

Liquid-state carbon-13 hyperpolarization generated in an MRI system for fast imaging

A. B. Schmidt^{1,2,*}, S. Berner^{1,3,4}, W. Schimpf¹, C. Müller^{1,3,4}, T. Lickert⁵, N. Schwaderlapp¹, S. Knecht^{1,2}, J. G. Skinner¹, A. Dost¹, P. Rovedo^{1,2}, J. Hennig¹, D. von Elverfeldt¹, J. B. Hövener²

¹ Radiologische Klinik - Medizin Physik, Universitätsklinikum, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Freiburg, Deutschland

² Klinik für Radiologie und Neuroradiologie, Sektion Biomedizinische Bildgebung/ MOIN CC, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Deutschland

³ Deutsches Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK), Heidelberg, Deutschland

⁴ Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Deutschland

⁵ Wasserstofftechnologien, Fraunhofer Institut für Solarenergie (ISE), Freiburg, Deutschland

* andreas.schmidt@uniklinik-freiburg.de.

Abstract: Hyperpolarized (HP) tracers dramatically increase the sensitivity of MRI to monitor metabolism non-invasively and *in-vivo*. Current methods, however, require an extra device ("polarizer") whose operation, complexity and cost can exceed that of an MRI-system itself. Here a new HP-method is presented that generates HP in aqueous solutions within seconds directly inside an MRI-scanner at much lower cost and complexity: "SAMBADENA". SAMBADENA may significantly facilitate the research of HP-tracers, which may revolutionize the use of MRI in modern diagnostics.

Zusammenfassung: Kernspin-Hyperpolarisierung (HP) ermöglicht nicht-invasive, *in-vivo* Bildgebung von Stoffwechsel mit nie dagewesener Auflösung und Präzision, indem das MRT-Signal um ein Vielfaches verstärkt wird. Gängige HP-Verfahren benötigen jedoch ein extra Gerät – einen „Polarisator“ – dessen Kosten, Hardware und Komplexität die eines MRT überschreiten können. Hier wird ein neues HP-Verfahren vorgestellt, das HP in wässrigen Lösungen in Sekunden direkt im MRT erzeugt und die Kosten und den Aufwand für HP massiv reduziert: „SAMBADENA“. Diese Erfindung könnte die Erforschung und Entwicklung der HP entscheidend voranbringen.

Motivation

In den letzten Jahrzehnten wurde die Magnetresonanztomografie (MRT) zu einem unverzichtbaren Hilfsmittel für die medizinische Diagnostik. Derzeit beschränkt sie sich jedoch fast ausschließlich auf die ^1H -Bildgebung von Wasser und Fett, da alle anderen, seltener vorkommenden Stoffe und Kerne zu wenig Signal geben.

Gleichzeitig wäre eine nicht-invasive Methode zur chemischen Analyse am lebenden Organismus, mit der etwa der Stoffwechsel und das

Ansprechen auf Medikation von Tumoren untersucht/überwacht werden könnte, ein revolutionärer Fortschritt für die Humandiagnostik (1). Zwar erfüllt die MR Spektroskopie die Voraussetzungen für ein solches Verfahren und kann, durch molekulspezifische chemische Verschiebung der Resonanzfrequenzen, zwischen verschiedenen Stoffen unterscheiden; aufgrund des geringen Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (engl. SNR) wird sie jedoch kaum angewandt (2).

HP verspricht dieses Problem zu lösen, da das Signal von Metaboliten um viele Größenordnungen verstärkt werden kann (3). Erste Studien am Menschen lieferten bereits sehr vielversprechende Ergebnisse und zeigen, dass entscheidende Vorteile in der Herz- und Tumordiagnostik erzielt werden können (4,5).

