

Institut für Organische Chemie und Biochemie
der Technischen Universität München

Residuale dipolare Kopplungen in der hochauflösenden kernmagnetischen Resonanzspektroskopie

-

Theoretische Analyse, computergestützte Entwicklung und experimentelle Anwendung von Multipuls- Experimenten

FRANK KRAMER

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. H. Kessler

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. St. J. Glaser
2. Univ.-Prof. Dr. F. H. Köhler

Die Dissertation wurde am 01.04.2003 bei der

Technischen Universität München

eingereicht und durch die Fakultät für Chemie

am 30.04.2003 angenommen.

Danksagung

Meinen besonderen Dank möchte ich Prof. Dr. Steffen J. Glaser für die Möglichkeit aussprechen, diese Arbeit in seinem Arbeitskreis anfertigen zu können. Seine Themenstellungen waren immer äußerst interessant und ließen viel Spielraum für eigene Ideen, auch für Diskussionen war er jederzeit aufgeschlossen.

Mein Dank gilt weiterhin: Gerd Hauser und Dr. Timo O. Reiss für die immer freundschaftliche Arbeitsatmosphäre in 42102; den übrigen Mitgliedern des AK Glaser: Dr. Raimund Marx, Dr. Thomas Schulte-Herbrüggen und Cindie Kehlet; Monika Goede und Dr. Rainer Haeßner für die Betreuung von Rechnern und Spektrometern; Dr. Wolfgang Peti und Prof. Dr. Christian Griesinger für die Zusammenarbeit bei der experimentellen Überprüfung der MOCCA-Sequenzen an einem Protein; Prof. Dr. Eike Brunner, Andreas Möglich und Michael Wenzler für die aus der Zusammenarbeit bezüglich der MOCCA-SIAM-Experimente resultierende interessante Problemstellung, deren Untersuchung die Grundlage zu Kapitel 8 bildet; Astrid Jung, ebenfalls aus dem Arbeitskreis Eike Brunner, für ihre Messungen mit der MOCCA-M16-Sequenz am Protein BPTI, die ich in Kapitel 6 verwendet habe; Prof. Dr. Navin Khaneja für die Bereitstellung seiner theoretischen Ergebnisse, die Anlaß zu den experimentellen Untersuchungen in Kapitel 10 gaben; Dr. Burkhard Luy für sein stets reges Interesse an meiner Arbeit; dem gesamten AK Kessler in dem ich immer willkommen war.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Theoretische Hilfsmittel	5
2.1	Hartmann-Hahn-Transfer	
2.2	Multipuls-Sequenzen	
2.2.1	Aufbau von Multipuls-Sequenzen	
2.2.2	Wichtige Klassen von Multipuls-Sequenzen	
2.2.3	Iterative Schemata	
2.3	Theoretische Beschreibung des Magnetisierungstrfers unter Multipuls-Sequenzen	
2.3.1	Liouville-von Neumann-Gleichung	
2.3.2	Average Hamiltonian Theory (AHT)	
2.3.2.1	Effektiver Hamilton-Operator	
2.3.2.2	Magnus-Expansion des effektiven Hamilton-Operators	
2.3.2.3	Kippendes Koordinatensystem	
3	Zusammenhang zwischen dipolarer Kopplungskonstante und dipolarem Kopplungs-Hamilton-Operator	17
3.1	Der dipolare Hamilton-Operator	
3.2	Zusammenhang zwischen residualer dipolarer Kopplungskonstante und Molekülgeometrie	
4	Neue, auf homonuklearen dipolaren Transfer optimierte Carr-Purcell-artige Mischsequenzen	29
4.1	Theorie	
4.2	Optimierte Sequenzen	
4.3	Experimentelles	
4.4	Schlußfolgerung	
4.5	Appendix	
5	Effizienz homonuklearer Hartmann-Hahn und COSY-artiger Mischsequenzen in der Gegenwart skalarer und residualer dipolarer Kopplungen	49
5.1	Theorie	
5.2	Experimentelles	
5.3	Schlußfolgerung	

-
- 6 Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen in der Gegenwart skalarer Kopplungen durch Ausnutzung der charakteristischen Kohärenz- und Polarisationsstransfer-eigenschaften von TOCSY-Sequenzen 69**
- 6.1 Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen mittels 1D-Experimenten
 - 6.1.1 Theorie / Numerik
 - 6.1.2 Experimente
 - 6.2 Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen mittels 2D-Experimenten
 - 6.3 Schlußfolgerung
- 7 Dipolarer Transfer und Kreuzrelaxation 85**
- 7.1 Dipolare Transfereigenschaften kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen
 - 7.1.1 Theorie
 - 7.1.2 Numerik
 - 7.2 Phasenalternierende Sequenzen und Kreuzrelaxation
 - 7.2.1 Theorie
 - 7.2.1.1 Ableitung einer Gleichung für die effektive Kreuzrelaxationsrate einer phasenalternierenden Sequenz
 - 7.2.1.2 Ableitung des Average Hamiltonian einer phasenalternierenden Sequenz für den Fall eines rein dipolar gekoppeltes 2-Spin-Systems
 - 7.2.1.3 Anwendung des abgeleiteten Average Hamiltonian einer phasenalternierenden Sequenz zur Untersuchung praxisrelevanter Beispiel-Sequenzen
 - 7.2.1.4 Einfluß phasenalternierender Superzyklen auf die gemittelten Hamilton-Operatoren kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen
 - 7.2.1.5 Möglicher „reiner“ dipolarer Transfer unter den abgeleiteten Hamilton-Operatoren
 - 7.2.1.6 Gedanken zur Gültigkeit der abgeleiteten Beziehungen in Hinblick auf unterschiedliche Arten kreuzrelaxationskompensierter phasenalternierender Sequenzen
 - 7.2.2 Neue „reine“, für dipolaren Transfer geeignete homonukleare Hartmann-Hahn-Mischsequenzen
 - 7.3 Schlußfolgerung
- 8 Untersuchung von Entkopplungs-Artefakten in Spektren eines auf dipolaren Transfer optimierten SIAM-Experimentes 127**
- 8.1 Messung kleiner Kopplungskonstanten mit Hilfe des SIAM-Experimentes
 - 8.2 Experimentell beobachtete Artefakte in SIAM-Spektren
 - 8.3 Untersuchung und Simulation der beobachteten Artefakte

9	Optimierung von COIN-TACSY-Experimenten in Hinblick auf dipolaren Transfer	137
9.1	Einleitung	
9.2	Theorie	
9.3	Numerik	
10	Zeitoptimaler, kohärenzselektiver Transfer von In-Phase-Kohärenz unter einem annähernd planaren effektiven Hamilton-Operator	151
10.1	Theorie	
10.2	Experimentelles	
11	Zusammenfassung	167
12	Literaturliste	171

ABKÜRZUNGEN

AHT : Average Hamiltonian Theory

CHAPSO : 3-(3-Cholamidopropyl)-dimethyl-ammonio-2-hydroxy-1-propansulfonat

CITY : Computer-Improved Total-Correlation Spectroscopy

COIN : Combination of Isotropic Mixing and Selective Nutation

COS-CT : Coherence Order Selective Coherence Transfer

COSY : Correlation Spectroscopy

CT : Coherence Transfer

CTAB : Cetyltrimethylammoniumbromid

CW : Continuous Wave

DCOSY : Dipolar Coupling Spectroscopy

DIPSI : Decoupling in Presence of Scalar Interaction

DLPC : Dilauroylphosphatidylcholin

DNA : Desoxyribose Nucleic Acid

DQF-COSY : Double Quantum Filtered Correlation Spectroscopy

E.COSY : Exclusive Correlation Spectroscopy

FID : Free Induction Decay

ICOS-CT : In-phase Coherence Order Selective Coherence Transfer

INEPT : Insensitive Nucleus Enhancement by Polarization Transfer

MLEV : Pulse Sequence and Super Cycle developed by M. Levitt

MOCCA: Modified Phase-Cycled Carr-Purcell-type

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

NOE : Nuclear Overhauser Enhancement

NOESY : Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy

RF : Radio Frequency

ROE : Rotating Frame Nuclear Overhauser Enhancement

ROESY : Rotating Frame Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

SIAM : Simultane Aufnahme von Inphase- und Antiphase-Multipletts

SIMONE : Simulation Program One

SVD : Singular Value Decomposition

TACSY : Tailored Correlation Spectroscopy

TOCSY : Total Correlation Spectroscopy

TOWNY : TOCSY without NOESY

WALTZ : Wideband Alternating Phase Low Power Technique for Zero Residual Splitting

Aus dem Englischen übernommene Fachausdrücke werden *kursiv* dargestellt.

Kapitel 1

Einleitung

Die vorliegende Arbeit aus dem Bereich der hochauflösenden NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten widmet sich schwerpunktmäßig der Untersuchung des homonuklearen Hartmann-Hahn-Transfers über skalare und residuale dipolare Kopplungen. Besprochen werden in diesem Zusammenhang neben experimentellen Untersuchungen insbesondere die theoretische Analyse, das Design und die computergestützten Simulation und Optimierung von Multipuls-Sequenzen.

Hartmann-Hahn-Experimente beruhen auf der resonanten Wechselwirkung gekoppelter Kernspins und wurden zum ersten Mal im Jahre 1962 von Sven Hartmann und Erwin Hahn vorgeschlagen (siehe auch Kapitel 2) (1). Obwohl sich ihre grundlegende Arbeit im wesentlichen auf Festkörper-NMR-Anwendungen beschränkte, wurden in ihr auch die ersten heteronuklearen Experimente in flüssiger Phase beschrieben. Erst 1983 allerdings konnten Braunschweiler und Ernst zeigen, daß auch homonuklearer Hartmann-Hahn-Transfer in Flüssigkeiten möglich ist (2). Entsprechende Experimente wurden in den darauffolgenden Jahren durch die Verwendung robuster Multipuls-Sequenzen sehr populär und spielen heute eine wichtige Rolle in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten (3).

Notwendige Voraussetzung für Hartmann-Hahn-artige Experimente ist ein gekoppeltes Spinsystem, wobei die Kopplung zwischen den Kernspins durch eine skalare, dipolare oder auch eine Kombination aus diesen gegeben sein kann. Während jedoch die skalare Kopplung in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten zu Signalaufspaltungen Anlaß gibt, macht sich die dipolare Kopplung in isotroper Lösung normalerweise nur indirekt in Form von Relaxationsphänomenen bemerkbar. Die Ursache hierfür läßt sich auf die Tatsache zurückführen, daß die Größe der dipolaren Kopplungskonstante D_{ij} zwischen den Spins i und j abhängig ist von der Orientierung des entsprechenden internuklearen Vektors \vec{r}_{ij} in bezug auf die Richtung der (gemäß Konvention entlang der z-Achse des Laborkoordinatensystems ausgerichteten) magnetischen Flußdichte \vec{B}_0 (4):

$$D_{ij} \sim \frac{1}{r_{ij}^3} \left(\overline{\cos^2 \theta_{ij}} - 1 \right), \quad [1]$$

worin θ_{ij} dem Winkel zwischen \vec{r}_{ij} und \vec{B}_0 entspricht. Der zeitliche Mittelwert $\overline{\cos^2 \theta_{ij}}$ ist bei isotroper Umorientierung der untersuchten Moleküle gleich 1/3, so daß sich in diesem Fall die dipolare Kopplung zu Null mittelt. Trotz der zeitlichen Ausmittelung ist die dipolare Kopplung aber trotzdem ständig präsent und macht sich im Zusammenhang mit Hartmann-Hahn-Experimenten oft störend in Form von Kreuzrelaxationsphänomenen (5) bemerkbar. Eine genauere Diskussion der dipolaren Kopplungskonstante und insbesondere eine einfache Ableitung des Zusammenhanges zwischen dipolarer Kopplungskonstante und dipolarem Kopplungs-Hamilton-Operator findet sich in Kapitel 3.

Die Verhinderung der vollständigen Ausmittelung der dipolaren Kopplungskonstante in isotropen Flüssigkeiten ist in Hinblick auf deren Nutzung als Strukturparameter von großem Interesse. So fällt beispielsweise der Betrag der dipolaren Kopplungskonstante im Gegensatz zum NOE-Effekt nur mit r_{ij}^{-3} ab (siehe Glg. [1]), weshalb sich aus dipolaren Kopplungen im Gegensatz zu skalaren Kopplungen oder NOE-Intensitäten nicht nur lokale, sondern auch räumlich weitreichende strukturelle Informationen ableiten lassen. Um sog. residuale dipolare Kopplungen für gelöste Moleküle messen zu können, ist es notwendig letzteren in der flüssigen Phase eine Vorzugsorientierung zu geben (6). Wichtig ist in diesem Zusammenhang allerdings, daß der Orientierungsgrad der gelösten Moleküle nicht zu groß werden darf, so daß nur die größten residualen dipolaren Wechselwirkungen im NMR-Spektrum beobachtbar sind und somit die Einfachheit des regulären isotropen hochaufgelösten NMR-Spektrums erhalten bleibt (7). Probleme in Hinblick auf zu große Orientierungsgrade treten insbesondere mit flüssigkristallinen Lösungen auf, die die Untersuchungsmoleküle indirekt durch sterische Wechselwirkungen und/oder Ladungswechselwirkungen orientieren. Im Gegensatz dazu werden in Fällen, in denen die Ausrichtung der Untersuchungsmoleküle alleine durch die Wechselwirkung von deren anisotroper magnetischer Suszeptibilität mit dem äußeren Magnetfeld induziert wird, oftmals zu kleine residuale dipolare Kopplungen gemessen, die nicht mit ausreichender Genauigkeit bestimmt werden können. Moleküle, die sich selbständig im Magnetfeld ausrichten, müssen zudem spezielle Eigenschaften aufweisen, weshalb die Anwendbarkeit solcher Methoden stark eingeschränkt ist.

Verdünnte flüssigkristalline Lösungen von Phagen (8, 9, 10, 11) und Bizellen (7, 12, 13), die einen sehr guten Kompromiß zwischen der Größe der erwünschten residualen dipolaren Kopplungen und der Aufrechterhaltung spektraler Auflösung gewährleisten, fanden erstmals 1998 Verwendung zur Messung residualer dipolarer Kopplungen, woraufhin in der Folge allerdings rasch die Entdeckung anderer geeigneter Orientierungsmedien folgte. Zum heutigen Zeitpunkt nehmen residuale dipolare Kopplungen einen festen Platz bei der Strukturbestimmung von Biomakromolekülen ein, insbesondere in Hinblick auf die Verbesserung der Genauigkeit von makromolekularen NMR-Strukturen (14).

Hartmann-Hahn-Transfer über residuale dipolare Kopplungen wurde im Zusammenhang mit einer der ersten Anwendungen der neuen flüssigkristallinen Medien von einer Forschergruppe um Arthur Pardi untersucht, die bei Messungen an einem durch Pf1-Phagen orientierten DNA-Duplex residuale dipolare Kopplungen zwischen räumlich mehr als 7 Å voneinander entfernten Protonen nachweisen konnte (9). Da sich bei diesen Untersuchungen herausstellte, daß es in konventionellen DQF-COSY-Spektren (aufgrund der Überlagerung der Multiplett-Komponenten von Antiphase-Kreuzpeaks) bei der Messung kleiner residualer dipolarer Kopplungen zu einer deutlichen Verschlechterung des Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses kommen kann, schlugen sie ein sog. DCOSY (engl.: dipolar coupling spectroscopy)-Experiment vor (9, 11). Letzteres generiert durch die Verwendung von Multipuls-Bausteinen wie DIPSI-2 oder WALTZ-16 Inphase-Kreuzpeaks, so daß sich im konkreten Fall im DCOSY-Spektrum auch ein deutlich besseres Signal-zu-Rauschen-Verhältnis feststellen ließ als im entsprechenden DQF-COSY-Spektrum.

Das für Transfer durch residuale dipolare Kopplungen offensichtlich sehr gut geeignete DCOSY-Experiment, bei dem als wesentlicher Bestandteil aber konventionelle, auf Transfer durch skalare Kopplungen optimierte Multipuls-Sequenzen verwendet wurden, stellte eine wichtige Motivation dar, um neue, gezielt in Hinblick auf ihre dipolaren Transfereigenschaften optimierte Hartmann-Hahn-Mischsequenzen zu entwickeln (siehe Kapitel 4). Eine Untersuchung der Transfereigenschaften dieser neuen, mit dem Namen MOCCA (engl.: *Modified phase-cycled Carr-Purcell-type*) (15) bezeichneten Hartmann-Hahn-Experimente in der Gegenwart von skalaren und residualen dipolaren Kopplungen findet sich in Kapitel 5, wo auch

(zum Vergleich) entsprechende Untersuchungen für konventionelle Multipuls-Experimente bzw. das DQF-COSY-Experiment dargestellt sind (16).

Die Messung residualer dipolarer Kopplungen selbst gestaltet sich oft schwierig, da sich die zwischen zwei Spins bestehenden skalaren und dipolaren Kopplungen der Größe J bzw. D im Spektrum zu einer Gesamtaufspaltung $D+J$ aufaddieren. Ist die Größe und das Vorzeichen der skalaren Kopplung bekannt, sind bei unbekanntem Vorzeichen der Gesamtaufspaltung in der Regel zwei Werte für die residuale dipolare Kopplungskonstante denkbar. Möglichkeiten das Vorzeichen der Gesamtaufspaltung und somit letztendlich auch die Größe und das Vorzeichen der residualen dipolaren Kopplung mit Hilfe von Hartmann-Hahn-artigen Experimenten zu bestimmen, werden in Kapitel 6 diskutiert.

Bei der Untersuchung für den Spindiffusions-Grenzfall kreuzrelaxationskompensierter Multipuls-Sequenzen (3) konnte ich feststellen, daß entsprechende phasenalternierende (s. Kap. 2) Sequenzen praktisch keinen dipolaren Transfer ermöglichen. In Kapitel 7 wird dieses Verhalten theoretisch analysiert und es werden neue, basierend auf den theoretischen Befunden entwickelte, kreuzrelaxationskompensierte Multipuls-Sequenzen vorgestellt, die auch dipolaren Transfer ermöglichen.

Kapitel 8 und 9 beschäftigen sich mit Anwendungen der schon erwähnten, auf dipolaren Transfer optimierten, MOCCA-Sequenzen. In Kapitel 8 werden in diesem Zusammenhang experimentellen Artefakte in Spektren eines auf dipolaren Transfer optimierten sog. SIAM-Experimentes (17) untersucht (18), in Kapitel 9 werden anhand numerischer Simulationen und analytischer Berechnungen Eigenschaften von auf dipolaren Transfer optimierten COIN-TACSY-Experimenten (19) diskutiert.

Kapitel 10 beschäftigt sich mit der experimentellen Implementierung eines theoretisch abgeleiteten, zeitoptimalen Transfers für den Spezialfall eines annähernd planaren effektiven Hamilton-Operators. Ziel war es hierbei unter anderem, den effektiven planaren Hamilton-Operator nicht durch die Verwendung einer speziellen Multipuls-Sequenz zu erzeugen, sondern statt dessen direkt von einem planaren zeitabhängigen Hamilton-Operator auszugehen.

Ein Überblick über die Resultate dieser Arbeit findet sich in der Zusammenfassung (Kapitel 11).

Kapitel 2

Theoretische Grundlagen

2.1 Hartmann-Hahn-Transfer

Physikalische System können Energie nur dann effizient miteinander austauschen, wenn sie energetisch aufeinander abgestimmt sind. Ein Beispiel hierfür stellt der vollständige Transfer von Schwingungsenergie zwischen zwei gekoppelten Pendeln dar, der nur dann möglich ist, wenn die Pendel im ungekoppelten Zustand die gleiche Resonanzfrequenz besitzen (3). In entsprechender Weise ist ein kohärenter Transfer von Magnetisierung zwischen den gekoppelten (Kopplungskonstante J_{ij}) Kernspins i und j möglich, wenn deren Resonanzfrequenzen ν_i und ν_j aufeinander abgestimmt sind, d. h. wenn die sog. Hartmann-Hahn-Bedingung erfüllt ist:

$$\nu_i = \nu_j. \quad [1]$$

Die Frequenzen ν_i und ν_j müssen allerdings nicht absolut identisch sein, um effizienten Magnetisierungstransfer zu gewährleisten, sondern es ist ausreichend, wenn sich das Spinsystem im Hartmann-Hahn-Grenzfall befindet, d. h.

$$|\nu_i - \nu_j| \ll |J_{ij}| \quad [2]$$

ist (3). Dieser Grenzfall entspricht dem Grenzfall der starken Kopplung, für dessen Gewährleistung über einen großen Offsetbereich sog. Multipuls-Sequenzen verwendet werden (siehe nächster Abschnitt). Den Gegensatz zum Hartmann-Hahn-Grenzfall stellt der Grenzfall der schwachen Kopplung dar, auf den beispielsweise das COSY-Experiment optimiert wurde:

$$|\nu_i - \nu_j| \gg |J_{ij}|. \quad [3]$$

Einige Eigenschaften des Hartmann-Hahn-Transfers lassen sich auf einfache Weise mit Hilfe des Produktoperator-Formalismus (20, 21) für den Fall zweier gekoppelter, energetisch aufeinander abgestimmter Spins $\frac{1}{2}$ ableiten (3). Der Hamilton-Operator der freien Evolution ist für solch ein Spin-System im allgemeinen gegeben durch

$$\mathcal{H}_0 = \mathcal{H}_Z + \mathcal{H}_C \quad [4]$$

mit dem Zeeman-Term

$$\mathcal{H}_Z = 2\pi\nu(I_{1z} + I_{2z}) \quad [5]$$

und dem Kopplungsterm

$$\mathcal{H}_C = \left\{ a_{xx} (2I_{1x}I_{2x}) + a_{yy} (2I_{1y}I_{2y}) + a_{zz} (2I_{1z}I_{2z}) \right\}. \quad [6]$$

Sind a_{xx} , a_{yy} und a_{zz} beliebige reelle Zahlen, ist für den gegebenen Spezialfall ($\nu = \nu_1 = \nu_2$) der Kommutator $[\mathcal{H}_Z, \mathcal{H}_C] = 0$. Da auch die bilinearen kartesischen Produktoperatoren $2I_{1x}I_{2x}$, $2I_{1y}I_{2y}$ und $2I_{1z}I_{2z}$ miteinander kommutieren, kann der Produktoperator-Formalismus angewendet werden und die Evolution des Dichteoperators in drei (in willkürlicher Reihenfolge) aufeinanderfolgenden Schritten berechnet werden (3):

$$\sigma(0) \xrightarrow{a_{xx}t(2I_{1x}I_{2x})} \xrightarrow{a_{yy}t(2I_{1y}I_{2y})} \xrightarrow{a_{zz}t(2I_{1z}I_{2z})} \sigma(t). \quad [7]$$

Dabei steht $A \xrightarrow{\varphi B} C$ für die Transformation $e^{-i\varphi B} A e^{i\varphi B}$, die in $C = A \cos \varphi + i[A, B] \sin \varphi$ resultiert, falls A und B kartesische Produktoperatoren sind und $[A, B] \neq 0$ ist. Im Falle des Ausgangsdichteoperators $\sigma(0) = I_{1z}$ hat der Term $a_{zz} (2I_{1z}I_{2z})$ keinen Effekt auf den Transfer, da er mit $\sigma(0)$ kommutiert. Mit $\varphi = a_{ii}t$ ($i = x, y$ oder z) und den Kommutatorbeziehungen

$$[I_{1z}, 2I_{1x}I_{2x}] = i(2I_{1y}I_{2x}), \quad [8]$$

$$\left[I_{1z}, 2I_{1y}I_{2y} \right] = -i(2I_{1x}I_{2y}) \quad [9]$$

und

$$\left[2I_{1y}I_{2x}, 2I_{1y}I_{2y} \right] = iI_{2z} \quad [10]$$

können die zwei verbleibenden Schritte (siehe Glg. [7]) leicht berechnet werden (3):

$$\begin{aligned} I_{1z} &\xrightarrow{a_{xx}t(2I_{1x}I_{2x})} I_{1z} \cos(a_{xx}t) - 2I_{1y}I_{2x} \sin(a_{xx}t) \\ &\xrightarrow{a_{yy}t(2I_{1y}I_{2y})} I_{1z} \cos(a_{xx}t) \cos(a_{yy}t) + 2I_{1x}I_{2y} \cos(a_{xx}t) \sin(a_{yy}t) \\ &\quad - 2I_{1y}I_{2x} \sin(a_{xx}t) \cos(a_{yy}t) + I_{2z} \sin(a_{xx}t) \sin(a_{yy}t). \end{aligned} \quad [11]$$

Aus Glg. [11] ergibt sich die Transferfunktion des (erwünschten) Inphase-Transfers $I_{1z} \rightarrow I_{2z}$ zu

$$T_{12}^z(t) = \sin(a_{xx}t) \sin(a_{yy}t). \quad [12]$$

Gemäß Glg. [12] ist kein Transfer möglich ($T_{12}^z(t) = 0$) für $a_{xx} = 0$ und/oder für $a_{yy} = 0$, was nichts anderes heißt, als daß der diesen Transfer bestimmende (effektive) Hamilton-Operator sowohl einen bilinearen x- als auch einen bilinearen y-Term enthalten muß. Vollständiger Polarisationstransfer mit $|T_{12}^z(t)| = 1$ ist frühestens möglich nach der optimalen Transferzeit

$$\tau_{opt}^z = \frac{\pi}{2|a_{xx}|} = \frac{\pi}{2|a_{yy}|} [s] \quad [13]$$

für $a_{xx} = \pm a_{yy}$. So ist zum Beispiel die optimale Transferzeit τ_{opt}^z des Polarisationstransfers im Falle eines isotropen Hamilton-Operators mit $a_{xx} = a_{yy} = a_{zz} = \pi J_{12}$ gegeben durch

$$\tau_{opt}^z = \frac{1}{2J_{12}} [s], \quad [14]$$

so daß in diesem Falle vollständiger Magnetisierungstransfer zwischen zwei Spins doppelt so schnell möglich ist wie beim INEPT-Transfer. Im Falle eines dipolaren Kopplungs-Hamilton-Operators mit $a_{zz} = -2a_{xx} = -2a_{yy} = \pi J_{12}$ tritt vollständiger Transfer dagegen erst nach

$$\tau_{opt}^z = \frac{1}{J_{12}} [\text{s}] \quad [15]$$

auf, weshalb dipolarer Transfer selbst unter günstigsten Bedingungen maximal mit der halben Geschwindigkeit des skalaren Transfers möglich ist.

Sind drei oder mehr Spins miteinander gekoppelt, ist eine Berechnung von Transferfunktionen mit Hilfe des Produktoperator-Formalismus im Falle starker Kopplung nicht mehr möglich. In solchen Fällen treten Terme wie $\pi J_{12} (2I_{1x} I_{2x})$ und $\pi J_{23} (2I_{2y} I_{3y})$ im Hamilton-Operator auf, die nicht miteinander kommutieren (3).

2.2 Multipuls-Sequenzen

Multipuls-Sequenzen sind unentbehrliche Werkzeuge zur praktischen Implementierung von Hartmann-Hahn-Experimenten in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten. Sie bestehen oft aus Tausenden definierter RF-Pulse gleicher oder unterschiedlicher Feldstärke (Spezialfall Delays), die es ermöglichen für eine gegebene Klasse von Spinsystemen eine gewünschte Form des effektiven Hamiltonoperators (siehe Abschnitt 2.3.2.1) über einen definierten Offsetbereich zu gewährleisten. Einige der heute für breitbandigen Hartmann-Hahn-Transfer verwendeten Multipuls-Sequenzen wurden ursprünglich als Enkopplungs-Sequenzen konzipiert und finden auch in diesem Bereich noch vielfach Anwendung (22, 23). Zusammengesetzte Pulse (engl.: *composite pulses*) (24) und geformte Pulse (engl.: *shaped pulses*) (25, 26, 27) können als spezielle Klassen von Multipuls-Sequenzen betrachtet werden (3).

2.2.1 Aufbau von Multipuls-Sequenzen

Kernstück einer Multipuls-Sequenz ist die Basissequenz S_b der Dauer τ_b , die insgesamt n mal wiederholt wird, bis die gewünschte Mischzeit $\tau = n \cdot \tau_b$ ausgefüllt ist. Die Basissequenz

selbst besteht aus N Rechteckpulsen, von denen jeder durch die vier konstanten Parameter Pulsdauer τ_k , Radiofrequenz ν_k^{rf} , Amplitude B_k und Referenzphase des RF-Feldes φ_k (k -ter Puls) vollständig charakterisiert wird (3). Die Amplitude B_k wird oft über die entsprechende Rabi-Frequenz

$$\nu_k^R = -\frac{1}{2\pi} \gamma B_k \quad [16]$$

mit dem gyromagnetischen Verhältnis γ spezifiziert. Die Rabi-Frequenz bildet mit dem nominellen Flipwinkel $\alpha_k = \nu_k^R \tau_k 360^\circ$, ν_k^{rf} und φ_k ebenfalls einen vollständigen Satz von Parametern zur Charakterisierung des k -ten Rechteckpulses.

Eine in der Praxis wichtige Größe ist die mittlere RF-Leistung \overline{P} , die für die Probenerwärmung während der Anwendung einer Multipuls-Sequenz verantwortlich ist (3). Sie ist proportional zu

$$\overline{(v^R)^2} = \frac{1}{\tau} \int_0^\tau (v^R)^2 dt = \frac{1}{\tau_b} \sum_{k=1}^N (v^R)^2 \tau_k. \quad [17]$$

2.2.2 Wichtige Klassen von Multipuls-Sequenzen

Werden alle N Pulse der Basissequenz mit gleicher Feldstärke ν^{rf} und konstanter Amplitude B_1 ($B_k = B_1$ für alle k) eingestrahlt, spricht man von einer rein phasenmodulierten Sequenz. Multipuls-Sequenzen dieser Art (wie zum Beispiel WALTZ-16 (28), DIPSI-2 (29) oder MLEV-16 (30)) spielen in der Praxis eine große Rolle, da sie experimentell leicht zu implementieren sind. Eine spezielle Unterklasse der phasenmodulierten Sequenzen bilden die sog. phasenalternierenden Sequenzen (siehe Kap. 7), deren Pulsphasen durch die rekursive Beziehung $\varphi_k = \varphi_{k-1} + 180^\circ$ definiert sind.

Experimentell anspruchsvoller, aber auch vielseitiger, sind amplitudenmodulierte Sequenzen, zu denen als Spezialfälle auch Sequenzen mit Delays (siehe z. B. Kap. 4 und 7) gezählt werden können, sofern man Delays als „Pulse“ der Dauer τ_k mit verschwindender RF-Amplitude ($\nu_k^R = 0$) auffasst. Eine wichtige Unterklasse der amplitudenmodulierten Sequenzen stellen die geformten Pulse dar, deren Pulsform $B(t)$ am Spektrometer mittels Rechteckpulsen angenä-

hert werden muß. Pulsformen können beispielsweise definiert werden durch hermitesche Polynome, Fourier-Serien oder Gaussische Pulskaskaden (3).

2.2.3 Iterative Schemata

Die Basissequenzen vieler Multipuls-Sequenzen sind iterativ aufgebaut, oft ausgehend von einer Startsequenz, die als breitbandiger (annähernder) Inversionspuls wirkt. Die Phasen der Startsequenz-Pulse werden im Rahmen der Iteration in der Regel variiert (bei Erhalt der relativen Phasen), um bestimmte Effekte, wie die Unterdrückung effektiver Felder, zu erreichen. Bekannte Phasen- bzw. Superzyklen letzterer Art, die den Aufbau breitbandiger Hartmann-Hahn-Mischsequenzen ermöglichen, sind zum Beispiel MLEV-4 oder MLEV-16 (31).

2.3 Theoretische Beschreibung des Magnetisierungstransfers unter Multipuls-Sequenzen

2.3.1 Liouville-von Neumann-Gleichung

Prinzipiell kann die detaillierte Evolution des Dichteoperators $\sigma(t)$ während des Verlaufs einer Multipuls-Sequenz durch die Lösung der sog. Liouville-von Neumann-Gleichung

$$\frac{d}{dt}\sigma(t) = -i[\mathcal{H}_0 + \mathcal{H}_{\text{rf}}(t), \sigma(t)] - \widehat{\Gamma}\{\sigma(t) - \sigma_0\} \quad [18]$$

berechnet werden (32), worin \mathcal{H}_0 der Hamilton-Operator der freien Evolution, $\mathcal{H}_{\text{rf}}(t)$ der mit der Pulssequenz assoziierte zeitabhängige Hamilton-Operator und $\widehat{\Gamma}$ der Relaxations-Super-Operator ist. Dieser Ansatz ist notwendig, wenn die Effekte von Autorelaxation und Kreuzrelaxation im Detail analysiert werden müssen (33), erfordert aber insbesondere im Zusammenhang mit Multipuls-Sequenzen einen hohen Rechenaufwand.

Glücklicherweise ist es jedoch oft ausreichend, die Effekte von Autorelaxation und Kreuzrelaxation (s. Kapitel 7) auf qualitative oder halb-quantitative Weise zu berücksichtigen und die kohärente Evolution des Dichteoperators in der Abwesenheit von Relaxation zu analysieren. In letzteren Fällen ist es vorteilhaft, auf die sog. *Average Hamiltonian Theory* (34, 35) zu-

rückzugreifen, die auf bequeme Weise oft auch tiefere Einsichten in die Wirkungsweise von Multipuls-Sequenzen ermöglicht.

2.3.2 Average Hamiltonian Theory (AHT)

Die *Average Hamiltonian Theory* stellt in Verbindung mit dem Konzept des kippenden Koordinatensystems ein wichtiges Instrument für die Analyse ebenso wie für die intuitive Entwicklung von Multipuls-Sequenzen dar. Eingeführt wurde sie im Jahre 1968 von Haeberlen und Waugh im Zusammenhang mit der homonuklearen Entkopplung dipolar gekoppelter Spins in Festkörper-Proben. Die folgenden Stichworte bezeichnen die wichtigsten Konzepte der *Average Hamiltonian Theory*, die in den folgenden Abschnitten näher erläutert werden:

- effektiver Hamilton-Operator,
- gemittelter Hamilton-Operator,
- kippendes Koordinatensystem.

2.3.2.1 Effektiver Hamilton-Operator

Der Gesamt-Propagator $U(\tau_b)$ der Basissequenz einer Multipuls-Sequenz entspricht dem zeitlich geordnete Produkt der individuellen Puls-Propagatoren U_k (3):

$$U(\tau_b) = U_N \cdots U_k \cdots U_1 = T \cdot \exp \left\{ -i \int_0^{\tau_b} \mathcal{H}(t) dt \right\} \quad [19]$$

worin T der Dysonsche Zeitordnungs-Operator und

$$U_k = e^{-i\mathcal{H}_k \tau_k} \quad [20]$$

der Propagator für den k -ten Rechteck-Puls ist. Der Gesamt-Propagator kann auch immer in der Form

$$U(\tau_b) = \exp \left\{ -i\mathcal{H}_{\text{eff}} \tau_b \right\} \quad [21]$$

angegeben werden, mit einem zeitlich konstanten, fiktiven effektiven Hamilton-Operator \mathcal{H}_{eff} . Würde letzterer während der Zeit τ_b die Evolution des Dichteoperators bestimmen, entspräche er von der Gesamtwirkung dem zeitabhängigen Hamilton-Operator $\mathcal{H}(t)$.

Wenn die Basissequenz n mal wiederholt wird, ergibt sich der Propagator $U(n\tau_b)$ zu:

$$U(n\tau_b) = U(\tau_b)^n = \exp\{-i\mathcal{H}_{\text{eff}}n\tau_b\}. \quad [22]$$

Dementsprechend kann mit Hilfe des effektiven Hamilton-Operators die Evolution des Dichteoperators für alle ganzzahligen Vielfachen der Dauer τ_b korrekt vorhergesagt werden. Da die Mischzeit τ eines Multipuls-Experimentes einem ganzzahligen Vielfachen von τ_b entspricht, kann der für die Basissequenz abgeleitete effektive Hamilton-Operator somit auch die Gesamtwirkung der Multipuls-Sequenz auf den Dichteoperator beschreiben:

$$\sigma(\tau) = U(\tau)\sigma(0)U^\dagger(\tau) = \exp\{-i\mathcal{H}_{\text{eff}}\tau\}\sigma(0)\exp\{i\mathcal{H}_{\text{eff}}\tau\}. \quad [23]$$

Um für einen gegebenen Propagator einen entsprechenden effektiven Hamilton-Operator zu finden, ist es notwendig, den effektiven Hamilton-Operator durch Logarithmierung von $U(\tau_b)$ (s. Glg. [21]) zu berechnen:

$$\mathcal{H}_{\text{eff}} = \frac{i}{\tau_b} \ln\{U(\tau_b)\}. \quad [24]$$

Da der Logarithmus komplexer Zahlen nur bis auf ein ganzzahliges Vielfaches von $i2\pi$ definiert ist, gibt es tatsächlich unendlich viele Lösungen für Glg. [24]. Die entsprechenden effektiven Hamilton-Operatoren liefern völlig unterschiedliche Ergebnisse bei der Simulation der Dichteoperator-Evolution für Zeiten, die nicht ganzzahligen Vielfachen von τ_b entsprechen. Kriterien für die Wahl des geeignetsten effektiven Hamilton-Operators sind Einfachheit und Kontinuität (36). Werden effektive Hamilton-Operatoren numerisch berechnet (was immer exakt möglich ist), wählt der Computer bei der Logarithmierung der diagonalisierten Propagator-Matrix typischerweise für jedes Diagonalelement U_{ii} die Lösung mit dem kleinsten Absolutbetrag ($-i\pi < \ln(U_{ii}) < i\pi$), was in vielen Fällen (aber nicht notwendigerweise) auch dem einfachsten effektiven Hamilton-Operator entspricht (37).

2.3.2.2 Magnus-Expansion des effektiven Hamilton-Operators

Die Berechnung des effektiven Hamilton-Operators über den Umweg der Logarithmierung des Propagators $U(\tau_b)$ vermittelt kaum Einsichten in den Zusammenhang zwischen der Wirkung einer Pulssequenz auf den zeitabhängigen Hamilton-Operator $\mathcal{H}(t)$ und der Form des entsprechenden effektiven Hamilton-Operators \mathcal{H}_{eff} . Für ein tieferes Verständnis der Wirkungsweise von Multipuls-Sequenzen ist es daher notwendig, auf direkterem Wege vom zeitabhängigen zum effektiven Hamilton-Operator zu gelangen. Möglich wird dies durch die Tatsache, daß der effektive Hamilton-Operator mittels der Magnus-Expansion in Beiträge unterschiedlicher Ordnung zerlegt werden kann (32, 35, 37):

$$\mathcal{H}_{\text{eff}} = \mathcal{H}_{\text{eff}}^{(0)} + \mathcal{H}_{\text{eff}}^{(1)} + \mathcal{H}_{\text{eff}}^{(2)} + \dots \quad [25]$$

mit

$$\mathcal{H}_{\text{eff}}^{(0)} = \bar{\mathcal{H}} = \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} \mathcal{H}(t) dt, \quad [26]$$

$$\mathcal{H}_{\text{eff}}^{(1)} = -\frac{i}{2\tau_b} \int_0^{\tau_b} \int_0^{t'} [\mathcal{H}(t'), \mathcal{H}(t)] dt' dt \quad [27]$$

und

$$\mathcal{H}_{\text{eff}}^{(2)} = -\frac{i}{6\tau_b} \int_0^{\tau_b} \int_0^{t'} \int_0^{t''} \{ [\mathcal{H}(t''), [\mathcal{H}(t'), \mathcal{H}(t)]] + [[\mathcal{H}(t''), \mathcal{H}(t')], \mathcal{H}(t)] \} dt'' dt' dt. \quad [28]$$

Sofort fällt auf, daß der Term nullter Ordnung $\mathcal{H}_{\text{eff}}^{(0)}$ (Glg. [26]) einfach dem zeitlichen Mittelwert von $\mathcal{H}(t)$ über die Dauer der Basissequenz τ_b entspricht. Dieser gemittelte Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}$ stellt somit die gewünschte direkte Verbindung zwischen effektivem und zeitabhängigem Hamilton-Operator dar, ist allerdings nur dann eine gute Näherung für ersteren, wenn alle Terme $\mathcal{H}_{\text{eff}}^{(n)}$ der Magnus-Expansion mit $n \geq 1$ vernachlässigt werden können.

Dies ist der Fall, wenn $\mathcal{H}(t')$ und $\mathcal{H}(t)$ zu allen Zeiten $0 \leq t, t' \leq \tau_b$ miteinander kommutieren, was aber oftmals nicht gewährleistet ist. Glücklicherweise kann der gemittelte Hamilton-Operator aber auch dann eine sehr gute Näherung für den effektiven Hamilton-Operator sein, wenn der Kommutator $[\mathcal{H}(t'), \mathcal{H}(t)] \neq 0$ ist, allerdings nur dann, wenn die Dauer der Basissequenz τ_b kurz genug ist:

$$\tau_b \ll \frac{2\pi}{\|\mathcal{H}\|} \quad [29]$$

worin $\|\mathcal{H}\|$ der charakteristischen Stärke (35) des zeitabhängigen Hamilton-Operators $\mathcal{H}(t)$ entspricht. So konvergiert die Magnus-Expansion beispielsweise im Falle eines von Radiofrequenzfeldern mit Amplituden in der Größenordnung von 10 kHz dominierten, zeitabhängigen Hamilton-Operators $\mathcal{H}(t)$ nur dann rasch, wenn

$$\tau_b \ll \frac{1}{10000} s = 100 \mu s$$

ist. Die Dauer der Basissequenz τ_b ist aber in der Praxis viel länger, so daß der gemittelte Hamiltonoperator des rotierenden Koordinatensystems in keiner Weise eine gute Näherung für den effektiven Hamilton-Operator darstellt. Daß die *Average Hamiltonian Theory* trotzdem von großer praktischer Bedeutung ist, hängt mit ihrer Verknüpfung mit dem eigentlich davon unabhängigen Konzept des kippenden Koordinatensystems zusammen, was im nächsten Abschnitt dargestellt ist.

2.3.2.3 Kippendes Koordinatensystem

Mit Hilfe des kippenden Koordinatensystems (engl.: *toggling frame*) wird es möglich, unerwünschte große Terme aus dem zeitabhängigen Hamilton-Operator zu beseitigen (3, 35) und zugleich die Terme des gemittelten (und somit auch indirekt des effektiven) Hamilton-Operators gezielt zu beeinflussen.

Generell unerwünscht sind große Radiofrequenz-Terme, die oftmals die charakteristische Stärke $\|\mathcal{H}\|$ soweit erhöhen (siehe oben), daß die Anwendbarkeit der *Average Hamiltonian Theory* gemäß Glg. [29] nicht mehr gewährleistet ist. Um diese zu beseitigen, nutzt man aus, daß der dem Radiofrequenz-Term $\mathcal{H}_{\text{rf}}(t)$ entsprechende Propagator $U_{\text{rf}}(t)$ eine Serie reiner Rotationen repräsentiert. Definiert man mit diesen Rotationen die Bewegung des kippenden Koordinatensystems, so enthält der zeitabhängige Hamilton-Operator in diesem Koordinatensystem keinen Radiofrequenz-Term. Im Gegenzug werden allerdings andere, im rotierenden Koordinatensystem nicht zeitabhängige Terme, im kippenden Koordinatensystem zeitabhängig, was sich jedoch in vielen Fällen in positiver Hinsicht ausnutzen läßt (ein Beispiel hierfür ist die Ausmittlung von Offsetting-Termen durch TOCSY-Sequenzen). Für die Zeitabhängigkeit des Hamilton-Operators der freien Evolution in einem kippenden Koordinatensystem, dessen Bewegung durch $\mathcal{H}_{\text{rf}}(t)$ definiert wird, gilt:

$$\mathcal{H}_0^{\text{tog}}(t) = \mathcal{H}_Z^{\text{tog}}(t) + \mathcal{H}_J^{\text{tog}}(t) = U_{\text{rf}}^\dagger(t) \mathcal{H}_0 U_{\text{rf}}(t) \quad [30]$$

worin

$$U_{\text{rf}}(t) = T \exp \left\{ -i \int_0^t \mathcal{H}_{\text{rf}}(t') dt' \right\} \quad [31]$$

dem reinen RF-Propagator entspricht. In analoger Weise wie für das rotierende Koordinatensystem (s. Glg. [19] u. [21]) läßt sich auch für das kippende Koordinatensystem ein effektiver Hamilton-Operator $\mathcal{H}_{\text{eff}}^{\text{tog}}$ definieren, der in guter Näherung mit dem entsprechenden gemittelten Hamilton-Operator $\overline{\mathcal{H}}_0^{\text{tog}}$ übereinstimmt, sofern die Basissequenz kurz genug ist:

$$\tau_b \ll \frac{2\pi}{\|\overline{\mathcal{H}}_0^{\text{tog}}\|}. \quad [32]$$

Falls das rotierende Koordinatensystem mit dem kippenden Koordinatensystem am Anfang und Ende der Basissequenz übereinstimmt (d. h. wenn die Basissequenz zyklisch ist) und Glg. [32] gewährleistet ist, ist der gemittelte Hamilton-Operator $\overline{\mathcal{H}}_0^{\text{tog}}$ eine gute Näherung für den effektiven Hamilton-Operator \mathcal{H}_{eff} :

$$\mathcal{H}_{\text{eff}} = \mathcal{H}_{\text{eff}}^{\text{tog}} \approx \overline{\mathcal{H}}_0^{\text{tog}} . \quad [33]$$

Ein konkretes Beispiel für die Analyse einer Multipuls-Sequenz mit Hilfe der *Average Hamiltonian Theory* und des kippenden Koordinatensystems findet sich beispielsweise in Kapitel 7.

Kapitel 3

Zusammenhang zwischen dipolarer Kopplungskonstante und dipolarem Kopplungs-Hamilton-Operator

3.1 Der dipolare Hamilton-Operator

Analog der klassischen Wechselwirkungs-Energie zwischen zwei magnetischen Dipolen ergibt sich folgender quantenmechanischer Ausdruck für den dipolaren Hamilton-Operator zweier gekoppelter Spins I_k und I_l (in Kreisfrequenzeinheiten):

$$\mathcal{H}_D(t) = 2\pi \mathbf{I}_k \cdot \mathbf{D}(t) \cdot \mathbf{I}_l = 2\pi \sum_{p',q'} D_{p',q'}(t) I_{kp'} I_{lq'} \quad [1]$$

mit

$$D_{p',q'}(t) = -b_{kl} \left(\frac{3}{2} \frac{r_{p'}(t)r_{q'}(t)}{r^2} - \frac{1}{2} \delta_{p',q'} \right) \quad [2]$$

und

$$b_{kl} = \frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{4\pi^2 r^3} \quad (1). \quad [3]$$

Darin bezeichnen p' und q' die Achsen des Laborkoordinatensystems (x' , y' und z' , siehe auch Abb. 1) und $D_{p',q'}$ die neun Komponenten des dipolaren Wechselwirkungstensors \mathbf{D} (in Frequenzeinheiten). In Glg. [2] bzw. [3] finden sich die magnetogyrischen Verhältnisse γ_k und γ_l von Spin I_k bzw. I_l , das Plancksche Wirkungsquantum h dividiert durch 2π (\hbar), die absolute Permeabilität im Vakuum μ_0 und der internuklearen Abstand r . Die Projektion von r auf die Achse p' des Laborsystems (Abb. 1) wird mit $r_{p'}$ bezeichnet, $\delta_{p',q'}$ ist das Kronecker-Symbol ($\delta_{p',q'} = 1$ falls $p' = q'$ und $\delta_{p',q'} = 0$ falls $p' \neq q'$). Aus der Struktur von Glg. [2] las-

sen sich leicht wichtige Eigenschaften des dipolaren Wechselwirkungstensors \mathbf{D} ableiten: so ist \mathbf{D} zum Beispiel symmetrisch, da $r_{p'} \cdot r_{q'} = r_{q'} \cdot r_{p'}$ ist und somit

$$D_{p'q'} = D_{q'p'} \quad [4]$$

gilt. Weiterhin ist er spurlos, denn

$$D_{x'x'} + D_{y'y'} + D_{z'z'} = -b_{kl} \left(\frac{1}{2} \frac{r_{x'}^2 + r_{y'}^2 + r_{z'}^2}{r^2} - \frac{1}{2} \right) = 0. \quad [5]$$

In der NMR-Spektroskopie stellt die Zeemann-Wechselwirkung den dominanten Term im Gesamt-Hamilton-Operator dar. Mittels Störungstheorie 1. Ordnung läßt sich zeigen, daß im Rahmen der sog. „Hochfeld-Näherung“ Nicht-Diagonalelemente im Wechselwirkungstensor \mathbf{D} vernachlässigt werden können (4). Geht man weiterhin davon aus, daß die Observablen aufgrund der Molekülbewegungen in der anisotropen Phase zeitliche Mittelwerte sind, so gelangt man zu dem gemittelten dipolaren Hamilton-Operator

$$\overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi \left\{ \overline{D}_{z'z'} I_{kz'} I_{lz'} + \overline{D}_{x'x'} I_{kx'} I_{lx'} + \overline{D}_{y'y'} I_{ky'} I_{ly'} \right\}. \quad [6]$$

Ist der internukleare Abstand r während der Bewegung der Moleküle konstant (starre Moleküle), gilt für die Elemente des gemittelten dipolaren Kopplungstensors:

$$\overline{D}_{z'z'} = -(\overline{D}_{x'x'} + \overline{D}_{y'y'}) = -2\overline{D}_{x'x'} = -2\overline{D}_{y'y'}. \quad [7]$$

Der gemittelte Hamilton-Operator ergibt sich damit zu

$$\begin{aligned} \overline{\mathcal{H}}_D &= 2\pi D_{kl} \left\{ I_{kz'} I_{lz'} - \frac{1}{2} I_{kx'} I_{lx'} - \frac{1}{2} I_{ky'} I_{ly'} \right\} \\ &= 2\pi D_{kl} \left\{ I_{kz'} I_{lz'} - \frac{1}{4} (I'_{k+} I'_{l-} + I'_{k-} I'_{l+}) \right\}, \end{aligned} \quad [8]$$

mit der residualen dipolaren Kopplungskonstante

$$D_{kl} = D_{z'z'} = -b_{kl} \left(\frac{3 \overline{r_{z'}^2}}{2 r^2} - \frac{1}{2} \right) = -b_{kl} \left(\frac{3 \overline{\cos^2 \theta}}{2} - \frac{1}{2} \right) [\text{Hz}]. \quad [9]$$

Darin entspricht θ dem Winkel zwischen dem internuklearen Vektor \vec{r} und dem Magnetfeldvektor \vec{B} (s. Abb. 1) und der winkelabhängige Anteil dem zeitlichen Mittelwert über ein Legendre-Polynom 2. Ordnung:

$$\overline{P_2(\cos \theta)} = \frac{3}{2} \left(\overline{\cos^2 \theta} - \frac{1}{3} \right). \quad [10]$$

Für die residuale dipolare Kopplungskonstante D_{kl} gilt gemäß Glg. [3], [9] und [10]:

$$D_{kl} = -b_{kl} \overline{P_2(\cos \theta)} = -\frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} \left(3 \overline{\cos^2 \theta} - 1 \right). \quad [11]$$

3.2 Zusammenhang zwischen residueller dipolarer Kopplungskonstante und Molekülgeometrie

Im folgenden wird die Observable D_{kl} in Beziehung zu den Eigenschaften des orientierten Moleküls gebracht, wozu zwei Koordinatentransformationen benutzt werden: die erste führt in ein willkürlich gewähltes molekulares Koordinatensystem (Koordinaten x'' , y'' und z''), in dem die dipolare Kopplungskonstante über die Elemente des sogenannten Ausrichtungstensors (engl.: *alignment tensor*) ausgedrückt werden kann, die zweite in das Hauptachsensystem (Koordinaten x , y und z) des Ausrichtungstensors (14, 38).

Zunächst ist es notwendig, einen Ausdruck für $\cos \theta$ zu finden, wenn die Vektoren \vec{r} und $\vec{B}_0(t)$ in einem willkürlichen molekularen Koordinatensystem gegeben sind (s. Abb. 2). Die Ausrichtung des internuklearen Vektors \vec{r} in bezug auf die Achsen dieses Koordinatensystems, kann mittels des Einheitsvektors \vec{e}_{kl} (Komponenten $c_{x''}$, $c_{y''}$ und $c_{z''}$) beschrieben werden, der mit der x'' -, y'' - und z'' -Achse die Winkel $\phi_{x''}$, $\phi_{y''}$ und $\phi_{z''}$ einschließt

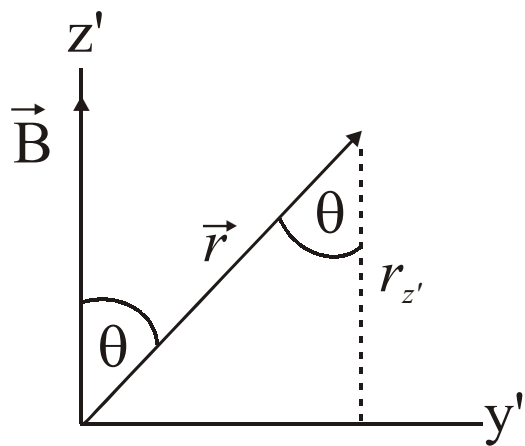


Abbildung 1: Definition des Winkels θ im Labor-Koordinatensystem.

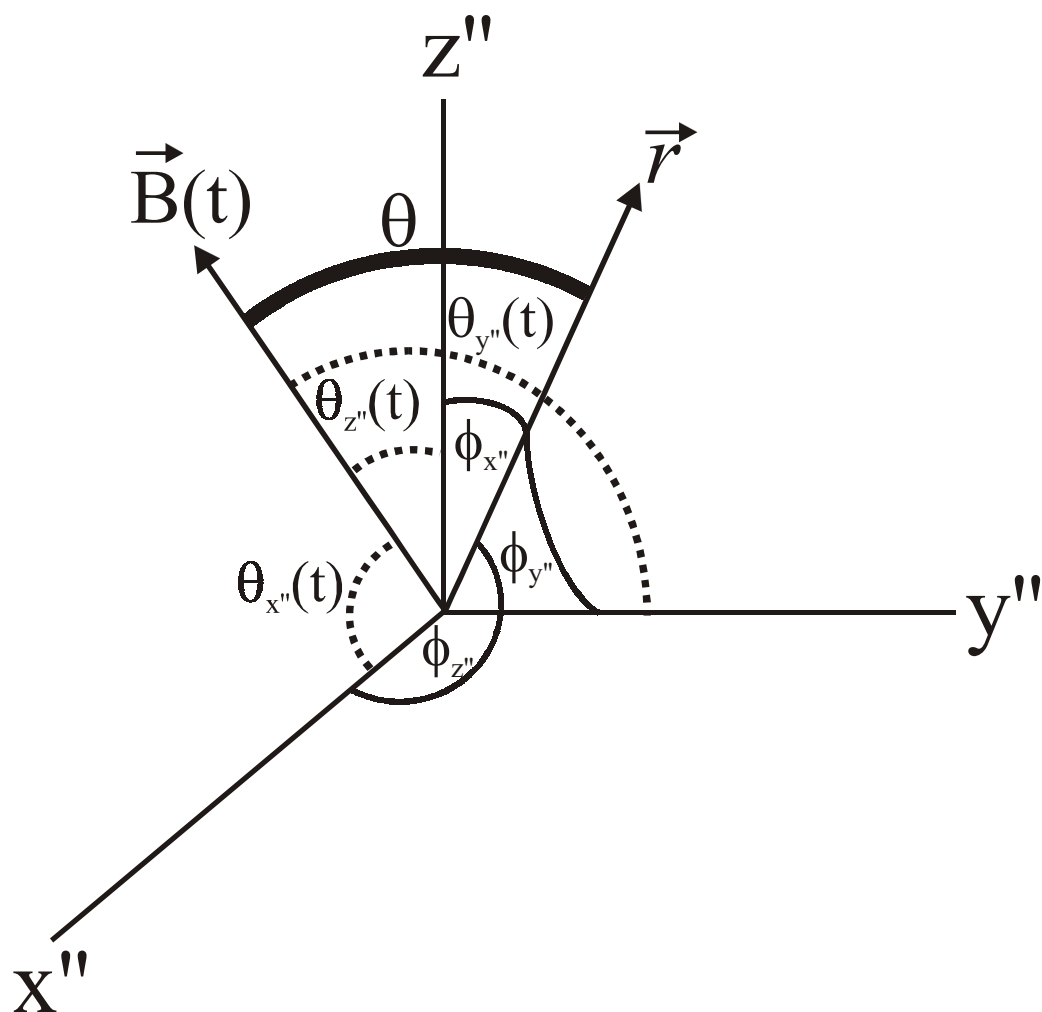


Abbildung 2: Willkürliches molekulares Koordinatensystem mit den Winkeldefinitionen gemäß Losonczi et al. (39).

(s. Abb. 2)):

$$\vec{r} = |r| \vec{e}_{kl} = |r| \begin{pmatrix} \cos \phi_x \\ \cos \phi_y \\ \cos \phi_z \end{pmatrix} = |r| \begin{pmatrix} c_x \\ c_y \\ c_z \end{pmatrix}. \quad [12]$$

In entsprechender Weise definieren $\theta_{x''}(t)$, $\theta_{y''}(t)$ und $\theta_{z''}(t)$ die Orientierung des - im Gegensatz zum Vektor \vec{r} zeitabhängigen - Vektors $\vec{B}(t)$ bzw. des entsprechenden Einheitsvektors $\vec{e}_B(t)$ (Komponenten $C_{x''}(t)$, $C_{y''}(t)$ und $C_{z''}(t)$) (39):

$$\vec{B}_0 = |B_0| \vec{e}_B(t) = |B_0| \begin{pmatrix} \cos \theta_{x''}(t) \\ \cos \theta_{y''}(t) \\ \cos \theta_{z''}(t) \end{pmatrix} = |B_0| \begin{pmatrix} C_{x''}(t) \\ C_{y''}(t) \\ C_{z''}(t) \end{pmatrix}. \quad [13]$$

Mit diesen Definitionen ergibt sich das Skalarprodukt von $\vec{e}_B(t)$ und \vec{e}_{kl} bzw. $\cos \theta$ zu:

$$\begin{aligned} \cos \theta &= \vec{e}_B(t) \cdot \vec{e}_{kl} \\ &= \begin{pmatrix} C_{x''}(t) & C_{y''}(t) & C_{z''}(t) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} c_{x''} \\ c_{y''} \\ c_{z''} \end{pmatrix} \\ &= C_{x''}(t)c_{x''} + C_{y''}(t)c_{y''} + C_{z''}(t)c_{z''}. \end{aligned} \quad [14]$$

Für den Mittelwert des Legendre-Polynoms folgt daraus (14):

$$\begin{aligned} \overline{P_2(\cos \theta)} &= \frac{3}{2} \overline{\cos^2 \theta} - \frac{1}{2} \\ &= \frac{3}{2} \overline{(C_{x''}(t)c_{x''} + C_{y''}(t)c_{y''} + C_{z''}(t)c_{z''})^2} - \frac{1}{2} \\ &= \frac{3}{2} \left\{ \overline{C_{x''}(t)c_{x''}C_{x''}(t)c_{x''} + C_{x''}(t)c_{x''}C_{y''}(t)c_{y''} + C_{x''}(t)c_{x''}C_{z''}(t)c_{z''}} \right. \\ &\quad + \overline{C_{y''}(t)c_{y''}C_{x''}(t)c_{x''} + C_{y''}(t)c_{y''}C_{y''}(t)c_{y''} + C_{y''}(t)c_{y''}C_{z''}(t)c_{z''}} \\ &\quad \left. + \overline{C_{z''}(t)c_{z''}C_{x''}(t)c_{x''} + C_{z''}(t)c_{z''}C_{y''}(t)c_{y''} + C_{z''}(t)c_{z''}C_{z''}(t)c_{z''}} \right\} - \frac{1}{2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{3}{2} \left\{ \overline{C_x} \overline{C_x} c_x c_x + \overline{C_x} \overline{C_y} c_x c_y + \overline{C_x} \overline{C_z} c_x c_z \right. \\
&\quad + \overline{C_y} \overline{C_x} c_y c_x + \overline{C_y} \overline{C_y} c_y c_y + \overline{C_y} \overline{C_z} c_y c_z \\
&\quad \left. + \overline{C_z} \overline{C_x} c_z c_x + \overline{C_z} \overline{C_y} c_z c_y + \overline{C_z} \overline{C_z} c_z c_z \right\} - \frac{1}{2}.
\end{aligned} \tag{15}$$

Da der Vektor $\vec{e}_{kl} = (c_x \quad c_y \quad c_z)$ ein Einheitsvektor ist ($\sqrt{c_x^2 + c_y^2 + c_z^2} = 1$), gilt für dessen Komponenten:

$$c_x^2 + c_y^2 + c_z^2 = 1^2 = 1. \tag{16}$$

Aus Glg. [16] folgt die Ersetzung

$$-\frac{1}{2} = -\frac{1}{2} (c_x^2 + c_y^2 + c_z^2) = \frac{3}{2} \left(-\frac{1}{3} c_x^2 - \frac{1}{3} c_y^2 - \frac{1}{3} c_z^2 \right), \tag{17}$$

mit der sich Glg. [15] umformen läßt zu:

$$\begin{aligned}
\overline{P_2(\cos \theta)} &= \frac{3}{2} \left\{ \left(\overline{C_x^2} - \frac{1}{3} \right) c_x^2 + \overline{C_x} \overline{C_y} c_x c_y + \overline{C_x} \overline{C_z} c_x c_z \right. \\
&\quad + \overline{C_y} \overline{C_x} c_y c_x + \left(\overline{C_y^2} - \frac{1}{3} \right) c_y^2 + \overline{C_y} \overline{C_z} c_y c_z \\
&\quad \left. + \overline{C_z} \overline{C_x} c_z c_x + \overline{C_z} \overline{C_y} c_z c_y + \left(\overline{C_z^2} - \frac{1}{3} \right) c_z^2 \right\}.
\end{aligned} \tag{18}$$

Mit Hilfe des Kronecker-Symbols δ_{ij} läßt sich das Matricelement

$$A_{ij} = \overline{C_i C_j} - \frac{1}{3} \delta_{ij} \tag{19}$$

definieren, mit dem Glg. [18] in Form einer Matrix-Multiplikation darstellbar ist:

$$\begin{aligned}
\overline{P_2(\cos \theta)} &= \frac{3}{2} \left\{ A_{x''x''} c_{x''}^2 + A_{x''y''} c_{x''} c_{y''} + A_{x''z''} c_{x''} c_{z''} \right. \\
&\quad + A_{y''x''} c_{y''} c_{x''} + A_{y''y''} c_{y''}^2 + A_{y''z''} c_{y''} c_{z''} \\
&\quad \left. + A_{z''x''} c_{z''} c_{x''} + A_{z''y''} c_{z''} c_{y''} + A_{z''z''} c_{z''}^2 \right\} \\
&= \frac{3}{2} \sum_{i,j} A_{ij} c_i c_j \tag{20} \\
&= \frac{3}{2} \begin{pmatrix} c_{x''} & c_{y''} & c_{z''} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A_{x''x''} & A_{x''y''} & A_{x''z''} \\ A_{y''x''} & A_{y''y''} & A_{y''z''} \\ A_{z''x''} & A_{z''y''} & A_{z''z''} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_{x''} \\ c_{y''} \\ c_{z''} \end{pmatrix} \\
&= \frac{3}{2} \bar{e}_{kl} \mathbf{A} \bar{e}_{kl}.
\end{aligned}$$

Der Ausrichtungs-Tensor

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} A_{x''x''} & A_{x''y''} & A_{x''z''} \\ A_{y''x''} & A_{y''y''} & A_{y''z''} \\ A_{z''x''} & A_{z''y''} & A_{z''z''} \end{pmatrix} \tag{21}$$

ist reell und symmetrisch, denn

$$A_{ij} = A_{ji} = \overline{C_i C_j} c_i c_j = \overline{C_j C_i} c_j c_i. \tag{22}$$

Dabei ist zu beachten, daß C_i und c_i die reellen Koordinaten der Einheitsvektoren \bar{e}_B und \bar{e}_{kl} repräsentieren. Für die Spur des Tensors \mathbf{A} gilt:

$$\begin{aligned}
Sp\{\mathbf{A}\} &= A_{x''x''} + A_{y''y''} + A_{z''z''} \\
&= \overline{C_{x''}^2} - \frac{1}{3} + \overline{C_{y''}^2} - \frac{1}{3} + \overline{C_{z''}^2} - \frac{1}{3} \\
&= \overline{C_{x''}^2} + \overline{C_{y''}^2} + \overline{C_{z''}^2} - 1 \\
&= \overline{C_{x''}^2 + C_{y''}^2 + C_{z''}^2} - 1 \\
&= 0,
\end{aligned} \tag{23}$$

mit $\overline{C_{x''}^2 + C_{y''}^2 + C_{z''}^2} = 1$ ($\|e_B\|(t) = C_{x''}^2(t) + C_{y''}^2(t) + C_{z''}^2(t) = 1$ für alle Zeitpunkte). Aufgrund der Tatsache, daß der Ausrichtungs-Tensor sowohl symmetrisch als auch spurlos ist, sind die neun Tensor-Elemente A_{ij} von maximal 5 Parametern abhängig, d. h. es müssen maximal fünf Unbekannte ermittelt werden, um \mathbf{A} zu bestimmen.

