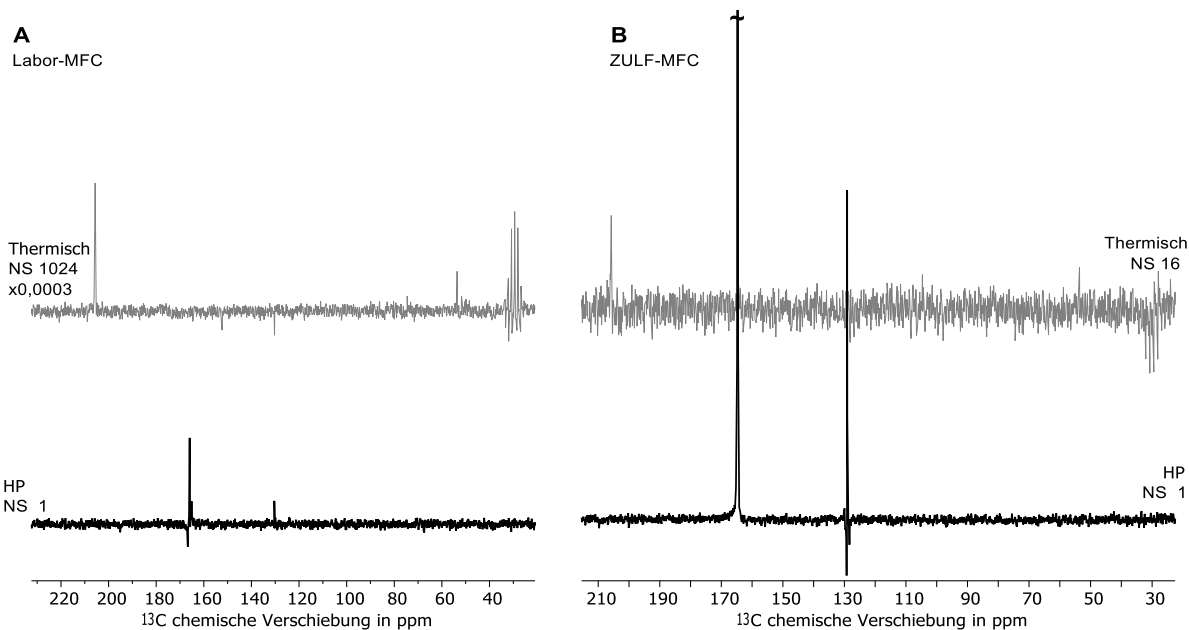


Abbildung 46:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Hydrierung von DiMeADC nach dem SOT zur Verstärkung von  $^{13}\text{C}$ -Signalen mittels (A) einem Labor-MFC und (B) einem ZULF-MFC. Beide HP-Spektren stehen im direkten Vergleich zu einem thermischen Spektrum der Messreihe zur Ermittlung der Verstärkung. Die Experimente wurden in Aceton- $d_6$  in Anwesenheit des PHIP-Katalysators durchgeführt.

Abbildung 46A zeigt das hyperpolarisierte  $^{13}\text{C}$ -Spektrum nach einem Scan, das durch die Verwendung des Labor-MFC erhalten werden kann. Das SNR beträgt 20. Die Signalverstärkung anhand des Signals bei 130 ppm im hyperpolarisierten und im thermischen Spektrum wird zu einem Faktor von 3 bestimmt. Wird das thermische Lösungsmittelsignal als interner Standard verwendet, kann eine Verstärkung von 2 bestimmt werden. Mit beiden Techniken zur Ermittlung des Verstärkungsfaktors befindet sich der erhaltene Wert im gleichen Größenbereich. Abbildung 46B zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Spektrum, welches nach dem ZULF-MFC erhalten werden konnte. Das SNR hat sich mit 327 mehr als verzehnfacht. Die Signalverstärkung gegen das Lösungsmittel als internen Standard ergibt sich zu einem Faktor von 148, was einer theoretischen Zeitersparnis von ca. 15 Tagen entspricht.

Beide MFC-Techniken ermöglichen die Detektion von hyperpolarisierten  $^{13}\text{C}$ -Signalen mit dem BT-Spektrometer. In beiden HP-Spektren können ausschließlich Signale des hyperpolarisierten Produkts detektiert werden. Im Vergleich zwischen A (Labor-MFC) und B (ZULF-MFC) zeigt der Labor-MFC, dass eine einfache Messung auch ohne  $\mu$ -Metallschild möglich ist. Der ZULF-MFC zeigt jedoch eine deutlich höhere Verstärkung, ein größeres SNR und damit für den gleichen zeitlichen Aufwand die besseren Ergebnisse bezüglich des SNRs.

Ähnlich wie für Propargylalkohol zeigen die unterschiedlichen Techniken ebenfalls, dass der SOT, je nach verwendeter MFC-Technik, unterschiedliche  $^{13}\text{C}$ -Kerne stärker hyperpolarisiert. Zu erkennen ist dies daran, dass in A das Signal bei 130 ppm In-Phase ist, wohingegen dies bei B in Antiphase erscheint. Der an der Hydrierung unbeteiligte  $^{13}\text{C}$ -Carbonylkohlenstoff wird durch den ZULF-MFC deutlich verstärkt. Dies ist beim Labor-MFC nicht zu beobachten. Der Transfer hat damit beim ZULF-MFC über zwei Bindungen stattgefunden.

#### 5.4.4. $^{13}\text{C}$ -SABRE-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop Spektrometer

Zum vollständigen Vergleich der beiden Spektrometer werden die  $^{13}\text{C}$ -SABRE-SHEATH-Experimente im 1,4 T Magnetfeld durchgeführt. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse des Anwendungsbeispiels von SABRE-SHEATH-Experimenten an Thiourea gezeigt.

Die erfolgreiche PHIP-Verstärkung lässt darauf schließen, dass auch Verstärkungen der NMR-Signale im BT-Spektrometer mit SABRE-SHEATH möglich sind, da sich die experimentelle Durchführung sehr ähnelt. Deshalb wird ein SABRE-SHEATH-Experiment an einer Thioureaprobe im statischen nahe-Nullfeld durchgeführt. Diese Probe wurde bereits am 11,7 T-Spektrometer getestet (Kapitel 5.3.3, Abb. 37). Da im Benchtop-NMR-Spektrometer die Aufnahme eines adäquaten thermischen  $^{13}\text{C}$ -Spektrums der Probe nicht möglich war, wurde eine Standardprobe von Thiourea mit einer Konzentration von 1970 mM in Methanol- $\text{d}_4$  vermessen, um einen Vergleich zu ermöglichen und um eine Verstärkung errechnen zu können. In Abbildung 47 wird dieses thermische  $^{13}\text{C}$ -Spektrum dargestellt, darunter wird das  $^{13}\text{C}$ -Spektrum der hyperpolarisierten Thioureaprobe gezeigt.

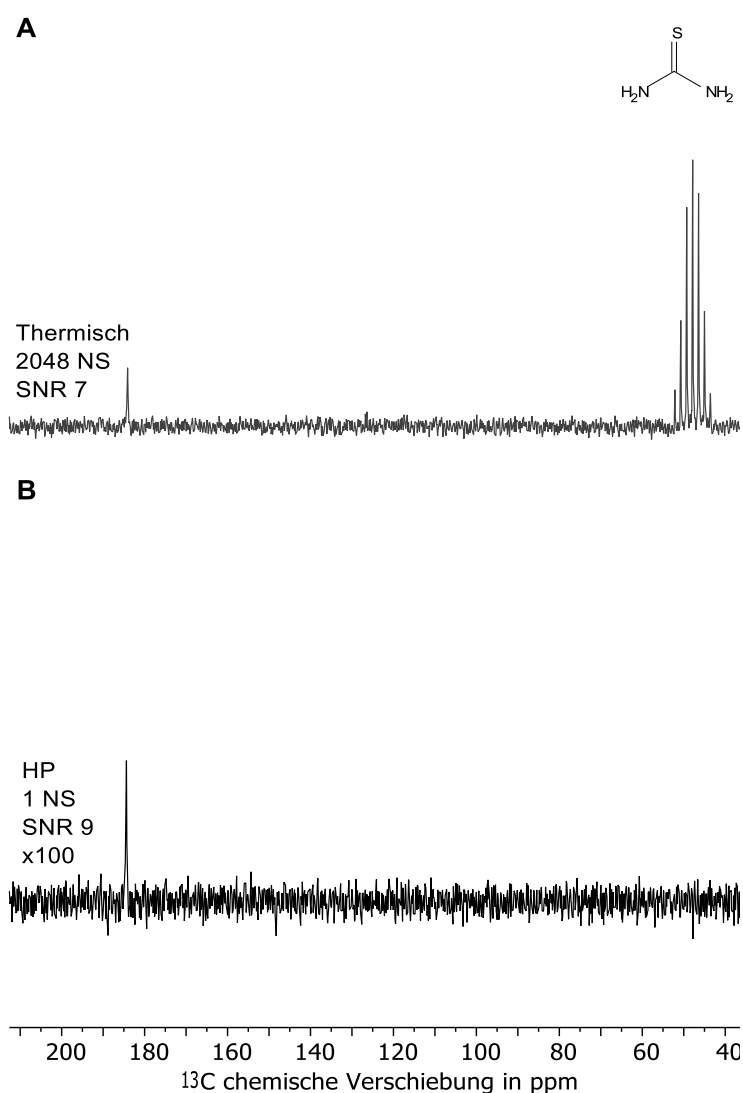


Abbildung 47: Vergleich eines thermischen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums von einer hochkonzentrierten Thioureaprobe (A), mit dem  $^{13}\text{C}$ -Spektrum von Thiourea nach einem SABRE-SHEATH-Experiment (B). Die p- $\text{H}_2$ -Zufuhr erfolgt für 60 s bei 0,9  $\mu\text{T}$ . Alle Spektren wurden am BT-Spektrometer in Methanol- $\text{d}_4$  aufgenommen.

In Abbildung 47A kann selbst für die Standardprobe ein  $^{13}\text{C}$ -Signal von Thiourea detektiert werden. Die Ergebnisse des Vergleiches zwischen dem hyperpolarisierten Signal und dem Signal der Standardprobe können Tabelle 10 entnommen werden.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$  und der HP in % und der theoretischen Zeitersparnis.

	<b>180 ppm</b>
<b><math>\epsilon</math></b>	182
<b>HP in %</b>	0,021
<b>Zeitersparnis in min</b>	33375
<b>Zeitersparnis in Tagen</b>	23

Die Ermittlung eines Verstärkungsfaktors von 182 war nur durch die Gewichtung gegen die externe Standardprobe von Thiourea (A) möglich. Diese ist mit 1970 mM deutlich höher konzentriert und benötigte über 2048 Scans, was einer Messzeit von 24,5 h entspricht. Das gesamte SABRE-SHEATH-Experiment hat weniger als zwei Minuten gedauert. Durch die Kalkulation im Vergleich zur hochkonzentrierten Standardprobe wird allerdings nicht der tatsächliche Verstärkungsfaktor abgebildet, sondern eine untere Grenze der Verstärkung geschätzt.

#### 5.4.5. $^{15}\text{N}$ -SABRE-Experimente, aufgenommen mit dem Benchtop-Spektrometer

Nach der Einbindung des BT-Spektrometers in die Apparatur und der Detektion von einigen hyperpolarisierten  $^{13}\text{C}$ -Signalen, ist die Detektion von  $^{15}\text{N}$ -Signal von Interesse. Aufgrund der geringen Sensitivität von  $^{15}\text{N}$ -Kernen, in Kombination mit der geringen Sensitivität des BT-Spektrometers, werden zunächst nur Messungen mit  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Pyridin durchgeführt. Das  $^{15}\text{N}$ -Spektrum von Pyridin ist in einem nicht  $^1\text{H}$ -entkoppelten  $^{15}\text{N}$ -NMR-Experiment ein charakteristisches Triplet bei circa 300 ppm. Die Durchführung von SABRE-SHEATH-Experimenten sollte zudem ein weiteres Signal erzeugen, welches dem gebundenen Pyridin zugeordnet werden kann. Anhand dieser Signale kann, unabhängig von der chemischen Verschiebung, Pyridin identifiziert werden. Der SOT-Transfer wird durchgeführt, indem die Hydrierung in einem statischen Magnetfeld im ZULF-Regime ( $0,46 \mu\text{T}$ ) erfolgt.

Nachfolgende Abbildung 48 zeigt die thermischen  $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektren einer Probe von  $^{15}\text{N}$ -Pyridin im Vergleich zu den Ergebnissen von SABRE-SHEATH-Experimenten der gleichen Probe gemessen bei 1,4 T.

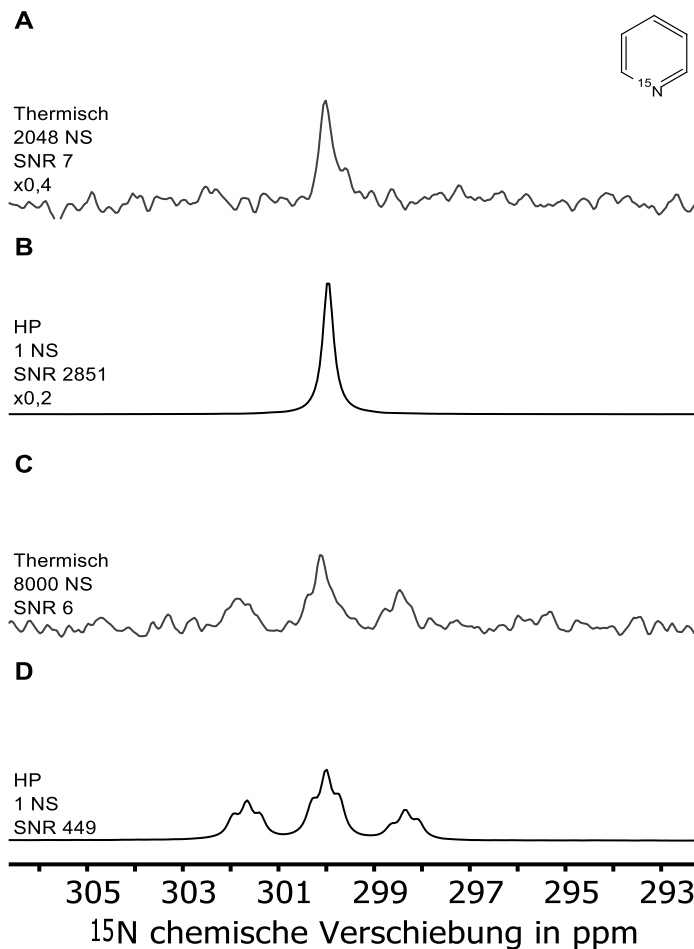


Abbildung 48: Gezeigt wird in A das  $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer thermisch polarisierten  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe nach 2048 Scans. B zeigt das  $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum der gleichen Probe, das mit einem Scan aufgenommen wurde, nach Durchführung eines SABRE-SHEATH-Experiments (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei 0,46  $\mu\text{T}$ ). C zeigt das  $^{15}\text{N}$ -Spektrum der thermischen polarisierten  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe ohne  $^1\text{H}$ -Entkopplung nach 8000 Scans. D zeigt das  $^{15}\text{N}$ -Spektrum der gleichen Probe nach der Hyperpolarisation durch SABRE-SHEATH (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei 0,46  $\mu\text{T}$ ). Alle Messungen wurden in Methanol- $\text{d}_4$  bei 1,4 T aufgenommen.

In Abbildung 48A wird ein  $^1\text{H}$ -entkoppeltes thermisches Spektrum einer  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe dargestellt. Die Aufnahme erfolgte nach 2048 Scans bei 1,4 T. Die Aufnahme eines Spektrums mit thermisch polarisiertem  $^{15}\text{N}$  brauchte 12 h 19 min. In Abbildung 48C wird ein nicht- $^1\text{H}$ -entkoppeltes thermisches Spektrum der  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe dargestellt. Die Aufnahmen war mit 8000 Scans und einer Messzeit von rund 48 h erfolgreich. Die jeweiligen thermischen Messungen werden für die Ermittlung der Verstärkungsfaktors herangezogen. Die SABRE-SHEATH-Experimente (B und D) mit 30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei 0,46  $\mu\text{T}$  benötigten mit anschließenden Eins-Scan-NMR-Aufnahmen jeweils unter eine Minute. Die  $^{15}\text{N}$ -Spektra zeigen Signale von hyperpolarisiertem  $^{15}\text{N}$ -Pyridin, dabei ist es unabhängig, ob die Messung mit oder ohne  $^1\text{H}$ -Entkopplung aufgenommen wird. Beide Messungen erfolgen mit einem Scan. Das nicht  $^1\text{H}$ -entkoppelte  $^{15}\text{N}$ -Spektrum zeigt ein Signal mit einem SNR von 2851 und damit eine sehr gute Spektrenqualität.

Die Signaldetektion nach einem einfachen  $\frac{\pi}{2}$ -Puls (ohne  $^1\text{H}$ -Entkopplung) resultiert in einem  $^{15}\text{N}$ -Spektrum mit einem SNR von 449 für den zentralen Peak und einem Signal mit auswertbarer Hyperfeinstruktur. Die Kopplungskonstanten werden zu 10 Hz und 1,9 Hz ( $J_{\text{NH}}$ )



ausgemessen. In beiden Spektren (B und D) kann das Signal für Ir-IMES koordiniertes Pyridin detektiert werden, die vollständigen Spektren werden im Anhang Abbildung 70 gezeigt. Nachfolgende Tabelle 11 fasst die errechneten Verstärkungen verglich zu dem Spektrum nach thermischer Polarisation A und B, sowie die errechnete Polarisation in % und die tatsächliche Zeitersparnis zusammen.

Tabelle 11: Zusammenfassung der Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$  und der HP in % und der tatsächlichen Zeitersparnis.

	<b>B</b>	<b>D</b>
<b><math>\epsilon</math></b>	4797	10406
<b>HP in %</b>	0,2	0,5
<b>Zeitersparnis in min</b>	738	2884
<b>Zeitersparnis in h</b>	12 h18 min	48 h04 min

Die Hyperpolarisationsexperimente ermöglichen eine Polarisation von 0,2 % auf dem  $^{15}\text{N}$ -Kern der  $^1\text{H}$ -Entkoppelten Messung. Thermisch polarisierte  $^{15}\text{N}$ -Kerne erreichen bei 1,4 T in der Regel eine Polarisation von  $4,6 \cdot 10^{-5}\%$ .

Aufgrund der geringen natürlichen Häufigkeit von  $^{15}\text{N}$  und der verringerten Sensitivität innerhalb des 1,4 T-Magneten wird nicht erwartet, dass eine Messung ohne Isotopenmarkierung ein  $^{15}\text{N}$ -Signal ergibt. Dennoch wird zur Kontrolle eine Probe gleicher Konzentration angesetzt mit nicht- $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkiertem Pyridin. Die Messungen werden analog wiederholt. Abbildung 49A und C zeigen die  $^{15}\text{N}$ -Spektren der  $^{15}\text{N}$ -markierten Probe als Messung des externen Standards. Die Aufnahme von  $^{15}\text{N}$ -Spektren mit thermische polarisierten, nicht-markierten Proben innerhalb von 48 h ist erwartungsgemäß nicht möglich. Die Spektren B und D zeigen die erhaltenen  $^{15}\text{N}$ -Spektren nach den SABRE-SHEATH-Experimenten. Die in Tabelle 12 aufgelisteten Verstärkungen werden berechnet zwischen einer isotopenmarkierten und einer nicht-isotopenmarkierten Probe. Die unterschiedlichen Häufigkeiten, mit denen die  $^{15}\text{N}$ -Kerne in den Proben vorhanden sind, müssen für die Berechnung der Signalverstärkung beachtet werden. Weiter fasst die Tabelle auch die errechnete Polarisation in % und die tatsächliche Zeitersparnis zusammen.

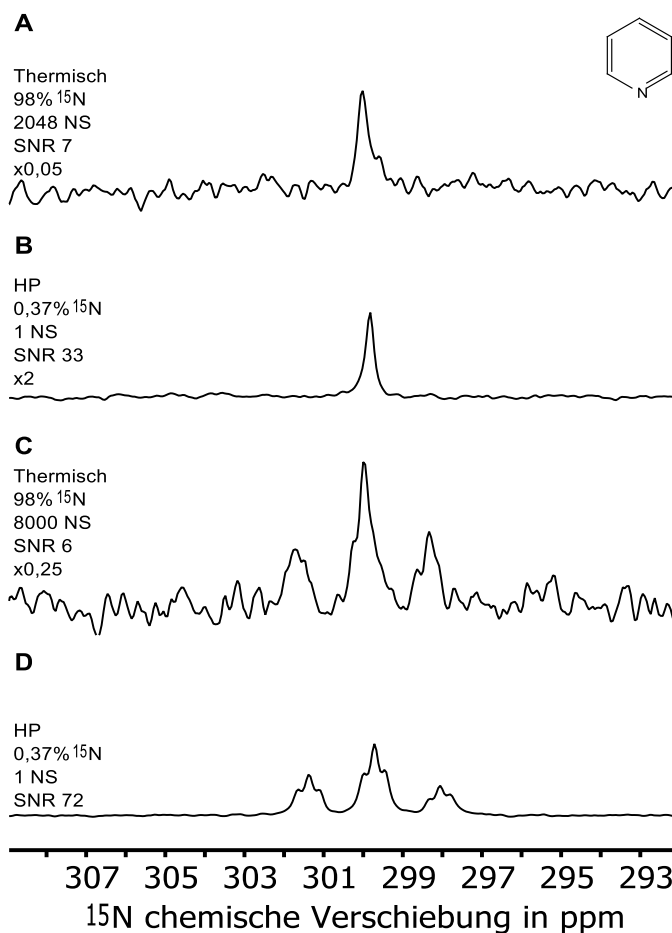


Abbildung 49: Gezeigt wird in A das  $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer thermisch polarisierten  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe nach 2048 Scans. B zeigt das  $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer nicht- $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Pyridinprobe gleicher Konzentration, nach einem Scan und vorheriger Durchführung eines SABRE-SHEATH-Experiments (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei 0,46  $\mu\text{T}$ ). C zeigt das  $^{15}\text{N}$ -Spektrum der thermische polarisierten  $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe ohne  $^1\text{H}$ -Entkopplung nach 8000 Scans. D zeigt das  $^{15}\text{N}$ -Spektrum der nicht- $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Pyridinprobe nach Hyperpolarisation durch SABRE-SHEATH (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei 0,46  $\mu\text{T}$ ). Alle Messungen wurden in Methanol- $\text{d}_4$  bei 1,4 T aufgenommen.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Verstärkungsfaktoren  $\epsilon$  und der HP in % und der tatsächlichen Zeitersparnis.

	<b>B</b>	<b>D</b>
<b><math>\epsilon</math></b>	9937	317855
<b>HP in %</b>	0,5	14,7
<b>Tatsächliche Zeitersparnis in min</b>	738	2884
<b>Tatsächliche Zeitersparnis in h</b>	12 h18 min	48 h04 min

Entgegen der Erwartung war es möglich durch den Polarisationstransfer eine Hyperpolarisation auf dem  $^{15}\text{N}$ -Kern zu erzeugen, sodass auch eine nicht-isotopenmarkierte Probe in einem einzigen Scan ein  $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum mit einem SNR von 33 erzeugt. Durch die Hyperpolarisation war es auch möglich einen einfachen  $\frac{\pi}{2}$ -Puls (ohne  $^1\text{H}$ -Entkopplung) zu verwenden, um ein  $^{15}\text{N}$ -Spektrum zu erhalten, das die Hyperfeinstruktur von Pyridin vollständig

---

zeigt, mit einem SNR von 72 bezüglich des höchsten Peaks der Feinstruktur. Der erhaltene hohe Wert für die Signalverstärkung und die Polarisierung übersteigt deutlich den erwarteten Wert. Da keine Messungen der thermischen relaxierten Probe vorliegen, sind diese Verstärkungsfaktoren und Polarisierung nur grobe Abschätzungen, welche durch die geringe Konzentration an  $^{15}\text{N}$  in Proben mit natürlicher Häufigkeit stark fehlerbehaftet sind.

#### 5.4.6. Zusammenfassung

Die Magnetventile werden analog zum 11,7 T-Spektrometer ebenfalls über den Steuerrechner des BT-Spektrometers angesteuert. Durch die damit möglichen kurzen Zeiten zwischen den Hydrierungen und den Messungen werden PASADENA-Experimente genauso für das BT-Spektrometer möglich, wie für das HF-Spektrometer. Die erhaltenen spektralen Auflösungen und Signalverstärkungen sind vergleichbar mit denen des HF-Spektrometers. Wie bei einem geringeren Feld zu erwarten war, fällt das Signal-zu-Rausch-Verhältnis schwächer aus und die Linienform ist leicht verbreitert, dennoch sind die Signale eindeutig zuordbar. Selbst bei einer Ein-Scan-PASADENA-Messung ist es möglich die Feinstruktur der Signale aufzulösen. Durch die Automatisierung der Messung sind auch pseudo-zweidimensionale Experimente möglich. Diese wurden am Beispiel eines zeitlichen Verlaufs einer Hydrierung von Propargylalkohol mit Parawasserstoff gezeigt. Das Experiment wurde im gezeigten Kontext primär verwendet, um eine optimale p-H<sub>2</sub>-Zufuhrzeit zu ermitteln. Dazu erfolgt eine Auftragung der bestimmten Integrale gegen die Summe der jeweils verwendeten Hydrierzeit. Das Maximum des erhaltenen Verlaufs gibt eine Hydrierzeit, in welcher ein hoher Anteil an hydriertem Produkt in der Probe detektiert werden kann. In einem folgenden Ein-Scan  $^{13}\text{C}$ -Experiment wurde die optimierte Hydrierzeit verwendet, um eine möglichst große Menge an Hyperpolarisation in der Probe zu erzeugen, welche über einen SOT in  $^{13}\text{C}$ -Polarisation umgewandelt wurde. Für den Transfer auf X-Kerne wird zunächst ein MFC getestet, der durch das Streufeld des 11,7 T Magneten und das Erdmagnetfeld bestimmt wird. Das erreichte minimale Magnetfeld im Labor-MFC beträgt 20  $\mu\text{T}$ . Für die verwendete Propargylalkoholprobe können durch diesen MFC bereits hyperpolarisierte  $^{13}\text{C}$ -Signale des ersten Hydrierungsprodukts (Allylalkohol) detektiert werden. Der Vergleich zu einem thermischen Spektrum derselben Probe ist nicht möglich, da hierfür in der verwendeten Zeit keine  $^{13}\text{C}$ -Signale detektiert werden konnten. Stattdessen wird eine Standardprobe von Allylalkohol zur Ermittlung des Verstärkungsfaktors verwendet. Dieser erreicht einen Wert von 41, was einer Polarisierung von  $4,8 \cdot 10^{-3} \%$  entspricht. Ein reguläres thermisches  $^{13}\text{C}$ -Spektrum, gemessen bei 1,4 T, erreicht eine Polarisierung von  $1,15 \cdot 10^{-4} \%$ .

Die Neupositionierung des  $\mu$ -Metallschildes in Reichweite beider Spektrometer ermöglicht die Verwendung von ZULF-basierten, computergesteuerten MFCs für den SOT auf X-Kerne. Für diese Experimente erfolgt die Hydrierung in einem geringen Magnetfeld. Der anschließende MFC hat ein Minimum im ZULF-Regime. Das  $^{13}\text{C}$ -Probenspektrum (Abbildung 45) wird je einmal mit dem BT- und dem HF-Spektrometer aufgenommen. Die beobachtete Verstärkung am BT-Spektrometer muss erneut gegen einen externen Standard errechnet werden und erreicht einen Wert von 2071. Dies entspricht einer Polarisierung von 0,24 %. Das Hochfeldspektrometer erreicht mit derselben Methode eine Verstärkung von 585, was einer messbaren Polarisierung von 0,58 % entspricht. Allerdings kann im Hochfeld ein thermisches Spektrum der Probe nach 64 Scans (ca. 15 min) detektiert werden, mit welcher der Verstärkungsfaktor bestimmt werden kann. Durch die Hyperpolarisation erreicht das SNR im BT-Spektrometer 110, was im Vergleich zum Labor-MFC eine deutliche Verbesserung der Sensitivität darstellt. Zudem zeigt sich im Vergleich zwischen Labor-MFC und ZULF-MFC

---

erstmal, dass die  $^{13}\text{C}$ -Kerne unterschiedlich auf die zum Transfer verwendeten Magnetfelder reagieren.

Bei der aufgrund des medizinischen Anwendungsgebiets interessanten Substanz DiMeADC ergibt sich bei dem ZULF-MFC ein SNR von 327 und eine Verstärkung von 148, welche in diesem Experiment gegen das Lösungsmittel als internem Standard bestimmt wurde. Ähnlich wie für die Allylkoholprobe zeigen die unterschiedlichen MFC-Techniken ebenfalls Unterschiede darin, welche  $^{13}\text{C}$ -Signale verstärkt werden. Zudem erfolgt der Transfer im Anwendungsbeispiel über zwei Bindungen hinweg. Das Benchtop-NMR-Spektrometer vereinfacht die Analyse der aufgenommenen Spektren, da in einem Ein-Scan-Experiment nur hyperpolarisierte  $^{13}\text{C}$ -Signale, sowie diejenigen des Lösungsmittels detektiert werden. Damit entfallen nicht-hyperpolarisierte Produktsignale und unerwünschte Signale von Folgereaktionen bei entsprechender Hydrierzeit.

Anschließend wurden die SABRE-SHEATH-Experimente an Thiourea bei 1,4 T wiederholt. Der Verstärkungsfaktor der  $^{13}\text{C}$ -Signale konnte zu 182 bestimmt werden. Die resultierende  $^{13}\text{C}$ -Polarisation lag bei 0,021 %. Die Messung für den hochkonzentrierten Standard hatte bereits einige Zeit in Anspruch genommen. Die abgeschätzte theoretische Zeitersparnis von 23 Tagen, um ein Signal der thermisch polarisierten Probe zu bekommen, das ein ähnliches SNR hat wie das der hyperpolarisierten Probe, ist damit durchaus realistisch.