Die gängigsten Methoden für die Herstellung von flüssigen HP-Kontrastmitteln sind *dissolution dynamic nuclear polarization* (dDNP)(6) und *parahydrogen ($p\text{H}_2$) and synthesis allows dramatically enhanced nuclear alignment* (PASADENA)(7), auch als *$p\text{H}_2$ -induced polarization* (PHIP) bekannt. Alle Implementierungen beider Methoden haben bisweilen den entscheidenden Nachteil, dass ein externes Gerät, zusätzlich zum MRT, eigens für die Herstellung der HP benötigt wird (siehe u.a.: 3,6,8). Zum einen sind die gängigen HP-Tracer kurzlebig (typischerweise $T_1 \approx 10^1\text{s} - 10^2\text{s}$ für ^{13}C -Tracer) und verlieren einen relevanten Teil der Polarisierung während dem Transport vom Polarisator in das MRT. Zum anderen sind die „Polarisatoren“ mit zusätzlichem (Wartungs-)Aufwand und zusätzlichen Kosten (Anschaffung im Falle von dDNP $\approx 10^6$ €) verbunden. Vor allem die Kosten und der Aufwand der Technologien bremsen die weitere Erforschung und Etablierung der HP enorm.

Im Rahmen dieser Arbeit wird ein neues, auf PASADENA basiertes Verfahren vorgestellt, das auf einen externen Polarisator vollständig

verzichtet und unter minimalem Materialaufwand ($\sim 10^3\text{€}$) HP-Tracer direkt im und unter Verwendung der Hardware des MRT polarisiert: *Synthesis Amid the Magnet Bore, Allows a Dramatically Enhanced Nuclear Alignment* (SAMBADENA (9)) (Fig. 1). ^{13}C -HP von über 20 % wird in wässriger Lösung innerhalb von Sekunden generiert. Der Tracer ist steril und innerhalb von Sekunden injektionsbereit; er kann – ohne das MRT zu verlassen – direkt injiziert werden. SAMBADENA umgeht somit einige der großen Erschwernisse aktueller HP-Methoden und könnte, durch die enorme Vereinfachung des Herstellungsprozesses, die weitere Erforschung der HP entscheidend voranbringen.

Material und Methoden

$p\text{H}_2$ wurde, wie früheren Arbeiten zu entnehmen (10), auf $\approx 95\%$ angereichert.

Die HP-Proben wurden ähnlich zu früheren Berichten (8) unter Verwendung von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -2,3,3- $^2\text{H}_3$ -Hydroxyethylakrylat (HEA, CAS: 1216933-17-3, Sigma Aldrich, USA) als Edukt hergestellt. Während der HP wurde Hydroxyethylpropionat (HEP) nach Hydrierung mit $p\text{H}_2$ gebildet. Diese Reaktion wurde katalytisch beschleunigt (Ligand: 1,4-bis-[(phenyl-3-propane sulfonate) phosphine] butane disodium salt, PubChem SID: 329763479; Sigma Aldrich, USA; Rhodium Komplex: bis(norbornadiene)rhodium (I) tetrafluoroborate, MW = 373.99 g mol^{-1} , CAS: 36620-11-8, StremChemicals, USA). Die Proben wurden entweder in H_2O oder D_2O gelöst.

Experimenteller Aufbau: Für HP und MRT wurde ein 7 T präklinisches MRT-System (Biospec 7/20, PV5.1, Bruker, Deutschland) und eine Doppelt-Resonante ^1H - ^{13}C Sendempfangs-Volumenspule (Rapid, Deutschland) eingesetzt. Ein Hochdruck- und Hochtemperatur-Reaktor wurde eigens gefertigt, um eine schnelle Hydrierung zu erreichen (Innenvolumen von $\approx 2\text{ ml}$, PSU 1000) (Fig. 1).

Spin Order Transfer (SOT): Die Sequenzen PH-INEPT+ (11) und I-PH-INEPT+ (12) wurden auf dem MRT implementiert, um *Para*-Spinordnung von ^1H in ^{13}C -HP zu transformieren. Dabei kann nur I-PH-INEPT+ für die Produktion eines injizierbaren HP-Tracers verwendet werden, da damit longitudinale Magnetisierung erzeugt wird, die viel langsamer abfällt (mit T_1 statt T_2).

