

# 基于分子间多量子相干的不均匀磁场下 高分辨核磁共振方法的研究进展

陈忠\*, 林美金, 陈希, 蔡淑惠

厦门大学物理系, 固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门 361005

\* E-mail: [chenz@xmu.edu.cn](mailto:chenz@xmu.edu.cn)

收稿日期: 2007-12-03; 接受日期: 2008-01-09

国家自然科学基金资助项目(批准号: 20573084, 10575085 和 10774125)

**摘要** 高分辨核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)通常需要高度均匀的强静磁场, 然而在活体实验等情况下, 样品的磁化率差异将不可避免地导致磁场的不均匀, 并且这种不均匀性难以通过匀场等传统方法消除. 最近, 分子间多量子相干被利用来消除活体等样品中由磁场不均匀引起的谱线增宽以获得高分辨 NMR 谱. 和其他高分辨 NMR 方法相比, 分子间多量子相干方法具有独特的特征与优势, 它能同时保留化学位移、峰的裂分模式、偶合常数和相对峰面积等信息. 这些信息在传统的一维 NMR 中通常用于分析和表征分子结构.

## 关键词

核磁共振  
高分辨  
不均匀磁场  
分子间多量子相干

核磁共振以它的精确性、选择性和无创性成为一门具有革命性意义的现代科学. 从复杂的生物分子到各种材料, 从活的有机体到纳米粒子, 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和 NMR 谱提供了许多宝贵的信息. 线宽和线形是决定 NMR 谱效用的关键标准. 传统 NMR 信号的线宽与样品周围的磁场不均匀性直接相关. 为了尽可能提高谱图分辨率, 需要耗费相当多的努力, 包括仔细匀场、旋转样品、严格去除样品中的顺磁性或颗粒性杂质, 以及采用与样品磁化率匹配的容器.

即使可通过外部匀场获得必要的静磁场均匀度, 一般要达到  $1 \times 10^9 / \text{cm}^3$  数量级<sup>[1]</sup>, 然而许多情况下, 例如在活体、磁体外和原位 NMR 中, 磁场的空间均匀性和时间稳定性都会被降低, 并且传统的匀场手段无法消除这种降低. 磁化率梯度引起的不均匀谱线增宽将导致严重的信号交迭<sup>[2]</sup>. 虽然旋转样品可以改善谱图的线形和线宽, 但是它对有些实验不适用. 活体样品、动物和灌注器官实验就是明显的例子. 所有这些都使我们无法基于化学位移、标量耦合常数、多重峰裂分模式和相对峰面积等我们熟悉的 NMR 信息进行谱分析.

要获得高分辨 NMR 谱, 可从硬件方面进行改进. 例如, 单边磁体磁场均匀度的提高大大扩展了用于开放式 NMR 传感器的方法, 得以在便携的开放式磁体外获得分辨率达到  $0.25 \times 10^6$  的局部高分辨质子谱<sup>[3]</sup>; Varian Nano-NMR 样品管的出现使我们能够通过魔角旋转和磁化率匹配流体技术实现树脂球上固相合成产物的研究<sup>[4]</sup>. 除了在 NMR 硬件上的改进外, 还有许多旨在从谱线不均匀增宽中恢复出有用信息的脉冲序列和数据处理方法, 例如参考去卷积<sup>[5,6]</sup>、分子内多量子相干(multiple quantum coherence, MQC)<sup>[7-9]</sup>、章动回波<sup>[1,10-15]</sup>、分子间核 Overhauser 效应(nuclear Overhauser effect, NOE)<sup>[16]</sup>、空间编码和相位校正<sup>[17,18]</sup>、成像去卷积<sup>[19]</sup>、基于傅里叶合成的算法<sup>[20]</sup>、化学位移成像<sup>[21]</sup>和分子间多量子相干(intermolecular MQC, iMQC)<sup>[2,22-28]</sup>等方法. 近年来, iMQC 被证明是在非均匀场中获得高分辨 NMR 谱很有前景的方法.

本文将集中探讨通过 iMQC 获得高分辨 NMR 谱的方法. 我们将介绍 iMQC 理论, 回顾基于 iMQC 的高分辨方法, 分析它的高分辨机理并与其他高分辨方法进行比较.

## 1 分子间多量子相干

### 1.1 分子间多量子相干现象的发现

虽然分子内 MQC 谱几乎与 NMR 技术本身有着同样长的发展史, 但许多年来, 不同分子自旋间的 iMQC 信号, 例如不同水分子间质子与质子耦合的信号被认为是不可能出现的. Deville 及其合作者最早报道在高极化核自旋体系中, 磁化成分的空间调制将产生可观测的多自旋回波信号(multiple spin echo, MSE)<sup>[29]</sup>. 对该现象的解析采用的是基于不同分子自旋间偶极-偶极相互作用的远程偶极场(distant dipolar field, DDF)理论. 20 世纪 90 年代初, Warren 及其合作者在水和其他高极化核自旋体系的二维(two dimensional, 2D) NMR 谱中观测到额外的交叉峰, 并从量子力学密度矩阵出发描述该现象为 iMQC<sup>[30-33]</sup>. Mao 和 Ye 也报道辐射阻尼可以产生类似于 MSE 现象的谐波峰<sup>[34,35]</sup>.

### 1.2 量子理论和半经典理论

看起来, 上面的观测现象似乎是违反常理的, 而且 DDF 和 iMQC 两种解释形式又极其不同. 因此, MSE 和 iMQC 的发现不仅使科学家产生极大的兴趣, 也引发了激烈的争论<sup>[36,37]</sup>. 然而, 深入的研究表明, DDF 和 iMQC 理论都能够对 NMR 实验给出相同的预测<sup>[30,31,38-40]</sup>. MSE 和 iMQC 都起源于自旋间的远程偶极耦合形成的偶极场. Warren<sup>[33]</sup>和 Jeener<sup>[36]</sup>论证了 iMQC 和 DDF 理论的等价性.

在量子理论中, 热平衡条件下, 温度为  $T$  时的自旋密度矩阵为

$$\rho_{\text{eq}} \propto \exp\left(-\beta \hbar \omega_0 \sum_i^N I_{zi}\right), \quad (1)$$

其中  $\beta = 1/kT$ ,  $k$  为波尔兹曼常数,  $\hbar$  为布朗克常数,  $\omega_0$  为磁共振频率. 方程(1)一般通过泰勒级数展开至一阶线性项, 即高温近似(high temperature approximation, HTA)的表达式:

$$\rho_{\text{HTA}} \propto \left(1 - \beta \hbar \omega_0 \sum_i^N I_{zi}\right). \quad (2)$$