Ist \mathbf{A} gegeben, kann die residuale dipolare Kopplungskonstante D_{kl} basierend auf den Gleichungen [11] und [20] berechnet werden:

$$D_{kl} = -\frac{3}{2} b_{kl} \sum_{i,j} A_{ij} c_i c_j \quad [24]$$

mit $i, j = x, y$ oder z . Bei bekannter Struktur des Moleküls, d. h. falls die Komponenten c_i des Vektors \bar{e}_{kl} berechnet werden können, kann der Ausrichtungs-Tensor \mathbf{A} bestimmt werden, sofern die dipolaren Kopplungen für mindestens fünf internukleare Vektoren bekannt sind. Wenn jedoch zwei dieser Vektoren parallel zueinander sind, oder ein anderer Spezialfall gegeben ist (beispielsweise drei wechselseitig orthogonale Vektoren), sind mehr gemessene Kopplungen notwendig. Im Falle von Makromolekülen werden stets sehr viel mehr residuale dipolare Kopplungen gemessen, so daß der Tensor \mathbf{A} in der Regel überbestimmt ist. Seine Elemente werden dann am besten mittels Singulärwertzerlegung (39) bestimmt (14).

Da \mathbf{A} reell und symmetrisch ist, ist es immer möglich, ein molekulares Koordinatensystem (Koordinaten: x, y und z) zu finden, in dem \mathbf{A} diagonal ist:

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} A_{xx} & 0 & 0 \\ 0 & A_{yy} & 0 \\ 0 & 0 & A_{zz} \end{pmatrix}. \quad [25]$$

Für eine Vielzahl von Anwendungen kann es vorteilhaft sein, in diesem Hauptachsensystem zu arbeiten, in dem sich Glg. [20] vereinfacht zu:

$$\overline{P_2(\cos \theta)} = \frac{3}{2} (A_{xx} c_x^2 + A_{yy} c_y^2 + A_{zz} c_z^2) = \frac{3}{2} \sum_{i=x}^z A_{ii} c_i^2. \quad [26]$$

Die dipolare Kopplungskonstante ist damit gegeben durch

$$D_{kl} = -\frac{3}{2} b_{kl} \sum_{i=x}^z A_{ii} c_i^2 = -\frac{3}{2} \frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{4\pi^2 r^3} \sum_{i=x}^z A_{ii} \cos^2 \phi_i \quad [27]$$

In der Literatur wird Glg. [27] für gewöhnlich mit Hilfe von Polarkoordinaten ausgedrückt, die die Orientierung des Einheitsvektors $\vec{e}_{kl} = (c_x \ c_y \ c_z)$ im Hauptachsensystem des Ausrichtungs-Tensors \mathbf{A} beschreiben (s. Abb. 3). Der Mittelwert $\overline{P_2(\cos \theta)}$ ergibt sich damit zu

$$\overline{P_2(\cos \theta)} = \frac{3}{2} (A_{xx} \sin^2 \vartheta \cos^2 \varphi + A_{yy} \sin^2 \vartheta \sin^2 \varphi + A_{zz} \cos^2 \vartheta), \quad [28]$$

mit $c_x = \sin \vartheta \cos \varphi$, $c_y = \sin \vartheta \sin \varphi$ und $c_z = \cos \vartheta$ (s. Abb. 3). Mit den Ersetzungen

$$\cos^2 \varphi = \frac{1}{2} (1 + \cos 2\varphi) \quad [29]$$

und

$$\sin^2 \varphi = \frac{1}{2} (1 - \cos 2\varphi) \quad [30]$$

folgt daraus:

$$\begin{aligned} \overline{P_2(\cos \theta)} &= \frac{3}{2} \left\{ \frac{A_{xx}}{2} \sin^2 \vartheta + \frac{A_{xx}}{2} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi + \frac{A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta - \frac{A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right. \\ &\quad \left. + A_{zz} \cos^2 \vartheta \right\} \\ &= \frac{3}{2} \left\{ \frac{A_{xx} + A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta + \frac{A_{xx} - A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi + A_{zz} \cos^2 \vartheta \right\}. \end{aligned} \quad [31]$$

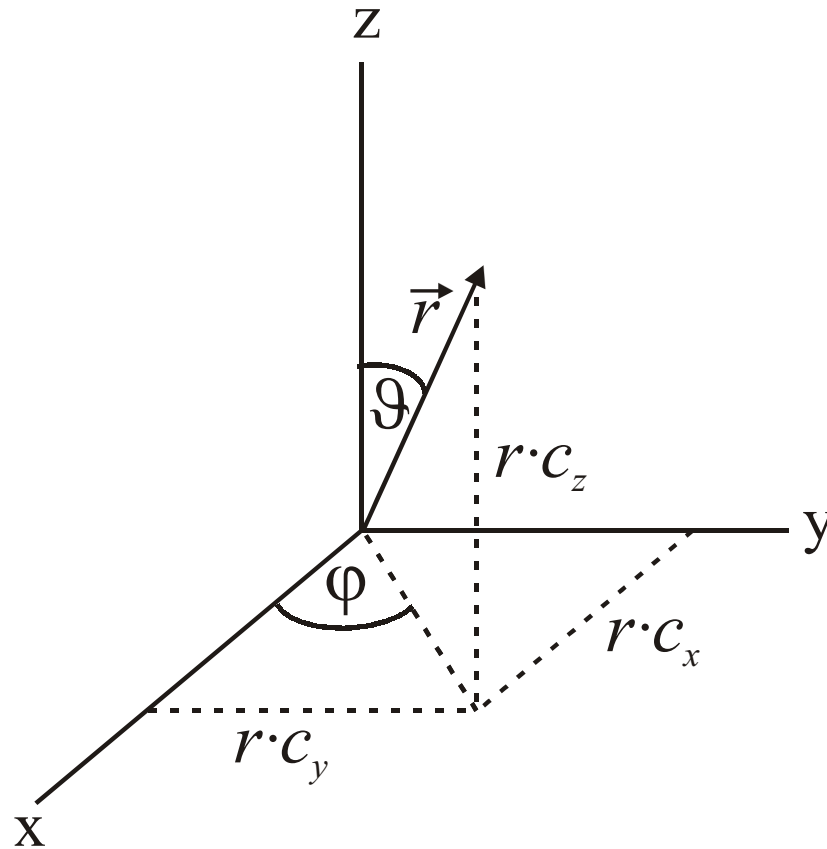


Abbildung 3: Hauptachsensystem des Ausrichtungs-Tensors mit Definition der Polarkoordinaten-Winkel ϑ und φ .

Da A spurlos ist, ist

$$A_{zz} = -(A_{xx} + A_{yy}), \quad [32]$$

womit sich Glg. [31] umformen läßt zu:

$$\overline{P_2(\cos\theta)} = \frac{3}{2} \left\{ A_{zz} \left(\cos^2 \vartheta - \frac{\sin^2 \vartheta}{2} \right) + \frac{A_{xx} - A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}. \quad [33]$$

Der Vorfaktor von A_{zz} ist ein Legendre-Polynom 2. Ordnung:

$$\begin{aligned}\cos^2 \vartheta - \frac{\sin^2 \vartheta}{2} &= \cos^2 \vartheta - \frac{(1 - \cos^2 \vartheta)}{2} \\ &= \frac{3}{2} \cos^2 \vartheta - \frac{1}{2}.\end{aligned}\quad [34]$$

Damit ergibt sich der Mittelwert $\overline{P_2(\cos\theta)}$ zu

$$\overline{P_2(\cos\theta)} = \frac{3}{2} \left\{ A_{zz} \left(\frac{3}{2} \cos^2 \vartheta - \frac{1}{2} \right) + \frac{A_{xx} - A_{yy}}{2} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}. \quad [35]$$

Mit Glg. [11] folgt für die residuale dipolare Kopplungskonstante D_{kl} (14):

$$\begin{aligned}D_{kl} &= -b_{kl} \frac{3}{4} \left\{ A_{zz} (3 \cos^2 \vartheta - 1) + (A_{xx} - A_{yy}) \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\} \\ &= -\frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} \left\{ \frac{3}{2} A_{zz} (3 \cos^2 \vartheta - 1) + \frac{3}{2} (A_{xx} - A_{yy}) \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}.\end{aligned}\quad [36]$$

Zu einer völlig gleichwertigen Beschreibung gelangt man, wenn Gleichung [36] mit Hilfe der Elemente der sog. Saupe-Matrix (bzw. Ordnungsmatrix) \mathbf{S} (40) ausgedrückt wird:

$$D_{kl} = -\frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} \left\{ S_{zz} (3 \cos^2 \vartheta - 1) + (S_{xx} - S_{yy}) \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}. \quad [37]$$

Mit der axialen Komponente

$$A_a = \frac{3}{2} A_{zz} = S_{zz} \quad [38]$$

und der rhombischen Komponente

$$A_r = A_{xx} - A_{yy} = \frac{2}{3} (S_{xx} - S_{yy}) \quad [39]$$

des Ausrichtungs-Tensors \mathbf{A} gelangt man von Glg. [36] bzw. Glg. [37] zu

$$D_{kl} = -\frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} \left\{ A_a (3 \cos^2 \vartheta - 1) + \frac{3}{2} A_r \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}. \quad [40]$$

Glg. [40] wird oftmals umgeformt zu

$$D_{kl} = D_a^{kl} \left\{ (3 \cos^2 \vartheta - 1) + \frac{3}{2} R \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\} \quad [41]$$

worin

$$D_a^{kl} = -\frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} A_a \quad [42]$$

als die Größe des residualen dipolaren Kopplungstensors bezeichnet wird und

$$R = \frac{A_r}{A_a} \quad [43]$$

als Rhombizität.

Von der Umorientierung des gesamten Moleküls verschiedene, lokale interne molekulare Bewegungen des Moleküls können durch einen Ordnungsparameter S ($0 \leq S \leq 1$) (41) berücksichtigt werden:

$$D_{kl} = -S \frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r^3} \left\{ A_a (3 \cos^2 \vartheta - 1) + \frac{3}{2} A_r \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right\}. \quad [44]$$

Kapitel 4

Neue, auf homonuklearen dipolaren Transfer optimierte Carr-Purcell-artige Mischsequenzen

Aus residualen dipolaren Kopplungen von partiell orientierten Molekülen lassen sich in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie wertvolle strukturelle Informationen ableiten (7, 42-44). Homonuklearer Hartmann-Hahn-(TOCSY-) Transfer (2-3, 45) durch residuale dipolare Kopplungen kann bei der Untersuchung von Biomakromolekülen sinnvoll ausgenutzt werden (9, 11). Entsprechende Experimente basierend auf J -Kopplungen (isotropes Mischen) (2) und dipolaren Kopplungen (dipolares Mischen) weisen Gemeinsamkeiten, aber auch charakteristische Unterschiede (3, 9, 46) auf. Um energetisch aufeinander abgestimmte Bedingungen zu erzeugen, ist sowohl bei isotropen, als auch bei dipolaren Mischexperimenten die effektive Unterdrückung von Offsettermen notwendig. Allerdings geben die spezifischen Formen der isotropen und dipolaren Kopplungstensoren Anlaß zu sehr unterschiedlichen Transferdynamiken (3, 9, 47, 48). Die unterschiedlichen Transformationseigenschaften der Kopplungstensoren unter Rotationen können zudem bei derselben Multipuls-Sequenz zu völlig verschiedenen Skalierungseigenschaften von isotropen und dipolaren Kopplungskonstanten führen (46, 49). Da die Geschwindigkeit des Polarisations- und Kohärenztransfers direkt proportional zur Größe der (skalierten) effektiven Kopplungskonstanten ist, sind große Skalierungsfaktoren vorteilhaft um Relaxationseffekte zu minimieren. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten TOCSY-Sequenzen stellen eine Klasse optimierter dipolarer Mischsequenzen mit nützlichen Bandbreiten und, im Vergleich zu früher vorgeschlagenen Sequenzen, deutlich verbesserten Skalierungsfaktoren dar.

4.1 Theorie

Wir gehen aus von einem System dipolar gekoppelter Spins mit Kopplungstermen der Form

$$\mathcal{H}_{d,kl} = 2\pi D_{kl} \left(I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{kx} I_{lx} - \frac{1}{2} I_{ky} I_{ly} \right) \quad [1]$$

für jedes Spin-Paar (kl). Die residuale dipolare Kopplungskonstante ist gegeben durch (50)

$$D_{kl} = -S \frac{\mu_0 \gamma_k \gamma_l \hbar}{8\pi^2 r_{kl}^3} \left[A_a (3 \cos^2 \theta - 1) + \frac{3}{2} A_r (\sin^2 \theta \cos 2\phi) \right], \quad [2]$$

worin S ein verallgemeinerter Ordnungsparameter, γ_k das gyromagnetische Verhältnis von Spin k und r_{kl} die internukleare Entfernung ist. A_a und A_r stellen die axiale bzw. rhombische Komponente des molekularen Ausrichtungstensors dar, in dessen Hauptachsen-System der Bindungsvektor durch die zylindrischen Koordinaten θ und ϕ definiert ist (siehe auch Kapitel 3). Wenn die Form des Kopplungstensors unter der Multipuls-Sequenz erhalten bleibt (46), können die effektiven Kopplungsterme ausgedrückt werden als

$$\mathcal{H}_{d,kl}^{eff} = 2\pi D_{kl}^{eff} \left(I_{kz'} I_{lz'} - \frac{1}{2} I_{kx'} I_{lx'} - \frac{1}{2} I_{ky'} I_{ly'} \right). \quad [3]$$

Die effektive Kopplungskonstante D_{kl}^{eff} ist mit der residualen dipolaren Kopplungskonstante D_{kl} über den Skalierungsfaktor s_{kl} verbunden, der definiert ist als

$$s_{kl} = \frac{D_{kl}^{eff}}{D_{kl}} \quad [4]$$

mit $|s_{kl}| \leq 1$. Da sich im Hauptachsen-System des effektiven Hamilton-Operators $\mathcal{H}_{d,kl}^{eff}$ der Transfer von transversaler (x' , y') Magnetisierung deutlich vom Transfer longitudinaler (z') Magnetisierung unterscheidet, werden, um Vergleiche zu erleichtern, im folgenden regelmäßig Transferfunktionen T_α (mit $\alpha = x, y$ oder z) des rotierenden Koordinatensystems in Transferfunktionen T_α (mit $\alpha = x', y'$ oder z') des Hauptachsen-Systems übersetzt.

Die dipolaren Skalierungsfaktoren der gebräuchlichsten Multipuls-Sequenzen liegen betragsmäßig zwischen $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{2}$. So erreichen beispielsweise die phasenalternierenden Sequenzen WALTZ-16 (28) und DIPSI-2 (29) einen *on-resonance* dipolaren Skalierungsfaktor $|s_{kl}| \approx 1/2$ (49) und sind damit deutlich besser für dipolaren Transfer geeignet als die MLEV-

16-Sequenz (31), mit einem *on-resonance* Skalierungsfaktor $|s_{kl}| = 1/4$ (49). Ein Skalierungsfaktor $|s_{kl}| = 1$ kann prinzipiell durch Carr-Purcell-artige Sequenzen (51) erreicht werden, die aus einer Serie harter, idealer 180° -Pulse bestehen (49). Solche Sequenzen wurden zuvor nicht für Anwendungen in praktischen dipolaren Mischsequenzen in Betracht gezogen, da unendlich kurze Pulse in der Praxis nicht implementiert werden können. So wurden Carr-Purcell-artige Sequenzen mit realen Pulsen zwar in dem grundlegenden Artikel über auf J -Kopplungen basierenden, homonuklearen isotropen Mischexperimenten (2) vorgeschlagen, fanden jedoch aufgrund ihrer begrenzten Bandbreite nie weite Verbreitung (3). Wie allerdings weiter unten gezeigt wird, bilden Serien von 180° -Pulsen, mit endlichen Amplituden und optimierter Zeitdauer zwischen den Pulsen, bei Expansion mit den richtigen Phasenzyklen eine attraktive Klasse homonuklearer dipolarer Mischsequenzen. Die dieser Klasse angehörigen Mischsequenzen werden im folgenden als MOCCA (engl.: *Modified phase-cycled Carr-Purcell-type*)-Sequenzen bezeichnet.

Der Basiszyklus einer Carr-Purcell-Sequenz (charakterisiert durch die Länge des 180° -Pulses d und die Dauer des „Fensters“ Δ zwischen den Pulsen) ist in Abbildung 1 dargestellt.

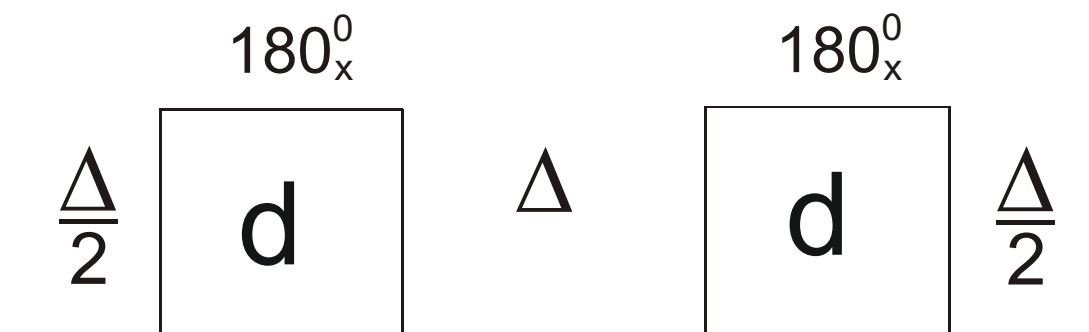


Abbildung 1 : Aus zwei von Delays (mit der Dauer Δ) umgebenen 180° -Pulsen (mit der Dauer d) bestehende Carr-Purcell-artige Basissequenz der Dauer $\tau_{cyc} = 2(d+\Delta)$.

In einem durch diese Pulssequenz definierten kippenden Koordinatensystem mitteln sich, sofern nur Effekte nullter Ordnung berücksichtigt werden, die Offsetterme heraus, wodurch energetisch aufeinander abgestimmte Bedingungen erzeugt werden (3). Die gemittelten dipolaren Kopplungsterme nullter Ordnung können auf einfache Weise (siehe Appendix) abgeleitet werden und haben die Form

$$\begin{aligned}\bar{\mathcal{H}}_{d,kl} &= 2\pi \left\{ D_{kl}^{eff,x} I_{kx} I_{lx} + D_{kl}^{eff,y} I_{ky} I_{ly} + D_{kl}^{eff,z} I_{kz} I_{lz} \right\} \\ &\equiv 2\pi D_{kl} \left\{ \frac{4\Delta + d}{4(d + \Delta)} I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{kx} I_{lx} - \frac{2\Delta - d}{4(d + \Delta)} I_{ky} I_{ly} \right\}.\end{aligned}\quad [5]$$

Dieser gemittelte Hamilton-Operator nullter Ordnung stellt eine gute Näherung für den effektiven Hamilton-Operator \mathcal{H}_{eff} dar, sofern die Zykluszeit τ_{cyc} der Sequenz folgende Bedingung erfüllt:

$$\tau_{cyc} = 2(d + \Delta) \ll \frac{1}{\nu_{off}^{max}}, \quad [6]$$

worin ν_{off}^{max} der betragsmäßig größte Offset im Spinsystem ist. (32, 35). Ist $\Delta \ll d$ besitzt der gemittelte Kopplungsterm $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl}$ in Glg. [5] die Form von $\mathcal{H}_{d,kl}^{eff}$ in Glg. [3], mit $D_{kl}^{eff} = -D_{kl}/2$, $x' = z$, $y' = y$ und $z' = x$. Dieser Grenzfall entspricht dem der kontinuierlichen Radiofrequenz-Einstrahlung ($\Delta = 0$) mit $s_{kl} = -1/2$ und weist im Resonanzfall nahezu denselben gemittelten Hamilton-Operator auf wie DIPSII-2 oder WALTZ-16 (49). Andererseits ist $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl} = \mathcal{H}_{d,kl}$, entsprechend dem bestmöglichen Skalierungsfaktor $s_{kl} = 1$, wenn im Grenzfall idealer Pulse ($\Delta \gg d$) $x' = x$, $y' = y$ und $z' = z$ ist. Für einen effektiven Hamilton-Operator der Form von Gleichung [5] sind die Transferfunktionen von x-, y- und z-Magnetisierung gegeben durch (3)

$$T_{\alpha} = \sin\left(\pi D_{kl}^{eff,\beta} \tau\right) \sin\left(\pi D_{kl}^{eff,\gamma} \tau\right), \quad [7]$$

worin $\{\alpha, \beta, \gamma\}$ Permutationen von $\{x, y, z\}$ sind.

Für die zwei Grenzfälle $\Delta \ll d$ und $\Delta \gg d$, für die der effektive Hamilton-Operator die Form von Gleichung [3] hat, vereinfachen sich die Transferfunktionen im Hauptachsensystem $\{x', y', z'\}$ des effektiven dipolaren Kopplungstensors zu:

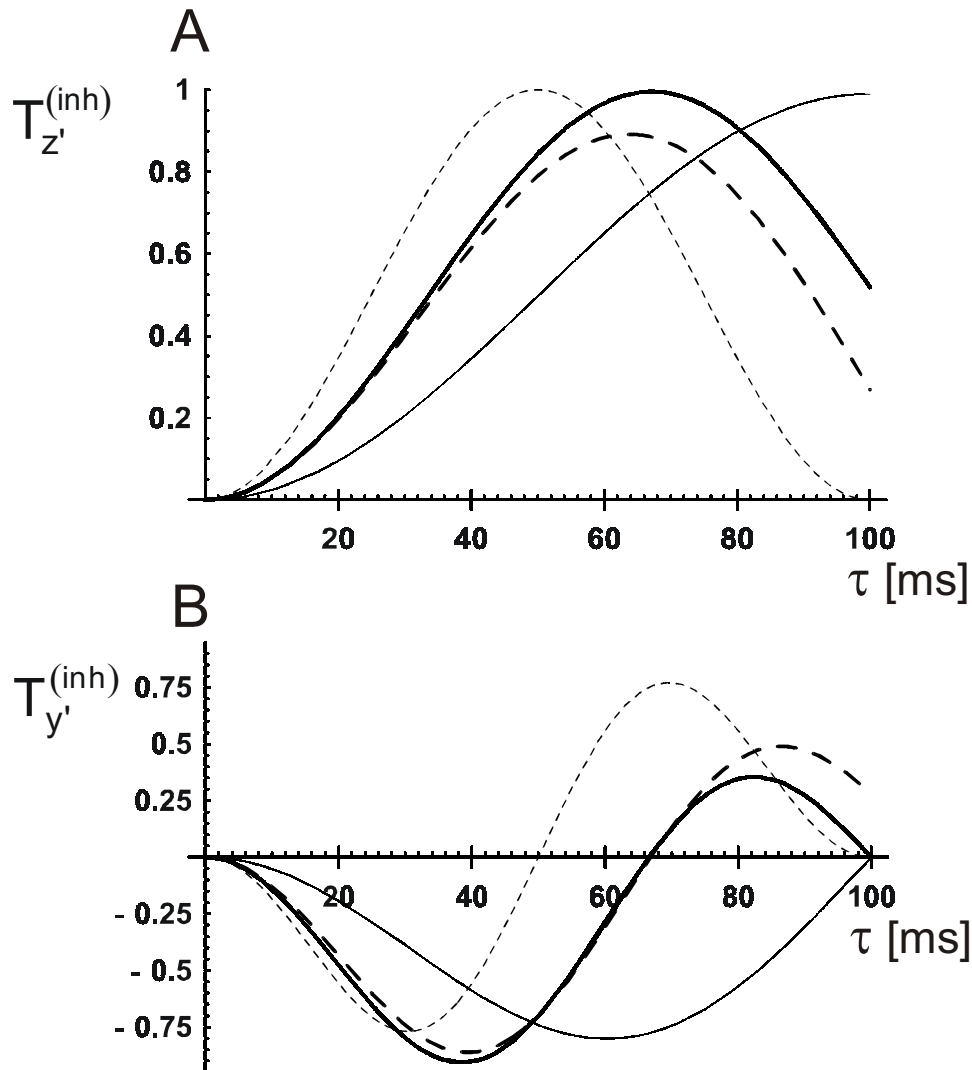


Abbildung 2: Zeitabhängigkeit von charakteristischen idealen Transferfunktionen $T_\alpha(\tau)$ und von numerisch berechneten Transferfunktionen $T_\alpha^{inh}(\tau)$ für die besten MOCCA-Sequenzen (fette Schrift in Tabelle 1). Es werden (A) Polarisationstransferfunktionen $T_z(\tau)$ und (B) Kohärenztransferfunktionen $T_x(\tau)$ im Hauptachsensystem des effektiven Hamilton-Operators (Glg. [3]) miteinander verglichen. (A) Vergleich der auf dem gemittelten Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl}$ (Glg. [5]) basierenden theoretischen Polarisationstransferfunktion $T_z(\tau)$ (Glg. [8]) für $\Delta \ll d$ ($z' = x$, dünne Kurve) und für $\Delta \gg d$ ($z' = z$, gestrichelte dünne Kurve) mit der realistischen Transferfunktion $T_z^{inh}(\tau)$ in Gegenwart von RF-Inhomogenität für MOCCA-XY16 (fette Kurve) mit $\Delta = 2.16 d$ beziehungsweise MOCCA-M4P9 (gestrichelte fette Kurve) mit $\Delta = 2.36 d$ (siehe Tabelle 1). (B) Vergleich der auf dem gemittelten Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl}$ (Glg. [5]) basierenden theoretischen Polarisationstransferfunktion $T_x(\tau)$ (Glg. [8]) für $\Delta \ll d$ ($x' = z$, dünne Kurve) und für $\Delta \gg d$ ($x' = x$, gestrichelte dünne Kurve) mit der realistischen Transferfunktion $T_y^{inh}(\tau)$ in Gegenwart von RF-Inhomogenität für MOCCA-M16 (fette Kurve) mit $\Delta = 2.25 d$ beziehungsweise MOCCA-M4P9 (gestrichelte fette Kurve) mit $\Delta = 2.32 d$ (siehe Tabelle 1). Die *on-resonance* Polarisations- und Kohärenztransferfunktionen $T_x = T_z$, und $T_y = T_z = T_x$, von DIPSI-2 sind nahezu identisch mit den in Abbildung A und B gezeigten durchgezogenen dünnen Kurven.

$$\begin{aligned}
T_{x'} &= T_{y'} = -\sin\left(\pi \frac{D_{kl}^{eff}}{2} \tau\right) \sin\left(\pi D_{kl}^{eff} \tau\right), \\
T_{z'} &= \sin^2\left(\pi \frac{D_{kl}^{eff}}{2} \tau\right).
\end{aligned}
\tag{8}$$

Falls $\Delta \ll d$ ist, ist gemäß Glg. [5] und [7] $D_{kl}^{eff,x} = -D_{kl}/2$ und $D_{kl}^{eff,y} = D_{kl}^{eff,z} = D_{kl}/4$ (entsprechend $D_{kl}^{eff} = -D_{kl}/2$ in Glg. [3] und [8]). In diesem Fall erreichen die Transferfunktionen $T_{x'} = T_{y'} = T_y = T_z$ (siehe Abb. 2B, dünne Kurve) Extrema bei näherungsweise $\tau = 0.6/|D_{kl}^{eff}| \approx 1.2/|D_{kl}|$ und $T_{z'} = T_x$ (siehe Abb. 2A, dünne Kurve) weist ein Maximum bei $\tau = 1/|D_{kl}^{eff}| \approx 2/|D_{kl}|$ auf. Diese Transferfunktionen sind nahezu identisch mit den Transferfunktionen, die man im Resonanzfall für DIPSI-2 findet. Im Gegensatz dazu werden im Falle $\Delta \gg d$ die Transferzeiten um einen Faktor von 2 reduziert und in den Gleichungen [5] und [7] ist $D_{kl}^{eff,x} = D_{kl}^{eff,y} = -D_{kl}/2$ bzw. $D_{kl}^{eff,z} = D_{kl}$ (entsprechend $D_{kl}^{eff} = D_{kl}$ in den Gleichungen [3] bzw. [8]). In diesem Fall erreichen die Transferfunktionen $T_{x'} = T_{y'} = T_x = T_y$ (siehe Abb. 2B, gestrichelte, dünne Kurve) Extrema bei näherungsweise $\tau = 0.6/|D_{eff}| \approx 0.6/|D_{kl}|$ und $T_{z'} = T_z$ (siehe Abb. 2A, gestrichelte, dünne Linie) weist ein Maximum auf bei $\tau = 1/|D_{eff}| \approx 1/|D_{kl}|$. Dies ist der vorteilhafteste Grenzfall mit der größten Transferegeschwindigkeit.

Um den aktiven Offset-Bereich des dipolaren Transfers zu erhöhen, betrachten wir nun MOCCA-Sequenzen bestehend aus einem Inversionselement $R_\varphi = (\Delta/2 - 180^\circ_\varphi - \Delta/2)$, auf das bekannte Phasenzyklen angewendet werden. Um zu einer kompakten Notation zu kommen, beziehen wir uns auf die so erzeugten Mitglieder der MOCCA-Familie durch Angabe des Zyklus (oder Superzyklus) in Form einer Namensweiterung. So bestehen zum Beispiel die MOCCA-M16- und die MOCCA-XY16-Sequenzen aus 16 Elementen R_φ mit den Phasen $0, 0, \pi, \pi, \pi, 0, 0, \pi, \pi, \pi, 0, 0, 0, \pi, \pi, 0$ entsprechend dem MLEV-16 Superzyklus (31) beziehungsweise den Phasen $0, \pi/2, 0, \pi/2, \pi/2, 0, \pi/2, 0, \pi, 3\pi/2, \pi, 3\pi/2, 3\pi/2, \pi, 3\pi/2, \pi$ entsprechend dem XY-16-Superzyklus (52, 53). In gleicher Weise ist in der MOCCA-M4P9-Sequenz das grundlegende Inversionselement R_φ entsprechend dem M4P9-Superzyklus expandiert (54, 55). Man beachte, daß der zeitlich gemittelte Kopplungsterm entsprechend Glei-

chung [5] nicht für MOCCA-XY16 und MOCCA-M4P9 gültig ist, da in diesen Sequenzen auch Phasen ϕ ungleich 0 oder π verwendet werden. Allerdings ist Gleichung [5] weiterhin gültig für MOCCA-M16, falls man die Effekte der B1-Inhomogenität vernachlässigt und den Resonanzfall betrachtet. Für MOCCA-XY16 ist der zeitlich gemittelte Kopplungsterm im Resonanzfall gegeben durch

$$\begin{aligned} \bar{\mathcal{H}}_{d,kl} &= 2\pi D_{kl} \frac{1}{16} \left\{ 8 \cdot \left(\frac{4\Delta + d}{4(d + \Delta)} I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{kx} I_{lx} - \frac{2\Delta - d}{4(d + \Delta)} I_{ky} I_{ly} \right) \right. \\ &\quad \left. + 8 \cdot \left(\frac{4\Delta + d}{4(d + \Delta)} I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{ky} I_{ly} - \frac{2\Delta - d}{4(d + \Delta)} I_{kx} I_{lx} \right) \right\} \\ &= 2\pi D_{kl} \left(\frac{d/4 + \Delta}{d + \Delta} \right) \left\{ I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{kx} I_{lx} - \frac{1}{2} I_{ky} I_{ly} \right\}, \end{aligned} \quad [9]$$

da der Phasenzklus im Prinzip zu einer Mittelung des *Average Hamiltonian* von Glg. [5] mit demselben *Average Hamiltonian* bei vertauschtem x und y führt. Im Gegensatz zur Gleichung [5] besitzt dieser Kopplungsterm für alle Werte Δ die Gestalt von Gleichung [3] mit

$$s_{kl} = \frac{d/4 + \Delta}{d + \Delta} \quad [10]$$

und $x' = x$, $y' = y$ und $z' = z$. Für alle MOCCA-artigen Sequenzen ist der Fall $\Delta \gg d$ wünschenswert, um den *on-resonance* Skalierungsfaktor zu maximieren. Der maximale Wert von Δ ist allerdings gemäß Gleichung [6] beschränkt. Wenn die 180° -Pulsdauer $d = \frac{1}{2\nu_{rf}}$ durch die maximal mögliche RF-Amplitude ν_{rf}^{\max} begrenzt ist, erwartet man daher - basierend auf den zuvor gegebenen, einfachen Argumenten bezüglich des gemittelten Hamilton-Operators nullter Ordnung -, daß die optimale Dauer des Delays Δ im Bereich

$$\frac{1}{\nu_{rf}^{\max}} < \Delta < \frac{1}{\nu_{off}^{\max}} \quad [11]$$

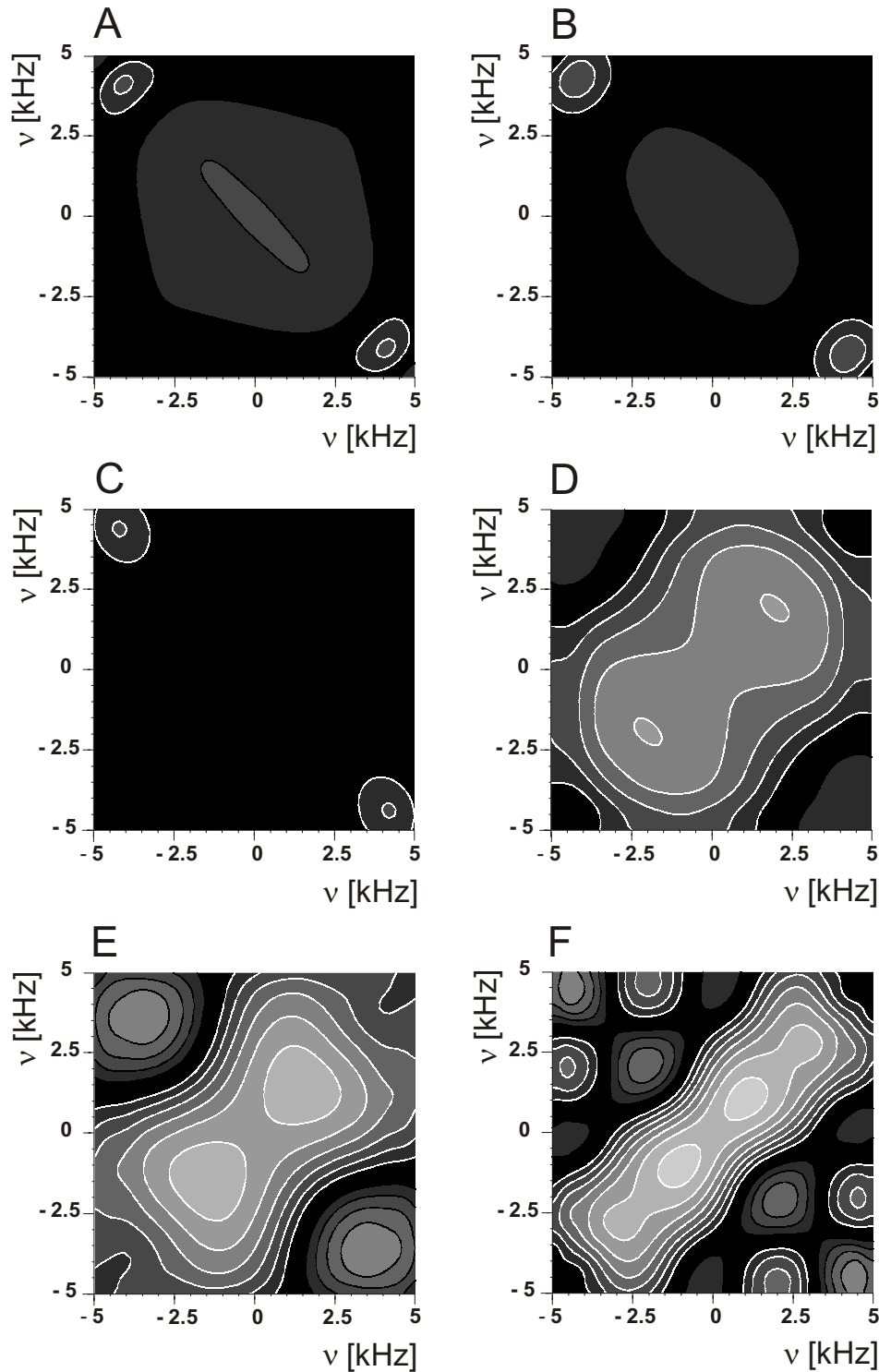


Abbildung 3: Einfluß der Dauer des Delays Δ auf die Offsetcharakteristik des Kohärenztransfers der MOCCA-M16-Sequenz mit einer nominellen RF-Amplitude von 12.5 kHz, entsprechend $d = 40 \mu\text{s}$, und einer dipolaren Kopplungskonstante $D_{kl} = 20 \text{ Hz}$. Gezeigt wird die Transfereffizienz $T_x^{inh} (0.6/|D_{kl}|)$ für die Delays (A) $\Delta = 1 \mu\text{s}$, (B) $\Delta = 10 \mu\text{s}$, (C) $\Delta = 20 \mu\text{s}$, (D) $\Delta = 80 \mu\text{s}$, (E) $\Delta = 160 \mu\text{s}$ und (F) $\Delta = 320 \mu\text{s}$. Schwarze und weiße Linien repräsentieren positive beziehungsweise negative Werte. Es werden Konturlinien für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$ gezeigt. Flächen mit demselben Absolutbetrag von $T_x^{inh} (0.6/|D_{kl}|)$ sind mit der gleichen Graustufe gefüllt.

zu finden ist. Abbildung 3 zeigt in diesem Zusammenhang numerische Simulationen der Offset-Abhängigkeit der Transfereffizienz T_x^{inh} unter einer MOCCA-M16-Sequenz mit einer B1-Feldstärke von 12.5 kHz für eine Vielzahl von Delays Δ und eine residuale dipolare Kopplungskonstante $D = D_{kl} = 20$ Hz. Realistische Transferfunktionen $T_\alpha^{inh}(\tau)$ in Gegenwart von B1-Inhomogenität wurden durch die mit einer Gausschen B1-Inhomogenitätsverteilung (Halbwertsbreite 10%) gewichtete Superposition einer Serie idealer Transferfunktionen $T_\alpha(\tau)$ für verschiedene nominale RF-Amplituden (3) simuliert. Alle Simulationen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt.

Für die MOCCA-M16-Sequenz ist der effektive Hamilton-Operator im Resonanzfall identisch zu Gleichung [5]. Basierend auf diesem effektiven Hamilton-Operator und den in Gleichung [7] gegebenen theoretischen Transferfunktionen, ist die Transferamplitude $T_x(0.6/D)$ für ein Delay Δ von 1, 10, 20, 80, 160 und 320 μs gleich 0.205, 0.128, 0, -0.448, -0.613 und -0.698. Diese Werte findet man in Abb. 3 tatsächlich für den Resonanzfall ($\nu_1 = \nu_2 = 0$). Wie aus Gleichung [5] erwartet, ist der Transfer $T_x^{inh}(0.6/D)$ im Resonanzfall positiv (Glg. [8]) für $\Delta \ll d$ (siehe Abb. 3 A / B) und negativ (Glg. [7]) für $\Delta \gg d$ (siehe Abb. 3 E / F). In Abb. 3 C ist kein Transfer zu beobachten, da der gemittelte Hamilton-Operator für $\Delta = d/2$ durch $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl} = 2\pi D_{kl} \left\{ I_{kz} I_{lz} - \frac{1}{2} I_{kx} I_{lx} \right\}$ gegeben ist (siehe Glg. [5]) und dieser gemäß Glg. [7] nicht zu x-Magnetisierungstransfer Anlaß geben kann. Man beachte, daß für $\Delta \gg d$ effizienter Kohärenztransfer auf einen relativ engen Bereich entlang der Diagonale beschränkt ist, mit $|\nu_1 - \nu_2| \ll 1/\Delta$. So ist beispielsweise in Abb. 3 F der Transfer beschränkt auf $|\nu_1 - \nu_2| < 1.5$ kHz. Dieses Beispiel zeigt die Notwendigkeit, das Delay Δ für die verschiedenen Mitglieder der MOCCA-Familie zu optimieren, um einen optimalen Kompromiß zwischen nutzbaren Bandbreiten und großen Skalierungsfaktoren s_{kl} zu finden.

4.2 Optimierte Sequenzen

Das Delay Δ wurde mit Hilfe des zum SIMONE-Programmpaket gehörigen Programms SEARCH für verschiedene MOCCA-Sequenzen optimiert, um die dipolare Transfereffizienz in einem definierten Offset-Bereich zu maximieren (3, 56). Da nur ein einziger Parameter variiert werden mußte, war eine einstufige Optimierung mit einem einzigen Qualitätsfaktor

ausreichend. Den essentiellen Bestandteil des letzteren stellt der partielle Qualitätsfaktor $q_{\min}(v_1, v_2)$ dar, der dem minimalen Wert von

$$N \cdot \left| \left\langle \sigma [t_{start} + (i-1) \cdot t_{step}] \middle| I_{2\alpha} \right\rangle \right|$$

im Bereich von $i = 1$ bis 21 entspricht (mit $t_{start} = 0.8 \cdot \tau_{id}$ und $t_{step} = (0.4 \cdot \tau_{id}) / 21$). N ist ein Normierungsfaktor, der sicherstellt, daß trotz des Minimumansatzes im *on resonance*-Fall eine Transfereffizienz von 1 gefunden werden kann.

Die auf diese Weise berechneten k Qualitätsfaktoren wurden ungleichmäßig auf das zu optimierende Offset-Quadrat verteilt, so daß eine stärkere Gewichtung um die Antidiagonale entstand. Um den Effekt der B1-Inhomogenität zu berücksichtigen, wurde der Qualitätsfaktor des gesamten Offset-Quadrats

$$q_{B1}^i = \sum_{j=1}^k (1 - q_{\min})^2 / k$$

für drei unterschiedliche B1-Feldstärken berechnet und der Gesamt-Qualitätsfaktor Q über das Produkt der drei entsprechenden Qualitätsfaktoren q_{B1}^i (starke Gewichtung der Subterme) definiert:

$$Q = -q_{B1}^1 \cdot q_{B1}^2 \cdot q_{B1}^3.$$

Die Optimierungsergebnisse mit diesem Qualitätsfaktor für eine angestrebte spektrale Breite von 8 kHz und unterschiedliche Magnetisierungs-komponenten sind in Tabelle 1 für die Sequenzen MOCCA-XY16, MOCCA-M16 und MOCCA-M4P9 mit einer B1-Feldstärke $v_{rf} = 12.5$ kHz zusammengefaßt. Zusätzlich zu dem optimierten Pulssequenz-Parameter Δ/d enthält Tabelle 1 transferzeitabhängige Skalierungsfaktoren s' , Transferamplituden und absolute bzw. relative Bandbreiten. Der Skalierungsfaktor s' ist definiert als τ_{id} / τ_{opt} , worin τ_{id} dem ersten Extremum der Transferfunktionen unter dem unskalierten dipolaren Kopplungs-Hamilton-Operator $\mathcal{H}_{d,12}$ (Glg. [1]) entspricht und τ_{opt} der Mischzeit bei der das erste Extremum der Transferfunktion für eine gegebene Multipuls-Sequenz erreicht wird, unter der

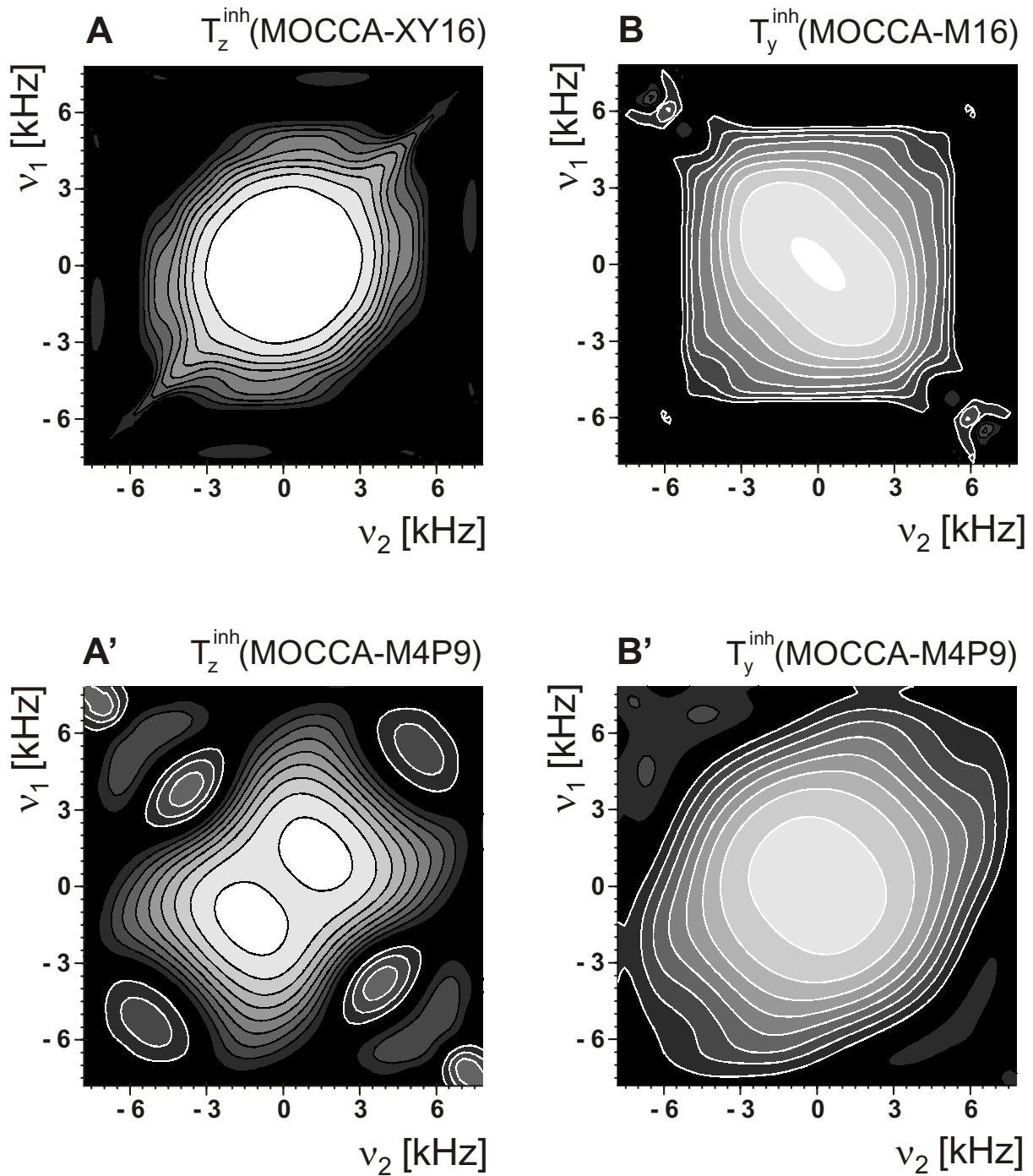


Abbildung 4: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz T_z^{inh} ($1.34/D$) für die Sequenz MOCCA-XY16 (A), T_z^{inh} ($1.28/D$) für die Sequenz MOCCA-M4P9 (A'), T_y^{inh} ($0.77/D$) für die Sequenz MOCCA-M16 (B) und T_y^{inh} ($0.79/D$) für die Sequenz MOCCA-M4P9 (B') mit den in Tabelle 1 aufgeführten Werten Δ/d (Konturlinien wie in Abb. 3). Die gewählten Mischzeiten τ_{opt} entsprechen dem ersten Extremum der Funktion $T_\alpha^{\text{inh}}(\tau)$ für die jeweilige MOCCA-Sequenz, siehe Abbildung 2 und Tabelle 1.

Vorraussetzung, daß beide Spins *on-resonance* vorliegen und die Effekte der B1-Inhomogenität Berücksichtigung finden. Dieser auf der Transferzeit basierende Skalierungsfaktor s' nähert sich dem Skalierungsfaktor s_{kl} für die Sequenz MOCCA-XY16 an, die gemäß Glg. [9] die Form des dipolaren Kopplungstermes für alle Werte von Δ konserviert. Die s' -Werte können auch für MOCCA-M16 und MOCCA-M4P9 definiert werden, wenngleich Glg. [4] nicht angewendet werden kann, da die Form des dipolaren Kopplungsterms unter diesen Sequenzen nicht erhalten bleibt. Die optimale Mischzeit τ_{opt} ist (s. o.) definiert als die Mischzeit, die dem ersten Extremum der Transferfunktionen für $\nu_1 = \nu_2 = 0$ kHz entspricht. So ist für den Transfer von y-Magnetisierung $\tau_{id} = 30$ ms (siehe die dünne, gestrichelte Linie in Abb. 2 B), während für MOCCA-M16 mit $\Delta = 89.8 \mu\text{s}$ (siehe Tabelle 1) $\tau_{opt} = 38.48$ ms ist, resultierend in $s' = 0.78$ und $T_y^{inh}(\tau_{opt}) = -0.91$. Diese Werte können nachvollzogen werden

T_α	Sequenz	Δ / d	s'	T_α^{opt}	b [Hz]	ν_{rf}^{rms} [Hz]	b / ν_{rf}^{rms}
T_x	MOCCA-M16	3.18	0.77	-0.62	2418.45	6114.68	0.40
	MOCCA-M4P9	2.83	0.76	-0.66	3048.53	6386.78	0.48
	MOCCA-XY16	2.67	0.77	-0.77	4622.17	6525.84	0.72
T_y	MOCCA-M16	2.25	0.78	-0.91	5877.16	6939.09	0.85
	MOCCA-M4P9	2.32	0.76	-0.86	6356.62	6855.62	0.93
	MOCCA-XY16	2.64	0.76	-0.77	4597.65	6554.93	0.70
T_z	MOCCA-M16	2.68	0.84	0.82	3749.19	6519.18	0.58
	MOCCA-M4P9	2.36	0.78	0.89	4354.79	6815.25	0.64
	MOCCA-XY16	2.16	0.74	1.00	5530.68	7029.02	0.79

Tabelle 1: Für breitbandigen dipolaren Transfer von x-, y- und z-Magnetisierung optimierte MOCCA-Sequenzen. Alle Angaben beziehen sich auf eine B1-Amplitude $\nu_{rf} = 12.5$ kHz und eine dipolare Kopplungskonstante $D = D_{kl} = 20$ Hz. Gegeben sind die optimierten Werte $\Delta/d = 2\nu_{rf}\Delta$ für ein mit XY-16 (MOCCA-XY16), MLEV-16 (MOCCA-M16) bzw. M4P9 (MOCCA-M4P9) expandiertes Inversionselement der Form $[\Delta/2 - (180^\circ_x) - \Delta/2]$. Zum Beispiel ist für MOCCA-XY16, im Falle von z-Transfer, das optimale Delay $\Delta = 86.51 \mu\text{s}$. Weiterhin sind die Parameter s' , T_α^{opt} , b , ν_{rf}^{rms} und b/ν_{rf}^{rms} gegeben, die die Sequenzen in Hinblick auf Transferzeit, Transferamplitude und mittlere RF-Leistung bzw. Bandbreite charakterisieren (siehe Text). Die Sequenzen mit den besten Transfereigenschaften für Kohärenz- und Polarisationstransfer sind durch fette Schrift gekennzeichnet.

mittels der theoretischen Transferfunktionen (Glg. [7]) mit $D_{kl}^{x,eff} = -10$ Hz, $D_{kl}^{y,eff} = -5.313$ Hz und $D_{kl}^{z,eff} = 15.313$ Hz gemäß Glg. [5]. Die absolute Bandbreite b ist definiert als der Off-

setbereich von v_1 und v_2 , in dem die Transferamplitude $T_\alpha^{inh}(\tau_{opt})$ größer als 0.5 ist. Der Parameter v_{rf}^{rms} bezeichnet die Wurzel aus der gemittelten quadratischen RF-Amplitude. Das Quadrat dieser Größe ist proportional zur mittleren RF-Leistung der Sequenzen (siehe Kapitel 2). Weiterhin sind in Tabelle 1 auch die relativen Bandweiten b/v_{rf}^{rms} zusammengefaßt.

Für Polarisationstransfer (T_z) ergibt die Sequenz MOCCA-XY16 mit $\Delta/d = 2.16$ bezüglich der maximalen Transferamplitude T_z^{opt} und der Bandbreite b (siehe Abb. 4A) die besten Resultate, gefolgt von MOCCA-M4P9 mit $\Delta/d = 2.36$ (siehe Abb. 4A'). Bei Kohärenz-Transfer ist T_y vor T_x zu bevorzugen und die Sequenzen MOCCA-M16 mit $\Delta/d = 2.25$ (siehe Abb. 4B) und MOCCA-M4P9 mit $\Delta/d = 2.32$ (siehe Abb. 4B') sind am besten geeignet. Abbildung 2 zeigt zudem für den Resonanzfall die detaillierte Zeitabhängigkeit der Transferfunktionen $T_z^{inh}(\tau)$ für die optimierten MOCCA-XY16- und MOCCA-M4P9-Sequenzen und $T_y^{inh}(\tau)$ für MOCCA-M16 und MOCCA-M4P9. Für die optimierten MOCCA-Sequenzen ist der Magnetisierungstransfer (fette Kurven in Abb. 2) mehr als 50 % schneller im Vergleich mit DIPSI-2 (dünne Kurven in Abb. 2). Auch sind die maximalen Transferamplituden $|T_\alpha^{inh}(\tau_{opt})|$ der MOCCA-Sequenzen vergleichbar oder sogar größer als die entsprechenden maximalen Transfer-Amplituden von DIPSI-2 (siehe Abb. 2).

4.3 Experimentelles

Sämtliche Experimente wurden in einer Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Griesinger von Wolfgang Peti durchgeführt. Die MOCCA- und DIPSI-2-Mischsequenzen wurden auf eine 5 mM Probe von Rinderblut-Ubiquitin in einer H_2O/D_2O 90/10 Lösung bei pH 6.5 (kommerziell erhältlich von SIGMA, Inc., St. Louis, MO, verwendet ohne weitere Aufreinigung) angewendet. Es wurden dünnwandige Probenröhrchen mit einem Durchmesser von 5 mm und 550 μ l Fassungsvermögen benutzt. Orientierung wurde induziert mittels einer verdünnten Flüssigkristall-Lösung bestehend aus 3% CHAPSO/DLPC/CTAB (1:5:0.1) (CHAPSO, DLPC, SIGMA, Inc., St. Louis, MO; CTAB, ACROS, New Jersey, USA) (57, 58). Alle Experimente wurden bei 303 K an einem Bruker DRX 600 MHz-Spektrometer (Bruker Analytik GmbH, Rheinstetten) ausgerüstet mit einem TXI HCN z-Gradienten-Probenkopf durchgeführt. Die Spektren wurden mit XWINNMR 2.6 (Bruker Analytik GmbH,

Rheinstetten) und Felix 98 (MSI, San Diego, USA) prozessiert. Die grundlegende z-Filter-Version eines 2D-TOCSY ist in Abbildung 5 dargestellt.

Alle TOCSY-Experimente (DIPSI-2, MOCCA-XY16, MOCCA-M4P9, MOCCA-M16) wurden mit einer RF-Amplitude v_{rf} von 12.5 kHz aufgenommen. Um den maximal möglichen Transfer zwischen den nicht skalar gekoppelten Amid-Protonen zu erzielen, wurden die Mischsequenzen bei den NH-Resonanzen eingestrahlt, danach wurde mit der Protonenfrequenz vor der Detektion zurück auf die Wasser-Resonanz gesprungen. Diese Frequenzsprünge wurden zum besseren Vergleich auch mit DIPSI-2 durchgeführt. Ein typisches dipolares Mischexperiment für den Transfer von z-Magnetisierung wird in Abb. 6 gezeigt.

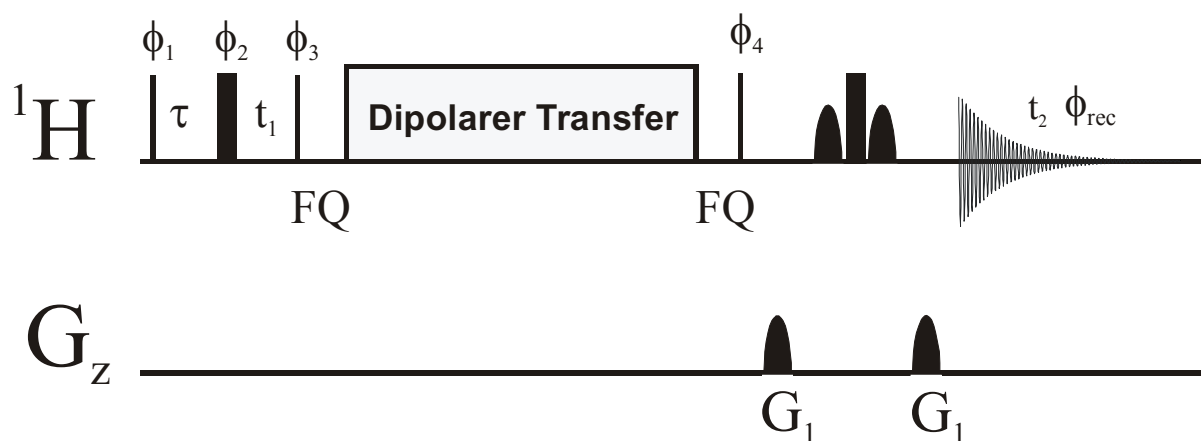


Abbildung 5: Schematische Darstellung der zum Testen der verschiedenen dipolaren Mischsequenzen für den Transfer von z-Magnetisierung verwendeten Pulssequenz. Schmale und breite Striche repräsentieren 90° - beziehungsweise 180° -Pulse. Die Standard-Phase ist x. Phasenzyklen: $\phi_1 = \{x, -x\}$, $\phi_2 = \{y, -y\}$, $\phi_3 = \{4(x), 4(-x)\}$, $\phi_4 = \{2(x), 2(-x)\}$ und $\phi_{rec} = \{x, 2(-x), x, -x, 2(x), -x\}$. Quadratur-Detektion wurde verwirklicht durch Änderung von ϕ_1 gemäß der States-TPPI-Methode (59). Zur Vermeidung von Dämpfungs-Effekten wurde das Wasser-Signal mit niedriger Leistung jeweils 1.5 s vorgesättigt. Das Delay τ (Dauer $3\mu\text{s}$) in Verbindung mit dem 180° -Puls bewirkt die Unterdrückung der Evolution chemischer Verschiebung während des ersten t_1 -Elementes. FQ bezeichnet Frequenzsprünge zwischen der Wasser-Resonanz (4.65 ppm) und der Amid-Region (7.6 ppm). Außerhalb des TOCSY-Elementes wurden Protonen-Pulse mit einer RF-Amplitude von 36.75 kHz (180-Puls: $13.6\mu\text{s}$) verwendet. Zur Wasser-Unterdrückung wurde eine *watergate*-Sequenz (60) benutzt. Gradient: $G_1 = (1\text{ ms}, 30\text{ G/cm})$. Für die 2D-Version des Experimentes betrug die spektrale Breite sowohl in der t_1 - (768 Datenpunkte) als auch der t_2 -Dimension (2048 Datenpunkte) 7788 Hz, entsprechend einer Gesamt-Meßzeit von ca. 6 Stunden bei 16 Scans pro t_1 -Inkrement.

Zum Vergleich mit den theoretischen Transferfunktionen wurden für verschiedene Mischsequenzen Aufbaukurven als Funktion der Mischzeit aufgenommen (Abb. 7). Folgende Mischzeiten wurden ausgewählt: 30 ms, 60 ms, 90 ms, 120 ms und 150 ms für z-Transfer mit

MOCCA-XY16; 30 ms, 60 ms, 90 ms und 120 ms für z-Transfer mit DIPSI-2; 24.12 ms, 48.24 ms und 72.36 ms für y-Transfer mit MOCCA-M4P9. Für alle anderen Mischsequenzen wurden ebenfalls Spektren aufgenommen, die oben aufgelisteten zeigten allerdings, wie aus den Simulationen erwartet, im Experiment die besten Ergebnisse. Für den Transfer von z-Magnetisierung ist die maximale Transferamplitude von MOCCA-XY16 zwischen 14 % (B) und 61 % (A) größer als die von DIPSI-2. Dieser Unterschied wächst dramatisch an für längere Mischzeiten. Bei einer Mischzeit von 120 ms sind die Kreuzsignale des MOCCA-XY16-Experiments im Durchschnitt um einen Faktor von 4 größer als die des DIPSI-2-Experiments. Der schnellste y-Transfer wurde für MOCCA-M4P9 gefunden.

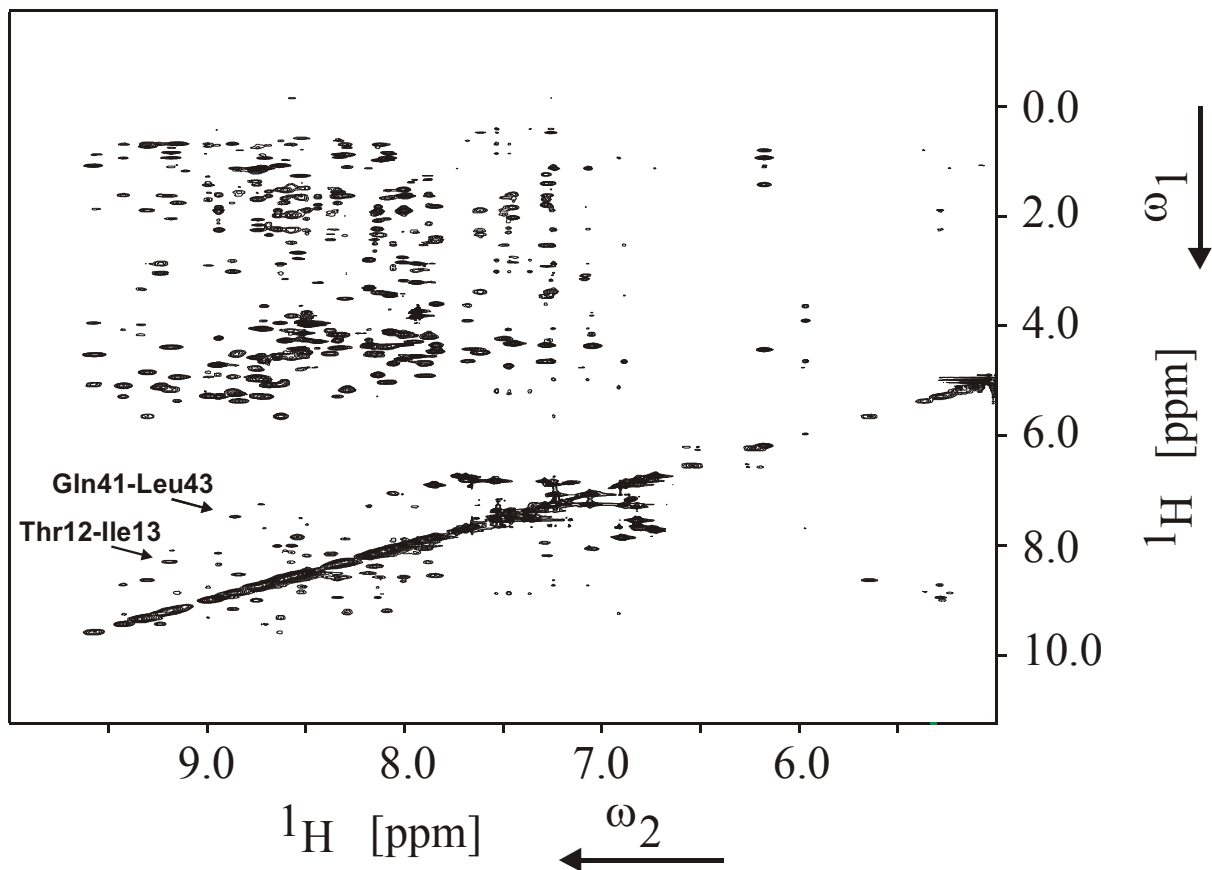


Abbildung 6: $^1\text{H}^{\text{N}}$ -Region des an Ubiquitin aufgenommenen MOCCA-XY16-Spektrums. Während der dipolaren Mischperiode wurde z-Magnetisierung transferiert. Die Mischzeit τ betrug 60 ms (experimentelle Parameter siehe Text und Abb. 6).