Hyperpolarisierung: Der beheizte Reaktor ($\approx 80\text{ °C}$) wurde mit 1 ml der heißen HP-Lösung ($\approx 80\text{ °C}$) gefüllt, verschlossen und im Magneten platziert. Die Hydrierung wurde durch Zugabe von $p\text{H}_2$ ($\approx 15\text{-}30\text{ bar}$) vom Boden des Reaktors initialisiert. Nach der Hydrierung (4-8 s) wurde die SOT ausgeführt (Abb. 2).

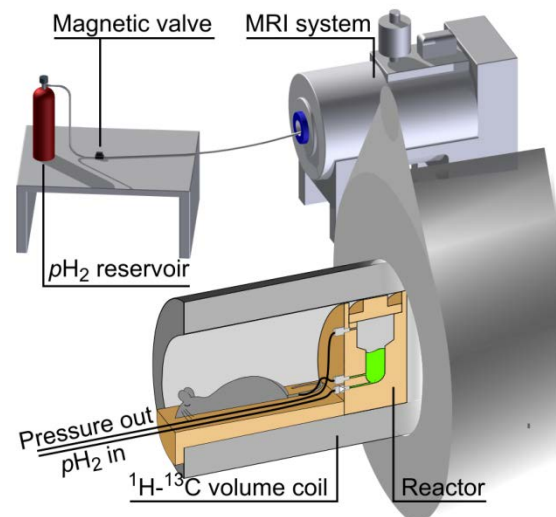


Fig. 1: Hyperpolarisierung ohne Polarisator: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus, bei dem der HP-Tracer *in situ* innerhalb des MRT, neben dem zu Untersuchenden Organismus, produziert wird. Die wesentlichen Komponenten umfassen die Reaktionskammer, Ventile, Schläuche, $p\text{H}_2$ und das MRT. Letzteres wird verwendet, um die Spinordnung zu übertragen und das hyperpolarisierte Signal zu detektieren.

^{13}C -HP wurde unter der Annahme einer 100 %igen Hydrierung und einer 100 %igen $p\text{H}_2$ -Anreicherung unter Verwendung einer 8 ml-Probe von thermischem n.a. Azeton quantifiziert, wodurch die tatsächliche HP leicht unterschätzt wird.

Ex-vivo Experimente: Um die gleichzeitige Verwendung des MRT für HP und Bildgebung zu demonstrieren, wurde eine *ex-vivo* Ratte (*Rattus-Rattus*, 35 g, 7 cm, 7 Tage alt) über einen Katheter mit dem Reaktor verbunden und neben dem Reaktor platziert. Etwa 700 μl HP-Tracer wurden hergestellt und $\approx 330\text{ }\mu\text{l}$ davon wurden in den Thorax des Nagers injiziert.

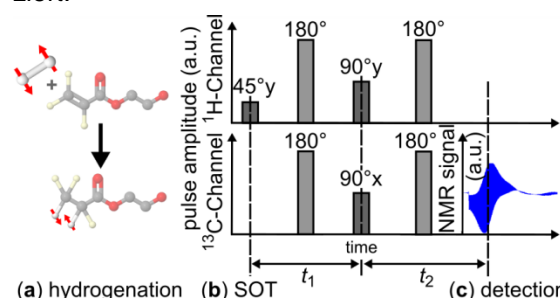


Fig. 2: Schematische Darstellung des HP-Prozesses: Der zu hyperpolarisierte Tracer wird durch katalytische Hydrierung mit $p\text{H}_2$ von einem ungesättigten Edukt ((a), hier: Angiographie-Tracer Hydroxyethylakrylat \rightarrow Hydroxyethylpropionat) gebildet. Als nächstes wird die *Para*-Spinordnung der ^1H durch eine Pulssequenz unter Ausnutzung der j-Kopplungen auf den markierten ^{13}C -Kern übertragen ((b), graue Balken, hier: PH-INEPT+ (11)), wonach verstärktes ^{13}C -Signal gemessen werden kann (c).