Die natürliche Häufigkeit von  $^{15}\text{N}$  ist nochmal niedriger als die von  $^{13}\text{C}$ , deshalb wurde bei den  $^{15}\text{N}$ -Experimenten zunächst  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkiertes Pyridin verwendet. Trotz der Isotopenmarkierung und Protonenentkopplung war die Messung eines thermischen Spektrums zeitintensiv. Nach 2048 Scans und 12 h konnte allerdings ein  $^{15}\text{N}$  Signal detektiert werden. Die Hyperpolarisation mittels SABRE-SHEATH ermöglichte die Detektion eines  $^{15}\text{N}$ -Signals in einem Ein-Scan-Experiment auch bei 1,4 T. Das SNR liegt bei dieser Messung bei 2851. Eine Verstärkung von 4797 wurde gegen eine Messung mit thermischer Polarisation bestimmt. Die erzeugte Polarisation auf dem  $^{15}\text{N}$  liegt bei 0,2 %. Die Zeitersparnis zwischen den Messungen liegt bei über 12 h. Auch war es durch Hyperpolarisation möglich eine Messung ohne Protonenentkopplung durchzuführen. Diese resultiert in einem Spektrum mit auswertbarer Feinstruktur des  $^{15}\text{N}$ -Signals, sowie einem Signal von koordiniertem Pyridin. Allerdings dauerte das thermische  $^{15}\text{N}$ -Spektrum selbst für die  $^{15}\text{N}$  markierte Probe bereits über 48 h.  $^{15}\text{N}$ -Spektren der nicht-isotopenmarkierten Proben waren durch die Hyperpolarisation ebenfalls in je einem Scan möglich. Für diese Proben wurden keine Spektren bei thermischer Polarisation erhalten.

Die Erweiterung der Apparatur rund um das BT-Spektrometer ermöglicht die vollwertige Nutzung des Spektrometers zur Aufnahme von durch  $\text{pH}_2$  verstärkten Experimenten. Die gezeigten Hyperpolarisationsexperimente erhöhen die Sensitivität des BT-Spektrometers deutlich. Es wird ein Spektrum erhalten, das, abgesehen vom Lösungsmittel, auf die hyperpolarisierten Signale beschränkt ist, da durch die geringe Sensitivität nicht-hyperpolarisierte Signale in einem Scan nicht detektierbar sind. Damit wird die Auswertung der NMR-Spektren durch die Kombination von ZULF-SOT und BT-Spektrometer deutlich vereinfacht.

---

## 6. Fazit und Ausblick

---

In dieser Arbeit wurden hyperpolarisierte Moleküle, wie z.B. Dimethylmaleinat und Thiourea, in einem Hochfeld-NMR-Spektrometer, sowie in einem, von der Feldstärke her, mit MRT-Geräten vergleichbaren Benchtop-NMR-Spektrometer untersucht. Es wurden unterschiedliche Hyperpolarisationstechniken, sowie Transfertechniken der  $^1\text{H}$ -Hyperpolarisationen auf Kerne wie  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  untersucht, mit dem Ziel Signalverstärkungsfaktoren im Hoch- und Niedrigfeld zu bestimmen.

Hierzu musste gewährleistet werden, dass sowohl die Hyperpolarisation, als auch Transfer und Messung der Hyperpolarisation unter standardisierten Bedingungen stattfinden.

Die bestehende Apparatur musste modernisiert und Vereinfachungen an der Programmierung der Automatisierung vorgenommen werden. Das Ziel war hier zunächst einmal  $^1\text{H}$ -hyperpolarisierte Signale von Proben mit schneller Relaxationszeit und in sehr geringer Konzentration detektieren zu können. Getestet wurde diese Modernisierung an einem schnell relaxierenden Biopolymer. Die Nachweisgrenze der PHIP-Signale wurde erst bei einer Konzentration von 13 nM erreicht. Signalaufnahme thermischer Spektren waren unterhalb einer Konzentration von 120 nM zu zeitintensiv. Dies zeigt die Sensitivität, die durch h-PHIP unter Verwendung der automatischen Prozedur erreicht werden kann.

Anschließend wurde der Fokus darauf gelegt, Hyperpolarisation von den Protonen auf die Heterokerne  $^{13}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}$  zu transferieren. Denn die Hyperpolarisation auf diese X-Kerne ist durch die langsamere Relaxation länger zugänglich für Messungen und daher für zukünftige Experimente an bspw. Proteinen von Interesse. Ein vorhandener SABRE-Aufbau am HF-Spektrometer mit automatischem Probenshuttlesystem und  $\mu$ -Metallschild, innerhalb welchem ein ZULF erzeugt werden kann, ermöglicht den Test von magnetfeldabhängigen Polarisationstransfers. Mittels SABRE-SHEATH-Aufbau kann eine  $^{13}\text{C}$ -Signalverstärkung von 367 für Pyridin erzeugt werden. Transferexperimente auf  $^{15}\text{N}$  erzeugen eine Signalverstärkung von 1668. Durch SABRE-SHEATH wird auch die Detektion von hyperpolarisierten  $^{15}\text{N}$ -Signalen einer Probe ohne  $^{15}\text{N}$ -Isotopenmarkierung ermöglicht. Die etablierte SABRE-SHEATH-Technik wird erfolgreich eingesetzt um 189-fach verstärkte  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale von Thiourea aufnehmen zu können.

Die Analogie zwischen dem Spinsystem, welches den SOT während eines SABRE-Experiment ermöglicht, und dem Spinsystem, welches durch ein h-PHIP-Experiment um die neue Bindung herum entsteht, inspiriert zur Nutzung des SABRE-Aufbaus für h-PHIP-Transferexperimente. Zur Bestätigung dieser Hypothese wird DiMeADC verwendet, dessen Hydrierprodukt ein Derivat des forschungsrelevanten Fumarats ist. Hydrierung von DiMeADC in einem statischen Magnetfeld bei 500 nT resultiert in ungefähr 8-fach verstärkten  $^{13}\text{C}$ -Signalen.

Im Rahmen des Einbaus des Benchtop-NMR-Spektrometers wird eine zentrale Positionierung des  $\mu$ -Metallschildes gefunden, die eine gemeinsame Nutzung beider Spektrometer erlaubt. Es wird ein neuer, reproduzierbarer Ablauf der experimentellen Durchführung für Transferexperimente entwickelt. Dafür wird die Probenpositionierung im  $\mu$ -Metallschild durch ein Insert standardisiert. Die Taktung zwischen der Hydrierung, dem MFC, der Transportzeit und dem Start der Messung übernimmt ein neu entwickeltes AU-Programm. Weiter wird für h-PHIP basierte Experimente ein ZULF-MFC etabliert, der einen höheren Polarisationstransfer ermöglicht, gegenüber dem SOT in einem statischen Magnetfeld. Für die Hydrierung von

---

DiMeADC kann nach dem Umbau eine Signalverstärkung von 288 erreicht werden. Durch den neuen, standardisierten Ablauf kann auch Fmoc-Y(Propargyl)-OH auf dem  $^{13}\text{C}$ -Kern hyperpolarisiert werden.

Die Signalverstärkungen auf  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -Kernen via SABRE-SHEATH an Pyridin und Thiourea konnten ebenfalls reproduziert werden. Mit der Erkenntnis, dass für Thiourea kein Auxiliar nötig ist, was anfänglich vermutet wurde.

Die Installation eines Niedrigfeldspektrometers ermöglicht Experimente im Magnetfeldbereich, in dem sich auch die bildgebende NMR-Technik befindet. Um die am HF-Spektrometer bereits etablierten PHIP- und SABRE-Techniken analog am Benchtop-Spektrometer verwenden zu können, wurde zunächst das Gasleitungssystem des Aufbaus erweitert, um die Parawasserstoff- und Inertgaszufuhr zu ermöglichen. Die Schaltung der Magnetventile des neu aufgebauten Magnetventilbereiches wird automatisiert. Der erste Test eines automatisierten PHIP-Experiments zeigt im direkten Vergleich mit dem HF-Spektrometer gute Ergebnisse. Ein Pseudo-2D-PASADENA-Experiment ermöglichte die Reaktionsverfolgung der Hydrierung von Propargylalkohol mit diesem BT-Spektrometer. Um auch bei geringeren Magnetfeldern zukünftig PHIP-basierte Signalverstärkung untersuchen zu können, werden zwei unterschiedliche MFCs verwendet, um SOT-Experimente durchzuführen. Zum einen ein MFC, der sich durch die magnetischen Streufelder im Labor ergibt, zum anderen der ZULF-MFC, der bereits für Transferexperimente verwendet wurde, die am HF-Spektrometer untersucht wurden. Beide MFCs zeigen PHIP-basierte Verstärkung von  $^{13}\text{C}$ -Signalen von nicht-isotopenmarkierten Proben in einer Größenordnung, dass sich  $^{13}\text{C}$ -Signale innerhalb eines Scans mit dem BT-Spektrometer detektieren lassen. Diese Abläufe werden standardisiert und für Experimente an DiMeADC verwendet. Der ZULF-MFC sorgt dabei für eine 148-fache Verstärkung der  $^{13}\text{C}$ -Signale vom Hydrierprodukt. Das erhaltene  $^{13}\text{C}$ -Signal hat ein SNR von 327 und ist damit im Vergleich zum Labor-MFC um einen Faktor von 10 größer. Damit ist eine automatisierte und reproduzierbare experimentelle Durchführung für h-PHIP-Experimente, analog zur bestehenden Durchführung am HF-Spektrometer, etabliert. Die standardisierten Abläufe erlauben die Detektion von  $^{13}\text{C}$ -Signalen mit guter Auflösung in kurzer Zeit.

Analog zu den h-PHIP-Experimenten wird der Ablauf von SABRE-SHEATH mit statischem Magnetfeld standardisiert. Das ermöglicht sowohl die ein-Scan Detektion von verstärkten  $^{13}\text{C}$ -, als auch von  $^{15}\text{N}$ -Signalen. Durch PHIP ist es möglich ein  $^{15}\text{N}$ -Signal einer nicht-isotopenmarkierten Probe mittels eines 1D-Spektrums ohne NOE-Effekt zu erhalten. Das erhaltene Signal mit Hyperfeinstruktur weist ein SNR von 27 bezüglich des höchsten Peaks im Aufspaltungsmuster auf. Die Messung eines Spektrums mit thermischer Polarisation einer isotopenmarkierten Probe gleicher Konzentration war erst mit 48 h Messzeit möglich. Letztere zeigt exemplarisch, wie zeitaufwendig die Aufnahme von thermischen Spektren von  $^{13}\text{C}$ - oder  $^{15}\text{N}$ -Kernen bei niedrigen Magnetfeldern ist.

Die Untersuchung der Hyperpolarisation ist damit an beiden Spektrometern sowohl an Protonen, als auch  $^{13}\text{C}$ - sowie  $^{15}\text{N}$ -Stickstoffkernen möglich. Für die getesteten Kerne ist keine Isotopenmarkierung notwendig und die Probenkonzentrationen können niedrig gehalten werden. Durch automatisierte Abläufe sind PHIP-Experimente an beiden Spektrometern mit wenig Eingriff des Experimentators möglich. Aufgrund der Bauart des Gasleitungssystems ist eine gleichzeitige Nutzung beider Spektrometer ebenfalls möglich.



---

Der Aufbau ermöglicht zukünftig paralleles Arbeiten an beiden Spektrometern, was die Effizienz deutlich erhöht. Ebenso kann der direkte Vergleich zwischen den Spektrometern leichter erfolgen. Es ist möglich, mit einer einzigen Apparatur Strukturanalysen, Signalverstärkung, sowie kinetische Prozesse von PHIP- und SABRE-Experimenten in Lösung an unterschiedlichen Atomkernen zu untersuchen. Die kurzen Schaltzeiten zwischen Gasströmen und Messstart ermöglichen auch Experimente, bei welchen die Hyperpolarisation schnell abklingt. Dazu zählen beispielsweise Experimente an hyperpolarisierten Gasen. Dabei wäre denkbar, die Hydrierreaktion von gasförmigen Analyten an heterogenen Katalysatoren zu verfolgen. Zusätzlich interessant ist auch die Untersuchung von H-D-Austauschreaktionen oder Hydrierreaktionen unter Anwesenheit von HD-Gasgemischen. Die Apparatur ermöglicht prinzipiell auch eine Untersuchung von Signalverstärkung durch ortho-Deuterium.

Mittels PHIP waren bereits schnelle 2D-NMR-Spektroskopische Aufnahmen von Protonen möglich.<sup>[85]</sup> Die erweiterte Apparatur kombiniert nun PHIP mit der Möglichkeit durch SOT die Hyperpolarisation auf X-Kerne zu übertragen. Diese X-Kern-Hyperpolarisation kann für 2D-Heteronukleare NMR-Spektroskopie verwendet werden. Da die Hyperpolarisation näherungsweise mit der Relaxationskonstante der jeweiligen Kerne zerfällt, bleibt sie auf den X-Kernen in der Regel länger erhalten. Standardisierte Experimente wie HSQC- (engl.: *Heteronuclear Single Quantum Coherence*), HMBC (engl.: *Heteronuclear Multiple Bond Coherence*) oder 2D-TOCSY (engl.: *Total Correlation Spectroscopy*) wären in geringerer Zeit möglich. Für das Beispiel „PHIP als Biomarker“ ist vorstellbar, dass zukünftig die X-Kernpolarisation und NOE (engl.: *Nuclear Overhauser Effekt*) basierte Experimente verwendet werden können für weiter Untersuchungen von Proteinen in enzymatischen Bindungstaschen. Daneben sind 2D-Experimente auch für eine vollständige Signalzuordnung interessant, vor allem für komplexe Strukturen wie Peptide, Proteine oder Polymere.

Die größere Relaxationszeit der Hyperpolarisation auf den X-Kernen kann auch anderweitig verwendet werden. Vor dem Hintergrund von DiMeADC und der Relevanz von Fumarat für die Forschung als Kontrastmittel in der MRT-Technik wäre es interessant zu testen, ob mittels der Apparatur beispielsweise größere Mengen an <sup>13</sup>C-hyperpolarisiertem Fumarat hergestellt werden können. Hier wäre der Einsatz einer *Flow Cell* interessant. Damit könnte die Hydrierung konstant erfolgen und durch NMR-Detektion der Punkt bestimmt werden, an dem die höchste Fumaratkonzentration vorliegt. Durch Einleiten der Probe in ein  $\mu$ -Metallschild würde dann der Transfer der Hyperpolarisation auf <sup>13</sup>C erfolgen, sodass <sup>13</sup>C hyperpolarisiertes Fumarat ausgefällt werden könnte. Im vorhandenen Labormaßstab könnte das so erhaltene Fumarat beispielsweise für Hyperpolarisationsexperimente mittels Festkörper-NMR verwendet werden. Alternativ könnte der Ablauf als verkleinerte Variante einer möglichen klinischen Anwendung untersucht und optimiert werden.

Weiterhin könnte versucht werden, andere X-Kerne zu hyperpolarisieren, wobei sich beispielsweise Phosphor als biologisch relevanter Kern anbietet. Beide Spektrometer haben Breitbandkanäle und können auf die jeweiligen Larmorfrequenzen dieser Kerne justiert werden. Eine Detektion wäre also möglich. Es müsste jedoch noch untersucht werden, ob ein SOT und welche Art von SOT eine Hyperpolarisation von beispielsweise Phosphor ermöglicht. Allerdings gibt es dazu noch keine einschlägigen Forschungsergebnisse und Literaturquellen.

---

Generell lässt sich der verwendete ZULF-MFC weiter variieren, um beispielsweise einen selektiven SOT zu erzeugen, der die Polarisierung von  $^{13}\text{C}$ - oder  $^{15}\text{N}$ -Kernen in bestimmten Positionen innerhalb eines Moleküls erhöht. In dieser Arbeit wurden bereits erste Ansätze solcher Untersuchungen für die Hydrierung von DiMeADC präsentiert. Aufgrund unterschiedlicher  $^{15}\text{N}$ -Positionen innerhalb des Moleküls, würde sich Histidin oder Histamin für Untersuchungen selektiver  $^{15}\text{N}$ -Polarisationserhöhung eignen. Gleichzeitig wäre das Hormon Histamin ein weiteres interessantes Molekül im Kontext der Erforschung hyperpolarisierter körpereigener Substanzen.

Abschließend eröffnen sich durch den neuen Aufbau und die Standardisierung der Abläufe neue Möglichkeiten Resultate bezüglich der Hyperpolarisation, des Polarisationstransfers und der Speicherung von hyperpolarisierten Zuständen in z.B. Biomolekülen zu erhalten.



---

## 7. Anhang

---

### 7.1. Hochfeld-NMR-Spektrometer

Das verwendete Hochfeld-NMR-Spektrometer ist ein OXFORD INSTRUMENTS Magnet mit 11,7 T (500 MHz,  $^1\text{H}$ -Frequenz) mit einer BRUKER AVANCE III NMR-Konsole. Der Probenkopf fasst 5 mm Probenröhrchen. Die Datenaufnahme und erste Datensichtung erfolgten anschließend mit der Spektrometersoftware *Topspin 3.2* der Firma BRUKER. Die finale Auswertung der Spektren erfolgte mit Hilfe der Software *MestReNova 14.2.2* von *Mestrelab Research* und unterstützender Verwendung von *Topspin 4.0.9*.

Für  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  wird die chemische Verschiebung ( $\delta$ ) in ppm relativ zu TMS ( $\delta = 0,00$ ) angegeben. Für  $^{15}\text{N}$  wird Ammoniak als Referenzsubstanz verwendet. Als interne Referenz dient das jeweilige Restsignal des deuterierten Lösungsmittels.

Es wurden folgende Probenköpfe verwendet:

- DUL 1H/D-13C inkl. Z-Gradient (Standardprobenkopf)
- PH BBI 500S2 (H-BB\_D) (nur für die  $^{15}\text{N}$  Messungen)

### 7.2. Benchtop-NMR-Spektrometer

Das verwendete Benchtop-NMR-Spektrometer ist ein X-Pulse 1,4 T (60 MHz) der Firma OXFORD INSTRUMENTS mit Probenköpfen für 5 mm NMR-Röhrchen. Die Datenaufnahme erfolgt mit der Software *SpinFlow 3.0.0* (Ab Installation bis 07.2023) bzw. *SpinFlow 3.2.0* ab 07.2023 der Firma OXFORD INSTRUMENTS. Die Datensichtung sowie Auswertung erfolgt mit Hilfe der Software *MestReNova 14.2.2 -15* von *Mestrelab Research*.

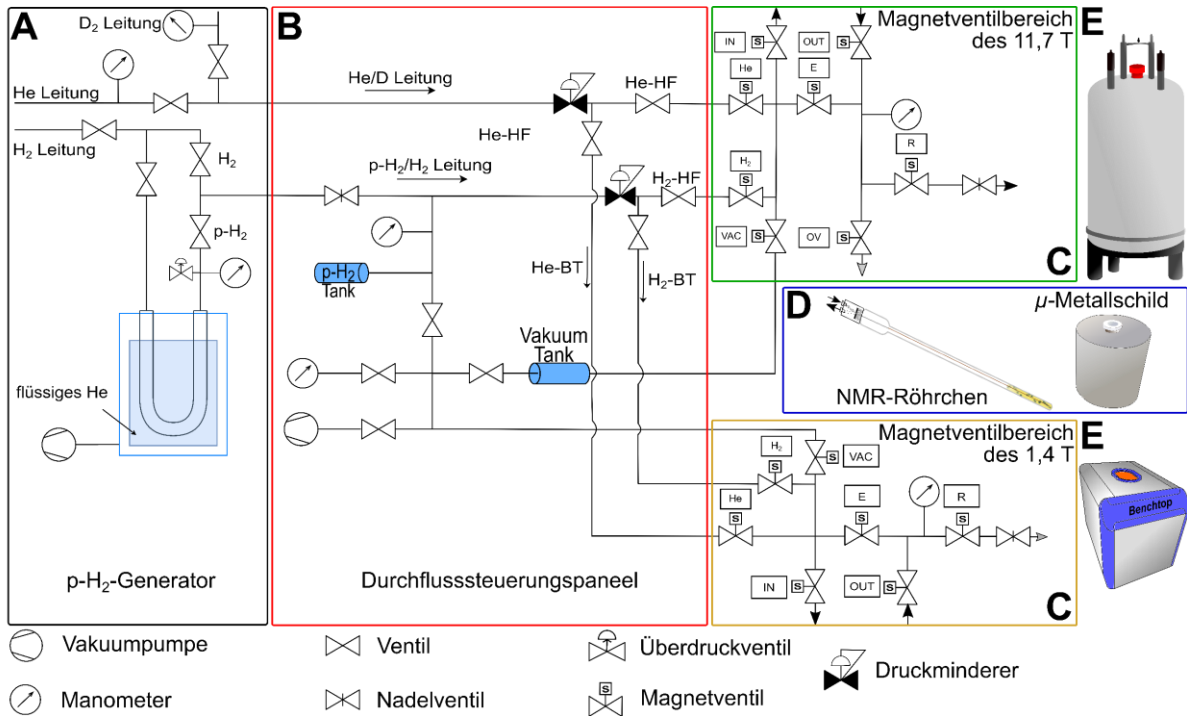
Für  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  wird die chemische Verschiebung analog zum HF-Spektrometer erhalten. Für  $^{15}\text{N}$ -Messungen wird auf einen im Probenkopf integrierten internen Standard gelockt.

Es wurden folgende Probenköpfe verwendet:

- XPP-HFx-1071: ein  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -BB-D Probenkopf (Standardprobenkopf)
- 15N-XL-5001: ein  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  Probenkopf mit internem  $^{23}\text{Na}$ -Lock (nur für die  $^{15}\text{N}$  Messungen)

### 7.3. Detaillierte Beschreibung der gesamten Apparatur

In den nachfolgenden Kapiteln werden zunächst die einzelnen Bestandteile der Apparatur (Abbildung 40) noch einmal im Detail bezüglich ihrer Bauweise und Verbindungen aufgezeigt und beschrieben. Anschließend werden wichtige Eckdaten der Spektrometer aufgeführt.



Wiederholung der Abbildung 40: Schematische Darstellung des gesamten Versuchsaufbaus.

#### 7.3.1. Das Leitungssystem der Hydrierapparatur

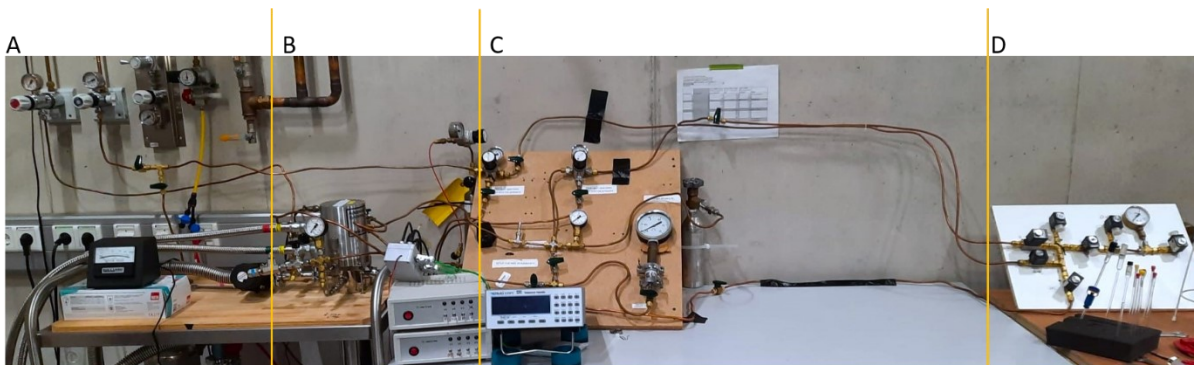


Abbildung 50: Photographie der Hydrierapparatur zur Veranschaulichung der Kupferrohrleitung von (A) der Hausleitung, über den (B) Generator zu (C) dem Durchflusssteuerungspaneel bis zu (D) dem Magnetventilbereich des 1,4 T-Spektrometers.

Für die gesamte Apparatur werden 6 mm AD und 3 mm ID Kupferrohre verwendet. Diese werden durch 6 mm Rohrverbinder der Firma SWAGELOK® mit anderen Bauteilen wie Ventilen verbunden. Die Abzweigungen werden durch T-Stücke (SWAGELOK®, B-6PAT-MM) ermöglicht und für Kreuzungen werden Kreuzstücke (SWAGELOK®, B-6M0-3) verwendet. Die in der Hydrierapparatur verbauten manuellen Ventile sind Küchenhähne für 6 mm Leitungen ebenfalls von SWAGELOK® (B-6PAT-MM). Die Verbauung manueller Ventile dient dazu jederzeit die volle Kontrolle über den Gasfluss und seine Richtung zu behalten.

---

### 7.3.2. Gasleitungen

Es kann zwischen vier Gasen in zwei Leitungen gewählt werden. Helium als Inertgas und Deuterium teilen sich eine Gasleitung. Die zweite Leitung ist für thermischen Wasserstoff bzw. für  $p\text{-H}_2$ . Der thermische Wasserstoff kommt aus der Hausleitung (max. 15 bar) und kann entweder durch den Parawasserstoffgenerator geleitet werden, um in eben diesen umgewandelt zu werden, oder über einen Bypass an dem Generator vorbei und direkt in das System eingespeist werden. Da sich je zwei Gase eine Leitung teilen, muss die Leitung bei einem Wechsel durch alternierendes Anlegen von Vakuum und Gasüberdruck durchgespült werden. Innerhalb der  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$ -Leitung befindet sich nach dem Bypass bzw. nach dem Generator zusätzlich ein Feindosierventil (SWAGELOK®, B-SS6MM). Dieses wird verwendet, um den Durchfluss an  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$  zu verringern und das durchströmende Gas zu verlangsamen. Dadurch wird die Aufenthaltszeit der Gasmoleküle im Generator länger und eine Umwandlung kann während der gesamten Laufzeit garantiert werden.

Das Volumen der Wasserstoffleitung gemessen vom Druckminderer (inklusive Magnetventilbereich) bis zum 11,7 T Spektrometer beträgt  $49,5 \text{ cm}^3$ . Die verbaute Kupferleitung von He/ $\text{D}_2$  hat eine Länge von 7 m, die Länge der  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$ -Kupferleitungen beträgt 9 m.

Das Volumen der Wasserstoffleitung, gemessen vom Druckminderer (inklusive Magnetventilbereich) bis zum 1,4 T-Spektrometer, beträgt  $10,6 \text{ cm}^3$ . Die Kupferleitungslänge beträgt  $\sim 3 \text{ m}$  für die He/ $\text{D}_2$ -Leitungen und  $\sim 3,5 \text{ m}$  für die  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$ -Leitung.

### 7.3.3. Der Parawasserstoffgenerator

Die Parawasserstoffanreicherung wurde mit einem Parawasserstoffgenerator von Advanced Research Systems Inc. durchgeführt, welches einen DE204A-Kryostaten und einen ARS 4HW-Kompressor umfasst. Der Kryostat wurde auf 30 K gekühlt und liefert damit Wasserstoff mit einem Anreicherungsgrad von 98 % Parawasserstoff. Für die Umwandlung wird Aktivkohle als Katalysator verwendet. Sofern nichts weiter angegeben wird, werden 10 bar  $\text{H}_2$ -Gas eingespeist und 7 bar  $p\text{-H}_2$  für die Reaktionen verwendet.

### 7.3.4. Durchflusssteuerungspaneel

Im Durchflusssteuerungspaneel wird der Druck der einströmenden Gase ( $p\text{-H}_2/\text{H}_2$  oder He/ $\text{D}_2$ ) am Druckminderer eingestellt. Hinter dem Druckminderer der jeweiligen Leitung verzweigt sich diese zu je einer Ausgangsleitung pro Spektrometer. Die Ausgangsleitungen führen zu den besagten Spektrometern und sind in Abbildung 40 bspw. mit He-BT für die Heliumleitung zum Benchtop-Spektrometer beschriftet. Sollen beispielsweise He und  $p\text{-H}_2$  zum BT geführt werden, werden die Ventile He-BT und  $\text{H}_2\text{-BT}$  geöffnet. Alle anderen Ventile dieses Bereiches bleiben geschlossen.

Zusätzlich befindet sich an der  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$ -Leitung ein 0,5 L-Tank. Dieser wird für die Lagerung von  $p\text{-H}_2$  verwendet. Des Weiteren ist in die  $p\text{-H}_2/\text{H}_2$ -Leitung am Durchflusssteuerungspaneel eine Vakuumleitung angeschlossen, die zur Evakuierung der Wasserstoffleitung und des Generators verwendet wird. Zudem führt jeweils eine Abzweigung der Vakuumleitung ebenfalls zu den Spektrometern. Auf dem Weg zum 11,7 T ist zur Volumenvergrößerung ein zusätzlicher Vakuumtank integriert.

Die Gase und der Vakuumbehälter können entweder von einem oder gleichzeitig von beiden NMR-Spektrometern verwendet werden.

### 7.3.5. Magnetventilbereich

Nachdem die zu verwendenden Gase den Weg durch die manuellen Ventile passiert haben, gelangen sie in den jeweiligen Magnetventilbereich des gewünschten Spektrometers. Hier sind die computergesteuerten Magnetventile eingebaut, die für die Steuerung des Gasstroms während einer Messung geschaltet werden. Beide Bereiche sind nahezu baugleich, mit leichten Unterschieden im Gesamtvolumen. Jede Gasleitung, sowie die Vakuuleitung, verfügt über ein Magnetventil, das den Weg zwischen dem Magnetventilbereich und dem manuellen Ventilbereich öffnen oder schließen kann.