4.4 Schlußfolgerung

Neue dipolare Mischsequenzen wurden optimiert und auf ein Protein angewendet. Wenn relativ kleine Bandbreiten für eine gegebene Applikation ausreichend sind, können bei

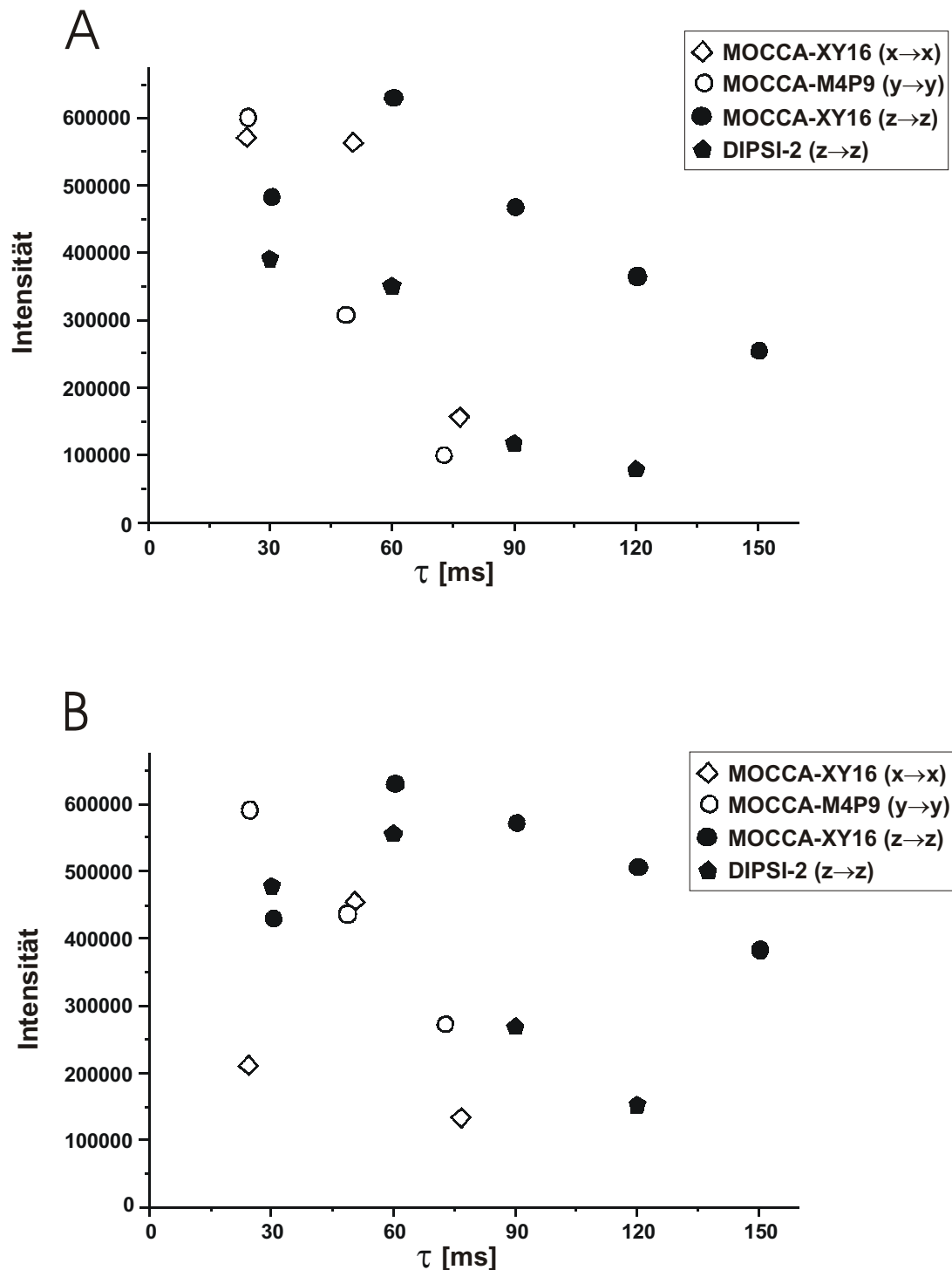


Abbildung 7: Experimentelle dipolare Transferfunktionen der Mischsequenzen DIPSI-2 (z-Transfer, Fünfecke), MOCCA-XY16 (z-Transfer: schwarze Kreise; x-Transfer: Rauten) und MOCCA-M4P9 (y-Transfer: weiße Kreise) für das in einer 90:10 H₂O/D₂O-Lösung bei pH 6.5 gelöste Protein Ubiquitin. Individuelle Kreuzpeak-Intensitäten (willkürliche Einheiten) werden gezeigt für (A) die Kreuzpeaks zwischen H^N (Ile 13) und H^N (Thr 12) mit einem Abstand von 4.46 Å und (B) die Kreuzpeaks zwischen H^N (Leu 43) und H^N (Gln 41) mit einem Abstand von 6.94 Å. Um den Vergleich zu erleichtern wurden die negativen Kreuzpeak-Intensitäten der DIPSI-2-, MOCCA-M4P9- und MOCCA-XY16(x → x)-Experimente mit -1 multipliziert.

Verwendung von MOCCA-Sequenzen mit $\Delta \gg d$ Skalierungsfaktoren s_{kl} von annähernd 1 erreicht werden. Für breitbandige Anwendungen müssen geringfügig reduzierte Skalierungsfaktoren in Kauf genommen werden. So weist zum Beispiel die für breitbandigen Transfer bei dipolaren Mischen optimierte MOCCA-XY16-Sequenz einen maximalen Skalierungsfaktor $s_{kl} = 0.77$ für Kohärenztransfer und $s_{kl} = 0.74$ für Polarisationstransfer auf, was aber um ca. 50 % über dem Skalierungsfaktor $|s_{kl}| \approx 0.5$ von DIPSI-2 (oder WALTZ-16) liegt. Diese größeren Skalierungsfaktoren der MOCCA-Sequenzen setzen sich direkt um in schnellere Transferdynamiken (siehe Abb. 2 und Abb. 7). Im Prinzip vermindert schnellerer Transfer Relaxationsverluste. Allerdings hängen die effektiven Relaxationsraten auch von den Trajektorien von Magnetisierung und Kohärenzen während einer gegebenen Multipuls-Sequenz ab. Basierend auf einem einfachen (invarianten) Trajektorien-Modell (siehe Kapitel 7), das Nullquanten-Beiträge ignoriert (3, 61), können die folgenden Schlußfolgerungen für charakteristische Fälle von Interesse gezogen werden (siehe Abb. 8) : bei MOCCA-artigen Sequenzen mit

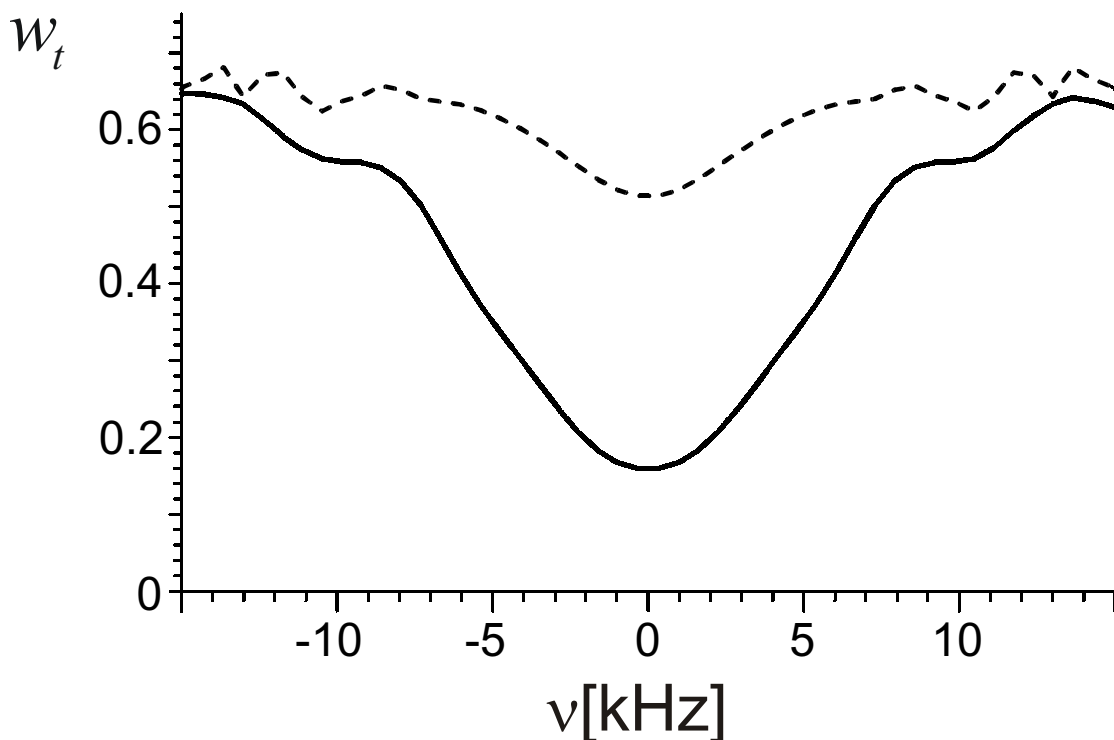


Abbildung 8: Plot des Gewichtungsfaktors w_t der transversalen Kreuzrelaxation basierend auf invarianten Trajektorien-Berechnungen (3, 61) für den Transfer von z-Magnetisierung unter MOCCA-XY16 (durchgezogene Linie) und DIPSI-2 (gestrichelte Linie). Für beide Sequenzen wurde eine mittlere RF-Amplitude $v_{rf}^{rms} = 10$ kHz angenommen.

$\Delta \gg d$ wird der Transfer von z-Magnetisierung in wesentlichen von T_1 -Prozessen beeinflusst, wohingegen der Transfer von x- und y-Magnetisierung von der viel schnelleren T_2 -Relaxation dominiert wird. Bei DIPSII-artigen Experimenten (ebenso wie für MOCCA-Sequenzen mit $\Delta \ll d$) ist der Transfer von y- und z-Magnetisierung einem Mittel von T_1 - und T_2 -Prozessen ausgesetzt, wohingegen der Transfer von x- Magnetisierung durch T_2 -Relaxation minimiert wird. Dies erklärt qualitativ die beobachteten Dämpfungsraten der experimentellen Transferfunktionen in Abb. 7. Zusätzlich beruhen die beobachteten Dämpfungsraten teilweise auch darauf, daß die Spinsysteme aus mehr als zwei dipolar gekoppelten Spins bestehen, wofür die Transferdynamik des Kohärenz- und Polarisationstransfers vollkommen unterschiedlich sein kann (48). In der Praxis sind die optimierten MOCCA-Sequenzen aufgrund ihrer besseren Skalierungseigenschaften und ihrer (insbesondere für den Transfer von z-Magnetisierung) vorteilhaften effektiven Relaxationsraten, den DIPSII-artigen Sequenzen vorzuziehen. Aus dem letzteren Grund werden die neuen Mischsequenzen wichtige Bausteine in vielen Experimenten basierend auf homonuklearem, dipolaren Transfer sein. Bezogen auf die eingesetzte B1-Leistung, ist die Bandbreite der MOCCA-Sequenzen vergleichbar mit der Bandbreite von DIPSII-2.

4.5 Appendix

Eine kurze Ableitung des gemittelten Hamilton-Operators $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl}$ (siehe Glg. [5]) ist auf einfache Weise mit Hilfe des Modells des kippenden Koordinatensystems (35) möglich. Für die in Abbildung 1 dargestellte Pulssequenz ergibt sich der Hamilton-Operator $\tilde{\mathcal{H}}_{d,kl}(t)$ des kippenden Koordinatensystems für die den Delays entsprechenden Zeitintervalle $0 \leq t < \Delta/2$, $\Delta/2 + d \leq t < 3\Delta/2 + d$ und $3\Delta/2 + 2d \leq t < 2(\Delta + d)$ zu

$$\tilde{\mathcal{H}}_{d,kl} = 2\pi D_{kl} \left\{ \tilde{I}_{kz} \tilde{I}_{lz} - \frac{1}{2} \tilde{I}_{kx} \tilde{I}_{lx} - \frac{1}{2} \tilde{I}_{ky} \tilde{I}_{ly} \right\}$$

und für die den Pulsen entsprechenden Intervalle $\Delta/2 \leq t < \Delta/2 + d$ und $3\Delta/2 + d \leq t < 3\Delta/2 + 2d$ zu

$$\begin{aligned} \tilde{\mathcal{H}}_{d,kl} = 2\pi D_{kl} & \left\{ \left(\cos^2 \alpha - \frac{1}{2} \sin^2 \alpha \right) \tilde{I}_{kz} \tilde{I}_{lz} + \left(\sin^2 \alpha - \frac{1}{2} \cos^2 \alpha \right) \tilde{I}_{ky} \tilde{I}_{ly} \right. \\ & \left. + \frac{3}{2} \sin \alpha \cos \alpha \left(\tilde{I}_{ky} \tilde{I}_{lz} + \tilde{I}_{ly} \tilde{I}_{kz} \right) - \frac{1}{2} \tilde{I}_{kx} \tilde{I}_{lx} \right\} \end{aligned}$$

mit $\alpha = 2\pi\nu_{\text{rf}}(t - \Delta/2)$ beziehungsweise $\alpha = 2\pi\nu_{\text{rf}}(t - 3\Delta/2 - d)$. Der resultierende gemittelte Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}_{d,kl}$ ist gegeben durch

$$\begin{aligned} \bar{\mathcal{H}}_{d,kl} = \frac{2\pi D_{kl}}{2(d+\Delta)} & \left\{ -(d+\Delta) I_{kx} I_{lx} - \left[\Delta + \frac{d}{2\pi} \int_0^{2\pi} (\cos^2 \alpha - 2 \sin^2 \alpha) d\alpha \right] I_{ky} I_{ly} \right. \\ & + \left[2\Delta - \frac{d}{2\pi} \int_0^{2\pi} (\sin^2 \alpha - 2 \cos^2 \alpha) d\alpha \right] I_{kz} I_{lz} \\ & \left. + \frac{d}{2\pi} \int_0^{2\pi} (3 \sin \alpha \cos \alpha) d\alpha \left(I_{ky} I_{lz} + I_{ly} I_{kz} \right) \right\}, \end{aligned}$$

wobei dieser Ausdruck identisch ist mit Glg. [5], da $\int_0^{2\pi} (\sin^2 \alpha - 2 \cos^2 \alpha) d\alpha =$

$$\int_0^{2\pi} (\cos^2 \alpha - 2 \sin^2 \alpha) d\alpha = -\pi \quad \text{und} \quad \int_0^{2\pi} (3 \sin \alpha \cos \alpha) d\alpha = 0 \text{ ist.}$$

Kapitel 5

Effizienz von homonuklearen Hartmann-Hahn- und COSY-artigen Mischsequenzen in der Gegenwart von skalaren und residualen dipolaren Kopplungen

Im folgenden wird eine systematische Untersuchung der Transfereffizienz wichtiger experimenteller Bausteine für den Fall vorgestellt, daß sich skalare (J) und residuale dipolare (D) Kopplungen überlagern. Für die am häufigsten verwendeten Mischsequenzen werden dramatische Unterschiede in der Transfereffizienz als Funktion von D/J gefunden. Dieses vielleicht überraschende Verhalten wird verständlich gemacht und es werden einfache Regeln präsentiert, um die Transfereffizienz eines gegebenen Pulssequenz-Elementes zu bestimmen. In der Praxis machen diese Regeln es möglich, die am besten passenden Pulssequenzen für eine gegebene Anwendung auszuwählen.

5.1 Theorie

Wir gehen aus von einem System zweier gekoppelter Spins $\frac{1}{2}$ mit dem Hamilton-Operator der freien Evolution

$$\mathcal{H}_0 = \mathcal{H}_{\text{off}} + \mathcal{H}_J + \mathcal{H}_D \quad [1]$$

bestehend aus dem Offsetterm

$$\mathcal{H}_{\text{off}} = 2\pi\nu_1 I_{1z} + 2\pi\nu_2 I_{2z}, \quad [2]$$

dem skalaren Kopplungsterm

$$\mathcal{H}_J = 2\pi J (I_{1z} I_{2z} + I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) \quad [3]$$

und dem residualen dipolaren Kopplungsterm

$$\mathcal{H}_D = 2\pi D \left(I_{1z}I_{2z} - \frac{1}{2}I_{1x}I_{2x} - \frac{1}{2}I_{1y}I_{2y} \right). \quad [4]$$

Während einer Multipuls-Sequenz mit der RF-Amplitude $v_{rf}(t)$ und der Phase $\varphi(t)$ ist der Hamilton-Operator gegeben durch $\mathcal{H}_0 + \mathcal{H}_{rf}(t)$, mit dem RF-Term

$$\mathcal{H}_{rf}(t) = 2\pi v_{rf}(t) \left\{ (I_{1x} + I_{2x}) \cos \varphi(t) + (I_{1y} + I_{2y}) \sin \varphi(t) \right\}. \quad [5]$$

Die Evolution des Dichteoperators wird beschrieben durch die Liouville-von Neuman-Gleichung (32), die unter Verwendung von NMR-Simulationsprogrammen wie SIMONE (56) immer numerisch gelöst werden kann. Um allerdings die Eigenschaften von dipolaren Mischexperimenten besser verstehen zu können, ist eine Analyse basierend auf der *Average Hamiltonian*-Theorie (3, 32, 35) und dem Modell des kippenden Koordinatensystems sehr hilfreich (siehe auch Kapitel 2).

Um die Anwendbarkeit der *Average Hamiltonian*-Theorie zu gewährleisten, muß der RF-Term $\mathcal{H}_{rf}(t)$ im effektiven Hamilton-Operator \mathcal{H}_{eff} unterdrückt werden, die Erfüllung der Hartmann-Hahn-Bedingung erfordert weiterhin die Eliminierung des Offset-Terms \mathcal{H}_{off} . Um dies zu erreichen, ist es sinnvoll, in ein durch die *kombinierte* Wirkung von \mathcal{H}_{off} und $\mathcal{H}_{rf}(t)$ definiertes kippendes Koordinatensystem zu gehen, in dem der zeitabhängige Hamilton-Operator $\mathcal{H}_{tog}(t)$ gegeben ist durch (3):

$$\mathcal{H}_{tog}(t) = U^\dagger(t) (\mathcal{H}_D + \mathcal{H}_J) U(t)$$

mit dem Propagator

$$U(t) = T \exp \left\{ -i \int_0^t \mathcal{H}'(t') dt' \right\} = T \exp \left\{ -i \int_0^t (\mathcal{H}_{rf}(t') + \mathcal{H}_{off}) dt' \right\}. \quad [6]$$

Darin ist T der sog. Dysonsche Zeitordnungs-Operator (s. Kapitel 2). Der die Bewegung des kippenden Koordinatensystems bestimmende Hamilton-Operator $\mathcal{H}'(t) = \mathcal{H}_{rf}'(t) + \mathcal{H}_{off}'$ ist als Produkt linearer 1-Spin-Operatoren $\mathcal{H}_i'(t)$ darstellbar:

$$\mathcal{H}'(t) = \sum_i \mathcal{H}_i'(t).$$

Da die Hamilton-Operatoren $\mathcal{H}_i'(t)$ für alle Spins i miteinander kommutieren, kann die Transformation $U'(t)$ in ein Produkt von 1-Spin-Transformationen $U_i'(t)$ zerlegt werden, die den Spin i ins kippende Koordinatensystem transformieren:

$$I_{i\alpha}'(t) = U_i^\dagger'(t) I_{i\alpha} U_i'(t) = \sum_{\beta} a_{\alpha\beta}^{(i)}(t) I_{i\beta}. \quad [7]$$

Darin sind die Koeffizienten $a_{\alpha\beta}^{(i)}(t)$ die Elemente einer reellen, dreidimensionalen Rotationsmatrix. Der zeitabhängige Hamilton-Operator im kippenden Koordinatensystem ergibt sich mit Glg. [7] zu:

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{\text{tog}}'(t) &= 2\pi \left\{ (J + D) I_{1z}'(t) I_{2z}'(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) I_{1x}'(t) I_{2x}'(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) I_{1y}'(t) I_{2y}'(t) \right\} \\ &= 2\pi I_1 C^{(12)'}(t) I_2. \end{aligned} \quad [8]$$

Darin ist $C^{(12)'}(t)$ der zeitabhängige Kopplungstensor, für dessen Elemente gilt:

$$C_{\alpha\beta}^{(12)'} = (J + D) a_{z\alpha}^{(1)}(t) a_{z\beta}^{(2)}(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) a_{x\alpha}^{(1)}(t) a_{x\beta}^{(2)}(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) a_{y\alpha}^{(1)}(t) a_{y\beta}^{(2)}(t) \quad [9]$$

mit $\alpha, \beta = x, y$ oder z . Die Elemente $\bar{C}_{\alpha\beta}^{(12)}$ des entsprechenden gemittelten Kopplungstensors \bar{C} sind damit gegeben durch (3, 46)

$$\bar{C}_{\alpha\beta}^{(12)} = \frac{1}{\tau_c} \int_0^{\tau_c} \left((J + D) a_{z\alpha}^{(1)}(t) a_{z\beta}^{(2)}(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) a_{x\alpha}^{(1)}(t) a_{x\beta}^{(2)}(t) + \left(J - \frac{D}{2} \right) a_{y\alpha}^{(1)}(t) a_{y\beta}^{(2)}(t) \right) dt. \quad [10]$$

Für Offsets, die klein sind im Vergleich mit dem RF-Feld, kann die Analyse beträchtlich vereinfacht werden. In diesem Grenzfall sind alle Rotationen unselektiv und lassen den isotropen Kopplungsterm \mathcal{H}_J invariant (3), d. h. $\overline{\mathcal{H}}_J = \mathcal{H}_J$. Somit wird im gemittelten Hamilton-Operator nur der dipolare Kopplungsterm modifiziert, wobei aber in vielen Fällen von praktischem Interesse die Form des gemittelten dipolaren Kopplungstensors bis auf eine Skalierung der gemittelten dipolaren Kopplungskonstante \overline{D} und eine Umbenennung der Koordinatenachsen erhalten bleibt:

$$\overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi \overline{D} \left(I_{1z'} I_{2z'} - \frac{1}{2} I_{1x'} I_{2x'} - \frac{1}{2} I_{1y'} I_{2y'} \right). \quad [11]$$

So ist zum Beispiel für DIPSI-2 (29) $\overline{\mathcal{H}}_D \approx 2\pi D \left(-1/2 I_{1x} I_{2x} + 1/4 I_{1y} I_{2y} + 1/4 I_{1z} I_{2z} \right)$ (49), was mit $\overline{D} = -D/2$ und der Hauptachse $z' = x$ in Form von Glg. [11] ausgedrückt werden kann. In Tabelle 1 sind die dipolaren Skalierungsfaktoren

$$s_D = \overline{D} / D \quad [12]$$

und die Hauptachsen z' für die Mischsequenzen DIPSI-2 (29), MOCCA-XY16 (15), Clean

Tabelle1: Maximaler dipolarer Skalierungsfaktor s_D im Resonanzfall, Nullstellen $(D/J)_{p,L}^0$ und Hauptachsen z' des effektiven dipolaren Kopplungstensors für charakteristische Hartmann-Hahn-artige Mischsequenzen.

Sequenz	s_D	$(D/J)_p^0$	$(D/J)_L^0$	z'
CW-Einstrahlung (DIPSI-2)	-0.5	-4	2	x
MOCCA-XY16, MOCCA-M16	1	2	-1	z
Clean MLEV-17	0.5	4	-2	y
MLEV-16, MLEV-17	0.25	8	-4	y

Es wird von den folgenden Mischsequenzen (und Standard-Phasen) ausgegangen: DIPSI-2 (mit den Phasen x, -x, -x, x) (29), MOCCA-XY16 (15), MOCCA-M16 (15), Clean MLEV-17 (63), MLEV-16 (30), and MLEV-17 (worin der *Composite*-180°-Puls durch 90°_x , 180°_y , 90°_x gegeben ist und der „17te“ Puls einem 60°_y -Puls entspricht) (64).

MLEV-17 (63), MLEV-16 (30) und MLEV-17 (64) zusammengefaßt. Im Grenzfall harter Pulse erzeugt auch die MOCCA-M16 Sequenz (15) einen gemittelten dipolaren Kopplungstensor der Form von Glg. [11], mit demselben dipolaren Skalierungsfaktor $s_D = 1$ und demselben Hauptachsen-System wie die MOCCA-XY16-Sequenz. Man beachte, daß die dipolaren Skalierungsfaktoren der MOCCA-Sequenzen bis zu einem Faktor von vier größer sind als die gebräuchlicher TOCSY-Mischsequenzen wie MLEV-17, resultierend in einem entsprechenden Anstieg der Transfargeschwindigkeit für rein dipolaren Transfer. Interessant ist zudem, daß der dipolare Skalierungsfaktor von Clean MLEV-17 um einen Faktor von zwei größer ist als der von MLEV-17 (siehe hierzu Kapitel 7).

Falls sowohl skalare als auch dipolare Kopplungen vorhanden sind, hat der effektive Kopplungsterm nullter Ordnung die Form

$$\bar{\mathcal{H}}_C = \bar{\mathcal{H}}_J + \bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi \left\{ C^L I_{1z'} I_{2z'} + C^P (I_{1x'} I_{2x'} + I_{1y'} I_{2y'}) \right\} \quad [13]$$

mit der effektiven longitudinalen Kopplungskonstante

$$C^L = J + \bar{D} = J + s_D \cdot D \quad [14]$$

und der effektiven transversalen Kopplungskonstante

$$C^P = J - \frac{1}{2} \bar{D} = J - s_D \cdot D / 2. \quad [15]$$

Der effektive Kopplungsterm von Glg. [13] entspricht formal einem Hamilton-Operator des zylindrischen Mischens (65, 66).

Der Kohärenz- und Polarisationstransfer im Hauptachsensystem des effektiven Kopplungstensors kann mit Hilfe der Transferfunktionen

$$T_{\alpha'} = \frac{\text{Tr}\{e^{-i\bar{\mathcal{H}}_C \tau} I_{1\alpha} e^{i\bar{\mathcal{H}}_C \tau} I_{2\alpha'}\}}{\text{Tr}\{I_{2\alpha'} I_{2\alpha'}\}} \quad [16]$$

(3) beschrieben werden (mit $\alpha = x, y$ oder z). Für zwei gekoppelte Spins sind die longitudinalen und transversalen Transferfunktionen T_z und $T_{x'} = T_{y'}$ unter zylindrischen Mischbedingungen gegeben durch (3, 65, 66)

$$T_z = \sin^2(\pi C^P \tau) \quad [17]$$

und

$$T_{x'} = T_{y'} = \sin(\pi C^P \tau) \sin(\pi C^L \tau) . \quad [18]$$

Sowohl die longitudinalen als auch die transversalen Transferfunktionen verschwinden für $C^P = 0$, was einem Verhältnis von residualer dipolarer zu skalarer Kopplungskonstante

$$(D/J)_p^0 = 2/s_D \quad [19]$$

entspricht. Die transversalen Transferfunktionen verschwinden ebenfalls für $C^P = 0$ und zusätzlich für $C^L = 0$, was gegeben ist für

$$(D/J)_L^0 = -1/s_D . \quad [20]$$

Die Verhältnisse $(D/J)_p^0$ und $(D/J)_L^0$ sind in Tabelle 1 für den Fall kontinuierlicher Radiofrequenzeinstrahlung bzw. DIPSI-2, MOCCA-XY16, MOCCA-M16, Clean MLEV-17, MLEV-16 und MLEV-17 zusammengefaßt.

Die Transfereffizienz hängt von der Transferamplitude ebenso ab wie von der Transferzeit. In der Praxis werden Transferfunktionen durch Relaxation gedämpft. Wir verwenden hier folgende Definition der Transfereffizienz η :

$$\eta_\alpha = \max_{\tau > 0} \left\{ |T_\alpha(\tau)| \exp(-\tau / \tau_{damp}) \right\} . \quad [21]$$

Für die folgenden Berechnungen wurde die Zeitkonstante τ_{damp} des exponentiellen Dämpfungsfaktors zur Vereinfachung (3, 67) festgelegt als

$$\tau_{damp} = 1/|J|. \quad [22]$$

Dabei ist zu berücksichtigen, daß sich die Situation in der Praxis komplizierter darstellt und für einen detaillierten Vergleich von Pulssequenzen effektive Relaxationsraten (3) mit in Betracht gezogen werden müssen.

Abbildung 1 zeigt die gedämpften longitudinalen und transversalen Transferfunktionen T_z und T_x , als Funktion von D/J für in Tabelle 1 aufgelistete charakteristische Mischsequenzen. Zum Vergleich betrachten wir auch Transferfunktionen für einen COSY-artigen Mischungsschritt, basierend auf einer aus harten Pulsen und Delays bestehenden Sequenz. Solche Experimente können im allgemeinen im Grenzfall der schwachen Kopplung beschrieben werden, in dem sich der Kopplungsterm $\mathcal{H}_C = \mathcal{H}_J + \mathcal{H}_D$ vereinfacht zu

$$\mathcal{H}_C^{weak} = 2\pi(J + D)I_{1z}I_{2z}. \quad [23]$$

Bei derartigen Experimenten verschwindet die Kopplung daher vollständig für $J + D = 0$, entsprechend einem Verhältnis

$$(D/J)_L^{0, COSY} = -1 \quad [24]$$

bei dem kein COSY-artiger Transfer möglich ist.

Obwohl in COSY-Experimenten der tatsächliche Transfermechanismus auf der Konvertierung von Anti-Phase- in Anti-Phase-Operatoren beruht, ist die angeregte Magnetisierung In-Phase und auch nur In-Phase-Magnetisierung ist direkt meßbar. Aus diesem Grund betrachten wir zum Vergleich (als ein Beispiel für In-Phase-Transfer basierend auf Sequenzen aus harten Pulsen und Delays) die Pulssequenz

$$(\tau/4) - (\pi)_x - (\tau/4) - (\pi/2)_x - (\tau/4) - (\pi)_x - (\tau/4). \quad [25]$$

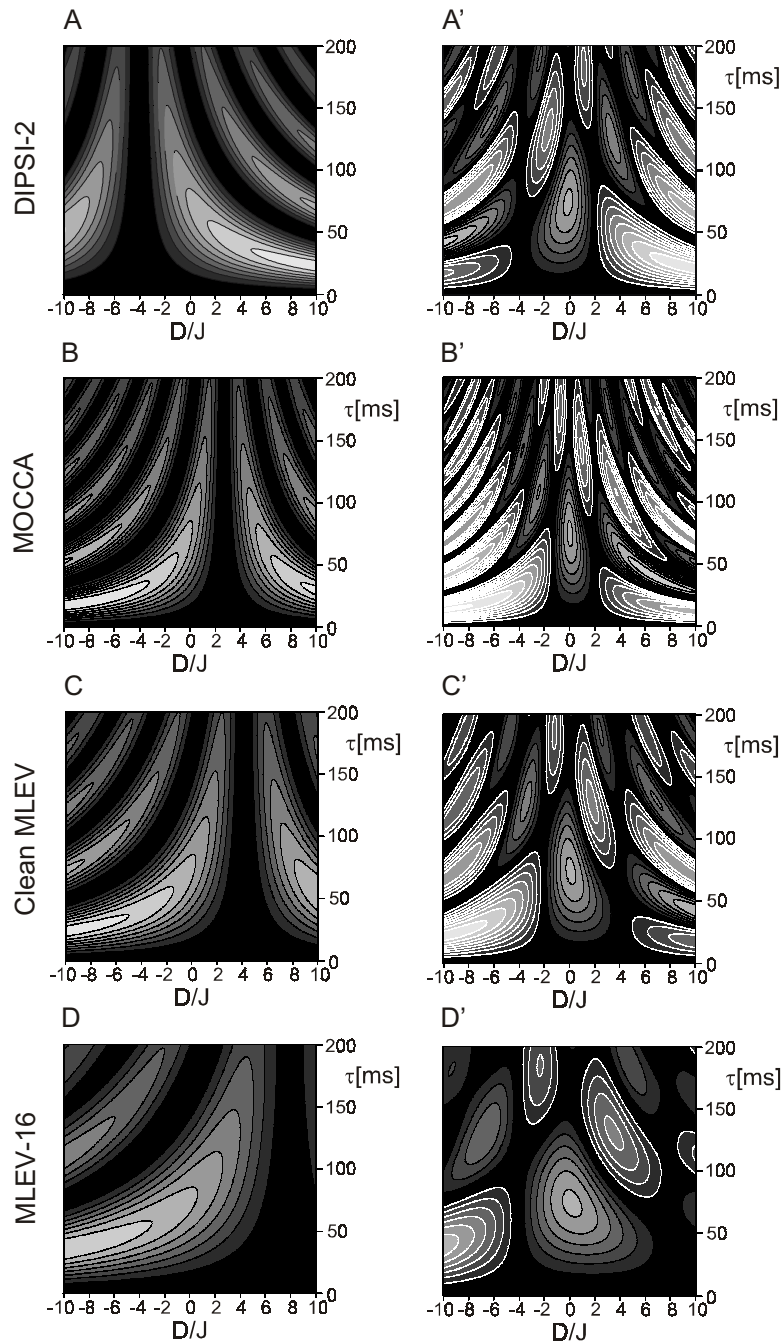


Abbildung 1: Gedämpfte longitudinale (A-D) und transversale (A'-D') Transferfunktionen T_z bzw. T_x als Funktion von D/J für die Hartmann-Hahn-artigen Mischsequenzen DIPSI-2 (A, A'), MOCCA-XY16 (B) bzw. MOCCA-M16 (B'), Clean MLEV-17 (C) bzw. Clean MLEV-16 (C') und MLEV-16 (D, D') (siehe Tabelle 1). Die Transferfunktionen wurden mittels des Programms SIMONE (56) simuliert, wobei die Effekte der RF-Inhomogenität über eine Gaußsche RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10% einbezogen wurden. Die skalare Kopplungskonstante J betrug 6 Hz. Alle simulierten Transferfunktionen wurden mit der Dämpfungsfunktion $e^{-\tau/\tau_{damp}}$ ($\tau_{damp} = 1/J = 166$ ms) multipliziert (siehe Glg. [25]). Schwarze und weiße Linien repräsentieren positive bzw. negative Konturlinien. Konturlinien werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Absolutbetrag der Transferamplitude $|T_\alpha|$ sind im gleichen Grauton eingefärbt (z. B. schwarz für $|T_\alpha| \leq 0.1$).

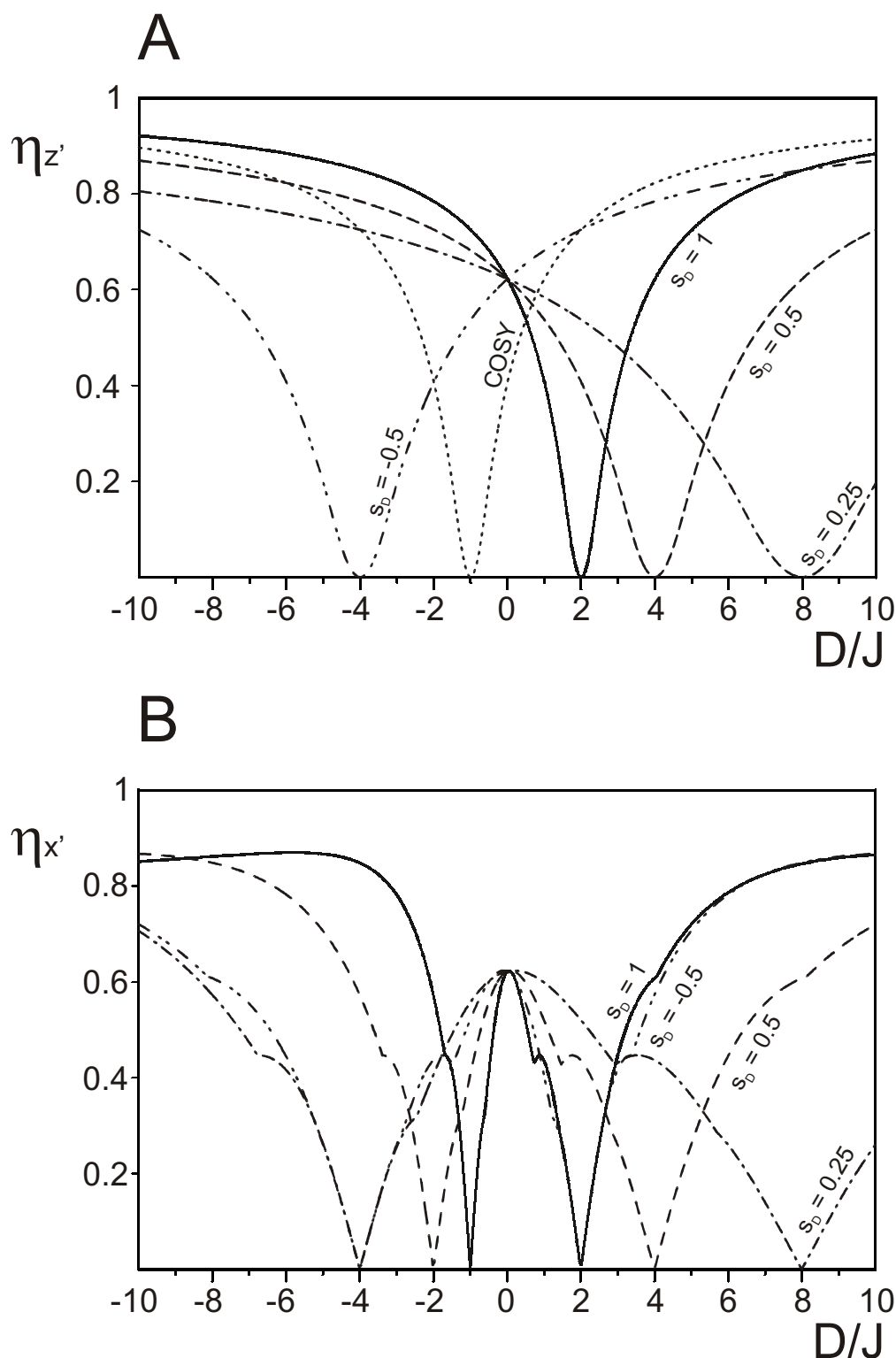


Abbildung 2: Transfereffizienz $\eta_{\alpha'}^{inh}$ (siehe Glg. [21]) von (A) Polarisations- (z') und (B) Kohärenztransfer (x') für theoretische Hartmann-Hahn-Transferfunktionen (Glg. [17] bzw. [18]) mit unterschiedlichen dipolaren Skalierungsfaktoren s_D : -0.5 (---), 0.25 (- · - · -), 0.5 (---) und 1 (—) (siehe Tabelle 1). In (A) wird zusätzlich die theoretische Transfereffizienz COSY-artiger Experimente (- · - · -) gezeigt, basierend auf der unter Glg. [26] angegebenen analytischen Transferfunktion T_x^{COSY} .

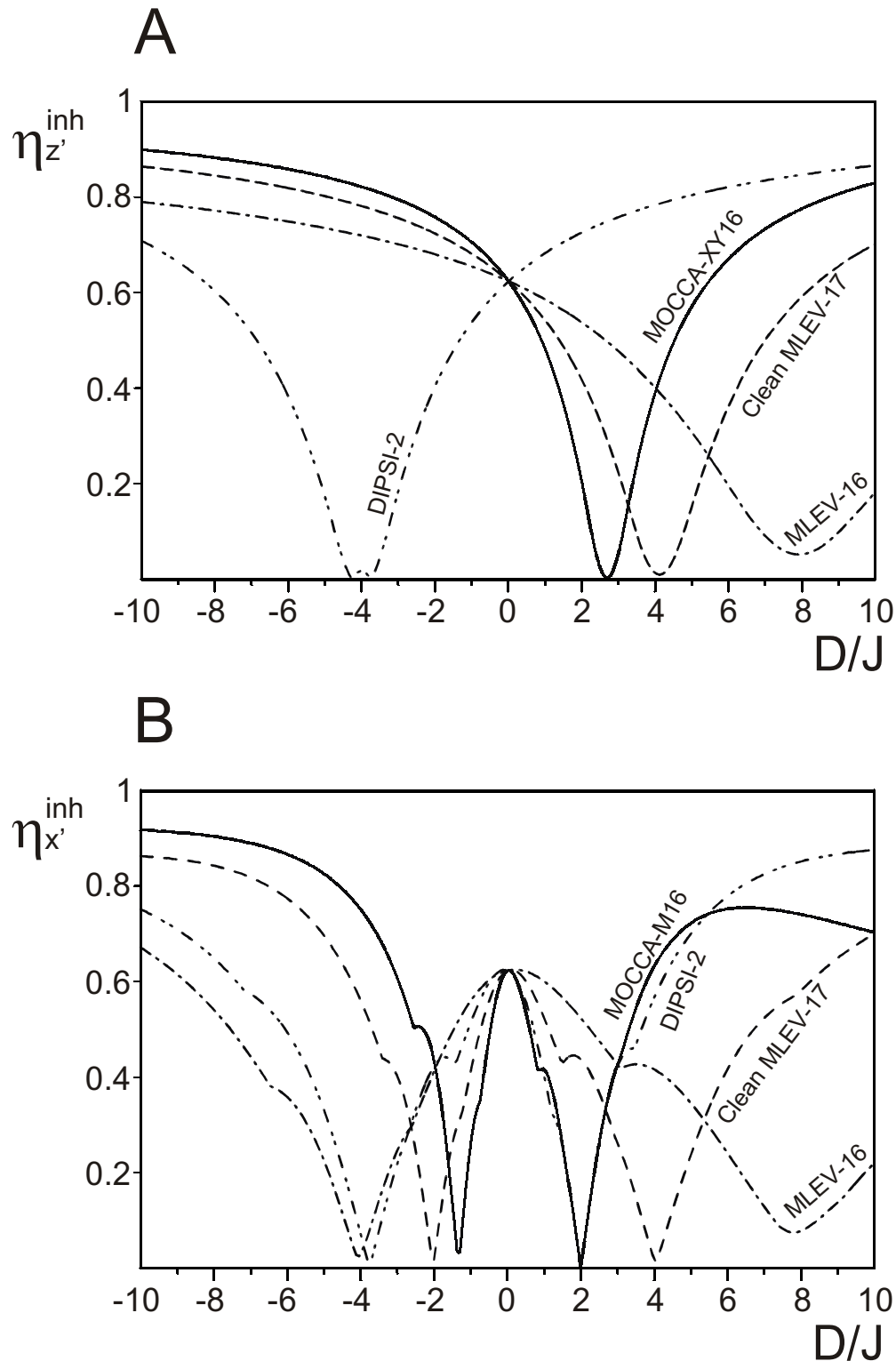


Abbildung 3: Transfereffizienz $\eta_{\alpha'}^{inh}$ (siehe Glg. [21]) von (A) Polarisations- (z') und (B) Kohärenztransfer (x') unter den folgenden Hartmann-Hahn-artigen Mischsequenzen: DIPSI-2 (---), MOCCA-XY16 (A) bzw. MOCCA-M16 (B) (—), Clean MLEV (—) und MLEV-16 (— · —) (siehe Tabelle 1). Die Transfereffizienz $\eta_{\alpha'}^{inh}$ (Glg. [21]) wurde basierend auf den in Abb. 1 gezeigten, simulierten Transferfunktionen bestimmt. Alle Pulssequenzen wurden auf eine mittlere RF-Leistung $v_{rf}^{rms} = 10$ kHz normiert.

Diese Sequenz stellt eine homonukleare Version des refokussierten INEPT-Transfers dar (68) und weist die folgende Gesamttransferfunktion für den Transfer von x-Magnetisierung auf:

$$T_x^{COSY} = \sin^2(\pi(J + D)\tau / 2). \quad [26]$$

Die theoretische Transfereffizienz von longitudinalem (z') Hartmann-Hahn-Transfer und transversalem (x) COSY-artigem Transfer ist in Abb. 2 A dargestellt, die theoretische Transfereffizienz des transversalen (x') Hartmann-Hahn-Transfers findet sich in Abb. 2 B. Simulationen unter Berücksichtigung von B1-Inhomogenität für Hartmann-Hahn-Sequenzen mit dipolaren Skalierungsfaktoren entsprechend den in Abb. 2 gezeigten analytischen Funktionen, finden sich für longitudinalen (z') und transversalen (x') Hartmann-Hahn-Transfer in Abb. 3 A bzw. B. Die Übereinstimmung zwischen der theoretischen Transfereffizienz-Funktion für einen gegebenen dipolaren Skalierungsfaktor s_D (Abb. 2) und der für die Hartmann-Hahn-Sequenz mit dem entsprechenden dipolaren Skalierungsfaktor (s. Tab. 1) simulierten Transfereffizienz-Funktion (Abb. 3), ist in der Regel gut. Abweichungen ergeben sich zum Teil bei der Lage der Minima, was in Hinblick auf die Transfereffizienzen der MOCCA-Sequenzen damit erklärt werden kann, daß deren (basierend auf der Transferzeit berechneter) dipolarer Skalierungsfaktor s'_D (s. Kapitel 4) für die Simulationen bei 0.74 (MOCCA-XY16 mit $\Delta/d = 2.16$) bzw. 0.78 (MOCCA-XY16 mit $\Delta/d = 2.25$) statt 1 lag. Wie für $D/J = 0$ erwartet, weisen alle Hartmann-Hahn-Experimente nahezu identische Transferfunktionen und damit auch identische Transfereffizienzen η auf, entsprechend dem Fall des isotropen Mischens. Im Falle von $D/J \neq 0$ stellt man allerdings für die verschiedenen Mischsequenzen deutlich unterschiedliche Transfereffizienzen fest. Die Transfereffizienz jeder Sequenz besitzt zumindest eine Nullstelle, so daß keines der Experimente für alle Verhältnisse D/J effizienten Transfer ergibt. Die Minima der Transfereffizienzen η als eine Funktion von D/J sind in Näherung durch die Gleichungen [19], [20] und [24] gegeben. Zumindest zwei Experimente (z. B. ein longitudinales MOCCA-artiges und ein COSY-artiges Experiment) sind notwendig, um effizienten Polarisationstransfer für alle möglichen Verhältnisse D/J zu gewährleisten. Da der transversale Hartmann-Hahn-artige Transfer nicht nur eine, sondern zwei Nullstellen aufweist (siehe Abb. 2 B bzw. 3 B und Glg. [19], [20]), ist der Transfer von x' oder y' Kohärenz ungünstig, falls die relative Größe von D und J in einer gegebenen Anwendung variiert, was zum Beispiel bei $H_N - H_\alpha$ Korrelationen in Peptiden und Proteinen der Fall ist (69).

5.2 Experimentelles

Um die theoretischen Voraussagen zu überprüfen, wurden experimentelle Kohärenz- und Polarisationstransferfunktionen zwischen H5 und H6 von Cytosin in isotropen und anisotropen Lösungen aufgenommen.

Für die Herstellung der anisotropen Lösungen fanden kommerziell erhältliche Phagen (PF1-LP11-92, ASLA Ltd., Lettland) Verwendung. Insgesamt wurden vier Proben mit Phagenkonzentrationen zwischen 0 und 50 mg/ml hergestellt. Die unterschiedlichen Probeneigenschaften (pH) und die residuale quadrupolare Aufspaltung des D_2O -Signals sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Zusätzlich finden sich dort die experimentell bestimmten isotropen (J) und dipolaren (D) Kopplungskonstanten, die beobachteten Dublett-Aufspaltungen ($J+D$) und die

Tabelle 2: Experimentelle Parameter der hergestellten Cytosin-Proben.

Probe	Phagenkonz. [mg/ml]	pH	$Q(D_2O)$ [Hz]	J [Hz]	D [Hz]	$J+D$ [Hz]	D/J [Hz]
1	-	14	0	6.0	0	6.0	0
2	~5	6.5	7.9	7.2	-6.4	0.8	-0.89
3	~20	7	30.4	7.2	-23.7	-16.5	-3.29
4	~45	7.5	60.1	7.2	-44.7	-37.5	-6.21

Für die Proben 2 bis 4 wurde J in isotroper Lösung bei dem jeweiligen pH bestimmt.

Verhältnisse D/J . Das experimentell beobachtete Dublett der H6-Resonanz, mit der Aufspaltung $J+D$, ist in Abb. 4 für alle vier Proben dargestellt.

In den Abbildungen 5 und 6 werden experimentelle longitudinale und transversale Transferfunktionen für den Transfer zwischen H5 und H6 von Cytosin für DIPSI-2 (29), MOCCA-XY16 (15), MOCCA-M16 (15), Clean MLEV-17 (63), MLEV-16 (30) und MLEV-17 (64) gezeigt. In der Präparationszeit dieser Experimente wurde die H6-Resonanz selektiv durch CW-Einstrahlung gesättigt und eine Serie eindimensionaler Experimente mit Hartmann-Hahn-Mischperioden τ zwischen 0 und 200 ms aufgezeichnet (47). In Abb. 5 und 6 werden die experimentellen Transferfunktionen durch schwarze Punkte repräsentiert, die der integrierten Intensität des H6-Signals als Funktion der Mischzeit τ entsprechen. Zum Vergleich werden in Abb. 5 und 6 auch die simulierten Transfer-Funktionen gezeigt (durchgezogene

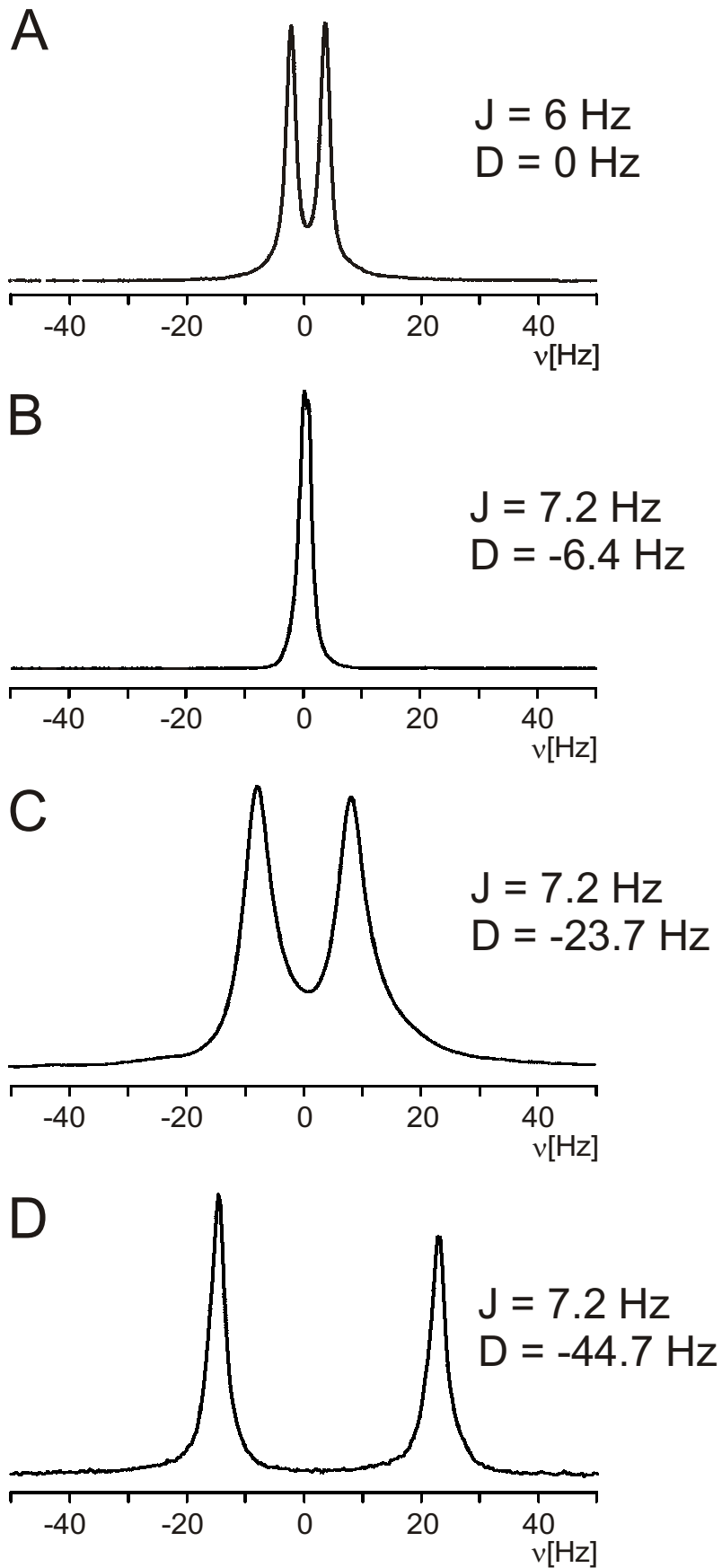


Abbildung 4: H6-Resonanz von Cytosin für die vier Probenansätze (siehe Tabelle 2) mit Dublett-Aufspaltungen von (A) $J+D = 6 \text{ Hz}$, (B) $J+D = 0.8 \text{ Hz}$ (nicht aufgelöst), (C) $J+D = -16.5 \text{ Hz}$ und (D) $J+D = -44.7 \text{ Hz}$.

Linien). Diese Simulationen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt. In den Simulationen wurden die experimentell bestimmten Kopplungskonstanten, Offsets ($\nu_1 = 460$ Hz und $\nu_2 = -460$ Hz für die anisotropen Proben nahe pH 7, $\nu_1 = 560$ Hz und $\nu_2 = -560$ Hz für die isotrope Probe nahe pH 14) ebenso wie die Parameter der experimentellen Mischsequenzen (siehe Tabelle 3) mit annähernd identischer RF-Leistung (entsprechend der Wurzel aus dem quadratischen Mittel der RF-Amplitude $\nu_{rf}^{rms} \approx 5$ kHz) berücksichtigt. Ebenfalls einbezogen wurden die Effekte der B1-Inhomogenität unter der Annahme einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % (3). Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen den experimentellen und simulierten Transferfunktionen. Die verbleibenden Abweichungen sind im wesentlichen auf eine inhomogene Verteilung der residualen dipolaren Kopplungen in der Probe zurückzuführen.

Die experimentellen und simulierten Transferfunktionen stimmen auch gut mit den Resultaten der vereinfachten theoretischen Analyse in Abschnitt 5.1 überein, bei der davon ausgegangen wurde, daß beide Spins *on resonance* sind. Wie für Probe 1 (Abb. 5 A-D und 6 A-C) mit $D = 0$ bzw. $C^P = C^L = J$ und $T_{x'} = T_{y'} = T_{z'}$ (siehe Glg. [17] und [18]) erwartet, sind

Tabelle 3: Experimentelle Pulssequenz-Parameter.

Sequenz	ν_{rf} [kHz]	τ_{180° [μs]	Δ [μs]	ν_{rf}^{rms} [kHz]
DIPSI-2	5	100	-	5
MOCCA-XY16, MOCCA-M16	15.2	33	264	5.1
Clean MLEV-17	7.1	70.71	35.36	5.8
MLEV-16, MLEV-17	5	100	-	5

nahezu alle Kurven identisch. Der optimale Transfer tritt in diesem Fall nahe $1/(2J) \approx 80$ ms auf. Für orientierte Proben mit $D \neq 0$, hängen die Transferfunktionen dagegen stark von der Größe der residualen dipolaren Kopplungskonstante D , der Mischsequenz und der Art des Transfers (longitudinal oder transversal) ab. Wie erwartet (siehe Glg. [17]) sind die in Abb. 5 dargestellten simulierten und experimentellen longitudinalen Transferfunktionen $T_{z'}$, alle positiv und weisen das erste Maximum in der Nähe von $|1/(2C^P)| = |1/(2J - s_D D)|$ auf (siehe Glg. [15]). Basierend auf Abb. 1 A – D und Abb. 2 A bzw. 3 A wird der effizienteste

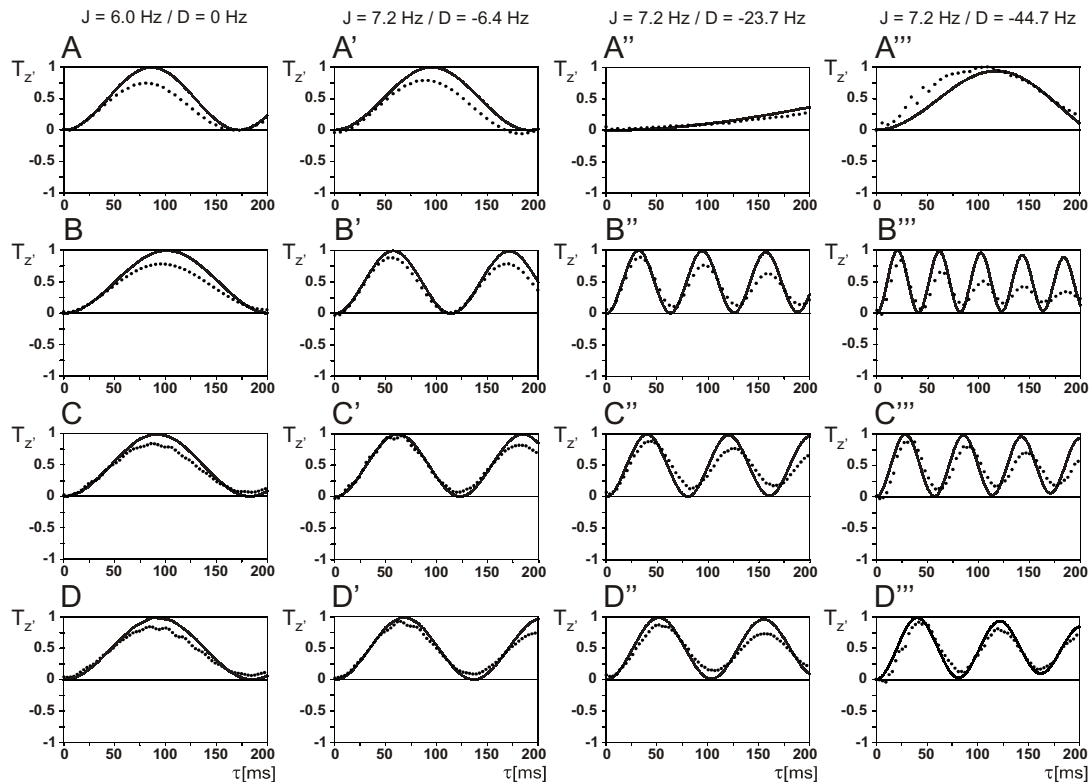


Abbildung 5: Simulierte (—) und experimentelle (•) longitudinale Transferfunktionen $T_{z'}$ für DIPSI-2 (A-A'''), MOCCA-XY16 (B-B'''), Clean MLEV-17 (C-C''') und MLEV-17 (D-D''') im Falle von z' -Transfer zwischen H5 und H6 von Cytosin (für experimentelle Details siehe Text und Tabelle 3). Die Reihen (A-D), (A'-D'), (A'' - D'') und (A''' - D''') entsprechen den Werten von J und D in den Proben 1, 2, 3 und 4 (siehe Tabelle 2).

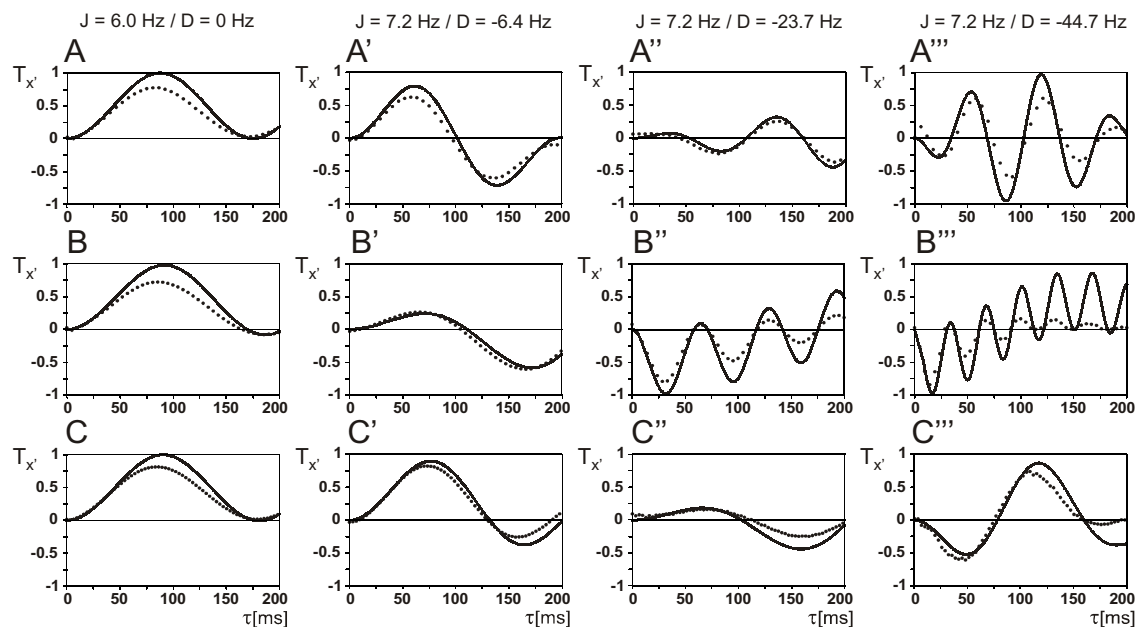


Abbildung 6: Simulierte (—) und experimentelle (•) transversale Transferfunktionen $T_{x'}$ für DIPSI-2 (A-A'''), MOCCA-M16 (B-B''') und MLEV-16 (C-C''') im Falle von x' -Transfer zwischen H5 und H6 von Cytosin (für experimentelle Details siehe Text und Tabelle 3). Die Reihen (A-D), (A'-D'), (A'' - D'') und (A''' - D''') entsprechen den Werten von J und D in den Proben 1, 2, 3 und 4 (siehe Tabelle 2).

Polarisationstransfer bei den orientierten Cytosin-Proben mit $D/J < 0$ für die MOCCA-XY16-Sequenz (Abb. 5 B' - B''') erwartet, gefolgt von Clean MLEV-17 (Abb. 5 C'-C'''), MLEV-17 (Abb. 5 D'-D''') und DIPSI-2 (Abb. 5 A'-A'''). Wie in Abb. 5 B''' zu sehen ist, ermöglicht die MOCCA-XY16-Sequenz tatsächlich den schnellsten longitudinalen Transfer, dessen erstes Maximum man für $J = 7.2$ Hz, $D = -44.7$ Hz (siehe Tabelle 2, Probe 4) und einen idealen Skalierungsfaktor $s_D = 1$ (s. Tabelle 1) nach einer Mischzeit von $\tau = \left|1/(2C^P)\right| = 17$ ms erwarten würde. Im Falle eines realistischen, den experimentellen Pulssequenz-Parametern (siehe Tabelle 3) und Offsets entsprechenden Skalierungsfaktors (15) $s_D \approx 0.8$, erwartet man kompletten Transfer nach $\tau = \left|1/(2C^P)\right| \approx 20$ ms, was den aus den experimentellen und simulierten Transferfunktionen von Abb. 5B''' abgeleiteten Ergebnissen sehr nahe kommt. Zu beachten ist, daß im Falle der DIPSI-2-Sequenz mit $s_D \approx -0.5$ (siehe Tabelle 1) und dem ersten Maximum nach $\left|1/(2C^P)\right| = 125$ ms, die Transferzeit für dieselbe Probe (Probe 4) mehr als das Sechsfache beträgt (siehe Abb. 5A'''). Wie aus Abb. 5 hervorgeht, wird der ineffizienteste Polarisationsstransfer durch die DIPSI-2-Sequenz in Probe 3 bewirkt, wo mit $J = 7.2$ Hz, $D = -23.7$ Hz (siehe Tabelle 2) und $s_D = -0.5$ das erste Maximum der Transferfunktion erst bei einer Mischzeit von $\tau = \left|1/(2C^P)\right| \approx 400$ ms erwartet wird. Auch dies ist in völliger Übereinstimmung mit den theoretischen Vorhersagen von Abb. 1 A-D und Abb. 2 bzw. 3, da das Probe 3 entsprechende Verhältnis $D/J = -3.29$ nahe an der Nullstelle $(D/J)_P^0 = -4$ des DIPSI-2-Polarisationstransfers (siehe Tabelle 1) liegt. Im Falle von transversalem Transfer (Abb. 6) können die Transferfunktionen T_x , (siehe Glg. [18]) positiv oder negativ sein. Zusätzlich zu den Nullstellen der Sequenzen bei $(D/J)_P^0$, verschwindet der transversale Transfer auch bei $(D/J)_L^0$. So liegt zum Beispiel für Probe 3 das Verhältnis $D/J = -3.29$ nicht nur nahe an $(D/J)_{P, \text{DIPSI-2}}^0 = -4$, sondern auch an $(D/J)_{L, \text{MLEV-16}}^0 = -4$, resultierend in einer schlechten Transfereffizienz in Abb. 6 A'' und 6 C''. Analog dazu liegt im Falle von Probe 2 das Verhältnis $D/J = -0.89$ nahe bei $(D/J)_{L, \text{MOCCA-M16}}^0 = -1$, was ausschlaggebend ist für die geringe Transfereffizienz in Abb. 6 B'. Wie ebenfalls aus den Resultaten von Abb. 1 A'-D' und Abb. 2 B bzw. 3 B hervorgeht, tritt der effizienteste Transfer in Probe 4 unter der MOCCA-M16 Sequenz auf, wo man nahezu kompletten Transfer (mit invertiertem Vorzeichen) bei einer Mischzeit von nur 15 ms findet (siehe Abb. 6B''').