Ergebnisse

Die höchste ^{13}C -HP, die nach der PH-INEPT+ -Sequenz gemessen wurde, wurde zu $P \approx 24\%$ quantifiziert, was einem Verstärkungsfaktor von $\eta \approx 40.000$ bei 7T entspricht (Abb. 3, HEP-Konzentration $c_{\text{HEP}} = 5,54\text{ mM}$, Druck $p = 15\text{ bar}$, Hydrierungszeit $t_{\text{h}} = 4\text{ s}$, Katalysator Konzentration $c_{\text{cat}} = 2,1\text{ mM}$, H_2O). Die Reproduzierbarkeit wurde auf $P_{\text{HP}} \approx (21 \pm 2)\%$ quantifiziert ($N = 9$ innerhalb von 2 Tagen). Wenn die Konzentration des Tracers erhöht wurde, wurden Polarisierungen von $P \approx 17\%$ und $P \approx 13\%$ für 22 mM ($p = 15\text{ bar}$, $t_{\text{h}} = 8\text{ s}$, $c_{\text{cat}} = 4,2\text{ mM}$, H_2O) und 80 mM ($p = 30\text{ bar}$, $t_{\text{h}} = 8\text{ s}$, $c_{\text{cat}} = 4,2\text{ mM}$, H_2O) erreicht.

Wie von Bär *et al.* theoretisch vorhergesagt (12), wurde mittels der I-PH-INEPT+ -Sequenz longitudinale HP-Magnetisierung einer ähnlichen Größe erzeugt ($P = 19 \pm 2\%$, 2 s nach SOT gemessen, $c_{\text{HEP}} = 5,54\text{ mM}$, 15 bar, $t_{\text{h}} = 4\text{ s}$, $c_{\text{cat}} = 2,1\text{ mM}$, D_2O). Das T_1 von HEP bei 7T wurde zu $(79 \pm 2)\text{ s}$ und $(75 \pm 5)\text{ s}$ bestimmt, wenn es in D_2O bzw. H_2O gelöst war.

^{13}C -MRT einer *ex-vivo* Ratte wurde in 0,5 s, etwa 10 s nach Injektion des Tracers, durchgeführt, ohne den Magneten zu verlassen. Dabei wurde ein starkes ^{13}C -HP-Signal beobachtet ($P \approx 17\%$, $c_{\text{HEP}} = 22\text{ mM}$, $p = 15\text{ bar}$, $t_{\text{h}} = 8\text{ s}$, $c_{\text{cat}} = 4,2\text{ mM}$, H_2O ; $(8,4\text{ cm})^2$, zerofilling auf $128 \times 128\text{ px}$, Bildauflösung: $(0,65\text{ mm})^2$, Schichtdicke: 6 cm, $T_{\text{R}} = 0,487\text{ s}$, $T_{\text{E}} = 79\text{ ms}$, Aufnahmedauer: 0,487 s). Eine ^1H -MRT Aufnahme zeigte, dass das ^{13}C -Signal, mit einem maximalen ^{13}C -SNR von 113 bzw. 111, um das Herz der Ratte und innerhalb des Reaktors lokalisiert war (T_2 -gewichtete ^1H -Turbo-RARE, $90/180^\circ$, RARE-Faktor: 8, Matrix: 256^2 , Bildauflösung: $(328\mu\text{m})^2$, $T_{\text{R}} = 2,5\text{ s}$, $T_{\text{E}} = 33\text{ ms}$, Aufnahmedauer: 80 s). Im gleichen Bild wurde das SNR einer Modelllösung auf 9 quantifiziert (Phantom M_1 : 333 mg $1\text{-}^{13}\text{C}$ Natriumacetat, 1,2 ml demineralisiertes H_2O , $c = 3,3\text{ M}$). Anschließend wurde eine ^1H Zero-Echo-Time (ZTE) Bildgebung aufgezeichnet, um das gesamte Setup abzubilden (2.3° , Matrix: 128^3 , FOV: 16.8 cm, $T_{\text{R}} = 4\text{ ms}$, Aufnahmedauer: 208 s, Projektionen: 51896) (Abb. 4).