方程(2)对核自旋数目为  $10^3$  或者更少的自旋体系是一个好的近似. 然而, 它不适用于自旋数目

多的宏观自旋系统. 方程(1)中密度矩阵在线性项以外进一步展开将给出二自旋和多自旋相干项. 然而, 由于没有偶极耦合机制把它们变换成可观测的(单量子)磁化, 这些相干项在 COSY (correlated spectroscopy) 实验中通常是不可检测的. 自旋  $i$  和  $j$  间的偶极-偶极耦合正比于  $(3\cos^2\theta_{ij}-1)/r_{ij}^3$ ,  $\theta_{ij}$  为原子核间矢量和外加磁场(沿  $\hat{z}$  方向)之间的夹角,  $r_{ij}$  为核间距. 由于扩散作用, 对于小的  $r_{ij}$  值,  $\theta_{ij}$  可取所有可能值. 因此, 偶极耦合被平均掉. 然而, 对于  $r_{ij}$  大于在 NMR 时间尺度上分子扩散距离(对于小分子, 约等于  $10\ \mu\text{m}$ )的核自旋, 偶极耦合不能被平均掉. 由于  $1/r^3$  的依赖关系, 单个的耦合非常小. 然而自旋的总数非常大. 在给定的距离  $r$  处, 自旋数目随  $r^2$  增加, 因此一个自旋与在一个固定距离  $r$  上的其他自旋间的相互作用能仅以  $1/r$  的趋势下降. 当自旋的空间分布不均匀时(受到梯度脉冲作用或者样品形状不是球形也不是无限长圆柱体时带来的边界效应), 偶极耦合效应不能被平均掉<sup>[31,41]</sup>. 这就是当如图 1(a)所示的 CRAZED (cosy revamped by asymmetric z-gradient echo detection) 序列作用在高极化核自旋体系时我们观测到 iMQC 现象的原因<sup>[31]</sup>. 观测到的 iMQC 信号的相干阶由第二个射频 (radio-frequency, RF) 脉冲前后梯度场面积的比值(1:n)决定. 量子理论为脉冲序列设计、数据解释和实验预测提供了更好的方法, 但是它难以给出解析解.

在半经典理论模型中<sup>[37]</sup>, 仅考虑磁化在射频脉冲、静磁场及与偶极场作用下的演化. 在  $t_1$  时间内, 自旋依照传统的 Bloch 方程绕着静磁场进动. 这意味着在这段时间内, 不存在 MQC, 只存在磁化自身的演化. 当加入梯度脉冲时, 偶极耦合出现并导致磁化的非线性演化<sup>[42]</sup>. 自旋之间的相互作用通过引入 DDF 进行处理. 在时刻  $t$  位置  $\mathbf{r}$  处的 DDF 为<sup>[32]</sup>

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{r}, t) = \frac{\mu_0}{4\pi} \int d^3\mathbf{r}' \frac{1-3\cos^2\theta_{r'r'}}{2|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|^3} [3M_z(\mathbf{r}', t)\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{r}', t)], \quad (3)$$

其中  $\mu_0$  为磁导率常数,  $\theta_{r'r'}$  为连接位置  $\mathbf{r}$  和  $\mathbf{r}'$  的核间矢量与外加静磁场之间的夹角,  $\mathbf{M}$  为以拉莫频率旋转的坐标系中的磁化矢量,  $\hat{z}$  为沿静磁场方向的单位矢量,  $M_z$  为  $\mathbf{M}$  在  $\hat{z}$  方向的分量. 方程(3)被用来修正通常的 Bloch 方程, 从而为  $d\mathbf{M}/dt$  引入了一个额外的贡献( $\mathbf{M} \times \gamma \mathbf{B}_d$ )<sup>[32]</sup>,  $\gamma$  为旋磁比. 相对于量子理论, 修正的 Bloch 方程更容易处理包括扩散、弛豫和辐射阻尼等在内的宏观效应, 更方便用于数值计算和模拟<sup>[43-45]</sup>. 然而它是非线性的, 这降低了其直观预测能力.

## 2 基于 iMQC 的高分辨 NMR 方法

虽然在高场中来源于更高阶自旋项的信号已经可以观测, 但是目前所有的 iMQC 高分辨方法都是基于分子间零量子相干(intermolecular zero quantum coherences, iZQC)、分子间双量子相干(intermolecular double quantum coherences, iDQC)或分子间单量子相干(intermolecular single quantum coherences, iSQC), 它们来自平衡密度矩阵中的二自旋项, 在许多情况下比其他 iMQC 信号强得多. 高浓度的溶剂会产生强的辐射阻尼效应. 因此, 通常将  $t_1$  期间的梯度脉冲分成两部分以抑制辐射阻尼效应(以及扩散): 一部分强而短的作用于  $t_1$  开始时, 另一部分时间较长的作用于  $t_1$  末期<sup>[22]</sup>. 此外, 本文讨论的 iMQC 信号都来自溶剂和溶质自旋间的偶极相互作用. 模拟显示当  $\Delta\omega/(2\pi) \geq 1/\tau_r$  时, 溶剂自旋产生的辐射阻尼场对溶质自旋几乎没有影响, 式中

$\Delta\omega$ 为溶剂和溶质自旋的共振频偏之差,  $\tau_r$ 为溶剂自旋的辐射阻尼时间<sup>[46]</sup>. 因此在本文的分析中, 辐射阻尼效应都被略去.

## 2.1 基于 iZQC 的 HOMOGENIZED 类方法

由 Vathyam 及其合作者提出的 HOMOGENIZED (HOMOGeneity ENhancement by Intermolecular ZERo-quantum Detection)序列(图 1(b))作用后得到的二维谱显示, 其间接检测维的分辨率有显著提高<sup>[22]</sup>.

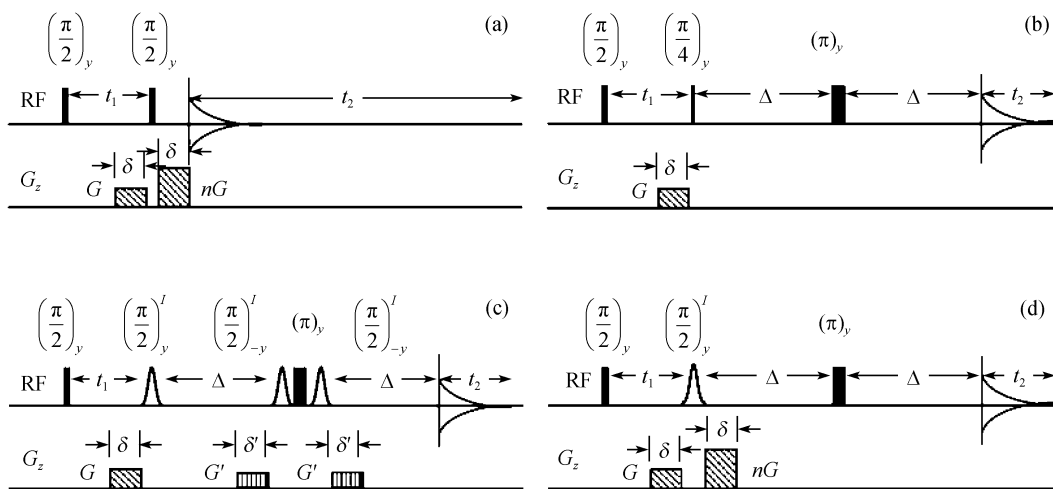


图 1 脉冲序列

(a) CRAZED; (b) HOMOGENIZED; (c) SEL-HOMOGENIZED; (d) IDEAL ( $n = -2$ )或 S90 ( $n = 0$ ). 黑色条纹表示非选择性射频脉冲, 高斯型射频脉冲选择激发  $I$  自旋(溶剂)

考虑一个由自旋  $1/2$  的  $S$  成分和  $I$  成分组成的体系,  $S$  成分由 AX 自旋体系构成(包含偶合常数为  $J_{AX}$  的  $S_A$  和  $S_X$  自旋),  $I$  是单自旋体系. 假设  $I$  为溶剂, 浓度高,  $S$  为溶质, 浓度可低可高. 分子间 NOE 效应很小, 忽略不计.  $\omega_m$  为均匀磁场中在旋转坐标系下自旋  $m$  ( $m = I, S_A, S_X$ ) 的频率偏置,  $\Delta B(\mathbf{r})$  是位置  $\mathbf{r}$  处静磁场的非均匀度. 显然, NMR 信号的线宽将随样品周围  $\Delta B(\mathbf{r})$  的增加而增加. 考虑到这个空间相关的磁场非均匀度, 位置  $\mathbf{r}$  处自旋  $m$  的频率偏置  $\Omega_m(\mathbf{r})$  可表示为

$$\Omega_m(\mathbf{r}) = \omega_m + \gamma\Delta B(\mathbf{r}) \quad (m = I, S_A, S_X). \quad (4)$$

