

Historias de la RMN

Jorge Santoro

11. Doble resonancia: desacoplamiento

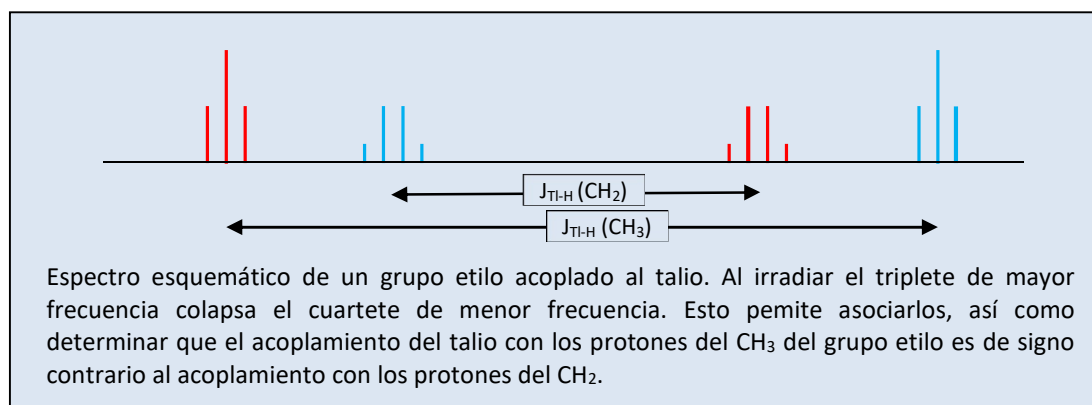
Los experimentos de doble resonancia persiguen promover la interacción del sistema de espines con dos campos de radiofrecuencia. Uno de ellos se utiliza para generar el espectro, mientras que el objeto del segundo es el de manipular su apariencia. Con esta amplia definición hay multitud de experimentos que se pueden clasificar en este tipo: desacoplamiento, efecto Overhauser nuclear, transferencia de polarización, etc. Dado que tanto el efecto Overhauser nuclear como la transferencia de polarización merecen una descripción individual, aquí nos vamos a ocupar del resto de experimentos, fundamentalmente de los de desacoplamiento.

Robert Pound llevó a cabo en 1950 el primer experimento de doble resonancia en RMN. Observó el desdoblamiento cuadrupolar de la señal de RMN de ^{23}Na ($I = 3/2$) en un cristal de nitrato sódico (1). Al saturar una componente del triplete de líneas cambiaba la intensidad de las otras dos. Esto podía explicarse resolviendo las ecuaciones de variación de la población para los cuatro niveles de espín bajo la influencia combinada del campo de radiofrecuencia de saturación y de las velocidades de relajación cuadrupolar entre niveles de energía.

La técnica de doble resonancia para eliminar el acoplamiento escalar fue presentada en 1954 por Felix Bloch en una reunión de la *American Physical Society* (2,3), aunque no hay ninguna descripción completa del contenido de su presentación. Virginia Royden, que trabajaba en el laboratorio de aplicaciones (*Applab*) de la empresa Varian, fue la primera en publicar una aplicación de la técnica de desacoplamiento (4). Utilizó una muestra de yoduro de metilo enriquecida al 51% en ^{13}C . El espectro de protón consistía en un singlete debido a los protones unidos a ^{12}C (espín 0) y un doblete originado por los protones unidos a ^{13}C (espín 1/2), sometidos al acoplamiento ^1H - ^{13}C . Al obtener el espectro de protón irradiando a la frecuencia del ^{13}C el doblete colapsaba en un singlete coincidente con el singlete correspondiente a las moléculas con ^{12}C . El colapso tan solo se producía en un intervalo estrecho de frecuencias de irradiación, lo que permitía determinar la frecuencia de resonancia del ^{13}C con gran precisión. Este método presentaba además la ventaja de que la determinación se hacía observando el espectro de protón, que es mucho más sensible que el de ^{13}C . No solo se trata del primer caso de desacoplamiento descrito en la bibliografía, sino también del primer caso de espectroscopía inversa. Posteriormente Arnold Bloom y James Shoolery presentarían la teoría del desacoplamiento para el caso de dos espines acoplados débilmente, así como resultados experimentales correspondientes a espectros de ^{19}F desacoplados de ^{31}P (5). Al año siguiente, 1956, Weston Anderson publicaría (6) los primeros experimentos de desacoplamiento homonuclear en protón, un caso que resultaba experimentalmente más dificultoso al estar próximas las frecuencias de irradiación y de observación.

