

磁共振波谱在生物医学研究中的应用

田建广 杜泽涵

(国家生物医学分析中心 北京 100850)

摘要 本文结合本实验室近年来的部分工作综述了磁共振波谱在生物医学研究中的应用。其应用范围涉及生物大分子结构、活体磁共振和磁共振成像等研究领域;其研究对象涉及生物样品提取物、培养细胞、离体组织器官、活体动物乃至人体的各个层次。磁共振波谱作为无损伤研究生化过程和生理病理机制的工具,为基础医学、临床医学遇到的难题的解决提供了有利条件。

关键词 磁共振波谱 生物医学 应用研究

1. 核磁共振在生物医学研究中的应用与发展^[1]

到70年代中期,NMR不论在理论上还是在技术设备上都日臻成熟。高场磁体谱仪的出现,计算机软件和硬件的应用和不断提高,FT技术的完善,2D NMR的发展,为NMR在生物医学研究中的应用奠定了坚实的基础。1985年发表了一个含有57个氨基酸残基的蛋白质结构。通过重组DNA技术得到富含¹³C和¹⁵N的蛋白质分子,然后利用三维(3D)和四维(4D)NMR方法对蛋白质氨基酸序列进行归属,在计算机软件的帮助下可以得到较大蛋白质的溶液结构,目前可测定的蛋白质分子量大约在30 000Da左右。与此同时,一些研究人员开始研究活细胞、离体器官、活体实验动物乃至人体中小分子、离子及一些重要的生理生化参数。1974年Hoult等发现活的离体肌肉的代谢变化可通过三磷酸腺苷、磷酸肌酸、无机磷酸盐和其它磷酸化合物进行研究。其后逐渐建立了细胞、离体器官灌流体系和用来靠近皮肤局部区域内组织信号的表面线圈技术。活体NMR的另一个发展分支是1973年Lauterbur提出的二维成像。1985年核磁成像技术和谱图测定相结合的技术已用于活体动物和人体。近来功能成像在研究和诊断中的作用正日益突出。

2. 不同种类核的NMR在生物医学研究中的应用

目前可用于生物样品研究的核有许多种,包括³¹P、¹⁹F、¹³C、¹H、²H、¹⁵N、¹⁴N、²³Na、¹⁷O、³⁹K、⁸⁷Rb、¹³³Cs等。

¹H NMR 生物样品的¹H谱中主要的共振峰可归属为:N-乙酰天冬氨酸(NAA)、肌酸-磷酸肌酸(Cr-PCr)、胆碱类化合物(CHO)、肌醇类(INSs)和甘氨酸。在1.2和1.4ppm处出现较大的共振峰可归属为磷脂化合物的CH₂基团的信号。根据水和NAA的化学位移差值可测定大脑的温度。PCr作为肌肉和神经元的高能磷酸化合物的储库,与ATP/ADP储库保持动态平衡。CHO峰包括磷酸胆碱、甘油磷脂酰胆碱和乙酰胆碱等。INS的磷酸化和解磷酸化在Ca²⁺从内质网和线粒体释放时非常活跃,检测到的INSs可能是其储存形式^[2]。

¹³C NMR ¹³C自然丰度低,应用富含¹³C的标记化合物有助于研究物质代谢过程^[3]。

³¹P NMR 生物样品的³¹P谱上一般可看到7条共振线,分别是ATP的 γ 、 α 、 β 的磷、PCr、Pi、磷酸单酯(PME)和磷酸双酯(PDE)中的磷。PME和PDE是细胞膜代谢过程中重要的代谢物。ATP、PCr、Pi反映细胞的能量代谢。根据Pi与PCr之间的化学位移差值可计算胞内pH。 β -ATP的化学位移与胞内Mg²⁺浓度有关^[2]。

¹⁹F NMR 正常体内含氟成分很少,一般没有本底信号干扰,因而需要引进含氟指示剂。可用于测定药物的体内代谢过程、胞内游离离子如Ca²⁺^[4]和Mg²⁺^[5]浓度、氧压力^[6]、细胞膜电位^[7]、组织温度^[8]、细胞容积^[7]和血液容积^[9]等。

¹⁴N NMR 利用¹⁴N NMR可确定表面线圈敏感组织体积分数F值(测定时首先用硝酸盐标准溶液测得¹⁴N谱,峰面积记做A;然后测定组织的¹⁴N谱,峰面积记做B,则F=1-B/A),已知