方程(4)表明磁场非均匀性使核自旋的角频率偏离了共振频率  $\omega_m$ , 偏离值为  $\Delta\omega(\mathbf{r}) = \gamma\Delta B(\mathbf{r})$ . iZQC 的进动频率为

$$\Omega_{\text{iZQC}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \Omega_m(\mathbf{r}) - \Omega_n(\mathbf{r}') = (\omega_m - \omega_n) + \gamma[\Delta B(\mathbf{r}) - \Delta B(\mathbf{r}')] \quad (m, n = I, S_A, S_X), \quad (5)$$

这里下标  $m$  和  $n$  代表不同的自旋. 由于两个相互间有长程偶极相互作用的自旋在空间上相互靠近, 两个自旋所感受的磁场几乎是一样的, 即  $\Delta B(\mathbf{r}) \approx \Delta B(\mathbf{r}')$ , 因此 iZQC 峰的频率近似为  $\omega_m - \omega_n$ , 几乎没有不均匀展宽. 用丙酮(acetone)与甲乙酮(methyl ethyl ketone, MEK)的混合液做实

验, 结果显示, 利用 HOMOGENIZED 序列, 可使线宽从 85 Hz 减少到 4.5 Hz, 并且恢复出峰的多重裂分模式(图 2(a)). Warren 小组还以一个活的蚯蚓的谱图证明 iZQC 对不均匀展宽的敏感性. 在他们的实验中, iZQC 线宽比直接维的有不均匀展宽的线宽窄得多<sup>[27]</sup>.

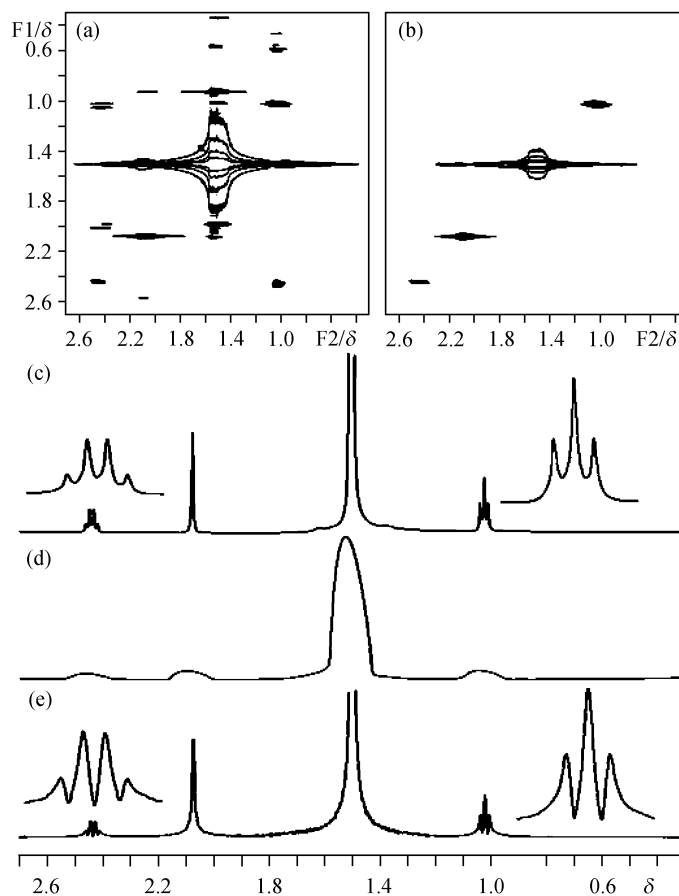


图 2 线宽为 50Hz 的不均匀场下(除(c)外)浓度为 10%的甲乙酮的环己烷溶液的谱图  
(a) 2D HOMOGENIZED 谱; (b) 2D SEL-HOMOGENIZED 谱; (c) 均匀场中的常规 1D 谱; (d) 常规 1D 谱; (e) 图 2(b) 沿 F1 轴的累积投影谱. 插图显示放大的多重峰

Lin 及其合作者报道了在不均匀、不稳定的 25 T 阻抗型磁体 NMR 谱仪下应用结合多自旋回波(Carr-Purcell-Meiboom-Gill, CPMG)和 HOMOGENIZED 的被称为 CPMG-HOMOGENIZED 序列的实验结果. 阻抗型或混合型磁体的空间均匀度( $\sim 3 \text{ kHz/cm}^3$ )和时间稳定度( $\sim 1 \text{ kHz/s}$ )对常规的高分辨 NMR 实验是不可接受的, 而应用 CPMG-HOMOGENIZED 序列可使线宽从 3 kHz 降低到了 30 Hz. Faber 及其合作者还将 HOMOGENIZED 应用于代谢物模型、葡萄以及小鼠头部的活体 NMR 实验<sup>[2]</sup>.

忽略横向弛豫、扩散和标量耦合, 从 HOMOGENIZED 序列获得的信号可表示为<sup>[26]</sup>

$$S_{\text{HOMOGENIZED}} = \left\{ \sin \beta \sum_{\substack{m,n=I,S_A,S_X \\ m \neq n}} \frac{4}{3} M_0^m M_0^n e^{-t_2/T_1^m} \left( \cos^2 \frac{\beta}{2} e^{-i(\Omega_m - \Omega_n)t_1} - \sin^2 \frac{\beta}{2} e^{-i(\Omega_m - \Omega_n)t_1} \right) e^{-i\Omega_m t_2} \right. \\ \left. + \sin 2\beta \sum_{m=I,S_A,S_X} i M_0^m M_0^m e^{-t_2/T_1^m} e^{-i\Omega_m t_2} \right\} \frac{1}{4} \gamma \mu_0 t_2 \sin^2 \alpha \\ + i \sin \beta \sum_{m=I,S_A,S_X} M_0^m [1 - (1 - \cos \alpha) e^{-t_1/T_1^m}] e^{-i\Omega_m t_2}, \quad (6)$$

其中 $\alpha$ 和 $\beta$ 为第一个和第二个射频脉冲的翻转角,  $T_1^m$ 为自旋 $m$ 的纵向弛豫时间,  $M_0^m$ 为自旋 $m$ 的初始磁化. 方程(6)表明, 当 $\alpha = \pi/2$ 时得到的 iZQC 信号强度最大. 利用 HOMOGENIZED 序列难以抑制溶剂-溶剂和溶质-溶质间的 iZQC 信号(方程(6)中第二项)及残留的溶剂或溶质纵向磁化(方程(6)中第三项). 而且, 在 F1 维中还有不希望出现的频率差为负的溶剂-溶质交叉峰. 与强的常规的单量子相干(single quantum coherence, SQC)信号相比, iZQC 信号内在的低信噪比(signal-to-noise ratio, SNR)是其应用的一大技术障碍. 此外, 溶剂峰位置处强的  $t_1$  脊噪声、传统的溶质信号和溶质-溶质 iZQC 信号会降低分辨率并影响高分辨 1D (one dimensional, 1D) NMR 谱的重制.