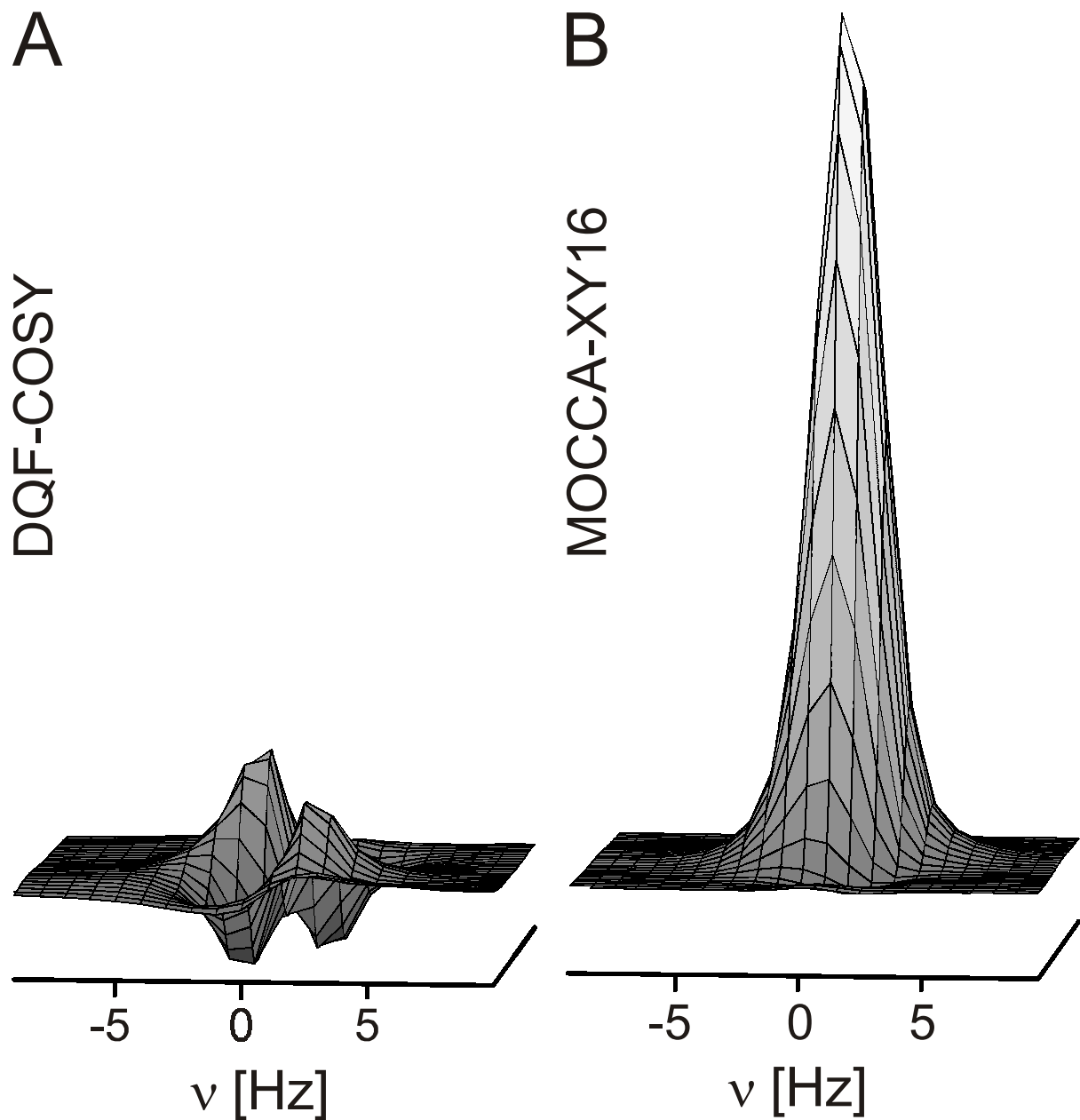


Abbildung 7: Vergleich der H5-H6 Kreuzpeak-Intensitäten in zweidimensionalen DQF-COSY- (A) und MOCCA-XY16- (B) Spektren von Cytosin (Probe 2, siehe Tabelle 2) mit $J = 7.2$ Hz und $D = -6.4$ Hz, wobei die Dublett-Aufspaltung $J+D = 0.8$ Hz im Inphase-Multiplett nicht aufgelöst ist (siehe Abb. 4B). Die Mischzeit der MOCCA-XY16-Sequenz war $\tau = 55$ ms.

Um die komplementären Transfereigenschaften von COSY- und TOCSY-artigen Experimenten (siehe Abb. 2 A bzw. 3 A) zu demonstrieren, wurden für Probe 2 mit $D \approx -J$ (siehe Tabelle 2) zweidimensionale Spektren aufgenommen. Die Aufspaltung $J+D = 0.8$ Hertz ist kleiner als die Linienbreite und resultiert, aufgrund der gegenseitigen Auslöschung der Antiphase-Komponenten des Kreuzpeak-Multipletts, in DQF-COSY-Kreuzpeaks mit niedrigen Amplituden (siehe Abb. 7A). Dagegen ist mit MOCCA-artigen Experimenten auch dann effizienter Polarisationstransfer möglich, wenn die Dublett-Aufspaltung nicht aufgelöst ist, da hier der vollständige mittlere Kopplungsterm $\overline{\mathcal{H}}_C$ (Glg. [13]) aktiv ist. Abb. 7B zeigt den entsprechenden Kreuzpeak für ein Hartmann-Hahn-artiges Experiment mit einer MOCCA-XY16-Mischsequenz, für das man optimalen Polarisationstransfer bei einer Mischzeit von $\tau = 55$ ms findet (siehe Abb. 5 B'). Wie gemäß Abb. 2 A erwartet, erzielt man für $D/J \approx (D/J)_{L,COSY}^0 = -1$ (siehe Glg. [24]) und $\overline{\mathcal{H}}_C^{weak} = 0$ (Glg. [23]) einen großen Gewinn an Kreuzpeak-Amplitude bei Verwendung des MOCCA-XY-Experimentes anstelle von COSY-artigen Experimenten. Umgekehrt würden COSY-artige Experimente verglichen mit MOCCA-artigen Experimenten signifikant intensivere Kreuzpeaks aufweisen, wenn $D/J \approx (D/J)_{P,MOCCA}^0 = 2/s_D \approx 2$ ist (siehe Glg. [15]) und die effektive planare Kopplungskonstante C^P (siehe Glg. [15]) verschwindet. Allerdings waren mit den präparierten Cytosin-Proben nur negative D/J -Verhältnisse zugänglich (siehe Tabelle 1).

5.3 Schlußfolgerung

Die in diesem Kapitel vorgestellten theoretischen Resultate bilden die Grundlage für eine rationale Wahl der Mischsequenz bei zweidimensionalen Korrelationsexperimenten von Spins, die sowohl durch skalare als auch dipolare Kopplungen miteinander verbunden sind. Für alle Experimente ist die Transfereffizienz für zumindest ein D/J -Verhältnis null. Im Falle von Hartmann-Hahn-artigen Experimenten findet man für den Transfer von Polarisation (z'-Magnetisierung, siehe Tabelle 1) nur eine einzige solche Nullstelle, wohingegen für den Transfer von Kohärenz (x'- und y'-Magnetisierung) deren zwei existieren. In dieser Hinsicht ist daher der Transfer von Polarisation dem Transfer von Kohärenz vorzuziehen. Die Position der Nullstellen, d. h. der Verhältnisse D/J , für die die Effizienz des Kohärenz- bzw. Polarisations-

tionstransfers null ist, hängt ab vom dipolaren Skalierungsfaktor s_D (siehe Glg. [19] und [20]) und damit von der Mischsequenz (siehe Tabelle 1).

Im Falle von Experimenten, bei denen die relative Größe von D und J variiert, wie zum Beispiel bei H_N - H_α Korrelationen (69), sollten zwei komplementäre Experimente aufgenommen werden, um effizienten Transfer für alle möglichen Verhältnisse D/J (siehe Abb. 2 A bzw. 3 A) zu gewährleisten. Ein MOCCA-artiges Hartmann-Hahn-Experiment und ein COSY-artiges Experiment stellen eine ideale Kombination mit komplementären Nullstellen und vorteilhaften Transfercharakteristika (siehe Abb. 2 und 3) dar. Es ist zudem wichtig festzuhalten, daß Kohärenz- und Polarisationstransferfunktionen sensitiv bezüglich des relativen Vorzeichens von J und D sind (siehe z. B. Abb. 1), was in Hinblick auf einen neuen Ansatz zur Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungskonstanten in Kapitel 6 näher untersucht wird. Für homonukleare Kopplungsnetzwerke bestehend aus mehr als zwei Spins, sind die Transferfunktionen komplizierter. Allerdings sind beispielsweise für den Fall dreier gekoppelter Spins $\frac{1}{2}$ und zylindrischer Mischverhältnisse analytische longitudinale und transversale Transferfunktionen bekannt (65). Diese analytischen Transferfunktionen sind direkt anwendbar, wenn für eine gegebene Multipuls-Sequenz die Hauptachse z' (siehe Tabelle 1) des effektiven Kopplungstensors und die effektiven longitudinalen und planaren Kopplungskonstanten $C^L = J + s_D D$ und $C^P = J - s_D D/2$ (Glg. [14] bzw. [15]) berücksichtigt werden. Auch wenn kompliziertere Kopplungs-Netzwerke vorliegen, ist es oftmals möglich, sich durch Verwendung selektiver Hartmann-Hahn-Experimente (TACSY-Experimente, siehe Kapitel 9) an die einfachen und effizienten Transferdynamiken isolierter Zweispin-Systeme anzunähern (3, 19).

Kapitel 6

Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen in der Gegenwart skalarer Kopplungen durch Ausnutzung der charakteristischen Kohärenz- und Polarisationsstufeneigenschaften von TOCSY-Sequenzen

Wie schon in Kapitel 5 angedeutet, sind die für die jeweilige TOCSY-Sequenz charakteristischen Kohärenz- und Polarisationsstufeneigenschaften sensitiv bezüglich des relativen Vorzeichens von J und D (16). Experimentelle Ergebnisse zeigen, daß dieses Verhalten prinzipiell genutzt werden kann, um das Vorzeichen residueller dipolarer Kopplungen in Gegenwart skalarer Kopplungen zu bestimmen. Einschränkungen können sich in Hinblick auf die Größe des jeweiligen Moleküls und die Größe der untersuchten Spinsysteme ergeben.

6.1 Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen mittels 1D-Experimenten

6.1.1 Theorie / Numerik

Wir betrachten ein sowohl dipolar als auch skalar gekoppeltes 2-Spin-System, auf das eine TOCSY-Sequenz angewendet wird, deren Wirkung durch den Average Hamiltonian

$$\bar{\mathcal{H}} = \bar{\mathcal{H}}_J + \bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi \left\{ C^L I_{1z} I_{2z} + C^P (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) \right\} \quad [1]$$

beschrieben werden kann. Dabei entspricht

$$C^L = J + \bar{D} = J + s_D \cdot D \quad [2]$$

der effektiven longitudinalen Kopplungskonstante und

$$C^P = J - \frac{1}{2}\bar{D} = J - s_D \cdot D / 2 \quad [3]$$

der effektiven transversalen Kopplungskonstante (zur Definition von s_D siehe Kapitel 4). Im Hauptachsensystem (x' , y' , z') des effektiven Kopplungstensors sind die longitudinalen und transversalen Transferfunktionen $T_{z'}$ und $T_{x'} = T_{y'}$ unter diesen Bedingungen gegeben als

$$T_{z'} = \sin^2(\pi C^P \tau) \quad [4]$$

und

$$T_{x'} = T_{y'} = \sin(\pi C^P \tau) \sin(\pi C^L \tau) . \quad [5]$$

(siehe auch Kap. 5). Bei einem aus einem einzelnen harten 90° Puls mit anschließender Detektionsperiode bestehenden, klassischen 1D-Experiment, entspricht für obiges Spinsystem die Dublett-Aufspaltung C der Summe aus residualer dipolarer und skalarer Kopplungskonstante:

$$C = J + D.$$

Die Transferfunktionen gemäß Glg. [4] und [5] lassen sich als Funktion von C und J formulieren:

$$T_{z'} = \sin^2(\pi \{J - s_D \cdot (C - J) / 2\} \tau) \quad [6]$$

und

$$T_{x'} = T_{y'} = \sin(\pi \{J - s_D \cdot (C - J) / 2\} \tau) \sin(\pi \{J + s_D \cdot (C - J)\} \tau) . \quad [7]$$

Wir gehen davon aus, daß in der Praxis J bekannt ist (Aufnahme eines 1D-Spektrums in isotroper Umgebung) und ein positives Vorzeichen besitzt. Zudem nehmen wir an, daß man aus einem 1D-Spektrum derselben Probe in anisotroper Umgebung den Wert $|C| = |D+J|$

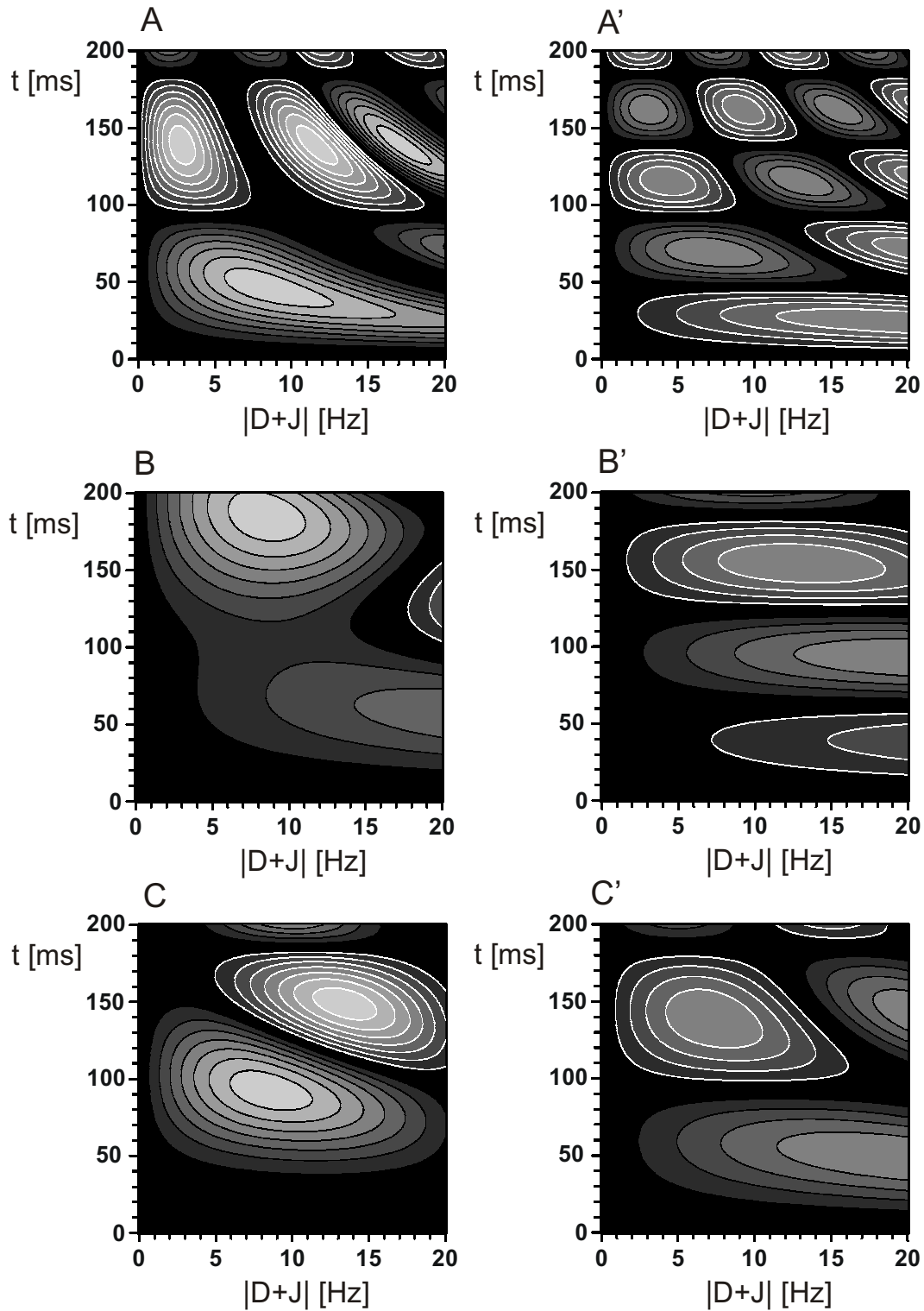


Abbildung 1: Unterschiede zwischen transversalen (x' , y' ; siehe A, B, C) und longitudinalen (z' ; siehe A', B', C') Transferfunktionen für $D+J > 0$ und $D+J < 0$. Dargestellt sind die Qualitätsfaktoren $q_{x,y}^{diff}(t)$ (A) und $q_z^{diff}(t)$ (A') für $s_D = 1$, $q_{x,z}^{diff}(t)$ (B) und $q_y^{diff}(t)$ (B') für $s_D = 0.25$ und $q_{y,z}^{diff}(t)$ (C) und $q_x^{diff}(t)$ (C') für $s_D = -0.5$. Für alle Simulationen wurde von einer skalaren Kopplungskonstante $J = 7.2$ Hz ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert $|q_\alpha^{diff}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|q_z^{diff}| \leq 0.1$).

extrahieren kann. In diesem Fall kann die tatsächliche Gesamtaufspaltung $D+J$ entweder negativ oder positiv sein, so daß sich zwei mögliche Werte für D ergeben:

$$\text{a) für } C > 0 \text{ ist } C = |C| \text{ und } D = C - J = |C| - J \quad [8]$$

$$\text{b) für } C < 0 \text{ ist } C = -|C| \text{ und } D = C - J = -(|C| + J)$$

Eine Methode, das Vorzeichen der Gesamtaufspaltung $D+J$ zu bestimmen, besteht darin, mittels eines Pseudo-2D-Experimentes, bestehend aus 1D-TOCSY-Experimenten, die Intensitäten der interessierenden Signale für verschiedene TOCSY-Mischzeiten aufzunehmen. Die daraus abgeleitete experimentelle Transferfunktion kann dann mit simulierten Transferfunktionen für $C_{test} = |D+J|$ und $C'_{test} = -|D+J|$ verglichen werden. Dabei ist es wichtig, daß sich die Transferfunktionen für die zwei möglichen Aufspaltungen möglichst schon bei kurzen Mischzeiten deutlich unterscheiden. Um dies am Beispiel eines 2-Spin-Systems, analog dem von Cytosin, abschätzen zu können, wurde ein Qualitätsfaktor q_{diff}^{α} definiert, der auf der Differenz der zwei analytisch berechneten Transferfunktionen für die zwei möglichen Gesamtaufspaltungen beruht:

$$q_{\alpha}^{diff} = \frac{1}{2} \{ T_{\alpha}(|D+J|, J, s_D) - T_{\alpha}(-|D+J|, J, s_D) \}. \quad [9]$$

Simulationen mit diesem Qualitätsfaktor finden sich in Abbildung 1. Hier zeigt sich, daß im Falle transversalen Transfers deutlich größere Unterschiede zwischen den zwei Transferfunktionen auftreten. So ist bei transversalem Transfer $|q_{diff}^{\alpha}| > 0.7$ möglich, während bei longitudinalem Transfer $|q_{diff}^{\alpha}|$ stets unter 0.5 bleibt. Je größer der Betrag des dipolaren Skalierungsfaktors $|s_D|$ der TOCSY-Sequenz ist, um so früher treten sowohl bei longitudinalem als auch transversalem Transfer diese Unterschiede auf.

6.1.2 Experimente

Um die oben geschilderte Methodik in der Praxis zu überprüfen, wurden experimentelle Kohärenz- und Polarisationstransferfunktionen zwischen H5 und H6 von Cytosin in isotropen und anisotropen Lösungen aufgenommen. Da die Signale der H5- und H6-Resonanz von Cytosin in isotroper (gepufferter) Lösung bei pH 7 eine der skalaren Kopplung entsprechende

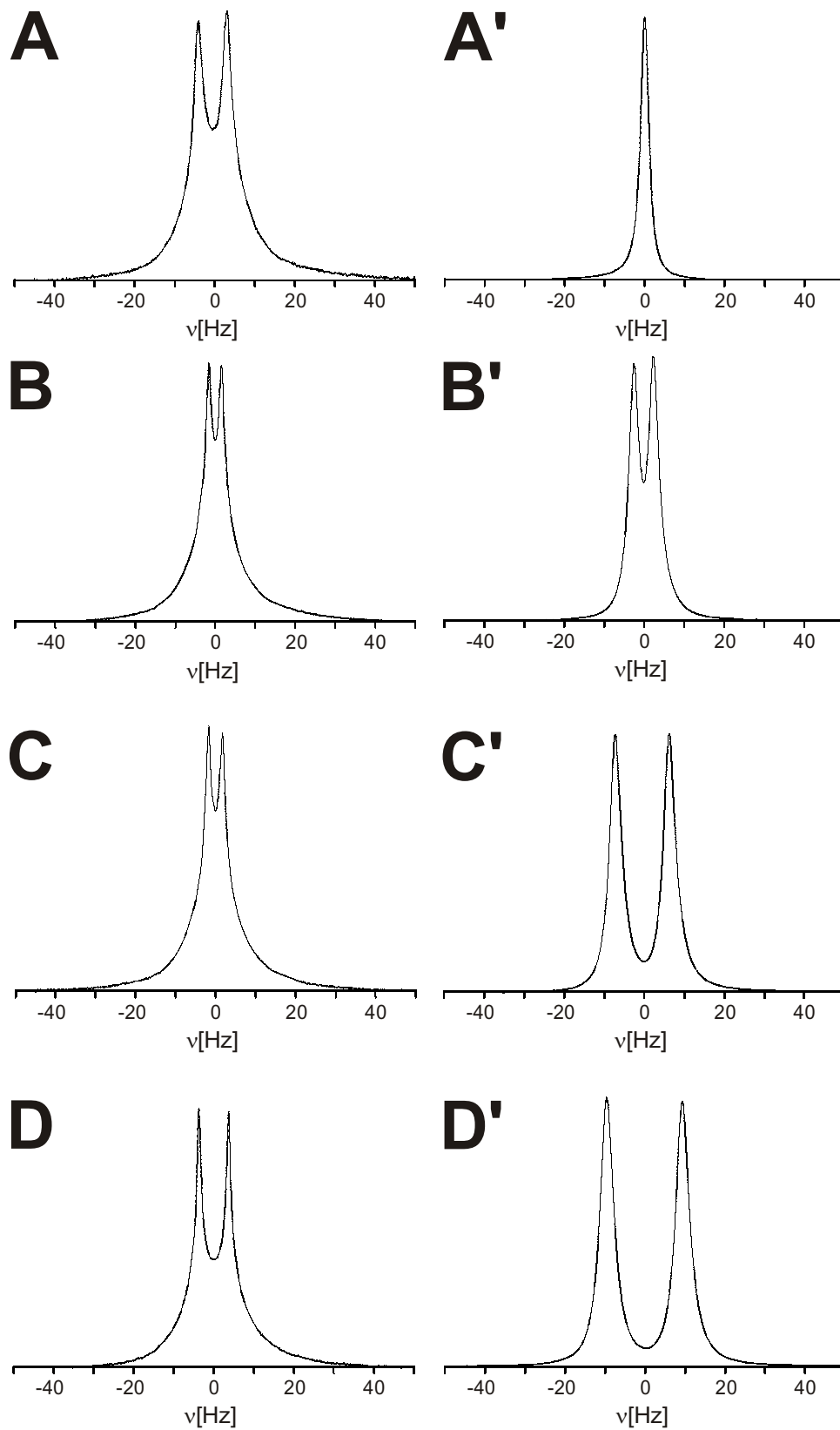


Abbildung 2: Dublett-Aufspaltung der H6-Resonanz von Cytosin (A-D) bzw. der D-Resonanz von Deuteriumoxid (A'-D'). Folgende Kopplungskonstanten wurden gemessen: $J+D = 7.2$ Hz (A) bzw. $Q = 0$ Hz (A'), $J+D = 3.2$ Hz (B) bzw. $Q = 4.8$ Hz (B'), $J+D = -3.5$ Hz (C) bzw. $Q = 13.5$ Hz (C') und $J+D = -7.4$ Hz (D) bzw. $Q = 18.8$ Hz (D').

Dublett-Aufspaltung von 7.2 Hz aufweisen, bestand eine Zielsetzung darin, eine anisotrope Probe mit einer Gesamtaufspaltung von ca. -7.2 Hz herzustellen. Ebenso sollten idealerweise zwei weitere anisotrope Proben mit Gesamtaufspaltungen von ± 3.6 Hz hergestellt werden. Zur näherungsweisen Einstellung der gewünschten residualen dipolaren Kopplungen wurde die annähernd lineare Abhängigkeit zwischen der Quadrupol-Aufspaltung des D_2O -Signals und der Größe der residualen dipolaren Kopplungskonstante ausgenutzt. Als Orientierungsmedium wurden kommerziell erhältliche Phagen (PF1-LP11-92, ASLA Ltd., Lettland) verwendet. Die unterschiedlichen Probeneigenschaften (pH) und die residuale quadrupolare Aufspaltung des D_2O -Signals sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Zusätzlich finden sich dort

Tabelle 1: Experimentelle Parameter der hergestellten Cytosin-Proben.

Probe	pH	$Q(D_2O)$ [Hz]	J [Hz]	D [Hz]	$J+D$ [Hz]	D/J [Hz]
1	7.5	0	7.2	0	7.2	0
2	6.5	4.2	7.2	-4	3.2	-0.89
3	7	13.5	7.2	-10.7	-3.5	-3.29
4	7	18.8	7.2	-14.6	-7.4	-6.21

Die Phagen waren ursprünglich in einem wässrigen Phosphatpuffer (10 mM, pH 7.6) gelöst, Phagenkonzentration ca. 54 ± 5 mg/ml. Verdünnung erfolgte mit D_2O . Um Blasen in der Probenlösung zu beseitigen, wurden die NMR-Röhrchen vor Aufnahme der Experimente zentrifugiert.

auch die experimentell bestimmten isotropen (J) und dipolaren (D) Kopplungskonstanten, die beobachteten Dublett-Aufspaltungen ($J+D$) und die Verhältnisse D/J . In Abbildung 2 ist das

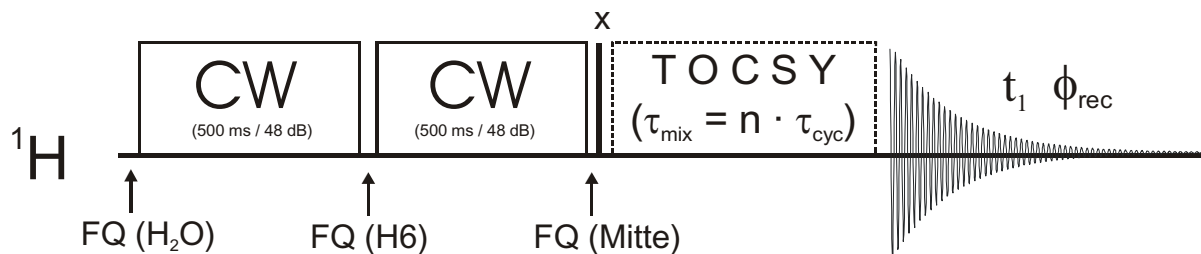


Abbildung 3: Pseudo-2D-Experiment zur Aufnahme der Transferfunktion T_y eines TOCSY-Experimentes. Die Länge des TOCSY-Bausteins wurde variiert zwischen $\tau_{mix} = 0$ und $\tau_{mix} = 63 \cdot \tau_{cyc}$.

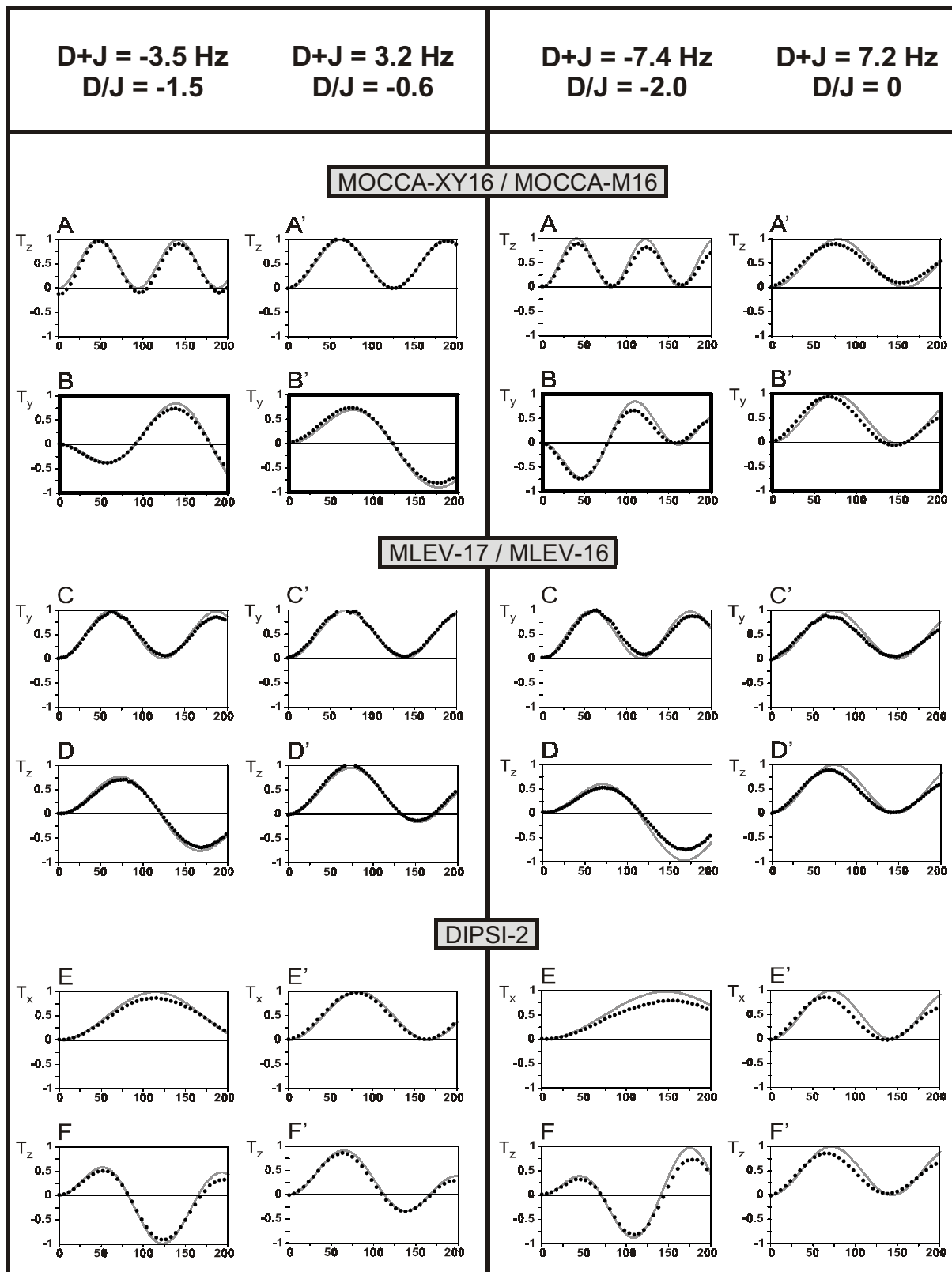


Abbildung 4: Simulierte (—) und experimentelle (•) Transferfunktionen für den Transfer zwischen H5 und H6 von Cytosin. Dargestellt ist T_z für MOCCA-XY16 (A, A'), T_y für MOCCA-M16 (B, B'), T_y für MLEV-17 (C, C'), T_z für MLEV-16 (D, D') und T_x (E, E') und T_z (F, F') für DIPSII-2. Über jeder Spalte sind die für die Simulation verwendeten Kopplungsparameter angegeben (weitere Details siehe Text).

experimentell beobachtete Dublett der H6-Resonanz mit der Aufspaltung $J+D$ und das entsprechende Dublett des D_2O -Signals (2H -Spektrum) mit der quadrupolaren Aufspaltung Q für alle vier Proben dargestellt.

Der prinzipielle Aufbau des Pseudo-2D-Experimentes zur Aufnahme der experimentellen TOCSY-Transferfunktionen findet sich in Abbildung 3. Dieses Experiment beinhaltet drei Frequenzsprünge:

- 1.) Frequenzsprung auf die Wasserresonanz (Offset zwischen 2799 Hz für Probe 4 und 2865 Hz für Probe 1) zur Wasserunterdrückung mittels kontinuierlicher RF-Einstrahlung,
- 2.) Frequenzsprung auf die H6-Resonanz (Offset zwischen 4457 Hz für Probe 4 und 4529 Hz für Probe 1) zur Unterdrückung des H6-Signals mittels kontinuierlicher RF-Einstrahlung

und

- 3.) Frequenzsprung auf die Frequenz $\nu_{rf} = \nu_{H6} + (\nu_{H5} - \nu_{H6})/2$ (Wertebereich zwischen 3993 Hz für Probe 4 und 4071 Hz für Probe 1) zur Einstrahlung der TOCSY-Sequenz.

Die experimentellen Transferfunktionen wurden abgeleitet aus der durch Integration ermittelten Intensität des H6-Signals in Abhängigkeit von der Mischzeit der TOCSY-Sequenz. Die für Cytosin aufgenommenen experimentellen Transferfunktionen, ebenso wie die für die entsprechenden Kopplungen mit dem Programm SIMONE (56) numerisch simulierten Transferfunktionen, sind in Abbildung 4 dargestellt. Wie man erkennt, treten die größten Unterschiede zwischen den Transferfunktionen für die Gesamtaufspaltung 7.2 (3.2) Hz bzw. -7.4 (-3.5) Hz bei Mischzeiten auf, bei denen zumindest eine der Transferfunktionen negativ ist, d. h. in der Regel dann, wenn sich das Vorzeichen der beiden Transferfunktionen bei einer gegebenen Mischzeit unterscheidet. Da erwartungsgemäß (s. Glg. [4] bzw. [6]) longitudinaler Transfer praktisch immer positiv ist, sind für diesen Transfer - wie erwartet (s. Abb. 1) - die Abweichungen zwischen den Transferfunktionen für 7.2 (3.2) Hz bzw. -7.4 (-3.5) Hz nur relativ gering. Im Falle transversalen Transfers sind die Differenzen zwischen den zwei Transferfunktionen größer, wobei die Zeitabhängigkeit des Auftretens der größten Differenzen tendenziell gut mit den aus Abbildung 1 zu erwartenden Mischzeiten übereinstimmt. Erwartungsgemäß treten beim y -Transfer mit MOCCA-M16 die größten Unterschiede zwischen den Transferfunktionen am schnellsten auf. Dieses Experiment ist das einzige, bei dem bei einer

Gesamtaufspaltung C von -7.4 Hz bzw. -3.5 Hz die Intensität der H6-Resonanz unmittelbar deutlich negative Werte annimmt, bzw. bei dem das erste lokale Extremum der Transferfunktionen bei negativen Gesamtaufspaltungen einem Minimum mit signifikant negativer Transfereffizienz entspricht.

6.2 Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungen mittels 2D-Experimenten

Wie die experimentellen Resultate in Abbildung 4 zeigen, ist beim transversalen Magnetisierungstransfer mit MOCCA-M16 (15) das Vorzeichen des ersten Extremum im Mischzeit-Bereich von $\tau = 0$ bis 100 ms identisch mit dem Vorzeichen der jeweiligen Gesamtaufspaltung C . Würde man also ein zweidimensionales MOCCA-M16-Experiment mit einer TOCSY-Mischzeit von z. B. 50 ms aufnehmen, fände man für das Cytosin-Spinsystem einen negativen Kreuzpeak bei einer Gesamtaufspaltung C von -7.4 Hz bzw. -3.5 Hz und einen positiven Kreuzpeak bei einer Gesamtaufspaltung C von 7.2 Hz bzw. 3.2 Hz. Inwieweit aber ist diese Korrelation zwischen dem Vorzeichen von $D+J$ und dem Vorzeichen des Kreuzpeaks zwischen H5 und H6 von Cytosin gültig? Um diese Frage zu beantworten, ist es sinnvoll, die Nullstellen der Transferfunktion $T_{x'} = T_{y'}$ in Abhängigkeit von D/J zu betrachten. Diese treten auf wenn $C^P \cdot \tau_{mix} = n$ bzw. $C^L \cdot \tau_{mix} = m$ ist, mit $n, m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$ (siehe auch Kapitel 5). Die Nullstellen in Abhängigkeit von D/J ergeben sich damit zu

$$(D/J)_P^{0,n} = \frac{2}{s_D} \left(1 - \frac{n}{\tau_{mix} \cdot J} \right)$$

und

$$(D/J)_L^{0,m} = \frac{1}{s_D} \left(\frac{n}{\tau_{mix} \cdot J} - 1 \right).$$

Für $n = 0$ bzw. $m = 0$ und einen dipolaren Skalierungsfaktor $s_D = 1$ ergeben sich damit beispielsweise die von der Mischzeit unabhängigen Nullstellen $(D/J)_P^{0,0} = 2$ bzw. $(D/J)_L^{0,0} =$

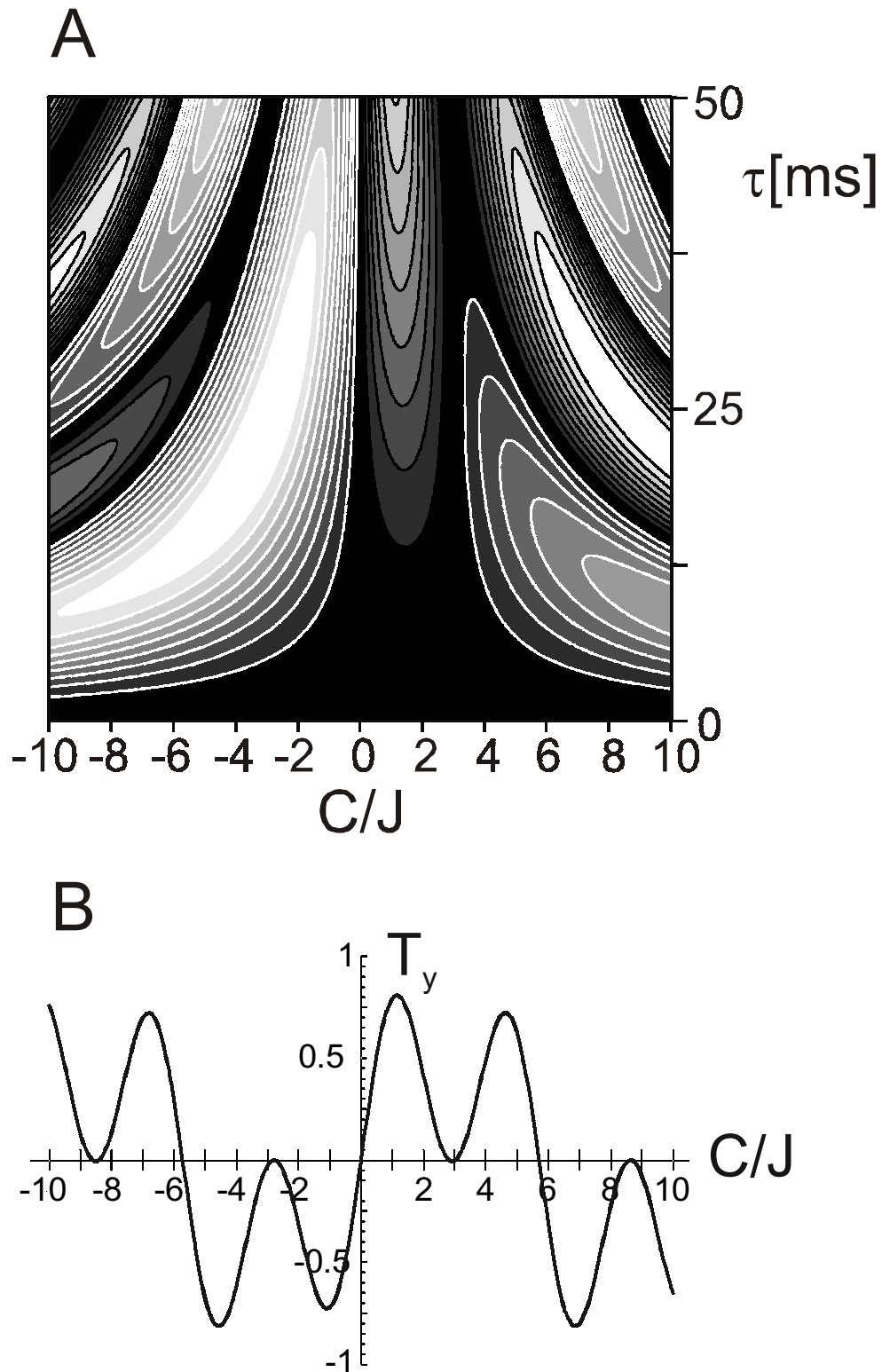


Abbildung 5: Charakteristika der Transferfunktion $T_y(\tau)$ für $s_D = 1$ und $J = 7$ Hz. (A) Zeitabhängigkeit der Transferfunktion $T_y(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 50 ms. (B) Darstellung der Transfereffizienz $T_y(50 \text{ ms})$ in Abhängigkeit von D/J . Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_y(50 \text{ ms})|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_y(50 \text{ ms})| \leq 0.1$).

–1. Abbildung 5 A zeigt für Verhältnisse D/J zwischen -10 und 10, eine skalare Kopplungskonstante $J = 7$ Hz und einen dipolaren Skalierungsfaktor $s_D = 1$ den zeitlichen Verlauf der analytisch berechneten Transferfunktion T_y im Bereich $\tau = 0$ bis 50 ms. Abbildung 5 B zeigt einen Ausschnitt daraus für die (willkürlich gewählte) Mischzeit $\tau = 50$ ms. Der Wechsel des Vorzeichens von $T_y(50 \text{ ms})$ tritt bei einem Verhältnis $D/J = (D/J)_L^{0,0} = -1$ auf: im Bereich zwischen $D/J = (D/J)_L^{0,-1} = -3.86$ und $D/J < (D/J)_L^{0,0}$ ist die Transfereffizienz negativ, im Bereich zwischen $D/J > (D/J)_L^{0,0}$ und $D/J = (D/J)_P^{0,0} = 2$ dagegen positiv. Auch die Gesamtaufspaltung $C = D+J$ ist bei $D/J = -1$ null, während sie für alle Werte $D/J < -1$ negativ ist und für alle Werte $D/J > -1$ positiv. Daher entspricht im Falle von Cytosin mit $J \approx 7$ Hz das Vorzeichen von $D+J$ dem der Kreuzpeaks eines transversalen MOCCA-Experimentes mit einem Skalierungsfaktor $s_D = 1$, sofern die residuale dipolare Kopplung nicht kleiner als ca. -27 Hz und nicht größer als ca. 14 Hz ist. In der Praxis (reale Pulse) ist der Skalierungsfaktor der MOCCA-Sequenzen allerdings kleiner 1, so daß der Vorzeichenwechsel schon z. B. für $s_D = 0.78$ bei $D/J = (D/J)_L^{0,0} = -1/0.78 = -1.28$ auftritt (siehe Abb. 6). Dies aber bedeutet, daß die Transfereffizienz zwischen $D/J = -1.28$ und $D/J = -1$ positiv ist, während die Gesamtaufspaltung C in diesem Bereich ein negatives Vorzeichen aufweist. Da aber die Werte $|D+J|$ für jeden Kreuzpeak bekannt sind, ist es leicht möglich, entsprechende Signale auszuschließen. Ein weiteres Problem kann in der Praxis die Tatsache darstellen, daß alle obigen Betrachtungen streng genommen nur für 2-Spin-Systeme gültig sind. Eine mögliche Lösung in dieser Hinsicht besteht darin, das MOCCA-M16-Experiment in ein TACSY-Experiment umzuwandeln, das alle Kopplungsnetzwerke auf 2-Spin-Systeme reduziert. Um dies an einem konkreten Beispiel zu demonstrieren, untersuchte ich mittels numerischer Simulationen die C/J -Abhängigkeit des y -Magnetisierungstrfers unter einer modifizierten Version der in der Literatur (19) beschriebenen sog. COIN-TACSY-Sequenz (s. Abb. 7 A/A'; näheres zum COIN-Experiment in Kap. 9). Dabei ging ich von einem Protonen-Spinsystem ähnlich dem von Alanin aus, mit den Offsets $\nu_N = 1075$ Hz, $\nu_\alpha = -1075$ Hz und $\nu_\beta = -2711.6$ Hz und einer skalaren Kopplungskonstante $J_{12} = 7$ Hz. Die dipolare Kopplungskonstante D_{12} wurde zwischen -35 Hz und 21 Hz variiert, entsprechend einem Wertebereich von C/J zwischen -4 und 4. In Abhängigkeit vom betrachteten Spinsystem wurde von einer dipolaren Kopplungskonstante $D_{23} = 30$ Hz (Simulation eines 3-Spin-Systems, s. Abb. 7 A') bzw. $D_{23} = 0$ Hz (Simulation eines 2-Spin-Systems, s. Abb. 7 A) ausgegangen. Zur Simulation selektiver 90° -

Pulse verwendete ich Gauß-Pulse einer Dauer von 1.844 ms (entsprechend $5/\nu_\beta$), mit einem *truncation level* von 5%. Um Pulsimperfektionen zu minimieren, wurden alle unselektiven 180°_ϕ -Pulse durch den Composite-Puls $C(180^\circ_\phi) = \{58^\circ_\phi, 140^\circ_{\phi+\pi}, 344^\circ_\phi, 140^\circ_{\phi+\pi}, 58^\circ_\phi\}$ (70) mit einer RF-Amplitude von 19.8 kHz implementiert. Als Multipuls-Baustein fand eine MOCCA-M16-Sequenz mit einer mittleren Leistung $\nu_{rf}^{rms} = 11.90$ kHz Verwendung, wobei die Periode $\tau = 5.52$ ms vier MOCCA-M16-Zyklen entsprach. Im Gegensatz zur Originalsequenz (19) verzichtete ich auf die die Perioden $\Delta = 3.80$ ms umschließenden unselektiven 90° -Composite-Pulse (siehe dazu Kap. 9). Zum Vergleich sind in Abb. 7 B und B' numerische Simulationen mit den gleichen Parametern, aber der als Multipuls-Baustein verwendeten MOCCA-M16-Sequenz anstelle der modifizierten COIN-Sequenz dargestellt. Alle Simulationen wurden mit einer erweiterten Version des Programmes SIMONE (56) durchgeführt.

Fehlerquellen ergeben sich auch immer in Fällen von großen effektiven Kreuzrelaxationsraten. Ein Beispiel hierfür stellen Messungen mit der MOCCA-M16-Sequenz am Protein BPTI dar, die von Astrid Jung unter der Leitung von Professor Eike Brunner an der Universität Regensburg durchgeführt wurden. Die Daten (Kopplungskonstanten und Offsets) für zwei Spinsysteme dieses Proteins finden sich in den Tabellen 2 und 3. Beobachtet wurden die Transfers

a) $H_N(\text{PHE } 45) \rightarrow H_\alpha(\text{PHE } 45)$ mit $D/J = 0.50$

und

b) $H_N(\text{ASP } 3) \rightarrow H_\alpha(\text{ASP } 3)$ mit $D/J = 0.45$,

für die man gemäß der oben vorgestellten Theorie bei Vernachlässigung aller weiteren Kopplungen jeweils einen positiven Kreuzpeak erwarten würde. Tatsächlich wurde nach einer TOCSY-Mischzeit $\tau_{mix} = 30.8$ ms ein positiver Kreuzpeak für Transfer a) gefunden, aber ein negativer Kreuzpeak für Transfer b). Um die Ursache für den erwarteten negativen Transfer herauszufinden, führte ich numerische Simulationen mit dem Programm SIMONE durch, wofür jeweils vier weitere Kopplungen zu räumlich nahen Atomen mit berücksichtigt wurden. Wie in Abbildung 8 gezeigt wird, ist der simulierte TOCSY-Transfer sowohl im Fall a) als

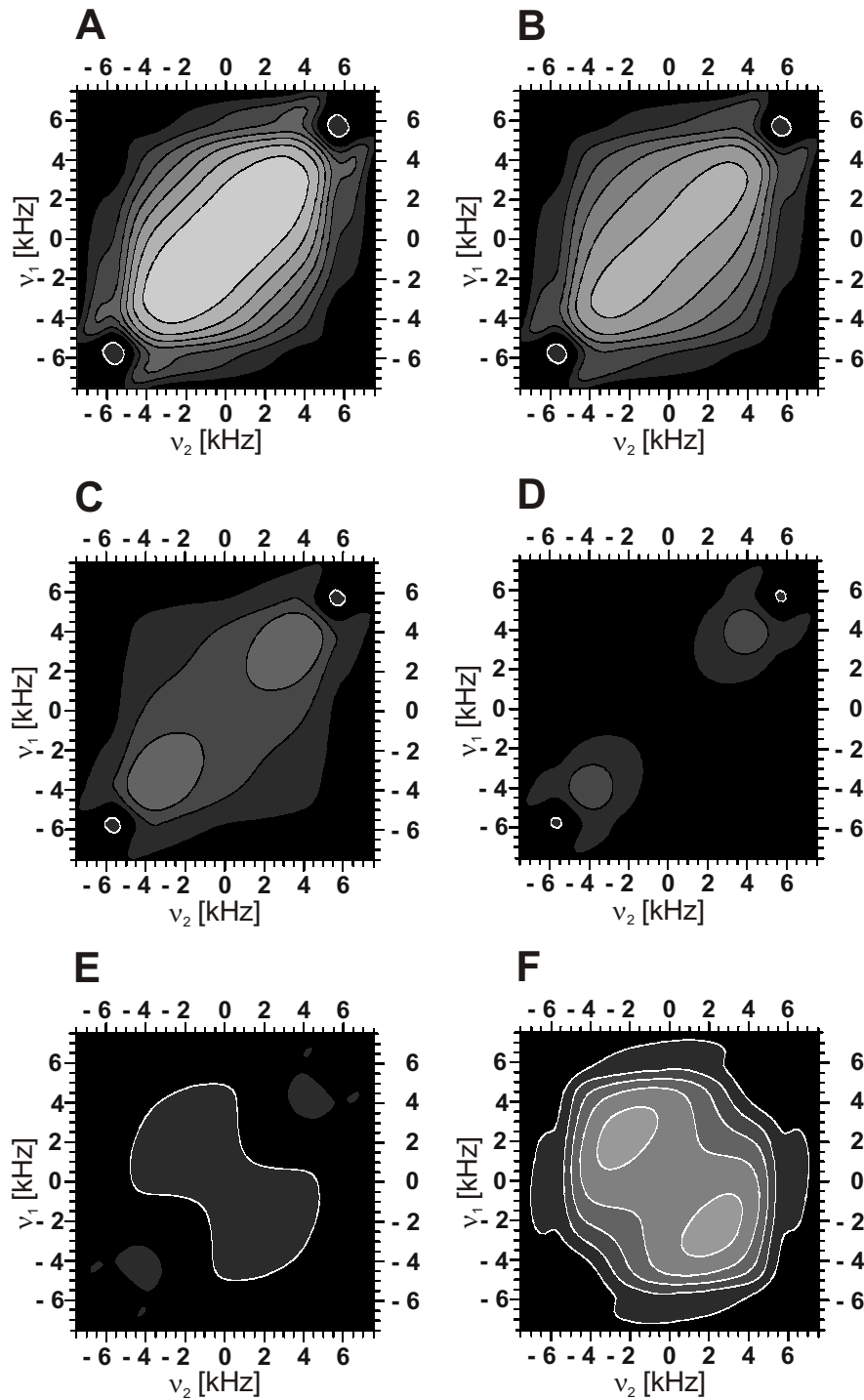


Abbildung 6: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(v_1, v_2)$ unter der MOCCA-M16-Sequenz mit $\Delta/d = 2.245$ bei einer Mischzeit $\tau_{mix} = 50$ ms. Kopplungen: (A) $J = 7$ Hz / $D = 0$ Hz, (B) $J = 7$ Hz / $D = -3.5$ Hz, (C) $J = 7$ Hz / $D = -7$ Hz, (D) $J = 7$ Hz / $D = -9$ Hz, (E) $J = 7$ Hz / $D = -10.5$ Hz und (F) $J = 7$ Hz / $D = -14$ Hz. Die Sequenz war auf eine mittlere RF-Leistung $v_{rf}^{rms} = 10$ kHz normiert, für die Simulation der Effekte der B1-Inhomogenität wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_y^{inh}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_y^{inh}| \leq 0.1$).

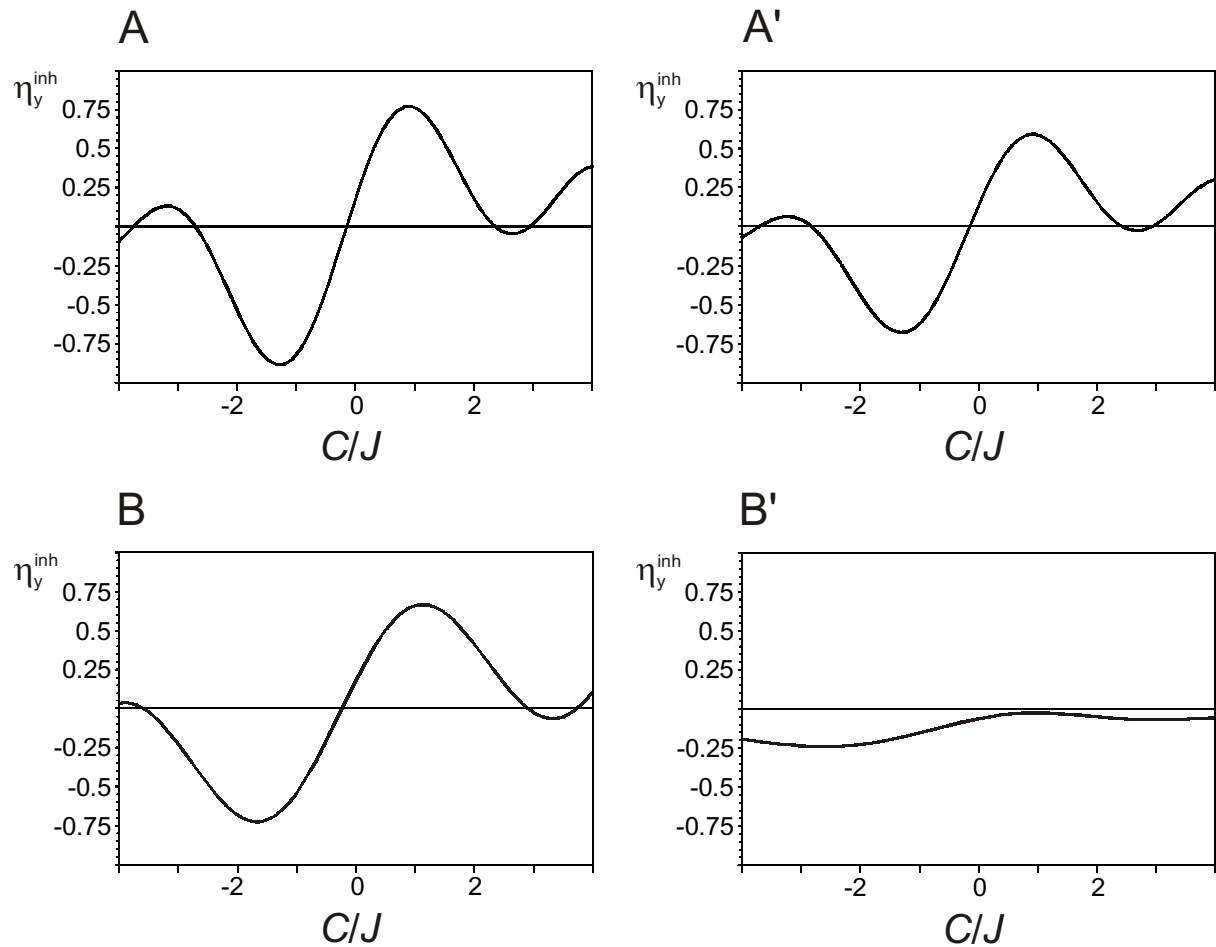


Abbildung 7: C/J -Abhängigkeit des Transfers von y -Magnetisierung unter (A, A') einem COIN-TACS-Experiment mit MOCCA-M16 mit $\Delta/d = 3.12$ als Multipuls-Baustein und unter (B, B') einer MOCCA-M16-Sequenz mit $\Delta/d = 3.12$. Es wird jeweils die Transfereffizienzabhängigkeit im Falle eines Zweispin-Systems (A, B) mit der im Falle eines Dreispin-Systems (A', B') verglichen. Kopplungen: $J_{12} = 7$ Hz, $D_{12} = -35$ Hz bis 21 Hz, $D_{23} = 0$ Hz (A, B) bzw. $D_{23} = 30$ Hz (A', B'). Offsets: $\nu_1 = 1075$ Hz und $\nu_2 = -1075$ Hz (A, B) bzw. $\nu_1 = 1075$ Hz, $\nu_2 = -1075$ Hz und $\nu_3 = -2711.6$ Hz (A', B'). Als Mischzeit wurde im Falle der COIN-Sequenz (A bzw. A') jeweils die Zykluszeit $\tau_{cyc} = 66.9$ ms gewählt, im Falle der MOCCA-M16-Sequenz (B bzw. B') eine aufgrund der besseren dipolaren Skalierungseigenschaften kürzere Mischzeit $\tau = 45$ ms. Für die Simulation der Effekte der B1-Inhomogenität wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen.

auch im Fall b) positiv, allerdings würde man im letzteren Fall nur eine 7 %ige Transfereffizienz erwarten. Da die MOCCA-M16-Sequenz nicht für Kreuzrelaxation kompensiert ist, man im Gegenteil starken (negativen) ROE erwartet (siehe Kapitel 4 und 7), deutet diese sehr niedrige Transfereffizienz darauf hin, daß im Falle b) der TOCSY-Transfer durch ROE-Transfer überlagert wurde.

Tabelle 2: Kopplungsparameter für die zwei untersuchten Spinsysteme

Spinsystem 1						Spinsystem 2					
Rest 1(Nr.)	Atom 1	Rest 2(Nr.)	Atom 2	J [Hz]	D [Hz]	Rest 1(Nr.)	Atom 1	Rest 2(Nr.)	Atom 2	J [Hz]	D [Hz]
ASP(3)	H_N	ASP(3)	H_α	6.8	3.087	PHE(45)	H_N	PHE(45)	H_α	10.2	5.124
ASP(3)	H_N	PRO(2)	H_α	0	16.317	PHE(45)	H_N	ASN(44)	H_α	0	8.214
ASP(3)	H_N	ASP(3)	$H_{\beta 1}$	0	13.366	PHE(45)	H_N	PHE(45)	$H_{\beta 1}$	0	7.264
ASP(3)	H_N	ASP(3)	$H_{\beta 2}$	0	4.727	PHE(45)	H_N	PHE(45)	$H_{\beta 2}$	0	3.364
ASP(3)	H_α	PRO(2)	H_α	0	2.401	PHE(45)	H_α	ASN(44)	H_α	0	2.585
ASP(3)	H_α	ASP(3)	$H_{\beta 1}$	6.6	-1.728	PHE(45)	H_α	PHE(45)	$H_{\beta 1}$	6.6	0.875
ASP(3)	H_α	ASP(3)	$H_{\beta 2}$	6.6	3.262	PHE(45)	H_α	PHE(45)	$H_{\beta 2}$	6.6	5.509
ASP(3)	$H_{\beta 1}$	ASP(3)	$H_{\beta 2}$	13	23.925	PHE(45)	$H_{\beta 1}$	PHE(45)	$H_{\beta 2}$	13	26.565
ASP(3)	$H_{\beta 1}$	PRO(2)	H_α	0	1.864	PHE(45)	$H_{\beta 1}$	ASN(44)	H_α	0	1.503
ASP(3)	$H_{\beta 2}$	ASP(2)	H_α	0	1.118	PHE(45)	$H_{\beta 2}$	ASN(44)	H_α	0	1.093

Tabelle 3: Offsets für die zwei untersuchten Spinsysteme

Spinsystem 1			Spinsystem 2		
Rest (Nr.)	Atom	Offset [Hz]	Rest (Nr.)	Atom	Offset [Hz]
ASP(3)	H_N	1059	PHE(45)	H_N	1690
ASP(3)	H_α	-1151	PHE(45)	H_α	-711
ASP(3)	$H_{\beta 1}$	-1891	PHE(45)	$H_{\beta 1}$	-1576
ASP(3)	$H_{\beta 2}$	-1891	PHE(45)	$H_{\beta 2}$	-1886
PRO(2)	H_α	-1111	ASN(44)	H_α	-831

6.3 Schlußfolgerung

Die Methode des Vergleichs von simulierten/experimentellen TOCSY-Transferfunktionen kann, wenn Relaxationsphänomene vernachlässigbar sind, zumindest bei 2-Spin-Systemen genutzt werden, um das Vorzeichen residueller dipolarer Kopplungen in Gegenwart skalarer

Kopplungen zu bestimmen. Bei dieser Methode ist transversaler vor longitudinalem Transfer zu bevorzugen, wobei das TOCSY-Experiment mit dem größten dipolaren Skalierungsfaktor am vorteilhaftesten ist. Das Verfahren läßt sich unter idealen Bedingungen mit Hilfe der MOCCA-M16-Sequenz vereinfachen, da unter dieser der transversale (x- bzw. y-) Transfer bei kurzen Mischzeiten einen Vorzeichenwechsel bei D/J ca. -1 aufweist. Probleme hinsichtlich der Größe des Spinsystems lassen sich durch Anwendung einer TACSY-Sequenz minimieren, allerdings wird das Verfahren in der Praxis nur dann anwendbar sein, wenn Kreuzrelaxationsphänomene vernachlässigbar sind (siehe Kapitel 7).

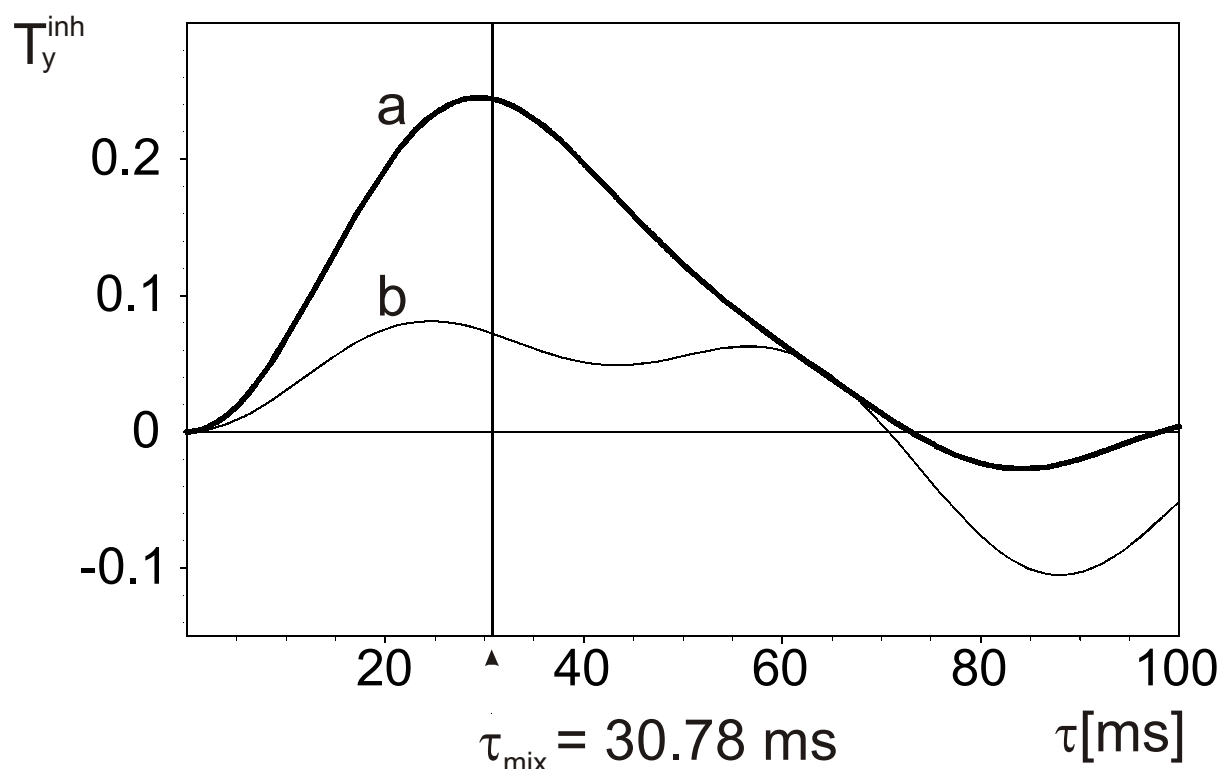


Abbildung 8: Numerische Simulationen des Transfers von y-Magnetisierung unter MOCCA-M16 für zwei 5-Spin-Systeme (s. Tabelle 2 und 3) unter Vernachlässigung von Relaxations- und Kreuzrelaxationseffekten. Dargestellte Transfers: a) $H_N(\text{PHE } 45) \rightarrow H_\alpha(\text{PHE } 45)$ für Spinsystem 2 und b) $H_N(\text{ASP } 3) \rightarrow H_\alpha(\text{ASP } 3)$ für Spinsystem 1. Transfereffizienz nach $\tau_{\text{mix}} = 30.78$ ms: a) 0.24 und b) 0.07. Für die Simulationen wurde von einer Gausschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen.

Kapitel 7

Dipolarer Transfer und Kreuzrelaxation

Kohärenter Transfer während der Mischzeit eines TOCSY-Experimentes kann von simultanem inkohärentem Transfer in Form von Kreuzrelaxation begleitet sein (3, 61). Da die Kreuzrelaxationsraten betragsmäßig mit der Korrelationszeit zunehmen, kann kreuzrelaxationsbedingter Magnetisierungstransfer in TOCSY-Spektren von Makromolekülen zu unerwünschten Interferenzen und Mehrdeutigkeiten führen. Basierend auf dem entgegengesetzten Vorzeichen der transversalen und longitudinalen Kreuzrelaxationsrate bei großen Molekülen, ist es hier jedoch glücklicherweise möglich, kreuzrelaxationsbedingte Artefakte mittels einer Kompensationsstrategie zu minimieren. Entsprechende „reine“ TOCSY-Sequenzen, optimiert auf minimalen Transfer durch Kreuzrelaxation und breitbandigen skalaren Transfer, werden im folgenden auf ihre Eigenschaften in bezug auf dipolaren Transfer via residuale dipolare Kopplungen untersucht. Die gemachten Beobachtungen werden theoretisch analysiert und genutzt, um die dipolaren Transfereigenschaften bewährter „reiner“ Sequenzen signifikant zu verbessern.

7.1 Dipolare Transfereigenschaften kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen

7.1.1 Theorie

Die den inkohärenten Magnetisierungstransfer zwischen den Spins i und j während der Mischzeit eines Hartmann-Hahn-Experimentes charakterisierende effektive Kreuzrelaxationsrate $\sigma_{eff}^{(ij)}$ ist gegeben durch

$$\sigma_{eff}^{(ij)} = w_i^{(ij)} \cdot \sigma_{ROE}^{(ij)} + w_l^{(ij)} \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)}, \quad [1]$$

worin $\sigma_{ROE}^{(ij)}$ der transversalen und $\sigma_{NOE}^{(ij)}$ der longitudinalen Kreuzrelaxationsrate entspricht.