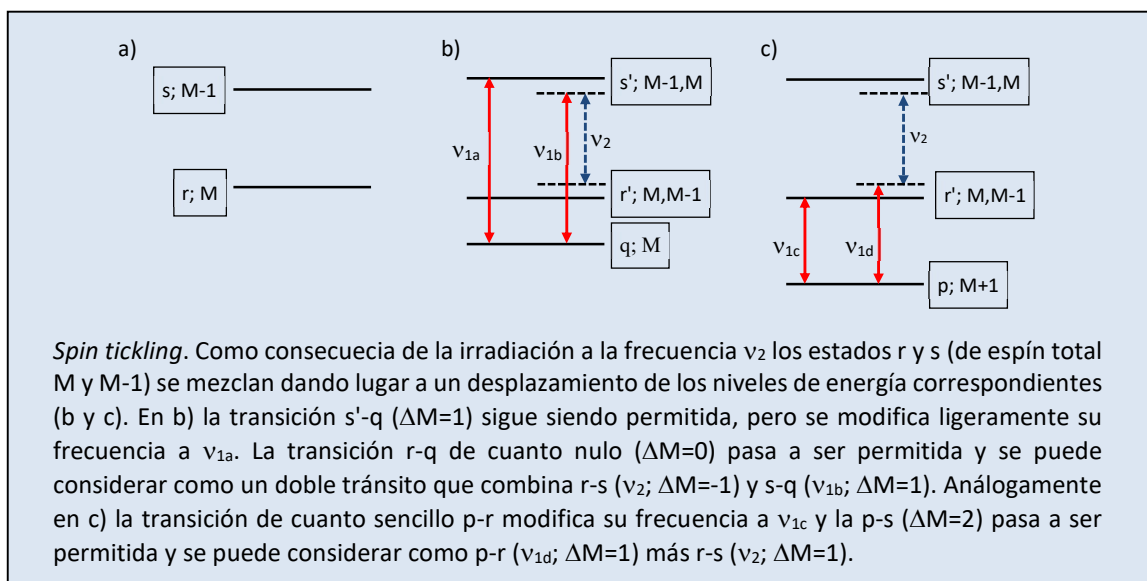
Una de las primeras aplicaciones del desacoplamiento para resolver un problema real se debe a Maher y Evans (7). Una mezcla de trimetil- y trietil-talio generaba los compuestos TlMe_2Et y TlMeEt_2 . El espectro de los grupos etilo consistía en dos tripletes y dos cuartetos muy separados debido a los acoplamientos ^1H - ^{205}Tl , que son particularmente grandes (200-500 Hz). Para determinar qué componente del doblete del metilo estaba asociada con qué componente del doblete del

metileno realizaron experimentos de doble resonancia. Esto les permitió no solo obtener dicha asociación sino también determinar que la constante de acoplamiento del talio con los protones del metileno era de signo contrario al acoplamiento del talio con los protones del metilo, puesto que al irradiar el triplete del CH₃ situado a mayor frecuencia colapsaba el cuartete del CH₂ de menor frecuencia y viceversa.



Este experimento es notable por englobar dos aplicaciones completamente diferentes. Por un lado, el desacoplamiento permitía determinar qué espines estaban acoplados, ayudando a la elucidación estructural. Por otro, resultaba posible determinar experimentalmente los signos relativos de constantes de acoplamiento utilizando desacoplamientos selectivos. Ray Freeman y David Whiffen (8) mostrarían inmediatamente la generalidad del método aplicándolo a la determinación del signo relativo de las constantes de acoplamiento entre protones.

La idea de Maher y Evans había consistido en utilizar un desacoplamiento selectivo en el que, en lugar de irradiar todo el multiplete de un espín, tan solo se irradiaba un submultiplete. Freeman y Anderson fueron un paso más allá, investigando lo que ocurre cuando tan solo se irradia una línea del multiplete. El experimento correspondiente (9), que acabaría siendo conocido como *spin tickling* (un nombre debido a que la potencia de irradiación es tan baja que apenas "cosquillea" al espín), produce un curioso efecto que guarda un cierto paralelismo con la resonancia de Fermi que ocurre en la espectroscopía vibracional. En ésta la mezcla de un fundamental con un sobretono o una banda de combinación produce dos efectos: las señales correspondientes modifican su longitud de onda separándose; el modo débil gana intensidad y el intenso la pierde. En el *spin tickling* la mezcla entre estados la produce la irradiación, lo que da lugar a que las transiciones que poseen un nivel de energía en común con la irradiada se desdoblén adquiriendo cierto carácter de transición de cuanto doble o de cuanto nulo. El desdoblamiento es directamente proporcional a la intensidad de la irradiación. Una explicación cualitativa de este desdoblamiento aparece en la figura siguiente. El experimento resultaba muy útil para asignar las señales del espectro a transiciones entre niveles de energía, algo necesario para el análisis espectral. Además de determinar qué transiciones están conectadas con la irradiada, el método permitía determinar el tipo de conexión: progresiva si los dos niveles no comunes difieren en el espín total en dos unidades y regresiva si poseen el mismo espín total. La diferenciación entre ambos tipos de conexión se basa en que en la conexión regresiva las transiciones poseen carácter de transiciones de cuanto nulo, insensibles a la inhomogeneidad del campo B₀, y son por tanto más estrechas que en el caso de la conexión progresiva, que posee carácter de transición de cuanto doble. Poco después Edward Baker propuso otro experimento (10), INDOR (*INternuclear DOuble Resonance*), que proporcionaba la misma información y que funcionaba del modo inverso:



se mantenía fija la radiofrecuencia de observación ν_1 de baja intensidad a la frecuencia correspondiente a una línea del espectro, debida a la transición entre los niveles r y s, y se barría la radiofrecuencia de perturbación ν_2 a lo largo del espectro. Cuando ν_2 coincide con una transición conectada con la observada (p-r o q-s) se produce un cambio en la población del nivel r o del s y consecuentemente en la intensidad observada para la transición r-s. También, al igual que en el caso del *spin tickling*, se obtiene información sobre el tipo de conexión (10,11): una conexión progresiva da lugar a un aumento de la intensidad (roba población del nivel superior si comparte éste o aumenta la del nivel inferior en caso contrario) y una regresiva a su disminución (aumenta la población del nivel superior si comparte éste o disminuye la del nivel inferior en caso contrario). El método resultaba particularmente adecuado para determinar la frecuencia de líneas poco intensas u ocultas en zonas congestionadas del espectro. Asimismo, tuvo cierta utilidad para determinar, de modo indirecto, las resonancias de ^{13}C . El experimento INDOR puede considerarse un precursor de los procedimientos actuales de transferencia de polarización.

Sture Forsén y Ragnar Hoffman propusieron una aplicación de la doble resonancia completamente distinta, el estudio del intercambio químico (12). La esencia de su razonamiento era: *Intuitively one expects that when a nuclear species X is reversibly transferred between two nonequivalent sites A and B a disturbance of the magnetization in Site B would be detectable at Site A.* Tras un estudio teórico comprobaron sus resultados en cuatro experimentos: Disminución de la señal A tras saturar la señal B; recuperación de la señal A tras apagar la radiofrecuencia de saturación de B; recuperación de la señal A tras apagar la radiofrecuencia de saturación de A; recuperación de la señal A tras apagar la radiofrecuencia de saturación de A y de B. El análisis de los experimentos les permitía determinar tanto las tasas de intercambio como los tiempos de relajación longitudinal en ambos sitios. La propuesta de Forsén y Hoffman está en la base de diversos experimentos actuales, tales como el EXSY o el STD.

Volviendo al desacoplamiento, en algunos casos resultaba deseable lograr un efecto de banda ancha, de manera que se eliminaran simultáneamente varios o todos los desdoblamientos del espectro debidos a acoplamiento heteronucleares. Dicho efecto no puede obtenerse si la irradiación se produce a una única frecuencia. Una posibilidad para lograrlo sería utilizar N componentes de

radiofrecuencia equidistantes que cubrieran todo el intervalo espectral de un tipo de espín. Esta posibilidad es difícil de implementar experimentalmente y, además, requeriría utilizar una potencia total elevada. Richard Ernst proporcionó una solución (13) con el llamado *noise decoupling* en el que la radiofrecuencia de desacoplamiento se modula con una secuencia aleatoria de inversiones de fase para hacerla incoherente. De ese modo se cubre un amplio intervalo de frecuencias de modo continuo. Ernst demostró su método con espectros de ^{19}F desacoplados de ^1H y viceversa. Como dato curioso Ernst cuenta (14): *The first experiments concentrated on a fluorine-proton system. The necessary binary random noise was taken initially from the even/odd character of the last digits in the Palo Alto telephone directory, modulated onto the radiofrequency carrier, and applied to the protons, observing the fluorine resonance at the same time. This led to the initial pseudonym 'phone-book resonance'*. Entre las aplicaciones que sugería Ernst en su artículo estaba el incremento de la sensibilidad de los espectros de ^{13}C mediante el colapso de multipletes a lo que se sumaría la ganancia producida por el efecto Overhauser nuclear. Esta posibilidad, junto con la excitación mediante un pulso y posterior transformada de Fourier de la respuesta, daría lugar al importante desarrollo que experimentó la espectroscopía de RMN de ^{13}C durante los años 70 del siglo pasado.