Magnetventilbereich des 11,7 T

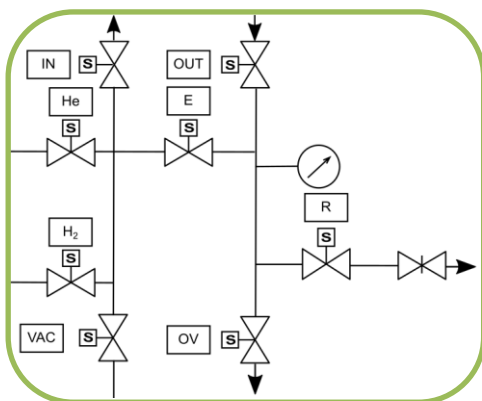


Abbildung 51: Darstellung des Flussdiagramms der Magnetventile des 11,7 T-Magnetventilbereiches (Abschnitt 3), mit einem Gasvolumen 6,75 cm<sup>3</sup>

Magnetventilbereich des 1,4 T

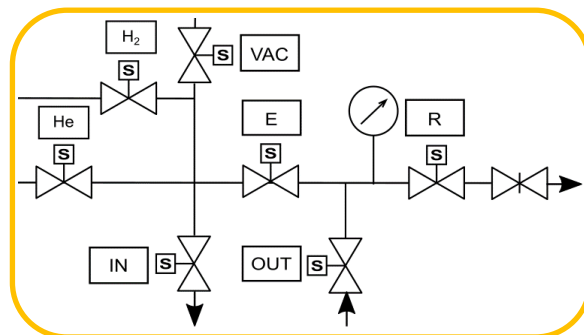


Abbildung 52: Darstellung des Flussdiagramms der Magnetventile des 1,4 T-Magnetventilbereiches (Abschnitt 3), mit einem Gasvolumen 6,5 cm<sup>3</sup>

Jeder der Magnetventilbereiche (Abbildung 51 und Abbildung 52) besteht aus zwei Unterbereichen. Der Einlassbereich umfasst alle Gase, das Vakuum und das IN-Ventil, es kann direkt in ein angeschlossenes NMR-Röhrchen entlüftet werden. Der Auslassbereich wird durch das OUT-Ventil und das R-Ventil, sowie für den 11,7 T-Magneten, als auch durch das OV-Ventil<sup>2</sup> gebildet. Zwischen dem Einlass- und dem Auslassbereich befindet sich ein Magnetventil: E. Wenn das E-Ventil geöffnet ist, stellt sich ein Druckgleichgewicht über den gesamten Bereich und das NMR-Röhrchen ein. Wenn das E-Ventil geschlossen ist, kann eine Druckdifferenz zwischen dem Einlass- und dem Auslassbereich erzeugt werden, um Gase in die Probe einzuleiten. Der Druck im Auslassbereich wird durch Öffnen des R-Ventils nach außen reduziert. Hinter diesem Magnetventil befindet sich ein Feinventil (und ein Durchflussmesser) zur Kontrolle der Durchflussmenge. Dadurch können die Gase kontrolliert ausströmen, so dass ein Ungleichgewicht zwischen dem Einlass- und dem Auslassbereich entsteht. Das eingeleitete Gas beginnt in Form von Blasen in der flüssigen Probe aufzusteigen. Dies wird als Blasenbildung bezeichnet. Der Wechsel zwischen den einzelnen Durchflussmustern findet innerhalb weniger

<sup>2</sup> Das OV-Ventil des 11,7 T Panel ermöglicht auch das Blubbern, aber die Durchflussmenge kann nicht über ein Feinventil eingestellt werden. Dieses Magnetventil dient hauptsächlich zur schnellen Druckentlastung. Die Entleerung der Automationstafel kann über das R-Ventil erfolgen. Daher wird bei dem 1,4 Aufbau auf ein OV-Ventil verzichtet.

Millisekunden statt. Sofern von der Hauptleitung über das Durchflusssteuerungspaneel bis in die Probe alle Ventile geöffnet sind, entspricht dieser Druck auch dem Druck in der Probe nach weniger als 0,5 s. Ist der Weg zur Hausleitung unterbrochen, muss der Druck am Paneel etwa 0,5 bar höher liegen, als der gewünschte Druck in der Probe, da der Druckverlust ab diesem Punkt bis zur Probe über die gesamte Strecke beachtet werden muss.

Tabelle 13: Häufig verwendete Schaltungsbefehle. Links die Kommandos für die programmierten Schaltungsmuster, rechts eine kurze Erklärung.

ALL_OFF	Alle Ventile schließen sich.
VALVES_OFF	
VAC_ON	Evakuieren des <i>Panels</i> , um sicherzustellen, dass der Probe sauberer Wasserstoff zugeführt wird, indem die Ventile VAC und E einige Sekunden lang öffnen.
bHe bH2	Öffnen des HE oder H2-, R-, IN- und OUT-Ventils. Es folgt die Glaseinleitung in die Probe.
vsaveHe vsaveH2	Statischer Druck des jeweiligen Gases aus den Leitungen He oder H2. Hierfür geöffnet werden zu dem jeweiligen Gas die Ventile: E, IN, und OUT.
relp	Um den Druck abzulassen, wird H2 geschlossen und R (oder OV) geöffnet.

### 7.3.6. Steuerung mit dem PC des Hochfeld-Spektrometers

Ein Mikrocontroller (Arduino UNO, ausgestattet mit einem Atmel Atmega 328P) ist mit den TTL-Ausgängen (Transistor-Transistor-Logik) des IPSO (engl.: *Intelligent Pulse Sequenz Organizer*) der BRUKER AVANCE-Konsole verbunden. Diese TTL-Ausgänge können von der Spektrometersoftware angesteuert werden. Über eine Bibliothek werden den einzelnen Ventilen Nummern zugewiesen, die über die TTL-Ausgänge ausgegeben werden. Der Mikrocontroller setzt diese Nummern in ein Schaltsignal für das entsprechende Ventil um. Damit ist es möglich, die Magnetventile über Pulsprogramme des 11,7 T Spektrometers zu steuern. Da die Ausgänge des Mikrocontrollers nicht genügend Spannung und Leistung bereitstellen können um die Ventile direkt anzusteuern, wurde eine Treiberschaltbox (GATE-Treiber) gebaut. Die Box enthält ein Netzteil und die Treiberschaltung (MOSFET), die je nach Eingangssignal (0 oder 5 V) den jeweiligen Magneten des Ventils mit Strom (280 bis 460 mA bei 24 V) versorgt. Der Treiber kann nicht nur über den Mikrocontroller gesteuert werden, sondern auch manuell über einen Kippschalter. Die Kippschalter sind notwendig, um das Experiment in den richtigen Ausgangszustand zu bringen, bevor die automatische Steuerung übernimmt, und um den Aufbau einschließlich der angeschlossenen Probe vor der Injektion in den Magneten auf Gasdichtheit zu testen.

### 7.3.7. Steuerung mit dem PC des Benchtop-Spektrometers

Das zweite BT-Spektrometer hat zum Zeitpunkt der Aufnahme der gezeigten Daten keinen TTL-Ausgang. Daher wird der Mikrocontroller (ARDUINO UNO, Atmega328P) direkt über USB mit dem Bedienrechner verbunden. Da die Ausgänge des Mikrocontrollers nicht genügend Spannung und Leistung bereitstellen können um die Ventile direkt anzusteuern, wird eine identische Treiberschaltung (GATE-Treiber) zum Schalten der Ventile gebaut. Die USB-Verbindung erlaubt keine direkte Ansteuerung der Ventilschaltungen durch die Spektrometersoftware oder die Pulsprogramme. Ein separates Python-Programm auf dem Computer kommuniziert mit dem Mikrocontroller, dessen Programmierung das Ventil, dessen Nummer mit der jeweiligen Kanalposition und dem Zustand (Offen, geschlossen) verbindet, was eine schnelle und einfache Bedienung der Ventile außerhalb der Spektrometer Software ermöglicht. Die gewünschte Ventilsteuerung kann vordefiniert und als Befehlsliste gespeichert werden. Bei Bedarf wird die Liste geladen und an den Mikrocontroller gesendet. Anschließend ist es möglich, mit Hilfe eines einfachen Python-Skripts einen automatisch positionierten Mausclick zu platzieren, der wiederum die vorbereitete Messung in der Spektrometer Software startet.

Zusatz: Das Benchtop-Spektrometer wurde kürzlich mit einem festen TTL-Ausgang nachgerüstet, der die synchrone Steuerung der Magnetventile durch das Pulsprogramm auf der Konsole ermöglicht (ähnlich wie bei der HF-Konsole).

### 7.3.8. Verbindung zwischen NMR-Röhrchen und Hydrierapparatur

Im Folgenden wird detailliert beschrieben, wie die optimierte Verbindung zwischen Probenröhrchen und der Hydrierapparatur aussieht. Ausgehend von dem Magnetventilbereich, direkt angeschlossen an das IN-Ventil, befindet sich ein 1/16-Zoll-PTFE-Schlauch (1,6 mm AD, 0,5 mm ID). Dieser geht in eine ca. 15 cm lange Glaskapillare (0,36 mm AD, 0,15 mm ID) über, welche an das untere Ende des Röhrchens reicht. Ein zweiter PTFE-Schlauch (1,6 mm AD, 0,5 mm ID) führt vom OUT-Ventil ebenfalls zum Probenröhrchen. Beim Probenröhrchen handelt es sich um ein 5-mm-NMR-Röhrchen 528-TR-7 von Rototec Spintec. An der Öffnung des NMR-Röhrchens befindet sich ein Glasgewinde, welches es ermöglicht einen eigens designten, aus SLA-Harz gedruckten, Aufsatz (Kapitel 7.10, Abbildung 73) anzuschrauben. Der Aufsatz verbindet die beiden PTFE-Schläuche mit dem Probenröhrchen (Abbildung 53). Für die Gasdichtigkeit zwischen dem Aufsatz und dem Probenröhrchen wird ein O-Ring verwendet. Für den Anschluss an die Schläuche werden VacuTight-Fittings verwendet. Diese werden von TECHLAB als IDEX H&S P-844 geliefert und bestehen aus einer PEEK-Schraube (1/16-Zoll) und einer 1/16-Zoll-ETFE-Ferrule (Tefzel-Schneidring).

Das verwendete NMR-Röhrchen limitiert den Maximaldruck auf 20 bar.



Abbildung 53: Skizzierung eines Probenröhrchens welches durch den aufgeschraubten Adapter (links) an die Schläuche und damit an die Hydrierapparatur angeschlossen ist, was die Einleitung von Gasen und das Blubbern ermöglicht (rechts).



---

### *NMR-Röhrchen Reinigungsprotokoll*

Ein Reinigungsprotokoll wurde eingeführt, um die Reinheit aller Probenröhrchen zu gewährleisten. Kleinste Verunreinigungen an den Röhrchenwänden erhöhen die Adhäsion, was den Durchfluss des Gases durch die gesamte Probe und einen ordnungsgemäßen Rückfluss der Probe in den Aufnahmebereich stört. Vor allem bei Wasser äußert sich dies durch starke Schaumbildung, bis hin zur Verringerung der Substanzmenge im Aufnahmebereich, durch Adhäsion der Probe im oberen Röhrchenbereich.

1. Ausspülen mit deionisiertem Wasser (2x)
2. Befüllung der NMR-Röhrchen mit Königswasser ca. 7 cm hoch
3. Erhitzen bei 60 °C für mindestens eine Stunde, im extra hierfür designten und angefertigten Heizblock
4. Auskippen der Säure
5. Wiederholtes Nachspülen mit deionisiertem Wasser
6. Zweimal mit Aceton ausspülen
7. Röhrchenaußenseite mit Aceton und einem rückstandsfreien Tuch reinigen
8. Trocknen lassen

#### **7.3.9. Der ZULF-MFC**

Im ZULF-MFC wird ein möglichst großer Bereich an geringen Magnetfeldern abgedeckt. Der computergesteuerte MFC erfolgt in dem mit unterschiedlichen Kupferspulen ausgestatteten  $\mu$ -Metallschild (Design und gebaut bei A.KIRYUTIN). Die Spulen werden über einen ROHDE&SCHWARZ HMP4040 PowerSupply 384W mit Strom versorgt (Abbildung 54), dieser wiederum ist über eine serielle Schnittstelle mit dem Computer des 11,7 T-Spektrometers verbunden, was die Computersteuerung erlaubt.

Die magnetische Feldänderung erfolgt über Veränderung der Spannung [in Volt] auf dem Kanal 1, der Z-Spule. Dies beeinflusst das gesamte Magnetfeld im Schild. In Abbildung 54 wird die Veränderung des Magnetfeldes in Z gegen die Zeit aufgetragen. Bei der Angabe von Magnetfeldern im  $\mu$ -Metallschild wird sich auf die Z-Richtung beschränkt, da dies die kontrollierbare Komponente ist. Ergänzend wird in Abbildung 54 dargestellt, wie sich die Magnetfelder in X und Y verändern während eines MFC. Zur Messung der Magnetfelder in den drei Raumrichtungen wird eine Magnetsonde (Fluxgate FLC 3-70) verwendet (Eine Messung pro 688 ms).

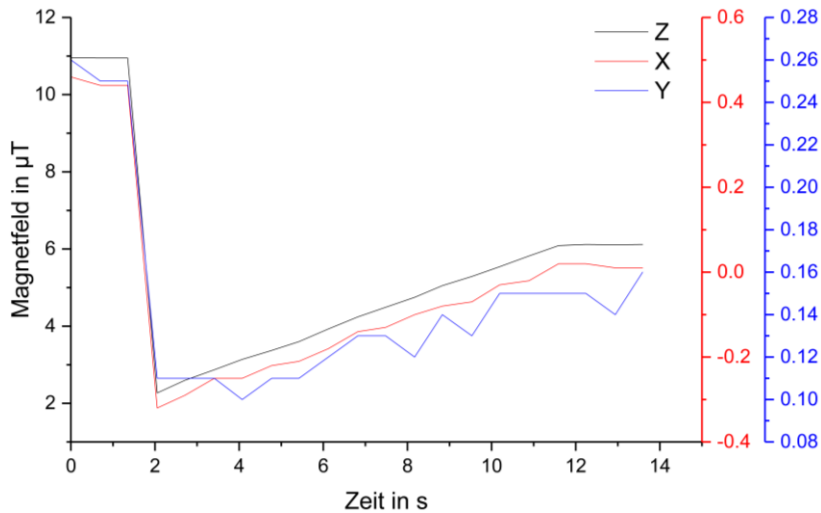
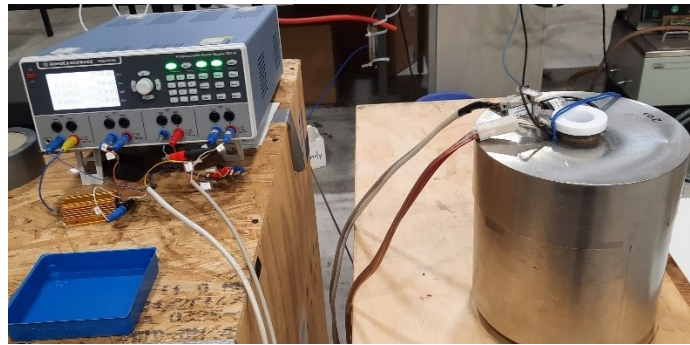


Abbildung 54: Oben eine Photographie des  $\mu$ -Metallschildes (rechts) und des Power Supply (links), welcher die Spannung an den Spulen im Schild steuert, um das Magnetfeld zu variieren. Die bei einem Standard ZULF-MFC das unten gezeigten Profil durchlaufen.

Der ZULF-MFC ist ein „1000x4“ Sweep. Dabei gibt „1000“ die Schritte der Variation an und „4“ die Schrittweite in nT. Die zur Messung verwendete Magnetsonde kann allerdings diese kleinen Schritte nicht in der Geschwindigkeit detektieren, in welcher die Spannung geändert wird. Der ZULF-MFC startet bei  $10 \mu\text{T}$  während der p-H<sub>2</sub>-Zufuhr, wird anschließend abrupt auf  $2 \mu\text{T}$  abgesenkt und steigt adiabatisch bis auf  $6 \mu\text{T}$  an. Dieser gesteuerte MFC dauert 14 Sekunden.

## 7.4. Methoden

### 7.4.1. Allgemeine Prozedur von PASADENA-Experimenten

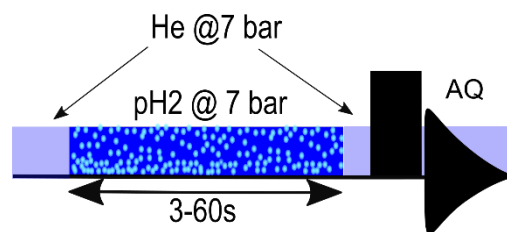


Abbildung 55: Schematische Darstellung eines PASADENA-Experimentes mit Gasströmen, Puls und Akquisitionsphase.

Eine PHIP-Probe besteht aus einem Analyten und dem  $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{COD})]\text{BF}_4$  Katalysator, gelöst in volldeutertem Methanol oder Aceton (Gesamtvolumen  $500\text{-}700 \mu\text{l}$ ). Für eine PASADENA-Messung wird ein statischer Heliumdruck von 7 bar an die jeweilige Probe angelegt und anschließend die Automatik gestartet. Sofern nichts Weiteres angegeben ist, wird die



---

Hydrierungsreaktion bei Raumtemperatur mit 7 bar p-H<sub>2</sub> im jeweiligen NMR-Magneten durchgeführt. Anschließend wechselt der Gasstrom zurück zu einem statischen Heliumdruck, um die Homogenität des Magnetfeldes wiederherzustellen (~2 s), bevor die Detektion durch einen 45°-Puls mit anschließender Akquisition erfolgt.

Das durch HP-Signale erhaltene Spektrum wird als PHIP-Spektrum bezeichnet. Um einen Verstärkungsfaktor des PHIP-Experiments zu berechnen, wird ein Referenzspektrum aufgenommen, nachdem die Hyperpolarisation vollständig bis zum thermischen Gleichgewicht relaxiert ist. Dies stellt das thermische Spektrum dar.

Zur Durchführung von Pseudo-2D-Experimenten kann das allgemeine Verfahren von PASADENA wiederholt werden.

Pulsprogramm: PHIP\_SER\_TEST\_FT

#### **7.4.2. SABRE-Experimente (Allgemein)**

Eine SABRE-Probe besteht aus einem Analyt und dem [Ir(COD)(IMes)Cl] Katalysatorkomplex, gelöst in volldeutertem Methanol oder Aceton (Gesamtvolumen 500-700 µl). Für Analyten, bei denen eine Koordination an den Katalysatorkomplex als gehemmt erwartet wird, kann ein Auxiliar (DMSO, Pyridin) verwendet werden. Für eine erfolgreiche Aktivierung des Katalysators wird das anfänglich gelbliche Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Entfärbung kontinuierlich mit p-H<sub>2</sub> versetzt. Sobald die farblose Form [Ir(H)<sub>2</sub>(IMes)(Py)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> vorliegt, kann das eigentliche SABRE- oder SABRE-SHEATH-Experiment gestartet werden. Für die Detektion von Protonen wird ein 45° Puls verwendet, für X-Kerne ein 90° Puls.

#### **7.4.3. SABRE-SHEATH (mit Motor nur am 11,7 T-Spektrometer)**

Das an die Hydrierapparatur angeschlossene NMR-Röhrchen wird in die Probenhalterung des Shuttles eingeführt. Die Zahnstange wird in die Ausgangssituation (Motorposition 0) innerhalb des Magneten geschoben und der Motor eingeschaltet und initiiert (Kommando: motorinit). Für die Messung fährt der Motor die Probe an die voreingestellte Position (0 bis 9100) und die Hydrierung wird gestartet. Im Anschluss fährt der Motor die Probe zurück in den Magneten (Position 0) und die Messung startet mit einer Verzögerung von 0,4 s. Position 8900 ist die Höhe, die der Schrittmotor ansteuert, wenn die Probenlösung im NMR-Röhrchen im Zentrum des µ-Metallschildes positioniert werden soll.

#### **Feldabhängigkeit**

Die feldabhängige Signalintensität einer Probe wird gemessen, indem ein bestimmtes Magnetfeld im µ-Metallschild vorgegeben wird. Anschließend wird eine Probe in das µ-Metallschild gefahren und mit p-H<sub>2</sub> versetzt. Nachdem der Motor die Probe wieder im Probenkopf positioniert hat, wird ein Spektrum aufgezeichnet. Kurz nach der Messung wird das Magnetfeld im µ-Metallschild um ein vorgegebenes Intervall (z.B. 100 nT) verändert, die Probe erneut hochgefahren, hydriert, runtergefahren und gemessen. Dieser Prozess wiederholt sich für alle Feldstärken, die gemessen werden sollen. Ein häufig verwendeter Zyklus ist: 1400 nT bis -1400 nT in 100nT Schritten.

---

Verwendetes Pulsprogramm: motor\_phip90\_NEW

Wichtiger Parameter: CNST2 (Position)

Verwendetes AU Programm: changeBlow4

Wichtige Zeilen im AU:

- **127**, int Nfields = 32; */\*size of array of the fieldcycle, this is how many steps you record \*/*
- **128** int offsetB = 1500; *//offset point for fieldcycle, you start from here (in nano Tesla)*
- **129** int increment = -100; *// increment for the fieldcycle, this is the size of the steps you are going in nanoTesla*

#### 7.4.1. SABRE-SHEATH (manuell)

Das an die Hydrierapparatur angeschlossene NMR-Röhrchen mit Probe wird im Erdmagnetfeld oder einem niedrig gewählten statischen Feld im  $\mu$ -Metallschild hydriert und anschließend manuell in den jeweiligen NMR-Magneten eingebracht, in welchem die Aufnahme anschließen händisch gestartet wird.

Für einen händischen MFC-SOT auf X-Kerne wird die Probe in das  $\mu$ -Metallschild gestellt, hydriert und anschließend ein MFC gestartet. Danach wird die Probe in den jeweiligen Magneten zur Detektion transportiert und die Messung gestartet. Alternativ kann hier auch die Automatik verwendet werden.

Verwendetes Pulsprogramm: zg, [zgif, zgpg30]; FID\_H, FID\_X, FID\_XH

Verwendetes AU Programm: FieldswEEPau1

Wichtige Zeilen im AU:

- **127**, int Nfields = 32; */\*size of array of the fieldcycle, this is how many steps you record \*/*
- **128** int offsetB = 1500; *//offset point for fieldcycle, you start from here (in nano Tesla)*
- **129** int increment = -100; *// increment for the fieldcycle, this is the size of the steps you are going in nanotesla*

## 7.4.2. MFC-SOT Experimente

### Labor-MFC

In dieser Arbeit werden zwei MFC-SOT-Methoden verwendet. Der Labor-MFC nutzt das lokale Magnetfeld (Streifeld) innerhalb des Labors (Abbildung 56). Die Hydrierungsreaktion (bei 7 bar) findet neben dem Hochfeldmagneten in einem 25 mT Streufeld statt, angeschossen an die HF-Hydrierapparatur. Hier werden die Gase und die Ventile durch den Hochfeldcomputer gesteuert. Nach der Hydrierung wird das Gas auf Helium umgeschaltet, während die Probe aus dem Hochfeldbereich gebracht wird. Danach wird die Probe für den weiteren Transport zum 1,4 T Magneten von der Gasleitung abgekoppelt. In einer Entfernung von etwa 6 m vom 11,7-T-Magneten wird ein Minimum von  $20 \mu\text{T}$  (Erdmagnetfeld) durchlaufen, bevor das Feld anschließend wieder auf  $170 \mu\text{T}$  oberhalb des 1,4 T Magneten ansteigt. Die Gesamtzeit des Transports beträgt ca. 30 s.

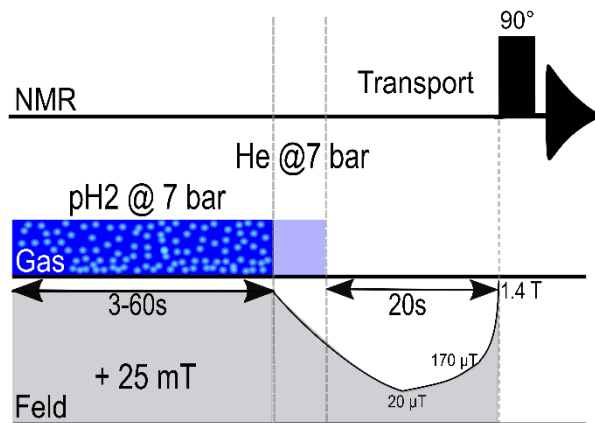


Abbildung 56: Darstellung eines Experiments mit dem Labor-MFC.

### ZULF-MFC

Für ein ZULF-MFC-Experiment wird das Probenröhrchen mit *Spinner* in das neuentwickelte Insert gestellt und damit im  $\mu$ -Metallschild positioniert. Anschließend kann das Experiment gestartet werden.

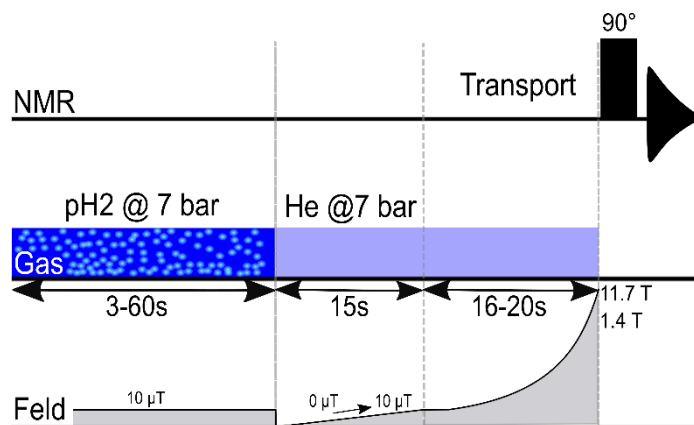


Abbildung 57: Darstellung eines Experiments unter Einsatz des computergesteuerten ZULF-MFC-SOT.

Der ZULF-MFC verwendet den computergesteuerten (Standard) MFC, der innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes durchgeführt wird (Abbildung 57). In allen Experimenten wird die p-H<sub>2</sub>-Zufuhr mit 7 bar p-H<sub>2</sub> innerhalb des  $\mu$ -Metallschildes bei  $\sim 10 \mu\text{T}$  durchgeführt. Nach der p-H<sub>2</sub>-Zufuhr wird der Gasdruck auf einen statischen 7 bar Heliumdruck umgeschaltet und der MFC gestartet. Nach dem MFC wird die Probe in ein Spektrometer gebracht. Für den Wechsel aus dem  $\mu$ -Metallschild in das HF-Spektrometer wird die Probe entnommen und transportiert ( $< 20 \text{ s}$ ). Da sich der *Spinner* bereits am Röhrchen befindet, kann die Probe direkt mittels der PTFE-Schläuche in die Fallröhre eingefädelt und abgelassen werden. Bei einem Wechsel vom  $\mu$ -Metallschild zum BT-NMR-Spektrometer wird der *Spinner* während des Transportes abgezogen und das Probenröhrchen direkt in den Probenkopf des BT-Spektrometers gesteckt ( $< 16 \text{ s}$ ).

Nach den Transportverzögerungen beginnen die Messungen bei beiden Messtechniken automatisch. Der jeweilige Spektrometercomputer steuert den Gasaustausch und die Magnetventile. Der automatische MFC kann zum aktuellen Zeitpunkt nur durch den Computer des 11,7 T Spektrometers angesteuert werden.

	Am 11,7 T	Am 1,4 T
Verwendete Pulsprogramme	zg, zgig, (zgg30)	FID_H, FID_X, FID_XH
Verwendetes AU	Fieldsweepau1	20sH2, muSABRE

Sofern nichts anderes beschrieben wird, erfolgen die Messungen von <sup>13</sup>C-Spektren mit einem 90°Puls. Für hyperpolarisierte Spektren wird nur ein Scan aufgenommen. Für thermische Spektren wird die Anzahl der Scans angegeben, da sie stark variieren kann.

## 7.5. Chemikalien und chemische Reaktionen

Alle verwendeten Chemikalien wurden von den Anbietern *Sigma Aldrich*, *TCl*, *Carl Roth GmbH*, *Iris*, *Acros*, *VWR*, *Eurisotop* oder *Deutero* bezogen und sofern nicht anders angegeben ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt.

Die Gase Helium 4.6 und Wasserstoff 5.0 wurden von den Anbietern *Westfalen* in je 200 bar Gaszylindern bezogen.

Der für die SABRE- Messungen verwendete Iridium-IMes-Komplex wurde von Frau DR. S. HADJALI<sup>[86]</sup> im Rahmen einer Dissertationsarbeit nach der Literaturvorschrift<sup>[87]</sup> synthetisiert. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde stets dieselbe Charge unverändert verwendet.

### 7.5.1. Hydrierung von PPOBLG

Das verwendete Biopolymer poly- $\gamma$ -(4-propargyloxy)-benzyl-L-glutamat (PPOBLG) wurde von Herrn DR. M. ALCARAZ-JANßEN im Rahmen einer Dissertation<sup>[88]</sup> in Anlehnung an die Literatur<sup>[89]</sup> synthetisiert und für die Messungen unverändert verwendet.

Für die konzentrationsabhängigen <sup>1</sup>H-NMR-Messungen wird eine bekannte Menge PPOBLG in Chloroform-d gelöst. Gleichzeitig wird der Rhodiumkatalysator [Rh(dppb)(COD)]BF<sub>4</sub> in Chloroform-d gelöst. Je nach gewünschter Konzentration werden die beiden Lösungen in unterschiedlichen Verhältnissen gemischt und ggf. mit Chloroform aufgefüllt, um ein Füllvolumen von 600  $\mu$ L zu erhalten. Nach der Hydrierung kann ein PHIP-Spektrum aufgenommen werden. Tabelle 14 fasst die Konzentration und Hydrierzeitangaben für die gezeigten Messungen zusammen. Tabelle 15 zeigt die Zuordnung der chemischen Verschiebungen der jeweiligen Kerne in ppm.