Die Gewichtungsfaktoren $w_i^{(ij)}$ und $w_l^{(ij)}$, die von den Offsets der zwei Spins und der Multi-

puls-Sequenz abhängig sind, lassen sich in guter Näherung mit Hilfe des Ansatzes der invarianten Trajektorien (61) berechnen. Als „invariante Trajektorie“ bezeichnet man die *Bewegung* eines (normierten) Magnetisierungsvektors $n^{(i)}(t) = (n_x^{(i)}(t), n_y^{(i)}(t), n_z^{(i)}(t))$ unter der Wirkung einer Basissequenz S_b der Dauer τ_b , sofern der Vektor am Ende der Sequenz wieder seine ursprünglich Orientierung einnimmt (3):

$$n^{(i)}(\tau_b) = n^{(i)}(0). \quad [2]$$

Wenn eine Multipuls-Sequenz der Dauer τ einer n-fachen Wiederholung von S_b entspricht ($\tau = n \cdot \tau_b$), ist es ausreichend, die Gewichtungsfaktoren $w_t^{(ij)}$ und $w_l^{(ij)}$ nur für die Dauer der Basissequenz zu berechnen:

$$w_t^{(ij)} = \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} \{n_x^{(i)}(t)n_x^{(j)}(t) + n_y^{(i)}(t)n_y^{(j)}(t)\} dt$$

bzw.

$$w_l^{(ij)} = \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} n_z^{(i)}(t)n_z^{(j)}(t) dt. \quad [3]$$

Ein interessantes Beispiel stellt die invariante Trajektorie von MLEV-16 (31) dar, die sich aus *Composite*-Inversionspulsen $R = 90_x^\circ - 180_y^\circ - 90_x^\circ$ und damit nur aus 90° -Rotationen (bzw. ganzzahligen Vielfachen von 90° -Rotationen) um transversale Achsen (x oder y) zusammensetzt. Die effektive Kreuzrelaxationsrate von MLEV-16 entspricht daher der von einem einzelnen 90° -Puls (63):

$$\begin{aligned} \sigma_{eff}^{MLEV-16} &= \sigma_{eff}^{90^\circ} = \frac{1}{\tau_{90}} \int_0^{\tau_{90}} \{ \cos^2 \theta \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)} + \sin^2 \theta \cdot \sigma_{ROE}^{(ij)} \} dt \\ &= \frac{2}{\pi} \int_0^{\pi/2} \{ \cos^2 \theta \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)} + \sin^2 \theta \cdot \sigma_{ROE}^{(ij)} \} d\theta = \frac{\sigma_{NOE}^{(ij)} + \sigma_{ROE}^{(ij)}}{2} \\ &= -\frac{\sigma_{NOE}^{(ij)}}{2} = \frac{\sigma_{ROE}^{(ij)}}{4} \quad (\text{mit } \frac{\sigma_{ROE}^{(ij)}}{\sigma_{NOE}^{(ij)}} = -2) \end{aligned} \quad [4]$$

Eine Kompensations-Strategie zur Minimierung von Kreuzrelaxations-Artefakten ist möglich, wenn $\sigma_{NOE}^{(ij)}$ negativ ist, das heißt für große Moleküle mit $\omega_0\tau_c > \frac{\sqrt{5}}{2}$ (ω_0 = Resonanzfrequenz, τ_c = Rotations-Korrelationszeit). Da im Falle von MLEV-16 der Magnetisierungsvektor (bei y-Transfer) vor und nach dem 180_y° -Puls kollinear mit der z-Achse ist, wirkt während zu diesen Zeiten eingefügten Delays nur $\sigma_{NOE}^{(ij)}$. Die Kreuzrelaxationsrate für den *Composite*-Puls $R' = 90_x^\circ - \Delta - 180_y^\circ - \Delta - 90_x^\circ$ von Clean MLEV-17 (63) ergibt sich daher zu

$$\begin{aligned}\sigma_{eff}^{Clean MLEV-17} &= \frac{4 \cdot \tau_{90} \cdot \sigma_{eff}^{90^\circ} + 2 \cdot \Delta \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)}}{4 \cdot \tau_{90} + 2 \cdot \Delta} \\ &= \frac{2 \cdot \sigma_{eff}^{90^\circ} + r \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)}}{2 + r} \quad \left(\text{mit } r = \frac{\Delta}{\tau_{90}}\right) \\ &= \frac{\sigma_{ROE}^{(ij)} + (1 + r) \cdot \sigma_{NOE}^{(ij)}}{2 + r}.\end{aligned}\tag{5}$$

Der dipolare Skalierungsfaktor s_D (siehe Kap. 4 Glg. [4]) von Clean MLEV-17 ergibt sich aus der Struktur des *Average Hamiltonian* der Sequenz. Um letzteren auf einfache, intuitive Weise abzuleiten (siehe dazu Abb. 1), ist eine Analyse des *Composite*-Pulses R' im kippenden Koordinatensystem (siehe Kap. 2) sinnvoll, in dem die (bilinearen) Spinoperatoren zeitabhängig werden. Betrachtet man zum Beispiel während des ersten 90_x° -Pulses die Projektion des, entlang der y-Achse des rotierenden Koordinatensystems ausgerichteten, I_y -Operators auf die Achsen des kippenden Koordinatensystems, so erkennt man, daß sich dieser als Linearkombination aus dem \tilde{I}_y - und \tilde{I}_z -Operator darstellen läßt:

$$I_y(t) = \cos \beta(t) \cdot \tilde{I}_y - \sin \beta(t) \cdot \tilde{I}_z\tag{6}$$

(mit $\beta(t)$ = Flipwinkel zum Zeitpunkt t). In Abbildung 1 findet man dementsprechend bei den linearen Operatoren, unterhalb des 90_x° -Pulses, zwei dünne durchgezogene (I_y -Projektionen) Kurven: eine mit Kosinus modulierte in der Zeile des \tilde{I}_y -Operators und eine mit Sinus modulierte in der Zeile des \tilde{I}_z -Operators. In analoger Weise ist in dieser Abbildung die zeitliche

Änderung aller für den *Average Hamiltonian* relevanten Operatoren des kippenden Koordinatensystems unter dem *Composite*-Puls R' von Clean MLEV-17 dokumentiert. Die sich in den Kategorien der bilinearen Operatoren befindlichen Kurven entsprechen den Quadraten der für die linearen Operatoren angegebenen Funktionen (für den Fall, daß beide Spins *on resonance* sind), multipliziert mit dem jeweiligen Vorfaktor des Ursprungsterms im Hamiltonoperator der freien Evolution. Vernachlässigt man zunächst die beiden Delays, kann man aus Abbildung 1 durch graphische Integration leicht die Vorfaktoren der bilinearen Operatoren im *Average Hamiltonian* der MLEV-16-Sequenz ableiten:

$$\begin{aligned}\bar{\mathcal{H}}_D &= 2\pi D_{12} \left\{ \left(\frac{1-1.5}{4} \right) I_z S_z + \left(\frac{1-1.5}{4} \right) I_x S_x + \left(\frac{2-1}{4} \right) I_y S_y \right\} \\ &= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{8} I_z S_z - \frac{1}{8} I_x S_x + \frac{1}{4} I_y S_y \right\}.\end{aligned}\quad [7]$$

Wie erwartet, entspricht diesem Hamilton-Operator ein dipolarer Skalierungsfaktor $s_D = 0.25$. Berücksichtigt man dagegen die Delays, ergibt sich der *Average Hamiltonian* der Clean MLEV-16-Sequenz zu

$$\begin{aligned}\bar{\mathcal{H}}_D &= 2\pi D_{12} \left\{ \left(\frac{1-2.5}{6} \right) I_z S_z + \left(\frac{1-2.5}{6} \right) I_x S_x + \left(\frac{4-1}{6} \right) I_y S_y \right\} \\ &= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{4} I_z S_z - \frac{1}{4} I_x S_x + \frac{1}{2} I_y S_y \right\}.\end{aligned}\quad [8]$$

Der Wert von s_D verdoppelt sich also durch das Einfügen der Delays, weshalb Clean MLEV-16 (bzw. Clean MLEV-17) deutliche bessere dipolare Transfereigenschaften aufweist, als MLEV-16 (bzw. MLEV-17) (16).

7.1.2 Numerik

Um die dipolaren Transfereigenschaften bekannter kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen näher zu untersuchen, wurden numerische Simulationen mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, deren Ergebnisse für Clean CITY (33), Clean

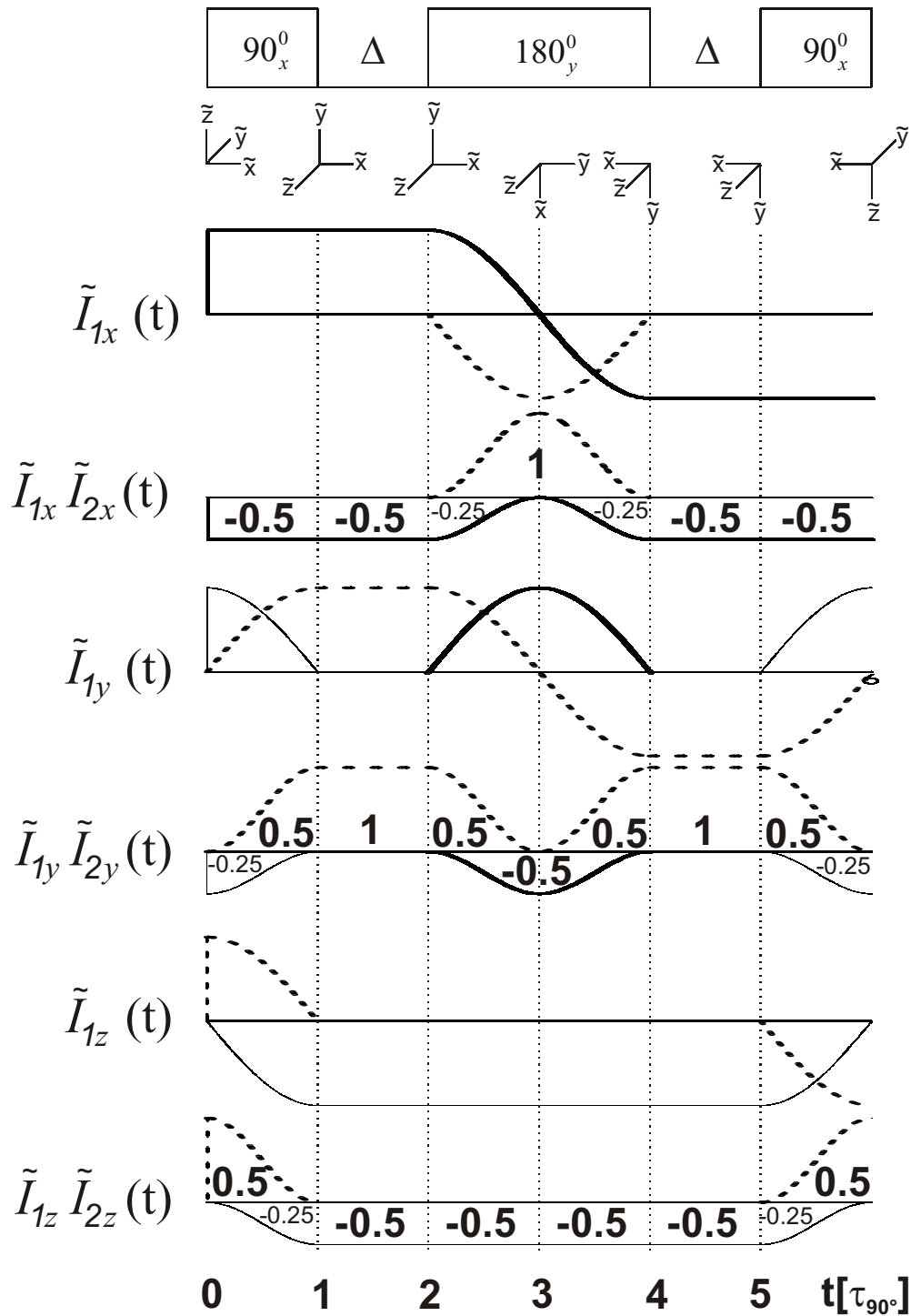


Abbildung 1: Veränderung der Terme des dipolaren Kopplungs-Hamilton-Operators im kippenden Koordinatensystem unter Einfluß des Composite-Pulses R' der Clean MLEV-17-Sequenz. Dargestellt ist die Zeitabhängigkeit der Projektionen der linearen/bilinearen Operatoren des rotierenden Koordinatensystems auf die Achsen des kippenden Koordinatensystems. Projektionen von x-Operatoren werden durch fette, Projektionen von y-Operatoren durch dünne und Projektionen von z-Operatoren durch gestrichelte Linien beschrieben. Im Falle der bilinearen $I_{1\alpha}I_{2\alpha}$ -Operatoren ist die Fläche unter den Kurven in relativen Einheiten angegeben, wobei die Projektionen von $I_{1x}I_{2x}$ und $I_{1y}I_{2y}$ mit -0.5 gewichtet wurden.

CITY-M16 (siehe Tabelle 1), DIPSI-2rc (71), TOWNY (72), Clean MLEV-16 und Clean MLEV-17 (63) in den Abbildung 2 bis 7 dargestellt sind. Gezeigt wird jeweils die Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_\alpha^{inh}(\tau_{opt})$ im Falle von kreuzrelaxationskompensiertem skalarem ($J = 10$ Hz, $D = 0$ Hz) beziehungsweise dipolaren ($J = 0$ Hz, $D = 20$ Hz) Transfer, die Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_\alpha^{NOE}(v_1, v_2)$ und die Veränderung von $T_\alpha^{inh}(\tau)$ im

„Reine“ homonukleare Hartmann-Hahn-Mischsequenzen									
Sequenz („reiner“ Transfer)	Grundlegender Composite-Puls R	Δ	Expansion	Bandbreite [Hz]		Dipolarer Transfer		τ_{opt} [ms]	$T_\alpha^{inh}(\tau_{opt})$
				skalar	dipolar				
Clean CITY (z)	$\Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta 48_{-x}^{\circ} 276_x^{\circ}$ $48_{-x}^{\circ} \Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta$	48°	MLEV-4 (Typ A)	5978	-	86.7	0.49		
Clean CITY-M16 (z)	$\Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta 48_{-x}^{\circ} 276_x^{\circ}$ $48_{-x}^{\circ} \Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta$	48°	MLEV-16	8415	4203	87.4	0.50		
DIPSI-2rc (z)	$180_x^{\circ} \Delta 140_x^{\circ} 320_{-x}^{\circ} \Delta 90_{-x}^{\circ}$ $270_x^{\circ} \Delta 20_x^{\circ} 200_{-x}^{\circ} \Delta 85_{-x}^{\circ} 30_x^{\circ}$ $125_{-x}^{\circ} \Delta 120_{-x}^{\circ} 300_x^{\circ} \Delta 75_x^{\circ}$ $255_{-x}^{\circ} \Delta 10_{-x}^{\circ} 190_x^{\circ} \Delta 180_x^{\circ} \Delta$	144°	MLEV-4 (Typ B)	6443	-	64.5	-0.07		
TOWNY (z)	$15_x^{\circ} 75_{-x}^{\circ} 270_x^{\circ} 45_{-x}^{\circ}$	-	MLEV-16	5753	-	64.5	-0.03		
Clean MLEV-16 (y)	$90_x^{\circ} \Delta 180_y^{\circ} \Delta 90_x^{\circ}$	90°	MLEV-16	5254	4300	101.5	0.99		
Clean MLEV-17 (y)	$90_x^{\circ} \Delta 180_y^{\circ} \Delta 90_x^{\circ}$	90°	MLEV-16 + 60_y	5055	6959	103.3	0.99		

Tabelle 1: Eigenschaften kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen. Die Dauer der Delays Δ ist gegeben durch den Rotationswinkel eines Pulses gleicher Länge, unter der Annahme $\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$. Die Angaben zur Bandbreite beziehen sich auf den zentralen Frequenzbereich innerhalb dessen $|T_\alpha^{inh}(\tau_{opt})|$ nicht unter 0.5 abfällt (bzw. unter 6 dB des Idealwertes von 1) und auf eine mittlere Leistung $v_{rf}^{rms} = 10$ kHz der Sequenz. Expansionsschemata: MLEV-4 (Typ A) = $RR\bar{R}\bar{R}$, MLEV-4 (Typ B) = $R\bar{R}\bar{R}\bar{R}$, MLEV-16 = $RR\bar{R}\bar{R} \bar{R}\bar{R}\bar{R} \bar{R}\bar{R}\bar{R} \bar{R}\bar{R}\bar{R}$. Dipolarer Transfer: $J = 0$ Hz, $D = 20$ Hz; skalarer Transfer: $J = 10$ Hz, $D = 0$ Hz.

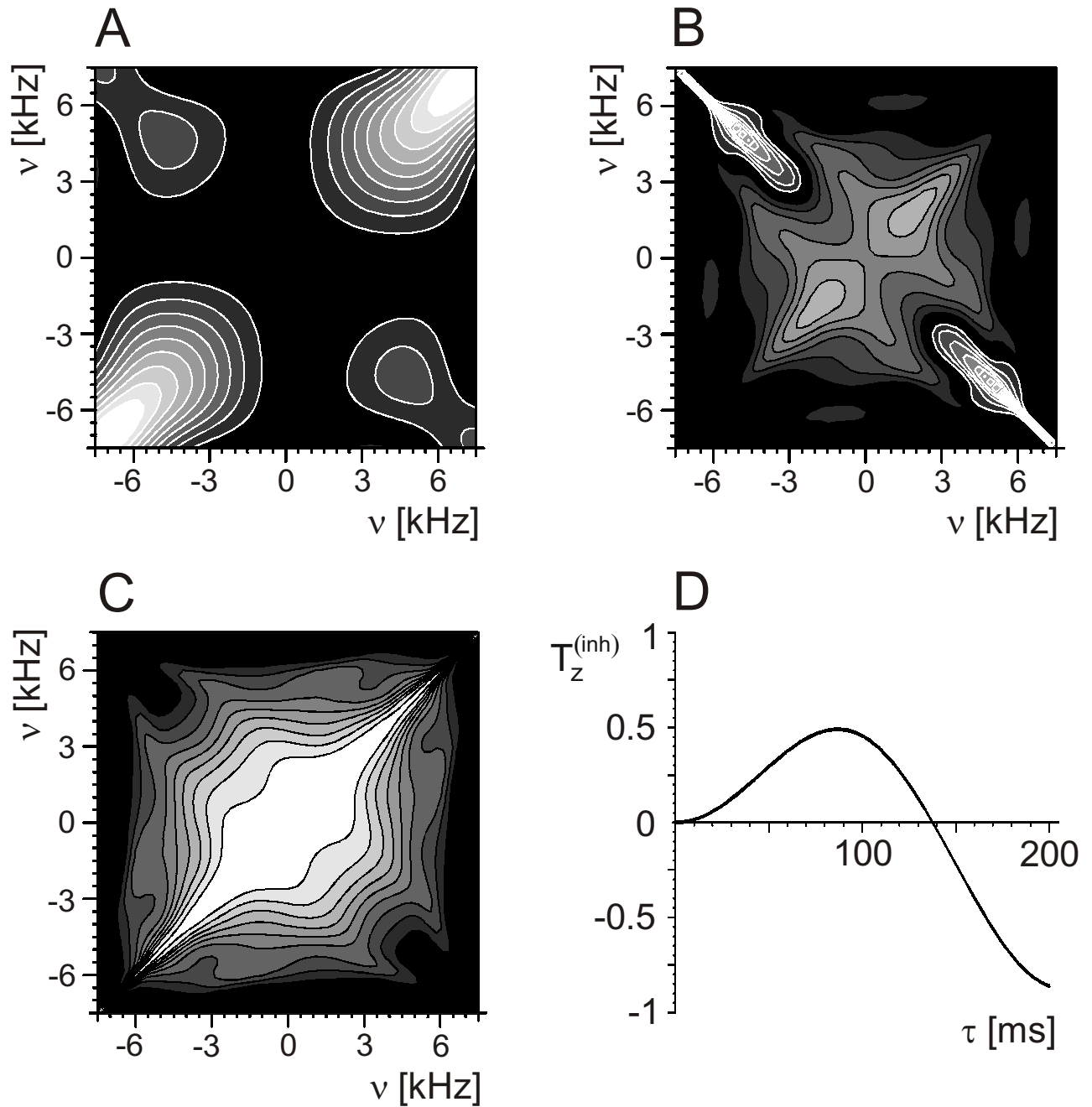


Abbildung 2: Charakteristika der Clean CITY-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

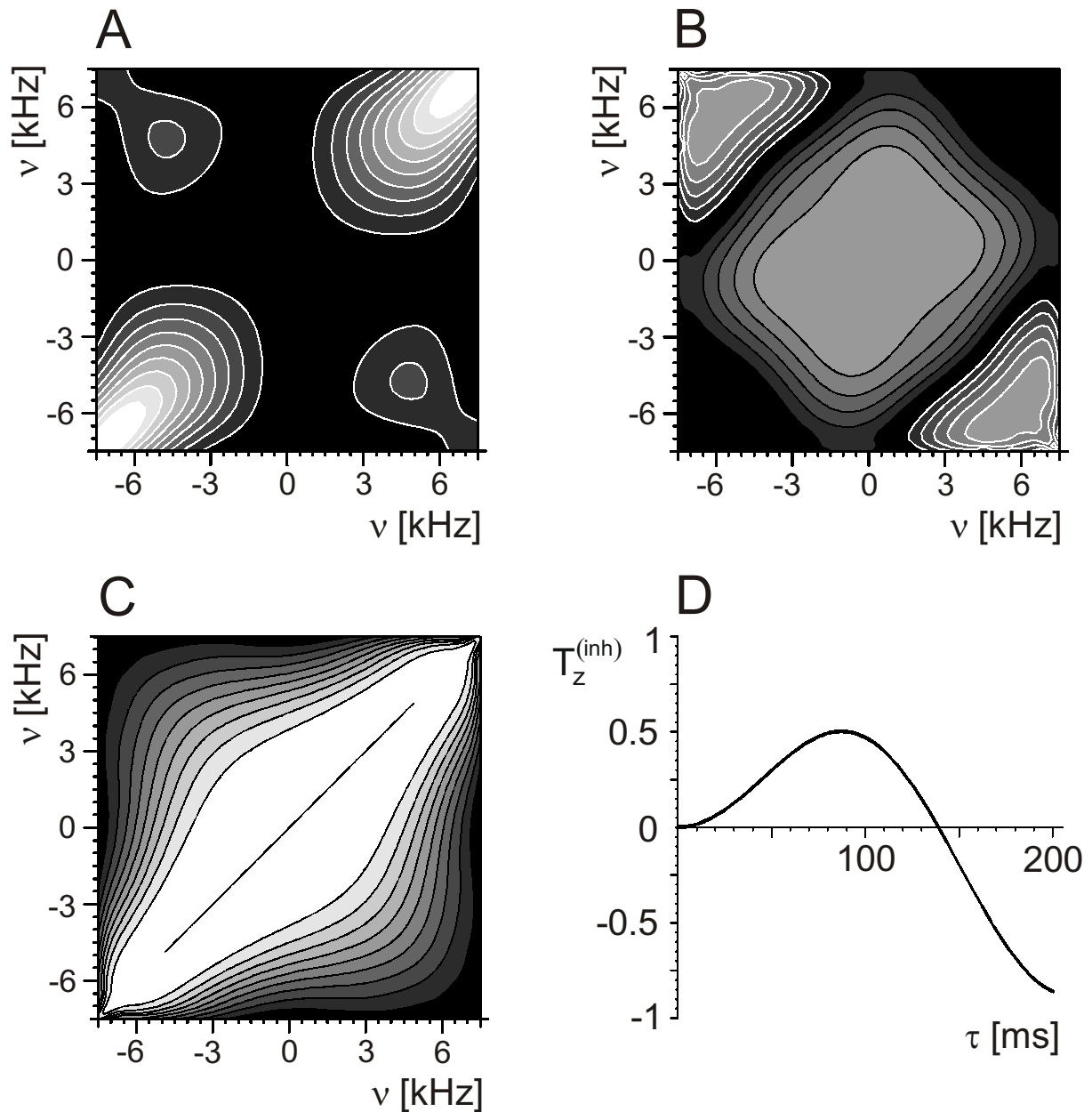


Abbildung 3: Charakteristika der Clean CITY-M16-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

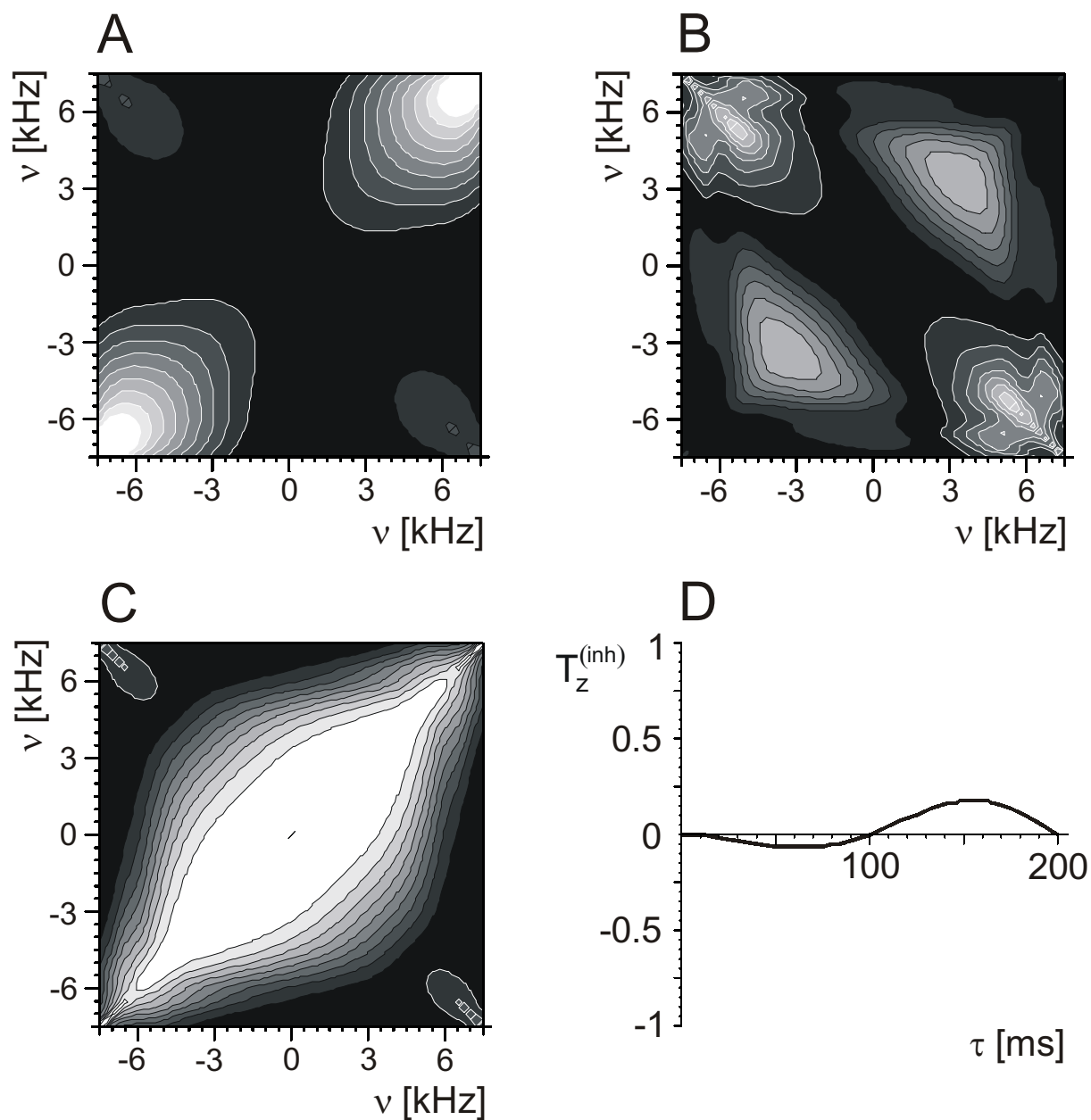


Abbildung 4: Charakteristika der DIPSI-2rc-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(\nu_1, \nu_2)$ (Glg. [8]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

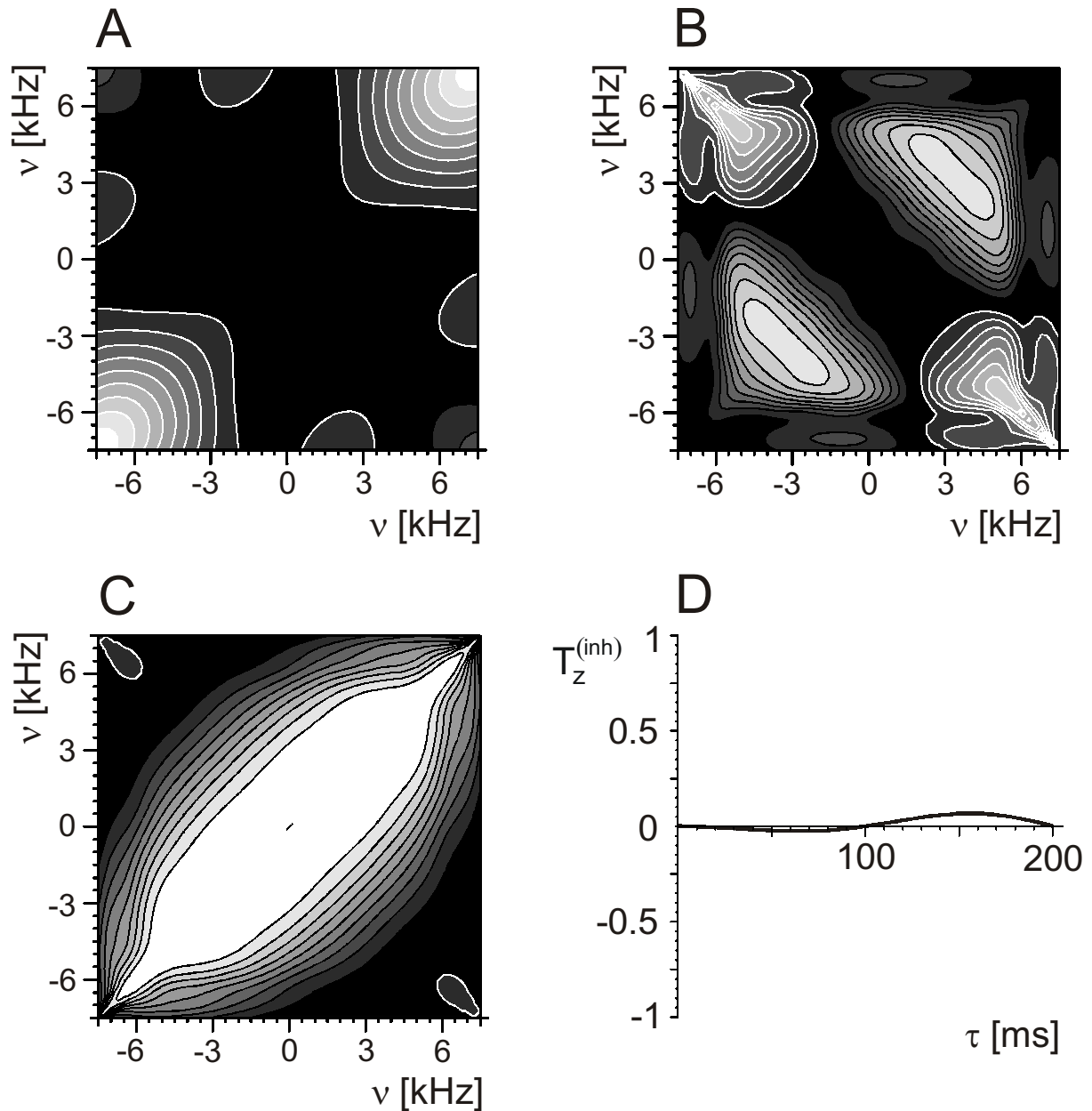


Abbildung 5: Charakteristika der TOWNY-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(\nu_1, \nu_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

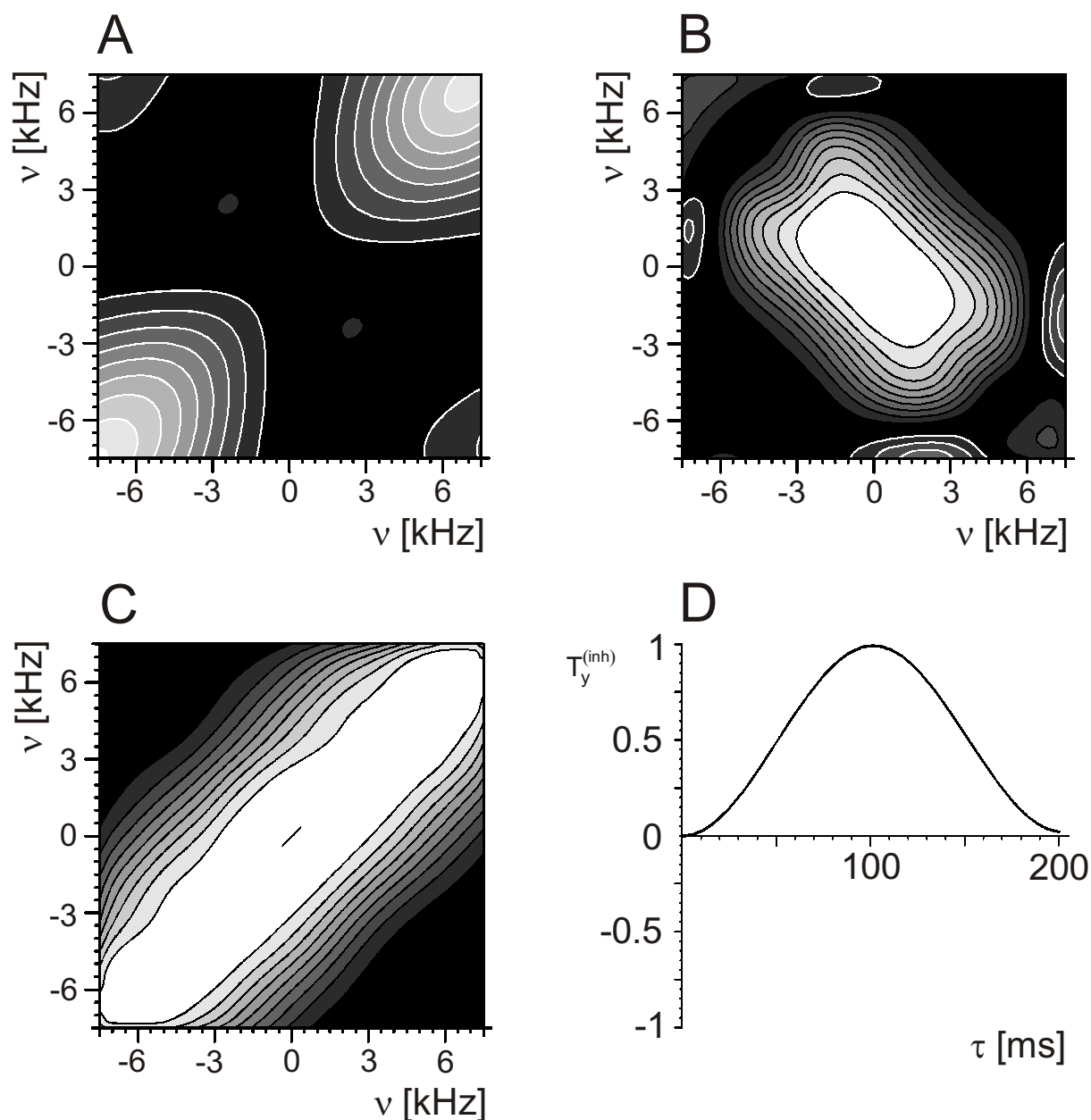


Abbildung 6: Charakteristika der Clean MLEV-16-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_y^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_y^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_y^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_y^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

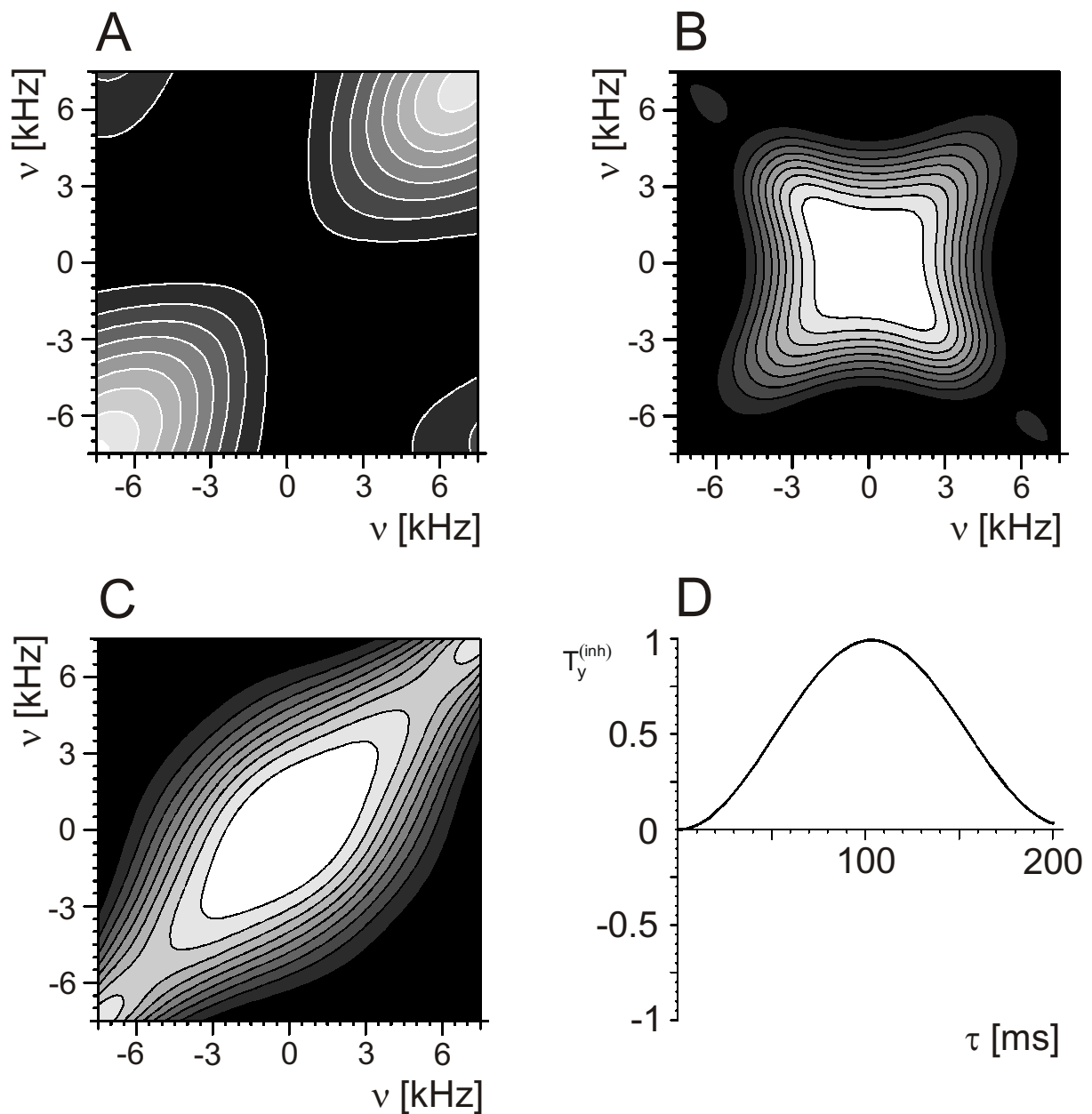


Abbildung 7: Charakteristika der Clean MLEV-17-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_v^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_y^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_y^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_v^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_y^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

on resonance Fall für $\tau = 0$ bis 200 ms. Für den auf der Methode der invarianten Trajektorien basierenden Qualitätsfaktor q_α^{NOE} gilt:

$$q_\alpha^{NOE}(v_1, v_2) = \frac{\sigma_{eff}^{Sequenz}(v_1, v_2)}{\sigma_{NOE}^{(12)}} = w_i^{(12)}(v_1, v_2) - 2 \cdot w_i^{(12)}(v_1, v_2) \quad [9]$$

mit $\sigma_{ROE}^{(12)} / \sigma_{NOE}^{(12)} = -2$. Der Gewichtungsfaktor der longitudinalen Kreuzrelaxation $w_i^{1,2}(v_1, v_2)$ und der Gewichtungsfaktor der transversalen Kreuzrelaxation $w_i^{1,2}(v_1, v_2)$ werden dabei gemäß Glg. [3] für die gesamte Dauer der Sequenz (einschließlich Superzyklus) numerisch durch die zum Programmpaket SIMONE (56) gehörende Routine „froesy“ berechnet. Der Wertebereich des Qualitätsfaktors liegt zwischen -2 (reiner ROE) und 1 (reiner NOE). Die Parameter und Resultate dieser Simulationen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt, wobei sich alle Angaben bezüglich der Transfereigenschaften auf die Übertragung der jeweiligen „reinen“ Komponente beziehen.

Die Clean CITY-Sequenz wurde für die Simulationen in zwei Varianten verwendet: zum einen, wie in der Originalliteratur beschrieben, mit einem MLEV-4-artigen Superzyklus expandiert, zum anderen mit MLEV-16 expandiert. Wie aus Tabelle 1 (s. a. Abbildung 2C bzw. 3C) ersichtlich ist, führt die Erweiterung des vierer auf einen 16er Superzyklus zu einer mehr als 40 % igen Steigerung der Bandbreite des skalaren Transfers. Da sich zudem die maximale Transfereffizienz des dipolaren Transfers im Resonanzfall auf (knapp) über 50 % erhöht, wird eine Bandbreiteangabe für diesen Transfer möglich. Die skalaren Bandbreiten der phasenalternierenden Sequenzen DIPSI-2rc und TOWNY liegen im mittleren Bereich, auffällig ist allerdings, daß beide im Resonanzfall über einen Mischzeitbereich von 200 ms praktisch keinen dipolaren Transfer zulassen. Vergleicht man die Offsetabhängigkeit von $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ für beide Sequenzen (s. Abb. 4A / 5A), mit der entsprechenden Offsetabhängigkeit von $q_z^{ct,inh}(v_1, v_2)$ im Falle des dipolaren Transfers (s. Abb. 4B / 5B), so stellt man fest, daß im zentralen Offsetbereich, in dem die Kreuzrelaxation besonders effizient unterdrückt ist, kein dipolarer Transfer möglich ist, während dies bei der gegebenen Mischzeit in weiter außerhalb gelegenen Offsetbereichen durchaus der Fall ist. Vergleicht man die numerisch für den Resonanzfall berechneten effektiven Hamiltonoperatoren der beiden Sequenzen, so stellt man eine starke Übereinstimmung fest:

$$\mathcal{H}_{D,eff}^{TOWNY} = 2\pi D_{12} \{0.50 \cdot I_z S_z - 0.50 \cdot I_x S_x\},$$

$$\mathcal{H}_{D,eff}^{DIPSI-2rc} = 2\pi D_{12} \{0.49 \cdot I_z S_z - 0.50 \cdot I_x S_x - 0.01 \cdot I_y S_y\}.$$

Beiden Hamiltonoperatoren ist ein mit ca. 1/2 skalierter, bilinearer x- und z-Term gemeinsam, während der für den Transfer von z-Magnetisierung zusätzlich notwendige $I_y S_y$ - Term nicht vorhanden oder nicht von Bedeutung ist. Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß bei phasenalternierenden Sequenzen dipolarer Transfer bei gleichzeitiger Unterdrückung von Kreuzrelaxation nicht möglich ist. In Abschnitt III wird dieses Phänomen genauer untersucht.

Den effizientesten und breitbandigsten dipolaren Transfer aller vorgestellten Sequenzen ermöglichen die als einzige für transversalen (y-) Magnetisierungstransfer kreuzrelaxationskompensierten Sequenzen Clean MLEV-16 und Clean MLEV-17, die allerdings die geringsten Bandbreiten in bezug auf skalaren Transfer aufweisen. Interessanterweise bewirkt der 17. Puls bei der Clean MLEV-Sequenz eine geringfügige Abnahme der skalare Bandbreite, führt aber gleichzeitig zur einer signifikanten Zunahme der dipolaren Bandbreite. Die numerisch für den Resonanzfall bestimmten Eigenschaften beider Sequenzen in bezug auf optimale Transferzeit und Transfereffizienz des dipolaren Transfers stimmen gut mit denen überein, die man für den theoretisch abgeleiteten *Average Hamiltonian* der Clean MLEV-16-Sequenz (Glg. [8]) erwarten würde. Letzterer ist dementsprechend auch mit dem numerisch mit SIMONE berechneten effektiven Hamiltonoperator der Clean MLEV-17 Sequenz

$$\mathcal{H}_{D,eff}^{CleanMLEV-17} = 84.32 \cdot (I_{1y} + I_{2y}) + 2\pi D_{12} \{-0.24 \cdot I_z S_z - 0.25 \cdot I_x S_x + 0.49 \cdot I_y S_y\}$$

bis auf den zusätzlichen, durch den 17. Puls eingeführten, Spinlock-Term praktisch identisch.

7.2 Phasenalternierende Sequenzen und Kreuzrelaxation

7.2.1 Theorie

7.2.1.1 Ableitung einer Gleichung für die effektive Kreuzrelaxationsrate einer phasenalternierenden Sequenz

Wir betrachten zunächst eine aus Pulsen mit der Phase $\phi = x$ bzw. $\phi = -x$ bestehende Sequenz der Länge τ_b . Mit ihr kann x-Magnetisierung nicht „rein“ (d. h. ohne NOE- bzw. ROE-Beimischung) transferiert werden, da diese die ganze Zeit transversal vorliegt (entsprechend vollem ROE). Als Dichteoperator zum Zeitpunkt $\tau = 0$ wählen wir daher im allgemeinen Fall eine Linearkombination von I_y und I_z :

$$\rho_0 = a \cdot I_y + b \cdot I_z. \quad [10]$$

Im klassischen Vektor-Modell entspricht dem obigen Dichteoperator der Magnetisierungsvektor

$$\vec{M}(0) = \begin{pmatrix} 0 \\ a \\ b \end{pmatrix}. \quad [11]$$

Ein *on resonance*-Puls mit dem Flipwinkel β und der Phase $\phi = \pm x$ bewirkt eine Rotation des Magnetisierungsvektors \vec{M} um die x-Achse des rotierenden Koordinatensystems:

$$\vec{M}(\tau) = \begin{pmatrix} 0 \\ \mp \sin \beta(\tau) \cdot b + \cos \beta(\tau) \cdot a \\ \cos \beta(\tau) \cdot b \pm \sin \beta(\tau) \cdot a \end{pmatrix}. \quad [12]$$

Für die effektive Kreuzrelaxationsrate σ_{eff}^1 einer nur aus einem x-Puls bestehenden, zyklischen Sequenz mit der Zykluszeit τ_b ($\vec{M}(0) = \vec{M}(\tau_b)$) gilt daher:

$$\sigma_{eff}^1 = \left\{ \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} (\cos \beta(t) \cdot b \pm \sin \beta(t) \cdot a)^2 dt - 2 \cdot \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} (\cos \beta(t) \cdot a \mp \sin \beta(t) \cdot b)^2 dt \right\} \sigma_{NOE} \quad [13]$$

mit $\beta = 2\pi\nu_{rf}t$ und $\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$.

Diese Beziehung läßt sich weiter vereinfachen:

$$\begin{aligned} \sigma_{eff}^1 &= \left\{ a^2 \cdot \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} (\sin^2 \beta - 2 \cos^2 \beta) dt + b^2 \cdot \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} (\cos^2 \beta - 2 \sin^2 \beta) dt \right. \\ &\quad \left. \pm 6 \cdot a \cdot b \frac{1}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} \cos \beta \sin \beta dt \right\} \sigma_{NOE} \\ &= \left\{ a^2 \cdot \left(\frac{3}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} \sin^2 \beta dt - 2 \right) + b^2 \cdot \left(1 - \frac{3}{\tau_b} \int_0^{\tau_b} \sin^2 \beta dt \right) \pm 6 \cdot a \cdot b \cdot \int_0^{\tau_b} \sin \beta \cos \beta dt \right\} \sigma_{NOE} \quad [14] \\ &= \left\{ a^2 \cdot \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) + b^2 \cdot \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) \pm 6 \cdot a \cdot b \cdot \overline{\sin \beta \cos \beta} \right\} \sigma_{NOE}. \end{aligned}$$

Für eine phasenalternierende Sequenz bestehend aus n Pulsen ergibt sich die effektive Kreuzrelaxationsrate in entsprechender Weise zu

$$\sigma_{eff} = \left\{ a^2 \cdot \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) + b^2 \cdot \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) + 6 \cdot a \cdot b \cdot \overline{\sin \beta \cos \beta} \right\} \sigma_{NOE} \quad [15]$$

mit

$$\overline{\sin^2 \beta} = \frac{1}{\tau_{cyc}} \left\{ \sum_{k=1}^n \int_0^{\tau_e^{(k)}} \sin^2(\varphi_k + 2\pi s_\phi^{(k)} \nu_{rf}^{(k)} t) dt \right\}, \quad [16]$$

$$\overline{\sin \beta \cos \beta} = \frac{1}{\tau_{cyc}} \left\{ \sum_{k=1}^n \int_0^{\tau_e^{(k)}} \sin(\varphi_k + 2\pi s_\phi^{(k)} \nu_{rf}^{(k)} t) \cos(\varphi_k + 2\pi s_\phi^{(k)} \nu_{rf}^{(k)} t) dt \right\}, \quad [17]$$

$$\varphi_k = \sum_{j=1}^{k-1} 2\pi s_\phi^{(j)} \nu_{rf}^{(j)} t, \quad \varphi_1 = 0,$$

$$\tau_{cyc} = \sum_{k=1}^n \tau_p^{(k)},$$

$\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$ und $s_\phi^k = \pm 1$ für $\phi^k = \pm x$. Die Dauer des i -ten Pulssequenzelementes $\tau_e^{(i)}$ entspricht im Falle eines Pulses der Pulsdauer $\tau_p^{(i)}$, im Falle eines Delays der Delaylänge $\Delta^{(i)}$.

7.2.1.2 Ableitung des Average Hamiltonian einer phasenalternierenden Sequenz für den Fall eines rein dipolar gekoppeltes 2-Spin-Systems

Die Transformation der Produktoperatoren ins kippende Koordinatensystem erfolgt im Falle eines ($\pm x$)-Pulses gemäß

$$\begin{pmatrix} \tilde{I}_x \\ \tilde{I}_y \\ \tilde{I}_z \end{pmatrix} = R^{-1}(\tau) \begin{pmatrix} I_x \\ I_x \\ I_x \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \beta & \mp \sin \beta \\ 0 & \pm \sin \beta & \cos \beta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I_x \\ I_y \\ I_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I_x \\ \cos \beta \cdot I_y \mp \sin \beta \cdot I_z \\ \cos \beta \cdot I_z \pm \sin \beta \cdot I_y \end{pmatrix}. \quad [18]$$

Der Hamilton-Operator für ein rein dipolar gekoppeltes Zweispin-System ergibt sich damit im kippenden Koordinatensystem, für den Fall einer aus einem einzigen Puls mit der Phase $\pm x$ bestehenden Sequenz, zu

$$\tilde{\mathcal{H}} = \tilde{\mathcal{H}}_{CS} + \tilde{\mathcal{H}}_D \quad [19]$$

mit dem chemischen Verschiebungsterm

$$\begin{aligned} \tilde{\mathcal{H}}_{CS} &= 2\pi \nu_1 \tilde{I}_z + 2\pi \nu_2 \tilde{S}_z = U_{rf}^{-1} (2\pi \nu_1 I_z + 2\pi \nu_2 S_z) U_{rf} = 2\pi \nu_1 U_{rf}^{-1} I_z U_{rf} + 2\pi \nu_2 U_{rf}^{-1} S_z U_{rf} \\ &= 2\pi \nu_1 (I_z \cos \beta \pm I_y \sin \beta) + 2\pi \nu_2 (S_z \cos \beta \pm S_y \sin \beta) \end{aligned} \quad [20]$$

und dem dipolaren Kopplungsterm

$$\begin{aligned}
\tilde{\mathcal{H}}_D &= 2\pi D_{12} \left\{ \tilde{I}_z \tilde{S}_z - \frac{1}{2} \cdot \tilde{I}_x \tilde{S}_x - \frac{1}{2} \cdot \tilde{I}_y \tilde{S}_y \right\} \\
&= 2\pi D_{12} \left\{ (I_z \cos \beta \pm I_y \sin \beta) (S_z \cos \beta \pm S_y \sin \beta) - \frac{1}{2} \cdot I_x S_x \right. \\
&\quad \left. - \frac{1}{2} (I_y \cos \beta \mp I_z \sin \beta) (S_y \cos \beta \mp S_z \sin \beta) \right\} \\
&= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} (\sin^2 \beta - 2 \cos^2 \beta) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} (\cos^2 \beta - 2 \sin^2 \beta) I_y S_y \right. \\
&\quad \left. \pm \frac{3}{2} \cdot \sin \beta \cos \beta (I_y S_z + I_z S_y) \right\} \\
&= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} (3 \cdot \sin^2 \beta - 2) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} (1 - 3 \cdot \sin^2 \beta) I_y S_y \right. \\
&\quad \left. \pm \frac{3}{2} \sin \beta \cos \beta (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.
\end{aligned} \tag{21}$$

Für den *Average Hamiltonian* einer phasenalternierenden Sequenz gilt daher:

$$\begin{aligned}
\overline{\mathcal{H}} &= 2\pi v_1 (\overline{I_z \cos \beta} + \overline{I_y \sin \beta}) + 2\pi v_2 (\overline{S_z \cos \beta} + \overline{S_y \sin \beta}) \\
&+ 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} (3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} (1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta}) I_y S_y \right. \\
&\quad \left. + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.
\end{aligned} \tag{22}$$

mit

$$\overline{\sin \beta} = \frac{1}{\tau_{\text{cyc}}} \left\{ \sum_{k=1}^n \int_0^{\tau_c^{(k)}} \sin(\varphi_k + 2\pi s_\phi^{(k)} v_{rf}^{(k)} t) dt \right\} \tag{23}$$

bzw.

$$\overline{\cos \beta} = \frac{1}{\tau_{\text{cyc}}} \left\{ \sum_{k=1}^n \int_0^{\tau_c^{(k)}} \cos(\varphi_k + 2\pi s_\phi^{(k)} v_{rf}^{(k)} t) dt \right\} \tag{24}$$

und $\varphi_k = \sum_{j=1}^{k-1} 2\pi s_\phi^{(j)} \nu_{rf}^{(j)} t$, $\varphi_1 = 0$, $\tau_{cyc} = \sum_{k=1}^n \tau_p^{(k)}$, $s_\phi^k = \pm 1$ für $\phi^k = \pm x$ (Definition von $\overline{\sin^2 \beta}$

(Glg. [16]) und $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ (Glg. [17]) wie zuvor). Breitbandiger, effizienter TOCSY-Transfer wird in der Praxis durch die Unterdrückung der Offset-Terme erreicht, d. h. $\overline{\cos \beta} = \overline{\sin \beta} = 0$, womit sich der gemittelte Hamilton-Operator gemäß Glg. [22] vereinfacht zu

$$\begin{aligned} \overline{\mathcal{H}} = 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) I_y S_y \right. \\ \left. + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} \left(I_y S_z + I_z S_y \right) \right\}. \end{aligned} \quad [25]$$

7.2.1.3 Anwendung des abgeleiteten *Average Hamiltonian* einer phasensaltierenden Sequenz zur Untersuchung praxisrelevanter Beispiel-Sequenzen

Kontinuierliche Radiofrequenzeinstrahlung ist ein besonders einfacher Spezialfall einer phasensaltierenden Sequenz. In diesem Fall ist der Flipwinkel ein ganzzahliges Vielfaches von 360° ($\beta = n \cdot 360^\circ$), so daß sich die Mittelwerte der trigonometrischen Funktionen direkt berechnen lassen: $\overline{\sin \beta} = 0$, $\overline{\cos \beta} = 0$, $\overline{\sin^2 \beta} = 0.5$ und $\overline{\sin \beta \cos \beta} = 0$. Setzt man diese Werte in Glg. [22] ein, so erhält man den *Average Hamiltonian*

$$\overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{4} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{4} I_y S_y \right\}. \quad [26]$$

Betrachtet man für diesen Fall die effektive Kreuzrelaxationsrate, so zeigt sich, daß diese nur Null sein kann, wenn sowohl a als auch b gleich Null sind (siehe Glg. [15]):

$$\sigma_{eff} = -\frac{(a^2 + b^2)}{2} \sigma_{NOE}. \quad [27]$$

Eine kreuzrelaxationskompensierte Sequenz dieser Art würde daher keinen dipolaren Transfer ermöglichen.

Als weiteres Beispiel betrachten wir eine phasenalternierende Sequenz, die für den *on resonance* Fall perfekt kreuzrelaxationskompensiert ist:

$$\sigma_{eff} = \left\{ a^2 \cdot \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) + b^2 \cdot \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) + 6 \cdot a \cdot b \cdot \overline{\sin \beta \cos \beta} \right\} \sigma_{NOE} = 0. \quad [28]$$

Die Struktur dieser Gleichung bedingt, daß sich - vorausgesetzt, zumindest eine der Magnetisierungskomponenten ist ungleich Null - aus ihr entweder ein konkreter Wert für $\overline{\sin^2 \beta}$ oder aber ein Ausdruck für $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ ergibt, woraus man jeweils Rückschlüsse auf die Struktur des jeweiligen *Average Hamiltonian* ziehen kann.

Ein konkreter Wert für $\overline{\sin^2 \beta}$ läßt sich ermitteln, wenn die Ausgangsmagnetisierung einer reinen Magnetisierungskomponente entspricht, das heißt, wenn entweder a oder b gleich Null ist. Der hierbei für die Analyse der TOWNY- oder DIPSI-2rc-Sequenz interessanteste Fall ist der von z-Transfer ($a = 0, b = 1$), für den gemäß Glg. [28]

$$\overline{\sin^2 \beta} = \frac{1}{3}$$

ist. Damit ergibt sich gemäß Glg. [22] für den *on resonance*-Fall der *Average Hamiltonian*

$$\overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}. \quad [29]$$

Der konkrete Wert von $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ ist abhängig von der jeweiligen TOCSY-Sequenz und liegt im Bereich zwischen -0.5 und 0.5 , so daß der Vorfaktor von $(I_y S_z + I_z S_y)$ im Bereich zwischen -0.75 und 0.75 liegt. Der mögliche Transfer unter diesem gemittelten Hamilton-Operator, ebenso wie der Einfluß von phasenalternierenden Superzyklen wie MLEV-4 oder MLEV-16 auf diesen, wird in Abschnitt e diskutiert.

Um Gleichung [29] zu überprüfen, wurde der Composite-Puls R der DIPSI-2rc-Sequenz (s. Tabelle 1) durch manuelle Variation des ersten Delays für ein Verhältnis $\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$ sehr genau kreuzrelaxationskompensiert:

$$R' = 180_x^\circ \Delta' 140_x^\circ 320_x^\circ \Delta 90_x^\circ 270_x^\circ \Delta 20_x^\circ 200_x^\circ \Delta 85_x^\circ 30_x^\circ 125_x^\circ \Delta 120_x^\circ 300_x^\circ \Delta 75_x^\circ 255_x^\circ \Delta 10_x^\circ 190_x^\circ \Delta 180_x^\circ \Delta$$

mit

$$\Delta' = \left(\frac{240.3^\circ}{360^\circ} \right) \cdot \frac{1}{v_{rf}}$$

und

$$\Delta = \left(\frac{144^\circ}{360^\circ} \right) \cdot \frac{1}{v_{rf}}$$

Die Sequenz $R'R'$ ist die kleinste aus R' konstruierbare zyklische Einheit. Der für diese Einheit analytisch berechnete *Average Hamiltonian*, ergibt sich gemäß Glg. [29] mit

$$\overline{\sin \beta \cos \beta} = -0.00918478 \quad (\text{Glg. [17]})$$

zu

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{analytisch}} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - 0.0137772 \cdot (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$$

Zum Vergleich der numerisch mit SIMONE für den *on resonance*-Fall berechnete effektive Hamilton-Operator der Sequenz:

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{SIMONE}} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - 0.0138 \cdot (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$$

Auch dem für den Fall von y-Transfer ($a = 1, b = 0$) mit

$$\overline{\sin^2 \beta} = \frac{2}{3}$$

berechneten *Average Hamiltonian*

$$\overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} I_y S_y + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} (I_y S_z + I_z S_y) \right\} \quad [30]$$

fehlt ein bilinearer Term ($I_z S_z$). Der Transfer unter diesem gemittelten Hamilton-Operator, ebenso wie der Einfluß von phasenalternierenden Superzyklen auf diesen wird im nächsten Abschnitt diskutiert.

Zur Berechnung des gemittelten Hamilton-Operators für $a, b \neq 0$ wird in Glg. [22] die sich aus Glg. [28] ergebende Ersetzung

$$\overline{\sin \beta \cos \beta} = -\frac{a^2 \cdot (3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2) + b^2 \cdot (1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta})}{6 \cdot a \cdot b} \quad [31]$$

durchgeführt. Der sich damit ergebende *Average Hamiltonian* ist für alle kreuzrelaxationskompensierten Sequenzen gültig, sofern sowohl a als auch b ungleich Null ist:

$$\begin{aligned} \overline{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} (3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} (1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta}) I_y S_y \right. \\ \left. - \frac{1}{4} \left\{ \frac{a}{b} (3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2) + \frac{b}{a} (1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta}) \right\} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}. \end{aligned} \quad [32]$$

Um die Richtigkeit dieser Formel zu überprüfen und den Wertebereich des Vorfaktors von $(I_y S_z + I_z S_y)$ abschätzen zu können, wurde die minimale zyklische Einheit der TOWNY-Sequenz für $a = 0.01$ und $b = 0.99$ ($b/a = 99$) kreuzrelaxationskompensiert:

$$\begin{aligned} \varphi_1 &= 9.26485^\circ_x, \\ \varphi_2 &= 75^\circ_{-x}, \\ \varphi_3 &= 270^\circ_x, \\ \varphi_4 &= 45^\circ_{-x}, \\ \varphi_5 &= 9.26485^\circ_{-x}, \end{aligned}$$

$$\varphi_6 = 75^\circ_x,$$

$$\varphi_7 = 270^\circ_{-x},$$

$$\varphi_8 = 45^\circ_x.$$

Der für diese Sequenz analytisch berechnete *Average Hamiltonian*

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{analytisch}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.501978) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - (0.00197832) I_y S_y - (0.0953914) (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.$$

und der zum Vergleich numerisch durch SIMONE berechnete effektive Hamilton-Operator

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{SIMONE}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.50195) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - (0.00195) I_y S_y - (0.0954) (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$$

stimmen gut überein. Der trotz des Verhältnisses $b/a = 99$ relativ kleine Vorfaktor von $(I_y S_z + I_z S_y)$ erklärt sich für den analytisch berechneten *Average Hamiltonian* (Glg. [32]) dadurch, daß sich der Mittelwert

$$\overline{\sin^2 \beta} = 0.332014$$

an $1/3$ annähert.

Bei einer für $a = 0.99$ und $b = 0.01$ ($a/b = 99$) kreuzrelaxationskompensierten Sequenz mit

$$\varphi_1 = 83.16427^\circ_x,$$

$$\varphi_2 = 30^\circ_{-x},$$

$$\varphi_3 = 30^\circ_x,$$

$$\varphi_4 = 30^\circ_{-x},$$

$$\varphi_5 = 30^\circ_x,$$

$$\varphi_6 = 30^\circ_{-x},$$

$$\varphi_7 = 30^\circ_x$$

und

$$\varphi_8 = 83.16427^\circ_{-x},$$

nähert sich dagegen der Mittelwert

$$\overline{\sin^2 \beta} = 0.659943$$

an $2/3$ an. Entsprechend ergibt sich auch hier im *Average Hamiltonian* gemäß Glg. [32] ein kleiner Wert für den Vorfaktor von $(I_y S_z + I_z S_y)$:

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{analytisch}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.0100849) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + (0.489915) I_y S_y + (0.501676) (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.$$

Zum Vergleich der numerisch durch SIMONE berechnete effektive Hamilton-Operator der Sequenz:

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{SIMONE}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.01015) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + (0.48985) I_y S_y + (0.5017) (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.$$

Um den insgesamt möglichen Transfer zu berechnen (siehe dazu Abschnitt e), ist es sinnvoll, eine Koordinatentransformation durchzuführen, die den Magnetisierungsvektor unabhängig vom Wert von a und b entlang der z-Achse orientiert:

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & b & a \\ 0 & -a & b \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I_x \\ I_y \\ I_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I_x \\ b \cdot I_y + a \cdot I_z \\ b \cdot I_z - a \cdot I_y \end{pmatrix}. \quad [33]$$

Der für $a, b \neq 0$ gültige *Average Hamiltonian* $\overline{\mathcal{H}}_D$ ergibt sich in diesem Koordinatensystem zu

$$\begin{aligned} \overline{\mathcal{H}}_D' = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2}(a^2 + b^2) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x \right. \\ \left. + \frac{1}{4}(a^2 + b^2) \left\{ \left(\frac{a}{b} \right) (3\overline{\sin^2 \beta} - 2) - \left(\frac{b}{a} \right) (1 - 3\overline{\sin^2 \beta}) \right\} (I_y S_z + I_z S_y) \right\} \end{aligned} \quad [34]$$

Ist der Magnetisierungsvektor auf 1 normiert vereinfacht sich dieser Ausdruck:

$$\overline{\mathcal{H}}_D' = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1 + a^2 - 3\overline{\sin^2 \beta}}{4a\sqrt{1 - a^2}} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}. \quad [35]$$

Da Glg. [35] abgeleitet ist vom Hamilton-Operator

$$\mathcal{H}_D = 2\pi D_{12} \left\{ I_z S_z - \frac{1}{2} \cdot I_x S_x - \frac{1}{2} \cdot I_y S_y \right\},$$

mit der Norm $|\mathcal{H}_D| = \pi |D_{12}| \sqrt{1^2 + (-1/2)^2 + (-1/2)^2} = \pi |D_{12}| \sqrt{1.5}$, muß der Vorfaktor von $(I_y S_z + I_z S_y)$ im Bereich von -1 bis 1 liegen. Der mögliche Transfer unter diesen Bedingungen wird im nächsten Abschnitt diskutiert, wobei zu beachten ist, daß nach der obigen Koordinatentransformation alle Magnetisierung, unabhängig von der ursprünglichen Ausrichtung des Magnetisierungsvektors, als z-Magnetisierung vorliegt. Um Aussagen über den insgesamt möglichen „reinen“ Transfer treffen zu können, ist es daher lediglich notwendig, den möglichen z-Transfer zu betrachten.