El método de Ernst para desacoplamiento de banda ancha, con alguna modificación posterior, funcionó bien y durante años fue el utilizado comúnmente. Sin embargo, a medida que se incrementaba la intensidad del campo magnético de los espectrómetros se incrementaba el intervalo de frecuencia a cubrir, lo que implicaba un incremento de la intensidad de la radiofrecuencia de desacoplamiento a emplear. Las consecuencias de dicho incremento eran un calentamiento excesivo de la muestra, con riesgo de deteriorarla, y la posibilidad de dañar la sonda. La primera idea de cómo sustituir el *noise decoupling* se debe a Ray Freeman (15). En un eco de espín, τ -180(I)- τ , el acoplamiento heteronuclear J_{IS} , aunque activo durante todo el tiempo, se reenfoca al final del eco. En ese instante el estado del espín S es independiente del valor de J_{IS} ; es como si dicho acoplamiento fuera nulo. El proceso puede repetirse, con lo que el acoplamiento se reenfoca a tiempos $t_n = n \cdot (2\tau)$. Consecuentemente, es posible obtener el espectro de los espines S desacoplados de los espines I si el muestreo de la fid se realiza a dichos tiempos. Sin embargo, para cubrir intervalos espectrales grandes hace falta que 2τ sea pequeño (con objeto de poder utilizar velocidades de muestreo altas) y que el pulso de 180° sea intenso (para que se comporte como un buen pulso de 180° en un intervalo grande de frecuencias), con lo que los problemas, aunque menores, son similares a los del *noise decoupling*. La primera solución, apuntada en el artículo (15), fue la de sustituir el pulso de 180° por un pulso compuesto. En efecto, Malcom Levitt había propuesto (16) el grupo de pulsos consecutivos 90°_x - 180°_y - 90°_x como sustituto de un pulso de 180° , con las ventajas de ser menos dependiente del calibrado exacto de la longitud de los pulsos y de cubrir adecuadamente un intervalo espectral mayor. Pero, incluso aunque las imperfecciones del pulso compuesto sean pequeñas, las acumulaciones de errores tras múltiples repeticiones del eco hacían poco eficiente el método. La solución la proporcionó de nuevo Malcom Levitt, proponiendo utilizar el ciclo RRR'R' donde R es un pulso compuesto de 180° y R' es su equivalente con la fase desplazada en 180° (17). Además, en lugar del pulso compuesto 90°_x - 180°_y - 90°_x había comprobado que se obtenían mejores resultados si el pulso central se alargaba a 240° (18). Por otra parte, el ciclo permitía hacer $\tau = 0$ siempre que la duración del elemento R fuera mucho menor que $1/J_{IS}$.

El siguiente paso que siguieron Levitt y Freeman en la mejora de las características del desacoplamiento mediante pulsos compuestos consistió en el agrupamiento del ciclo básico RRR'R', denominado MLEV-4, en "superciclos" (19, 20). De acuerdo con los autores, los superciclos se

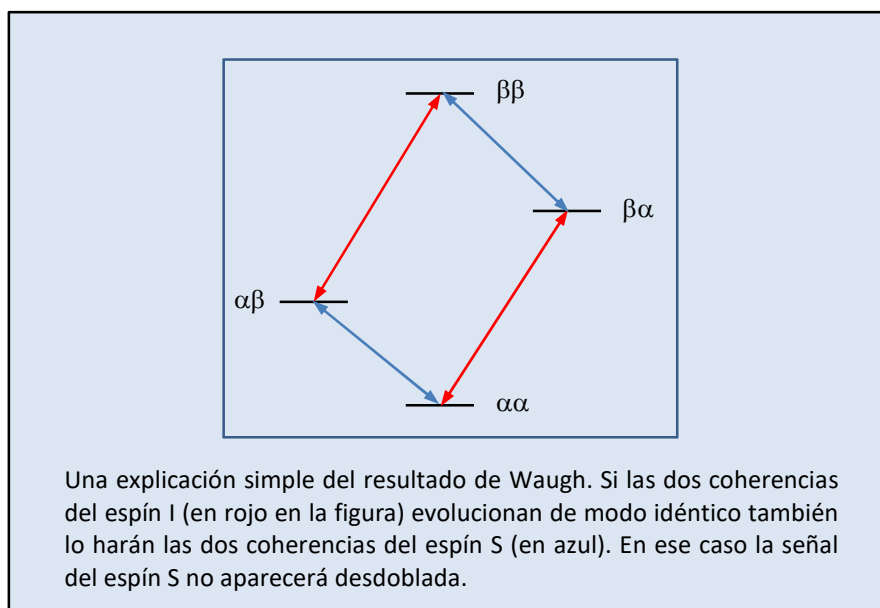
obtienen a partir del ciclo original C mediante dos operaciones que se efectúan de modo alternativo: a) una permutación cíclica de un número impar de elementos, lo que da lugar al ciclo P (por ejemplo, R'RRR'). Esto da lugar al superciclo CP, MLEV-8; b) el cambio de fase de todos los elementos en 180°, lo que da lugar a C' y P'. El superciclo que contiene a C, P, C' y P' en cualquier orden, denominado MLEV-16, consigue eliminar casi totalmente las imperfecciones debidas a errores de calibrado, inhomogeneidad de la radiofrecuencia y efectos de offset. Teniendo en cuenta esta cancelación de imperfecciones el elemento $R = 90^\circ_x - 180^\circ_y - 90^\circ_x$ resultó ser más adecuado que el $R = 90^\circ_x - 240^\circ_y - 90^\circ_x$ puesto que cubre adecuadamente un mayor intervalo de frecuencias. El proceso puede repetirse para obtener los superciclos MLEV-32, MLEV-64, etc. Además, los autores indicaban (20) que no resultaba necesario sincronizar el muestreo con los pulsos compuestos (si bien no advertían de que esta falta de sincronía da lugar a la aparición de señales laterales, afortunadamente muy débiles en los superciclos MLEV).