Tabelle 14: Zusammenfassung der PPOBLG-Konzentrationen, der verwendeten Katalysatorkonzentration und die verwendete Hydrierzeit.

c(PPOBLG)	c(PPOBLG)	c(Kat.)	p-H <sub>2</sub> Zeit
/ $\mu$ M	/ mmol	/ mM	/ s
10,27	$6,16 \cdot 10^{-6}$	3	45
5,13	$3,08 \cdot 10^{-6}$	3	45
2,57	$1,54 \cdot 10^{-6}$	3	45
1,03	$6,16 \cdot 10^{-7}$	3	45
0,77	$4,62 \cdot 10^{-7}$	3	45
0,66	$4,00 \cdot 10^{-7}$	3	45
0,39	$2,37 \cdot 10^{-7}$	3	20
0,15	$9,49 \cdot 10^{-8}$	3	20

0,12	$7,12 \cdot 10^{-8}$	3	20
0,071	$4,24 \cdot 10^{-8}$	1.54	10
0,053	$3,18 \cdot 10^{-8}$	1.54	10
0,035	$2,12 \cdot 10^{-8}$	0.77	5
0,013	$7,94 \cdot 10^{-9}$	1.5	6.5

Tabelle 15: Strukturformel und Zuordnung des PPOBLG (Polymer 1), sowie dessen ersten (Polymer 2) und zweiten (Polymer 3) Hydrierungsschrittes.

<p style="text-align: center;"><b>1</b></p>	<p><b>Zuordnung PPOBLG Polymer 1</b></p> <p><math>^1\text{H-NMR}</math> (500 MHz, 298,15 K, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta = 1,91\text{-}2,65</math> (b, 4H, 3-H, 4-H), 2,51 (s, 1H, 13-H), 3,7-4,1 (b, 1H, 2-H), 4,60 (s, 2H, 11-H), 4,95-5,04 (2*b, 2H, 6-H), 6,89 (s, 2H, 9-H), 7,21 (s, 2H, 8-H) ppm.</p>
<p style="text-align: center;"><b>2</b></p>	<p><b>Zuordnung Allylether Polymer 2</b></p> <p><math>^1\text{H-NMR}</math> (500 MHz, 298,15 K, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta = 1,91\text{-}2,65</math> (b, 4H, 3-H, 4-H), 3,95 (b, 1H, 2-H), 4,39 (s, 2H, 11-H), 4,85-5,0 (2*b, 2H, 6-H), 5,1-5,4 (2*d, 2H, <math>J_{\text{trans}}=17,1</math> Hz, <math>J_{\text{cis}}=9,4</math> Hz, 13-H), 5,9 (m, 1H, 12-H), 6,76 (s, 2H, 9-H), 7,14 (s, 2H, 8-H) ppm.</p>
<p style="text-align: center;"><b>3</b></p>	<p><b>Zuordnung Alkylether Polymer 3</b></p> <p><math>^1\text{H-NMR}</math> (500 MHz, 298,15 K, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta = 0,95</math> (s, 3H, 13-H), 1,7 (s, 2H, 12-H), 2,12-2,65 (b, 4H, 3-H, 4-H), 3,78 (s, 2H, 11-H), 3,95 (b, 1H, 2-H), 4,85-5,0 (2*b, 2H, 6-H), 6,76 (b, 2H, 9-H), 7,14 (b, 2H, 8-H) ppm.</p>

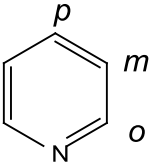
## 7.5.2. SABRE-Messungen von Pyridin

Das für einige Messungen verwendete  $^{15}\text{N}$ -Isotopenmarkierte Pyridin wird in einer Reinheit von 98 % von der Firma *Eurisotop* bezogen. Bei allen Messungen von Pyridin handelt es sich um SABRE-Messungen, daher wird  $[\text{Ir}(\text{H})_2(\text{IMes})(\text{Py})_3]^+\text{Cl}^-$  als Katalysator verwendet. Für eine Probe wird in einem Mikroreaktionsgefäß das Substrat und der Katalysator im deuterierten Lösungsmittel gelöst und anschließend in ein NMR-Röhrchen überführt. Die jeweiligen verwendeten Probenansätze können der Tabelle 16 entnommen werden. Tabelle 16 listet zudem die p-H<sub>2</sub>-Zufuhrzeit, das Probenvolumen, das verwendete Lösungsmittel und das jeweilige Kapitel, in dem Messungen dargestellt werden, auf. Tabelle 17 zeigt die Zuordnung der chemischen Verschiebungen der jeweiligen Kerne in ppm.

Tabelle 16: Ansatz-tabelle der Pyridin-NMR-Proben für die in der Arbeit gezeigten Messungen.

c(Pyridin) / $\mu\text{M}$	V(Pyridin) / $\mu\text{L}$	c(Kat.) / mM	p-H <sub>2</sub> Zeit / s	Volumen / $\mu\text{L}$	LöMi	Kapitel (Kern)
88	5	2,38	10	700	MeOD	5.2 ( $^{13}\text{C}$ )
61	3	2,75	10	600	MeOD	5.2 ( $^1\text{H}$ )
61	3 ( $^{15}\text{N}$ )	2,78	20	600	MeOD	5.2.1 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 24
20	1 ( $^{15}\text{N}$ )	2,78	20	600	MeOD	5.2.2 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 25 A
206	10	2,7	20	600	MeOD	5.2.2 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 25 A
248	10 ( $^{15}\text{N}$ )	3,39	60	500	MeOD	5.3.4 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 39B
248	10 ( $^{15}\text{N}$ )			500	MeOD	5.3.4 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 39C
248	10( $^{15}\text{N}$ )	3,25	30	500	MeOD	5.4.5 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 48A-B Abb. 49A,C
248	10	3,25	30	500	MeOD	5.4.5 ( $^{15}\text{N}$ ) Abb. 49B,D

Tabelle 17: Strukturformel und Verschiebungszuordnung von Pyridin.

	<b>Zuordnung Pyridin Py</b>
	$^1\text{H}$ -NMR (298,15 K, Methanol-d <sub>4</sub> ): $\delta = 8,51$ ( <i>o</i> -Py), $7,79$ ( <i>p</i> -Py), $7,38$ ( <i>m</i> -Py) ppm; $^1\text{H}$ -Signale von an Iridium koordiniertem Py: $8,28$ ppm ( <i>p</i> -Pyeq) $7,06$ ppm ( <i>m</i> -Pyax)
	$^{13}\text{C}$ -NMR (298,15 K, Methanol-d <sub>4</sub> ): $\delta = o\text{-py } 148$ ppm <i>m</i> -py $137$ ppm, <i>p</i> -py $124$ ppm
	$^{15}\text{N}$ -NMR (298,15 K, Methanol-d <sub>4</sub> ): $\delta = 300$ ppm (NH <sub>3</sub> Bezugssystem)

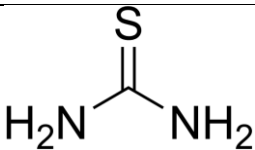
### 7.5.3. SABRE-Messungen von Thiourea

Bei allen Messungen von Thiourea handelt es sich um SABRE Messungen, daher wird  $[\text{Ir}(\text{H})_2(\text{IMes})(\text{Py})_3]^+\text{Cl}^-$  als Katalysator verwendet. Für eine Probe werden in einem Mikroreaktionsgefäß das Substrat und der Katalysator im deuterierten Lösungsmittel gelöst und anschließend in ein NMR-Röhrchen überführt. Die jeweiligen verwendeten Probenansätze können der Tabelle 18 entnommen werden. Tabelle 18 listet zudem die p-H<sub>2</sub>-Zufuhrzeit, das Probenvolumen, das verwendete Lösungsmittel und das jeweilige Kapitel, in dem die Proben verwendet werden, auf. Die Tabelle 19 zeigt die Zuordnung der NMR-Kerne in ppm.

Tabelle 18: Ansatz-tabelle der Thiourea SABRE NMR-Proben für die gezeigten Messungen.

c(Thiourea) / mM	m(Thiourea) / mg	c(Kat.) / mM	p-H <sub>2</sub> Zeit / s	Volumen / $\mu\text{L}$	LöMi	Kapitel (Kern)
63,5	2,9	3,14	10	600	MeOD	5.2.3 ( <sup>1</sup> H; <sup>13</sup> C)
308	11,72	3,39		500	MeOD	5.2.3 ( <sup>13</sup> C) Abb.27A
74,4	3,4	3,58	10	600	MeOD	5.2.3 ( <sup>13</sup> C) Abb.28
342	13	3,39	10	500	MeOD	5.3.3 ( <sup>13</sup> C) Abb. 37
342	13	3,39	60	500	MeOD	5.3.3 ( <sup>13</sup> C) Abb. 38
308	11,72	3,39	60	500	MeOD	5.4.4 ( <sup>13</sup> C) Abb. 47
1970	90			600	MeOD	5.4.4 ( <sup>13</sup> C) Abb. 47

Tabelle 19: Strukturformel und Verschiebungszuordnung von Thiourea.

	<p>Zuordnung Thiourea</p> <p><sup>1</sup>H-NMR (298,15 K, Methanol-d<sub>4</sub>): <math>\delta = 6,91</math> ppm</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (298,15 K, Methanol-d<sub>4</sub>): <math>\delta = 184</math> ppm</p>
---	---



### 7.5.4. Hydrierung von Dimethylacetylendicarboxylat DiMeADC

Bei allen Messungen von DiMeADC handelt es sich um PHIP-Messungen, daher wird der Hydrierkatalysator  $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{COD})]\text{BF}_4$  verwendet. Für eine Probe werden in einem Mikroreaktionsgefäß das Substrat und der Katalysator im deuterierten Lösungsmittel gelöst und anschließend in ein NMR-Röhrchen überführt. Die jeweiligen verwendeten Probenansätze können Tabelle 20 entnommen werden. Tabelle 20 listet zudem die Hydrierzeit, das Probenvolumen, das verwendete Lösungsmittel und das jeweilige Kapitel, in dem die Messungen dargestellt werden, auf. Die Tabelle 21 zeigt die Zuordnung der chemischen Verschiebungen der jeweiligen Kerne in ppm.

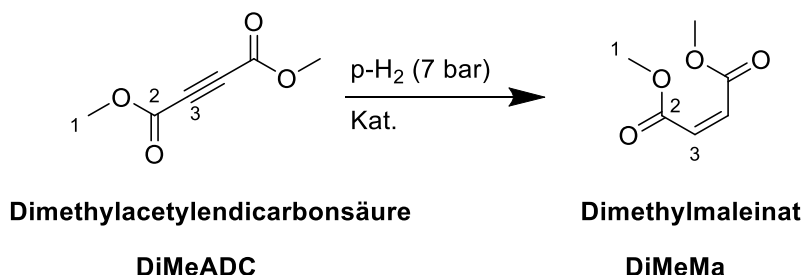


Abbildung 58: Reaktionsschema der ersten Hydrierung von Dimethylacetylendicarboxylat DiMeADC zu Dimethylmaleinat DiMeMa.

Tabelle 20: Ansatz-tabelle für die Proben der Hydrierung von DiMeADC zu DiMeMa für die gezeigten Messungen.

c(DiMeADC) / mM	c(Kat.) / mM	p-H <sub>2</sub> Zeit / s	Volumen / µL	LöMi	Kapitel (Kern)	
1,48	1,45	10s	600	CDCl <sub>3</sub>	5.2.4	80°C
0,406	5,18	20	500	Aceton-d <sub>6</sub>	5.3.1	
740	3,88	30	550	Aceton-d <sub>6</sub>	5.4.3	Labor-MFC
740	3,86	30	550	Aceton-d <sub>6</sub>	5.4.3	ZULF-MFC

Tabelle 21: Strukturformel und Verschiebungszuordnung von DiMeADC und DiMeMa.

	<p><b>Zuordnung DiMeADC</b></p> <p><sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, 298,15 K, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3,8 (s, 6H, 1-H, 1'-H) ppm</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 298,15 K, CDCl<sub>3</sub>): δ = 151 (s, C-2,2'), 74 (s, C-3,3'), 51 (q, C-1,1') ppm</p>
	<p><b>Zuordnung DiMeMa</b></p> <p><sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, 298,15 K, CDCl<sub>3</sub>): δ = 6,2 (s, 6H, 3-H, 3'-H), 3,8 (s, 6H, 1-H) ppm</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 298,15 K, CDCl<sub>3</sub>): δ = 165 (C-2,2'), 130 (C-3,3'), 52 (C-1,1') ppm</p>

### 7.5.5. Hydrierung von Fmoc-Tyrosin(Propargyl)-OH

In einem NMR-Röhrchen wird eine Probe, mit einer Konzentration von 8 mM Fmoc-Tyrosin(Propargyl)-OH und 2,2 mM [Rh(dppb)(COD)]BF<sub>4</sub> in 600  $\mu$ L Methanol-d<sub>4</sub> angesetzt. Diese Probe wird im  $\mu$ -Metallschild für 30 s mit 7 bar p-H<sub>2</sub> durchströmt. Anschließend wird der ZULF-MFC unter Heliumüberdruck durchgeführt, die Probe in den 11,7 T-Magneten transportiert und gemessen. Abbildung 59 zeigt die Hydrierung und die Strukturformel des Substrates Fmoc-Y(Propargyl)-OH und des Produktes Fmoc-Y(Allyl)-OH. Tabelle 22 zeigt die Zuordnung der chemischen Verschiebungen der jeweiligen NMR-Kerne in ppm.

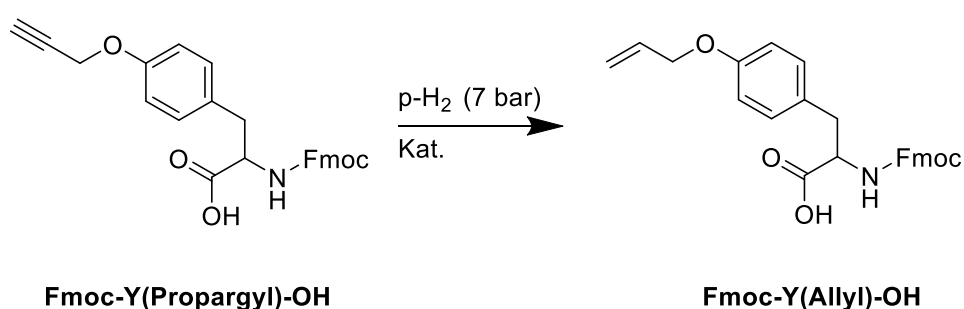


Abbildung 59: Reaktionsschema des ersten Hydrierungsschrittes von Fmoc-Y(Propargyl)-OH zu Fmoc-Y(Allyl)-OH.

Tabelle 22: Strukturformel und Verschiebungszuordnung von Fmoc-Y(Propargyl)-OH und Fmoc-Y(Allyl)-OH.

	<p><b>Zuordnung Fmoc-Y(Propargyl)-OH</b></p> <p><sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 298,15 K, Methanol-d<sub>4</sub>): <math>\delta</math> = 174 (C-10), 157 (C-4) 130 (C-6), 127 (C-7), 114,5 (C-5), 79 (C-2), 75 (C-1), 56 (C-3), 55 (C-9), 36 (C-8) ppm</p>
	<p><b>Zuordnung Fmoc-Y(Allyl)-OH</b></p> <p><sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 298,15 K, Methanol-d<sub>4</sub>): <math>\delta</math> = 174 (C-10), 158 (C-4), 134 (C-2), 130 (C-6), 127 (C-7), 116 (C-1), 114 (C-5), 68,4 (C-3), 56 (C-9), 36 (C-8) ppm</p>
	<p>Folgende <sup>13</sup>C-Signale werden von der Fmoc-Schutzgruppe erzeugt:</p> <p>144, 141, 127, 125, 125, 119, 67, 47 ppm.</p>

## 7.5.6. Hydrierung von Propargylalkohol

Bei allen Messungen von Propargylalkohol handelt es sich um PHIP-Messungen, daher wird der Hydrierkatalysator  $[\text{Rh}(\text{dppb})(\text{COD})]\text{BF}_4$  verwendet. Für eine Probe werden in einem Mikroreaktionsgefäß das Substrat und der Katalysator im deuterierten Lösungsmittel gelöst und anschließend in ein NMR-Röhrchen überführt. Die jeweiligen verwendeten Probenansätze können der Tabelle 23 entnommen werden. Tabelle 23 listet zudem die Hydrierzeit, das Probenvolumen, das verwendete Lösungsmittel und das jeweilige Kapitel, in dem die Messungen dargestellt werden, auf. Die Tabelle 24 zeigt die Zuordnung der chemischen Verschiebung der jeweiligen NMR-Kerne in ppm.

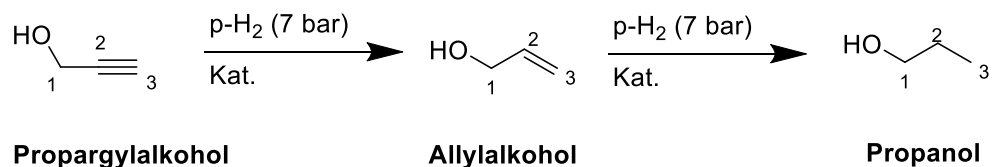


Abbildung 60: Reaktionsschema der Hydrierung von Propargylalkohol zu Allylalkohol zu Propanol.

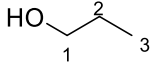
Tabelle 23: Zusammenfassungen der Reaktionsansätze für die Hydrierungsreaktionen Propargylalkohol zu Allylalkohol zu Propanol.

c(Edukt)	c(Kat.)	p-H <sub>2</sub>	Zeit	Gesamtvolumen	LöMi	Kapitel
/ mM	/ mM	/ s		/ $\mu\text{L}$		Abb. Nr.
14	0,32	30		600	MeOD	5.3.2 Abb. 35
1307	1,45	10		550	Aceton-d <sub>6</sub>	5.4.2 Abb. 41
285	1,07	30		600	Aceton-d <sub>6</sub>	5.4.3 Abb. 43
307	1,6	30		550	Aceton-d <sub>6</sub>	5.4.3 Abb. 44

Für die Referenzmessung von Allylalkohol wird eine Probe angesetzt mit 294 mM (11  $\mu\text{L}$ ) Substrat in 550  $\mu\text{L}$  Aceton-d<sub>6</sub> gelöst.

Tabelle 24: Strukturformel und Verschiebungszuordnung von Propargylalkohol, Allylalkohol und Propanol.

	<p>Zuordnung <b>Propargylalkohol</b></p> <p><sup>1</sup>H-NMR (298.15 K, Aceton-d<sub>6</sub>): <math>\delta = 4,3</math> (2H, 1-H), 2,5 (s, 1H, 3-H), 2,4 (s, OH) ppm</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (298.15 K, Aceton-d<sub>6</sub>): <math>\delta = 82</math> (C-1), 74 (C-3), 52 (C-2) ppm</p>
	<p>Zuordnung <b>Allylalkohol</b></p> <p><sup>1</sup>H-NMR (298.15 K, Aceton-d<sub>6</sub>): <math>\delta = 6-5,9</math> (m, 1H, 2-H), 5,3-5,1 (dd, 2H, 3-H), 4,2 (2H, 1-H), 2,0 (s, OH) ppm</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (298.15 K, Aceton-d<sub>6</sub>): <math>\delta = 140</math> (C-2), 113 (C-3), 63 (C-1) ppm</p>

	<p>Zuordnung <b>Propanol</b></p> <p><sup>1</sup>H-NMR (298.15 K, CDCL): δ = 3,6 (t, 2H, 1-H), 1,6 (sextett, 1H, 2-H), 0,9 (t, 3H, 3-H) ppm.</p> <p><sup>13</sup>C-NMR (298.15 K, Aceton-d<sub>6</sub>): δ = 65 (C-1), 26 (C-2), 10 (C-3)</p>
---	--

## 7.6. Datenauswertung und Bestimmung von Verstärkungsfaktoren

Die Datenauswertung beginnt mit der Phasenkorrektur, gefolgt von der Korrektur der Basislinie und der anschließenden Berechnung des Integrals der interessierenden Signale. Das PHIP-Signal kann sowohl positive, als auch negative Signalkomponenten enthalten. Hier muss die Summe der beiden absoluten Integralkomponenten verwendet werden (häufig bei Protonen der Fall). Zur Berechnung des Verstärkungsfaktors ( $\epsilon$ ) wird das entsprechende Integral des thermischen Signals benötigt. Um das Integral auch bei unterschiedlichen Messparametern vergleichen zu können, wird die Anzahl der Scans (NS) und der Empfängerverstärkung (RG) normiert. Die Berechnung erfolgt anschließend nach Gleichung (17).

$$\epsilon = \frac{Int_{PHIP}/N_{PHIP}}{Int_{Thermal}/N_{Thermal}} \quad (17)$$

Mit dem Normierungsfaktor  $N_j = (RG_j) \cdot (NS_j) \cdot (\text{Anzahl der Protonen } j)$  für jeden Zustand  $j$ .

Der erhaltene Wert entspricht einer effektiven Verstärkung des PHIP-Spektrums im Verhältnis zum thermischen Spektrum.

Bei den <sup>13</sup>C-Messungen konnte teilweise kein thermisches Signal in angemessener Zeit gemessen werden. Wenn ein thermisches Signal des Lösungsmittels detektiert wurde, kann dies als interner Standard verwendet werden, da das Lösungsmittel bei der Reaktion unverändert bleibt. Alternativ kann auch eine Messung eines externen Standards (beispielsweise eine Messung des Produktes) verwendet werden. Hier wird dann das Konzentrationsverhältnis zwischen den Komponenten ebenfalls berücksichtigt (Gleichung (18)).

$$\epsilon = \frac{Int_{PHIP}/N_{PHIP}}{Int_{Standard}/N_{Standard}} \cdot \frac{c_{Standard}}{c_{Analyt}} \quad (18)$$

Unter der Annahme, dass das Experiment für die Messung des hyperpolarisierten Signals eine Minute gedauert hat, wird mittels des Quadrats des Verstärkungsfaktors ( $\epsilon^2$ ) eine Abschätzung der aufzuwendenden Messzeit für ein thermisches Signal gleichen Signal-zu-Rausch-Verhältnisses erhalten.

## 7.7. Berechnung der Hyperpolarisation in Prozent

Der prozentuale Wert der Hyperpolarisation in % wird berechnet aus der thermischen Polarisation  $P_{\text{therm}}$  multipliziert mit dem Verstärkungsfaktor  $\varepsilon$ .<sup>[51]</sup>

$$P_{\text{Therm}} = \tanh\left(\frac{|\gamma|\hbar B_0}{2k_B T}\right) \quad (19)$$

$$[\%] = P_{\text{Therm}} \cdot \varepsilon \cdot 100\% \quad (20)$$

Tabelle 25: Verwendete Parameter für Gleichung 19.

$\hbar / \frac{\text{J}}{\text{s}}$	$1,055 \cdot 10^{-34}$
$k_B / \frac{\text{J}}{\text{K}}$	$1,38 \cdot 10^{-23}$
T (11,7 T) /K	298,15
T (1,4 T) /K	313,15
$\gamma_{^{13}\text{C}} / 10^7 \frac{\text{rad}}{\text{sT}}$	6,72626
$\gamma_{^{15}\text{N}} / 10^7 \frac{\text{rad}}{\text{sT}}$	-2,7116

## 7.8. Ergänzende Spektren

### 7.8.1. SABRE

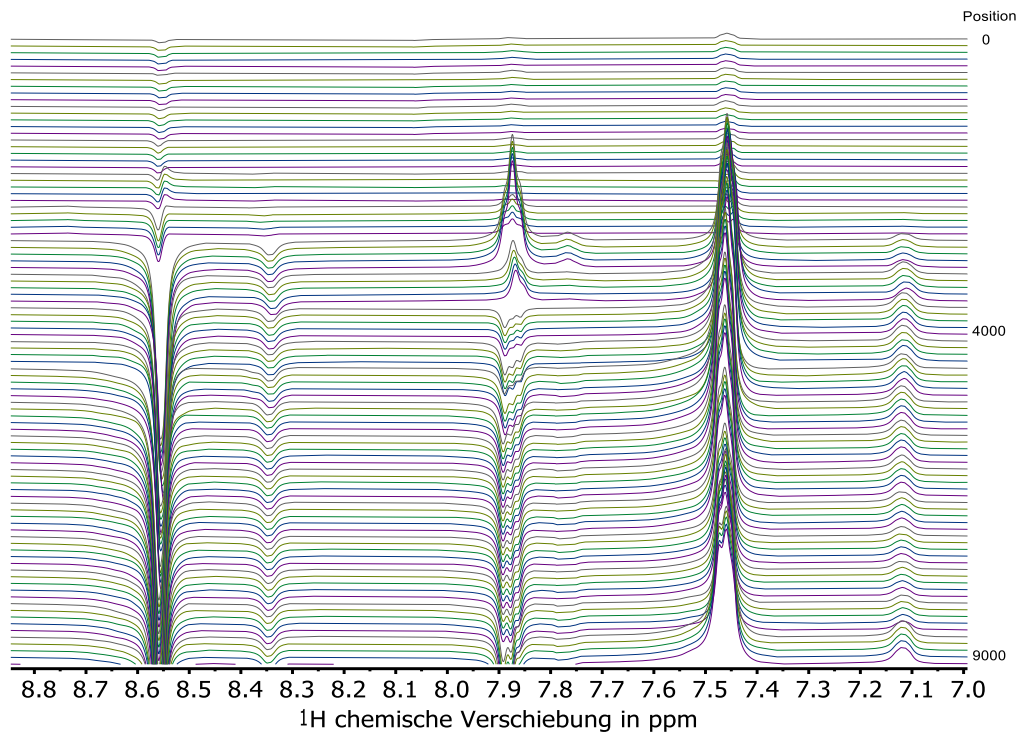


Abbildung 61: Darstellungen der  $^1\text{H}$ -Messungen von Pyridin, deren Signalintegrale für Kapitel 5.2, Abbildung 22 verwendet wurden.

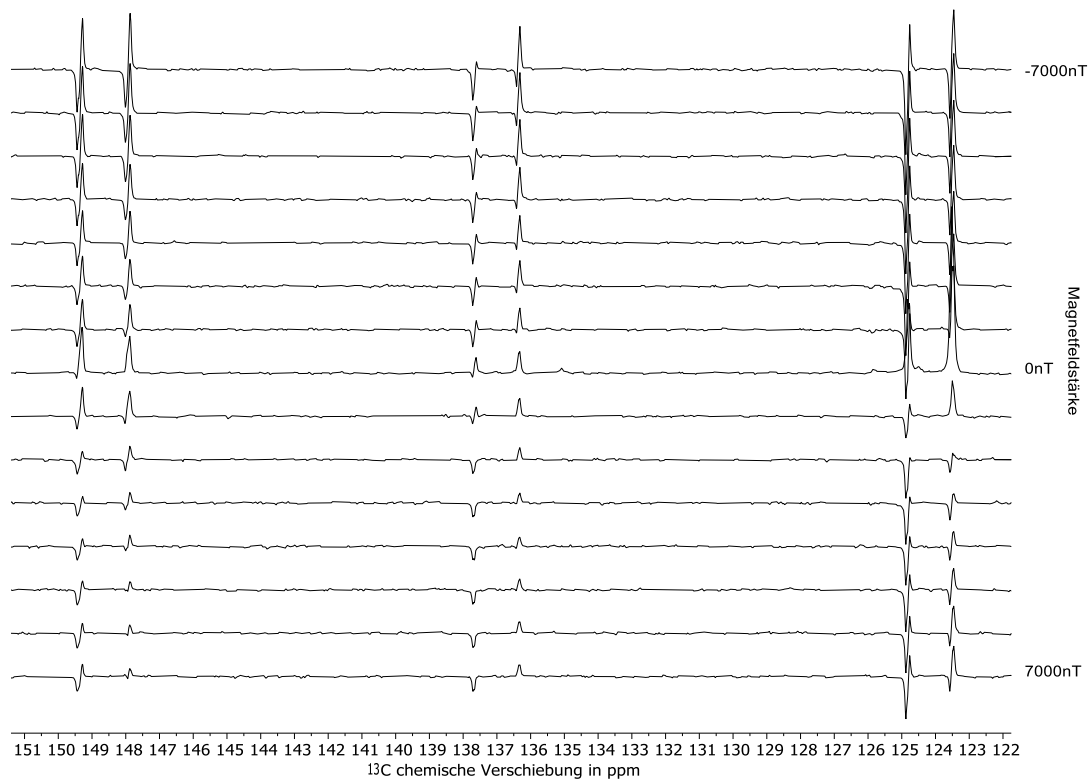


Abbildung 62: Darstellungen aller  $^{13}\text{C}$  Messungen von Pyridin, deren Integrale für Kapitel 5.2, Abbildung 23 zur Bestimmung der SOT-Bedingungen verwendet wurden.