7.2.1.4 Einfluß phasenalternierender Superzyklen auf die gemittelten Hamilton-Operatoren kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen

Die Basissequenzen der gebräuchlichen phasenalternierenden, kreuzrelaxationskompensierten TOCSY-Sequenzen werden mit den phasenalternierenden Superzyklen MLEV-4 bzw. MLEV-16 expandiert (siehe Tabelle 1), wohingegen sich die bisher diskutierten gemittelten Hamilton-Operatoren phasenalternierender Sequenzen alle auf die kleinste aus der Basissequenz ableitbare zyklische Einheit beziehen. Letztere ist in der Regel nicht identisch mit dem grundlegenden *Composite*-Puls einer TOCSY-Sequenz, da dieser zumeist nicht zyklisch ist. So entspricht beispielsweise der *Composite*-Puls der TOWNY-Sequenz einem 165_x° -Puls und

der der DIPSI-2rc-Sequenz einem 180_x° -Puls. Bei der Diskussion von Superzyklen mittels der *Average Hamiltonian*-Theorie ist es daher notwendig, zunächst die durch die Expansion der Basissequenz entstandenen zyklischen Elemente zu ermitteln.

Betrachten wir zunächst den MLEV-16-Superzyklus, der zur Expansion der TOWNY-Sequenz genutzt wird. Wendet man diesen auf eine TOCSY-Sequenz an, so wird der Basiszyklus acht mal mit Originalphasen verwendet (R) und acht mal mit um 180° invertierten Phasen (\bar{R}): $RR\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}\bar{R}$. Ist im allgemeinen Fall der Composite-Puls R nicht zyklisch, so treten trotzdem durch die Verwendung des phaseninvertierten Composite-Pulses \bar{R} im MLEV-16-Zyklus zyklische Elemente auf. So beinhaltet die expandierte TOWNY-Sequenz

$$R_{cyc}^1 R_{cyc}^2 \overline{R_{cyc}^2 R_{cyc}^2} R_{cyc}^2 \overline{R_{cyc}^1 R_{cyc}^1}$$

die zyklischen Elemente

$$R_{cyc}^1 = TTT\bar{T}\bar{T} \text{ und } R_{cyc}^2 = \bar{T}\bar{T},$$

wobei T der TOWNY-Basissequenz (Tabelle 1) entspricht. Zu beachten ist, daß beide zyklischen Elemente gleichoft nicht-invertiert wie invertiert verwendet werden. Im Prinzip das gleiche Bild ergibt sich für die DIPSI-2rc-Sequenz, deren Basissequenz mit MLEV-4 ($R\bar{R}\bar{R}\bar{R}$, siehe Tabelle 1) expandiert wird. Die expandierte Sequenz

$$R_{cyc} \overline{R_{cyc}}$$

beinhaltet das zyklische Element

$$R_{cyc} = \bar{D}D,$$

worin D der DIPSI-2rc-Basissequenz entspricht (Tabelle 1). Zu beachten ist hier wiederum, daß das zyklische Element genausooft invertiert wie nicht-invertiert vorkommt.

Da für jedes zyklische Element der expandierten TOWNY- bzw. DIPSI-2rc-Sequenz ein *Average Hamiltonian* definiert werden kann, gilt für deren gemittelte Hamilton-Operatoren:

$$\overline{H}_{TOWNY} = \frac{1}{2(\tau_{cyc}^1 + 2\tau_{cyc}^2)} \left(\overline{H}_{cyc}^1 \cdot \tau_{cyc}^1 + \overline{H}_{cyc}^{1,inv} \cdot \tau_{cyc}^1 + 2 \cdot \overline{H}_{cyc}^2 \cdot \tau_{cyc}^2 + 2 \cdot \overline{H}_{cyc}^{2,inv} \cdot \tau_{cyc}^2 \right)$$

und

$$\overline{H}_{DIPSI2-rc} = \frac{1}{2\tau_{cyc}} \left(\overline{H}_{cyc}^1 \cdot \tau_{cyc} + \overline{H}_{cyc}^{1,inv} \cdot \tau_{cyc} \right)$$

(der Indize „*inv*“ bezeichnet gemittelte Hamilton-Operatoren für invertierte zyklische Elemente). Da der $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ -Term (siehe Glg. [17]) sein Vorzeichen ändert, wenn sich die Phase aller in die Mittelung einbezogenen Pulse um 180° ändert, und invertierte bzw. nichtinvertierte zyklische Elemente jeweils gleichoft vorkommen, werden durch die Superzyklus-Expansion alle mit $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ skalierten Terme aus dem gemittelten Hamilton-Operator der expandierten Sequenz entfernt. Für die gemittelten Hamilton-Operatoren von TOWNY und DIPSI-2rc gilt daher:

$$\overline{H}_{TOWNY} = \overline{H}_{DIPSI2-rc} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x \right\}.$$

In entsprechender Weise ergibt sich der gemittelte Hamilton-Operator einer für y-Transfer kreuzrelaxationskompensierten, phasenalternierenden Sequenz die mit MLEV-4 oder MLEV-16 expandiert wurde zu

$$\overline{H}_{MLEV}^y = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_y S_y - \frac{1}{2} I_x S_x \right\}.$$

Ist sowohl a als auch b ungleich Null, so tritt auch in der Definition der effektiven Kreuzrelaxationsrate (Glg. [15]) ein $\overline{\sin \beta \cos \beta}$ -Term auf, der durch Superzyklen wie MLEV-4 oder MLEV-16 ausgemittelt wird:

$$\sigma_{eff}^{MLEV} = \left\{ a^2 \cdot \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) + b^2 \cdot \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) \right\} \sigma_{NOE}. \quad [36]$$

Für eine kreuzrelaxationskompensierte Sequenz ($\sigma_{eff}^{MLEV} = 0$) folgt daraus:

$$3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} (a^2 - b^2) + (b^2 - 2a^2) = 0$$

bzw. (falls der Magnetisierungsvektor normiert ist)

$$3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} (2a^2 - 1) + (1 - 3a^2) = 0.$$

Damit ergibt sich ein Ausdruck für $\overline{\sin^2 \beta}$:

$$\overline{\sin^2 \beta} = \frac{(2a^2 - b^2)}{3(a^2 - b^2)} = \frac{a^2 + (a^2 - b^2)}{3(a^2 - b^2)} = \frac{a^2}{3(a^2 - b^2)} + \frac{1}{3} = \frac{1}{3} \left(\frac{a^2}{a^2 - b^2} + 1 \right) \quad [37]$$

bzw. (Normierung)

$$\overline{\sin^2 \beta} = \frac{1}{3} \left(\frac{a^2}{2a^2 - 1} + 1 \right). \quad [38]$$

Der *Average Hamiltonian* einer solchen Sequenz ist im Resonanzfall gegeben durch

$$\begin{aligned} \overline{\mathcal{H}} &= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} \left(3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} - 2 \right) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1}{2} \left(1 - 3 \cdot \overline{\sin^2 \beta} \right) I_y S_y \right\} \\ &= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{a^2}{a^2 - b^2} - 1 \right) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} \left(\frac{a^2}{a^2 - b^2} \right) I_y S_y \right\} \\ &= 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{a^2}{2a^2 - 1} - 1 \right) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} \left(\frac{a^2}{2a^2 - 1} \right) I_y S_y \right\}. \end{aligned} \quad [39]$$

Um diese Gleichung zu überprüfen, wurde willkürlich ein aus zwei 10° -Pulsen mit um 180° verschiedener Phase bestehender Composite-Puls gewählt, der mit MLEV-4 (Typ B, s. Tab. 1) expandiert wurde:

$$\varphi_1 = 10_x^\circ,$$

$$\varphi_2 = 10_{-x}^\circ,$$

$$\varphi_3 = 10_{-x}^\circ,$$

$$\varphi_4 = 10_x^\circ,$$

$$\varphi_5 = 10_{-x}^\circ,$$

$$\varphi_6 = 10_x^\circ,$$

$$\varphi_7 = 10_x^\circ$$

und

$$\varphi_8 = 10_{-x}^\circ.$$

Diese Sequenz ist für $a = 0.5744$ und $b = \sqrt{1-a^2} = 0.818575$ kreuzrelaxationskompensiert. Der für sie analytisch berechnete gemittelte Hamilton-Operator ergibt sich gemäß Glg. [39] zu

$$\bar{\mathcal{H}}_D^{\text{analytisch}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.985015) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - (0.485015) I_y S_y \right\}.$$

Zum Vergleich der numerisch durch SIMONE berechnete gemittelte Hamilton-Operator:

$$\bar{\mathcal{H}}_D^{\text{SIMONE}} = 2\pi D_{12} \left\{ (0.985) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - (0.485) I_y S_y \right\}.$$

Um den insgesamt möglichen Transfer berechnen zu können, ist es sinnvoll, eine Koordinatentransformation durchzuführen, die den Magnetisierungsvektor, unabhängig vom Wert von a und b , entlang der z-Achse orientiert (siehe Glg. [33]). Der *Average Hamiltonian* ergibt sich im neuen Koordinatensystem zu:

$$\bar{\mathcal{H}} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} (a^2 + b^2) I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} \left(\frac{a^3 b + a b^3}{a^2 - b^2} \right) (I_y S_z + I_z S_y) \right\} \quad [40]$$

bzw. (wenn a und b normiert sind):

$$\bar{\mathcal{H}} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} \frac{a \cdot \sqrt{1-a^2}}{2a^2-1} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}. \quad [41]$$

7.2.1.5 Möglicher „reiner“ dipolarer Transfer unter den abgeleiteten Hamilton-Operatoren

Für alle folgenden Betrachtungen, gehen wir davon aus, daß der Magnetisierungsvektor auf 1 normiert ist ($a^2 + b^2 = 1$). Folgende, im vorangegangenen Abschnitt abgeleitete, gemittelte Hamilton-Operatoren stehen zur Diskussion (vergl. Glg. [29], Glg. [30] und Glg.[35]):

$$1.) \bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} (I_y S_z + I_z S_y) \right\},$$

$$2.) \bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left\{ -\frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} I_y S_y + \frac{3}{2} \overline{\sin \beta \cos \beta} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$$

und

$$3.) \bar{\mathcal{H}}'_D = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x - \frac{1+a^2-3\sin^2 \beta}{4a\sqrt{1-a^2}} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.$$

In den Fällen 1 und 3 (betrachtet im gekippten Koordinatensystem) geht es um „reinen“ dipolaren z-Transfer, im Falle 2 um „reinen“ dipolaren y-Transfer (siehe dazu den vorangegangenen Abschnitt). Im Prinzip sind alle drei Fälle identisch, bis auf den möglichen Wertebereich des Vorfaktors von $(I_y S_z + I_z S_y)$: in den Fällen 1 und 2 (stellvertretend für $a = 0 / b = 1$ bzw. $a = 1 / b = 0$) läßt sich dieser auf den Bereich zwischen -0.75 und 0.75 beschränken, im Falle 3 (stellvertretend für die Fälle $a, b \neq 0$) nur auf den Bereich zwischen -1 und 1 .

Eine numerische Simulation des möglichen z-Transfers unter dem gemittelten Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi D \left\{ -\frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} I_z S_z + k \cdot (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$ mit $D = 20$ Hz und Werten von k im Bereich zwischen -1 und 1 bei z-Transfer findet sich in Abbildung 8. Der dort dargestellte Transfer ist symmetrisch in bezug auf das Vorzeichen von k , die Transfereffizienz $q_z^{ct,inh}$ liegt im Bereich zwischen -0.853 bis 0.79 . Zu erkennen ist, daß effizienter „reiner“ dipolarer Transfer prinzipiell möglich ist, wenn $|k|$ größer ca. 0.2 wird. Ob solche Werte allerdings bei

praxistauglichen „reinen“ Sequenzen erreicht werden können, ist fraglich. Für die minimale zyklische Einheit der DIPSI-2rc- und der TOWNY-Sequenz (ohne Superzyklus-Expansion und genau kreuzrelaxationskompensiert) wird $|k|$ zumindest nicht größer als 0.09734.

Wie aber wirkt sich die Superzyklus-Expansion auf die Transfer-Eigenschaften „reiner“ TOC-SY-Sequenzen aus? Zur Diskussion stehen folgende Hamilton-Operatoren (siehe oben):

$$4.) \bar{H}_{MLEV}^z = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x \right\},$$

$$5.) \bar{H}_{MLEV}^y = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_y S_y - \frac{1}{2} I_x S_x \right\}$$

und

$$6.) \bar{\mathcal{H}} = 2\pi D_{12} \left\{ \frac{1}{2} I_z S_z - \frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} \frac{a \cdot \sqrt{1-a^2}}{2a^2-1} (I_y S_z + I_z S_y) \right\}.$$

Sowohl im Fall 4 als auch 5 ist im *Average Hamiltonian* neben dem bilinearen x-Operator nur ein bilinearer Term enthalten, der mit dem Anfangs-Dichteoperator kommutiert. Damit kann in keinem dieser Fälle „reiner“ dipolarer Transfer stattfinden.

Der gemittelte Hamilton-Operator im Fall 6 weist die gleiche Struktur auf wie Hamilton-Operator im Fall 3, allerdings sind die Skalierungsfaktoren des $(I_y S_z + I_z S_y)$ -Terms verschieden. Beide haben allerdings einen maximalen Wertebereich zwischen -1 und 1 (Vergleich mit der Normierung des Hamilton-Operators der freien Evolution). Dies kann im Fall 6 zur Einschränkung der möglichen Werte von a bzw. b genutzt werden, ebenso wie die Tatsache, daß $|\overline{\sin^2 \beta}| \leq 1$ sein muß. Mit den genannten Kriterien läßt sich ausschließen, daß für Winkel $\varphi = \arctan(b/a)$ im Bereich zwischen $\varphi = 35.26^\circ$ und $\varphi = 52.018^\circ$ „reiner“ dipolarer Transfer möglich ist.

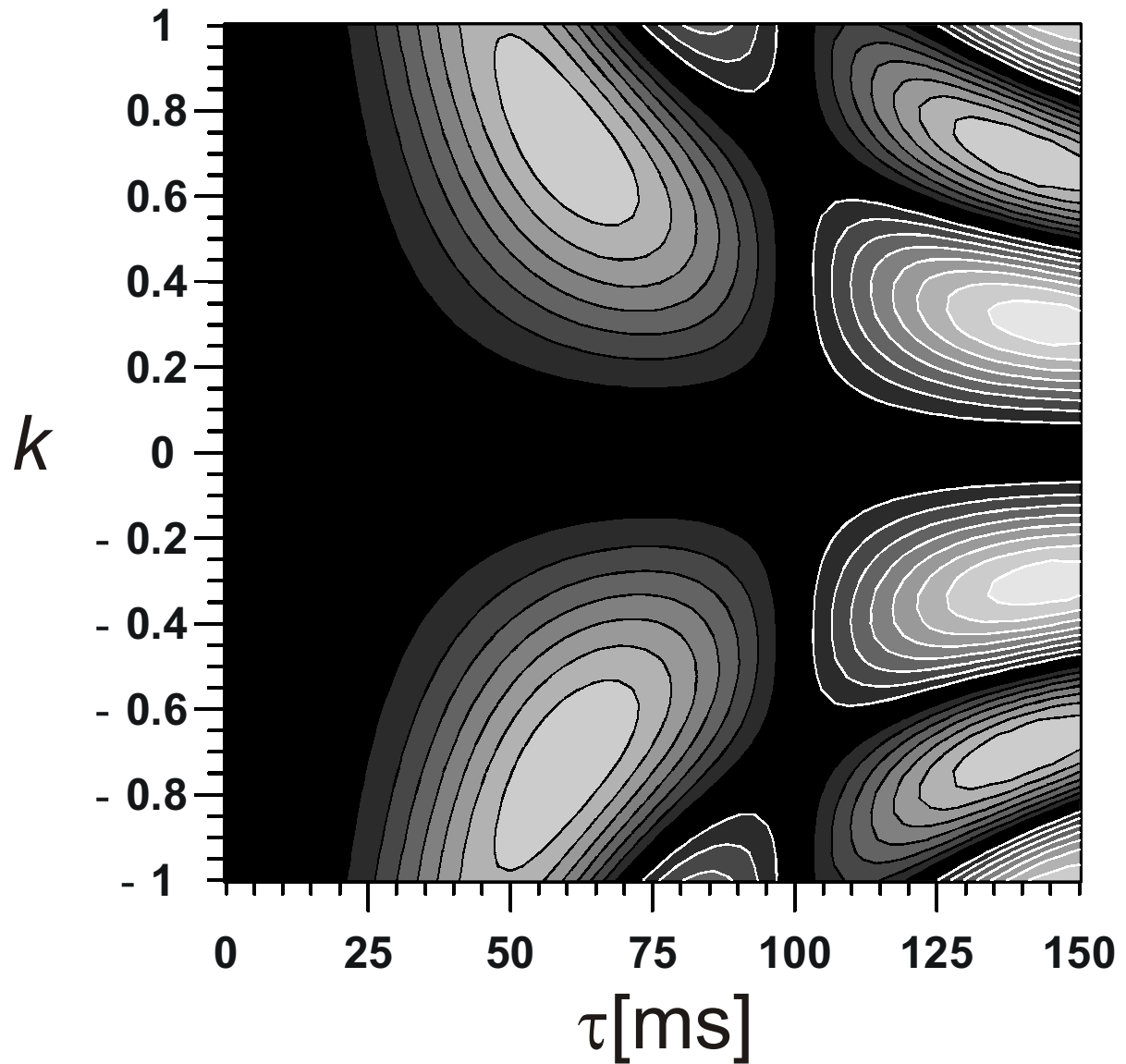


Abbildung 8: Numerische Simulation des z-Transfers unter dem gemittelten Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}_D = 2\pi D \left\{ -\frac{1}{2} I_x S_x + \frac{1}{2} I_z S_z + k \cdot (I_y S_z + I_z S_y) \right\}$ für $k = -1$ bis 1 und $\tau = 0$ bis 150 ms. Es wurde von einer residualen dipolaren Kopplungskonstante $D = 20$ Hz und einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

7.2.1.6 Gedanken zur Gültigkeit der abgeleiteten Beziehungen in Hinblick auf unterschiedliche Arten kreuzrelaxationskompensierter phasenalternierender Sequenzen

Die Kreuzrelaxationskompensation von Hartmann-Hahn-Sequenzen läßt sich auf fünf prinzipiell verschiedene Arten erreichen (3):

- A) Zur Kompensation wird nur ein einziges Delay Δ verwendet, das nach der kompletten Hartmann-Hahn-Mischperiode τ_m eingefügt wird, mit $\Delta \approx \tau_m / 2$ (73).
- B) Refokussierte, kompensierende Delays werden nach jeweils n (mit $n = 1, 2, 3, \dots$) Basissequenz-Bausteinen S_b in die Sequenz eingebaut (74).
- C) Delays (refokussiert durch ein Paar von 180° -Pulsen) werden *vor* und *nach* jedem *Composite*-Puls R der Basissequenz eingeführt (33).
- D) Kompensierende Delays werden während dem *Composite*-Puls R eingeführt (d. h. nach einem oder mehreren Rechteck-Pulsen), immer dann, wenn die Magnetisierung auf einer invarianten Trajektorie entlang der z -Achse orientiert ist (63, 71).
- E) Pulsamplituden und/oder Pulsdauern, Pulsphasen werden während der Hartmann-Hahn-Mischperiode τ_m so geschickt variiert, daß Kreuzrelaxationskompensation vollkommen ohne Delays erreicht wird (72, 75).

Die Gültigkeit der *Average Hamiltonian Theory* (AHT, siehe Kap. 2) ist in den Fällen C-E für $\sigma_{ROE}^{ij} / \sigma_{NOE}^{ij} = -2$ praktisch immer gewährleistet, da die Dauer der (wenn überhaupt) eingefügten Delays in der Praxis maximal ca. der Hälfte der Gesamt-Pulsdauer entspricht (z. B. ist für Clean CITY $\sum \Delta / \sum \tau_p = 144/546 = 0.26$, für DIPSI-2rc $\sum \Delta / \sum \tau_p = 1296/2590 = 0.50$ und für Clean MLEV-16 $\sum \Delta / \sum \tau_p = 90/180 = 0.50$). Dementsprechend liegen die Zykluszeiten kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen dieser Art in der Regel nicht wesentlich über denen nicht-kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen. Dagegen muß man bei Sequenzen gemäß A) von einer im zwei- bis dreistelligen Millisekunden-Bereich liegenden Zykluszeit $\tau_{cyc} \approx 1.5 \cdot \tau_m$ ausgehen, viel zu lang für Kopplungskonstanten im Bereich von 10 bis 20 Hz, als daß der *Average Hamiltonian* nullter Ordnung noch eine gute Näherung für den effektiven Hamilton-Operator darstellen könnte. Nach Methode B) aufgebaute Sequenzen stellen Grenzfälle dar, bei denen die Anwendbarkeit der AHT im Einzelfall überprüft werden muß.

7.2.2 Neue „reine“, für dipolaren Transfer geeignete homonukleare Hartmann-Hahn-Mischsequenzen

Die Tatsache, daß

- 1.) phasenalternierende, für den Spindiffusions-Grenzfall ($\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$) kreuzrelaxationskompensierte Sequenzen, die mit den phasenalternierenden Superzyklen MLEV-4 oder MLEV-16 expandiert sind, keinen „reinen“ dipolaren x-, y- oder z-Transfer zulassen

und

- 2.) die Kreuzrelaxationskompensation in der Regel durch die Struktur des grundlegenden Composite-Pulses erreicht wird und der Superzyklus in der Regel die Offsetabhängigkeit dieser Eigenschaft und der Transfereffizienz günstig beeinflusst,

ließ es möglich erscheinen, daß durch den Austausch eines phasenalternierenden gegen einen nicht-phasenalternierenden Superzyklus die dipolaren Transfereigenschaften einer für den Spindiffusions-Grenzfall kreuzrelaxationskompensierten Sequenz deutlich verbessert werden könnten, ohne die anderen Charakteristika der Sequenz zu zerstören. Die sich schon im Zusammenhang mit den MOCCA-Sequenzen bewährenden, nicht-phasenalternierenden, XY-Phasenzyklen (52, 53) erschienen in diesem Zusammenhang eine gute Wahl. Die Charakteristika der so erhaltenen neuen Klasse kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen sind in den Abbildungen 9 bis 12 dokumentiert, die jeweils die Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_{\alpha}^{inh}(\tau_{opt})$ im Falle von kreuzrelaxationskompensiertem skalaren ($J = 10$ Hz, $D = 0$ Hz) bzw. dipolaren ($J = 0$ Hz, $D = 20$ Hz) Transfer, die Offsetabhängigkeit des auf der Methode der invarianten Trajektorie basierenden Qualitätsfaktors $q_{\alpha}^{NOE}(v_1, v_2)$ und (für den Resonanzfall) die Veränderung von $T_{\alpha}^{inh}(\tau)$ im Bereich von $\tau = 0$ bis 200 ms beinhalten. Die Parameter und Resultate dieser Simulationen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt (alle Angaben bezüglich der Transfereigenschaften beziehen sich auf die Übertragung der jeweiligen „reinen“ Komponente).

<i>Neue „reine“ homonukleare Hartmann-Hahn-Mischsequenzen</i>								
Sequenz („reiner“ Transfer)	Grundlegender Composite-Puls R	Δ	Expansion	Bandbreite [Hz]		Dipolarer Transfer		
				skalar	dipolar	$\tau_{opt}[ms]$	$T_{\alpha}^{inh}(\tau_{opt})$	
Clean CITY-XY16 (z)	$\Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta 48_{-x}^{\circ} 276_x^{\circ}$ $48_{-x}^{\circ} \Delta 180_y^{\circ} 2 \Delta 180_y^{\circ} \Delta$	48°	XY-16	8561	7392	106	0.97	
DIPSI-2rc-XY4 (z)	$180_x^{\circ} \Delta 140_x^{\circ} 320_{-x}^{\circ} \Delta 90_{-x}^{\circ}$ $270_x^{\circ} \Delta 20_x^{\circ} 200_{-x}^{\circ} \Delta 85_{-x}^{\circ} 30_x^{\circ}$ $125_{-x}^{\circ} \Delta 120_{-x}^{\circ} 300_x^{\circ} \Delta 75_x^{\circ}$ $255_{-x}^{\circ} \Delta 10_{-x}^{\circ} 190_x^{\circ} \Delta 180_x^{\circ} \Delta$	144°	XY-4	6760	8730	104	0.99	
DIPSI-2rc-XY16 (z)	$180_x^{\circ} \Delta 140_x^{\circ} 320_{-x}^{\circ} \Delta 90_{-x}^{\circ}$ $270_x^{\circ} \Delta 20_x^{\circ} 200_{-x}^{\circ} \Delta 85_{-x}^{\circ} 30_x^{\circ}$ $125_{-x}^{\circ} \Delta 120_{-x}^{\circ} 300_x^{\circ} \Delta 75_x^{\circ}$ $255_{-x}^{\circ} \Delta 10_{-x}^{\circ} 190_x^{\circ} \Delta 180_x^{\circ} \Delta$	144°	XY16	6811	8701	105	1.00	
TOWNY-XY16 (z)	$15_x^{\circ} 75_{-x}^{\circ} 270_x^{\circ} 45_{-x}^{\circ}$	-	XY16	5788	7909	104	0.99	

Tabelle 2: Eigenschaften kreuzrelaxationskompensierter Sequenzen. Die Dauer der Delays Δ ist gegeben durch den Rotationswinkel eines Pulses gleicher Länge, unter der Annahme $\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$. Die Angaben zur Bandbreite beziehen sich auf den zentralen Frequenzbereich innerhalb dessen $|T_{\alpha}^{inh}|$ nicht unter 0.5 abfällt (bzw. unter 6 dB des Idealwertes von 1) und auf eine mittlere Leistung $v_{rf}^{rms} = 10$ kHz der Sequenz. Expansionsschemata: XY4 = XYXY, XY-16 = XYXY YXYX \overline{XYXY} \overline{YXYX} . Dipolarer Transfer: $J = 0$ Hz, $D = 20$ Hz; skalarer Transfer: $J = 10$ Hz, $D = 0$ Hz.

Auffällig ist, daß für die in Tabelle 2 angegebenen Sequenzen, die maximale dipolare Bandbreite (DIPSI-2rc-XY4) die maximale skalare Bandbreite (Clean CITY-XY-16) übertrifft. Der dipolare Skalierungsfaktor liegt für alle Sequenzen vom Betrag her bei ca. 0.5, so daß sich die Sequenzen im wesentlichen über die Bandbreiten unterscheiden:

$$\mathcal{H}_{D,eff}^{Clean\,CITY-XY16} = 2\pi D_{12} \left\{ 0.50 \cdot I_z S_z - 0.25 \cdot I_x S_x - 0.25 \cdot I_y S_y \right\},$$

$$\mathcal{H}_{D,eff}^{DIPSI-2rc\,XY\,4/16} = 2\pi D_{12} \left\{ 0.49 \cdot I_z S_z - 0.24 \cdot I_x S_x - 0.24 \cdot I_y S_y \right\}$$

und

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{D,eff}^{TOWNY} = 2\pi D_{12} \left\{ 0.49 \cdot I_z S_z - 0.24 \cdot I_x S_x - 0.25 \cdot I_y S_y \right. \\ \left. + 0.01 \cdot (I_x S_y + I_y S_x + I_x S_z + I_z S_x + I_y S_z + I_z S_y) \right\}. \end{aligned}$$

Wie man erkennen kann, tritt auch unter dem XY-16-Phasenzzyklus kein nennenswerter $(I_y S_z + I_z S_y)$ -Term im gemittelten Hamilton-Operator auf. Da die *Composite*-Pulse der „reinen“ TOCSY-Sequenzen in der Regel nicht zyklisch sind, bewirkt die Substitution des MLEV-4- bzw. MLEV-16- durch einen XY-Phasenzzyklus tiefgreifende Veränderungen im *Average Hamiltonian* der Sequenz, was hier zur Wiedereinführung des bilinearen y-Terms und der Skalierung (Faktor ca. 0.5) des bilinearen x-Terms führt. Von den in Tabelle 2 vorgestellten Sequenzen ist lediglich die Clean CITY-XY16-Sequenz nicht aus einer phasenalterierenden Sequenz, wohl aber aus einer Sequenz mit schlechten dipolaren Transfereigenschaften hervorgegangen.

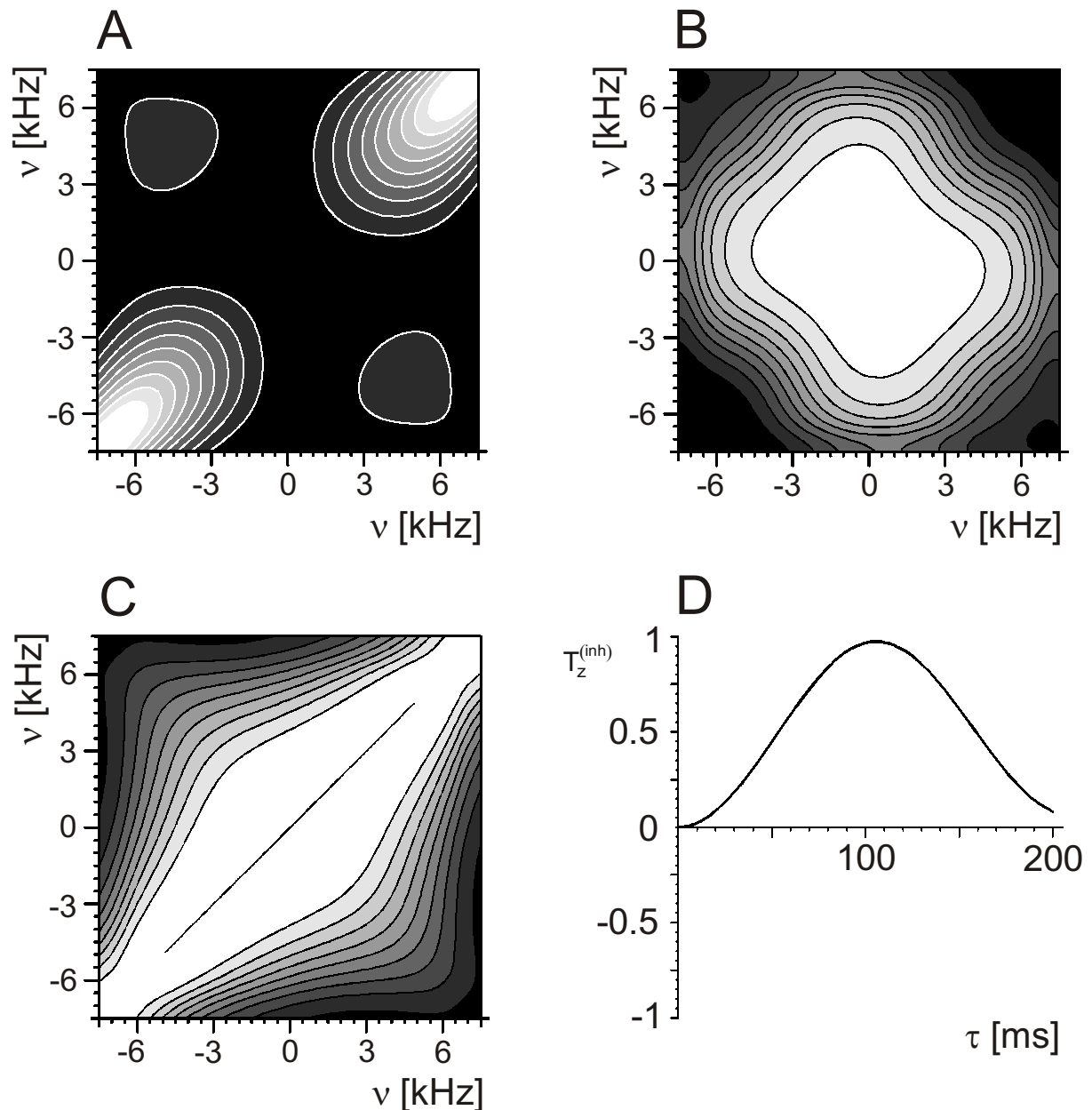


Abbildung 9: Charakteristika der Clean CITY-XY16-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

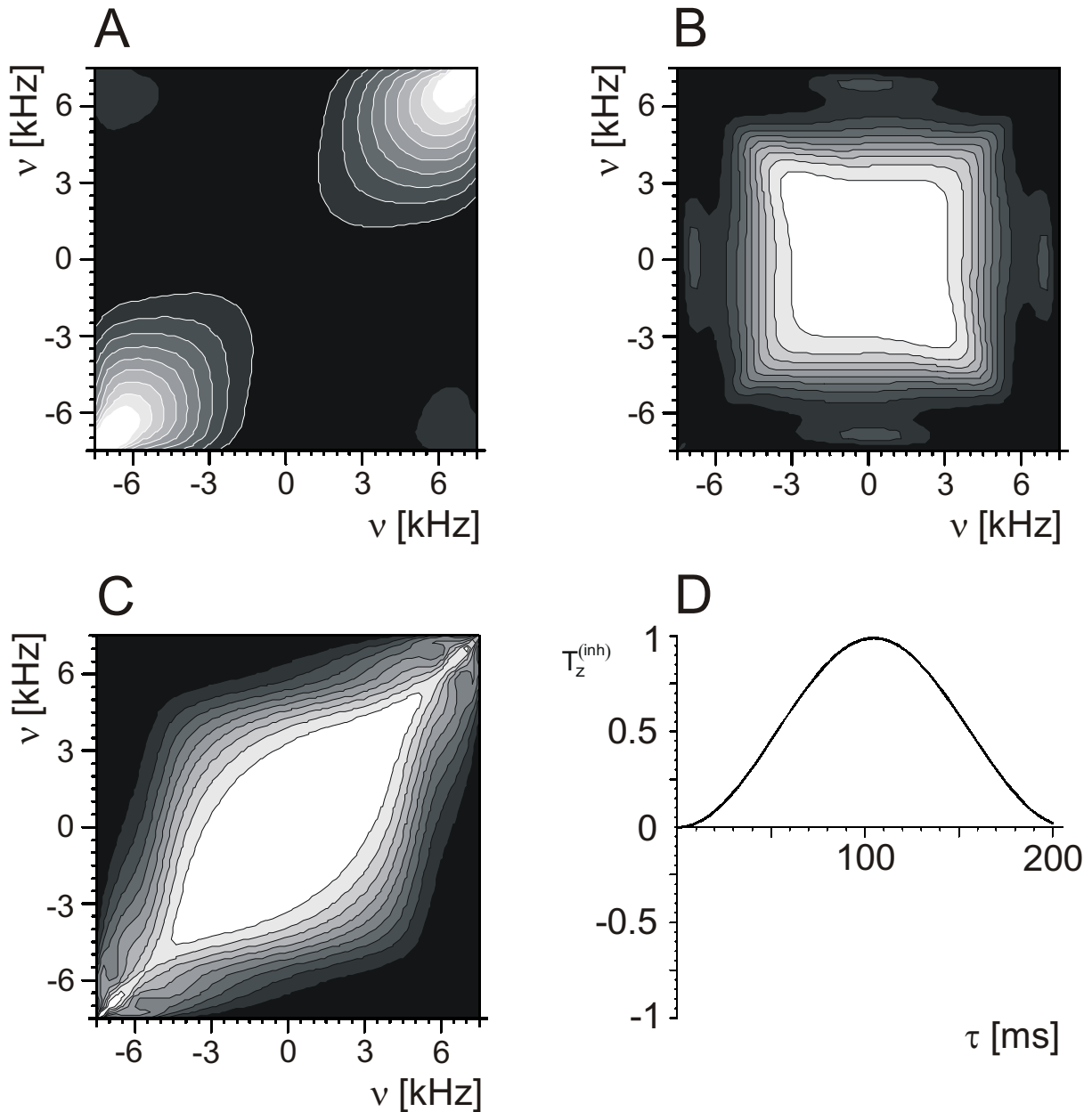


Abbildung 10: Charakteristika der DIPSI-2rc-XY4-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

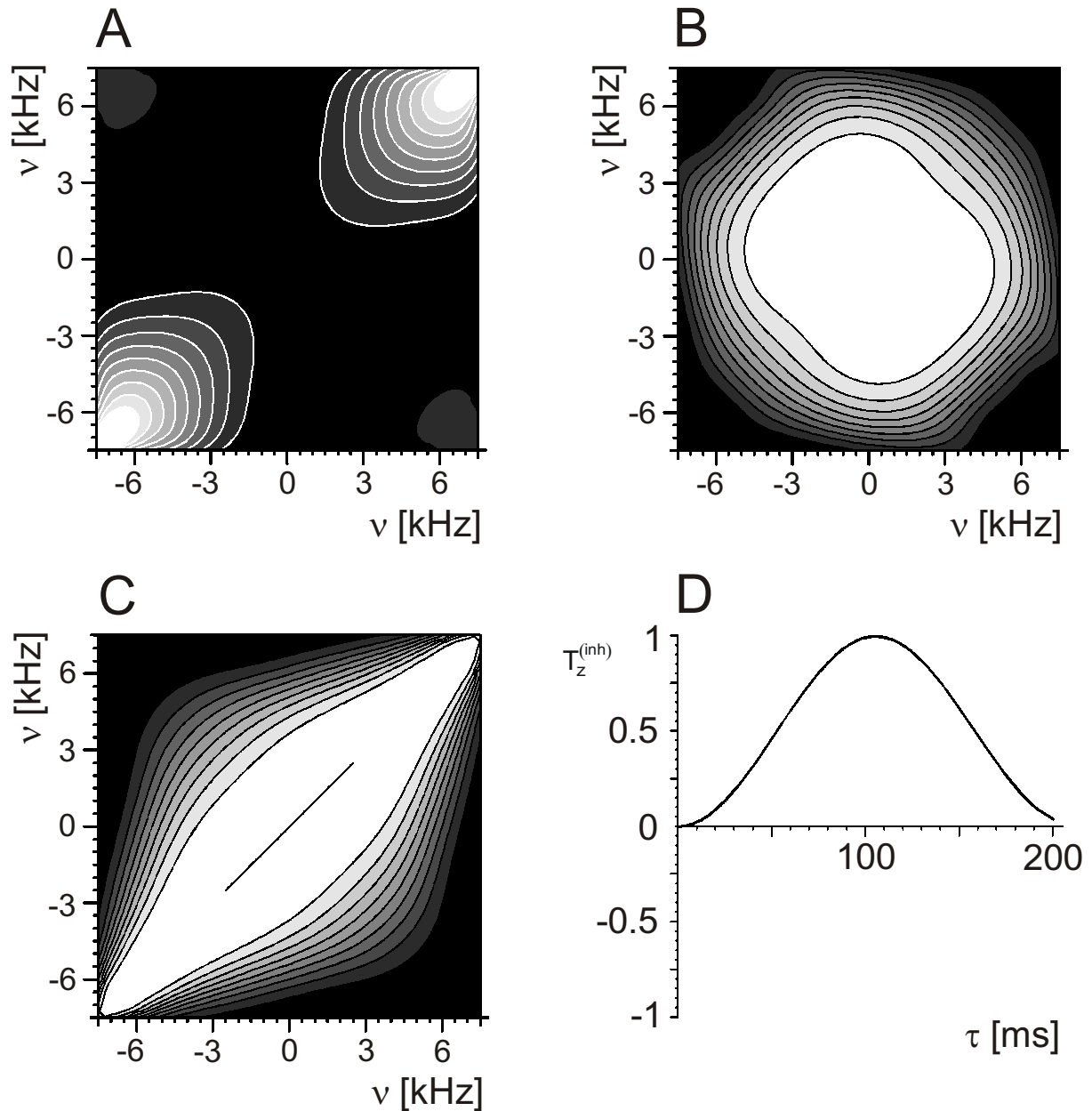


Abbildung 11: Charakteristika der DIPSI-2rc-XY16-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für $\pm 0.1, \pm 0.2, \dots, \pm 0.9$. Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

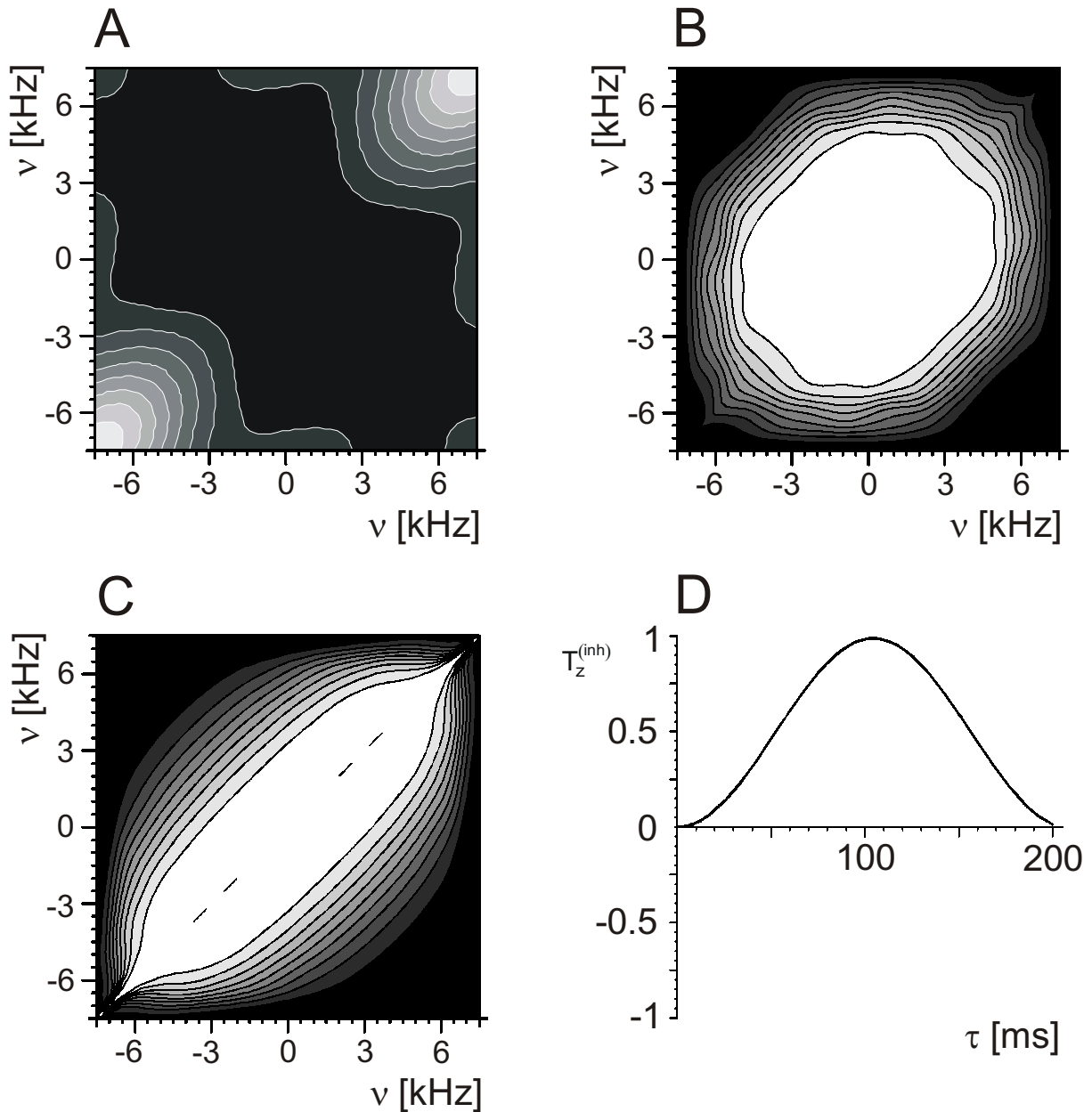


Abbildung 12: Charakteristika der TOWNY-XY16-Sequenz. A: Offsetabhängigkeit des Qualitätsfaktors $q_z^{NOE}(v_1, v_2)$ (Glg. [9]). B: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 0$ Hz und $D = 20$ Hz. C: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau_{opt})$ für $J = 10$ Hz und $D = 0$ Hz. D: Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $T_z^{inh}(\tau)$ im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Alle numerischen Berechnungen wurden mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt, für die Simulationen zu den Abbildungen B bis D wurde von einer Gaußschen RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % ausgegangen. Konturlinien (schwarz wenn positiv, weiß wenn negativ) werden gezeigt für ± 0.1 , ± 0.2 , ..., ± 0.9 . Flächen mit dem gleichen Wert von $|T_z^{inh}(\tau_{opt})|$ bzw. $|q_z^{NOE}|$ sind mit demselben Grauton ausgefüllt (z. B. schwarz für $|T_z^{inh}(\tau_{opt})| \leq 0.1$).

7.3 Schlußfolgerung

Die phasenalternierenden Sequenzen TOWNY und DIPSI-2rc ermöglichen im Spindiffusions-Grenzfall ($\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$) praktisch keinen „reinen“ dipolaren Transfer bei gleichzeitiger Unterdrückung von Kreuzrelaxation. Die vorgestellten theoretischen Ergebnisse untermauern diesen Befund und zeigen, daß (bei Anwendbarkeit der *Average Hamiltonian*-Theorie, siehe dazu Kapitel 2) mit phasenalternierenden, für den Spindiffusions-Grenzfall kreuzrelaxationskompensierten Sequenzen, die mit phasenalternierenden Superzyklen wie MLEV-4 oder MLEV-16 expandiert sind, generell kein „reiner“ x-, y-, oder z-Transfer möglich ist. Sequenzen dieser Art sind hervorragend geeignet für Anwendungen, bei denen effizienter skalarer Transfer erwünscht ist, es aber gleichzeitig auf die möglichst vollständige Unterdrückung von dipolarem Transfer und Kreuzrelaxationseffekten ankommt.

Von den in Tabelle 1 vorgestellten Sequenzen, ermöglicht nur Clean MLEV-16 bzw. Clean MLEV-17 effizienten dipolaren Transfer bei gleichzeitiger Unterdrückung von Kreuzrelaxation. Die Clean CITY-Sequenzen dagegen erreichen im Falle dipolaren Transfers nur etwa die Hälfte der maximal möglichen Transfereffizienz.

Die Substitution der phasenalternierenden Superzyklen MLEV-4 bzw. MLEV-16 durch entsprechende XY-Superzyklen macht TOWNY und DIPSI-2rc zu nicht-phasenalternierenden Sequenzen, die auch im Falle von Kreuzrelaxationskompensation (Spindiffusions-Grenzfall) effizienten dipolaren Transfer gewährleisten. Auch die dipolaren Transfereigenschaften der Clean CITY-Sequenz können auf diese Weise signifikant verbessert werden. Die Veränderung von einem phasenalternierenden hin zu einem nicht-phasenalternierenden Superzyklus, bewirkt zudem für alle in Tabelle 2 vorgestellten Sequenzen auch eine Vergrößerung der Bandbreite des „reinen“ skalaren Transfers. Generell lassen sich in Hinblick auf kreuzrelaxationskompensierten Transfer in Kombination mit dipolarem und/oder skalarem Transfer folgende Sequenzen empfehlen:

- Clean MLEV-17 (akzeptable Bandbreiten für transversalen dipolaren und skalaren Transfer),
- DIPSI-2rc-XY4 (größte Bandbreite für longitudinalen dipolaren Transfer)

und

- Clean CITY-XY16 (größte Bandbreite für longitudinalen skalaren Transfer).

Kapitel 8

Untersuchung von Entkopplungs-Artefakten in Spektren eines auf dipolaren Transfer optimierten SIAM-Experimentes

8.1 Messung kleiner Kopplungskonstanten mit Hilfe des SIAM-Experimentes

Kopplungskonstanten stellen wichtige Parameter für die Bestimmung der Konformation gelöster Moleküle dar (76). So lassen sich zum Beispiel aus der vicinalen $^3J(H^N, H^\alpha)$ -Kopplung in Peptiden und Proteinen mit Hilfe empirischer Karplus-Beziehungen Informationen über den Winkel ϕ des Peptid-Rückgrats ableiten (77). Probleme können bei der Messung von Kopplungskonstanten auftreten, die nicht deutlich größer sind als die Linienbreite der Signale (s. Abb. 1). In solchen Fällen werden in NOESY-(78, 79) und TOCSY-Spektren (3) zu kleine Kopplungen gemessen (Inphase-Signale), in DQF-COSY-Spektren (80, 81) dagegen zu große (Antiphase-Signale). Eine Lösung stellt das sog. SIAM-Experiment (17) dar, daß die simultane Aufnahme von Inphase- und Antiphase-Multipletts ermöglicht, d. h. ein Spektrum mit Antiphase-Signalen und ein Spektrum mit Inphase-Signalen liefert, die unter identischen experimentellen Bedingungen (insbesondere bei identischer Proben temperatur) aufgenommen wurden. Da sich die Linienbreite im Spektrum mit den Inphase-Multipletts in entgegengesetzter Weise auf die Größe der scheinbaren Kopplungskonstanten auswirkt wie im Spektrum mit den Antiphase-Multipletts (s. Abb. 1), wird es möglich, deren Einfluß auf die Messung insbesondere kleiner Kopplungskonstanten weitestgehend auszuschalten (Titman-Keeler-Verfahren (82)). Durch ω_1 -Entkopplung können Auflösung und Empfindlichkeit des SIAM-Experimentes deutlich gesteigert werden.

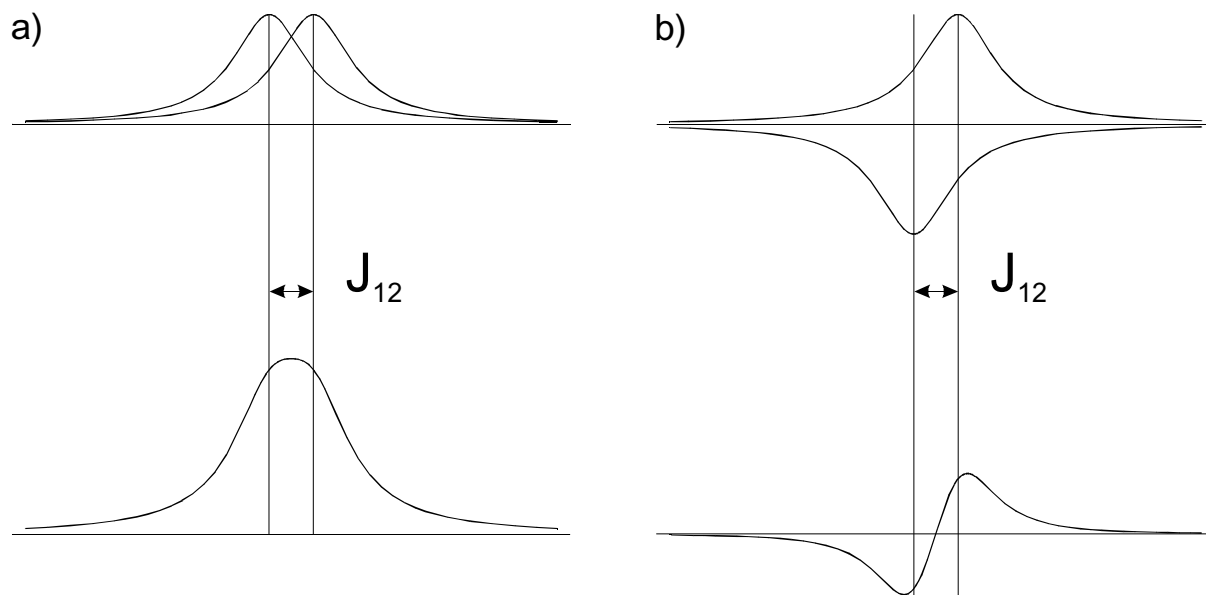


Abbildung 1: Abweichungen zwischen der tatsächlichen Kopplungskonstante J_{12} und den entsprechenden Signalaufspaltungen im Falle eines a) Inphase- und b) Antiphase-Dubletts, sofern die Linienbreite nicht wesentlich kleiner als J_{12} ist. In diesem Beispiel wurde die Linienbreite der Lorentzlinie halb so groß gewählt wie die Kopplungskonstante J_{12} , was dazu führt, daß beim überlagerten Inphase-Signal (a) keine Aufspaltung zu erkennen ist, während die scheinbare Aufspaltung des Antiphase-Signals (b) wesentlich größer ist als die zugrundeliegende Kopplung.

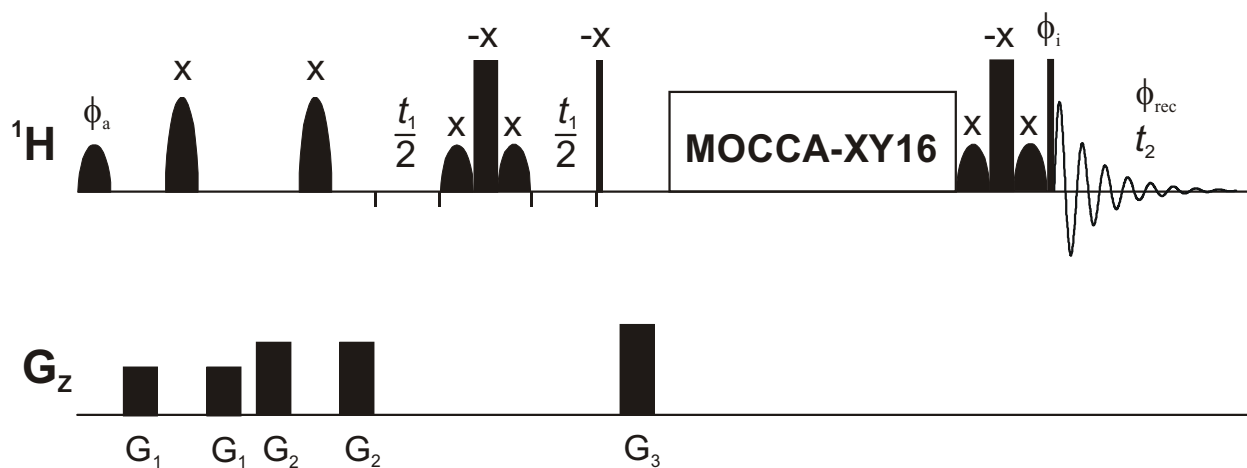


Abbildung 2: Pulssequenz des MOCCA-XY16-SIAM-Experimentes. Schmale Striche bezeichnen unselektive 90° -Pulse, breite Striche unselektive 180° -Pulse. Für die H^α -Region selektive 90° -Pulse (Q5-Pulse (83), Dauer 4.5 ms) sind durch kleine, glockenförmige Symbole symbolisiert, die entsprechenden 180° -Pulse (Q3-Pulse, Dauer 1.8 ms) durch große, glockenförmige Symbole. Die Phase ϕ_a wurde gemäß TPPI inkrementiert (84), für die anderen Phasen galt: $\phi_i = \phi_{\text{rec}} = x, -x$ (FID1) bzw. $y, -y$ (FID2).

8.2 Experimentell beobachtete Artefakte in SIAM-Spektren

Andreas Möglich und Michael Wenzler, beide aus dem Arbeitskreis Eike Brunner in Regensburg, führten Messungen mit dem SIAM-Experiment an einer durch Bizellen orientierten Probe von BPTI durch (18). Um das Experiment auf die Messung kleiner dipolarer Kopplungskonstanten zu optimieren, verwendeten sie als Multipuls-Baustein eine MOCCA-XY16-Sequenz (s. Abb. 2 u. Kapitel 4). Ausschnitte aus den aufgenommenen Spektren (s. Abb. 3) zeigen neben Signalen mit erwarteten Multipllett-Aufspaltungen auch Glycin-Signale (G28 und G57) mit einer zunächst nicht erkläraren, modifizierten Multipllett-Struktur. Für Glycin- 1H -Spinsysteme, bestehend aus H^N , H_α und $H_{\alpha'}$, erwartet man in der H^N - H_α -Region des SIAM-Experimentes nur zwei Kreuzpeaks auf Höhe der H^N -Resonanz ($\omega_2 = 2\pi\nu(H^N)$): einen bei $\omega_1 = 2\pi\nu(H_\alpha)$ und einen bei $\omega_1 = 2\pi\nu(H_{\alpha'})$. Zu sehen sind in Abb. 3 allerdings Glycin-Signale, die aus drei Komponenten bestehen, wobei der zusätzliche Kreuzpeak jeweils bei $\omega_1 = 2\pi(\nu(H_\alpha) + \nu(H_{\alpha'}))/2$ auftritt.

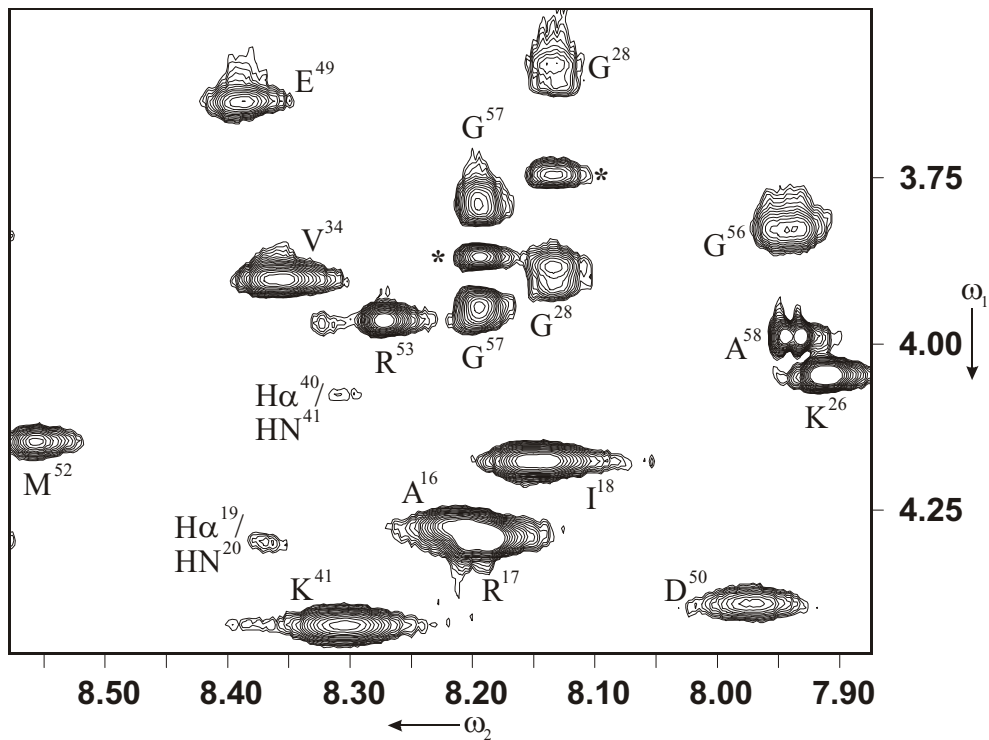
8.3 Untersuchung und Simulation der beobachteten Artefakte

Die Ausgangsvermutung bestand darin, daß die im Experiment aufgetretenen Artefakte aus homonuklearem TOCSY-Transfer zwischen H_α und $H_{\alpha'}$ resultierten, der während den bandselektiven Refokussierungspulsen, die nach $t_1/2$ auf die H_α - und $H_{\alpha'}$ -Spins angewendet werden (s. Abb. 2), aufgetreten sein müßte. Dieser Annahme entsprechend, sollte das Puls-Sandwich Gauß(90_x°)- 180_{-x}° -Gauß(90_x°) für zwei Spins I_1 und I_2 (entsprechend H_α und $H_{\alpha'}$) mit Resonanzfrequenzen in der aktiven Bandbreite des bandselektiven Inversionspulses einen effektiven Hamilton-Operator der Form

$$\mathcal{H}_{eff} \approx 2\pi J_{eff}(I_{1x}I_{2x} + I_{1y}I_{2y} + I_{1z}I_{2z}) \quad [1]$$

erzeugen (mit $J_{eff} \approx -15 \text{ Hz}$), der effizienten TOCSY-Transfer ermöglichen würde. Dabei ist zu beachten, daß aufgrund der selektiven Inversion der H_α - und $H_{\alpha'}$ - Spins die H^N -Spins

A



B

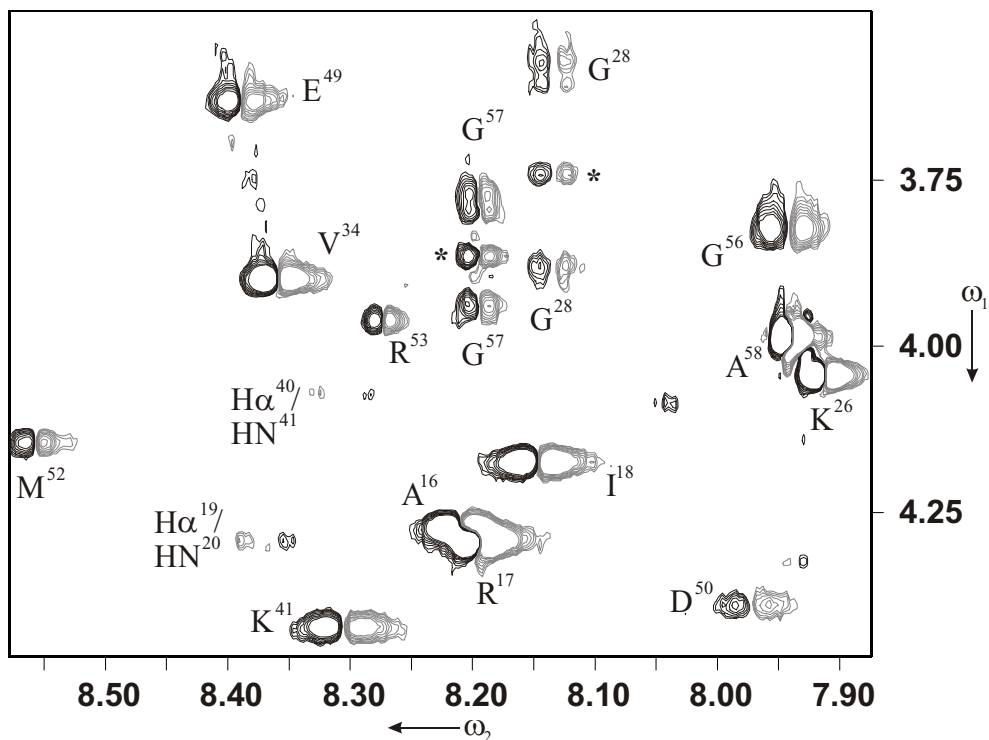


Abbildung 3: Nullquantenfilter-(ZQF-, Abb. A) und Doppelquantenfilter-(DQF-, Abb. B) SIAM-Spektren aufgenommen an einem Bruker DMX-500 Spektrometer bei 305.0 K. Artefakte in Form zusätzlicher Kreuzpeaks für Glycin-Reste mit nicht-degenerierten H^α -Protonen treten bei der gemittelten Resonanzfrequenz der beiden H^α -Protonen auf (siehe Sterne im Spektrum).

während der t_1 -Zeit als auch während der Dauer des Puls-Sandwichs von H_α und H_α' entkoppelt sind.