Diskussion

SAMBADENA ermöglicht es in Sekunden große Mengen ^{13}C -markierter Tracer in steriler (9), wässriger Lösung, innerhalb der Magnetbohrung, neben dem Zielorganismus zu polarisieren. Zum ersten Mal wurde eine hohe ^{13}C -HP ohne einen dedizierten Polarisator erreicht; stattdessen wurde die Hardware eines MRT-Systems verwendet. SAMBADENA umgeht

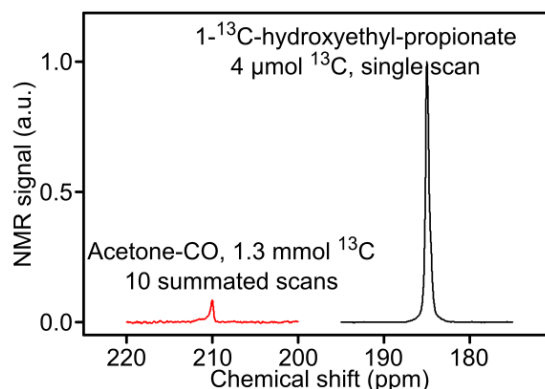


Fig. 3: 40.000-Fache Signalverstärkung mittels SAMBADENA: Das ^{13}C -Signal einer HP Probe ^{13}C -HEP in wässriger Lösung ($4\mu\text{mol } ^{13}\text{C}$, $N=1$, schwarz), übersteigt das einer thermischen Probe n.a. Azeton ($1,3\text{mmol } ^{13}\text{C}$, $N=10$, rot). Die Polarisierung wurde zu $\approx 24\%$ quantifiziert, was einer ≈ 40.000 -fachen Verstärkung der thermischen ^{13}C -Polarisierung entspricht, die bei 7T $\approx 6\text{ ppm}$ beträgt.

einige der Nachteile typischer ^{13}C -HP-Methoden, vor allem die Notwendigkeit eines dedizierten, teuren und komplexen externen Polarisators und den langwierigen Transfer der Probe in den Magneten und zum Zielorganismus. Insbesondere für kurzlebige HP-Tracer (z.B. ^{13}C -Glukose) könnte SAMBADENA, durch die Zeitersparnis ohne Transport, eine höhere HP zum Zeitpunkt der Detektion erzielen.

Weitere Verbesserungen der Methode sind jedoch möglich und notwendig und werden im Folgenden diskutiert:

Obwohl die erreichten HP-Werte – $\approx 20\%$ für eine Tracer-Konzentration von 6 mM und 22 mM und 13% für 80 mM – insbesondere da kein zeitaufwändiger Transport des Tracers durch unterschiedliche Magnetfelder, in das MRT, erfolgt, wahrscheinlich für eine aussagekräftige *in vivo*-Anwendung ausreichen, gibt es Verbesserungspotenzial. Die SOT-Sequenz I-PH-INEPT+ wurde im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal erfolgreich implementiert und es wurde etwa die Hälfte der theoretisch erreichbaren HP beobachtet ($P_{\text{exp}} = (19 \pm 2)\%$, $P_{\text{theo}} = 48.7\%$; Tracer: HEP (9)). Andere SOT-Sequenzen mit einer höheren theoretischen Ausbeute sind denkbar und können die Polarisierung weiter verbessern.

Experimentell kann die Ausbeute wohl vor allem durch eine schnellere, effektivere Hydrierung verbessert werden. Besonders bei hoher Substratkonzentration scheinen eine Erhöhung des Druckes und der Temperatur vielversprechend, um die HP weiter zu verbessern (9).