Casi simultáneamente James Waugh presentó un desarrollo de la teoría del desacoplamiento de banda ancha (21) en el que, a diferencia del desarrollo de Levitt y Freeman que se basaba en el método del hamiltoniano promedio, efectuaba un tratamiento exacto del problema. En un segundo artículo (enviado después del primero, pero publicado antes) justificaba teóricamente la construcción de superciclos (22). Las conclusiones del trabajo de Waugh para el caso IS se pueden resumir del modo siguiente. La aplicación de un pulso de desacoplamiento (compuesto o no) al espín I da lugar a una rotación de la magnetización de I asociada al estado α del espín S de un ángulo ϕ_+ alrededor de un eje definido por el vector unitario \mathbf{n}_+ . Igualmente la magnetización de I asociada al estado β del espín S gira un ángulo ϕ_- alrededor de un eje \mathbf{n}_- . La evolución del espín S al final del pulso como consecuencia del acoplamiento IS viene dada por

$$M(t_p) = 1/2 (1 + \mathbf{n}_+ \cdot \mathbf{n}_-) \cos[(\phi_+ - \phi_-)/2] + 1/2 (1 - \mathbf{n}_+ \cdot \mathbf{n}_-) \cos[(\phi_+ + \phi_-)/2]$$

Puesto que para $\gamma B_2/2\pi \gg J_{IS}$ los vectores \mathbf{n}_+ y \mathbf{n}_- son casi colineales basta con considerar el primer término. Este término corresponde a un doblete de desdoblamiento

$$2\pi J_{IS} = (\phi_+ - \phi_-)/t_p$$



donde t_p es la duración del pulso. El desdoblamiento será nulo si se cumple $\phi_+ = \phi_-$. Una forma de aproximarse a esta condición consiste en disminuir los ángulos de rotación por unidad de tiempo. Waugh, independientemente de Levitt, propuso para ello el mismo procedimiento que éste: Partir de un pulso de 360° en resonancia (que equivale a un ángulo de rotación casi nulo en un intervalo grande de frecuencias) y utilizar alternativamente los procesos a y b citados previamente, que disminuyen el ángulo de rotación, para extender la secuencia de desacoplamiento. Waugh proponía además otro procedimiento de mejora aplicable cuando las rotaciones se producen aproximadamente alrededor del eje z: permutar un pulso de 90° y combinar el resultado con su conjugado.

Conviene resaltar aquí que las secuencias de desacoplamiento de banda ancha no eliminan por completo el desdoblamiento, sino que lo reducen a un valor λJ . En general basta con valores de λ del orden de 0,001 para que el desdoblamiento residual sea menor que la anchura de línea y, por tanto, inapreciable.