为了选择溶剂-溶质 iZQC 交叉峰并抑制  $t_1$  脊噪声, Chen 及其合作者将 HOMOGENIZED 改良为 SEL-HOMOGENIZED (SELective HOMOGENIZED)序列(图 1(c)), 此序列第二个脉冲仅选择激发 I 自旋(溶剂). 信号表达式为<sup>[26]</sup>

$$S_{\text{SEL-HOMOGENIZED}} = \sum_{m=S_A,S_X} \frac{1}{3} (\gamma \mu_0 M_0^I t_2) M_0^m \sin^2 \alpha \sin \beta e^{-t_2/T_1^I} e^{-i[(\Omega_m - \Omega_I)t_1 + \Omega_m t_2]} \\ - \frac{i}{4} (\gamma \mu_0 M_0^I t_2) M_0^I \sin^2 \alpha \sin 2\beta e^{-t_2/T_1^I} e^{-i\Omega_I t_2} \\ + i M_0^I \sin \beta [1 - (1 - \cos \alpha) e^{-t_1/T_1^I}] e^{-i\Omega_I t_2}. \quad (7)$$

方程(7)表明, 频率差为负的溶剂-溶质 iZQC 和所有不需要的溶质-溶质 iZQC 信号都不存在了. 当 $\alpha = \pi/2$ 和 $\beta = \pi/2$ 时, 溶剂-溶质 iZQC 信号最强, 而溶剂-溶剂 iZQC 信号为零. 由于变化的演化时间  $t_1$  不可能使所有  $[1 - (1 - \cos \alpha) e^{-t_1/T_1^I}]$  都趋于零, 因此来自残留的溶剂磁化的信号仍难以抑制, 故而在 SEL-HOMOGENIZED 序列的散相梯度场对之间加了一个 WATERGATE 组合脉冲  $\{(\pi/2)_{-y,\text{sel}} - (\pi)_{y,\text{non-sel}} - (\pi/2)_{-y,\text{sel}}\}$  来抑制溶剂峰<sup>[47]</sup>.

为了验证 SEL-HOMOGENIZED 序列的可行性, Chen 及其合作者在线宽 50 Hz 的非均匀场中测量了乙酰酮(10%)与环己烷混合液的氢谱, 结果如图 2(b)所示<sup>[26]</sup>. 与图 2(a)的 HOMOGENIZED 谱相比,  $t_1$  脊噪声大大减少, 而且不需要的分子间交叉峰消失了. 将 2DSEL-HOMOGENIZED 谱沿水平方向投影, 可以得到高分辨的 1D 谱(图 2(e)), 其线宽约为 2 Hz. 在这个投影谱中, 化学位移、标量耦合常数、峰的多重裂分模式和相对峰面积都能够得到, 而在常规谱图中(图 2(d)), 多重裂分是看不到的. 这使得这些峰不仅能够归属, 而且能够定量.

## 2.2 基于 iDQC 的 IDEAL 方法

与 iZQC 类似, iDQC 的进动频率表示为

$$\Omega_{\text{iDQC}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \Omega_m(\mathbf{r}) + \Omega_n(\mathbf{r}') = (\omega_m + \omega_n) + \gamma[\Delta B(\mathbf{r}) + \Delta B(\mathbf{r}')] \quad (m, n = I, S_A, S_X). \quad (8)$$

方程(8)显示, iDQC 由取向相同的成对的自旋产生. 由于 iDQC 选择梯度场能够有效抑制残留的 SQC 信号, 因此不需要使用额外的相位循环或 WATERGATE 就能获得纯的 iDQC 信号. iDQC 的信号强度比 iZQC 高近 30%<sup>[48]</sup>. Chen 及其合作者设计了一个 iDQC 序列, 称为 IDEAL (intermolecular dipolar-interaction enhanced all lines)序列, 如图 1(d)所示,  $n = -2$ <sup>[25]</sup>. 与 SEL-HOMOGENIZED 序列类似, IDEAL 的第二个 RF 脉冲仅选择激发溶剂. 面积比为 1:2 的相干选择梯度场一前一后紧邻第二个射频脉冲, 以减少扩散引起的信号损失.

在忽略横向弛豫、扩散、辐射阻尼以及标量耦合的情况下, IDEAL 信号可表示为<sup>[25]</sup>

$$S_{\text{IDEAL}} = \sum_{m=S_A, S_X} \frac{1}{3} (\gamma\mu_0 M_0^I t_2) M_0^m \sin^2 \alpha \sin \beta e^{-t_2/T_1^I} e^{-i[(\Omega_m + \Omega_n)t_1 + \Omega_m t_2]} + \frac{i}{4} (\gamma\mu_0 M_0^I t_2) M_0^I \sin^2 \alpha \sin \beta e^{-3t_2/T_1^I} e^{-i[2\Omega_m t_1 + \Omega_m t_2]}, \quad (9)$$

这里第一和第二项分别对应溶剂-溶质和溶剂-溶剂 iDQC 峰. 来自溶质-溶质和溶质-溶剂的需分子间交叉峰通过选择激发被有效抑制了. 方程(9)表示来自溶剂-溶质的 iDQC 信号最强时所需的 RF 脉冲翻转角为  $\alpha = \beta = \pi/2$ . 尽管溶剂-溶剂 iDQC 峰在最佳翻转角下不会消失, 但是其信号强度与溶剂-溶质交叉峰具有相同的数量级, 因此不会给 SNR 带来大的影响. 因为通过长程偶极相互作用的两个自旋所经受的磁场基本相同, F1 维溶剂-溶质 iDQC 峰的频率范围为  $\Omega_m + \Omega_I = (\omega_m + \omega_I) + 2\Delta\omega(\mathbf{r})$ , 其 F2 维溶质自旋的相应频率范围为  $\Omega_m = \omega_m + \Delta\omega(\mathbf{r})$ . 因此, 溶剂-溶质分子间交叉峰在不均匀场作用下表现为沿特定方向  $\phi = \arctan 2$  相互分隔的条纹, 这里  $\phi$  是条纹相对于 F2 轴的夹角. 尽管这些条纹在 F1 维和 F2 维都受到不均匀增宽的影响, 但是将交叉峰沿垂直于  $\phi$  方向的特定轴进行投影可得到几乎不受不均匀增宽影响的一维高分辨谱. 由于在演化期和检测期标量耦合都不受磁场不均匀性的影响, 因此溶质自旋在 F1 维和 F2 维都在标量耦合作用下演化, 多重谱线沿着  $3\pi/4$  角度排列.

为了验证该方法, 采用异丙醇和二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)混合溶液进行了测量<sup>[25]</sup>. 图 3(a)显示, 二维谱中分子间交叉峰沿  $\phi$  方向伸展. 迹线表明  $J$  耦合的多重裂分可以很好地分辨. 为了获得高分辨投影谱(图 3(c)), 首先将数据矩阵沿 F1 轴以  $-\pi/2$  进行扭转剪切(shear), 使  $(\Omega_1, \Omega_2)$  变换为 p 型模式的  $(\Omega'_1 = \Omega_1 - 2\Omega_2, \Omega'_2 = \Omega_2)$ . 将此结果用 n 型模式显示, 再沿 F2 轴以  $-\pi/4$  旋转裁剪, 使  $(-\Omega'_1, \Omega'_2)$  变换为  $(\Omega''_1 = -\Omega'_1 = -\Omega_1 + 2\Omega_2, \Omega''_2 = \Omega'_2 - \Omega'_1 = -\Omega_1 + 3\Omega_2)$ . 此时在 F1 维投影的标量耦合常数是原来的 3 倍. 耦合常数的放大有助于我们从弱耦合体系中获得精细的多重裂分模式, 但也可能导致强耦合体系谱线的交迭和畸变. 在重建的 1D 谱中线宽从 105 Hz 减少到 2 Hz, 能够与常规谱图相同(图 3(d)).