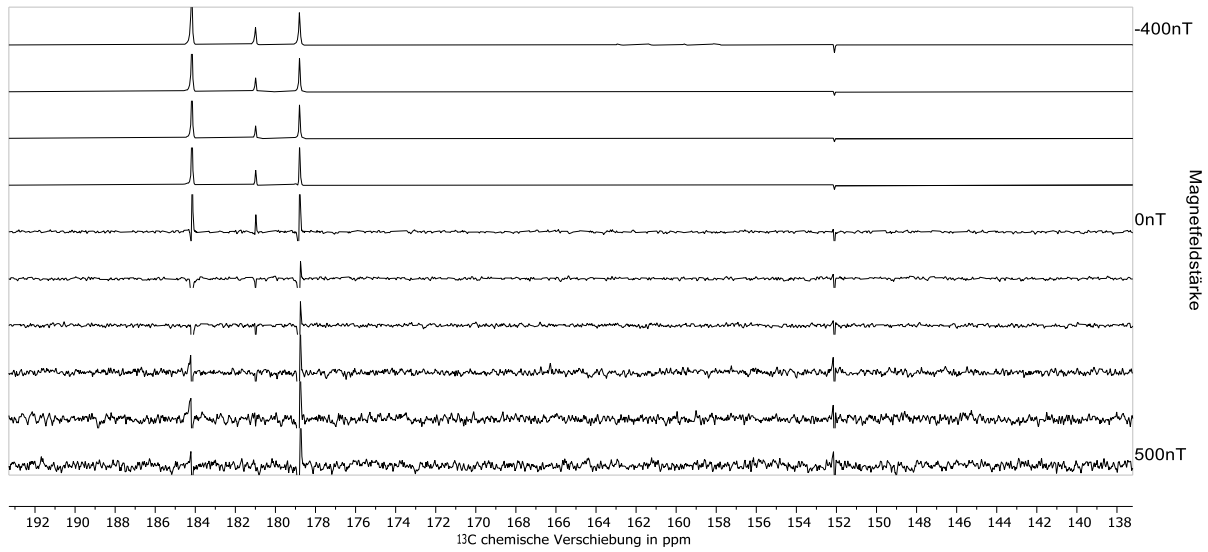


Abbildung 63: Darstellung der detektierten Thiourea Spektren von 500 bis -500nT in 100 nT Schritten. Aufgenommen wurde jeweils 1 Scan nach 10 s p-H<sub>2</sub>-Zufuhr an Position 8900. Rohdaten für Abbildung 28, Kapitel 5.2.3

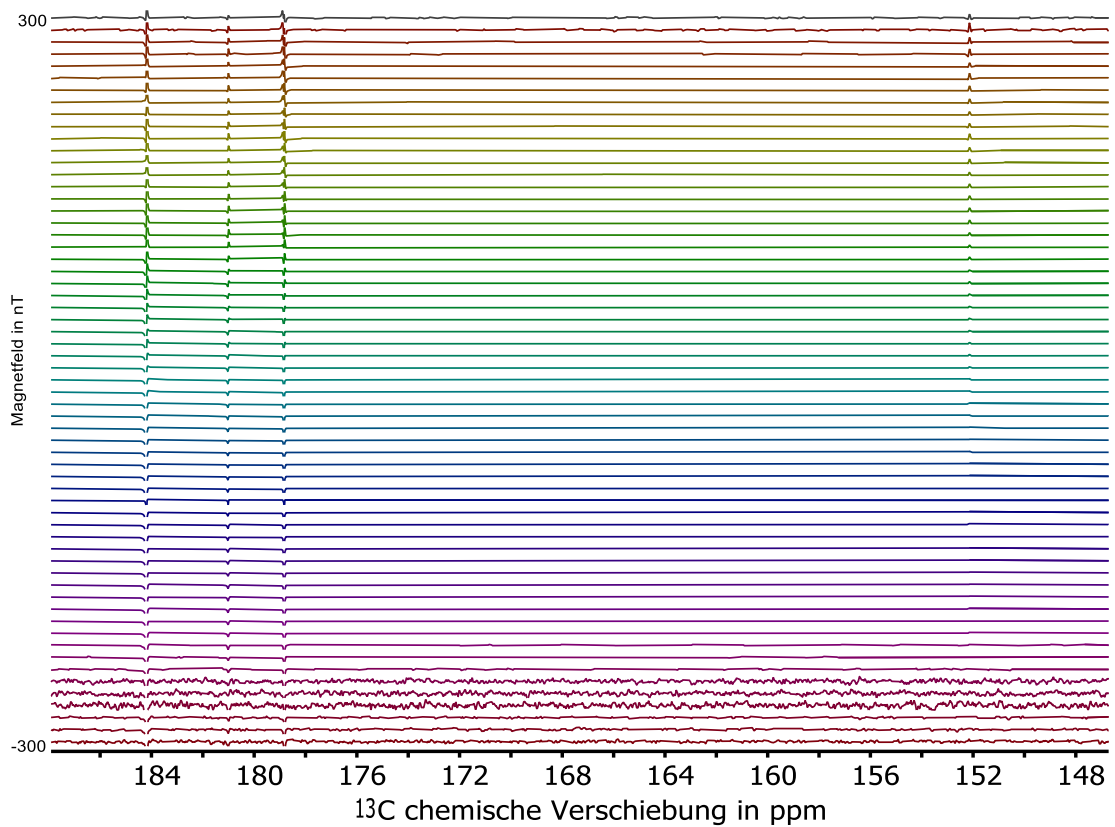


Abbildung 64: Darstellung der detektierten Thiourea Spektren von 300 bis -300nT in 10 nT Schritten. Aufgenommen wurde jeweils 1 Scan nach 10 s Hydrieren an Position 8900. Für die Abbildung 28, Kapitel 5.2.3

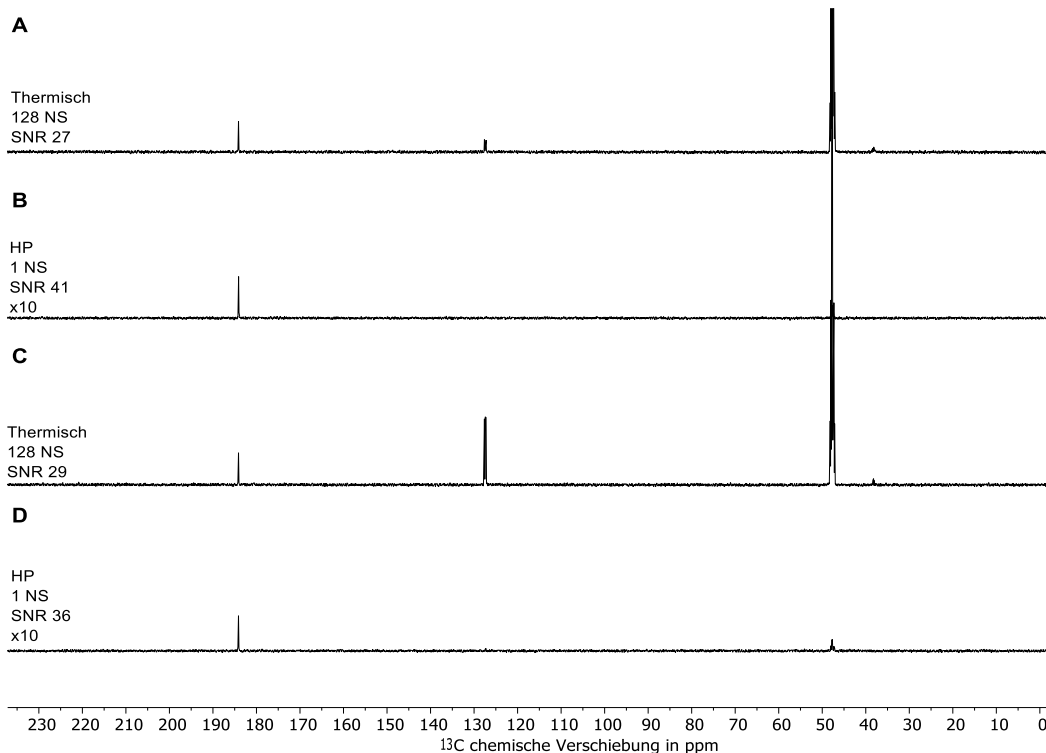


Abbildung 65: Ergänzend zu Abbildung 37 Kapitel 5.3.3. Die vollständigen  $^{13}\text{C}$ -Spektren von der SABRE-Messung an Thiourea mit (10  $\mu\text{L}$ ) DMSO (B) und ohne DMSO (D), sowie die jeweiligen thermischen Spektren A und C. Zu erkennen sind das Thioureasignal bei 185 ppm, DMSO bei 40 ppm und das deuterierte Lösungsmittel Methanol bei 50 ppm. Eine Benzenverunreinigung ist bei 128 ppm zu erkennen. Diese entsteht durch deuteriertes Benzen, was bei einer vorherigen Messreihe in die Teflonschläuche gelangte, ist aber nur in den thermischen Spektren zu detektieren.

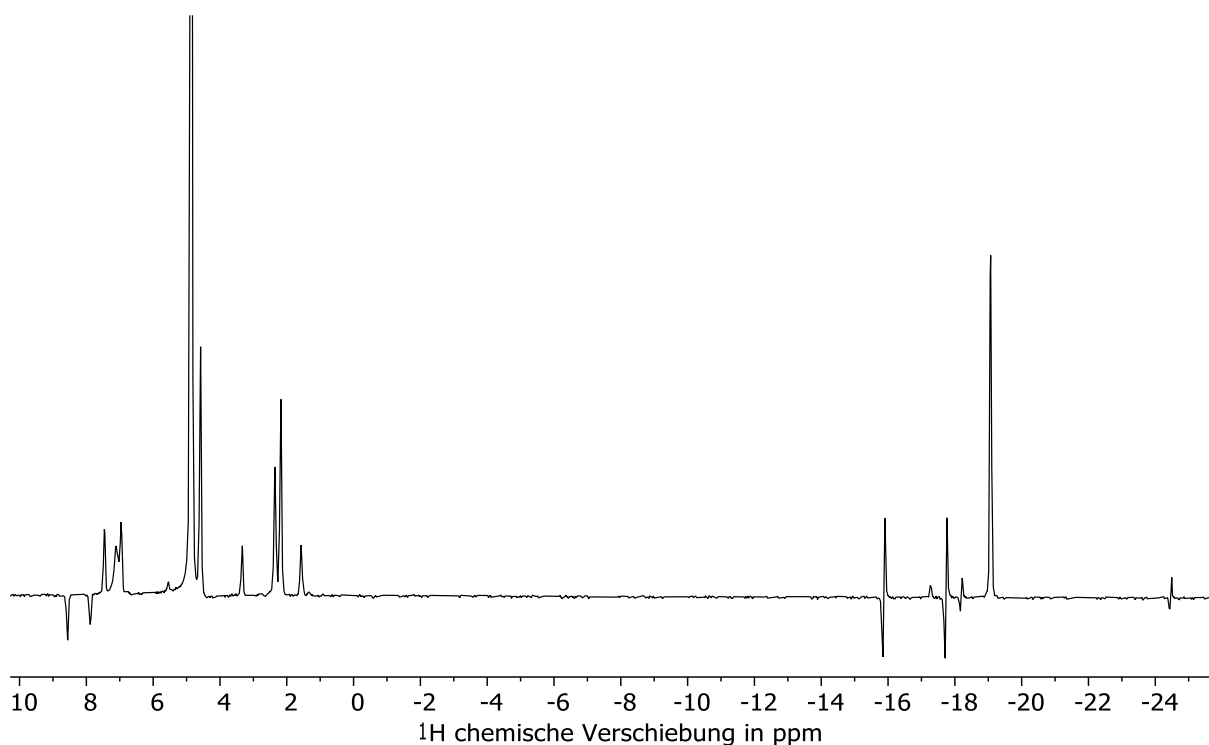


Abbildung 66: Ein-Scan-Protonenspektrum von 13 mg Thiourea mit Pyridin, 2,05 mg/ml Ir-IMes in 500  $\mu\text{L}$  Methanol- $d_4$ , nach der SABRE-Technik mit dem multifunktionalen Aufbau (Kapitel 5.4.1).



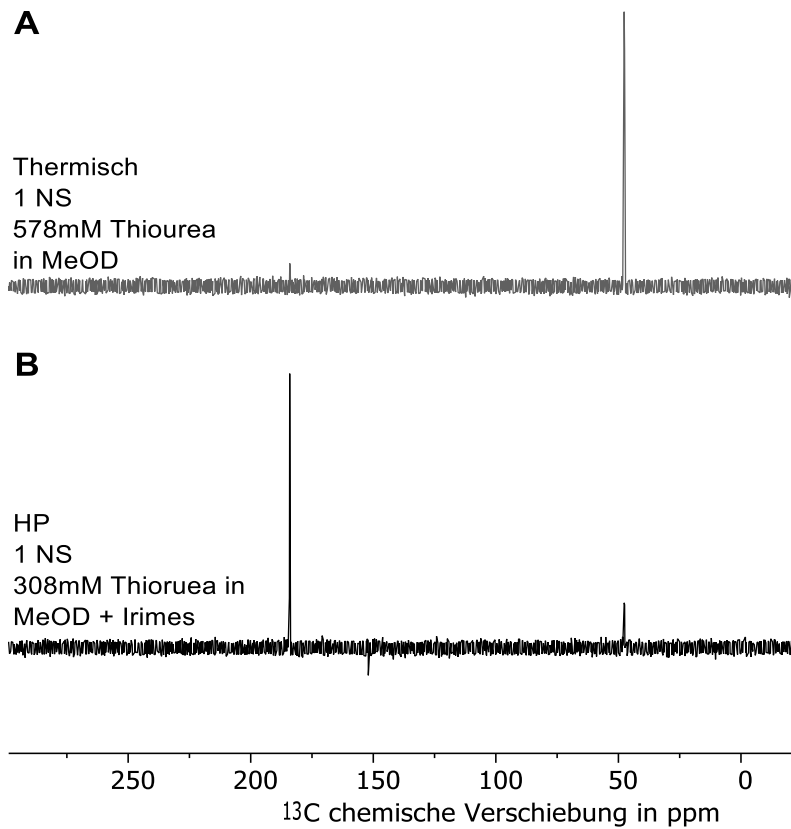


Abbildung 67: Vergleich einer Thiourea Standardprobe (578 mM) in Methanol (A), gegen eine 308 mM Thiourea Probe mit Irimes, nach 60 s p-H<sub>2</sub>-Zufuhr im statischen nahe Nullfeld. Beide detektiert mit dem Hochfeld. Die Verstärkung zwischen dem thermischen und nicht thermischen Spektrum wird zu  $\epsilon = 174$  und einer Polarisierung von 0,18 % bestimmt.

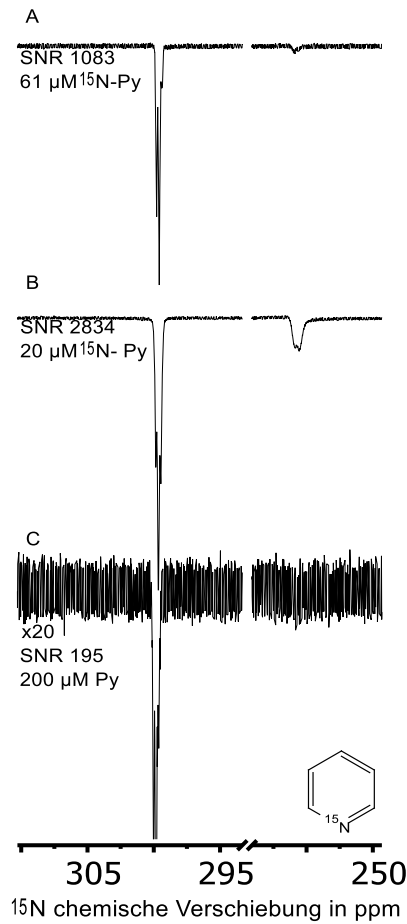


Abbildung 68:  $^{15}\text{N}$ -Spektren von hyperpolarisiertem  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkiertem Pyridin, ergänzend zu Kapitel 5.2.2, zur Veranschaulichung der Sensitivität, ohne Apodisation, um die Feinstruktur zu zeigen.

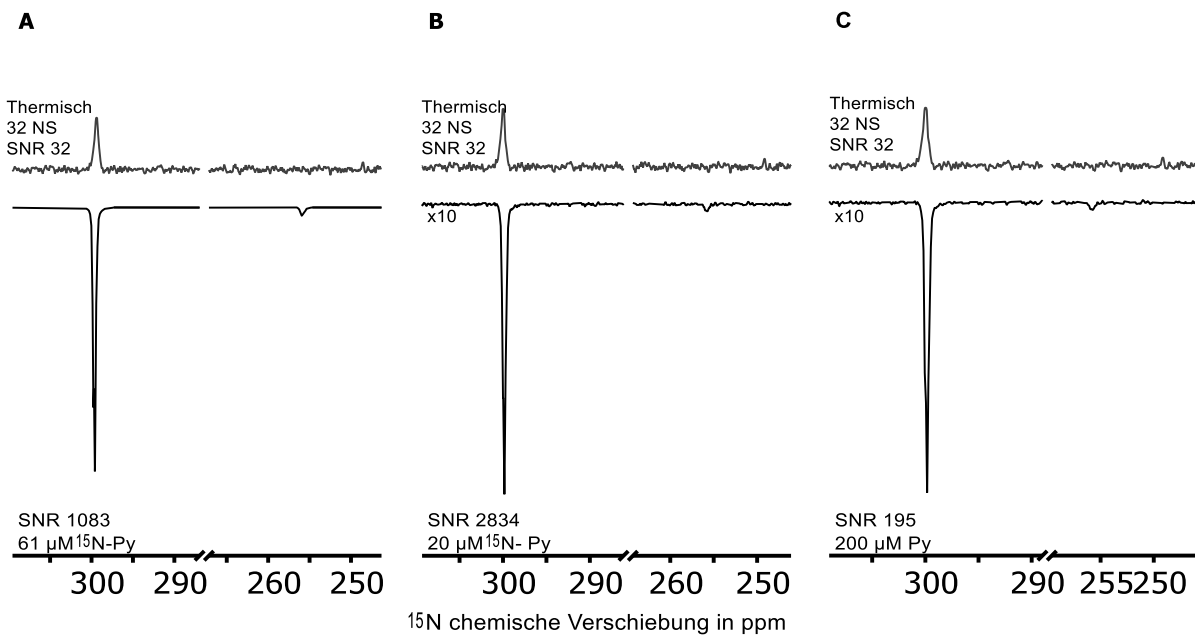


Abbildung 69:  $^{15}\text{N}$ -Spektren von hyperpolarisiertem Pyridin, ergänzend zu Kapitel 5.2.2, zur Veranschaulichung der Sensitivität. Oben jeweils das thermische Spektrum einer externen Standardprobe von  $^{15}\text{N}$ -markiertem Pyridin (20  $\mu\text{M}$ ) zur Bestimmung der Verstärkungsfaktoren und Polarisation. Für A:  $\epsilon = 1860$ , HP = 0,75%; Für B:  $\epsilon = 145$ , HP = 0,06 %; Für C:  $\epsilon = 24125$ , HP = 9,8 % (unter Beachtung der natürlichen Häufigkeit).

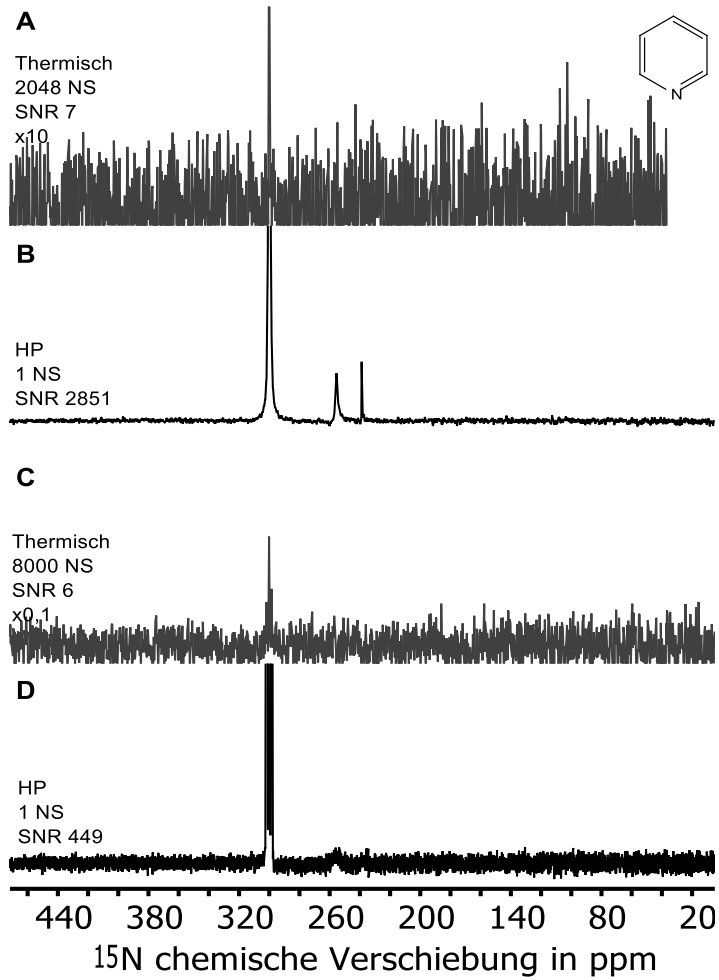


Abbildung 70: Vollständige  $^{15}\text{N}$ -Spektren, einer  $^{15}\text{N}$ -Markierten Pyridinprobe, die in Abbildung 48 gezeigt wurde.

## 7.8.2. PHIP

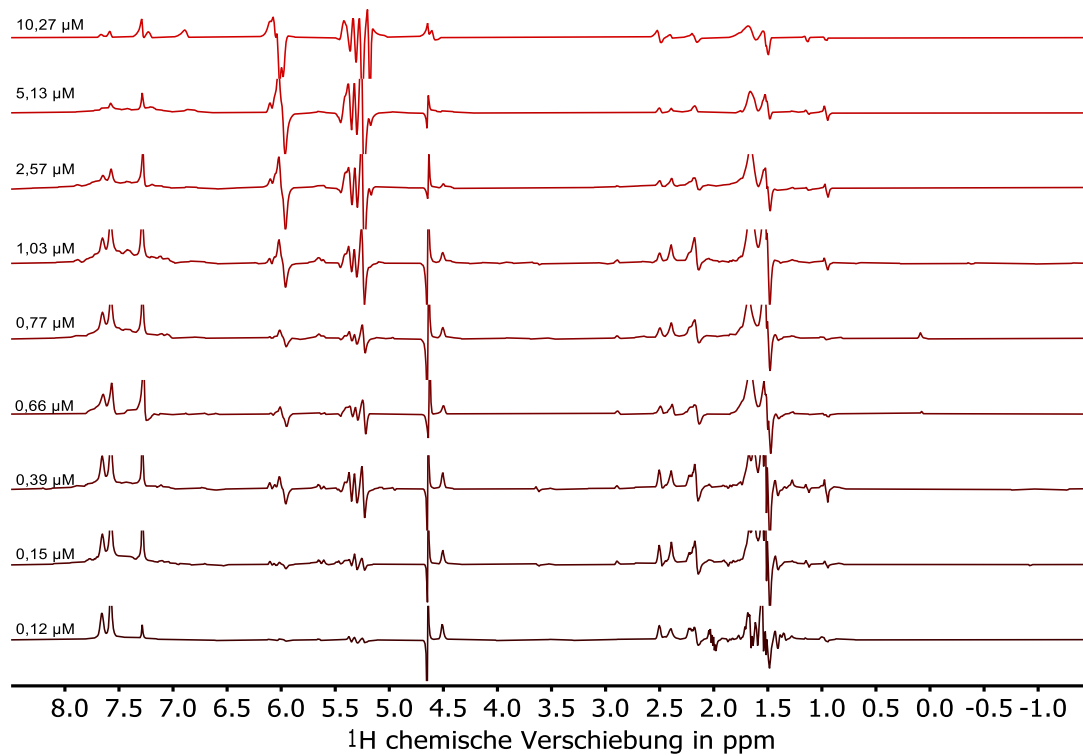


Abbildung 71:  $^1\text{H}$ -PHIP-Spektren von PPOBLG unterschiedlicher Konzentrationen, für die Bestimmung der Verstärkungsfaktoren Abbildung 19, Kapitel 5.1.1.

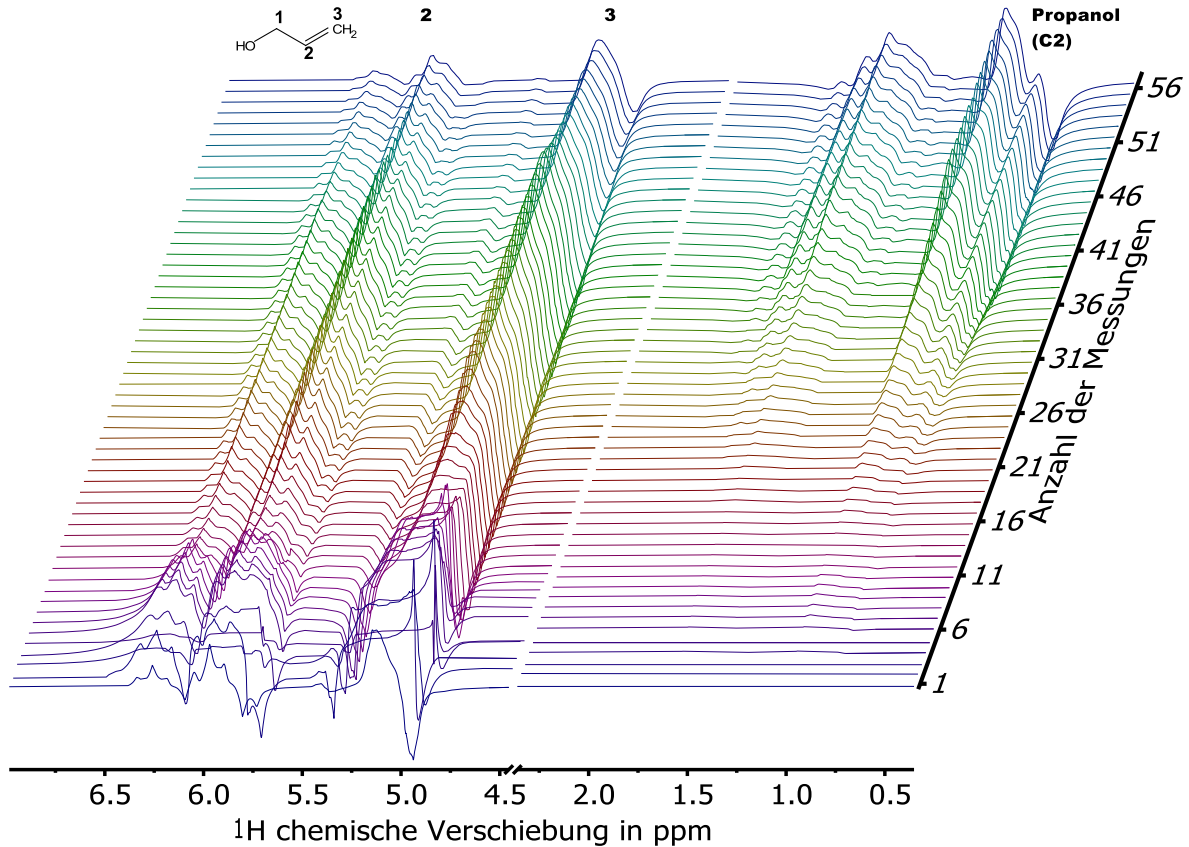


Abbildung 72: Parawasserstoffbasierte Hydrierkinetikmessungen zur Ermittlung der Integrale für die Darstellung Abbildung 42 in Kapitel 5.4.2.

---

## 7.9. AU und Pulsprogramme

Nachfolgend werden relevante, verwendete AU-Programme und Pulsprogramme in den Originalversionen dargestellt.