La mejora que suponía el uso de ciclos y superciclos estimuló la búsqueda de otros pulsos compuestos. En particular se había demostrado que la combinación de pulsos x con pulsos y (diferenciados en fase en 90°) en el pulso compuesto era muy sensible a la diferencia de fase, con lo que pequeños errores degradaban el resultado. Por el contrario, si las fases de los pulsos que forman el pulso compuesto difieren en 180° (por ejemplo, +x y -x) la secuencia de desacoplamiento es prácticamente insensible a errores sistemáticos de fase relativamente grandes, incluso de 10° . Las nuevas secuencias de desacoplamiento debían cumplir con esta restricción de las fases de los pulsos. Las primeras secuencias de este tipo, basadas en el pulso compuesto $90^\circ_x-180^\circ_{-x}-270^\circ_x$ (denominado Waltz por motivos obvios), se deben a Athan Shaka (23). Shaka, además, mostró que, dado que en el superciclo RRR'R' el eje de rotación global es próximo al eje z, se podían combinar las operaciones de permutación cíclica y de inversión de fase en un único paso mediante la permutación de un pulso de 90° nominales, tal como había sugerido Waugh. Propuso así las secuencias Waltz-4, Waltz-8 y Waltz-16, la última de las cuales consigue un desacoplamiento excelente ($\lambda < 0,0006$) en un intervalo amplio de frecuencias ($\pm\nu_2$, la intensidad de B_2 medida en Hz). Sin embargo, para núcleos con constante magnetogírica pequeña la intensidad de B_2 necesaria puede ser excesiva ($\nu_2 = \gamma B_2/2\pi$). Por ello, se han desarrollado otras secuencias de desacoplamiento capaces de cubrir un mayor intervalo de frecuencias, aunque con una constante de acoplamiento residual, λ , algo mayor. Una de las más exitosas es Garp (24), con $\lambda < 0,002$ en el intervalo $\pm 2,4\nu_2$.

Uno de los problemas que pueden plantear estas secuencias de desacoplamiento es que están diseñadas a partir de una teoría que analiza el caso IS, de dos espines. Si existen otros acoplamientos de los espines irradiados, por ejemplo, los acoplamientos protón-protón cuando se desea desacoplar este tipo de espines, la teoría no es estrictamente correcta. De hecho, el funcionamiento de las secuencias de desacoplamiento anteriores en estas condiciones es peor de lo esperado. Mediante un análisis algo más complejo que el de Waugh se han diseñado las secuencia DIPSII (*Decoupling In the Presence of Scalar Interactions*) que funciona bien en dichos casos (25). El precio a pagar por esta mejora es una disminución del intervalo de frecuencias en el que son efectivas. Por ejemplo, DIPSII-2 que es utilizada habitualmente para desacoplar de protón y que puede considerarse una modificación de Waltz-16, solo cubre adecuadamente una banda de $\pm 0,6\nu_2$.

Poco después de las propuestas de pulsos compuestos de 180° de Levitt (16) y de Shaka (23), Robert Tycko y Alex Pines propusieron un nuevo pulso compuesto de 180° (26). Su idea era la de concatenar N pulsos de 180° desplazados en fase. Mostraban en el artículo que su efecto era muy aproximadamente equivalente a una rotación de un ángulo ε alrededor de un eje situado en el plano xy seguida de otra rotación de un ángulo de 180° alrededor de otro eje, situado también en el plano xy . Para $N = 5$ el ángulo ε resultaba nulo si las fases de los pulsos se aplican en el orden 0° , ϕ_2 , $2\phi_2 + 120^\circ$, $3\phi_2 + 60^\circ$, $4\phi_2 + 120^\circ$. El proceso puede hacerse iterativo, dando lugar a secuencias de 5, 25, 125, ... pulsos. Aunque la propuesta de Tycko y Pines podía aplicarse para el desacoplamiento de banda ancha tardó en ser utilizada por dos motivos. Por un lado, los espectrómetros comerciales de la época tan solo solían permitir cambios de la fase de los pulsos en múltiplos de 90° , por lo que para aplicarla era necesario modificar el *hardware*. Por otro, las secuencias al uso (Waltz y Garp) proporcionaban buenos resultados. No había, por tanto, incentivos para su implementación.