## 2.3 改进的 iMQC 方法

Warren 及其合作者提出了一个快速 iZQC 序列, 单次数据采集扫描就能采集 2D iZQC 谱

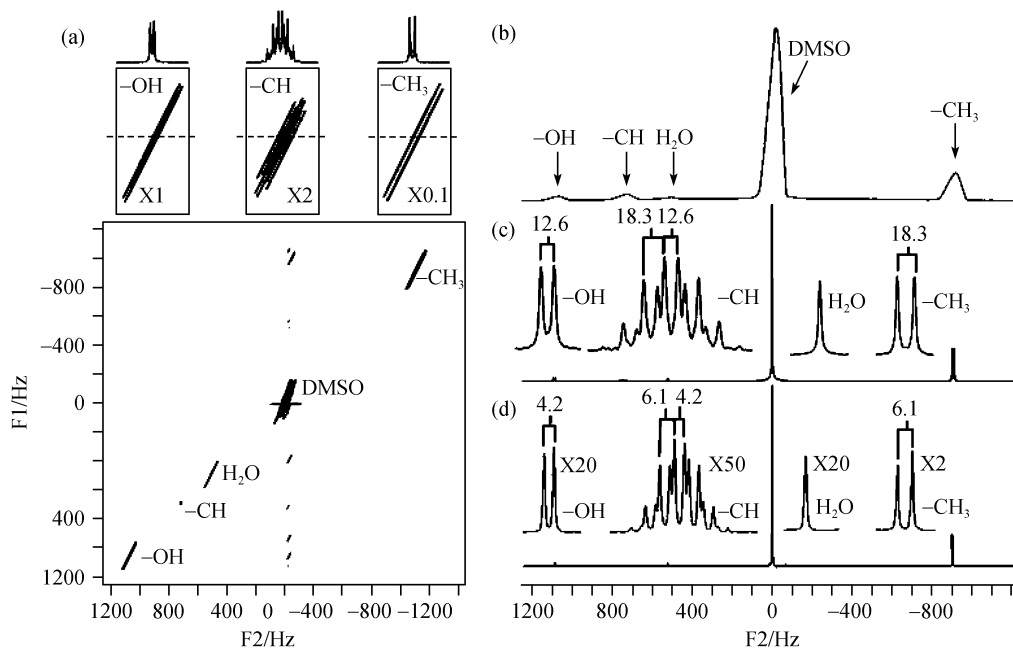


图3 线宽为 105 Hz 的不均匀场下(除(d)外)异丙醇和 DMSO 混合溶液的谱图

(a) IDEAL 谱, -OH, -CH 和 -CH<sub>3</sub> 基团沿 F1 和 F2 方向的放大图置于 2D 谱上, 其上为沿虚线方向的迹; (b) 常规 1D 谱; (c) 图(a)旋转切变后的累积投影; (d) 均匀场下的单脉冲 1D 谱. 插图是谱峰的放大

图<sup>[27]</sup>. 该方法可以看作是不同  $t_1$  值的几个 HOMOGENIZED 实验的叠加. 快速 iZQC 实验的原理可用于提高其他普通的 2D 谱方法的速度, 如分子内或分子间的 SQC 和 DQC 脉冲序列. 用 5% 的 MEK 溶液进行实验, 证明其 iZQC 谱和 iDQC 谱的采集速度可分别提高为原来的 4 倍和 8 倍. 我们小组提出了一个能够有效抑制溶剂信号的快速的高分辨 iMQC 序列. 在线宽为 60 Hz 的不均匀场下, 以组氨酸水溶液(摩尔比 1:25)为样品进行实验, 实验结果验证了该方法的有效性<sup>[49]</sup>. 由于表观  $J$  耦合常数放大为原来的 3 倍, 组氨酸中弱耦合体系的裂分模式清晰可见.

有效的水峰压制(water suppression, WS)和信号定位是活体 NMR 的基础. Faber 及其合作者提出了一个与 IDEAL 等价的选择性零量子序列, 称为 S90(图 1(d),  $n = 0$ )<sup>[24]</sup>. 他们报道在采样前加上两个 WS 模块(如 W5)的 S90 序列在所有的 iZQC 序列中具有最好的 WS 效果. 最近, 我们小组提出了一个名为 iDQF-HOMOGENIZED 的 iZQC 序列, 利用分子间双量子滤波(intermolecular double-quantum filter, iDQF)来抑制溶剂信号<sup>[51]</sup>. 该方法比文献[24]报道的序列有更好的 WS 效果. 此外, Faber 小组证明活体 NMR 的定位可在开始采样前进行<sup>[52]</sup>.

### 3 iMQC 的高分辨机制

#### 3.1 脉冲梯度场和相关距离

梯度脉冲使核自旋的共振频率成为沿梯度方向的空间坐标的线性函数, 因此横向磁化卷绕成一个螺旋. 这个螺旋代表一个高度有序的态, 净磁化为零. 随后另一个极性相反的梯度脉



冲可将其解开. 在给定的演化期  $\tau$  内, 梯度脉冲的强度  $G$  和持续时间  $\delta$  必须保持恒定以使磁化螺旋具有固定的半波长或偶极相关距离  $d_c = \pi/(\gamma G \delta)$ .  $d_c$  的范围一般在  $10 \mu\text{m}$  到几毫米, 可通过改变脉冲梯度场参数进行调节<sup>[33,53]</sup>. 它的下限只是一个近似的估计, 受到样品扩散性质的限制, 而扩散性质又与脉冲序列的长度有关——如果螺距很短, 扩散会破坏螺旋, 导致 DDF 不能很好地重聚磁化. 在某一特定位置, 偶极场主要取决于其周围半径为一个调制波长的球形区域内的磁化(对磁化的最高灵敏度在距离  $d_c$  处)<sup>[54]</sup>.  $d_c$  比 NMR 实验中样品的几何尺寸小得多, 也比活体中引起谱线增宽的解剖学细节小. 原则上, 只有偶极相关距离内的不均匀场会影响 iMQC 谱的线宽. 尽管由于磁化率的变化, 具有一定体积的组织其内部磁场可能不均匀, 但是在一个短的距离范围内, 磁场可认为是相对均匀的. 因此, 可应用 iMQC 在不均匀磁场下获得高分辨 NMR 谱和 MRI. iMQC 像的对比度来源于  $d_c$  距离内磁化率的变化. 模型和活体实验证明 iMQC 能够提供不同的成像对比度. 图 4 为由 1.5 T 全身成像仪上获得的人脑的 iMQC 像<sup>[48]</sup>.