Unter dem effektiven isotropen Misch-Hamilton-Operator von Glg. [1], läßt sich die zeitliche Entwicklung der Dichteoperator-Terme $I_{1\alpha}$ für $\alpha, \beta, \gamma = \{x, y, z\}$ oder zyklische Permutationen davon, beschreiben gemäß (3)

$$I_{1\alpha} \rightarrow I_{1\alpha} \cos^2(\pi Jt) + (2I_{1\beta}I_{2\gamma} - 2I_{1\gamma}I_{2\beta}) \sin(\pi Jt) \cos(\pi Jt) + I_{2\alpha} \sin^2(\pi Jt). \quad [2]$$

Bilineare Dichteoperator-Terme entwickeln sich während der Dauer τ des Puls-Sandwichs in ähnlicher Weise:

$$2I_{1\beta}I_{2\gamma} \rightarrow 2I_{1\beta}I_{2\gamma} \cos^2(\pi Jt) + (I_{2\alpha} - I_{1\alpha}) \sin(\pi Jt) \cos(\pi Jt) + 2I_{1\gamma}I_{2\beta} \sin^2(\pi Jt) \quad [3]$$

bzw.

$$2I_{1\alpha}I_{2\gamma} \rightarrow 2I_{1\alpha}I_{2\gamma} \cos^2(\pi Jt) - (I_{2\beta} - I_{1\beta}) \sin(\pi Jt) \cos(\pi Jt) + 2I_{1\gamma}I_{2\alpha} \sin^2(\pi Jt). \quad [4]$$

Für den Anfangs-Dichteoperator $\rho(0) = I_{1x} + I_{2x}$ ergibt sich mit Glg. [2], [3] und [4] die zeitliche Änderung des Erwartungswertes $\langle I_{1x} + I_{2x} \rangle$ zu

$$\begin{aligned} \langle I_{1x} + I_{2x} \rangle(t_1) = & \cos(2\pi\nu_1 t_1) \{A \cos(\pi Jt_1) - B \sin(\pi Jt_1)\} \\ & + \cos(2\pi\nu_2 t_1) \{A \cos(\pi Jt_1) - B \sin(\pi Jt_1)\} \\ & + \cos(2\pi\bar{\nu} t_1) \{2C \cos(\pi Jt_1) + 2B \sin(\pi Jt_1)\} \end{aligned}$$

mit

$$\begin{aligned} A &= \cos^2(\pi J\tau), \\ B &= \cos(\pi J\tau) \sin(\pi J\tau), \\ C &= \sin^2(\pi J\tau), \end{aligned}$$

und

$$\bar{\nu} = \frac{\nu_1 + \nu_2}{2}.$$

Nach Fourier-Transformation in der t_1 -Dimension würde man also das erwartete Signal von Spin I_1 (entsprechend zu H_{α}) bei der Frequenz ν_1 und das erwartete Signal von Spin I_2 (entsprechend zu $H_{\alpha'}$) bei der Frequenz ν_2 finden. Jedes dieser Signale bestünde aus einem absorptiven Inphase-Dublett mit der Amplitude A und einem dispersiven Antiphase-Dublett mit der Amplitude $-B$. Zusätzlich fände man ein Signal bei der mittleren Frequenz $\bar{\nu} = (\nu_1 + \nu_2)/2$, das aus einem absorptiven Inphase-Dublett mit der Amplitude $2C$ und einem dispersiven Antiphase-Dublett mit der Amplitude $2B$ bestünde. Die Amplituden sind beispielsweise für $J = -15$ Hz und $\tau = 9.112$ ms gegeben durch $A = 0.83$, $B = -0.38$ und $C = 0.17$.

Um diese analytischen Resultate zu verifizieren, führte ich numerische Simulationen mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) für das Spinsystem von Glyzin-G57 mit den Offsets $\nu(H_{\alpha}) = 376.6$ Hz und $\nu(H_{\alpha'}) = 451.6$ Hz und einer Kopplungskonstante $J_{H_{\alpha}, H_{\alpha'}} = -15$ Hz durch. Die untersuchte Pulssequenz (s. Abb. 4) bestand aus einem aus zwei Gauß-Pulsen mit einer Dauer von jeweils 4.546 ms (Bandbreite ca. 1.4 kHz) und einem harten 180°_x -Puls mit einer Dauer von 20 μs zusammengesetzten Puls-Sandwich

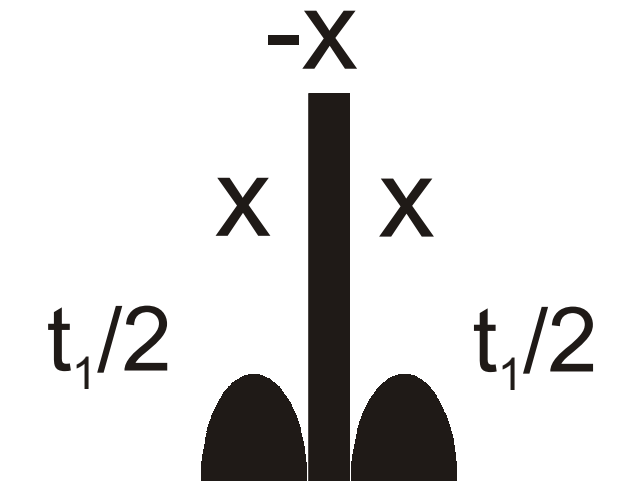


Abbildung 4: Für die numerischen Simulationen verwendete Pulssequenz

inmitten zweier Perioden $t_1/2$ variabler Länge. Der durch dieses bandselektive Inversions-Sandwich der Dauer $\tau = 2\tau_{\text{Gauss}} + \tau_{180^\circ} = 9.112 \text{ ms}$ (für $t_1/2 = 0 \text{ } \mu\text{s}$) erzeugte, numerisch berechnete effektive Hamilton-Operator

$$\begin{aligned}
 \mathcal{H}_{\text{eff}}(G57) = 2\pi \left(7.3 I_{1x} + 2.8 I_{1y} - 1.1 I_{1z} \right. \\
 + 6.4 I_{2x} + 4.2 I_{2y} - 2.2 I_{2z} \\
 - 14.2 I_{1x} I_{2x} - 14.5 I_{1y} I_{2y} - 14.4 I_{1z} I_{2z} \\
 - 1.4 I_{1x} I_{2y} + 1.7 I_{1y} I_{2x} - 2.7 I_{1x} I_{2z} \\
 \left. + 2.6 I_{1z} I_{2x} - 1.2 I_{1y} I_{2z} + 1.4 I_{1z} I_{2y} \right) \frac{1}{s}.
 \end{aligned} \tag{5}$$

ist in recht guter Übereinstimmung mit dem im Rahmen der analytischen Betrachtungen näherungsweise angenommenen effektiven Hamilton-Operator von Glg. [1].

Zur Simulation des G57-Spektrums unter Einfluß des effektiven Hamilton-Operators von Glg. [5], wurde die t_1 -Periode zwischen 0 und $511/\text{SW}$ (mit $\text{SW} = 1000 \text{ Hz}$) in Schritten von $1/\text{SW}$ kontinuierlich inkrementiert (wobei SW der spektralen Weite und $1/\text{SW}$ der sog. *dwell time* entspricht). „Detektiert“ wurden ausgehend vom Anfangs-Dichteoperator $\rho(0) = I_{1x} + I_{2x}$ die Erwartungswerte $\langle I_{1x} + I_{2x} \rangle$ und $\langle I_{1y} + I_{2y} \rangle$, entsprechend der Aufzeichnung zweier FID's (Auflösung jeweils 512 Punkte) im Rahmen der Quadraturdetektion. Die Fouriertransformati-

on der mit SIMONE simulierten FID's, ebenso wie der Plot des simulierten Spektrums (Abb 5 B) erfolgte mit Hilfe des Programmes Mathematica (Wolfram Research, Inc.). Das entsprechende experimentelle ω_1 -Spektrum bei der H^N -Frequenz von G57 ist in Abb. 5 A dargestellt. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment.

Insgesamt gesehen, zeigt die beschriebene Analyse zum einen, daß die Ausgangs-Vermutung korrekt war, zum anderen, daß ein möglicher Ansatz zur Reduktion von Artefakten in ω_1 -entkoppelten Spektren darin besteht, die Dauer des spinselektiven Inversionselementes zu reduzieren.

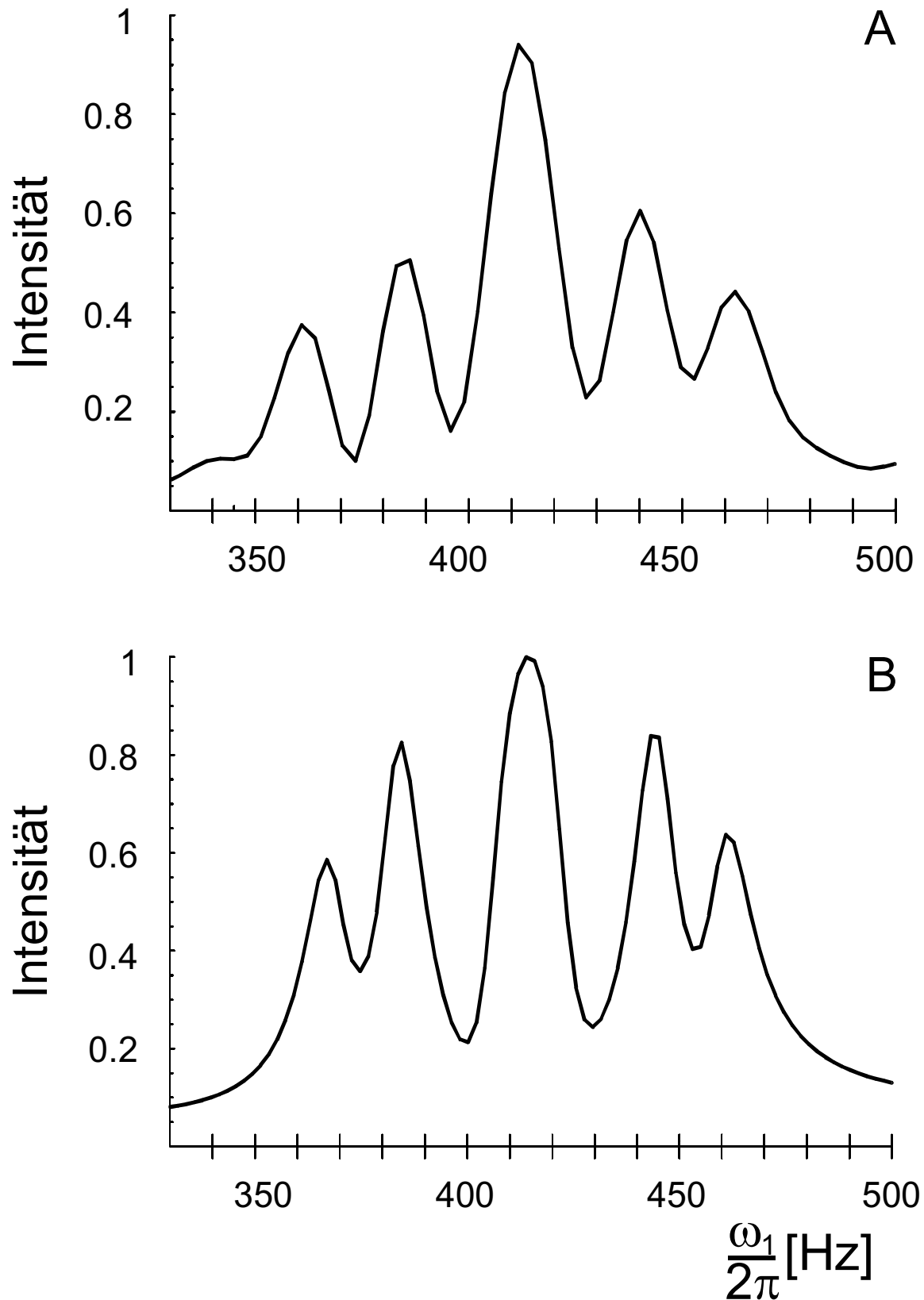


Abbildung 5: (A) ω_1 -Spur des experimentellen 2D-Spektrum von G57 (s. Abb. 3) bei $\omega_2 = 2\pi\nu(H^N)$. (B) Simulierte ω_1 -Spur für G57 basierend auf dem effektiven Hamilton-Operator von Glg. [5].

Kapitel 9

Optimierung von COIN-TACSY-Experimenten in Hinblick auf dipolaren Transfer

9.1 Einleitung

In vielen Fällen kann es sinnvoll sein, den Magnetisierungstransfer auf eine ausgewählte Untermenge der Spins des Kopplungsnetzwerkes zu beschränken. Dies kann mit sog. TACSY (engl.: *Tailored correlation spectroscopy*)-Sequenzen (3, 67) erreicht werden, die effektive Hamilton-Operatoren erzeugen, in denen ausgesuchte Spins während des Mischprozesses entkoppelt vorliegen. Für skalar gekoppelte Spins existieren verschiedene Varianten des TACSY-Experimentes, bei denen prinzipiell zwei verschiedene Entkopplungsvarianten Verwendung finden:

- 1.) Reduktion isotroper Kopplungstensoren $\mathcal{H}_{kl}^{(I)}$ zu sogenannten longitudinalen Kopplungstensoren $\mathcal{H}_{kl}^{(L)}$. Bei diesem Ansatz wird die starke Kopplung zwischen den Spins k und l durch eine schwache ersetzt, wodurch der Hartmann-Hahn-Transfer zwischen diesen Spins blockiert wird. Der (gewünschte) Hartmann-Hahn-Transfer zwischen den übrigen Spins ist weiter möglich, allerdings wird dessen Transfereffizienz durch die Existenz der schwachen Kopplung vermindert (3, 67).
- 2.) Komplette Eliminierung von unerwünschten Kopplungen während der Mischperiode des TACSY-Experimentes (85, 86, 87). Dieser Ansatz führt allerdings oft zu einer Herunterskalierung der gewünschten Kopplungen um 50%. Computeroptimierte TACSY-Experimente, die die unerwünschten Kopplungen eliminieren, ohne die erwünschten Kopplungen zu reduzieren, sind bekannt. Letztere beruhen allerdings auf nicht-verschwindenden, effektiven Spinlock-Feldern, die aufgrund der Effekte der B1-Inhomogenität nur den effizienten Magnetisierungstransfer einer einzelnen Magnetisierungskomponente (z. B. x-Magnetisierung) zulassen. Letzteres stellt einen Nachteil

dar, da empfindlichkeitsverstärkende Methoden, die auf dem simultanem Transfer zweier orthogonaler Magnetisierungskomponenten beruhen, nicht angewendet werden können.

Das COIN (engl.: *Combination of isotropic mixing and selective nutation*)-TACSY-Experiment (19) stellt einen flexiblen Ansatz dar, der es ermöglicht, im Falle skalaren Transfers, zwischen ausgewählten Spins isotrope Mischbedingungen zu erzeugen, während andere Spins vollständig entkoppelt vorliegen.

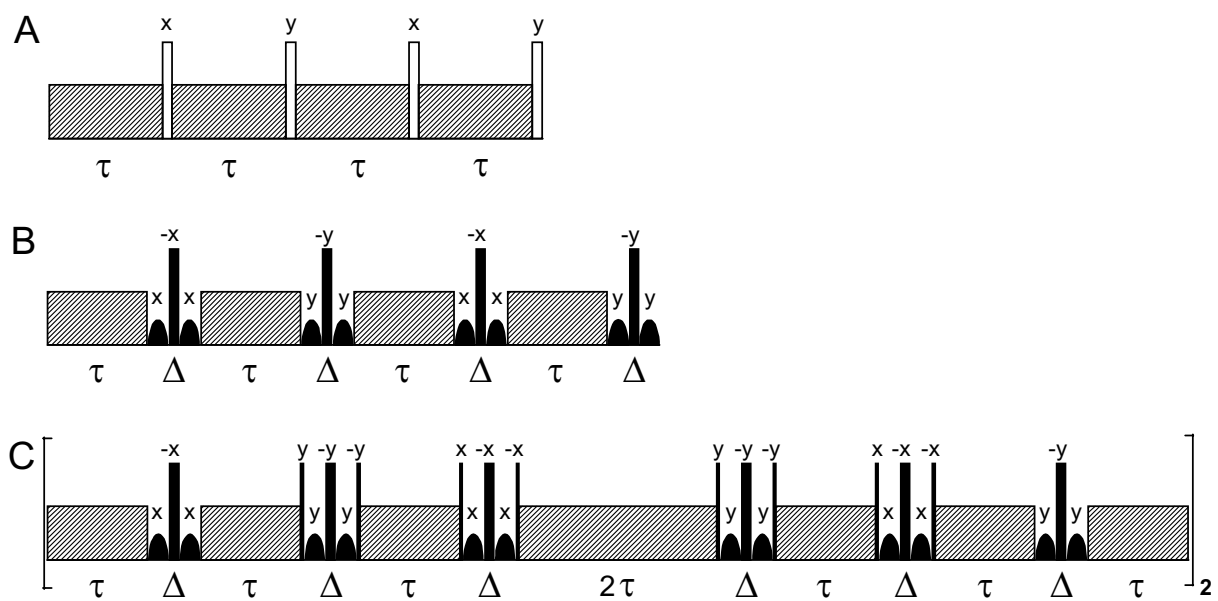


Abbildung 1: Schematische Darstellung von auf skalaren Transfer optimierten COIN-TACSY-Experimenten. Schraffierte Rechtecke stehen für eine isotrope Mischsequenz wie DIPSI-2, schmale bzw. breite Striche bezeichnen 90° - bzw. 180° -Pulse. Nicht ausgefüllte Striche in A entsprechen idealisierten selektiven Pulsen von vernachlässigbarer Dauer. Sequenz B ist eine experimentelle Realisierung von Sequenz A, die eine Kombination praktisch implementierbarer selektiver Pulse (glockenförmige Symbole) und unselektiver Pulse (ausgefüllte Striche) verwendet. Eine verbesserte COIN-TACSY-Sequenz ist unter C dargestellt. Die Zykluszeit τ_b der Sequenz entspricht (A) 4τ , (B) $4\tau + 4\Delta$ und (C) $16\tau + 12\Delta$.

Das COIN-Experiment ist allerdings, ebenso wie andere TACSY-Varianten, nur auf skalaren und nicht auf dipolaren Transfer optimiert. Im folgenden wird daher untersucht, welche Eigenschaften das COIN-Experiment in Hinblick auf dipolaren Transfer aufweist. Zudem werden Möglichkeiten vorgestellt, den dipolaren Skalierungsfaktor des COIN-Experimentes zu vergrößern und so dessen dipolare Transfereigenschaften zu verbessern.

9.2 Theorie

Wir gehen aus von einem System dreier skalar gekoppelter Spins $\frac{1}{2}$, mit den Offsets ν_1, ν_2, ν_3 und den von Null verschiedenen Kopplungen J_{12} und J_{23} , entsprechend einem linearen Kopplungsnetzwerk ($J_{13} = 0$). Um die Wirkungsweise der COIN-Sequenz auf dieses Spinsystem zu untersuchen, betrachten wir zunächst die in Abb. 1 A schematisch dargestellte Pulssequenz, die aus vier TOCSY-Bausteinen der Dauer τ (schraffierte Rechtecke) und 4 selektiv nur auf Spin 3 wirkenden Pulsen von vernachlässigbarer Dauer (nicht-ausgefüllte Rechtecke) besteht. Diese Sequenz erzeugt den Hamilton-Operator des kippenden Koordinatensystems

$$\tilde{\mathcal{H}}_j(t) = \begin{cases} 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2 + 2\pi J_{23} (I_{2x} I_{3x} + I_{2y} I_{3y} + I_{2z} I_{3z}) \\ \text{für } 0 < t < \tau \\ 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2 + 2\pi J_{23} (I_{2x} I_{3x} - I_{2y} I_{3y} - I_{2z} I_{3z}) \\ \text{für } \tau < t < 2\tau \\ 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2 + 2\pi J_{23} (-I_{2x} I_{3x} - I_{2y} I_{3y} + I_{2z} I_{3z}) \\ \text{für } 2\tau < t < 3\tau \\ 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2 + 2\pi J_{23} (-I_{2x} I_{3x} + I_{2y} I_{3y} - I_{2z} I_{3z}) \\ \text{für } 3\tau < t < 4\tau \end{cases} \quad [1]$$

(19) entsprechend dem gewünschten gemittelten Hamilton-Operator

$$\bar{\mathcal{H}}_j(t) = 2\pi J_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2. \quad [2]$$

Eine praktische Implementierung dieser Sequenz ist in Abb. 1 B zu sehen, worin die selektiven Pulse 180° -Pulse durch ein Kombination aus zwei selektiven 90° -Pulsen und einem harten 180° -Puls (zur Refokussierung chemischer Verschiebung) verwirklicht wurden. Der Nachteil dieser Implementierung besteht darin, daß während der Dauer Δ eines solchen Puls-Sandwichs der schwache Kopplungsterm

$$\mathcal{H}_{\Delta,j}^{(12)} = 2\pi J_{12} I_{1z} I_{2z} \quad [3]$$

wirkt, so daß sich für die Sequenz aus Abb. 1 B insgesamt ein gemittelter Hamilton-Operator

$$\bar{\mathcal{H}}_J = 2\pi J'_{12} (I_{1x}I_{2x} + I_{1y}I_{2y}) + 2\pi J_{12}I_{1z}I_{2z}, \quad [4]$$

mit einer skalierten effektiven Kopplungskonstante

$$J'_{12} = \frac{\tau}{\tau + \Delta} J_{12} \quad [5]$$

ergibt (19).

Zur Eliminierung der durch den Kopplungsterm gemäß Glg. [3] verursachten Anisotropie, können harte 90°_ϕ -Pulse verwendet werden, die zusätzlich die Terme $2\pi J_{12}I_{1x}I_{2x}$ und $2\pi J_{12}I_{1y}I_{2y}$ erzeugen. Abbildung 1 C zeigt eine derartig verbesserte Sequenz, die nicht nur weniger Inversionsperioden Δ relativ zur Zahl der isotropen Mischperioden τ benötigt, sondern zugleich auch zu dem isotropen gemittelten Hamilton-Operator

$$\bar{\mathcal{H}}_J = 2\pi J''_{12} \mathbf{I}_1 \mathbf{I}_2 \quad [6]$$

mit einem besseren Skalierungsfaktor der effektiven Kopplung

$$J''_{12} = \frac{4\tau + \Delta}{4\tau + 3\Delta} J_{12} \quad [7]$$

führt (19).

Zu beachten ist, daß das in Abb. 1 C in eckigen Klammern gezeigte grundlegende Pulssequenz-Element nicht zyklisch ist, da sich nach dessen Anwendung das kippende Koordinatensystem noch um eine 180°_z -Rotation vom Ausgangszustand unterscheidet. Eine zyklische COIN-Sequenz mit den gleichen Skalierungseigenschaften entspricht daher zwei solchen Pulssequenz-Elementen, bzw. einer (unvorteilhaften) doppelt so langen Zykluszeit. In der Praxis reicht es allerdings aus, die in eckigen Klammern dargestellte Pulssequenz nur einmal anzuwenden und dann die Phase des detektierten Spektrums zu invertieren, was äquivalent ist mit einer unselektiven 180°_z -Rotation.

Welche Eigenschaften weist diese Sequenz aber in Hinblick auf dipolaren Transfer auf?

Zur Beantwortung dieser Frage gehen wir analog zum Fall des rein skalaren Transfers von einem System dreier rein dipolar gekoppelter Spins $\frac{1}{2}$ mit den Offsets ν_1, ν_2, ν_3 und den von Null verschiedenen Kopplungen D_{12} und D_{23} aus, die ein lineares Kopplungsnetzwerk bilden ($D_{13} = 0$). Dabei ist zu beachten, daß im Gegensatz zum Fall des rein skalaren Transfers die Auswahl der TOCSY-Mischsequenz von entscheidender Bedeutung ist, da sich die dipolaren Skalierungsfaktoren und damit auch die gemittelten dipolaren Kopplungsterme verschiedener TOCSY-Sequenzen stark voneinander unterscheiden können (siehe Kap. 4 und 5).

Zunächst betrachten wir wieder die schematische Sequenz in Abbildung 1 A, wobei als Mischsequenz insbesondere die für dipolaren Transfer optimierte MOCCA-XY16-Sequenz (siehe Kap. 4) geeignet erscheint, die den gemittelte Kopplungsterm

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{\text{MOCCA-XY16}} = 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right), \quad [8]$$

mit

$$D'_{12} = D_{12} \cdot s_D \quad [9]$$

erzeugt, worin s_D dem dipolaren Skalierungsfaktor entspricht, siehe dazu Kapitel 4. Da die Eliminierung der Kopplung zu Spin 3 lediglich die Anwesenheit eines bilinearen x-, y- und z-Terms voraussetzt und nicht von deren Vorfaktoren abhängt, ergibt sich aus dem Hamilton-Operator im kippenden Koordinatensystem

$$\tilde{\mathcal{H}}_j(t) = \begin{cases} 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D'_{23} \left(I_{2z} I_{3z} - \frac{1}{2} I_{2x} I_{3x} - \frac{1}{2} I_{2y} I_{3y} \right) \\ \text{für } 0 < t < \tau \\ 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D'_{23} \left(-I_{2z} I_{3z} - \frac{1}{2} I_{2x} I_{3x} + \frac{1}{2} I_{2y} I_{3y} \right) \\ \text{für } \tau < t < 2\tau \\ 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D'_{23} \left(I_{2z} I_{3z} + \frac{1}{2} I_{2x} I_{3x} + \frac{1}{2} I_{2y} I_{3y} \right) \\ \text{für } 2\tau < t < 3\tau \\ 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D'_{23} \left(-I_{2z} I_{3z} + \frac{1}{2} I_{2x} I_{3x} - \frac{1}{2} I_{2y} I_{3y} \right) \\ \text{für } 3\tau < t < 4\tau \end{cases} \quad [10]$$

analog zum Fall des skalaren Transfers der gewünschte gemittelte Hamilton-Operator

$$\tilde{\mathcal{H}}_D = 2\pi D'_{12} \left(I_{1z} I_{2z} - \frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right). \quad [11]$$

Bei Verwendung von DIPSI-2 anstelle von MOCCA-XY16 als Multipuls-Sequenz, würde die COIN-Sequenz unter den gegebenen Bedingungen in entsprechender Weise den gemittelten Hamilton-Operator

$$\tilde{\mathcal{H}}_D = 2\pi D_{12} \left(-\frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} + 0.269 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.231 \cdot I_{1y} I_{2y} \right) \quad [12]$$

erzeugen.

Die idealisierte Sequenz gemäß Abb. 1 A wäre also ebensogut für dipolaren wie skalaren Transfer geeignet, d. h. der unerwünschte Kopplungsterm würde eliminiert werden, ohne daß sich die Skalierung der dipolaren Kopplung veränderte und zwar unabhängig von der Struktur des dipolaren Kopplungsterms bzw. der Art der Multipuls-Sequenz.

Geht man allerdings von einer realistischen COIN-Sequenz (siehe Abb. 1 B bzw. 1 C) aus, die Inversionsperioden der endlichen Dauer Δ beinhaltet, so tritt, je nach Aufbau des gemittelten Hamilton-Operators der verwendeten Multipuls-Sequenz, eine unterschiedliche Beeinflussung des dipolaren Transfers durch den Mittelungsprozeß der COIN-Sequenz auf. Um dies genauer zu analysieren, ist es notwendig, den Hamilton-Operator der Inversionsperiode

$$\mathcal{H}_{\Delta,D}^{(12)} = 2\pi D_{12} I_{1z} I_{2z} \quad [13]$$

zu betrachten. Da der Hamiltonoperator gemäß Glg. [13] im Zuge der COIN-Mittelung nur den bilinearen z-Term des gemittelten Hamilton-Operators der MOCCA-Sequenz (Glg. [11]) beeinflussen kann, ergibt sich der gemittelte Hamiltonoperator der COIN-Sequenz von Abb. 1 B zu

$$\bar{\mathcal{H}}'_D = 2\pi D_{xy} \left(-\frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D_z I_{1z} I_{2z}, \quad [14]$$

mit

$$D_{xy} = \frac{4\tau \cdot D'_{12}}{4\tau + 4\Delta} = \frac{\tau}{\tau + \Delta} D'_{12} = \frac{\tau \cdot s_D}{\tau + \Delta} D_{12} \quad [15]$$

und

$$D_z = \frac{4\tau \cdot D'_{12} + 4\Delta \cdot D_{12}}{4\tau + 4\Delta} = \frac{\tau \cdot s_D + \Delta}{\tau + \Delta} D_{12}. \quad [16]$$

Betrachtet man nun zum Beispiel den einfach zu analysierenden Fall des z-Transfers unter dem gemittelten Hamilton-Operator von Glg. [14], so stellt man fest, daß eine COIN-Sequenz wie in Abb. 1 B dargestellt, in der Praxis zu einer Herabskalierung der für den z-Transfer maßgeblichen Kopplungskonstante D'_{12} um den Faktor $\tau/(\tau + \Delta)$ führen würde. Direkt kontraproduktiv in Hinblick auf den dipolaren z-Transfer, wirken sich dagegen die Inversionsperioden der Sequenz von Abb. 1 C aus. Ihr entspricht der gemittelte Hamilton-Operator

$$\bar{\mathcal{H}}_D^{COIN} = 2\pi D_{xy} \left(-\frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D_z I_{1z} I_{2z}, \quad [17]$$

mit

$$D_{xy} = \frac{8\tau \cdot D'_{12} + 2\Delta \cdot D_{12} \cdot (-2)}{8\tau + 6\Delta} = \frac{4\tau \cdot s_D - 2\Delta}{4\tau + 3\Delta} D_{12} \quad [18]$$

und

$$D_z = \frac{8\tau \cdot D'_{12} + 2\Delta \cdot D_{12}}{8\tau + 6\Delta} = \frac{4\tau \cdot s_D + \Delta}{4\tau + 3\Delta} D_{12}. \quad [19]$$

Durch die unselektiven 90° -Pulse vor und nach der zweiten, dritten, vierten und fünften Inversionsperiode in Sequenz 1 C, werden die Terme $2\pi D_{12} I_{1x} I_{2x}$ bzw. $2\pi D_{12} I_{1y} I_{2y}$ erzeugt, die ein entgegengesetztes Vorzeichen wie die entsprechenden Terme im gemittelten Hamilton-Operator der MOCCA-XY16-Sequenz (s. Glg. [11]) aufweisen. Der daraus resultierende negative Term im Zähler von Glg. [18] kann mit einer Sequenz, in der gegenüber der COIN-Sequenz in Abb. 1 C auf unselektive 90° -Pulse verzichtet wird, vermieden werden (s. Abb. 2). Für den gemittelten Hamilton-Operator einer solchen Sequenz gilt:

$$\bar{\mathcal{H}}_D^{COIN} = 2\pi D_{xy} \left(-\frac{1}{2} I_{1x} I_{2x} - \frac{1}{2} I_{1y} I_{2y} \right) + 2\pi D_z I_{1z} I_{2z}, \quad [20]$$

mit

$$D_{xy} = \frac{8\tau \cdot D'_{12}}{8\tau + 6\Delta} = \frac{4\tau \cdot s_D}{4\tau + 3\Delta} D_{12} \quad [21]$$

und

$$D_z = \frac{8\tau \cdot D'_{12} + 6\Delta \cdot D_{12}}{8\tau + 6\Delta} = \frac{4\tau \cdot s_D + 3\Delta}{4\tau + 3\Delta} D_{12}. \quad [22]$$

Die Inversionsperioden können bei Verwendung einer MOCCA-XY16-Sequenz als Mischsequenz also lediglich zur Vergrößerung des bilinearen z-Termes im gemittelten Hamilton-Operator der COIN-Sequenz genutzt werden.

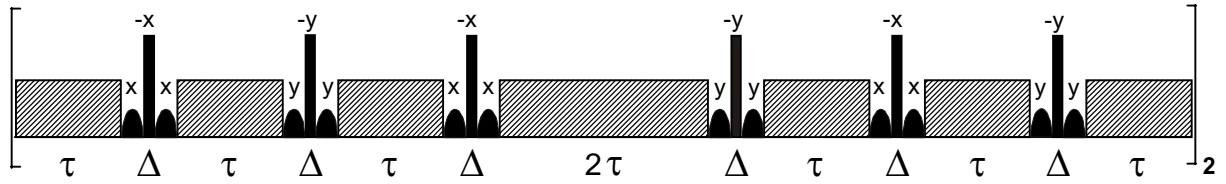


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines auf dipolaren z-Transfer optimierten COIN-TACSY-Experimentes mit MOCCA-XY-16 als Mischsequenz (schraffierte Rechtecke). Breite Striche bezeichnen unselektive 180°-Pulse, glockenförmige Symbole selektive 90°-Pulse. Die Zykluszeit τ_b der Sequenz entspricht $16\tau + 12\Delta$.

Verwendet man anstelle der MOCCA-XY16-Sequenz eine DIPSI-2-Sequenz in der in Abb. 1 C dargestellten COIN-Variante, so ergibt sich der gemittelte Hamilton-Operator

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{COIN} = 2\pi D_{12} \left\{ \left(\frac{1.076\tau + \Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1y} I_{2y} + \left(\frac{0.924\tau + \Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1z} I_{2z} - \left(\frac{2\tau - \Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1x} I_{2x} \right\}. \quad [23]$$

Aufgrund des positiven Vorfaktors der transversalen bilinearen Terme im gemittelten Hamilton-Operator der DIPSI-2-Sequenz (Glg. [12]) ist es also möglich, sowohl den bilinearen y- und z-Term, nicht aber den bilinearen x-Term, im gemittelten Hamilton-Operator der COIN-Sequenz durch eine geeignete Anordnung von unselektiven 90°-Pulsen vor und nach den Inversionsperioden zu vergrößern. Um eine auf x-Transfer optimierte COIN-Sequenz zu erhalten, ist es zum Beispiel sinnvoll, jeweils während der Hälfte der Inversionsperioden den Term $2\pi D_{12} I_{1y} I_{2y}$ bzw. $2\pi D_{12} I_{1z} I_{2z}$ zu erzeugen. Einer solchen Sequenz, dargestellt in Abb. 3 A, entspricht der gemittelte Hamilton-Operator

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{COIN} = 2\pi D_{12} \left\{ \left(\frac{1.076\tau + 1.5\Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1y} I_{2y} + \left(\frac{0.924\tau + 1.5\Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1z} I_{2z} - \left(\frac{2\tau}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1x} I_{2x} \right\}. \quad [24]$$

Durch eine leichte Modifikation erhält man aus dieser Sequenz eine für den Spezialfall $\Delta = \tau/2$ auf dipolaren y-Transfer optimierte Sequenz, mit annähernd betragsmäßig gleichgroßen transversalen bilinearen Termen im gemittelten Hamilton-Operator

$$\overline{\mathcal{H}}_D^{COIN} = 2\pi D_{12} \left\{ \left(\frac{1.076\tau + \Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1y} I_{2y} + \left(\frac{0.924\tau + 2\Delta}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1z} I_{2z} - \left(\frac{2\tau}{4\tau + 3\Delta} \right) I_{1x} I_{2x} \right\}. \quad [25]$$

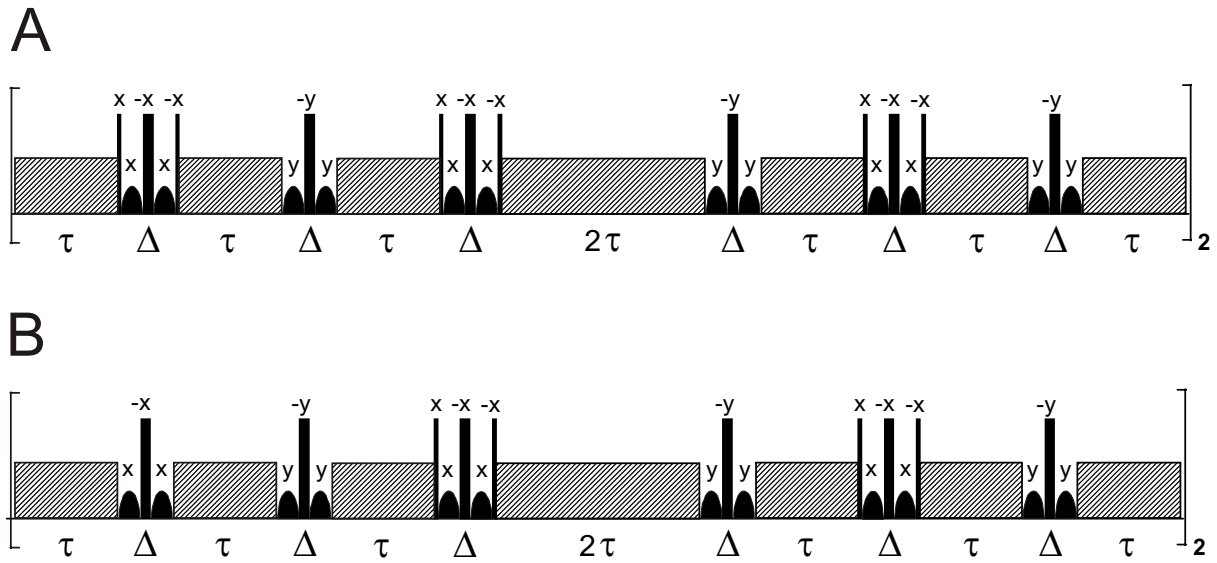


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines auf (A) dipolaren x-Transfer bzw. (B) dipolaren y-Transfer optimierten COIN-TACSY-Experimentes mit DIPSII-2 als Mischsequenz (schraffierte Rechtecke). Breite Striche bezeichnen unselektive 180° -Pulse, glockenförmige Symbole selektive 90° -Pulse. Die Zykluszeit τ_b der Sequenzen entspricht $16\tau + 12\Delta$.

Dem Nachteil des kleineren dipolaren Skalierungsfaktors von DIPSII-2 gegenüber der MOC-CA-XY16-Sequenz, steht also der Vorteil gegenüber, daß sich der dipolare Transfer während der Inversionsperioden zur Vergrößerung von zwei statt einem bilinearen Term im gemittelten Hamilton-Operator der Gesamtsequenz nutzen läßt.

9.3 Numerik

Um die theoretischen Ergebnisse zu verifizieren, wurden numerische Simulationen mit einer erweiterten Version des Programms SIMONE (56) durchgeführt. Für die dabei verwendeten COIN-Sequenzen wurden folgende Bausteine verwendet:

- Gauß-Pulse einer Dauer von 1.844 ms mit einem *truncation level* von 5% zur Simulation selektiver 90°_φ -Pulse.
- die Composite-Pulse $C(90^\circ_\varphi) = \{24^\circ_\varphi, 152^\circ_{\varphi+\pi}, 346^\circ_\varphi, 152^\circ_{\varphi+\pi}, 24^\circ_\varphi\}$ und $C(180^\circ_\varphi) = \{58^\circ_\varphi, 140^\circ_{\varphi+\pi}, 344^\circ_\varphi, 140^\circ_{\varphi+\pi}, 58^\circ_\varphi\}$ (70) mit einer RF-Amplitude von jeweils 19.8 kHz zur Simulation unselektiver 90°_φ - und 180°_φ -Pulse.

- c) entweder eine MOCCA-XY16-Sequenz oder eine DIPSI-2-Sequenz mit einer mittleren Leistung v_{rf}^{rms} von jeweils 10 kHz als Multipuls-Baustein. In ersterem Falle entsprach die Periode $\tau = 7.1$ ms fünf MOCCA-XY16-Zyklen, in letzterem Falle entsprach die Periode $\tau = 7.2$ ms zehn DIPSI-2-Zyklen.

Um die Rechenzeit für die Simulationen nicht unnötig zu vergrößern, wurde jeweils nur der in eckigen Klammern in den Abbildungen 1C, 2, 3A und 3B dargestellte Anteil der COIN-Sequenz verwendet. Die dadurch in der Praxis notwendige, oben angesprochene Phasenumkehr des Spektrums, wurde durch Anhängen eines unselektiven 180_x° - und eines unselektiven 180_y° -Pulses vernachlässigbarer Dauer ($v_{rf} = 100$ kHz) an die COIN-Sequenz halber Zykluszeit simuliert. Die Parameter der für die Simulationen verwendeten Sequenzen finden sich in Tabelle 1, die Transfercharakteristika und die gemittelten Hamilton-Operatoren der COIN-Sequenzen in Tabelle 2. Um den Grenzfall der schwachen Kopplung zu gewährleisten, wurde bei der numerischen Berechnung der gemittelten Hamilton-Operatoren von den Offsets $v_1 = 500$ Hz bzw. $v_2 = -500$ Hz ausgegangen. Die Offset-Charakteristika der wichtigsten Transfers sind in Abb. 5 dargestellt.

Sequenz Nr.	Grundlegende Struktur	Multipuls-Baustein	τ [ms]	Δ [ms]	$\tau_{cyc}^{COIN} / 2$ [ms]
1	gemäß Abb. 1C	MOCCA-XY16	7.1	3.8	79.6
2	gemäß Abb. 2	MOCCA-XY16	7.1	3.8	80.3
3	gemäß Abb. 1C	DIPSI-2	7.2	3.8	81.1
4	gemäß Abb. 3A	DIPSI-2	7.2	3.8	80.9
5	gemäß Abb. 3B	DIPSI-2	7.2	3.8	80.7

Tabelle 1: Parameter der für die Simulationen verwendeten COIN-Sequenzen. Die mittlere Leistung aller Multipuls-Bausteine wurde auf 10 kHz eingestellt. Die Periode τ entsprach 5 Zyklen MOCCA-XY16 (mit $\Delta^{MOCCA} / d = 2.15$, siehe Kapitel 4) bzw. 10 Zyklen DIPSI-2.

Seq.	Transfer	τ_{opt}	$\eta(\tau_{opt})$	Gemittelter Kopplungs-Hamilton-Operator (analytisch / numerisch)
1	x \rightarrow x	49.6	-0.465	$2\pi D_{12} \left\{ -0.168 (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) + 0.624 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$ (Glg. [17])
	y \rightarrow y	49.6	-0.465	$2\pi D_{12} \left\{ -0.172 (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) + 0.64 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$
	z \rightarrow z	145.5	1.000	
2	x \rightarrow x	38.3	-0.540	$2\pi D_{12} \left\{ -0.264 (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) + 0.814 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$ (Glg. [20])
	y \rightarrow y	38.3	-0.540	$2\pi D_{12} \left\{ -0.262 (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) + 0.823 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$
	z \rightarrow z	95.5	1.000	
3	x \rightarrow x	90.5	0.996	$2\pi D_{12} \left\{ -0.264 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.287 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.26 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$ (Glg. [23])
	y \rightarrow y	95.2	-0.999	$2\pi D_{12} \left\{ -0.26 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.286 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.266 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$
	z \rightarrow z	91.4	-0.994	
4	x \rightarrow x	77.6	0.996	$2\pi D_{12} \left\{ -0.358 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.335 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.307 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$ (Glg. [24])
	y \rightarrow y	75.4	-0.990	$2\pi D_{12} \left\{ -0.350 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.333 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.310 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$
	z \rightarrow z	73.1	-0.998	
5	x \rightarrow x	76.9	0.975	$2\pi D_{12} \left\{ -0.358 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.287 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.355 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$ (Glg. [25])
	y \rightarrow y	71.0	-1.000	$2\pi D_{12} \left\{ -0.350 \cdot I_{1x} I_{2x} + 0.290 \cdot I_{1y} I_{2y} + 0.354 \cdot I_{1z} I_{2z} \right\}$
	z \rightarrow z	77.5	-0.978	

Tabelle 2: Eigenschaften der in Abb. 4 dargestellten Transfers und gemittelte Kopplungs-Hamilton-Operatoren (analytisch bzw. numerisch berechnet) der jeweiligen COIN-Sequenz. Für die numerischen Berechnungen wurde von einer Kopplungskonstante $D_{12} = 20$ Hz und den Offsets $\nu_1 = 500$ Hz bzw. $\nu_2 = -500$ Hz ausgegangen. Für die MOCCA-XY16-Sequenz wurde ein dipolarer Skalierungsfaktor $s_D = 0.74$ angenommen.

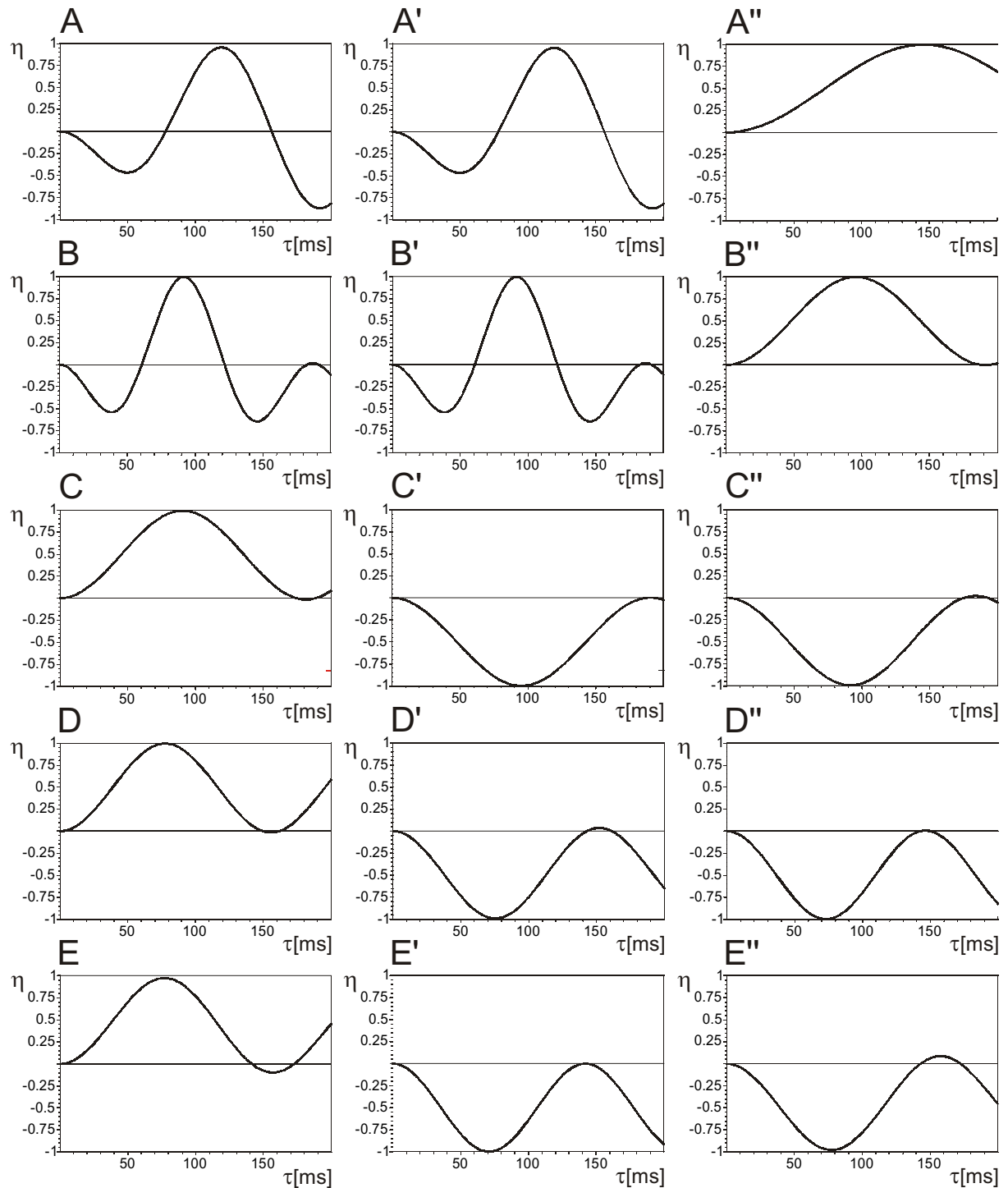


Abbildung 4: Dipolare Transfereigenschaften der Sequenzen 1 (A-A'') bis 5 (E-E'') aus Tabelle 1. Dargestellt ist die Zeitabhängigkeit der Transfereffizienz $\eta_x^{\text{inh}}(\tau)$ (A-E), $\eta_y^{\text{inh}}(\tau)$ (A'-E') und $\eta_z^{\text{inh}}(\tau)$ (A''-E'') im Bereich $\tau = 0$ bis 200 ms. Es wurde jeweils von einer Kopplungskonstante $D_{12} = 20$ Hz und den Offsets $\nu_1 = 500$ Hz bzw. $\nu_2 = -500$ Hz ausgegangen. Wie im Text erwähnt, wurde für die Simulationen jeweils nur der in den Abbildungen 1 bis 3 in eckigen Klammern dargestellte Anteil der COIN-Sequenzen (der der halben Zykluszeit entspricht) verwendet.

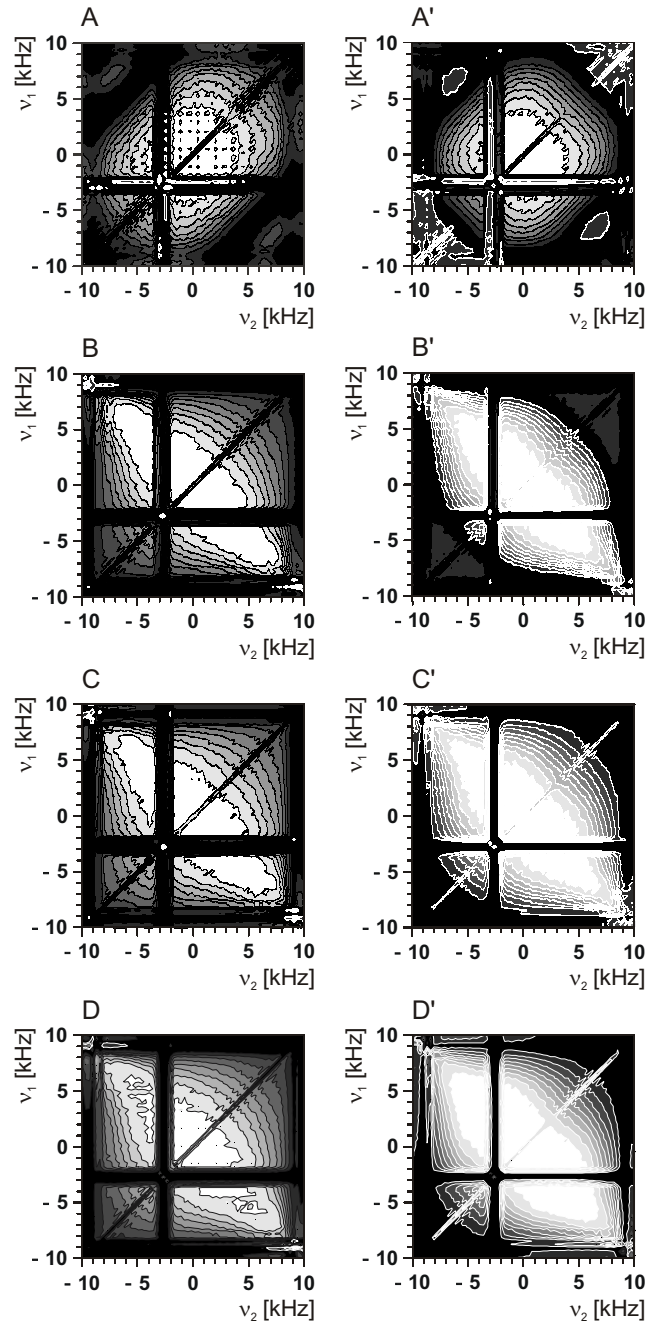


Abbildung 5: Offsetabhängigkeit der Transfereffizienz $\eta_{\alpha}^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ für die Sequenzen 2 (A/A') bis 5 (D/D') aus Tabelle 1. Dargestellt ist die Offsetabhängigkeit von $\eta_z^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (A) und $\eta_y^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (A') unter Sequenz 2 (Tab. 1), $\eta_x^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (B) und $\eta_z^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (B') unter Sequenz 3, $\eta_x^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (C) und $\eta_z^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (C') unter Sequenz 4 und $\eta_x^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (B) und $\eta_y^{\text{inh}}(\tau_{\text{cyc}}/2)$ (B') unter Sequenz 5. Die dipolare Kopplungskonstante wurde jeweils so gewählt, daß sie die maximale Transfereffizienz zum Zeitpunkt $\tau_{\text{cyc}}/2$ bei den Offsets $v_1 = 500$ Hz bzw. $v_2 = -500$ Hz gewährleistet: $D_{12} = 23.80$ Hz (A), $D_{12} = 23.52$ Hz (A'), $D_{12} = 22.42$ Hz (B), $D_{12} = 22.76$ Hz (B'), $D_{12} = 19.30$ Hz (C), $D_{12} = 18.22$ Hz (C'), $D_{12} = 19.20$ Hz (D) und $D_{12} = 17.66$ Hz (D'). Zur Simulation der Effekte der B_1 -Inhomogenität wurde eine Gaußsche RF-Inhomogenitätsverteilung mit einer Halbwertsbreite von 10 % angenommen (siehe auch Tab. 2).

Kapitel 10

Zeitoptimaler, kohärenzselektiver Transfer von In-Phase-Kohärenz unter einem annähernd planaren effektiven Hamilton-Operator

In Hinblick auf die Empfindlichkeit von NMR-Experimenten sind drei prinzipielle Fragen von besonderem Interesse:

- 1.) Was ist die kürzeste Mischzeit τ_{mix}^{opt} in der die theoretische Effizienz-Obergrenze eines gewünschten Kohärenz- bzw. Polarisationstransfers für ein gegebenes Spinsystem erreicht werden kann?
- 2.) Was ist (bei Vernachlässigung von Relaxationseffekten) die maximal mögliche Transferamplitude für Mischzeiten $\tau_{mix} < \tau_{mix}^{opt}$?
- 3.) Wie muß eine Pulssequenz aufgebaut sein, mit der sich zeitoptimaler Transfer gemäß Punkt 2 in der Praxis verwirklichen läßt?

Die Antworten auf die erste und zweite Frage wurden von Navin Khaneja et al. (88) vor einiger Zeit für 2-Spin-Systeme in Form analytischer Lösungen gefunden. Zu Punkt 3 wurden für den Fall eines heteronuklearen IS-Spinsystems experimentelle Untersuchungen durchgeführt (89), die die analytischen Voraussagen vollauf bestätigten. Im folgenden werden entsprechende experimentelle Untersuchungen für den Fall eines homonuklearen 2-Spin-Systems und eines nahezu planaren effektiven Hamilton-Operators vorgestellt.

10.1 Theorie

Wir gehen von einem homonuklearen 2-Spin-System mit den Offsets ν_1 und ν_2 und einer Kopplungskonstante J aus, die im allgemeinen Fall einer Linearkombination von skalarer und dipolarer Kopplungskonstante entspricht. Der entsprechende Hamilton-Operator hat die Form

$$\mathcal{H}_0 = 2\pi\nu_1 I_{1z} + 2\pi\nu_2 I_{2z} + 2\pi J \{ \alpha \cdot I_{1x} I_{2x} + \alpha \cdot I_{1y} I_{2y} + \beta \cdot I_{1z} I_{2z} \}. \quad [1]$$

Im Falle des kohärenzordnungsselektiven Transfers von Inphase-Kohärenz vom Spin I_1 zum Spin I_2 ist der Ausgangs-Dichteoperator $\rho(0) = I_1^- = I_{1x} - iI_{1y}$ und der Zieloperator ist $I_2^- = I_{2x} - iI_{2y}$. Der normierte Absolutbetrag der Transferamplitude ist nach einer Mischzeit τ_{mix} gegeben durch

$$\eta(\tau_{mix}) = \frac{\left| \langle I_2^- | \rho(\tau_{mix}) \rangle \right|}{\| I_1^- \| \| I_2^- \|} = \frac{1}{2} \text{Tr} \{ I_2^+ \rho(\tau_{mix}) \}. \quad [2]$$

Das Ziel ist es nun, optimale Pulssequenzen zu finden, die zu jeder gegebenem Mischzeit τ_{mix} die Transferamplitude $\eta(\tau_{mix})$ maximieren. Basierend auf den Prinzipien der optimalen Kontroll-Theorie (90) konnte gezeigt werden (88), daß der optimale Misch-Hamilton-Operator \mathcal{H}_{opt} von der Mischzeit τ_{mix} abhängig ist und die generelle Form

$$\mathcal{H}_{opt} = \frac{2\pi J}{\tau_{mix}} \{ f_x \cdot I_{1x} I_{2x} + f_y \cdot I_{1y} I_{2y} + f_z \cdot I_{1z} I_{2z} \} \quad [3]$$

aufweist, mit

$$\tau_{mix} = \frac{f_x + f_y + f_z}{(2\alpha + \beta)} \quad [4]$$

und

$$f_x = f_y = f_{\perp} = \frac{1}{J\pi} \arctan\left(\frac{1}{2} \tan(J\pi f_z)\right) \quad [5]$$

(siehe Abb. 1). Die entsprechende optimale Transfereffizienz $\eta_{opt}(\tau_{mix})$ ist in Abhängigkeit von der Mischzeit τ_{mix} gegeben durch

$$\eta_{opt}(\tau_{mix}) = \sin(\pi J f_z) \sin(\pi J f_{\perp}). \quad [6]$$

Bei

$$\tau_{mix}^{opt} = \frac{3}{(2\alpha + \beta)2J} \quad [7]$$

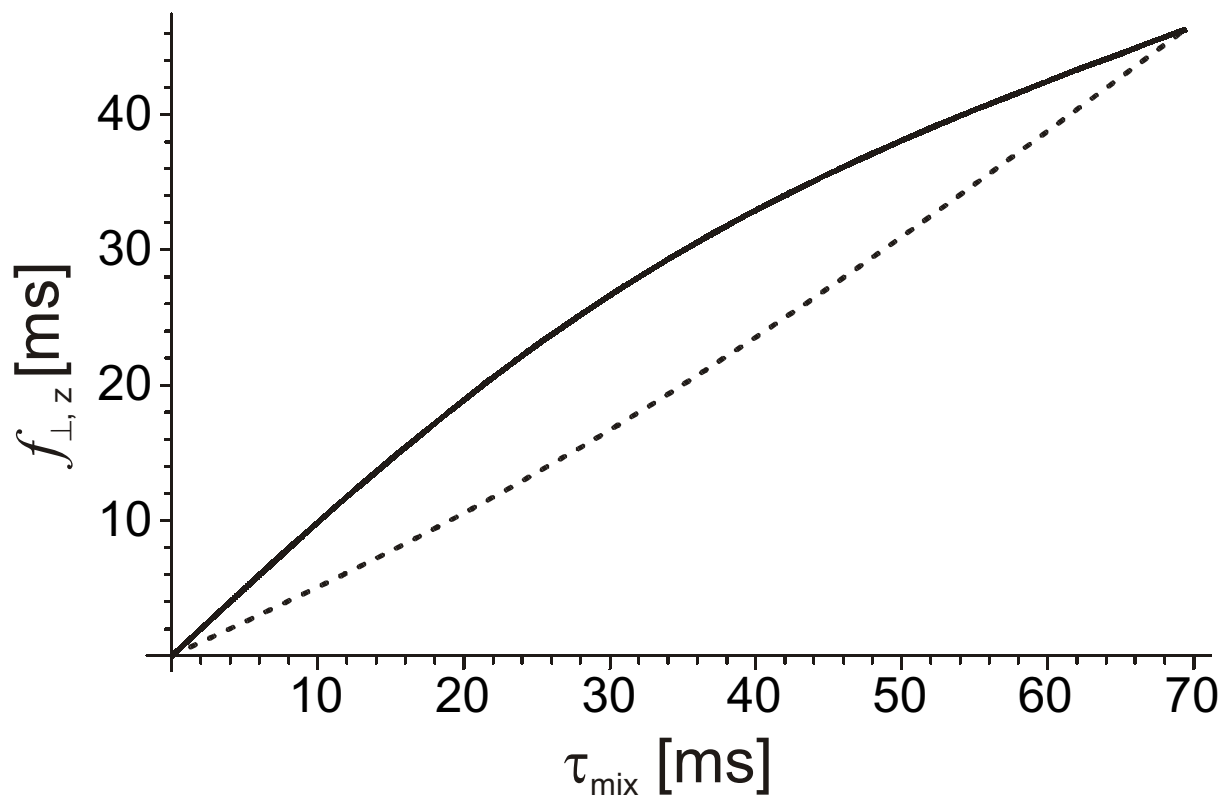


Abbildung 1: Graphische Darstellung der optimalen Mischzeiten f_z (durchgezogene Linie) und $f_{\perp} = f_x = f_y$ (gestrichelte Linie) als Funktion der Mischzeit τ_{mix} für den Spezialfall eines planaren Hamilton-Operators ($\alpha = 1$, $\beta = 0$) und eine Kopplungskonstante $J = 10.8$ Hz (siehe Glg. [1]).

ist $\eta_{opt} = 1$, was der maximal möglichen Transfereffizienz für diesen Transfer entspricht. Der optimale Hamilton-Operator \mathcal{H}_{opt} ist zu diesem Zeitpunkt identisch mit dem isotropen Misch-Hamilton-Operator \mathcal{H}_{iso} :

$$\mathcal{H}_{iso}(\tau_{mix}^{opt}) = \mathcal{H}_{opt}(\tau_{mix}^{opt}) = \frac{2\pi J}{3}(2\alpha + \beta)\{I_{1x}I_{2x} + I_{1y}I_{2y} + I_{1z}I_{2z}\}, \quad [8]$$

mit

$$f_x = f_y = f_z = (2\alpha + \beta)\frac{\tau_{mix}}{3} \quad [9]$$

(Glg. [3]).

Da τ_{mix}^{opt} der minimalen Zeit entspricht, die benötigt wird um die maximale Effizienz-Obergrenze zu erreichen, ist es interessant, die optimale Transfereffizienz $\eta_{opt}(\tau_{mix})$ (Glg. [6]) mit der Transfereffizienz

$$\eta_{iso}(\tau_{mix}) = \sin^2\left(\pi J \frac{\tau_{mix}}{3}\right) \quad [10]$$

von isotropen Mischexperimenten zu vergleichen.

In Abb. 2 A sind für den Fall eines planaren Kopplungs-Hamilton-Operators mit $\alpha = 1$ und $\beta = 0$ (Glg. [1]) die Kurven $\eta_{opt}(\tau_{mix})$ und $\eta_{iso}(\tau_{mix})$ dargestellt, Abb. 2 A zeigt den Quotienten aus diesen zwei Werten in Abhängigkeit von der Mischzeit τ_{mix} . Im Grenzfall kurzer Mischzeiten ist die Transferamplitude des optimalen Misch-Hamilton-Operators um bis zu ca. 11.1 % größer im Vergleich mit konventionellem isotropen Mischen.

Mit welchen Sequenzen aber kann ein optimaler Misch-Hamilton-Operator gemäß Glg. [3] bzw. ein isotroper Misch-Hamilton-Operator [8] erzeugt werden? Im Fall der schon erwähnten heteronuklearen Messungen (89) wurde eine zyx-ICOS-CT-Sequenz (91) verwendet, deren prinzipieller Aufbau in Abb. 3 dargestellt ist. Während jedem der drei Delays dieser

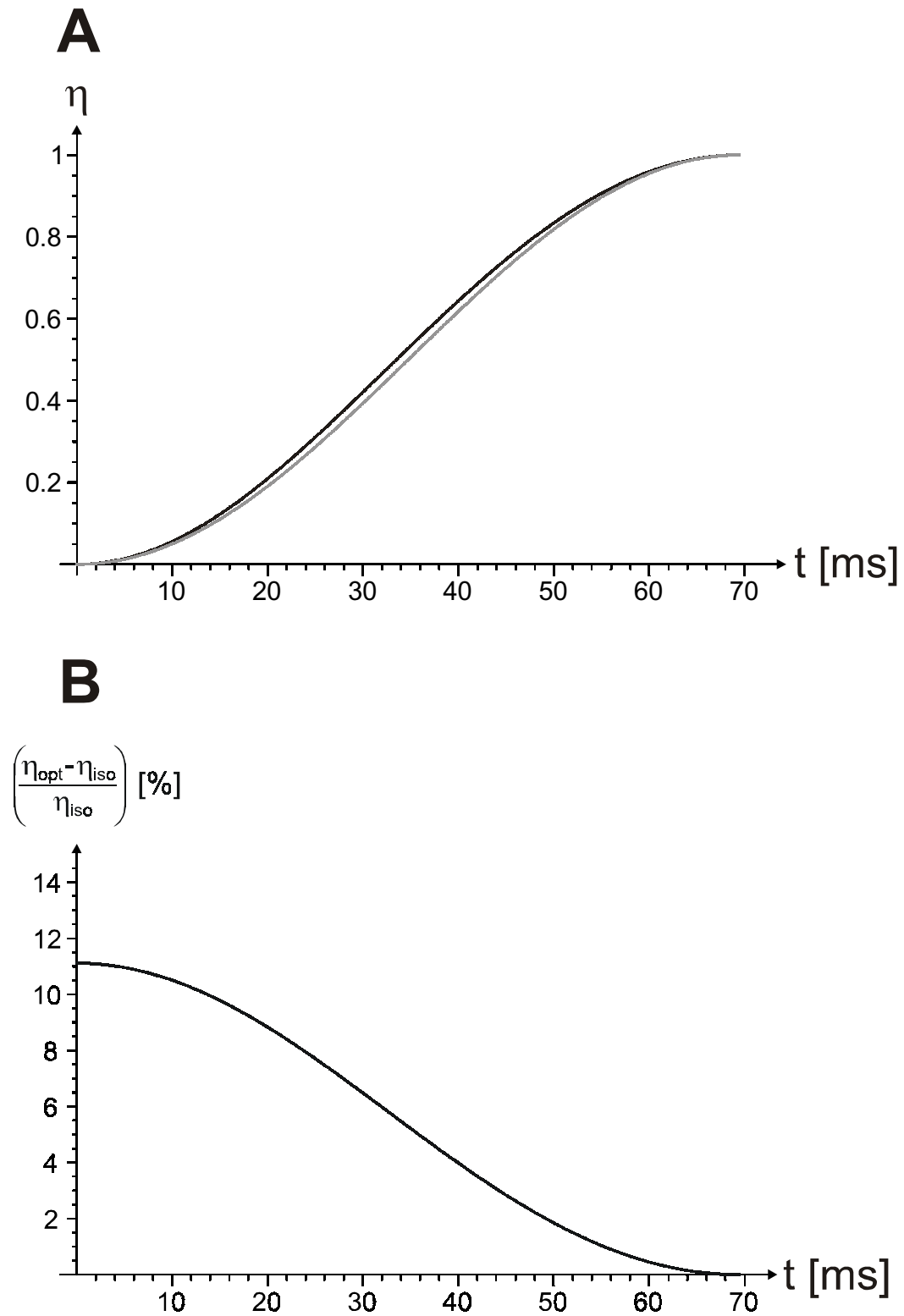


Abbildung 2: (A) Transferamplitude des optimalen Transfers η_{opt} (schwarze Kurve) als Funktion der Mischzeit τ_{mix} für einen planaren Hamilton-Operator und eine Kopplungskonstante $J = 10.8$ Hz. Zusätzlich ist der entsprechende isotrope Transfer η_{iso} (graue Kurve) dargestellt. (B) Theoretisches Verhältnis $(\eta_{opt} - \eta_{iso}) / \eta_{iso}$ in Prozent als Funktion der Mischzeit τ_{mix} .