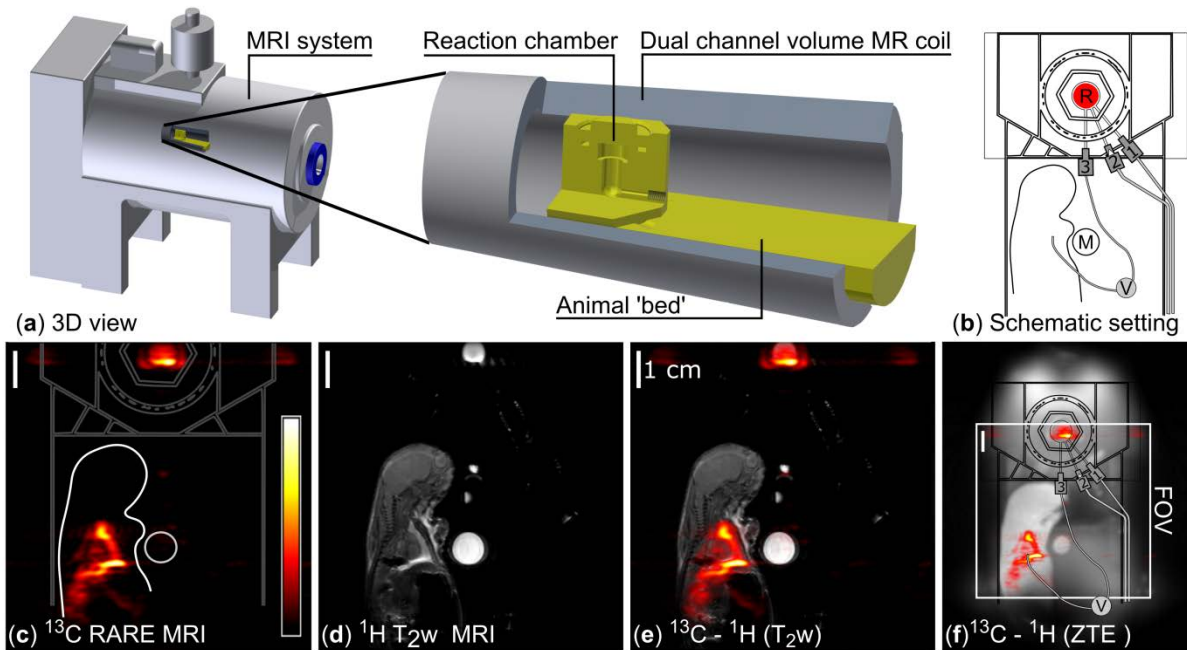


Fig. 4: Gleichzeitige ^{13}C -Hyperpolarisierung und *ex-vivo* Bildgebung: Die kompakte Bauweise des Setups ermöglichte SAMBADENA neben einer kleinen, toten Ratte im empfindlichen Volumen der Spule und Zentrum des Magneten (a, b). Innerhalb von Sekunden wurde der ^{13}C -Tracer HEP bei einer Konzentration von 22 mM auf $\approx 17\%$ polarisiert. Ohne den Magneten zu verlassen, wurden $\approx 330\ \mu\text{l}$ des Tracers in die Ratte injiziert und es wurde ein starkes ^{13}C -Signal mit einem maximalen SNR von 113 in der Ratte gemessen, das in 0,5 s aufgenommen wurde (c). Anschließend wurde ein T_2 -gewichtetes ^1H -Bild (d) und eine ^1H -ZTE MRT (f) aufgezeichnet. Die Überlagerung der ^1H - und ^{13}C -Bilder zeigte, dass der Tracer in der Reaktionskammer und um das Herz des Tieres verteilt war (e, f). Das Isozentrum des Magneten ist das Zentrum der Bilder. R: Reaktor, FOV: *Field of View*, M: ^{13}C -markierte Referenzlösung M_1 ; 1, 2, 3: Leitungen zum Druckausgleich, pH_2 -Zugabe bzw. Injektion.