### ChangeBlow4

```
AUERR = local_au(curdat);
QUIT
#include <rs232.c>
/*#include <windows.h>
#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <Field_to_step.h>
#include <Field_to_step.c>
#include <unistd.h>
#include <rs232.h>
#include <stdafx.h>
#include <malloc.h>
#include <math.h>
/* manual here: http://www.teuniz.net/RS-232/ */
/* to measure field dependence from 0 to 13500 nT max (0.135G or 135mG)*/
/* Power supply must be connected to Z coil via Resistor 246 Ohm! */
/* Find "+" wire and connect to "+" output of power supply !!! */
/* Set manually 50mA current to control voltage*/
/*Field values in nT */
/*##### LOCAL FUNCTIONS STARTS##### */
static int openCOM()
{
    int port=0; /* set 3 for COM4*/
    if(RS232_OpenComport(port, 9600, "8N1")) /* OpenComport ("portnumber 0=com1, 3=COM4, 4=COM5,
    5=COM6, etc", baudrate, mode see manual) */
    {
        printf("Can not open comport\n");
        return(1);
    }
    return(0);
}
static int sendV(double chan, double volt) /* enter channel (chan) and voltage in mV to set*/
{
    char tosend[256];
    char stateON[256];
    char arr[100];
    int port=0; /* set 3 for COM4  strcat(tosend,"\r\n"); */
    /*select device*/
    sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
    strcpy(tosend,arr);
    printf(tosend);
    RS232_cputs(port, tosend);
    sleep(1);
    RS232_flushRXTX(0);
    /* sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
    strcpy(tosend,arr);
    printf(tosend);
    RS232_cputs(port, tosend);
    sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
    strcpy(tosend,arr);
    printf(tosend);
    RS232_cputs(port, tosend);
    sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
    strcpy(tosend,arr);
    printf(tosend);
    RS232_cputs(port, tosend);
    sleep(1);
```

```

    sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
    sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
    sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);*/
    sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
    sleep(1);
    RS232_flushRXTX(0);
return(0);
}
static int sendB(double chan,double a)
{
    a=0.00431872*a;
char tosend[256];
char stateON[256];
char arr[100];
int port=0; /* set 3 for COM4*/
sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n CURR %.3f\n", chan,a/1000);
strcpy(tosend,arr);
strcat(tosend,"\r\n");

RS232_cputs(port, tosend);
sleep(1);
return(0);
}
static int sendI(double chan, double I) /* enter channel (chan) and voltage in mV to set*/
{
char tosend[256];
char stateON[256];
char arr[100];
int port=0; /* set 3 for COM4  strcat(tosend,"\r\n"); */
/*select device*/
sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n CURR %.3f\n", chan,I/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sleep(1);
return(0);
}
/*##### LOCAL FUNCTIONS ENDS ##### */
int local_au(const char* curdat)
{
int Nfields= 32;/*size of array of the fieldcycle, this is how many steps you record */
int offsetB = 1500; //offset point for fieldcycle, you start from here (in nano Tesla)
int increment = -100; // increment for the fieldcycle, this is the size of the steps you are going in nanoTesla
double field_offset = 30956;
/*****/
/* If you to determine zero field ofset - set _field_offset = 0 _ */
/* Overvise, the field_offset will be added to Fields[Nfields] array values! */
/*****/
//double field_offset = 30956;//30056;//20256; //570; // zero field offset observed by experiment typical 570 nT
for V1=-624.4 V2=-59.6 V3=-580.8
/* script to make array with incrementing values */
/*double Fields[Nfields];
double startvalue=0, increment=50; // DEFINE start value and increment in nT! Min field step 2.8 nT

```

```

for(i1=1; i1 <= Nfields; i1++)
{
Fields[i1-1]= startvalue + increment*(i1-1);
}
//end of script
// script to make log-spaced list of fields (including field offset */
//double* Fields = logspace(10,13000,Nfields);
//end of script
/* direct construction of real field list */
//double Fields[10] = {20.0,40,70.7,135.6,260.0,500.0,958.0,1840.0,3530.0,6770.0}; //logspace 10 to 13000 nT
//double Fields[13] = {259.0,675.0,335.0,645.0,200.0,490.0,520.0,800.0,900.0,1800.0,2900.0,3000.0,6000.0};
//MeProp C13 lowfield IZ_20171124
//double
Fields[50]={0,1,2,2.5,3,3.1,3.2,3.3,3.4,3.5,3.6,3.7,3.8,3.9,4,4.2,4.3,4.4,4.5,5,5.5,6,7,7.5,8,10,11,12,13,15,16,18,2
0,22,25,30,31,33,35,40,45,50,55,60,70,80,90,95,100,110}; //SABRE
//double Fields[52]={-369, -302, -247, -202, -166, -135, -111, -91, -74, -61,
-50, -41, -33, -27, -22, -18, -15, -12, -10, 0, 10, 12,
15, 18, 22, 27, 33, 41, 50, 61, 74, 91, 111, 135,
166, 202, 247, 302, 369, 451, 551, 673, 823, 1006, 1229, 1502,
1835, 2242, 2740, 3348, 4092, 5000};
//double Fields[50]={-405, -321, -255, -202, -160, -127, -101, -80, -64, -50, -40, -32, -25, -20, -16, -13, -5, 0, 5, 13,
16, 20, 25, 32, 40, 50, 64, 80, 101, 127, 160, 202, 255, 321, 405, 510, 643, 810, 1021, 1287, 1621, 2043, 2575,
3245, 4090, 5154, 6495, 8185, 10316, 13000};
//double Fields[32]={10, 12, 15, 18, 22, 27, 33, 41, 50, 61, 74,
91, 111, 135, 166, 202, 247, 302, 369, 451, 551, 673, 823,
1006, 1229, 1502, 1835, 2242, 2740, 3348, 4092, 5000};
//double Fields[46]={100, 100, 100, -24, -20, -10, 10, 100, 20, 24, 29, 35, 100, 43, 52, 63, 76, 100, 92, 111, 134,
162, 100, 196, 238, 288, 348, 100, 421, 509, 616, 745, 100, 901, 1090, 1319, 1595, 100, 1930, 2335, 2824, 3417,
100, 4133, 5000,100};
double Fields[2]={6500, 19000};
//double Fields[18]={-43,-20,-10,-5,-4,-3,-2,-1,0,1,2,3,4,5,10,20,30,40};
//double Fields[28]={100, 100, -400, -300, -250, -200, -150, 100, -100, -50, -20, 0, 10, 100, 20, 30, 40, 57, 80,
100, 113, 160, 226, 320, 453, 100, 640, 906};
//double
Fields[60]={100,100,100,100,10,11,12,14,15,17,19,21,24,100,26,29,33,37,41,45,51,100,56,63,70,78,87,97,108,
120,134,149,100,166,185,206,230,256,286,318,355,395,440,100,490,546,609,678,756,842,938,1045,1165,1298,
100,1446,1611,1795,2000,100};
//double Fields[29]={100, 10, 20, 30, 40, 100, 50, 80, 100, 100, 139, 195, 220, 100, 271, 320, 379, 450, 100, 528,
600, 737, 780, 100, 820, 900, 1028, 1434, 100};
//////////
/*
int i1=0;
for(i1=0;i1<Nfields;i1++)
{
Fields[i1] = Fields[i1]+field_offset;
}
*/
double Field=0, writeA;
int counter=0;
char temp[256];
FILE *fTitle;
GETCURDATA
openCOM();
sendV(1,1);
//RS232_CloseComport(0);
for(counter=0;counter<Nfields;counter++)
{
// Field=Fields[counter]; /*this line uses the values from the Fields array above,
uncomment/comment out for used/not used */
Field = field_offset + counter*increment + offsetB; // this line makes a linear field cycle using the offset and
increment defined above. Uncomment/comment out for used/not used
sendV(1,Field/2.287); /*send Field to the power supply using COM port*/ //factor of voltage converted to
field. actual for 100OHM resistor
ZG
/* edit title add line with voltage*/

```

```

    strcpy (temp,PROCPATH("title"));
    fTitle=fopen(temp, "a");
    writeA=Field/2.287;
    fprintf (fTitle,"\n%d SetField= %.0f nT RealField= %.0f nT V= %.3f",counter+1,Field, Field-
field_offset,writeA);
    fclose(fTitle);
/* finish edit title*/
STOREPAR("CNST 7", Field*100); //store field in nT
STOREPARS("CNST 7", Field*100);
/*EFP*/
    IEXPNO
    sleep(1);
}
//      openCOM();
sendV(1,field_offset/1.849);
//      RS232_CloseComport(0); //set field in the end
free(Fields);
sleep(5);
//QUITMSG("AU changeBlow finished!")
}

```

## motor\_phip90\_NEW

```

;motor_phip90
/*!!!!!!connections!!!!!!
STEP= W2, Direction = W4
/* phip at high pressure with shuttle*/
/*Motor settings: 1/4 step. 800 steps per cycle*/
/*Full distance about 9100, 8900 is center of ZULF steps*/

#include <Avance.incl>
#include <motor.incl>
#include <TTLvalves-motor-arduino_NEW.incl>
; use commands for operating valves
; INOUT_ON, INOUT_OFF, pH2_ON, pH2_OFF, N2_ON, N2_OFF,
; VAC_ON, VAC_OFF, E_ON, E_OFF, REG_ON, REG_OFF
"p2=p1*2"
;"acqt0=-p1*2/3.1416"
1 ze
/*fool check*/
0.1s
if "distance>9110"
{
autosuspend
}
2 20m
10u pl1:f1
LOCKH_OFF ;LOCK is on for long d1!
d1 ;solvent suppression , presaturation
/*DONT PUT ANY LINE BETWEEN D1 AND "if trignl1" . d1 must be >2.5s*/
;##### start to check Does sample at zero position?
if trignl1 goto 3 /* jump from loop if trigger is shortcutted (dont put this condition in the beginning of the loop! it
needs time to check)*/
100m
autosuspend
3 100m
##### end check
LOCKH_ON
10m
;;;EVAC chamber and line ohne REG and bubble with He for d14
;      VAC_ONOFF ; switch VA_ON
;      E_ONOFF; switch E_ON
;      350m ; wait for evacuation
;      VAC_ONOFF ; switch VAC_OFF

```



```

;      10m
;      10m N2_ON
;      10m IN_ON OUT_ON
;      E_ONOFF ; switch E_OFF
;      REG_ONOFF ; switch REG_ON
;      10m
;      d14 ; bubble Helium for d14 s
;      10m
;      REG_ONOFF ; switch REG_OFF
;      10m IN_OFF OUT_OFF N2_OFF
d16 ;delay for waiting at high field after He bubbling to reheat the sample

```

```

;%%%%%%%%% START of MOTION %%%%%%%%%%
;#####
zero_parameters ;#####
dir_UP ;#####
if "distance > (2*updown)" ;#####
{;start trapezia profile ;#####
    "ttt1=updown" ;#####
    "ttt3=updown" ;#####
    "ttt2=distance-ttt1-ttt3" ;#####
trap_up1, ;up ;#####
    "wait=1.0/v" ;#####
    step(wait) ;#####
    "tau1=tau1+1.0/v" ;#####
    "v=v0+acc*tau1" ;#####
lo to trap_up1 times ttt1 ;#####
    "wait=1.0/vmax" ;#####
trap_const1, ;plato ;#####
    step(wait) ;#####
lo to trap_const1 times ttt2 ;#####
trap_down1, ;down ;#####
    "wait=1.0/v" ;#####
    step(wait) ;#####
    "tau3=tau3+1.0/v" ;#####
    "v=vmax-acc*tau3" ;#####
lo to trap_down1 times ttt3 ;#####
};end trapezia profile ;#####
else ;#####
{;start triangle profile ;#####
    "ttt1=distance/2.0" ;#####
    "ttt2=distance-ttt1" ;#####
triangl_up1, ;up ;#####
    "wait=1.0/v" ;#####
    step(wait) ;#####
    "tau1=tau1+1.0/v" ;#####
    "v=v0+acc*tau1" ;#####
lo to triangl_up1 times ttt1 ;#####
    "vmid=v" ;#####
triangl_down1, ;down ;#####
    "wait=1.0/v" ;#####
    step(wait) ;#####
    "tau3=tau3+1.0/v" ;#####
    "v=vmid-acc*tau3" ;#####
lo to triangl_down1 times ttt2 ;#####
};end triangle profile ;#####
;#####
;%%%%%%%%% END of MOTION %%%%%%%%%%

```

```

5s
VALVES_OFF
1s
;VAC_ON E_ON
;1s ; Vacuum inlet side of chamber
    IN_ON ; vacuum inlet lines

```

```

;2m
;VAC_OFF
E_ON OUT_ON
pH2_ON ;REG_ON
1s
R_ON E_OFF
d20 ; bubble pH2 for d20 s
R_OFF E_ON ; Stop bubbling
d21
;%%%%%%%%% START of MOTION %%%%%%%%%%
;#####
zero_parameters ;#####
dir_DOWN ;#####
if "distance > (2*updown)" ;#####
{;start trapezia profile ;#####
"ttt1=updown" ;#####
"ttt3=updown" ;#####
"ttt2=distance-ttt1-ttt3" ;#####
trap_up2, ;up ;#####
"wait=1.0/v" ;#####
step(wait) ;#####
"tau1=tau1+1.0/v" ;#####
"v=v0+acc*tau1" ;#####
lo to trap_up2 times ttt1 ;#####
"wait=1.0/vmax" ;#####
trap_const2, ;plato ;#####
step(wait) ;#####
lo to trap_const2 times ttt2 ;#####
trap_down2, ;down ;#####
"wait=1.0/v" ;#####
step(wait) ;#####
"tau3=tau3+1.0/v" ;#####
"v=vmax-acc*tau3" ;#####
lo to trap_down2 times ttt3 ;#####
};end trapezia profile ;#####
else ;#####
{;start triangle profile ;#####
"ttt1=distance/2.0" ;#####
"ttt2=distance-ttt1" ;#####
triangl_up2, ;up ;#####
"wait=1.0/v" ;#####
step(wait) ;#####
"tau1=tau1+1.0/v" ;#####
"v=v0+acc*tau1" ;#####
lo to triangl_up2 times ttt1 ;#####
"vmid=v" ;#####
triangl_down2, ;down ;#####
"wait=1.0/v" ;#####
step(wait) ;#####
"tau3=tau3+1.0/v" ;#####
"v=vmid-acc*tau3" ;#####
lo to triangl_down2 times ttt2 ;#####
};end triangle profile ;#####
;#####
;%%%%%%%%% END of MOTION %%%%%%%%%%
d2
p1 ph2
go=2 ph31
20m wr #0
;VALVES_OFF
1m LOCKH_OFF
1s
exit
ph1=0

```

```

ph2=0
ph31=0
ph29 = 0

;ph1=0 2
;ph2=0 2 2 0 1 3 3 1
;ph31=0 2 2 0 1 3 3 1
;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p1 : f1 channel - high power pulse
;d1 : d1> 2.5s relaxation delay; 1-5 * T1
;d2 : waiting after shuttle
;d13 : pH2 bubbling time
;d14 : bubbling helium before reaction
;d16: wait for reheating after helium bubbling
;d11: bubbling He after reaction
;d3 : waiting before bubbling at up position
;d4 : waiting after bubbling at up position
;d20: pH2 bubbling time
;ns: 1 * n, total number of scans: NS * TD0
;cnst1: distance 8900 from bottom to up
;cnst2: acceleration up to 100 000 from bottom to up
;cnst3: start-stop speed 500 quarter STEP (800 STEP per cycle)
;cnst4: Max speed, cruize speed for trapezia; up to 10000
;cnst5: transfer time
;cnst6: -1 = triangle, 1 = trapezia

```

## Fieldsweepau1

```

AUERR = local_au(curdat);
QUIT
#include <rs232.c>
#include <time.h>
/*#include <windows.h>
#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <Field_to_step.h>
#include <Field_to_step.c>
#include <unistd.h>
#include <rs232.h>
#include <stdafx.h>
#include <malloc.h>
#include <math.h> */
/* manual here: http://www.teuniz.net/RS-232/ */
/* to measure field dependence from 0 to 13500 nT max (0.135G or 135mG)*/
/* Power supply must be connected to Z coil via Resistor! */
/* Find "+" wire and connect to "+" output of power supply !!! */
/* Set manually 50mA current to control voltage*/
/*Field values in nT */
/*##### LOCAL FUNCTIONS STARTS#####
static int openCOM()
{
int port=0; /* set 3 for COM4*/
if(RS232_OpenComport(port, 9600, "8N1")) /* OpenComport ("portnumber 0=com1, 3=COM4, 4={
printf("Can not open comport\n");
return(1);
}
return(0);
}
static int sendV(double chan, double volt) /* enter channel (chan) and voltage in mV to {
char tosend[256];
char stateON[256];
char arr[100];
int port=0; /* set 3 for COM4 strcat(tosend, "\r\n"); */
/*select device*/

```

```

sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
(1/6)
Fri Oct 06 12:51:24 CEST 2023
RS232_cputs(port, tosend);
RS232_flushRXTX(0);
/* sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n", chan);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sleep(1);
sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);*/
sprintf (arr, "VOLT %.3f\n",volt/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
// sleep(1);
delay(10);
RS232_flushRXTX(0);
return(0);
}
static int sendB(double chan,double a)
{
// a=0.00431872*a;
a=0.00431872*a;
(2/6)
Fri Oct 06 12:51:25 CEST 2023
char tosend[256];
char stateON[256];
char arr[100];
int port=0; /* set 3 for COM4*/
sprintf (arr, "INST OUT%.0f\n CURR %.3f\n", chan,a/1000);
strcpy(tosend,arr);
strcat(tosend,"\r\n");
RS232_cputs(port, tosend);
sleep(1);
return(0);
}
static int sendI(double chan, double I) /* enter channel (chan) and voltage in mV to set*/
{
char tosend[256];
char stateON[256];
char arr[100];
int port=0; /* set 3 for COM4 strcat(tosend,"\r\n"); */
/*select device*/

```

```

sprintf(arr, "INST OUT%.0f\n CURR %.3f\n", chan,I/1000);
strcpy(tosend,arr);
printf(tosend);
RS232_cputs(port, tosend);
sleep(1);
return(0);
}
void delay(int numOfSec)
{
int numOfMilliSec = 1000 * numOfSec;
time_t startTime = clock();
while(clock() < startTime + numOfMilliSec);
}
/*##### LOCAL FUNCTIONS ENDS #####*/
int local_au(const char* curdat)
{
/* script to make array with incrementing values */
127 int Nfields= 1000; /*size of array of the fieldcycle, this is how many steps you record */
128 int offsetB = 0; //offset point for fieldcycle, you start from here (in nano Tesla)
129 int increment = 4; //increment for the fieldcycle, this is the size of the steps you are double field_offset = 0;
/*****/
/* If you to determine zero field offset - set _field_offset = 0 _ */
(3/6)
Fri Oct 06 12:51:25 CEST 2023
/* Overwise, the field_offset will be added to Fields[Nfields] array values! */
/*****/
//double field_offset = 30956;//30056;//20256; //570; // zero field offset observed by experiment
/*double Fields[Nfields];
double startvalue=0, increment=50; // DEFINE start value and increment in nT! Min field for(i1=1;
i1<=Nfields;i1++)
{
Fields[i1-1]= startvalue + increment*(i1-1);
}
//end of script
// script to make log-spaced list of fields (including field offset */
//double* Fields = logspace(10,13000,Nfields);
//end of script
/* direct construction of real field list */
//double Fields[10] = {20.0,40,70.7,135.6,260.0,500.0,958.0,1840.0,3530.0,6770.0}; //logspace //double
Fields[13] = {259.0,675.0,335.0,645.0,200.0,490.0,520.0,800.0,900.0,1800.0,2900.0,3000.0,6000.0}; //double
/////////
/*
int i1=0;
for(i1=0;i1<Nfields;i1++)
(4/6)
Fri Oct 06 12:51:25 CEST 2023
{
Fields[i1] = Fields[i1]+field_offset;
}
*/
double Field=1, writeA;
int counter=0;
char temp[256];
FILE *fTitle;
//XAU ("motorup_Fieldswep",0)
//sleep (1);
XAU ("bH2_Fieldswep",0)
//sleep (5); //your time to move the Sample from heater into Shield
GETCURDATA
openCOM();
sendV(1,1);
//RS232_CloseComport(0);
for(counter=0;counter<Nfields;counter++) // "for" loop
{

```

```

// Field=Fields[counter]; /*this line uses the values from the Fields array above, Field = field_offset +
counter*increment + offsetB; // this line makes a linear field cycle sendV(1,Field/2.287); /*send Field to the
power supply using COM port*/
//sleep(1);
//wait(10000);
//delay(23); //delay in Millisec between Field change
}
//XAU ("motordown_FieldswEEP",0)
{
printf("run boy run");
}
sleep (15); //your time to replace the Probe into the Magnet
ZG}

```

## PHIP\_SER\_TEST\_FT

```

PHIP Serial pseudo 2D aquisition
;avance-version
;2D sequence
;Pulse program for meassuring PHIP with Vacuum Step to clean lines and Helium bubbling before aquisition and
multiple aquisitions
;$CLASS=HighRes
;$DIM=2D
;$TYPE=
;$SUBTYPE=
;$COMMENT=
;$RECOMMEND=y
#include <Avance.incl>
#include <TTLvalves-motor-arduino_NEW.incl>
1 ze ;clear memory
;;; All off (included because TTL sometimes stay active after forced stop of pulse program)
    VALVES_OFF
    10m LOCKH_ON
#ifdef PREVAC
;;; EVAC LINES BLOCK
5    VAC_ON E_ON
    1s ; Vacuum inlet side of chamber
        50m
        IN_ON OUT_ON ; vacuum inlet lines
        20m
        VAC_OFF
    10m
        N2_ON ;refill chamber
        1000m
        VALVES_OFF
lo to 5 times l2
;;; END EVAC LINES
#endif

#ifdef PREHE
;;; HELIUM BUBBLING BLOCK
VALVES_OFF
1s
VAC_ON E_ON
1s ; Vacuum inlet side of chamber
VAC_OFF IN_ON ;; vacuum inlet lines
    2m
E_ON
    N2_ON
    OUT_ON
1s
R_ON E_OFF
    d11 ; bubble Helium for d11 s
    R_OFF IN_OFF OUT_OFF N2_OFF ; Stop bubbling
    d13

```

```

VALVES_OFF

;;; END HELIUM BUBBLING BLOCK
#endif
#ifdef DUMMYHE
;;; HELIUM BUBBLING BLOCK
VALVES_OFF
    N2_ON E_ON
    500m
    IN_ON OUT_ON R_ON pH2_ON
1s
3    ze
    R_ON E_OFF; switch R_ON
    d12 ; Bubble pH2
    E_ON R_OFF ; stop bubbling
    50m
2 d13 ; wait for bubbles to disappear
p1 ph1
go=2 ph31
50m wr #0 if #0
lo to 3 times td1
;;; END pH2 BUBBLING BLOCK

#ifdef POSTVAC
;;; EVAC LINES BLOCK
    VALVES_OFF
    VAC_ON E_ON
1s ; Vacuum inlet side of chamber
;    VAC_OFF
    50m
    IN_ON OUT_ON ; vacuum inlet lines
    500m
    IN_OFF OUT_OFF VAC_OFF E_OFF
50m
;;; END EVAC LINES
#endif

#ifdef POSTHE
;;; HELIUM BUBBLING BLOCK
VALVES_OFF
    N2_ON
    100m
    IN_ON OUT_ON
    300m
    E_ON
250m
    E_OFF ; switch E_OFF
    R_ON ; switch R_ON
    d14 ; bubble Helium for d14 s
    R_OFF IN_OFF OUT_OFF N2_OFF ; Stop bubbling
    50m
    VALVES_OFF
;;; END HELIUM BUBBLING BLOCK
#endif

;; KEEP IN SAVE MODE AFTER PROGRAM FINISHED
    VALVES_OFF
#ifdef POSTHE
    N2_ON E_ON IN_ON OUT_ON
#else
    pH2_ON E_ON IN_ON OUT_ON
#endif
1s LOCKH_OFF

; Release Pressure in System and Tube

```

```

#ifdef RELP ; Release Pressure
    VALVES_OFF
    100m
    IN_ON OUT_ON E_ON R_ON
    5
    VALVES_OFF
#endif

exit
ph1=0
ph2=1
ph31=0

;pl1 : f1 channel - power level for pulse (default)
;pl2: cw power on channel 2
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;d12 : H2 bubbling time
;d13 : wait after bubbling
;d11: He bubbling time before measurement
;d14: He bubbling after measurement
;l1: number of dummy helium bubbings
;l2: number of Vaccumstep
;l3: number of H2 measurements

```

## Arduino Programm für die Kontrolle vom BT-Magnetventilbereich

```

import serial
import serial.tools.list_ports
import win32api as wapi
import win32gui as wgui
import win32process as wproc
import win32con as wcon
import os
import time

newpos = (600, 85) #position of acquire button at fullscreen (for advanced and Queue)
windowname = "Spinflow 3.0.0" #name of Spinflow window, dont google for "Spinflow 3.0.0" while running this
program ;-)
programPath = "valvePrograms" #path/foldername for automatic programs
valveCommands = ["E_ON", "E_OFF",
    "IN_ON", "IN_OFF",
    "OUT_ON", "OUT_OFF",
    "H2_ON", "H2_OFF",
    "HE_ON", "HE_OFF",
    "R_ON", "R_OFF",
    "VAC_ON", "VAC_OFF",
    "OV_ON", "OV_OFF"]

comValveOff = ["E_OFF", "IN_OFF", "OUT_OFF", "H2_OFF", "HE_OFF", "R_OFF", "VAC_OFF", "OV_OFF"]
comVsaveHe = ["allOff", "E_ON", "HE_ON", "IN_ON", "OUT_ON"]
comVsaveH2 = ["allOff", "E_ON", "H2_ON", "IN_ON", "OUT_ON"]
comBHe = ["allOff", "IN_ON", "OUT_ON", "HE_ON", "R_ON"]
comBH2 = ["allOff", "IN_ON", "OUT_ON", "H2_ON", "R_ON"]
comVac = ["allOff", "E_ON", "VAC_ON"]
comVacTube = ["allOff", "E_ON", "IN_ON", "OUT_ON", "VAC_ON"]
comRelp = ["allOff", "E_ON", "IN_ON", "OUT_ON", "R_ON"]
comList = {
    "allOff": comValveOff,
    "vSaveHe": comVsaveHe,
    "vSaveH2": comVsaveH2,
    "bHe": comBHe,
    "bH2": comBH2,
    "Vac": comVac,
    "VacTub": comVacTube,
    "relp" : comRelp
}

```



```

}
serialPort = serial.Serial()
serialPort.baudrate = 115200
serialPort.bytesize = serial.EIGHTBITS
serialPort.parity = serial.PARITY_NONE
serialPort.stopbits = serial.STOPBITS_ONE

def enumCallback(hWnd, pos):
    Text = wgui.GetWindowText(hWnd)
    #print("Handle: ", hWnd, "Text: ", Text, end="\n")

    if windowname in Text:
        #getWindow in foreground
        #print("Handle: ", hWnd, "Text: ", Text, end="\n")

        #get permission to focus window
        remoteThreadId, _ = wproc.GetWindowThreadProcessId(hWnd)
        wproc.AttachThreadInput(wapi.GetCurrentThreadId(), remoteThreadId, True)

        #set cursor position and click
        x=pos[0]
        y=pos[1]
        wgui.ShowWindow(hWnd, wcon.SW_MAXIMIZE)
        wgui.SetFocus(hWnd)

        wapi.SetCursorPos(pos)

        #win32api.mouse_event(win32con.MOUSEEVENTF_MOVE | win32con.MOUSEEVENTF_ABSOLUTE,
int(x/SCREEN_WIDTH*65535.0), int(y/SCREEN_HEIGHT*65535.0))

        wapi.mouse_event(wcon.MOUSEEVENTF_LEFTDOWN,x,y,0,0)
        wapi.mouse_event(wcon.MOUSEEVENTF_LEFTUP,x,y,0,0)

    return 1

def sendComList(cList, port): #function for interpreting command lists and automated programs
    for c in cList:
        if c in comList: #short cut commands
            sendComList(comList[c], port) #recursive call of this function
        elif c in valveCommands: #basic commands
            port.write(bytes(c+"0", 'utf-8')) #send command
            print("sent ", bytes(c, 'utf-8'))
            time.sleep(0.01)
        elif "delay" in c: #delay command
            dtime = c.lstrip("delay") #get delay time
            f_dtime = float(dtime) #and convert it to floating point number

            starttime = time.perf_counter() #get start time
            elapsed = 0
            while(elapsed < f_dtime): #while elapsed time is < delay time
                elapsed = time.perf_counter()-starttime #recalculate elapsed time
                print("delay [", dtime, "/%.2f]" % (elapsed), end = "\r", flush=True) #update display
                print("delay [", dtime, "/", elapsed, "]", end = "\n")
            elif "acquire": #start measurement (if spinfo is in correct state)
                wgui.EnumWindows(enumCallback, newpos)
            else:
                print("unknown command: " + c)
run = 1 #program run main loop indicator
state = 1 #program state (0: shutdown program, 1: check for devices, 2: manual input loop, 3: automated control loop)
autoprog = [] #currently loaded automated program, initially empty
print("Arduino Valve Control Terminal \n")

while(run): #main loop
#-----

```

```

if state == 1:                                #state = 1 check for connection
    serialPort.close()
    print("checking for connected devices ...")

    port_list = serial.tools.list_ports.comports()    #get list of available ports
    if len(port_list)<1:
        print("no devices found. \n")
    else:
        print("Select Port \n")
        for port in port_list:
            print(port.name + " " + port.description + "\n")

    selection = input("(select Port)>>")
    serialPort.port = selection
    print("Checking for Connection to Arduino Controll Board \n")

    try:
        serialPort.open()
        if serialPort.is_open:
            print("Connected to Board at " + serialPort.port)
        else:
            raise Exception("Port not open")
    except:
        print("ERROR: could not connect to Board at " + selection)

state = 2                                    #exit port selection to input loop
#-----
#-----
if state == 2:                                #state = 2 manual input loop
    while(state == 2):                        #input loop

        command = input("(manual)>>")

        if command == "end" or command == "exit":    #shutdown program
            state = 0
        elif command == "connect":
            state = 1
        elif command == "auto":                #switch to automatic state
            state = 3
        elif command in valveCommands:        #if command in list
            serialPort.write(bytes(command, 'utf-8'))    #send command to arduino
            print("sent ", bytes(command, 'utf-8'))
        elif command in comList:              #if composed command
            sendComList(comList[command], serialPort)    #run composed command
        elif "delay" in command:              #test for delay command
            dtime = command.lstrip("delay")            #get delay time
            f_dtime = float(dtime)                    #and convert it to floating point number

            starttime = time.perf_counter()            #check starting time
            elapsed = 0
            while(elapsed < f_dtime):                #while elapsed time < delay time

                elapsed = time.perf_counter()-starttime    #recalculate elapsed time

                print("delay [", dtime, "/%.2f]" % (elapsed), end = "\r", flush=True) #update display
                print("delay [", dtime, "/", elapsed, "]", end = "\n")
        elif command in ["acquire", "zg"]:        #start aquisition (if Spinflow is in correct state)
            wgui.EnumWindows(enumCallback, newpos)
        elif command == "help":                #print help
            print("valveCommands: ", valveCommands)

        print("shortcuts: ")
        for i in comList:
            print(i)
        print("auto : switch to automatic mode")

```

```

    print("delayXX : delay for XX seconds, can also take fractions of seconds with X.X")
    print("connect : search for and connect to arduino")
    print("end, exit : end program")
    print("for everything else: RTFM")
    else:
        #default answer "unkown command"
        print("Unknown command " + command + "\n")
#-----
#-----
if state == 3:
    #state = 3, automatic state

if (len(autoprog)<1):
    print("no program loaded")
else:
    print("current program: ", autoprog)

while(state==3):
    #input loop
    command = input("(auto)>>")

    if command in ["end","exit"]:
        #shutdown program
        state = 0
    elif command == "connect":
        #switch to connect state
        state = 1
    elif command == "manual":
        #switch to manual control state
        state = 2
    elif command == "list":
        #list automated programs
        print(os.listdir(programPath))
    elif command in comList:
        #if composed command
        sendComList(comList[command], serialPort) #run composed command
    elif "load" in command:
        #load program
        programName = command.lstrip("load ") #get program name
        file = open(programPath + "/" + programName, "rt") #open file
        autoprog.clear() #clear loaded program
        for line in file:
            #read in commands with each line in file
            autoprog.append(line.strip())
        print("loaded program: ", programName)
        break;
    elif command in ["run", "start", "zg"]:
        #start loaded program
        sendComList(autoprog, serialPort)
    elif command == "help":
        #prin help
        print("manual : go to manual mode")
        print("list : print list of available automated programs")
        print("load X : load program with name X")
        print("exit : end program")
    else:
        #default answer "unkown command"
        print("Unknown command " + command + "\n")
#-----
#-----
if state == 0:
    #state = 0, shutdown state
    serialPort.close()
    run = 0
    #end program
print("Exit Program")
//Written by J.L, F.T 2023

```

## Kurze Magnetventil Programme für das Benchtop

20sH2	Baba	muSABRE	SABRE	Relp
vSaveHe delay5 bH2 delay20 vSaveH2 delay5 acquire	vSaveHe delay5 Vac delay2  bH2 delay5 vSaveH2 acquire delay13  bH2 delay5 vSaveH2 acquire allOff	delay2 bH2 delay60 vSaveH2 delay10 acquire	bH2 delay10 vSaveH2	R_ON E_ON IN_ON OUT_ON

## 7.10. Sonstiges

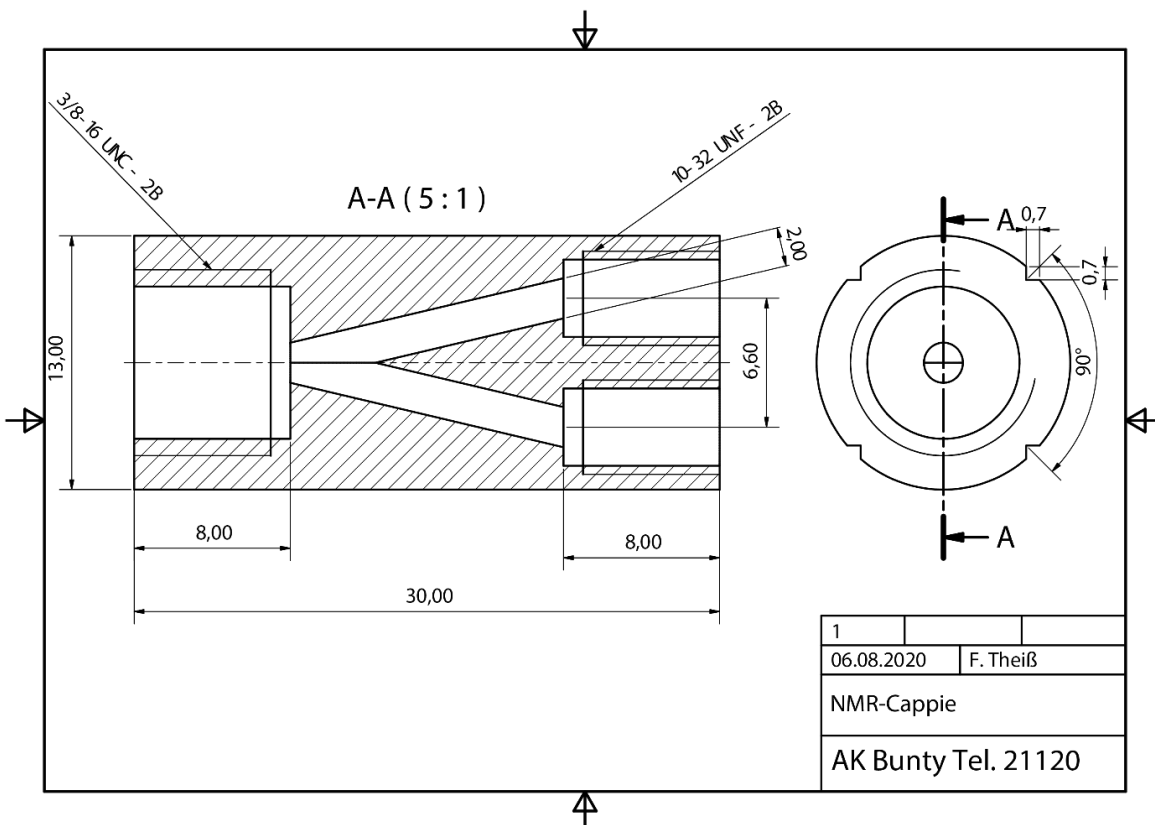


Abbildung 73: Technische Zeichnung des NMR-Röhrchen-Adapters, mit Längen- und Gewindemaßangaben.