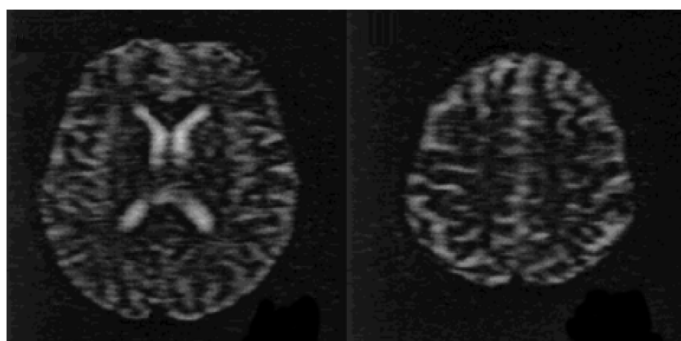


图 4 在 1.5 T 成像仪上得到的脑的两个切片的 iMQC 图像  
梯度场沿  $B_0$  方向, 矩阵大小为  $64 \times 64$ , 激发次数为 4(摘自文献[48])

### 3.2 2D iMQC 谱的谱线增宽方向

Hahn<sup>[55]</sup>自旋回波和 Carr-Purcell<sup>[56]</sup>序列都可以重聚谱线的不均匀增宽, 但它们同时也消除了 NMR 谱最重要的信息——化学位移差. 不过, 回波的重聚特性是高分辨 NMR 谱的源泉. 基于回波的高分辨 NMR 方法的关键是可观测自旋的化学位移信息在时域的回波峰上不能丢失. 在不均匀场下获取高分辨 1D 谱的一种方法是在谱线增宽的 2D 谱中沿条纹状峰的某一方向作截面或投影. 为了达到这一目的, 溶质的化学位移需沿着与 2D 谱条纹状峰不同的方向排列. 频域上的这一要求等价于基于回波的高分辨 NMR 方法在时域上的要求. 这可从不同的不均匀场下对 AX 弱耦合体系的 2D 自旋回波和 IDEAL 谱的模拟结果得到验证<sup>[45]</sup>(见图 5). 对于 2D 自旋回波谱, 当场不均匀性小时, 似乎能够给出高分辨谱(图 5(a)), 但是当对全谱进行扭转切变后其投影/截面的化学位移信息无法保留. 而且, 当场的不均匀增宽超过相邻谱峰的化学位移差时, 由于 2D 谱中不同峰的化学位移排列方向和不均匀增宽方向相同, 不均匀增宽将引起谱线交迭(图 5(b)). 在 IDEAL 谱中, 溶剂-溶质交叉峰在演化期和检测期的频率分别为  $\omega + \omega_s$  和  $\omega_s$  (图 5(c)). 由于  $\omega$  设为 0, 所以不同的溶剂-溶质交叉峰沿着与水平向右方向成  $\pi/4$  角的方向排

列, 这与自旋回波谱相同. 但是, 这些条纹状峰的取向与自旋回波谱不同. 在 IDEAL 谱中, 与化学位移的  $\pi/4$  角度排列不同, 条纹状峰沿  $\arctan 2 = 63.4^\circ$  的方向伸展, 因此即使不均匀增宽超过相邻谱峰的化学位移差, 邻近的峰也不会发生交迭(图 5(d)), 因而通过对全谱的处理可以得到包含化学位移和标量耦合信息的高分辨投影谱.

同样地, 基于章动回波<sup>[15]</sup>或分子间 NOE 效应<sup>[16]</sup>的不均匀场下高分辨方法也遵循这个原则. 在这些谱中, 溶质的不同的条纹状峰的中心(即化学位移排列)平行于 F2 轴, 而不均匀增宽不平行于 F2 轴, 由于  $t_1$  演化受到  $B_0$  或  $B_1$  不均匀性的影响. 这就避免了相邻谱峰的交迭. 另一方面, 当自旋系统在  $t_1$  和  $t_2$  期都以常规 SQC 演化时, 无论采用何种采样方案(如延迟采样、固定时间采样), 基于自旋回波的高分辨 2D 谱都不能从不均匀场下恢复出化学位移信息.

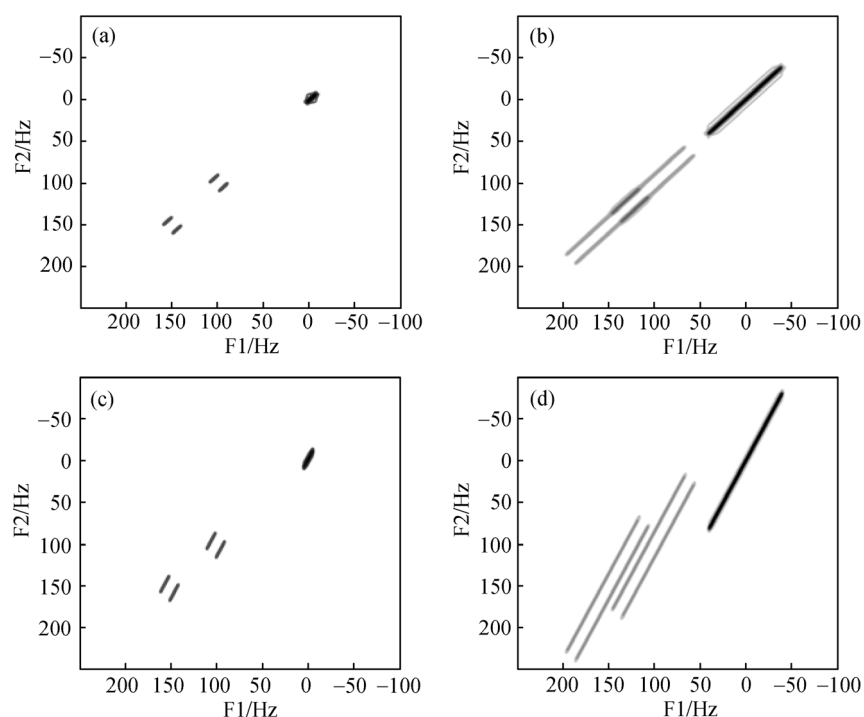


图 5 AX 体系溶液的模拟结果

(a) 场不均匀性小的情况下的 2D 自旋回波谱图; (b) 场不均匀增宽超过相邻谱峰化学位移差的情况下的 2D 自旋回波谱; (c) 与(a)相同的不均匀场下的 IDEAL 谱; (d) 与(b)相同的不均匀场下的 IDEAL 谱

#### 4 与通过自旋间相互作用的其他高分辨 NMR 方法的比较

分子内 MQC、分子间 NOE 及 iMQC 都属于微观尺度的相关. 尽管它们所依赖的相对弱的多自旋相关使其不具备高的灵敏度, 但是它们在处理 1D, 2D 或 3D 不均匀场分布时没有差异, 因此这些相关性为各种不均匀场下高分辨 NMR 实验提供了基础.

分子内 MQC 方法, 包括全自旋相干转移回波谱<sup>[7]</sup>和零量子相干方法<sup>[8,9]</sup>, 可以给出对  $J$  耦

合和化学位移差<sup>[7,9,57]</sup>敏感又没有不均匀增宽的的多量子谱,但它要求自旋系统的  $J$  耦合网络必须包含所有的化学不等价核. 孤立的自旋核或子系统的谱线无法得到. 另一方面,分子内 MQC 波谱的谱编辑特性使其在某些特殊应用方面能够获得独特的信息,例如在 MRS 研究中被邻近单峰掩盖的多重谱线的定量信息. 分子间 NOE 谱可处理相对较小的不均匀性(通常不均匀增宽小于相邻谱峰的化学位移差). 由于通过交叉弛豫<sup>[16]</sup>的短程偶极相互作用是一种直接的相互作用,因此对自旋系统没有特殊的要求. 然而,分子间 NOE 谱的交叉峰强度对交叉弛豫率有很大的依赖性,而交叉弛豫率主要由溶质分子的空间构型决定. 因而,一方面,具有慢交叉弛豫率的溶质自旋由于信号太弱而得不到好的信噪比;另一方面,信号强度由于被交叉弛豫率加权而使例如相对峰面积等不能满足定量的要求. 而且分子间 NOE 交叉峰的条纹状谱线线形易于受长混合期引起的扩散效应而产生模糊.