Um von SAMBADENA zu profitieren und den Transport der Probe zu umgehen, müsste für *in vivo* Experimente die gesamte Vorbereitung (Druck und Temperatur anpassen; evtl. Katalysator von Lösung trennen, pH-Wert einstellen) und Qualitätskontrolle der Injektionslösung, sowie eine gut kontrollierte Injektion, in der Bohrung des MRT – bei erhöhtem Magnetfeld und begrenztem Platz – umgesetzt werden. Das ist insbesondere für klinische Studien, wo eine schnelle und umfassende Prüfung der Lösung vor der Injektion nötig ist, eine Herausforderung. Dass derartige Anpassungen möglich sind und SAMBADENA präklinikisch, *in vivo* verwendet werden kann, konnte in weiterführenden Studien bereits gezeigt werden (13): Temperatur und Druck wurden dabei in $\leq 5\ \text{s}$ angepasst; die Injektion von $\approx 300\ \mu\text{l}$ HP-Lösung in eine *in-vivo* Maus (30g) wurde wohlkontrolliert und manuell durchgeführt.

Für pH_2 -basierte Methoden, also auch für SAMBADENA, gilt es allgemein noch zwei Probleme zu lösen:

1. Die Lösung enthält einen Katalysator der die Hydrierung beschleunigt. Dieser sollte vor *in-vivo* Injektion abgetrennt werden.
2. Für metabolische MRT werden HP-Biomoleküle benötigt; die Tracer-Auswahl war diesbezüglich aber sehr limitiert.

Für ersteres Problem wurden die vergangenen Jahre vielversprechende, mögliche Lösungen untersucht, z.B. mit heterogener Katalyse (14) oder in einer zweiphasigen Lösung (15). Bezüglich des beschränkten Portfolios relevanter Tracer wurden kürzlich große Fortschritte erzielt, welche die HP von Pyruvat und Acetat (16), Phospholactat(17) und (Diethyl-) Succinat (18) mit pH_2 ermöglichten. Aktuell wird daran gearbeitet SAMBADENA für diese Tracer-Moleküle umzusetzen (19).

Zusammenfassung

Da SAMBADENA schnell, einfach, kostengünstig und zuverlässig HP-Tracer direkt im MRT erzeugen kann, verspricht die Methode die Erforschung und Anwendung der HP, welche die Verwendung der MR in der Humandiagnostik revolutionieren könnte, entscheidend zu vereinfachen. Während es noch Raum zur Verbesserung gibt, zeigen die ersten Ergebnisse (9,13,19) das gewaltige Potential der Methode.

Forschungsförderung wurde von DFG (HO 4604/1-1 and HO 4604/2-1), DKTK und der COST Action TD1103 erhalten. ABS bezieht ein Promotionsstipendium der Heinrich-Böll-Stiftung(P131623).