A medida que se fue incrementando el campo magnético de los espectrómetros resultó evidente la necesidad de diseñar secuencias apropiadas para lograr el desacoplamiento en intervalos de frecuencia cada vez mayores, sin utilizar para ello grandes potencias. Además, la introducción de la espectroscopia inversa introdujo la necesidad de desacoplar el heteronúcleo, cuyo ancho de banda suele ser mayor que el del protón. Por ejemplo, en un espectrómetro equipado con un imán de 18,8 T (800 MHz para el protón) el ancho de banda del ^{13}C es de unos 40 kHz y el del ^{19}F de unos 75 kHz, frente a los 8-10 kHz del protón. Toshimichi Fujiwara y Kuniaki Nagayama propusieron un nuevo tipo de pulsos compuestos (27), que permitían incrementar la banda en la que el desacoplamiento es efectivo. En lugar de modificar la fase de los pulsos sucesivos en un pulso compuesto, su idea consistía en modificar su frecuencia. En la publicación describían combinaciones de hasta 6 pulsos, equivalentes a un pulso de 180° en un intervalo amplio de frecuencias. Para mejorar su efecto lo combinaban con el ciclo de fases de Tycko y Pines. A este respecto, analizaron la dependencia del ciclo con el valor de ϕ_2 , llegando a la conclusión de que el ciclo es óptimo para $\phi_2 = 150^\circ$. A partir de entonces el conjunto de fases 0° , 150° , 60° , 150° , 0° es el utilizado habitualmente y es conocido como "ciclo de Tycko de cinco pasos". Finalmente, extendieron el ciclo de fases combinándolo con el MLEV-4, RRR'R'. El resultado lo denominaron M4P5Fn, donde M4 se refiere al ciclo de fases MLEV-4, P5 al ciclo de fases de Pines y Tycko y Fn al uso de n pulsos de diferentes frecuencias. La secuencia M4P5F5 resultaba ser eficiente en un intervalo un 30% mayor que Garp. Años después (28) extendieron su propuesta hasta el caso de 10 pulsos, a la vez que simplificaron la notación a MPFn. La banda efectiva para MPF9 resultó ser 2,5 veces la de Garp, lo que permite reducir la potencia a usar en el desacoplamiento a $1/6$ (B_2 es proporcional al voltaje, V , mientras que la potencia para su generación lo es a V^2).

El siguiente desarrollo en las técnicas de desacoplamiento fue el uso de pulsos adiabáticos. Para este propósito los pulsos de inversión adiabáticos poseen excelentes características. Consiguen una inversión casi perfecta en un amplio intervalo de frecuencias. Poseen además la ventaja de que son insensibles a la potencia una vez que ésta supera un umbral (por lo tanto, son insensibles a las inhomogeneidades de la radiofrecuencia). Por último, el ancho de banda es proporcional al cuadrado de la intensidad de B_2 , en contraste con los esquemas de desacoplamiento anteriores en los que la dependencia es lineal. Por consiguiente, la potencia requerida es menor que con los métodos anteriores. La propuesta de utilizar este tipo de desacoplamiento se debe a Peter Luyton (29), que la demostró en espectros de ^{31}P *in vivo* usando para el desacoplamiento de ^1H pulsos de inversión con forma de secante hiperbólica modulados en frecuencia. Años después Zenon Starčuk (30) analizó

teórica y experimentalmente el uso de trenes de estos pulsos adiabáticos con fases de acuerdo con el superciclo MLEV-16. En un avance posterior, Ray Freeman y Geoffrey Bodenhausen propusieron, casi simultáneamente, un método de inversión mucho más simple: un pulso cuya frecuencia se modula linealmente de modo que cumpla la condición adiabática, combinado con el uso de ciclos y superciclos (31, 32). Este método presenta la ventaja de requerir una baja intensidad de la radiofrecuencia, menor que la requerida con pulsos de secante hiperbólica. Un problema que presenta el desacoplamiento adiabático es el de la aparición de bandas laterales de ciclado bastante intensas. Ēriks Kupče ha propuesto un método que permite reducirlas de modo importante (33).