在 iMQC 谱中,交叉峰来源于溶剂与溶质自旋间的长程偶极-偶极相互作用而不是分子间 NOE 的短程偶极相互作用,这里长程定义为比平均扩散自由程长的距离. 因此,当所有溶质自旋与溶剂自旋相互作用并受到相同的偶极场作用时,化学不等价的溶质自旋间的结构差异可以忽略. 理论推导(方程(6), (7)和(9))也表明溶剂-溶质交叉峰强度与  $M_0^I M_0^S$  成正比. 因此,相对其他通过微观相互作用的高分辨方法, iMQC 方法具有一个优势:它能够保留磁化强度的信息,在投影谱中所有共振峰的相对峰面积几乎与常规 1D 谱相同. 大部分的 NMR 谱信息,包括化学位移、峰的多重裂分模式、耦合常数、相对峰面积这些在常规 1D 谱中常用来分析和表征分子结构的信息都可以从 iMQC 谱中得到. 此外,样品中只要一种核是高浓度的就可以产生 iMQC 效应,因此 iMQC 特别适用于高分辨活体 NMR,因为活体中水的含量很高. 图 6 给出了一张老鼠的活体 NMR 谱<sup>[52]</sup>. iMQC 高分辨方法的主要局限性在于其低的信噪比,以及产生高极化体系所需的强磁场.

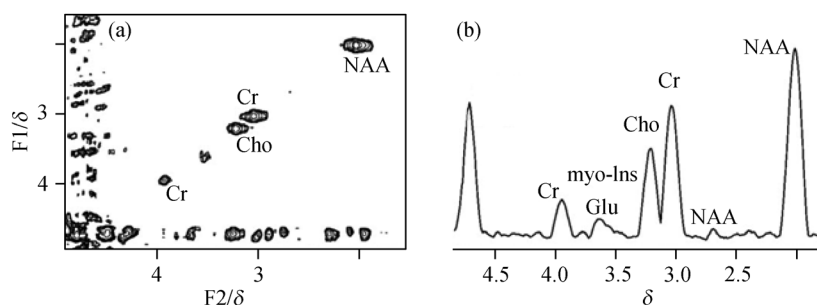


图 6 鼠脑活体的 iMQC 谱

(a) 体系为  $(8 \text{ mm})^3$  的 2D HOMOGENIZED 谱; (b) 图(a)在 F1 上的投影(摘自文献[52])

## 5 总结和展望

iMQC 信号的检测主要依赖于分隔在分子扩散距离之外、偶极相关距离之内的自旋间产生的 DDF, 因此, iMQC 对范围超过磁化螺旋半个波长的磁场的变化不敏感. 基于 iMQC 的高分辨方法不能完全重聚比偶极相关距离小的范围内磁场的均匀性, 因此可能有一些残留的线

形增宽。iMQC 方法可应用于活体, 因为它可对非耦合自旋和标量耦合自旋进行同等检测。相对峰面积与真实值很接近, 这使得谱的定量成为可能。在 iMQC 谱中, 共振频率与常规 1D 谱一致, 而表观  $J$  耦合常数可能被按比例缩小或放大。大的比例因子有利于分辨弱耦合体系中的谱裂分模式, 但也可能引起强耦合体系中邻近多重峰的交迭。因此强耦合体系更适合用小的比例因子。

1D 和 2D NMR 实验原则上可以达到同样的灵敏度<sup>[8]</sup>。但是, 有几个因素会降低 2D iMQC 方法的实际灵敏度。首先, 在  $t_1$  期间的  $T_2$  弛豫会降低信号强度<sup>[9]</sup>; 其次, 产生和检测 iMQC 信号的效率很低(约为常规 SQC 信号的 10%)。因此, iMQC 方法的主要困难是灵敏度。其潜在的解决办法是采用更高的磁场强度及与动态核极化增强高分辨 NMR 方法相结合<sup>[58]</sup>。尽管灵敏度低, 但是当不均匀场使常规 1D 谱无法提供相关谱信息时, 2D iMQC 谱的谱线可沿某一特定的方向窄化。2D iMQC 谱的这种独特的高分辨性质使其能够应用于磁场均匀性差的活体 NMR。它应用于葡萄和啮齿动物的结果表明活体 iMQC 方法是可行的<sup>[2,52]</sup>。该方法可望应用于体积较大的不均匀样品, 例如肿瘤或整个动物器官, 而常规的定域 NMR 则有激发的体素小的限制。利用 iMQC 高分辨谱对代谢物进行可重复的定量分析也是一个重要的研究课题。

## 参考文献

- 1 Sakellariou D, Meriles C A, Pines A. Advances in ex-situ nuclear magnetic resonance. *C R Phys*, 2004, 5(3): 337—347
- 2 Faber C, Pracht E, Haase A. Resolution enhancement in in vivo NMR spectroscopy: Detection of intermolecular zero-quantum coherences. *J Magn Reson*, 2003, 161(2): 265—274
- 3 Perlo J, Casanova F, Blumich B. Ex situ NMR in highly homogeneous fields:  $^1\text{H}$  spectroscopy. *Science*, 2007, 315(5815): 1110—1112
- 4 Lacey M E, Subramanian R, Olson D L, et al. High-resolution NMR spectroscopy of sample volumes from 1 nL to 10  $\mu\text{L}$ . *Chem Rev*, 1999, 99(10): 3133—3152
- 5 Metz K R, Lam M M, Webb A G. Reference deconvolution: A simple and effective method for resolution enhancement in nuclear magnetic-resonance spectroscopy. *Concepts Magn Reson*, 2000, 12(1): 21—42
- 6 Morris G A, Barjat H, Horne T J. Reference deconvolution methods. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*, 1997, 31: 197—257
- 7 Weitekamp D P, Garbow J R, Murdoch J B, et al. High-resolution NMR spectra in inhomogeneous magnetic field: Application of total spin coherence transfer echoes. *J Am Chem Soc*, 1981, 103(12): 3578—3579
- 8 Ernst R R, Bodenhausen G, Wokaun A. Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. Oxford: Clarendon Press, 1989
- 9 de Graaf R A, Rothman D L, Behar K L. High resolution NMR spectroscopy of rat brain in vivo through indirect zero-quantum-coherence detection. *J Magn Reson*, 2007, 187(2): 320—326
- 10 Perlo J, Demas V, Casanova F, et al. High-resolution NMR spectroscopy with a portable single-sided sensor. *Science*, 2005, 308(5726): 1279—1279
- 11 Topgaard D, Martin R W, Sakellariou D, et al. “Shim pulses” for NMR spectroscopy and imaging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(51): 17576—17581
- 12 Meriles C A, Sakellariou D, Pines A. Broadband phase modulation by adiabatic pulses. *J Magn Reson*, 2003, 164(1): 177—181
- 13 Sakellariou D, Meriles C A, Moule A, et al. Variable rotation composite pulses for high resolution nuclear mag-