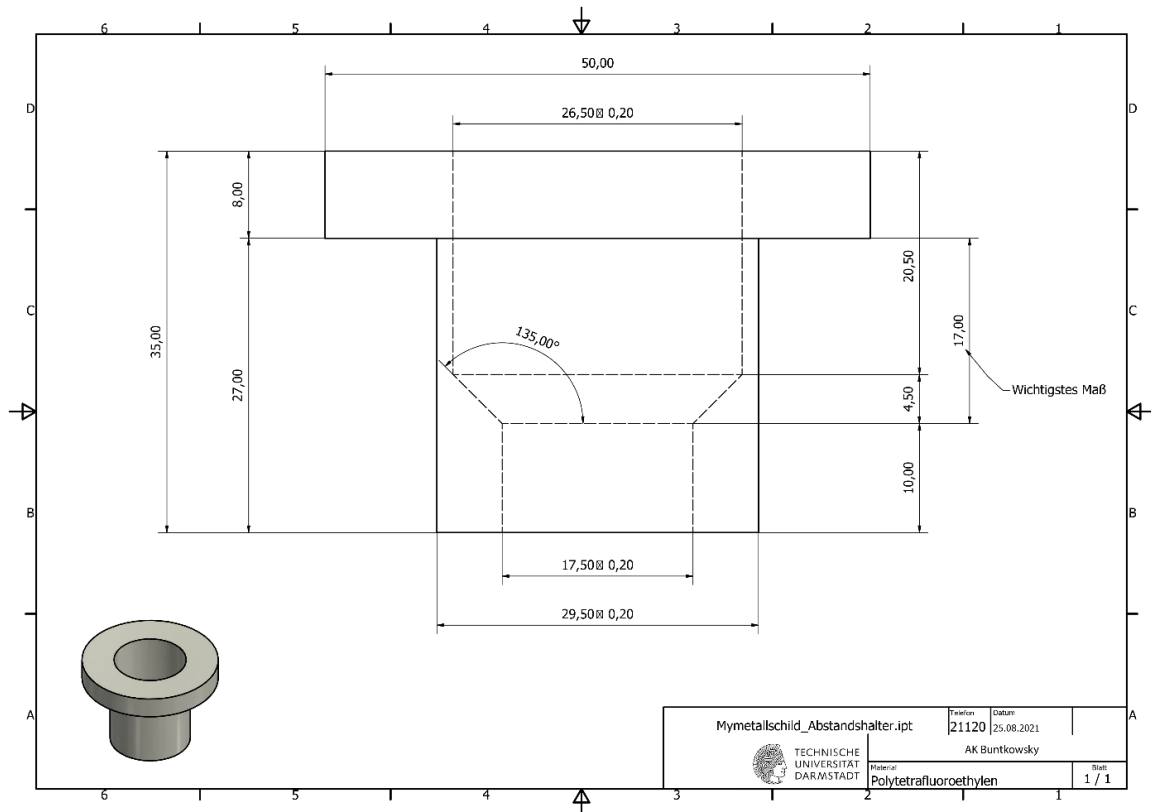


Abbildung 74: Technische Zeichnung des Inserts für das  $\mu$ Metallschild, um die Proben zu positionieren.

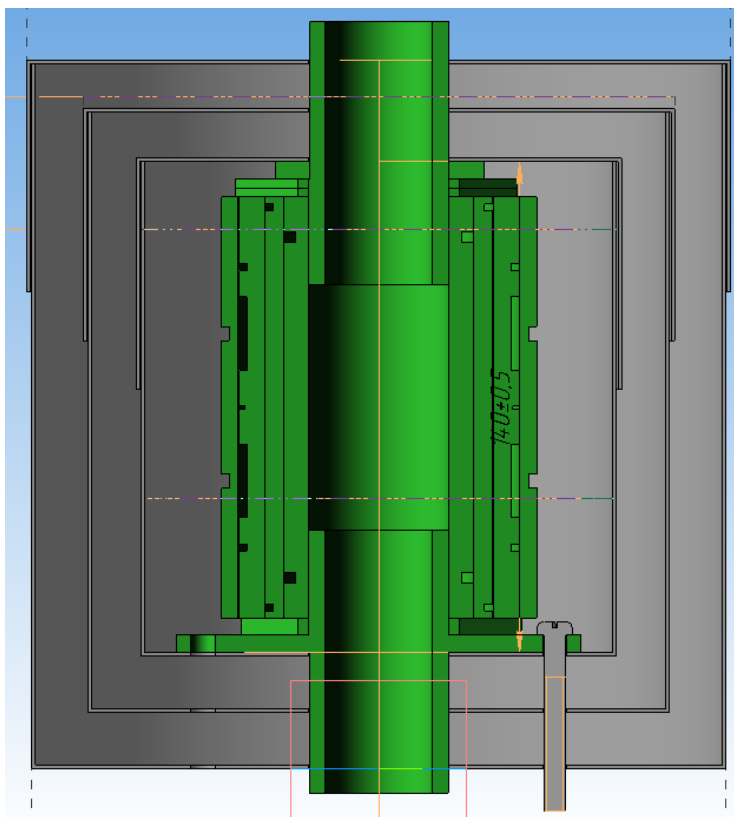


Abbildung 75: Zeichnung des  $\mu$ Metallschildes von A.S. KIRYUTIN. Grün ist der 3D gedruckte Innenbereich für die Spulen und das Aufsatzrohr. Grau die drei  $\mu$ Metallabschirmungen.

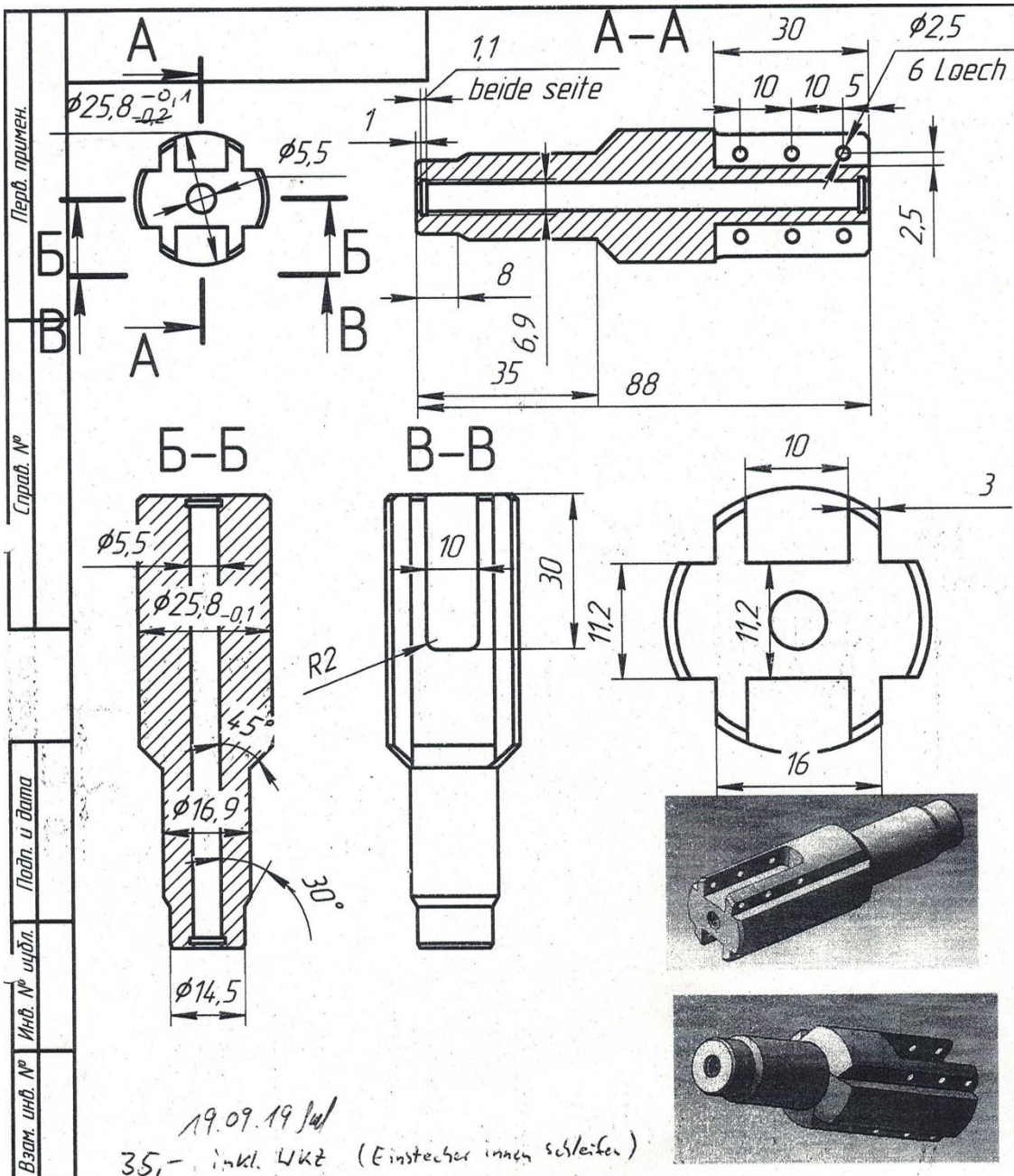


Abbildung 76: Darstellung der Probenhalterung am unteren Ende der Zahnstange, benötigt für den motorgestützten, shuttleartigen Transport während SABRE-SHEATH-Experimente. Design von A.S. KIRYUTIN.

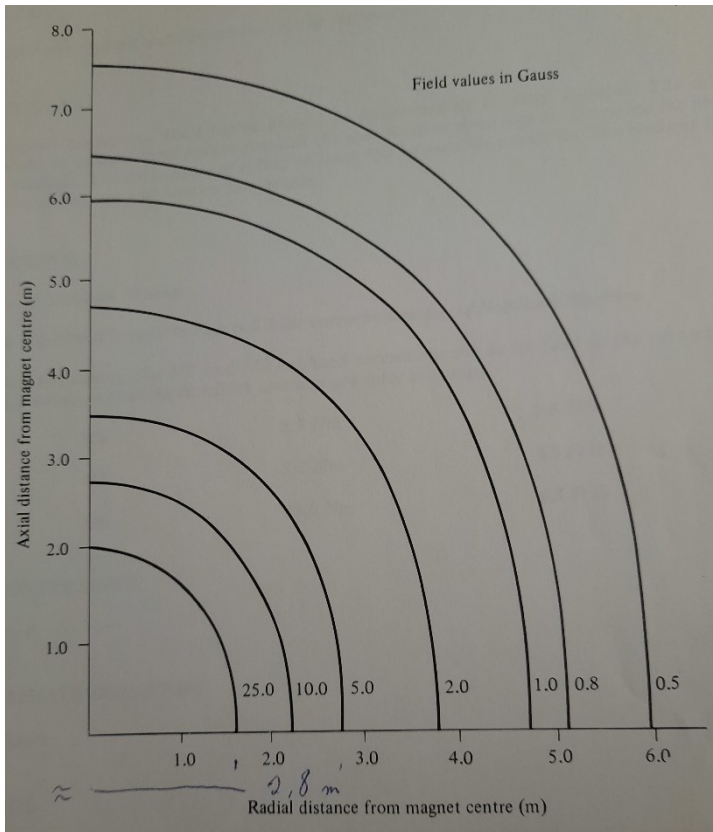


Abbildung 77: Fotografie aus dem Handbuch zum BRUKER AVANCE III Spektrometer zur Veranschaulichung des Streufelds.

---

---

## Abkürzungsverzeichnis

---

Abb.	Abbildung
arb. Unit	<i>arbitrary unit</i> , willkürliche Einheit
Allg.	Allgemein
ALTADENA	<i>Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Engenders Net Alignment</i>
AD	Außendurchmesser
B	Magnetfeld
bspw.	Beispielsweise
BT	Benchtop
CIDNP	<i>Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization</i>
CW	<i>Continuous Wave NMR</i>
DiMeADC	Dimethylacetylendicarboxylat, Acetylendicarbonsäuredimethylester
DiMeF	Dimethylfumarat, Fumarsäuredimethylester
DiMeMa	Dimethylmaleinat, Maleinsäuredimethylester
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNP	<i>Dynamic Nuclear Polarization</i>
engl.	Englisch
$E_i$	Energie
$\delta$	chemische Verschiebung
$\varepsilon$	Verstärkungsfaktor
FID	<i>Free Induction Decay</i>
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FT	Fourier-Transformation
Gl.	Gleichung
h	Planck-Konstante
$\hbar$	reduzierte Planck-Konstante
h-PHIP	<i>hydrogenativ-PHIP</i>
HF	Hochfeld
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HP	Hyperpolarisation
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
I	Kernspin
ID	Innendurchmesser
INEPT	<i>Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer</i>



---

IPSO	<i>Intelligent Pulse Sequenz Organizer</i>
Kat.	Katalysator
$k_B$	Boltzmann-Konstante
$l$	Rotationsquantenzahl
LAC	<i>Level Anti Crossing</i>
LF	<i>Low Field</i>
LöMi	Lösungsmittel
Me	Methylester
MFC	<i>Magnetic Field Change/Cycle</i>
$m_i$	magnetische Kernspinquantenzahl
$m_{red}$	reduzierte Masse
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
$m_s$	magnetische Elektronenspinquantenzahl
$N_i$	Spin nivaues
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> , Kernspinresonanz,
NOE	<i>Nuclear Overhouser Effekt</i>
OE	OVERHAUSER-Effekt
o-H <sub>2</sub>	Orthowasserstoff
$\sigma$	Abschirmungskonstante
PASADENA <i>Alignment</i>	<i>Parahydrogen and Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear</i>
P	Polarisation
PEEK	Polyetheretherketon
p-H <sub>2</sub>	Parawasserstoff
PHIP	<i>Parahydrogen Induced Polarization</i>
PP	Pulsprogramm
ppm	<i>parts per million</i>
PPOBLG	poly- $\gamma$ -(4-propargyloxy)-benzyl-L-glutamat
PTFE	Polytetraflourethylen
Py	Pyridin
$r$	Kernabstand
RF	Radiofrequenz
SABRE	<i>Signal Amplification by Reverse Exchange</i>
SAH	<i>Side Arm Hydrogenation</i>

---

SEOP	<i>spin-exchange optical pumping</i>
SHEATH	<i>Shield Enables Alignment Transfer to Heteronuclei</i>
SNR	<i>Signal to Noise Ration, Signal-zu-Rauschen Verhältnis</i>
SOT	<i>Spin-Order-Transfer, Spinordnungstransfer</i>
T	Temperatur
t	Zeit
TOCSY	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>
$\Theta_R$	charakteristische Rotationstemperatur
$\theta$	Rotationwinkel
$\nu$	Frequenz
Y	Tyrosin
$\gamma$	gyromagnetisches Verhältnis
$\varphi_i$	Wellenfunktion
ZULF	<i>Zero- and Ultralow Field, Null und nahe Nullfeld</i>

---

---

## Literaturverzeichnis

---

- [1] E. M. Purcell, H. C. Torrey, R. V. Pound, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 37.
- [2] F. Bloch, W. W. Hansen, M. Packard, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 127.
- [3] P. C. LAUTERBUR, *Nature* **1973**, *242*, 190.
- [4] H. Schwalbe, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2017**, *56*, 10252.
- [5] M. Holz, B. Knüttel, *Phys. Bl.* **1982**, *38*, 368.
- [6] V. P. B. Grover, J. M. Tognarelli, M. M. E. Crossey, I. J. Cox, S. D. Taylor-Robinson, M. J. W. McPhail, *Journal of clinical and experimental hepatology* **2015**, *5*, 246.
- [7] A. J. Sim, E. Kaza, L. Singer, S. A. Rosenberg, *2405-6308* **2020**, *24*, 16.
- [8] A. H. Kwan, M. Mobli, P. R. Gooley, G. F. King, J. P. Mackay, *The FEBS journal* **2011**, *278*, 687.
- [9] A. W. Overhauser, *Phys. Rev.* **1953**, *92*, 411.
- [10] J. Bargon in *EMagRes. The ultimate online resource for NMR and MRI* (Eds.: R. Wasylishen, D. M. Grant, R. K. Harris), Wiley InterScience, [New York, N.Y.], **1999**.
- [11] a) J. Bargon, H. Fischer, U. Johnsen, *Zeitschrift für Naturforschung A* **1967**, *22*, 1551; b) J. Bargon, H. Fischer, *Zeitschrift für Naturforschung A* **1967**, *22*, 1556.
- [12] M. Goldman, H. Jóhannesson, *1631-0705* **2005**, *6*, 575.
- [13] H. R. Ward, R. G. Lawler, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5518.
- [14] C. R. Bowers, D. P. Weitekamp, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *57*, 2645.
- [15] C. R. Bowers, D. P. Weitekamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5541.
- [16] J. Bargon, in *Handbook of homogeneous hydrogenation*, Elsevier, **2007**.
- [17] T. C. Eisenschmidt, R. U. Kirss, P. P. Deutsch, S. I. Hommeltoft, R. Eisenberg, J. Bargon, R. G. Lawler, A. L. Balch, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 8089.
- [18] K. Golman, O. Axelsson, H. Jóhannesson, S. Mansson, C. Olofsson, J. S. Petersson, *Magn. Reson. Med.* **2001**, *46*, 1.
- [19] 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. López-Serrano, D. C. Williamson, *Science* **2009**, *323*, 1708.
- [20] R. W. Adams, S. B. Duckett, R. A. Green, D. C. Williamson, G. G. R. Green, *J. Chem. Phys.* **2009**, *131*, 194505.
- [21] P. J. Rayner, S. B. Duckett, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2018**, *57*, 6742.
- [22] A. B. Schmidt, C. R. Bowers, K. Buckenmaier, E. Y. Chekmenev, H. de Maissin, J. Eills, F. Ellermann, S. Glögler, J. W. Gordon, S. Knecht et al., *Anal. Chem.* **2022**, *94*, 479.
- [23] A. S. Kiryutin, G. Sauer, S. Hadjiali, A. V. Yurkovskaya, H. Breitzke, G. Buntkowsky, *J. Magn. Res.* **2017**, *285*, 26.
- [24] J. Giberson, J. Scicluna, N. Legge, J. Longstaffe, *Annual Reports on NMR Spectroscopy* **2021**, *102*, 153.
- [25] a) I. Adelabu, J. Ettetdgui, S. M. Joshi, S. Nantogma, M. R. H. Chowdhury, S. McBride, T. Theis, V. R. Sabbasani, M. Chandrasekhar, D. Sail et al., *Anal. Chem.* **2022**, *94*, 13422; b) B. Joalland, E. Y. Chekmenev, *J. Phys. Chem. Let.* **2022**, *13*, 1925.
- [26] a) S. B. Duckett, C. L. Newell, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10548; b) S. B. Duckett, C. J. Sleight, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1999**, *34*, 71; c) S. M. Oldham, J. F. Houllis, C. J. Sleight, S. B. Duckett, R. Eisenberg, *Organometallics* **2000**, *19*, 2985; d) S. B. Duckett, D. Blazina, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *2003*, 2901.
- [27] S. B. Duckett, R. E. Mewis, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1247.

- [28] L. S. Bouchard, S. R. Burt, M. S. Anwar, K. V. Kovtunov, I. V. Koptuyg, A. Pines, *Science* **2008**, *319*, 442.
- [29] M. Hillesheim, M. Walory (Eds.) *Schülerhilfe*, Tandem Verlag, Potsdam, **2012**.
- [30] L. R. Gray, S. C. Tompkins, E. B. Taylor, *Cellular and molecular life sciences : CMLS* **2014**, *71*, 2577.
- [31] P. Icard, L. Poulain, H. Lincet, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* **2012**, *1825*, 111.
- [32] M. Gierse, L. Nagel, M. Keim, S. Lucas, T. Speidel, T. Lobmeyer, G. Winter, F. Josten, S. Karaali, M. Fellermann et al., *Journal of the American Chemical Society* **2023**, *145*, 5960.
- [33] S. Knecht, J. W. Blanchard, D. Barskiy, E. Cavallari, L. Dagys, E. van Dyke, M. Tsukanov, B. Bliemel, K. Münnemann, S. Aime et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2021**, *118*, e2025383118.
- [34] B. Ripka, J. Eills, H. Kouřilová, M. Leutzsch, M. H. Levitt, K. Münnemann, *Chemical communications (Cambridge, England)* **2018**, *54*, 12246.
- [35] F. Reineri, T. Boi, S. Aime, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 5858.
- [36] a) J. Eills, E. Cavallari, R. Kircher, G. Di Matteo, C. Carrera, L. Dagys, M. H. Levitt, K. L. Ivanov, S. Aime, F. Reineri et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 6791; b) J. Eills, E. Cavallari, C. Carrera, D. Budker, S. Aime, F. Reineri, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 20209.
- [37] E. Cavallari, C. Carrera, M. Sorge, G. Bonne, A. Muchir, S. Aime, F. Reineri, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 8366.
- [38] L. Wienands, F. Theiß, J. Eills, L. Rösler, S. Knecht, G. Buntkowsky, *Appl Magn Reson* **2022**, *53*, 615.
- [39] G. Sauer, D. Nasu, D. Tietze, T. Gutmann, S. Englert, O. Avrutina, H. Kolmar, G. Buntkowsky, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12941.
- [40] M. Fleckenstein, K. Herr, F. Theiß, S. Knecht, L. Wienands, M. Brodrecht, M. Reggelin, G. Buntkowsky, *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 2337.
- [41] J. Lins, Y. A. Miloslavina, S. C. Carrara, L. Rösler, S. Hofmann, K. Herr, F. Theiß, L. Wienands, O. Avrutina, H. Kolmar et al., *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 6388.
- [42] M. H. Levitt, *Spin Dynamics. Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, John Wiley & Sons, **2013**.
- [43] J. J. Keeler, *Understanding NMR spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester, **2002**.
- [44] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie. Eine Einführung*, Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.
- [45] R. R. Ernst, W. A. Anderson, *Review of Scientific Instruments* **1966**, *37*, 93.
- [46] N. F. Ramsey, *Phys. Rev.* **1950**, *78*, 699.
- [47] Peter Atkins . Julio De Paula, *Atkins' Physical Chemistry*, W. H. Freeman and Company, New York NY, **2006**.
- [48] E. Fermi, *Z. Physik* **1930**, *60*, 320.
- [49] K. D. Atkinson, M. J. Cowley, P. I. P. Elliott, S. B. Duckett, G. G. R. Green, J. López-Serrano, A. C. Whitwood, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 13362.
- [50] *Nature* **1935**, *135*, 601.
- [51] D. A. Barskiy, A. M. Coffey, P. Nikolaou, D. M. Mikhaylov, B. M. Goodson, R. T. Branca, G. J. Lu, M. G. Shapiro, V.-V. Telkki, V. V. Zhivonitko et al., *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 725.
- [52] H. Marshall, N. J. Stewart, H.-F. Chan, M. Rao, G. Norquay, J. M. Wild, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2021**, *122*, 42.
- [53] D. Canet, C. Aroulanda, P. Mutzenhardt, S. Aime, R. Gobetto, F. Reineri, *Concepts Magn Reson Part A* **2006**, *28A*, 321.

- [54] G. H. Findenegg, T. Hellweg, *Statistische Thermodynamik. Kapitel: Zustandssummen der molekularen Bewegungsformen*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2015**.
- [55] J.-B. Hövener, E. Y. Chekmenev, K. C. Harris, W. H. Perman, L. W. Robertson, B. D. Ross, P. Bhattacharya, *Magma (New York, N.Y.)* **2009**, *22*, 111.
- [56] J. Barkemeyer, J. Bargon, H. Sengstschmid, R. Freeman, *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **1996**, *120*, 129.
- [57] K. Them, F. Ellermann, A. N. Pravdivtsev, O. G. Salnikov, I. V. Skovpin, I. V. Koptyug, R. Herges, J.-B. Hövener, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 13694.
- [58] M. Haake, J. Natterer, J. Bargon, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8688.
- [59] S. B. Duckett, C. L. Newell, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1156.
- [60] A. Svyatova, V. P. Kozinenko, N. V. Chukanov, D. B. Burueva, E. Y. Chekmenev, Y.-W. Chen, D. W. Hwang, K. V. Kovtunov, I. V. Koptyug, *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 5646.
- [61] E. E. Brown, I. Mandzhieva, P. M. TomHon, T. Theis, F. N. Castellano, *ACS Central Science* **2022**, *8*, 1548.
- [62] P. J. Rayner, P. Norcott, K. M. Appleby, W. Iali, R. O. John, S. J. Hart, A. C. Whitwood, S. B. Duckett, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 4251.
- [63] A. N. Pravdivtsev, K. L. Ivanov, A. V. Yurkovskaya, P. A. Petrov, H.-H. Limbach, R. Kaptein, H.-M. Vieth, *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)* **2015**, *261*, 73.
- [64] D. A. Barskiy, S. Knecht, A. V. Yurkovskaya, K. L. Ivanov, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2019**, *114-115*, 33.
- [65] M. L. Truong, F. Shi, P. He, B. Yuan, K. N. Plunkett, A. M. Coffey, R. V. Shchepin, D. A. Barskiy, K. V. Kovtunov, I. V. Koptyug et al., *The Journal of Physical Chemistry. B* **2014**, *118*, 13882.
- [66] K. V. Kovtunov, E. V. Pokochueva, O. G. Salnikov, S. F. Cousin, D. Kurzbach, B. Vuichoud, S. Jannin, E. Y. Chekmenev, B. M. Goodson, D. A. Barskiy et al., *Chemistry, an Asian journal* **2018**, 1857.
- [67] B. J. A. van Weerdenburg, S. Glöggler, N. Eshuis, A. H. J. T. Engwerda, J. M. M. Smits, R. de Gelder, S. Appelt, S. S. Wymenga, M. Tessari, M. C. Feiters et al., *Chemical communications (Cambridge, England)* **2013**, *49*, 7388.
- [68] S. Hadjiali, R. Savka, M. Plaumann, U. Bommerich, S. Bothe, T. Gutmann, T. Ratajczyk, J. Bernarding, H.-H. Limbach, H. Plenio et al., *Appl. Magn. Reson.* **2019**, *50*, 895.
- [69] L. S. Lloyd, A. Asghar, M. J. Burns, A. Charlton, S. Coombes, M. J. Cowley, G. J. Dear, S. B. Duckett, G. R. Genov, G. G. R. Green et al., *Catalysis science & technology* **2014**, *4*, 3544.
- [70] A. N. Pravdivtsev, A. V. Yurkovskaya, H.-M. Vieth, K. L. Ivanov, R. Kaptein, *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 3327.
- [71] A. N. Pravdivtsev, A. V. Yurkovskaya, N. N. Lukzen, H.-M. Vieth, K. L. Ivanov, *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2014**, *16*, 18707.
- [72] J. Eills, J. W. Blanchard, T. Wu, C. Bengs, J. Hollenbach, D. Budker, M. H. Levitt, *J. Chem. Phys.* **2019**, *150*, 174202.
- [73] V. P. Kozienko, A. S. Kiryutin, A. V. Yurkovskaya, *The Journal of chemical physics* **2022**, *157*, 174201.
- [74] H. Jóhannesson, O. Axelsson, M. Karlsson, *C. R. Phys.* **2004**, *5*, 315.
- [75] M. L. Truong, T. Theis, A. M. Coffey, R. V. Shchepin, K. W. Waddell, F. Shi, B. M. Goodson, W. S. Warren, E. Y. Chekmenev, *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 8786.
- [76] S. Knecht, A. S. Kiryutin, A. V. Yurkovskaya, K. L. Ivanov, *J. Magn. Res.* **2018**, *287*, 74.