Sequenz liegt das kippende Koordinatensystem in einem anderen Zustand vor, der sich jeweils durch eine 90°-Rotation um eine der Koordinatenachsen vom vorigen unterscheidet. Da durch die 180°-Pulse die chemische Verschiebung unterdrückt wird und der Grenzfall der schwachen Kopplung gegeben ist, entspricht die Gesamtwirkung dieser Sequenz somit der des hypothetischen Misch-Hamilton-Operators

$$\mathcal{H}_{mix}^{ICOS} = \frac{2\pi J}{\Delta_x + \Delta_y + \Delta_z} \{ \Delta_x \cdot I_{1x} I_{2x} + \Delta_y \cdot I_{1y} I_{2y} + \Delta_z \cdot I_{1z} I_{2z} \}. \quad [11]$$

Durch geeignete Wahl der Delaylängen lassen sich daher mit dieser Sequenz sowohl die isotrope, als auch die optimierte Transferfunktion implementieren.

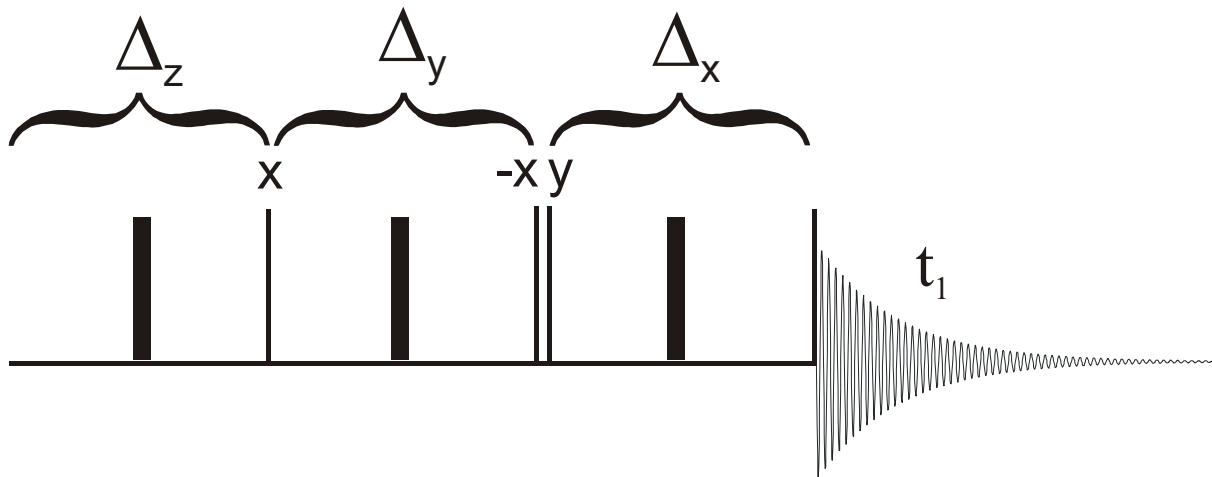


Abbildung 3: Prinzipieller Aufbau einer zyx-ICOS-CT-Sequenz für homonukleare Messungen

Im homonuklearen Fall ist die Situation komplizierter. So muß in der Regel der vollständige Kopplungsterm berücksichtigt werden, der durch einen einzigen 180°-Puls zur Unterdrückung chemischer Verschiebung, nicht erhalten werden kann. Eine für den homonuklearen Fall besser geeignete Sequenz ist in Abb. 4 dargestellt. In dieser Sequenz sind die 180°-Pulse durch Multipuls-Sequenzen (z. B. MOCCA-XY-16 (15, siehe auch Kapitel 4), DIPSI-2 (29) oder MLEV-16 (31)) ersetzt. Als Folge daraus ist in der Praxis eine kontinuierliche Aufnahme der Transferfunktionen durch kontinuierliche Variation der Delays nicht möglich, wenn die mittlere Leistung der Multipuls-Sequenzen während der Messungen konstant bleiben soll.

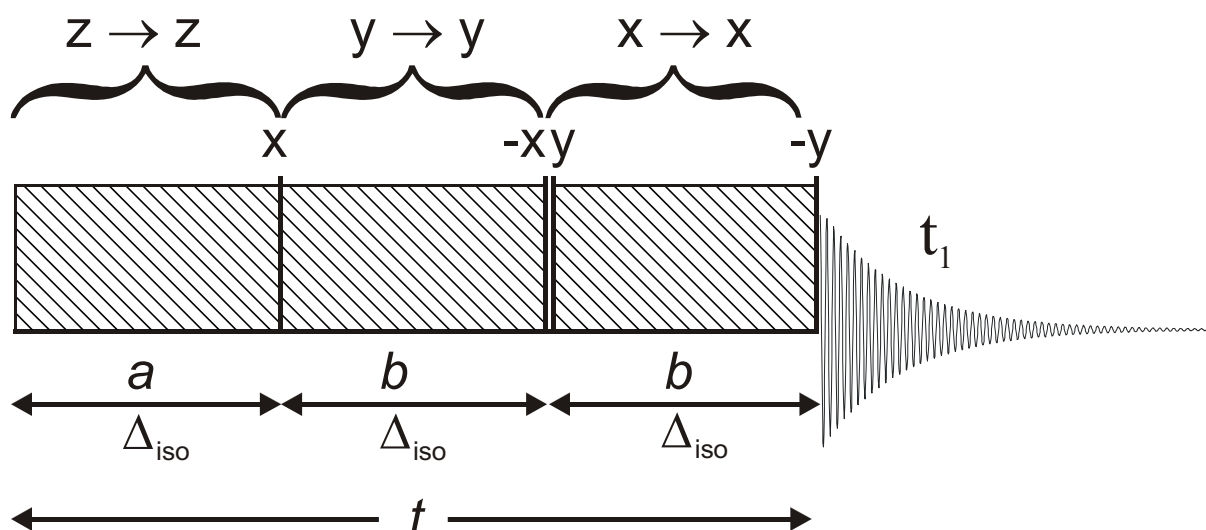


Abbildung 4: Prinzipieller Aufbau einer für homonukleare Messungen geeigneten zyx-ICOS-CT-Sequenz. Die Mischzeit jedes Multipuls-Bausteins entspricht der Länge der optimierten (a, b) bzw. des isotropen (Δ_{iso}) Delays.

Die Transferfunktionen für die in Abb. 4 dargestellte Sequenz in Abhängigkeit von den Delays a und b lassen sich leicht mit Hilfe des Modells des kippenden Koordinatensystems und

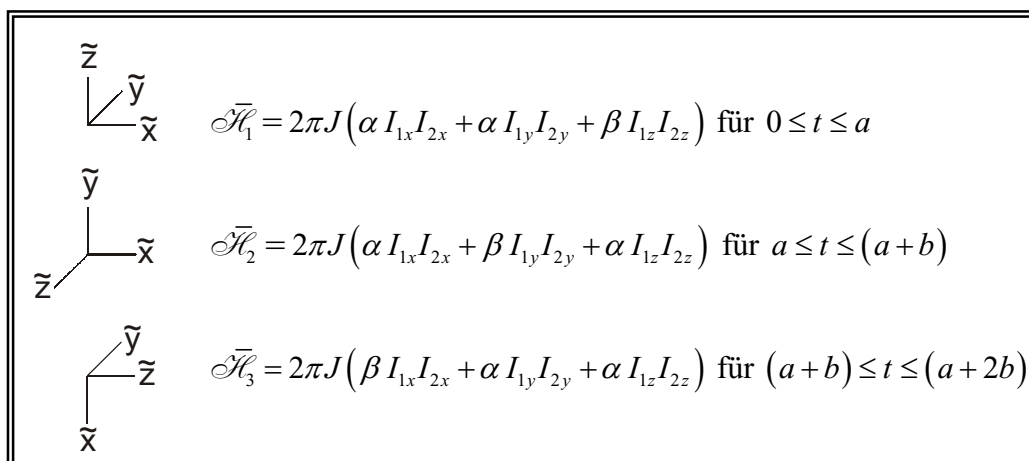


Abbildung 5: Ausrichtung des kippenden Koordinatensystems während der drei Delays einer ICOS-CT-Sequenz mit Multipuls-Bausteinen anstelle von 180° -Pulsen (Abb. 3). Neben der Abbildung des Koordinatensystems ist jeweils der gemittelte Hamilton-Operator des entsprechenden TOCSY-Bausteins angegeben.

der *Average Hamiltonian Theory* ableiten. Der zeitliche Mittelwert aus den drei sukzessiv nacheinander wirkenden, gemittelten Hamilton-Operatoren $\bar{\mathcal{H}}_1$, $\bar{\mathcal{H}}_2$ und $\bar{\mathcal{H}}_3$ (siehe Abb. 5) ergibt den gemittelten, die Gesamtwirkung der Sequenz beschreibenden, Hamilton-Operator $\bar{\mathcal{H}}$:

$$\begin{aligned}
\bar{\mathcal{H}} &= \frac{1}{a+2b} (a \cdot \mathcal{H}_1 + b \cdot \mathcal{H}_2 + b \cdot \mathcal{H}_3) \\
&= \frac{2\pi J}{a+2b} \left\{ (a \cdot \alpha + b \cdot \alpha + b \cdot \beta) I_{1x} I_{2x} + (a \cdot \alpha + b \cdot \alpha + b \cdot \beta) I_{1y} I_{2y} + (a \cdot \beta + b \cdot \alpha + b \cdot \alpha) I_{1z} I_{2z} \right\} \\
&= 2\pi \left\{ J_{eff}^{trans} (I_{1x} I_{2x} + I_{1y} I_{2y}) + J_{eff}^{long} \cdot I_{1z} I_{2z} \right\} \quad [12]
\end{aligned}$$

mit

$$J_{eff}^{trans} = J \frac{b(\alpha + \beta) + a \cdot \alpha}{a + 2b} \quad [13]$$

und

$$J_{eff}^{long} = J \frac{2 \cdot b \cdot \alpha + a \cdot \beta}{a + 2b}. \quad [14]$$

Für die Transferfunktionen gilt:

$$T_{I_1 \rightarrow I_2} = \sin\left(\pi J_{eff}^{trans} t\right) \sin\left(\pi J_{eff}^{long} t\right) = \sin\left(\pi J \frac{b(\alpha + \beta) + a \cdot \alpha}{a + 2b} t\right) \sin\left(\pi J \frac{2 \cdot b \cdot \alpha + a \cdot \beta}{a + 2b} t\right) \quad [15]$$

und

$$T_z = \sin^2\left(\pi J_{eff}^{trans} t\right) = \sin^2\left(\pi J \frac{b(\alpha + \beta) + a \cdot \alpha}{a + 2b} t\right). \quad [16]$$

Mit $t = a + 2b$ ergibt sich daraus:

$$T_{I_1 \rightarrow I_2} = \sin\left(\pi J (b(\alpha + \beta) + a \cdot \alpha)\right) \sin\left(\pi J (2 \cdot b \cdot \alpha + a \cdot \beta)\right) \quad [17]$$

und

$$T_z = \sin^2\left(\pi J(b(\alpha + \beta) + a \cdot \alpha)\right). \quad [18]$$

Für die Skalierungsfaktoren im Hamilton-Operator von Glg. [3] gilt daher:

$$f_x = f_y = f_{\perp} = a \cdot \alpha + b \cdot (\alpha + \beta) \quad [19]$$

bzw.

$$f_z = a \cdot \beta + 2 \cdot b \cdot \alpha. \quad [20]$$

10.2 Experimentelles

Um die theoretischen Voraussagen in der Praxis zu überprüfen, wurde die Intensität des Kreuzpeaks zwischen H5 und H6 von Cytosin in anisotroper Lösung für jeweils (optimierter bzw. isotroper Transfer) zehn verschiedene Mischperioden aufgenommen. Zur Herstellung der anisotropen Lösung wurden kommerziell erhältliche Phagen (PF1-LP11-92, ASLA Ltd., Lettland) verwendet. Um einem planaren Hamilton-Operator der freien Evolution nahe zu kommen, wurde die residuale quadrupolare Aufspaltung des D₂O-Signals durch Variation der Phagenkonzentration auf ca. 9.7 Hz einjustiert, ein Wert der, basierend auf früheren Erfahrungen mit Cytosin in Phagenlösung, einer residualen dipolaren Kopplungskonstante von ca. -7.2 Hz entspricht. Tatsächlich traten bei dieser Phagenkonzentration die Signale von H5 und H6 im ¹H-Spektrum von Cytosin als Singulets auf (s. Abb. 6).

Die für die Messungen verwendete Pulssequenz ist in Abb. 7 dargestellt, Abb. 8 zeigt neben einem einfachen 1D-Spektrum von Cytosin (A) ein ¹H-Cytosin-Spektrum nach Anwendung dieser Pulssequenz (B, Mischzeit $\tau_{mix} = 0$ ms). Die Pulssequenz sollte insbesondere folgende Punkte gewährleisten:

1.) Die Unterdrückung der Offsets von H5 und H6 von Cytosin (± 459 Hz).

Die dazu dienlichen TOCSY-Bausteine wurden aus einer MOCCA-XY16 Sequenz mit einem Δ/d -Verhältnis von 16.5 und einer mittleren RF-Leistung von 7.47 kHz aufgebaut. Die

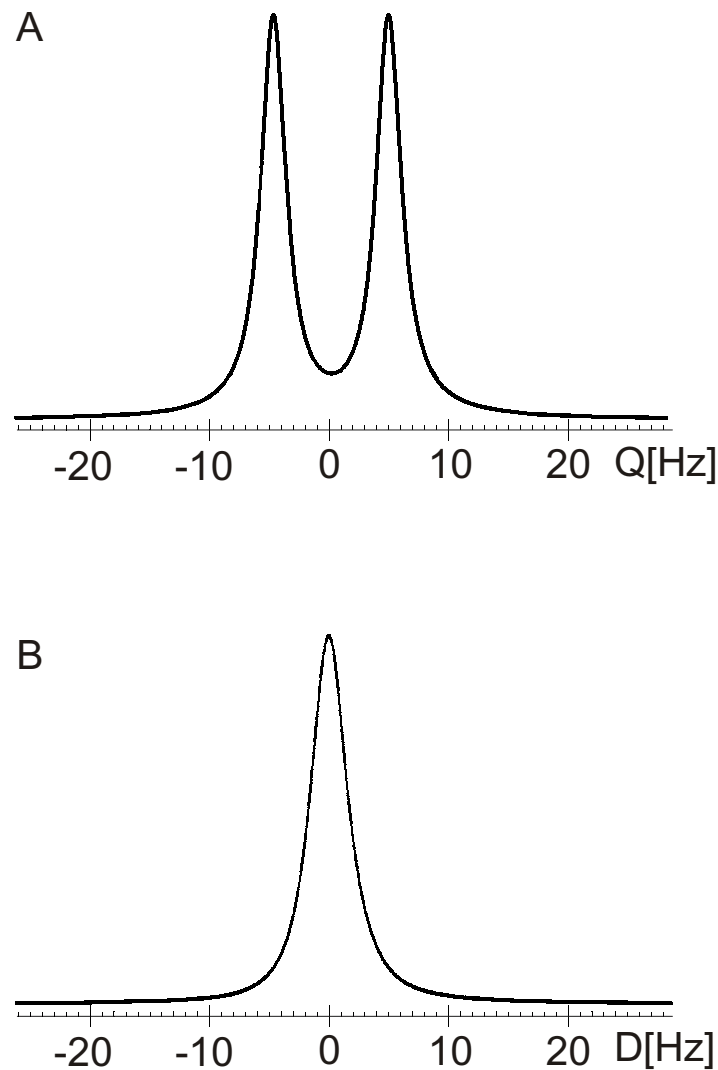


Abbildung 6: (A) Ausschnitt aus dem 2H -Spektrum der verwendeten Probe mit dem Dublett der Wasser-Resonanz bei einer residualen quadrupolaren Aufspaltung von ca. 9.7 Hz. (B) H5-Resonanz von Cytosin mit einer Gesamtaufspaltung $D+J$ von ca. 0 Hz.

Dauer eines TOCSY-Bausteins entsprach jeweils der eines Delays (Delaylängen siehe Tab. 1). War das Delay kürzer als die Zykluszeit $\tau_{\text{cyc}} = 4.48$ ms der MOCCA-XY16-Sequenz, wurden nur die ersten vier (minimale Delaylänge, entsprechend 1.12 ms), die ersten acht oder die ersten zwölf Pulse/Delays von MOCCA-XY16 zum Ausfüllen des Delays verwendet. Längere Delays wurden zunächst durch ganzzahlige Vielfache des Basiszyklus von MOCCA-XY16 ausgefüllt, der verbleibende Rest wie oben für kürzere Delays beschrieben. Die Delays

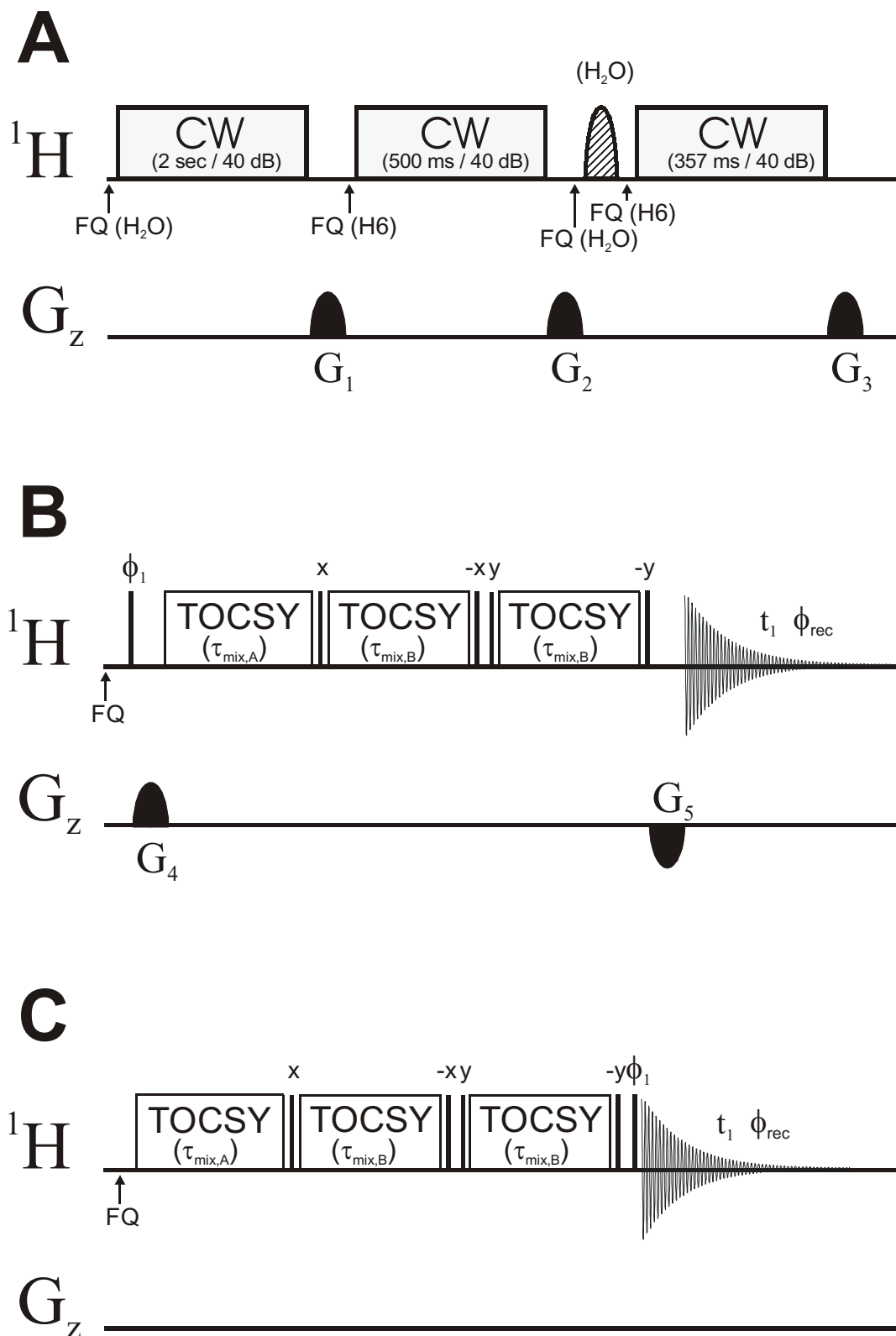


Abbildung 7: Bausteine der zur Aufnahme der Transferfunktionen verwendeten Pulssequenz. (A) Sequenz zur Unterdrückung des Wassersignals und der H6-Resoanz von Cytosin (siehe Text). (B) Sequenz zur Aufnahme der Transferfunktion $I_1^- \rightarrow I_2^-$ bzw. der isotropen Transferfunktion (siehe Text). (C) Sequenz zur Aufnahme der Transferfunktion $I_{1z} \rightarrow I_{2z}$ bzw. der isotropen Transferfunktion (siehe Text).

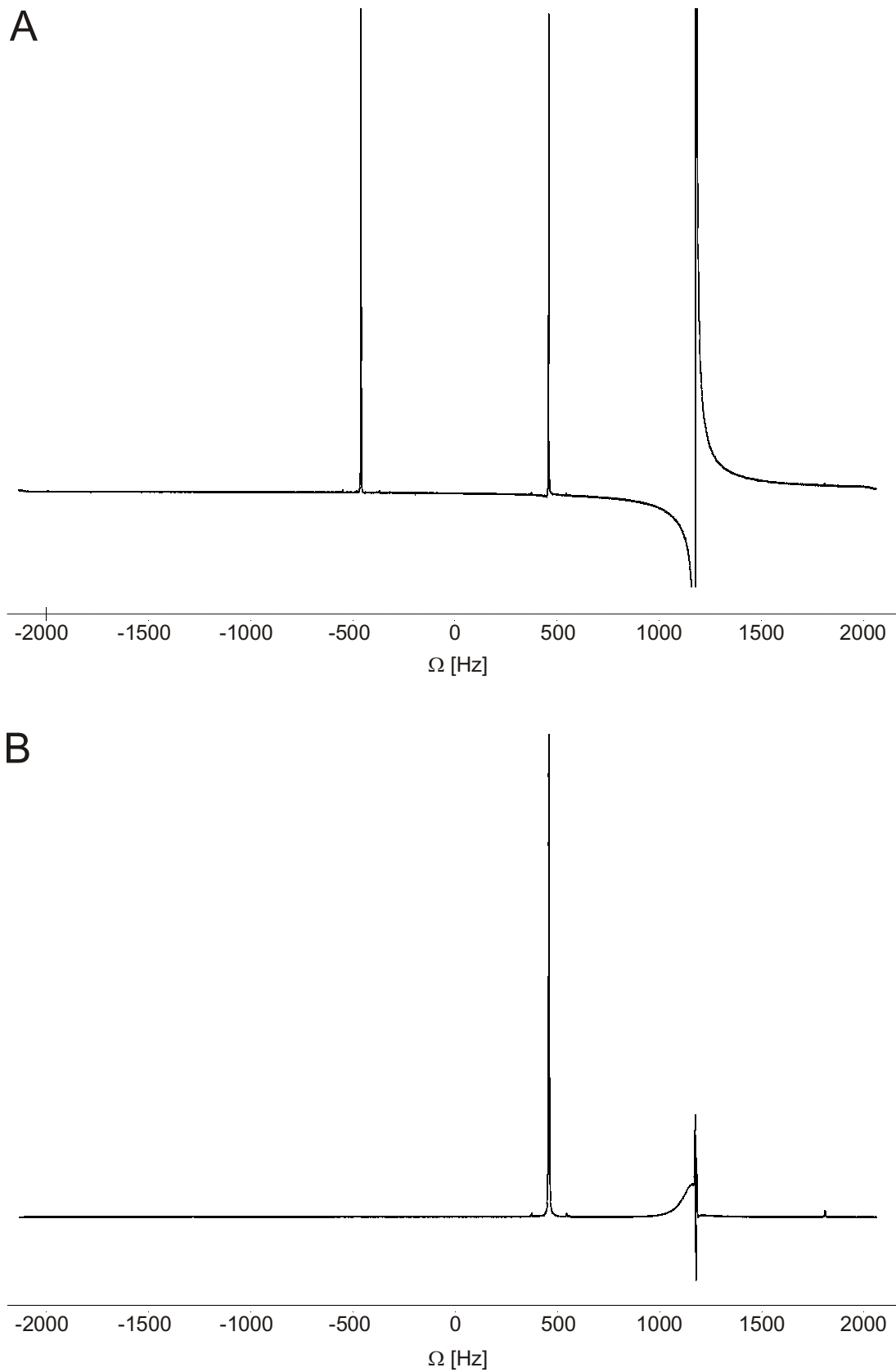


Abbildung 8: ^1H -Spektren der für die Messungen verwendeten anisotropen Cytosin-Probe. (A) Einfaches 1D-Spektrum ohne Wasserunterdrückung. (B) Spektrum nach Sättigung der H6-Resonanz und der Wasserresonanz.

konnten daher nur auf ein Viertel der MOCCA-XY16-Zykluszeit genau eingestellt werden, was eine gezielte Auswahl geeigneter Mischzeiten notwendig machte, um verbleibende Differenzen zu minimieren. Die Abweichung zwischen experimentellen und theoretischen Delaylängen ist in Abb. 9 dargestellt. Die TOCSY-Sequenz führt zu einer Herunterskalierung der residualen dipolaren Kopplungskonstante und damit auch des $I_{1x}I_{2x}$ - und $I_{1y}I_{2y}$ -Terms im *Average Hamiltonian* (Vorfaktor $J - s_D \cdot D/2$), in dem nun auch ein geringfügiger $I_{1z}I_{2z}$ -Term (Vorfaktor $J + s_D \cdot D$) auftritt:

$$\overline{\mathcal{H}}^{\text{MOCCA-XY16}} = 2\pi \left\{ 9.6 \cdot (I_{1x}I_{2x} + I_{1y}I_{2y}) + 0.3 \cdot I_{1z}I_{2z} \right\}.$$

2.) Die Unterdrückung des H6-Signals von Cytosin unmittelbar vor Beginn der Mischperiode und die Unterdrückung des Wassersignals für alle Mischzeiten.

Diese Signale mußten möglichst gründlich unterdrückt werden, da die Unterschiede zwischen optimierter und isotroper Transfereffizienz nur relativ gering sind: zunächst erfolgte die selektive Sättigung des Wassersignals (2 sec, 40 dB), dann die der H6-Resonanz (500 ms, 40 dB) durch CW-Einstrahlung, wobei verbleibende transversale Magnetisierung jeweils nach jeder CW-Einstrahlung durch einen Gradienten zerstört wurde. Es folgte ein selektiver Puls, der auf die Wasser-Resonanz als 180°-Puls wirkte, auf die H5-Resonanz aber als 360°-Puls. Für die Feldstärke ν_{rf} dieses Pulses galt:

$$\nu_{rf} = \nu_{eff}^{H_2O} = \frac{|\nu^{H5} - \nu^{H_2O}|}{\sqrt{3}} = \frac{|3621.32 - 2901.59|}{\sqrt{3}} = 415.54 \text{ Hz.}$$

Es wurde daher ein (bezüglich der Wasser-Resonanz) *on resonance* – Puls mit einer Dauer $\tau_p = 1.2$ ms implementiert, dessen dB-Wert so lange variiert wurde, bis der Puls die vollständige Inversion des Wasser-Signals bewirkte. Die Dauer der nachfolgenden CW-Einstrahlung auf die H6-Resonanz wurde so gewählt, daß das invertierte Wasser-Signal gerade zu Beginn der Mischperiode zu Null relaxiert war.

3.) Die Selektion des Transfers $I_1^- \rightarrow I_2^-$.

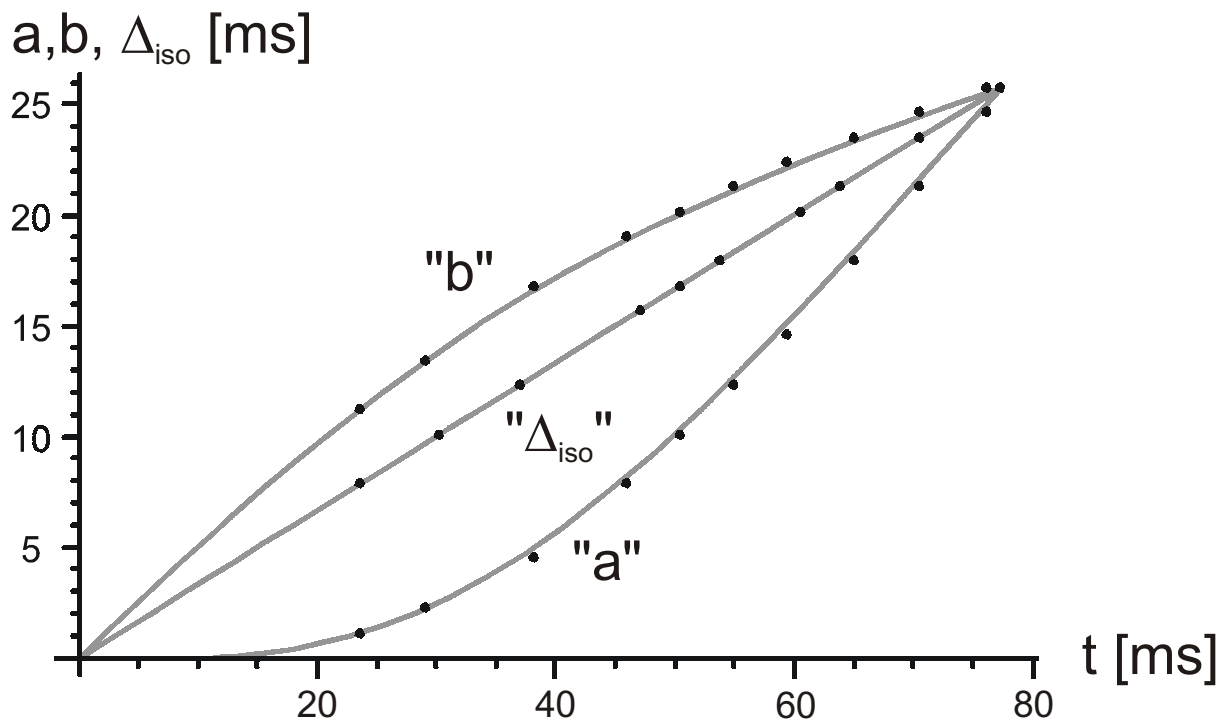


Abbildung 9: Theoretische Delaylängen (durchgezogene Linien) vs. experimentelle Delaylängen bzw. Dauer der TOCSY-Bausteine (Punkte).

Isotrope Sequenz		Optimierte Sequenz			
$(4\Delta)/\tau_{\text{cyc}}^{\text{MOCCA-XY16}}$	Δ [ms]	$(4a)/\tau_{\text{cyc}}^{\text{MOCCA-XY16}}$	a [ms]	$(4b)/\tau_{\text{cyc}}^{\text{MOCCA-XY16}}$	b [ms]
7	7.84	1	1.12	10	11.2
9	10.08	2	2.24	12	13.44
11	12.32	4	4.48	15	16.80
14	15.68	7	7.84	17	19.04
15	16.80	9	10.08	18	20.16
16	17.92	11	12.32	19	21.28
18	20.16	13	14.56	20	22.40
19	21.28	16	17.92	21	23.52
21	23.52	19	21.28	22	24.64
23	25.76	22	24.64	23	25.76

Tabelle 1: Experimentelle Delaylängen

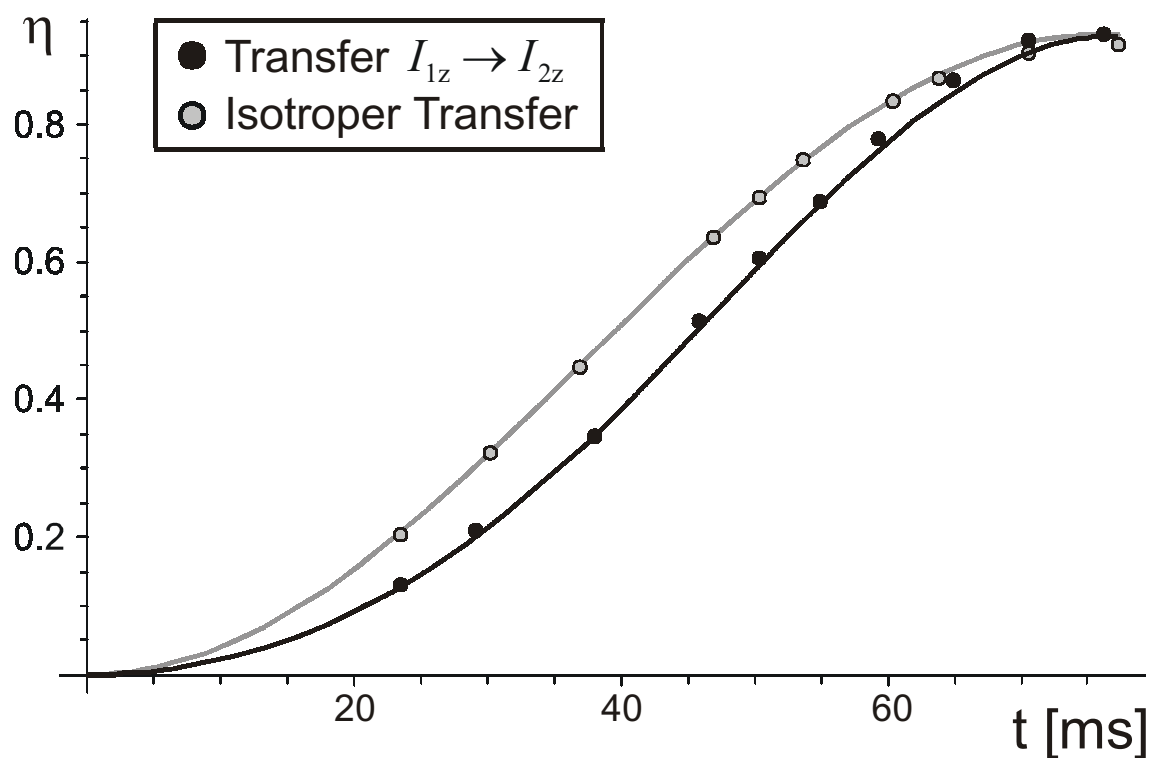
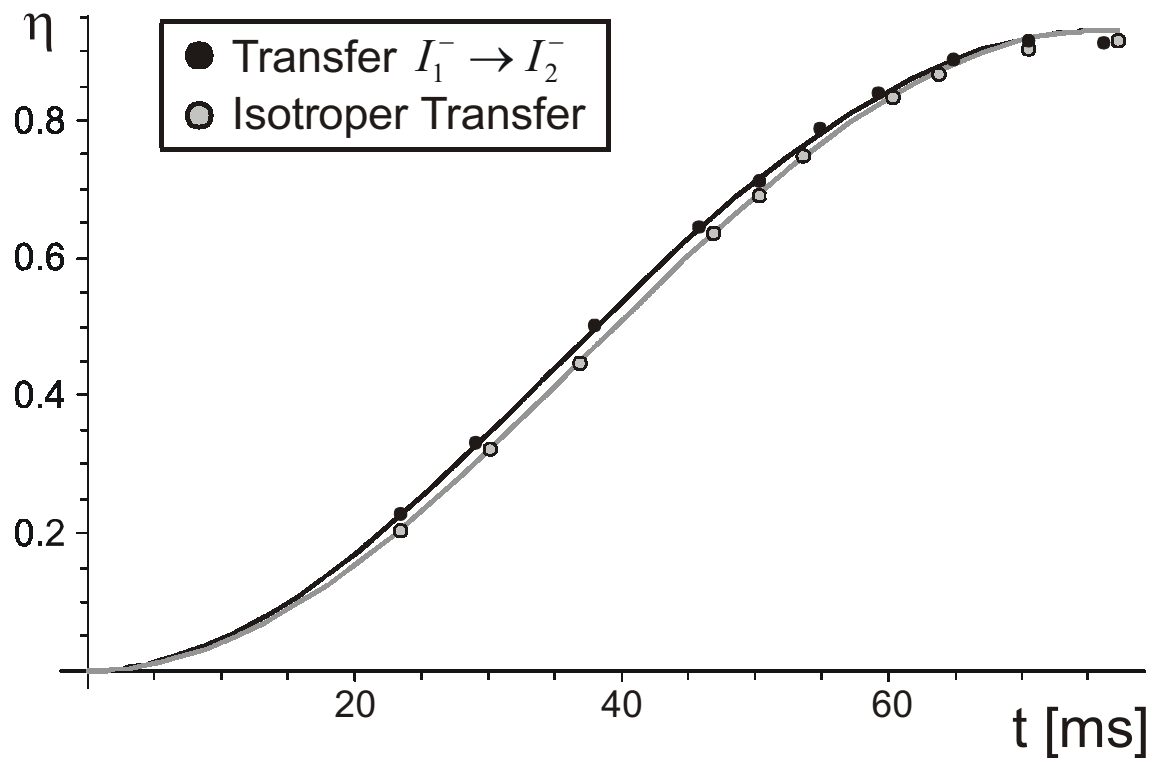


Abbildung 10: Vergleich numerischer (durchgezogene Kurven) und experimenteller (Punkte) Transfereffizienzen. Folgende Parameter wurden für die Simulation angenommen: $\alpha = 1$, $\beta = 0.0317145$ und $J = 9.554$ Hz. Die numerischen Kurven wurden zur Simulation von Relaxationseffekten mit dem exponentiellen Dämpfungsfaktor $e^{-0.94 \cdot t}$ multipliziert, die experimentellen Werte mit dem Normierungsfaktor $3.48364 \cdot 10^{-11}$.

Die Transferspezifität wird durch die Gradienten 4 und 5 (Abb. 7) in Kombination mit einem Phasenzyklus erreicht.

Die experimentellen im Vergleich mit den entsprechenden theoretischen Transferfunktionen sind in Abb. 10 dargestellt. Neben dem Transfer $I_1^- \rightarrow I_2^-$, auf den die optimierte Sequenz spezialisiert ist, ist auch der Transfer $I_{1z} \rightarrow I_{2z}$ dargestellt, der erwartungsgemäß von der isotropen Sequenz besser bewältigt wird, als von der für den Transfer $I_1^- \rightarrow I_2^-$ optimierten.

Kapitel 11

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird schwerpunktmäßig der homonukleare Hartmann-Hahn-Transfer via skalare und residuale dipolare Kopplungen im Rahmen der hochauflösenden NMR-Spektroskopie von Flüssigkeiten untersucht.

Der erste Teil der Arbeit (Kapitel 2) beschäftigt sich mit wichtigen theoretischen Hilfsmitteln, die für das Verständnis der nachfolgenden Kapitel notwendig sind. In diesem Zusammenhang werden elementare Grundlagen wie das Prinzip des Hartmann-Hahn-Transfers ebenso erläutert, wie zum Beispiel der generelle Aufbau in der Praxis gebräuchlicher Multipuls-Sequenzen. Als wichtigstes Hilfsmittel zur theoretischen Beschreibung der Multipuls-Sequenzen wird die *Average Hamiltonian*-Theorie und das in diesem Zusammenhang wichtige Konzept des kippenden Koordinatensystems eingeführt.

Da die Definition der dipolaren Kopplungskonstante abhängig ist von der Definition des dipolaren Kopplungs-Hamilton-Operators, finden sich in der Literatur zum Teil unterschiedliche Formeln für die dipolare Kopplungskonstante oder auch den dipolaren Kopplungs-Hamilton-Operator. Eine einfache Ableitung des Zusammenhanges zwischen dipolarer Kopplungskonstante und dipolarem Kopplungs-Hamilton-Operator wird in Kapitel 3 beschrieben.

In Kapitel 4 werden neue, auf dipolaren Kohärenz- bzw. Polarisationstransfer optimierte Hartmann-Hahn-Mischsequenzen vorgestellt und deren Anwendung auf ein Protein demonstriert. Wenn relativ kleine Bandbreiten für eine gegebene Applikation ausreichend sind, können mit den sog. MOCCA-Sequenzen dipolare Skalierungsfaktoren s_D von annähernd 1 erreicht werden. Für breitbandige Anwendungen müssen geringfügig reduzierte Skalierungsfaktoren in Kauf genommen werden, die aber in der Regel deutlich über dem Skalierungsfaktor $|s_D| \approx 0.5$ von DIPSI-2 liegen. Die größeren Skalierungsfaktoren der MOCCA-Sequenzen, die sich direkt in schnellere Transferdynamiken umsetzen, und deren insbesondere beim Transfer von z-Magnetisierung vorteilhaftere effektive Relaxationsraten führen dazu, daß diese in der Praxis DIPSI-artigen Sequenzen vorzuziehen sind.

Die optimierten MOCCA-Sequenzen werden in Kapitel 5 mit anderen gebräuchlichen Multipuls-Sequenzen und dem COSY-Experiment in Hinblick auf Transfer via skalare und residuale dipolare Kopplungen verglichen. Die abgeleiteten theoretischen Resultate ermöglichen eine rationale Wahl der geeigneten Mischsequenz(en) für ein gegebenes zweidimensionales Korrelationsexperiment. Gezeigt wird unter anderem, daß unabhängig von der Wahl der Multipuls-Sequenz die Transfereffizienz für zumindest ein D/J -Verhältnis null ist, entsprechendes gilt auch für das COSY-Experiment. Wird bei der Messung bestimmter Korrelationen die relative Größe von D und J variiert, müssen daher immer zwei komplementäre Experimente aufgenommen werden, um effizienten Transfer für alle möglichen Verhältnisse D/J zu gewährleisten. Da im Falle von Hartmann-Hahn-artigen Experimenten für den Transfer von Polarisation nur eine einzige Nullstelle existiert, für den Transfer von Kohärenz aber deren zwei, ist hier der Transfer von Polarisation dem Transfer von Kohärenz in der Regel vorzuziehen. Die Positionen der Nullstellen sind spezifisch für das jeweilige Experiment und werden bei Hartmann-Hahn-artigen Experimenten durch die Größe des dipolaren Skalierungsfaktors bestimmt.

Die schon in Kapitel 5 erwähnte Tatsache, daß Kohärenz- und Polarisationstransferfunktionen sensitiv bezüglich des relativen Vorzeichens von J und D sind, wird in Kapitel 6 zur Bestimmung des Vorzeichens residueller dipolarer Kopplungskonstanten ausgenutzt. Die Methode des Vergleichs von simulierten/experimentellen TOCSY-Transferfunktionen kann, wenn Relaxationsphänomene vernachlässigbar sind, zumindest bei 2-Spin-Systemen genutzt werden, um das Vorzeichen residueller dipolarer Kopplungen in Gegenwart skalarer Kopplungen zu bestimmen. Bei dieser Methode ist transversaler vor longitudinalem Transfer zu bevorzugen, wobei das TOCSY-Experiment mit dem größten dipolaren Skalierungsfaktor am vorteilhaftesten ist. Das Verfahren läßt sich gegebenenfalls mit Hilfe der MOCCA-M16-Sequenz vereinfachen, da unter dieser der transversale (x- bzw. y-) Transfer bei kurzen Mischzeiten einen Vorzeichenwechsel bei D/J ca. -1 aufweist. Probleme hinsichtlich der Größe des Spinsystems lassen sich durch Anwendung einer TACSY-Sequenz minimieren, allerdings wird das Verfahren in der Praxis nur dann anwendbar sein, wenn Kreuzrelaxationsphänomene vernachlässigbar sind.

Kreuzrelaxationsphänomene in Zusammenhang mit Hartmann-Hahn-Sequenzen und dipolarem Transfer werden in Kapitel 7 näher analysiert. Interessanterweise zeigt sich dabei, daß die phasenalternierenden Sequenzen TOWNY und DIPSI-2rc im Spindiffusions-Grenzfall

($\sigma_{ROE} / \sigma_{NOE} = -2$) praktisch keinen „reinen“ dipolaren Transfer bei gleichzeitiger Unterdrückung von Kreuzrelaxation ermöglichen. Dieses Phänomen wird verständlich gemacht und es wird gezeigt, daß, bei Anwendbarkeit der *Average Hamiltonian*-Theorie, mit phasenalternierenden, für den Spindiffusions-Grenzfall kreuzrelaxationskompensierten Sequenzen, die mit phasenalternierenden Superzyklen wie MLEV-4 oder MLEV-16 expandiert sind, generell kein „reiner“ x-, y-, oder z-Transfer möglich ist. Sequenzen dieser Art sind hervorragend geeignet für Anwendungen, bei denen effizienter skalarer Transfer erwünscht ist, es aber gleichzeitig auf die möglichst vollständige Unterdrückung von dipolarem Transfer und Kreuzrelaxationseffekten ankommt. Die Substitution der phasenalternierenden Superzyklen MLEV-4 bzw. MLEV-16 durch entsprechende XY-Superzyklen verwandelt TOWNY und DIPSI-2rc in nicht-phasenalternierende Sequenzen, die auch im Falle von Kreuzrelaxationskompensation effizienten dipolaren Transfer ermöglichen. Auch die dipolaren Transfereigenschaften der Clean CITY-Sequenz können auf diese Weise signifikant verbessert werden.

Kapitel 8 und 9 beschäftigen sich mit Anwendungen der MOCCA-Sequenzen. In Kapitel 8 werden Artefakte diskutiert, die in Spektren eines auf die Messung kleiner residueller dipolarer Kopplungskonstanten optimierten SIAM-Experimentes (mit einer MOCCA-XY16-Sequenz als Multipuls-Baustein) auftraten. Es wird gezeigt, daß die aus Glycin-Signalen mit einer modifizierten Multipllett-Struktur bestehenden Artefakte auf homonuklearem TOCSY-Transfer zwischen H_α und $H_{\alpha'}$ zurückzuführen sind, der während den verwendeten bandselektiven Refokussierungspulsen auftrat. Die gewonnenen Resultate legen nahe, daß ein möglicher Ansatz zur Reduktion von Artefakten in ω_1 -entkoppelten Spektren darin besteht, die Dauer des spinselektiven Inversionselementes zu reduzieren. In Kapitel 9 werden anhand analytischer Berechnungen und numerischer Simulationen die dipolaren Transfereigenschaften verschiedener COIN-TACSU-Experimente diskutiert. Insbesondere werden auf dipolaren Transfer optimierte COIN-Experimente vorgestellt, wobei gezeigt wird, daß die Dipsi-2-Sequenz trotz des betragsmäßig geringeren dipolaren Skalierungsfaktors als Multipuls-Baustein vor der MOCCA-XY16-Sequenz zu bevorzugen ist.

Kapitel 10 beschreibt die experimentelle Implementierung des zeitoptimalen, kohärenzselektiven Transfers von In-Phase-Kohärenz für den Spezialfall eines annähernd planaren effektiven Hamilton-Operators. Als Modellsystem wurde das Protonen-2-Spin-System von mittels Pfl-Phagen orientiertem Cytosin benutzt, wobei die Größe der residuellen dipolaren Kopp-

lungskonstante in Hinblick auf einen planaren zeitabhängigen Hamilton-Operator optimiert wurde. Der experimentell beobachtete zeitliche Verlauf des Transfers $I_1^- \rightarrow I_2^-$ konnte ebenso wie der experimentell beobachtete zeitliche Verlauf des Transfers $I_{1z} \rightarrow I_{2z}$ sehr gut mit den theoretischen Erwartungswerten in Übereinstimmung gebracht werden.

Kapitel 12

Literaturverzeichnis

- (1) S. R. Hartmann & E. L. Hahn, Nuclear double resonance in the rotating frame, *Phys. Rev.* **128**, 2042-2053 (1962).
- (2) L. Braunschweiler, R. R. Ernst, Coherence transfer by isotropic mixing: application to proton correlation spectroscopy, *J. Magn. Reson.* **53**, 521-528 (1983).
- (3) S. J. Glaser, J. J. Quant, Homonuclear and heteronuclear Hartmann-Hahn transfer in isotropic liquids, *Adv. Magn. Reson.* **19**, 59-252 (1996).
- (4) E. W. Bastiaan, C. Maclean, P. C. M. van Zijland and A. A. Bothner-By, High-resolution NMR of liquids and gases: effects of magnetic-field-induced molecular alignment, *Annual Reports on NMR Spectroscopy* **19**, 35-77 (1987).
- (5) J. Schleucher, J. Quant, S. J. Glaser and C. Griesinger, TOCSY in ROESY and ROESY in TOCSY, *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, John Wiley & Sons Ltd., 4789-4804 (1996).
- (6) A. Saupe and G. Englert, High-resolution nuclear magnetic resonance spectra of oriented molecules, *Phys. Rev. Lett.* **11**, 462-464 (1963).
- (7) N. Tjandra and A. Bax, Direct measurement of distances and angles in biomolecules by NMR in a dilute liquid crystalline medium, *Science* **278**, 1111-1114 (1997).
- (8) G. M. Clore, M. R. Starich and A. M. Gronenborn, Measurement of residual dipolar couplings of macromolecules aligned in the nematic phase of a colloidal suspension of rod-shaped viruses, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 10571-10572 (1998).

-
- (9) M. R. Hansen, M. Rance and A. Pardi, Observation of long-range ^1H - ^1H distances in solution by dipolar coupling interactions, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 11210-11211 (1998).
- (10) M. R. Hansen, L. Mueller & A. Pardi, Tunable alignment of macromolecules by Filamentous phage yields dipolar coupling interactions. *Nat. struct. Biol.* **5**, 1065-1074 (1998).
- (11) M. R. Hansen, P. Hanson & A. Pardi, Filamentous bacteriophage for aligning RNA, DNA, and proteins for measurement of nuclear magnetic resonance dipolar coupling interactions, *Methods Enzymol.* **317**, 220-240 (2000).
- (12) P. Ram & J. H. Prestegard, Magnetic-Field induced ordering of bile-salt phospholipid micelles - new media for NMR structural investigations. *Biochim. biophys. Acta* **940**, 289-294 (1988).
- (13) C. R. Sanders & J. P. Schwonek, Characterization of magnetically orientable bilayers in mixtures of dihexanoylphosphatidylcholine and dimyristoylphosphatidylcholine by solid-state NMR, *Biochemistry* **31**, 8898-8905 (1992).
- (14) A. Bax, G. Kontaxis & N. Tjandra, Dipolar couplings in macromolecular structure determination, *Meth. Enzymol.* **339**, 127-174 (2001).
- (15) F. Kramer, W. Peti, C. Griesinger, and S. J. Glaser, Optimized homonuclear Carr-Purcell-type dipolar mixing sequences, *J. Magn. Reson.* **149**, 58-66 (2001).
- (16) F. Kramer and S. J. Glaser, Efficiency of homonuclear Hartmann-Hahn and COSY-type mixing sequences in the presence of scalar and residual dipolar couplings, *J. Magn. Reson.* **155**, 83-91 (2002).
- (17) T. Prasch, P. Gröschke und S. J. Glaser, SIAM, ein neues NMR-Experiment für die Bestimmung homonuclearer Kopplungskonstanten, *Angew. Chem.* **110**, 817-821 (1998).

-
- (18) A. Möglich, M. Wenzler, F. Kramer, S. J. Glaser and E. Brunner, Determination of residual dipolar couplings in homonuclear MOCCA-SIAM experiments, *J. Biom. NMR* **23**, 211-219 (2002).
- (19) T. Carlomagno, T. Prasch, and S. J. Glaser, COIN TACSY, a novel approach to tailored correlation spectroscopy, *J. Magn. Reson.* **149**, 52-57 (2001).
- (20) O. W. Sørensen and R. R. Ernst, Elimination of spectral distortion in polarization transfer experiments. Improvements and comparison of techniques, *J. Magn. Reson.* **51**, 477-489
- (21) O. W. Sørensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen and R. R. Ernst, Product operator formalism for the description of new pulse experiments, *Prog. NMR Spectrosc.* **16**, 163-192 (1983).
- (22) M. H. Levitt, R. Freeman and T. Frenkiel, Broadband decoupling in high-resolution Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy, *Adv. Magn. Reson.* **11**, 47-110 (1983).
- (23) A. J. Shaka and J. Keeler, Broadband spin decoupling in isotropic liquids, *Prog. NMR Spectrosc.* **19**, 47-129 (1987).
- (24) M. H. Levitt, Composite Pulses, *Prog. NMR Spectrosc.* **18**, 61-122 (1986).
- (25) W. S. Warren and M. Silver, The Art of Pulse Crafting: Applications to Magnetic Resonance and Laser Spectroscopy, *Adv. Magn. Reson.* **12**, 248-384 (1988).
- (26) R. Freeman, Selective excitation in high resolution NMR, *Chem. Rev.* **91(7)**, 1397-1412 (1991).
- (27) H. Kessler, S. Mronga, and G. Gemmecker, Multi-Dimensional NMR Experiments Using Selective Pulses, *Magn. Reson. Chem.* **29**, 527-557 (1991).
- (28) A. J. Shaka, J. Keeler, T. Frenkiel, and R. Freeman, An improved sequence for broadband decoupling: WALTZ-16, *J. Magn. Reson.* **52**, 335-338 (1983).

-
- (29) A. J. Shaka, C. J. Lee, and A. Pines, Iterative schemes for bilinear operators: application to spin decoupling, *J. Magn. Reson.* **77**, 274-293 (1988).
- (30) M. H. Levitt, R. Freeman, and T. Frenkiel, Broadband heteronuclear decoupling, *J. Magn. Reson.* **47**, 328-330 (1982).
- (31) M. H. Levitt, Symmetrical composite pulse sequences for NMR population inversion. I. Compensation of radio frequency field inhomogeneity, *J. Magn. Reson.* **48**, 234-264 (1982).
- (32) R. R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun, Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions, *Oxford University Press*, London (1987).
- (33) J. Briand and R. R. Ernst, Computer-optimized homonuclear TOCSY experiments with suppression of cross relaxation, *Chem. Phys. Lett.* **185**, 276-285 (1991).
- (34) U. Haeberlen and J. S. Waugh, Coherent Averaging Effects in Magnetic Resonance, *Pys. Rev.* **175**, 453-467 (1968).
- (35) U. Haeberlen, High Resolution NMR in Solids: Selective Averaging, *Adv. Magn. Reson. Suppl.* **1** (1976).
- (36) A. Bielecki, A. C. Kolbert, H. J. M. de Groot, R. G. Griffin and M. H. Levitt, Frequency-Switched Lee-Goldburg Sequences in Solids, *Adv. Magn. Reson.* **14**, 111-124 (1990).
- (37) S. J. Glaser, Multiple-pulse sequences in high-resolution NMR: TOCSY, adiabatic pulses, decoupling, Lecture notes, EMBO course multidimensional NMR in structural biology (2000).
- (38) M. Deshmukh, F. Kramer, S. J. Glaser, Manuskript in Vorbereitung.
- (39) A. Losonczi, M. Andrec, M. W. F. Fisher and J. H. Prestegard, Order matrix analysis of residual dipolar couplings using singular value decomposition, *J. Magn. Reson.* **138**, 334-342 (1999).

-
- (40) A. Saupe, Kernresonanzen in kristallinen Flüssigkeiten und kristallinflüssigen Lösungen. Teil I., *Z. Naturforschung*. **19A**, 161-171 (1964).
- (41) G. Lipari, A. Szabo, Model-free approach to the interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 1. Theory and range of validity, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 4546-4559 (1982).
- (42) J.R. Tolman, J. M. Flanagan, M. A. Kennedy, and J. H. Prestegard, Nuclear magnetic dipole interactions in field-oriented proteins: Information for structure determination in solution, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 9279-9283 (1995).
- (43) A. Bax and N. Tjandra, High resolution NMR of human ubiquitin in an aqueous liquid crystalline medium, *J. Biomol. NMR* **10**, 289-292 (1997).
- (44) J. H. Prestegard, New techniques in structural NMR-anisotropic interactions, *Nat. Struct. Biol., NMR suppl. July 1998*, 517-522 (1998).
- (45) D. G. Davis, A. Bax, Assignment of complex ^1H NMR spectra via two-dimensional homonuclear Hartmann-Hahn spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 2820-2821 (1985).
- (46) F. Kramer, B. Luy, and S. J. Glaser, Offset dependence of homonuclear Hartmann-Hahn transfer based on residual dipolar couplings in solution state NMR, *Appl. Magn. Reson.* **17**, 173-187 (1999).
- (47) O. Schedletzky and S. J. Glaser, Analytical coherence transfer functions for the general AMX system under isotropic mixing, *J. Magn. Reson. A* **123**, 174-180 (1996).
- (48) B. Luy and S. J. Glaser, Analytical polarization and coherence transfer functions for three dipolar coupled spins $1/2$, *J. Magn. Reson.* **142**, 280-287 (2000).
- (49) B. H. Meier, Polarization transfer and spin diffusion in solid-state NMR, *Adv. Magn. Reson.* **18**, 1-116 (1994).

-
- (50) G. M. Clore, A. M. Gronenborn, and A. Bax, A robust method for determining the magnitude of the fully asymmetric alignment tensor of oriented macromolecules in the absence of structural information, *J. Magn. Reson.* **133**, 216-221 (1998).
- (51) H. Y. Carr, and E. M. Purcell, Effects of diffusion on free precession in Nuclear Magnetic Resonance experiments, *Phys. Rev.* **94**, 630-638 (1954).
- (52) T. Gullion, D. B. Baker, and M. S. Conradi, New, compensated Carr-Purcell sequences, *J. Magn. Reson.* **89**, 479-484 (1990).
- (53) M. J. Lizak, T. Gullion, and M. S. Conradi, Measurement of like-spin dipole couplings, *J. Magn. Reson.* **91**, 254-260 (1991).
- (54) R. Tycko and A. Pines, Fixed point theory of iterative excitation schemes in NMR, *J. Chem. Phys.* **83**, 2775-2802 (1985).
- (55) H. M. Cho, R. Tycko and A. Pines, Iterative maps for bistable excitation of two-level systems, *Phys. Rev. Lett.* **56**, 1905-1908 (1985).
- (56) S. J. Glaser and G. P. Drobny, Assessment and optimization of pulse sequences for homonuclear isotropic mixing, *Adv. Magn. Reson.* **14**, 35-58 (1990).
- (57) J. A. Losonczi and J. H. Prestegard, Improved dilute bicelle solutions for high-resolution NMR of biological macromolecules, *J. Biomol. NMR* **12**, 447-451 (1998).
- (58) H. Wang, M. Eberstadt, T. Olejniczak, R. P. Meadows and S. W. Fesik, A liquid crystalline medium for measuring residual dipolar couplings over a wide range of temperatures, *J. Biomol. NMR* **12**, 443-446 (1998).
- (59) D. Marion, M. Ikura, R. Tschudin and A. Bax, Rapid Recording of 2D NMR Spectra without phase cycling. Application to the study of hydrogen exchange in proteins., *J. Magn. Reson.* **85**, 393-399 (1989).

-
- (60) M. Piotto, V. Saudek and V. Sklenár, Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions, *J. Biomol. NMR* **2**, 661-665 (1992).
- (61) C. Griesinger, and R. R. Ernst, Cross relaxation in time-dependent nuclear spin systems: invariant trajectory approach, *Chem. Phys. Lett.* **152**, 239-247 (1988).
- (62) W. Peti, C. Griesinger, Measurement of magnitude and sign of H,H dipolar couplings in proteins, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 3975-3976 (2000).
- (63) C. Griesinger, G. Otting, K. Wüthrich, and R. R. Ernst, Clean TOCSY for ^1H spin system identification in macromolecules, *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 7870-7872 (1988).
- (64) A. Bax and D. G. Davis, MLEV-17-based two-dimensional homonuclear magnetization transfer spectroscopy, *J. Magn. Reson.* **65**, 355-360 (1985).
- (65) B. Luy and S. J. Glaser, Superposition of scalar and residual dipolar couplings: analytical transfer functions for three spins $\frac{1}{2}$ under cylindrical mixing conditions, *J. Magn. Reson.* **148**, 169-181 (2001).
- (66) D. M. Taylor and A. Ramamoorthy, Analysis of dipolar-coupling-mediated coherence transfer in a homonuclear two spin- $\frac{1}{2}$ solid-state system, *J. Magn. Reson.* **141**, 18-28 (1999).
- (67) S. J. Glaser, Coupling topology dependence of polarization-transfer efficiency in TOCSY and TACSU experiments, *J. Magn. Reson. A* **104**, 283-301 (1993).
- (68) D. P. Burum and R. R. Ernst, Net polarization transfer via J-ordered state for signal enhancement of low-sensitivity nuclei, *J. Magn. Reson.* **39**, 163-168 (1980).
- (69) E. Brunner, J. Ogle, M. Wenzler, and H. R. Kalbitzer, Molecular alignment of proteins in bicellar solutions: quantitative evaluation of effects induced in 2D COSY spectra, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **272**, 694-698 (2000).

- (70) A. J. Shaka and A. Pines, Symmetric phase-alternating composite pulses, *J. Magn. Reson.* **71**, 495-503 (1987).
- (71) J. Cavanagh and M. Rance, Suppression of cross-relaxation effects in TOCSY spectra via a modified DIPSI-2 mixing sequence, *J. Magn. Reson.* **96**, 670-678 (1992).
- (72) M. Kadkhodaei, T.-L. Hwang, J. Tang, and A. J. Shaka, A simple windowless mixing sequence to suppress cross relaxation in TOCSY experiments *J. Magn. Reson. A* **105**, 104-107 (1993).
- (73) A. Bax, S. Grzesiek, , A. M. Gronenborn and M. Clore, Isotope-filtered 2D Hohaha spectroscopy of a peptide-protein complex using heteronuclear Hartmann-Hahn dephasing, *J. Magn. Reson. A* **106**, 269-273 (1994).
- (74) D. W. Bearden, S. Macura, and L. R. Brown, Suppression of cross relaxation in TOCSY experiments on macromolecules, *J. Magn. Reson.* **80**, 534-538 (1988).
- (75) U. Kerssebaum, R. Markert, J. Quant, W. Bermel, S. J. Glaser, and C. Griesinger, Power reduction in clean TOCSY experiments with shaped pulses, *J. Magn. Reson.* **99**, 185-191 (1992).
- (76) H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen und Übersicht über die Experimente, *Angew. Chem.* **100**, 507-554 (1988);
- (77) A. Pardi, M. Billeter und K. Wüthrich, Calibration of the angular dependence of the amide proton- C_α proton coupling constants, ${}^3JHN_\alpha$, in a globular protein. Use of ${}^3JHN_\alpha$ for identification of helical secondary structure, *J. Mol. Biol.* **180**, 741-751 (1984).
- (78) J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann and R. R. Ernst, Investigation of exchange processes by two-dimensional NMR spectroscopy, *J. Chem. Phys.* **71**, 4546-4553 (1979).
- (79) S. Macura, Y. Huang, D. Suter and R. R. Ernst, Two-dimensional chemical exchange and cross-relaxation spectroscopy of coupled nuclear spins, *J. Magn. Reson.* **43**, 259-281 (1981).

-
- (80) U. Piantini, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, Multiple quantum filters for elucidating NMR coupling networks, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 6800-6801 (1982).
- (81) M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst and K. Wüthrich, Improved spectral resolution in COSY 1H NMR spectra of proteins via double quantum filtering, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**, 479-485 (1983).
- (82) J. J. Titman and J. Keeler, Measurement of homonuclear coupling constants from NMR correlation spectra, *J. Magn. Reson* **89**, 640-646 (1990).
- (83) L. Emsley and G. Bodenhausen, Optimization of shaped selective pulses for NMR using a quaternion description of their overall propagators, *J. Magn. Reson.* **97**, 135-148 (1992).
- (84) D. Marion and K. Wüthrich, Application of phase sensitive two-dimensional correlated spectroscopy (COSY) for measurements of 1H - 1H spin-spin coupling constants in proteins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **113**, 967-974 (1983).
- (85) T. Carlomagno, M. Maurer, M. Sattler, M. G. Schwendinger, S. J. Glaser, and C. Griesinger, PLUSH TACSy: Homonuclear planar TACSy with twoband selective shaped pulses applied to $C_\alpha C'$ transfer and $C_\beta C^{aromatic}$ correlations, *J. Biomol. NMR* **8**, 161-170 (1996).
- (86) R. Konrat, I. Burghardt, and G. Bodenhausen, Coherence transfer in nuclear magnetic resonance by selective homonuclear Hartmann-Hahn correlation spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 9135-9140 (1991).
- (87) Ě. Kupče and R. Freeman, Multiple-Hartmann-Hahn coherence transfer in nuclear magnetic resonance spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10671-10672 (1992).
- (88) N. Khaneja, R. W. Brockett, and S. J. Glaser, Time-optimal control in spin systems, *Phys. Rev. A* **63**, 032308 (2001).

- (89) T. O. Reiss, N. Khaneja, and S. J. Glaser, Time-optimal coherence-order-selective Transfer of in-phase coherence in heteronuclear IS spin systems, *J. Magn. Reson.* **154**, 192-195 (2002).
- (90) R. W. Brockett, System theory on group manifolds and coset spaces, *SIAM J. Control* **10**, 265-284 (1972).
- (91) M. Sattler, P. Schmidt, J. Schleucher, O. Schedletsky, S. J. Glaser & C. Griesinger, Novel pulse sequences with sensitivity enhancement for in-phase coherence transfer employing pulsed field gradients, *J. Magn. Reson. B* **108**, 235-242 (1995).