Referenzen

1. Kurhanewicz J, Vigneron DB, Brindle K, et al. Analysis of Cancer Metabolism by Imaging Hyperpolarized Nuclei: Prospects for Translation to Clinical Research. *Neoplasia* 2011;13:81–97. doi: 10.1593/neo.101102.
2. Xu V, Chan H, Lin A, Sailasuta N, Valencerina S, Tran T, Hovener J, Ross B. MR Spectroscopy in Diagnosis and Neurological Decision-Making. *Semin. Neurol.* 2008;28:407–422. doi: 10.1055/s-0028-1083685.
3. Ardenkjaer-Larsen JH, Leach AM, Clarke N, Urbahn J, Anderson D, Skloss TW. Dynamic nuclear polarization polarizer for sterile use intent. *NMR Biomed.* 2011;24:927–932. doi: 10.1002/nbm.1682.
4. Nelson SJ, Kurhanewicz J, Vigneron DB, et al. Metabolic Imaging of Patients with Prostate Cancer Using Hyperpolarized [1-¹³C]Pyruvate. *Sci. Transl. Med.* 2013;5:108. doi: 10.1126/scitranslmed.3006070.
5. Cunningham CH, Lau JY, Chen AP, Geraghty BJ, Perks WJ, Roifman I, Wright GA, Connelly KA. Hyperpolarized ¹³C Metabolic MRI of the Human Heart - Initial Experience. *Circ. Res.* 2016;119:1177–1182.
6. Ardenkjær-Larsen JH, Fridlund B, Gram A, Hansson G, Hansson L, Lerche MH, Servin R, Thaning M, Golman K. Increase in signal-to-noise ratio of > 10,000 times in liquid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2003;100:10158–10163. doi: 10.1073/pnas.1733835100.
7. Bowers CR, Weitekamp DP. Parahydrogen and synthesis allow dramatically enhanced nuclear alignment. *J. Am. Chem. Soc.* 1987;109:5541–5542.
8. Hövener J-B, Chekmenev EY, Harris KC, Perman WH, Robertson LW, Ross BD, Bhattacharya P. PASADENA hyperpolarization of ¹³C biomolecules: equipment design and installation. *Magn Reson Mater Phy* 2009;22:111–121.
9. Schmidt AB, Berner S, Schimpf W, et al. Liquid-state carbon-13 hyperpolarization generated in an MRI system for fast imaging. *Nat. Commun.* 2017. doi: 10.1038/ncomms14535.
10. Hovener J-B, Bär S, Leupold J, Jenne K, Leibfritz D, Hennig J, Duckett SB, von Elverfeldt D. A continuous-flow, high-throughput, high-pressure parahydrogen converter for hyperpolarization in a clinical setting. *NMR Biomed.* 2013;26:124–131.
11. Haacke EM ed. *Magnetic resonance imaging: physical principles and sequence design.* New York: Wiley; 1999.
12. Bär S, Lange T, Leibfritz D, Hennig J, von Elverfeldt D, Hovener J-B. On the spin order transfer from parahydrogen to another nucleus. *J. Magn. Reson.* 2012;225:25–35.
13. Schmidt AB, Berner S, Braig M, Hennig J, Elverfeldt D v., Hövener J-B. Hyperpolarization without a polarizer: first ¹³C-MRI in vivo. *Curr. Dir. Biomed. Eng.* 2017.
14. Glöggler S, Grunfeld AM, Ertas YN, McCormick J, Wagner S, Schleker PPM, Bouchard L-S. A nanoparticle catalyst for heterogeneous phase para-hydrogen-induced polarization in water. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 2015;54:2452–2456. doi: 10.1002/anie.201409027.
15. Reineri F, Viale A, Ellena S, Boi T, Daniele V, Gobetto R, Aime S. Use of Labile Precursors for the Generation of Hyperpolarized Molecules from Hydrogenation with Parahydrogen and Aqueous-Phase Extraction. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011;50:7350–7353. doi: 10.1002/anie.201101359.
16. Reineri F, Boi T, Aime S. ParaHydrogen Induced Polarization of ¹³C carboxylate resonance in acetate and pyruvate. *Nat. Commun.* 2015;6:5858. doi: 10.1038/ncomms6858.
17. Shchepin RV, Coffey AM, Waddell KW, Chekmenev EY. PASADENA Hyperpolarized ¹³C Phospholactate. *J. Am. Chem. Soc.* 2012;134:3957–3960. doi: 10.1021/ja210639c.
18. Chekmenev EY, Hövener J, Norton VA, Harris K, Batchelder LS, Bhattacharya P, Ross BD, Weitekamp DP. PASADENA Hyperpolarization of Succinic Acid for MRI and NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 2008;130:4212–4213. doi: 10.1021/ja7101218.
19. Berner S, Schmidt AB, Schimpf W, et al. Hyperpolarization of a biomolecule to 7% in an MRI using SAMBADENA. In: *EMIM 2017.* ; 2017.