- 
- [77] S. Bär, T. Lange, D. Leibfritz, J. Hennig, D. von Elverfeldt, J.-B. Hövener, *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)* **2012**, 225, 25.
- [78] Gareth A. Morris/Ray Freeman.
- [79] A. S. Kiryutin, A. V. Yurkovskaya, H. Zimmermann, H.-M. Vieth, K. L. Ivanov, *Magn. Reson. Chem.* **2018**, 56, 651.
- [80] a) A. M. Costero, M. Colera, P. Gaviña, S. Gil, *Chem. Commun.* **2006**, 761; b) T. Parvin, R. Yadav, L. H. Choudhury, *Organic & biomolecular chemistry* **2020**, 18, 5513.
- [81] B. Dhorajiya, R. Bhuva, B. Dholakiya, *Chemistry of Barbiturates and Thiobarbiturates based Chalcones. Fluorinated Barbiturates and Thiobarbiturates*, LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken, **2016**.
- [82] a) M. Czarnota, A. Mames, M. Pietrzak, S. Jopa, F. Theiß, G. Buntkowsky, T. Ratajczyk, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2023**, e202309188; b) A. S. Kiryutin, G. Sauer, A. V. Yurkovskaya, H.-H. Limbach, K. L. Ivanov, G. Buntkowsky, *J. Phys. Chem. C* **2017**, 121, 9879.
- [83] R. A. Linker, D.-H. Lee, S. Ryan, A. M. van Dam, R. Conrad, P. Bista, W. Zeng, X. Hronowsky, A. Buko, S. Chollate et al., *Brain : a journal of neurology* **2011**, 134, 678.
- [84] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, date of access (SDBSWeb : <https://sdb.sdb.aist.go.jp>).
- [85] A. S. Kiryutin, G. Sauer, D. Tietze, M. Brodrecht, S. Knecht, A. V. Yurkovskaya, K. L. Ivanov, O. Avrutina, H. Kolmar, G. Buntkowsky, *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 4025.
- [86] S. Hadjiali, *Die Anwendung von neuartigen Ir-Komplexen bei der parawasserstoffinduzierten Signalverstärkung in der NMR-Spektroskopie*, mbv Berlin, Mensch und Buch Verlag, Berlin, **2020**.
- [87] R. Savka, H. Plenio, *Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)* **2015**, 44, 891.
- [88] M. Alcaraz Janßen, Technische Universität, Darmstadt, **2020**.
- [89] R. Zhang, N. Zheng, Z. Song, L. Yin, J. Cheng, *Biomaterials* **2014**, 35, 3443.

---

---

## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Citratzyklus. ....	4
Abbildung 2: Darstellung der Energieniveaus eines $\frac{1}{2}$ -Spin Kerns außerhalb eines $B_0$ -Feldes, sowie die resultierende ZEEMAN-Aufspaltung der Energieniveaus innerhalb eines $B_0$ -Feldes. ....	8
Abbildung 3: Darstellung A der Magnetisierung in der X-Y-Ebene und die sich während der Präzession verändernde Position, sowie B die Auftragung der Magnetisierungsanteile von X und Y gegen die Zeit. C zeigt den Freie Induktionszerfall (FID) betrachtet über die gesamte Zeit bis zur Relaxation der Magnetisierung. D zeigt die Umwandlung des Zeitabhängigen Signals durch Fourier Transformation in ein frequenzabhängiges Signal.(Abgeändert entnommen aus <sup>[43]</sup> ) .....	9
Abbildung 4: Darstellung der Interaktionen zwischen zwei Protonen über zwei chemische Bindungen ( $^2J_{HH}$ -Kopplung).....	11
Abbildung 5: Ausschnitt des $^1H$ -NMR-Spektrums von Ethanol. (a) Struktur von Ethanol, die betrachtete Gruppe ist markiert. (b) Aus den Spin-Kopplungen zwischen den Methylenprotonen und den Methylprotonen entstehen die unterschiedlichen Signalintensitäten. (c) Die resultierende Feinstruktur stellt ein Triplett dar, anhand welchem die Kopplungskonstante ausgelesen werden kann. ....	12
Abbildung 6: Veranschaulichung exemplarischer Besetzungen zweier Energieniveaus $N_1$ und $N_0$ mit thermischer Polarisation und Hyperpolarisation. ....	13
Abbildung 7: Darstellungen der Eigenzustände von molekularem Wasserstoff und Spinzustände in der Singulett-Triplett-Nomenklatur (bsp. $T_{+1}$ ). ....	15
Abbildung 8: Auftragung der mittels Gleichung 14 berechneten $H_2$ -Zusammensetzungen bei unterschiedlichen Temperaturen. Mit den Werten $l = 0, 2, 4$ für die para-Zustände und $l = 1, 2, 3$ für die ortho-Zustände.....	16
Abbildung 9: Schematische Darstellung der ersten von zwei möglichen paarweisen Additionen eines p- $H_2$ -Molekül an ein ungesättigtes Ausgangsmolekül. ....	17
Abbildung 10: Darstellung der Veränderung der Spinzustände während eines PHIP-PASADENA Experiments. (a) Ausgangszustand vor der Hydrierung, (b) nach der Hydrierung im neuen Spinsystem mit dem neuen Populationszustand und (c) nach der NMR-Aufnahme resultierenden Signalform, alles im Inneren des Magneten. ....	17
Abbildung 11: Darstellung der Veränderung der Spinzustände während eines PHIP-ALTADENA Experiments. (a) Ausgangszustand vor der Hydrierung, (b) Zustand nach der Hydrierung im neuen Spinsystem, dem anschließenden adiabatischen Transfer vom LF zum HF mit neuem Populationszustand (c) und dem abschließenden NMR-Spektrum mit der daraus resultierenden Signalform (d). ....	18
Abbildung 12: Darstellung des in dieser Arbeit verwendeten Iridium-N-heterozyklischen Carbenkomplexes $[Ir(H)_2(IMES)(Py)_3]^+Cl^-$ .....	20



Abbildung 13: Darstellung des Prozesses, der während einer SABRE-Reaktion abläuft. Beginnend mit (a) dem Präkatalysatorkomplex und (b) dessen Aktivierung zum SABRE-aktiven Katalysator, gefolgt von (c) der Übertragung der Polarisation auf das Substrat mit (d) anschließendem Austausch des hyperpolarisierten Substrats durch neuen p-H <sub>2</sub> , bis zur Ablösung von thermischen H <sub>2</sub> (e) und der Regeneration des SABRE-aktiven Katalysators zur erneuten Polarisationsübertragung. ....	21
Abbildung 14: Darstellung des temporär gebildeten in der Äquatorialebene des Polarisationsübertragungskomplexes J-Kopplungsnetzwerkes (AA'B-Spinsystem). ....	22
Abbildung 15: Darstellung der Energieniveaus in Abhängigkeit von exemplarischen Magnetfeldern. (A) in Abwesenheit von Spin-Spin-Wechselwirkungen und (B) mit Betrachtung der Spin-Spin-Wechselwirkung und Entstehung eines LAC. ....	23
Abbildung 16: Schemata der unterschiedlichen Polarisationstransfers im Bereich des LAC. (A) der Nicht-adiabatische Transfer und (B) dem adiabatischen Transfer, der im Rahmen des MFC-SOT erfolgt. (Abgeändert entnommen aus <sup>[64]</sup> ). ....	24
Abbildung 17: Schematische Darstellung der technischen Ausgangslage der Apparatur, abgeändert entnommen aus Literatur <sup>[23]</sup> . Zur Steuerung der Gasströme sind manuelle Ventile sowie elektrisch schaltbare Magnetventile verbaut. Die grünen Ventile können ausschließlich manuell bedient werden. ....	25
Abbildung 18: Darstellung der apparativen Erweiterung für SABRE-Messungen (SABRE-Setup). Zu sehen ist in (a) das $\mu$ -Metallschild, sowie die Unterseite der Platte mit dem Schrittmotor und der halb herausgefahrenen Zahnstange mit Verbindung zur Hydrierapparatur. In (b) ist eine Seitenansicht des Motors und des Lichtschrankenbereiches oberhalb der Platte und dem $\mu$ -Metallschild darunter zu sehen. (c) zeigt eine Zeichnung des montierten SABRE-Setup auf dem Magneten (d) zeigt die zur Verifizierung der konstanten Motorpositionierung aufgenommenen Protonenspektren. ....	27
Abbildung 19: Auftragung der Verstärkungsfaktoren gegen die eingesetzte Konzentration von PPOBLG. Die jeweiligen Messpunkte einer Messreihe sind miteinander verbunden. ....	30
Abbildung 20: Ausschnitte des jeweiligen PHIP-relevanten ppm-Bereichs aus den erhaltenen Ein-Scan-NMR-Spektren der Konzentrationen 0,071 bis 0,013 $\mu$ M. ....	31
Abbildung 21: Vergleich zwischen A, dem mit 16 Scans aufgenommenen thermischem Spektrum und B, dem PHIP-Spektrum einer 13 nM Polymerlösung. Die Messbedingungen sind 13 nM PPOBLG, 1,5 mM [Rh(dppb)(COD)]BF <sub>4</sub> mit 6,5 s Zufuhr von 7 bar p-H <sub>2</sub> . Das PHIP-Spektrum zeigt ein deutliches PHIP-Signal der terminalen Protonen der Vinylgruppe bei einem einzigen Scan. Hinweis: Das PHIP-Signal bei 1,5 ppm stammt vom Katalysator. ....	32
Abbildung 22: Links: Vergleich von thermischen und durch SABRE polarisierte Protonenmessung. Rechts: Auftragung der jeweils erhaltenen SABRE bedingten negativen Signalintensität der hyperpolarisierten Messungen gegen die Motorposition, die die Probe während der Hydrierung im Aufbau eingenommen hat. ....	34
Abbildung 23: Links: Auftragung der sich verändernden Signalintegral von Py- <sup>13</sup> C bei unterschiedlichen Magnetfeldern gemessen über einen Bereich von -7000 bis 7000 nT in je	



1 $\mu$ T Schritten. Rechts: die erhaltene Signalverstärkung aufgetragen gegen die Magnetfeldstärke im Bereich von -1400 bis 1400 in 200 nT Schritten, am Beispiel des 123 ppm Signals von Pyridin. ....	35
Abbildung 24: Vergleich eines 16 Scan Spektrums von thermisch polarisiertem Pyridin und einem Ein-Scan Spektrum von hyperpolarisiertem Pyridin. Die Hyperpolarisation erfolgt mittels SABRE-SHEATH nach einer Wasserstoffzufuhr bei 500 nT, einer Probe von 61 $\mu$ M $^{15}$ N-Pyridin und 2 mg/mL IrIMes in Aceton- $d_6$ . ....	36
Abbildung 25: Darstellung der $^{15}$ N-Spektren, einer 20 $\mu$ M $^{15}$ N-Pyridinprobe, sowie einer 200 $\mu$ M Pyridinprobe mit natürlicher Häufigkeit von $^{15}$ N>. ....	37
Abbildung 26: HP-Protonenspektrum von Thiourea mittels SABRE. Zusehen sind Pyridin als Auxiliar, IrIMes, Thiourea und Signale von Hydrid-Katalysator-Komplex. (Rechts) Auftragung sind der Thioureasignale bei unterschiedlichen Motorpositionen. Alle Messungen erfolgten in Methanol- $d_4$ . ....	39
Abbildung 27: Vergleich eines thermischen $\{^1\text{H}\}$ - $^{13}\text{C}$ -Spektrums von Thiourea nach 128 Scans und einem mit SABRE-SHEATH hyperpolarisierten Thiourea- $^{13}\text{C}$ -Spektrum nach 1 Scan. ....	40
Abbildung 28: Auftragung von $^{13}\text{C}$ -Signalintegralen gegen die während der Begasung verwendeten Magnetfeldstärke zur Ermittlung optimaler Bedingungen des SOT. Als rote Punkte dargestellt sind die Ergebnisse im Magnetfeldbereich von 500 nT bis – 500 nT, in 100 nT Schritten In blauen Vierecken dargestellt, sind die Ergebnisse im Bereich von 300 nT bis -300 nT, in 10 nT Schritten. ....	41
Abbildung 29: Protonen- und $^{13}\text{C}$ -Spektren der Hydrierung von DiMeADC zu DiMeMa. Links: Gemessene Protonenspektren von DiMeMa (1-5) im Vergleich zum thermischen Protonenspektrum (je 1 Scan). Rechts: Gemessene $^{13}\text{C}$ -Spektren (1 Scan) im Vergleich zum thermischen $^{13}\text{C}$ -Spektrum (64 Scans). ....	42
Abbildung 30: Aufbau der Hydrierapparatur unter Verwendung des $\mu$ -Metallschilds, mit manuellem Transfer der Probe in das HF-Spektrometer. ....	45
Abbildung 31: Darstellung der unterschiedlichen Magnetfelder des automatisierten ZULF-MFC im $\mu$ -Metallschild und die parallelen ablaufenden, automatisierten Gasströme, die vor der Detektion durchlaufen werden. ....	46
Abbildung 32: Skizze der unterschiedlichen Operationen, die in dem Haupt-AU-Programm (Fieldsweepau1) zusammengefasst sind. ....	46
Abbildung 33: Skizze des $\mu$ -Metallschildes sowie die Makierungen der Positionen A-D für die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Positionen im $\mu$ -Metallschild auf das Ergebnis des SOT. Die, nach einem Scan erhaltenen, $^{13}\text{C}$ - Spektren (A-D) sind abgebildet, ebenso das entwickelte Insert für eine vorgegebene Probenpositionierung. ....	47
Abbildung 34: $\{^1\text{H}\}$ - $^{13}\text{C}$ -Spektrum von DiMeADC nach 60 s Hydrierung und dem ZULF-MFC im $\mu$ -Metallschild zur Demonstration einer Messung mit längerer Hydrierungszeit. A zeigt das gesamte Spektrum und B zeigt eine Vergrößerung des markierten Bereichs. Aufgenommen in Aceton- $d_6$ . ....	49

- Abbildung 35:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von (A) thermischem Fmoc-Y(Propargyl)-OH, (B)  $^{13}\text{C}$ -PHIP-NMR-Spektrum von Fmoc-Y(Propargyl)-OH und (C) von thermischem Fmoc-Y(Allyl)-OH, welches als Produkt des ersten Hydrierungsschrittes von Fmoc-Y(Propargyl)-OH hervorgeht. Zusätzlich gezeigt sind die Strukturformel unter Angabe der chemischen Verschiebung der relevanten Signale zur besseren Differenzierung zwischen dem Produkt und dem Edukt im PHIP-Spektrum (1 Scan, 10x vergrößert)..... 50
- Abbildung 36: Darstellung von (A) Propargyl- und Allylalkohol (B) (Entnommen aus Datenbank<sup>[84]</sup>); sowie das HP-Spektrum (1 Scan) einer Hydrierung von 14 mM Propargylalkohol nach 30 s  $p\text{-H}_2$  und einem ZULF-MFC in Methanol- $d_4$  unter Anwesenheit des Katalysators für die PHIP Messungen..... 52
- Abbildung 37: Ausschnitte aus den thermischen  $^{13}\text{C}$ -Spektren von thermischen Thiourea (A und C), sowie die Spektren der SABRE-SHEATH-Messungen (nach Hydrierung bei  $2\ \mu\text{T}$ ) mit DMSO (B) und ohne DMSO (D). (vollständige Spektren im Anhang in Abbildung 65). Die  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messungen wurden aufgenommen in Methanol- $d_4$ ..... 53
- Abbildung 38:  $^{13}\text{C}$ -Spektren von thermisch polarisiertem Thiourea (A), sowie das SABRE-SHEATH-Spektrum B und die Auflistung von  $\epsilon$ , HP in % und der Zeitersparnis. Die  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messungen wurden aufgenommen in Methanol- $d_4$ . ..... 55
- Abbildung 39: Vergleich eines thermischen Spektrums A nach 64 Scans und dem (1 Scan) hyperpolarisierten  $^{15}\text{N}$ -Spektrum B von  $^{15}\text{N}$ -Pyridin, nach 60 s Hydrierung bei  $2\ \mu\text{T}$ . Spektrum C zeigt eine thermische Messung der Probe mit verlängerter Pulsdauer. Alle Spektren wurden ohne Entkopplung und in Methanol- $d_4$  aufgenommen..... 56
- Abbildung 40: Schematische Darstellung des gesamten Versuchsaufbaus..... 59
- Abbildung 41: Beispielhafte Spektren von Protonen-PASADENA-Messungen in den 11,7 T- und 1,4 T-Magneten. Beide Spektren wurden mit einem einzigen Scan, nach einer Hydrierung der Probe, erfasst. .... 61
- Abbildung 42: (A) zeigt die Ergebnisse der Signalintensität der NMR-gestützten Reaktionsverfolgung einer mehrstufigen Hydrierungsreaktion von Propargylalkohol zu Propanol über Allylalkohol, aufgetragen gegen die verwendet Hydrierungszeit zwischen den Messungen. (B) Beispielhaftes Spektrum, welches nach 30 s Hydrierzeit am Signalmaximum aufgenommen wurde. Da Maximum wird in A nochmal mittels einer Hilfslinie angezeigt..... 62
- Abbildung 43: Darstellung der unterschiedlichen Magnetfelder und parallel ablaufenden automatisierten Gasströme, die vor der Detektion durchlaufen werden. .... 64
- Abbildung 44: Spektrum A zeigt ein thermisches  $^{13}\text{C}$ -Spektrum von Allylalkohol mit 1024 Scans als externe Referenz, gemessen als  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Experiment bei 1,4 T. Hyperpolarisiertes  $^{13}\text{C}$ -Spektrum von Allylalkohol (B), erhalten nach Durchführung einer Hydrierung (30 s) und einem SOT nach mit dem Labor-MFC, gefolgt von einer Ein-Scan  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Messung bei 1,4 T. Beide Proben wurden in Aceton- $d_6$  aufgenommen. .... 64
- Abbildung 45:  $^{13}\text{C}$ -Spektren nach Durchführung je eines MFC-SOT-Experiments, aufgenommen bei 11,7 T (A) und 1,4 T (B). Alle Spektren wurden in einem Ein-Scan  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -Experiment gemessen. Die Experimente erfolgten in Aceton- $d_6$  unter Anwesenheit von PHIP-Kat..... 66

Abbildung 46: $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der Hydrierung von DiMeADC nach dem SOT zur Verstärkung von $^{13}\text{C}$ -Signalen mittels (A) einem Labor-MFC und (B) einem ZULF-MFC. Beide HP-Spektren stehen im direkten Vergleich zu einem thermischen Spektrum der Messreihe, zur Ermittlung der Verstärkung. Die Experimente wurden in Aceton- $\text{d}_6$ in Anwesenheit des PHIP-Katalysators durchgeführt.....	67
Abbildung 47: Vergleich eines thermischen $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums von einer hochkonzentrierten Thioureaprobe (A), mit dem $^{13}\text{C}$ -Spektrums von Thiourea nach einem SABRE-SHEATH-Experimenten (B). Die p- $\text{H}_2$ -Zufuhr erfolgt für 60 s bei $0,9 \mu\text{T}$ . Alle Spektren wurden am BT-Spektrometer in Methanol- $\text{d}_4$ aufgenommen. ....	68
Abbildung 48: Gezeigt wird in A das $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer thermisch polarisierten $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe nach 2048 Scans. B zeigt das $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum der gleichen Probe, das mit einem Scan aufgenommen wurde, nach Durchführung eines SABRE-SHEATH-Experiments (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei $0,46 \mu\text{T}$ ). C zeigt das $^{15}\text{N}$ -Spektrum der thermische polarisierten $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe ohne $^1\text{H}$ -Entkopplung nach 8000 Scans. D zeigt das $^{15}\text{N}$ -Spektrum der gleichen Probe nach der Hyperpolarisation durch SABRE-SHEATH (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei $0,46 \mu\text{T}$ ). Alles Messungen wurden in Methanol- $\text{d}_4$ bei 1,4 T aufgenommen. ....	70
Abbildung 49: Gezeigt wird in A das $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer thermisch polarisierten $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe nach 2048 Scans. B zeigt das $\{^1\text{H}\}$ - $^{15}\text{N}$ -Spektrum einer nicht- $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Pyridinprobe gleicher Konzentration, nach einem Scan und vorheriger Durchführung eines SABRE-SHEATH-Experiments (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei $0,46 \mu\text{T}$ ). C zeigt das $^{15}\text{N}$ -Spektrum der thermische polarisierten $^{15}\text{N}$ -markierten Pyridinprobe ohne $^1\text{H}$ -Entkopplung nach 8000 Scans. D zeigt das $^{15}\text{N}$ -Spektrum der nicht- $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierten Pyridinprobe nach Hyperpolarisation durch SABRE-SHEATH (30 s p- $\text{H}_2$ -Zufuhr bei $0,46 \mu\text{T}$ ). Alles Messungen wurden in Methanol- $\text{d}_4$ bei 1,4 T aufgenommen. ....	72
Abbildung 50: Fotografie der Hydrierapparatur zur Veranschaulichung der Kupferrohrleitung von (A) der Hausleitung, über den (B) Generator zu (C) dem Durchflusssteuerungspaneel bis zu (D) dem Magnetventilbereich des 1,4 T-Spektrometer.....	80
Abbildung 51: Darstellung des Flussdiagramms der Magnetventile des 11,7 T-Magnetventilbereiches (Abschnitt 3), mit einem Gasvolumen $6,75 \text{ cm}^3$ .....	82
Abbildung 52: Darstellung des Flussdiagramms der Magnetventile des 1,4 T-Magnetventilbereiches (Abschnitt 3), mit einem Gasvolumen $6,5 \text{ cm}^3$ .....	82
Abbildung 53: Skizzierung eines Probenröhrchen welches durch den aufgeschraubten Adapter (links) an die Schläuche und damit an die Hydrierapparatur angeschlossen ist, was die Einleitung von Gasen und das Blubbern ermöglicht (rechts).....	84
Abbildung 54: Oben eine Fotografie des $\mu$ -Metallschildes (rechts) und des Power Supply (links), welcher die Spannung an den Spulen im Schild steuert, um das Magnetfeld zu variieren. Die, bei einem Standard ZULF-MFC das Unten gezeigten Profil durchlaufen. .	86
Abbildung 55: Schematische Darstellung eines PASADENA-Experimentes mit Gasströmen, Puls und Akquisitionsphase.....	86
Abbildung 56: Darstellung eines Experiments mit dem Labor-MFC.....	89

Abbildung 57: Darstellung eines Experiments unter Einsatz des computergesteuerten ZULF-MFC-SOT. ....	89
Abbildung 58: Reaktionsschema der ersten Hydrierung von Dimethylacetylendicarboxylat DiMeADC zu Dimethylmaleinat DiMeMa. ....	95
Abbildung 59: Reaktionsschema des ersten Hydrierungsschrittes von Fmoc-Y(Propargyl)-OH zu Fmoc-Y(Allyl)-OH.....	96
Abbildung 60: Reaktionsschema der Hydrierung von Propargylalkohol zu Allylalkohol zu Propanol.....	97
Abbildung 61: Darstellungen der <sup>1</sup> H-Messungen von Pyridin, deren Signalintegrale für Kapitel 5.2, Abbildung 22 verwendet wurden.....	100
Abbildung 62: Darstellungen aller <sup>13</sup> C Messungen von Pyridin, deren Integrale für Kapitel 5.2, Abbildung 23 zur Bestimmung der SOT-Bedingungen verwendet wurden. ....	100
Abbildung 63: Darstellung der detektierten Thiourea Spektren von 500 bis -500nT in 100 nT Schritten. Aufgenommen wurde jeweils 1 Scan nach 10 s p-H <sub>2</sub> -Zufuhr an Position 8900. Rohdaten für Abbildung 28, Kapitel 5.2.3.....	101
Abbildung 64: Darstellung der detektierten Thiourea Spektren von 300 bis -300nT in 10 nT Schritten. Aufgenommen wurde jeweils 1 Scan nach 10 s hydrieren an Position 8900. Für die Abbildung 28, Kapitel 5.2.3 .....	101
Abbildung 65: Ergänzende zu Abbildung 37 Kapitel 5.3.3. Die vollständigen <sup>13</sup> C-Spektren von der SABRE-Messung an Thiourea mit (10 μL) DMSO (B) und ohne DMSO (D), so wie die jeweiligen thermischen Spektren A und C. Zu erkennen sind das Thioureasignal bei 185 ppm, DMSO bei 40 ppm und das deuterierte Lösungsmittel Methanol bei 50 ppm. Eine Benzenverunreinigung ist bei 128 ppm zu erkennen. Diese entsteht durch deuteriertes Benzen, was bei einer vorherigen Messreihe in die Teflonschläuche gelangte, ist aber nur in den thermischen Spektren zu detektieren. ....	102
Abbildung 66: Ein-Scan-Protonenspektrum von 13 mg Thiourea mit Pyridin, 2,05 mg/ml IrIMes in 500 μL Methanol-d <sub>4</sub> , nach der SABRE-Technik mit dem multifunktionalen Aufbau (Kapitel 5.4.1).....	102
Abbildung 67: Vergleich einer Thiourea Standardprobe (578 mM) in Methanol (A), gegen eine 308 mM Thiourea Probe mit IrIMes, nach 60 s p-H <sub>2</sub> -Zufuhr im statischen nahe Nullfeld. Beide detektiert mit dem Hochfeld. Die Verstärkung zwischen dem thermischen und nicht thermischen Spektrum wird zu ε = 174 und einer Polarisation von 0,18 % bestimmt. .	103
Abbildung 68: <sup>15</sup> N-Spektren von hyperpolarisiertem <sup>15</sup> N-isotopenmarkiertem Pyridin ergänzend zu Kapitel 5.2.2, zur Veranschaulichung der Sensitivität, ohne Apodisation, um die Feinstruktur zu zeigen.....	104
Abbildung 69: <sup>15</sup> N-Spektren von hyperpolarisiertem Pyridin, ergänzend zu Kapitel 5.2.2, zur Veranschaulichung der Sensitivität. Oben jeweils das thermische Spektrum einer externe Standard Probe von <sup>15</sup> N-markiertem Pyridin (20 μM) zur Bestimmung der Verstärkungsfaktoren und Polarisation. Für A: ε = 1860, HP = 0,75%; Für B: ε = 145, HP	

---

= 0,06 %; Für C: $\epsilon = 24125$ , HP = 9,8 % (unter Beachtung der natürlichen Häufigkeit). .....	104
Abbildung 70: Vollständige $^{15}\text{N}$ -Spektren, einer $^{15}\text{N}$ -Markierten Pyridin probe, die in Abbildung 48 gezeigt wurde.....	105
Abbildung 71: $^1\text{H}$ -PHIP-Spektren von PPOBLG von den unterschiedlichen Konzentrationen, für die Bestimmung der Verstärkungsfaktoren Abbildung 19, Kapitel 5.1.1. ....	106
Abbildung 72: Parawasserstoffbasierte Hydrierkinetikmessungen für zur Ermittlung der Integrale für die Darstellung Abbildung 42 in Kapitel 5.4.2. ....	106
Abbildung 73: Technische Zeichnung des NMR-Röhrchen-Adapters, mit Längen- und Gewindemaßangaben.....	122
Abbildung 74: Technische Zeichnung des Inserts für das $\mu$ -Metallschild um die Proben zu positionieren. ....	123
Abbildung 75: Zeichnung des $\mu$ -Metallschildes von A.S. KIRYUTIN. Grün ist der 3D gedruckte Innenbereich für die Spulen und das Aufsatzrohr. Grau die drei $\mu$ -Metall-Abschirmungen. ....	123
Abbildung 76: Darstellung der Probenhalterung am unteren Ende der Zahnstange, benötigt für den motorgestützten, shuttleartigen Transport während SABRE-SHEATH-Experimente. Design von A.S. KIRYUTIN.....	124
Abbildung 77: Photographie aus dem Handbuch zum BRUKER AVANCE III Spektrometer zur Veranschaulichung des Streufelds. ....	125

---

---

## Erklärungen

---

### **§8 Abs. 1 lit. c der Promotionsordnung der TU Darmstadt**

Ich versichere hiermit, dass die elektronische Version meiner Dissertation mit der schriftlichen Version übereinstimmt und für die Durchführung des Promotionsverfahrens vorliegt.

### **§8 Abs. 1 lit. d der Promotionsordnung der TU Darmstadt**

Ich versichere hiermit, dass zu einem vorherigen Zeitpunkt noch keine Promotion versucht wurde und zu keinem früheren Zeitpunkt an einer in- oder ausländischen Hochschule eingereicht wurde.

### **§9 Abs. 1 der Promotionsordnung der TU Darmstadt**

Ich versichere hiermit, dass die vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen verfasst wurde.

### **§9 Abs. 2 der Promotionsordnung der TU Darmstadt**

Die Arbeit hat bisher noch nicht zu Prüfungszwecken gedient.

Darmstadt, den

---

(Franziska Theiß)