- netic resonance using inhomogeneous magnetic and radiofrequency fields. *Chem Phys Lett*, 2002, 363(1-2): 25—33
- 14 Heise H, Sakellariou D, Meriles C A, et al. Two-dimensional high-resolution NMR spectra in matched  $B_0$  and  $B_1$  field gradients. *J Magn Reson*, 2002, 156(1): 146—151
- 15 Meriles C A, Sakellariou D, Heise H, et al. Approach to high-resolution ex situ NMR spectroscopy. *Science*, 2001, 293(5527): 82—85
- 16 Balbach J J, Conradi M S, Cistola D P, et al. High-resolution NMR in inhomogeneous fields. *Chem Phys Lett*, 1997, 277(4): 367—374
- 17 Shapira B, Frydman L. Spatial encoding and the acquisition of high-resolution NMR spectra in inhomogeneous magnetic fields. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(23): 7184—7185
- 18 Shapira B, Frydman L. Spatially encoded pulse sequences for the acquisition of high resolution NMR spectra in inhomogeneous fields. *J Magn Reson*, 2006, 182(1): 12—21
- 19 Halse M E, Callaghan P T. Imaged deconvolution: A method for extracting high-resolution NMR spectra from inhomogeneous fields. *J Magn Reson*, 2007, 185(1): 130—137
- 20 Pryor B, Khaneja N. Fourier decompositions and pulse sequence design algorithms for nuclear magnetic resonance in inhomogeneous fields. *J Chem Phys*, 2006, 125(19): 194111
- 21 Sersa I, Macura S. Spectral resolution enhancement by chemical shift imaging. *Magn Reson Imaging*, 2007, 25(2): 250—258
- 22 Vathyam S, Lee S, Warren W S. Homogeneous NMR spectra in inhomogeneous fields. *Science*, 1996, 272(5258): 92—96
- 23 Lin Y Y, Ahn S D, Murali N, et al. High-resolution, >1 GHz NMR in unstable magnetic fields. *Phys Rev Lett*, 2000, 85(17): 3732—3735
- 24 Balla D, Faber C. Solvent suppression in liquid state NMR with selective intermolecular zero-quantum coherences. *Chem Phys Lett*, 2004, 393(4-6): 464—469
- 25 Chen Z, Chen Z W, Zhong J H. High-resolution NMR spectra in inhomogeneous fields via IDEAL (intermolecular dipolar-interaction enhanced all lines) method. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(2): 446—447
- 26 Chen Z, Hou T, Chen Z W, et al. Selective intermolecular zero-quantum coherence in high-resolution NMR under inhomogeneous fields. *Chem Phys Lett*, 2004, 386(1-3): 200—205
- 27 Galiana G, Branca R T, Warren W S. Ultrafast intermolecular zero quantum spectroscopy. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(50): 17574—17575
- 28 Jiang B, Liu H L, Liu M L, et al. Multiple quantum correlated spectroscopy revamped by asymmetric  $z$ -gradient echo detection signal intensity as a function of the read pulse flip angle as verified by heteronuclear  $^1\text{H}/^{31}\text{P}$  experiments. *J Chem Phys*, 2007, 126(5): 054502
- 29 Deville G, Bernier M, Delricux J M. NMR multiple echoes observed in solid  $^3\text{He}$ . *Phys Rev B*, 1979, 19: 5666—5688
- 30 He Q H, Richter W, Vathyam S, et al. Intermolecular multiple-quantum coherences and cross correlations in solution nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys*, 1993, 98(9): 6779—6800
- 31 Warren W S, Richter W, Andreotti A H, et al. Generation of impossible cross-peaks between bulk water and biomolecules in solution NMR. *Science*, 1993, 262(5142): 2005—2009
- 32 Warren W S, Lee S, Richter W, et al. Correcting the classical dipolar demagnetizing field in solution NMR. *Chem Phys Lett*, 1995, 247(3): 207—214
- 33 Lee S, Richter W, Vathyam S, et al. Quantum treatment of the effects of dipole-dipole interactions in liquid nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys*, 1996, 105(3): 874—900
- 34 Mao X A, Ye C H. Line shapes of strongly radiation-damped nuclear magnetic resonance signals. *J Chem Phys*, 1993, 99(10): 7455—7462
- 35 Mao X A, Ye C H. Understanding radiation damping in a simple way. *Concep Magn Res*, 1997, 9(3): 173—187
- 36 Jeener J. Equivalence between the “classical” and the “Warren” approaches for the effects of long range dipolar

- couplings in liquid nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys*, 2000, 112(11): 5091—5094
- 37 Kimmich R, Ardelean I. Intermolecular multiple-quantum coherence transfer echoes and multiple echoes in nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys*, 1999, 110(8): 3708—3713
- 38 Bowtell R, Bowley R M, Glover P. Multiple spin echoes in liquids in a high magnetic field. *J Magn Res*, 1990, 88(3): 643—651
- 39 Bowtell R. Indirect detection via the dipolar demagnetizing field. *J Magn Reson*, 1992, 100: 1—17
- 40 Levitt M H. Demagnetization field effects in two-dimensional solution NMR. *Concepts Magn Res*, 1996, 8(2): 77—103
- 41 Richter W, Lee S H, Warren W S, et al. Imaging with intermolecular multiple-quantum coherences in solution nuclear magnetic resonance. *Science*, 1995, 267(5198): 654—657
- 42 Faber C. Solvent-localized NMR spectroscopy using the distant dipolar field: A method for NMR separations with a single gradient. *J Magn Res*, 2005, 176(1): 120—124
- 43 Enss T, Ahn S, Warren W S. Visualizing the dipolar field in solution NMR and MR imaging: Three-dimensional structure simulations. *Chem Phys Lett*, 1999, 305(1-2): 101—108
- 44 Garrett-Roe S, Warren W S. Numerical studies of intermolecular multiple quantum coherences: High-resolution NMR in inhomogeneous fields and contrast enhancement in MRI. *J Magn Res*, 2000, 146(1): 1—13
- 45 Cai C B, Chen Z, Cai S H, et al. A simulation algorithm based on Bloch equations and product operator matrix: Application to dipolar and scalar couplings. *J Magn Res*, 2005, 172(2): 242—253
- 46 Vlassenbroek A, Jeener J, Broekaert P. Radiation damping in high resolution liquid NMR: A simulation study. *J Chem Phys*, 1995, 103(14): 5886—5897
- 47 Price W S, Elwinger F, Vigouroux C, et al. PGSE-WATERGATE, a new tool for NMR diffusion-based studies of ligand-macromolecule binding. *Magn Res Chem*, 2002, 40(6): 391—395
- 48 Zhong J H, Chen Z, Kwok E. In vivo intermolecular double-quantum imaging on a clinical 1.5 T MR scanner. *Magn Res Med*, 2000, 43(3): 335—341
- 49 Lin M J, Chen X, Chen Z W, et al. A new method for high-resolution NMR spectra in inhomogeneous fields with efficient solvent suppression. *Chin J Chem*, 2007, 25(6): 751—755
- 50 Liu M L, Mao X A, Ye C H, et al. Improved WATERGATE pulse sequences for solvent suppression in NMR spectroscopy. *J Magn Res*, 1998, 132(1): 125—129
- 51 Chen X, Lin M J, Chen Z, et al. High-resolution intermolecular zero-quantum coherence spectroscopy under inhomogeneous fields with effective solvent suppression. *Phys Chem Chem Phys*, 2007, 9(47): 6231—6240
- 52 Balla D Z, Melkus G, Faber C. Spatially localized intermolecular zero-quantum coherence spectroscopy for in vivo applications. *Magn Res Med*, 2006, 56(4): 745—753
- 53 Warren W S, Ahn S, Mescher M, et al. MR imaging contrast enhancement based on intermolecular zero quantum coherences. *Science*, 1998, 281(5374): 247—251
- 54 Bowtell R, Gutteridge S, Ramanathan C. Imaging the long-range dipolar field in structured liquid state samples. *J Magn Res*, 2001, 150(2): 147—155
- 55 Hahn E L. Spin echoes. *Phys Rev*, 1950, 80(4): 580—594
- 56 Carr H Y, Purcell E M. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev*, 1954, 94(3): 630—638
- 57 Munowitz M, Pines A. Multiple-quantum nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Science*, 1986, 233(4763): 525—531
- 58 Fang K, Zhou J, Lei H, et al. Study of diamond film by dynamic nuclear polarization-enhanced  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Appl Magn Res*, 2005, 29(2): 211—219