Referencias

1. R. V. Pound, *Nuclear Electric Quadrupole Effects in Crystals*, Phys. Rev., 79, 685-702, 1950.
2. F. Bloch, *Recent Developments in Nuclear Induction*, Phys. Rev., 93, 944, 1954.
3. C. Jeffries, *APS at Stanford. Symposium on Nuclear Magnetism*, Physics Today, 7, 30-32, 1954.
4. V. Royden, *Measurement of the Spin and Gyromagnetic Ratio of ^{13}C by the Collapse of Spin-Spin Splitting*, Phys. Rev., 96, 543-544, 1954.
5. A.L. Bloom, J. N. Shoolery, *Effects of Perturbing Radiofrequency Fields on Nuclear Spin Coupling*, Phys. Rev., 97, 1261-1265, 1955.
6. W.A. Anderson, *Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Some Hydrocarbons*, Phys. Rev., 102, 151-167, 1956.
7. J.P. Maher, D.F. Evans, *Proton Magnetic Resonance Spectra of Thallium Trialkyls; Chemical Exchange and Formation of Mixed Alkyls*, Proc. Chem. Soc., 208-209, 1961.
8. R. Freeman, D.H. Whiffen, *Determination of the relative signs of proton spin coupling constants by double irradiation*, Mol. Phys., 4, 321-325, 1961.
9. R. Freeman, W.A. Anderson, *Use of Weak Perturbing Radio-Frequency Fields in Nuclear Magnetic Double Resonance*, J. Chem. Phys., 37, 2053-2073, 1962.
10. E.D. Baker, *Two Synthesizer Nuclear Spin Decoupling; INDOR Spectra of $\text{C}^{13}\text{F}_3\text{COOH}$ and $\text{CF}_3\text{C}^{13}\text{OOH}$, $\text{N}^{14}\text{H}_4^+$, and $(\text{CH}_3)_4\text{Si}^{29}$* , J. Chem. Phys., 37, 911-912, 1962.
11. R. Kaiser, *Use of the Nuclear Overhauser Effect in the Analysis of High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra*, J. Chem. Phys., 39, 2445-2442, 1963.
12. S. Forsén, R. Hoffman, *Study of Moderately Rapid Chemical Exchange Reactions by Means of Nuclear Magnetic Double Resonance*, J. Chem. Phys., 39, 2892-2901, 1963.
13. R.R. Ernst, *Nuclear Magnetic Double Resonance with an Incoherent Radio-Frequency Field*, J. Chem. Phys., 45, 3845-3861, 1966.
14. R.R. Ernst, *The Success Story of Fourier Transformation in NMR*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 1996.
15. R. Freeman, S.P. Kempell, M.H. Levitt, *Broadband Decoupling and Scaling of Heteronuclear Spin-Spin Interactions in High-Resolution NMR*, J. Magn. Reson., 35, 447-450, 1979.
16. M.H. Levitt, R. Freeman, *NMR Population Inversion Using a Composite Pulse*, J. Magn. Reson., 33, 473-476, 1979.
17. M.H. Levitt, R. Freeman, *Composite Pulse Decoupling*, J. Magn. Reson., 43, 502-507, 1981.
18. R. Freeman, S.P. Kempell, M.H. Levitt, *Radiofrequency Pulse Sequences Which Compensate Their Own Imperfections*, J. Magn. Reson., 38, 453-479, 1980.
19. M. H. Levitt, R. Freeman, T. Frenkiel, *Broadband Heteronuclear Decoupling*, J. Magn. Reson., 47, 338-320, 1982.

20. M.H. Levitt, R. Freeman, T. Frenkiel, *Supercycles for Broadband Heteronuclear Decoupling*, J. Magn. Reson., 50, 157-160, 1982.
21. J.S. Waugh, *Theory of Broadband Decoupling*, J. Magn. Reson., 50, 30-49, 1982.
22. J.S. Waugh, *Systematic Procedure for Constructing Broadband Decoupling Sequences*, J. Magn. Reson., 49, 517-521, 1982.
23. A.J. Shaka, J. Keeler, T. Frenkiel, R. Freeman, *An improved sequence for broadband decoupling: WALTZ-16*, J. Magn. Reson., 52, 335-338, 1983.
24. A.J. Shaka, P.B. Barker, R. Freeman, *Computer-optimized decoupling scheme for wideband applications and low-level operation*, J. Magn. Reson. 64, 547-552, 1985.
25. A.J. Shaka, C.J. Lee, A. Pines, A. *Iterative schemes for bilinear operators; application to spin decoupling*, J. Magn. Reson., 77, 274-293, 1988.
26. R. Tycko, A. Pines, *Iterative Schemes for Broad-band and Narrow-band Population Inversion in NMR*, Chem. Phys. Lett., 111, 462-467, 1984.
27. T. Fujiwara, K. Nagayama, *Composite Inversion Pulses with Frequency Switching and Their Application to Broadband Decoupling*, J. Magn. Reson., 77, 53-63, 1988.
28. T. Fujiwara, T. Anal, N. Kurihara, K. Nagayama, *Frequency-Switched Composite Pulses for Decoupling Carbon-13 Spins over Ultrabroad Bandwidths*, J. Magn. Reson. Ser. A, 104, 103-105, 1993.
29. P.R. Luyten, G. Bruntink, F.M. Sloff, J.W. Vermeulen, J.I. van der Heijden, J.A. den Hollander, A. Heerschap, *Broadband Proton Decoupling in Human ³¹P NMR Spectroscopy*, NMR Biomed., 1, 177-183, 1989.
30. Z. Starčuk, K. Bartušek, Z. Starčuk, *Heteronuclear Broadband Spin-Flip Decoupling with Adiabatic Pulses*, J. Magn. Reson. Ser. A, 107, 24-31, 1994.
31. Ě. Kupče, R. Freeman, *Adiabatic Pulses for Wideband Inversion and Broadband Decoupling*, J. Magn. Reson. Ser. A, 115, 273-276, 1995.
32. R.Q. Fu, G. Bodenhausen, *Broadband Decoupling in NMR with Frequency-Modulated 'Chirp' Pulses*, Chem. Phys. Lett., 245, 415-420, 1995.
33. Ě. Kupče, *Effect of Sweep Direction on Sidebands in Adiabatic Decoupling*, J. Magn. Reson., 129, 219-221, 1997.