浓度的硝酸盐可用于校正组织中其它含 ^{14}N 代谢物的浓度；而且一旦F值确定后，还可用于校正其它核如 ^{31}P 、 ^{13}C 等，从而为代谢物的定量提供了一种快捷的方法^[10]。

^{23}Na NMR ^{23}Na 的同位素丰度为100%，灵敏度为 ^1H 的9.2%。由于 ^{23}Na 的化学位移对分子环境非常不敏感，所以一般胞内外 ^{23}Na 只有一条共振线。利用顺磁性化合物使胞外的 ^{23}Na 的化学位移改变，得到胞内 ^{23}Na 离子浓度，从而研究Na的离子转运（Na/K泵等）^[11]。

^{133}Cs NMR 铯是钾的类似物，可被NMR检测到。把铯加在动物饲料中时，动物可吸收，进而在细胞内积聚，可反映细胞内的环境状况，如表现扩散系数^[12]、胞内空间^[13]等。

^2H ^[14]、 ^7Li ^[15]、 ^{15}N ^[16]、 ^{17}O ^[17]、 ^{87}Rb ^[18]等也有应用研究。

3. 磁共振波谱（MRS）在生物医学研究中的应用

MRS技术在生物医学研究领域内的应用非常广泛，现结合本实验室近年来的部分研究工作，对磁共振技术在这些方面的应用做简要介绍。

3.1 生物大分子

3.1.1 蛋白质和多肽^[19-23]

高分辨核磁共振仪器以及2D、3D NMR技术的迅速发展推动了其在多肽和蛋白质在水溶液中结构的研究。NMR已成为研究蛋白质分子结构的强有力手段之一，可研究蛋白质分子的内部运动、构像变化、以及与其它分子的作用等。

NMR测定蛋白质结构的一般步骤是：确定一级结构，即氨基酸残基序列，利用2D NMR技术测定重水中的蛋白质样品二维质子相关谱，与各氨基酸标准品的谱图比较，初步确定蛋白质中的氨基酸种类；再测定普通水溶液中蛋白质的2D COSY和NOESY谱，将各谱峰分别归属到各氨基酸上，并确定在肽链中的邻接关系。确定蛋白质的二级结构：蛋白质的二级结构主要由各残基的酰胺质子以特征方式形成氢键所致，形成氢键的质子和重水的交换速率要比一般的酰胺质子慢几个数量级，因此用NMR测得氨基酸残基中有交换速率很低的酰胺质子时，就表明有二级结构存在；再利用和多维NMR谱有关的NOE信息和三键偶合常数判断二级结构的类型。确定蛋白质的三级结构：主要是利用NOE信息，NOE的强

度和两个质子间的距离的6次方成正比。然后利用计算机程序模拟出三级结构。

多肽测定中水峰的抑制是至关重要的。姜厚理等^[24]用NMR方法测定了乙肝病毒e抗原决定簇中的HBeAg肽，利用水质子的选择性弛豫试剂，成功地抑制了水峰的干扰，对各氨基酸的质子峰进行了归属；同时利用2D COSY，改进的NOESY技术，变温，变pH以及重水交换等技术研究了该肽在溶液中的构像，结果表明Ala、Ser-6、Arg-7和Asp-8构成一个 β -I型转角结构。

蛋白质功能的发挥一般要通过与其它小分子相互作用，例如，酶与底物、受体与配体（药物、激素、神经递质等）之间的相互作用。目前可用的方法多种多样，应用较广泛的方法有：TRNOE（转移NOE）^[25]和光-CIDNP（光化学感应动态核极化）^[26]等方法。

3.1.2 核酸^[27-30]

DNA是脱氧单核苷酸通过磷酸二酯键共价连接形成的线性多核苷酸聚合物，呈双螺旋结构，其骨架是由磷酸和脱氧戊糖连接而成的磷酸酯链。DNA的基本结构单元是脱氧单核苷酸，包括碱基、脱氧戊糖和磷酸三部分。用于DNA解析的技术包括 ^1H 、 ^{31}P 、 ^{13}C NMR技术等。NMR技术可以进行DNA的构像解析和DNA与小分子如药物的相互作用的研究。

以tRNA为例，利用 ^1H NMR可观测到修饰核苷的甲基质子信号。利用NOE可归属碱基亚氨基质子、CH质子及甲基质子等。 ^{31}P 可用于解析tRNA主链的磷酸基构像。在3.5ppm处的尖峰信号是5'末端的乙酯磷酸基信号，大约在0ppm处的强峰是A型双螺旋结构（主茎部分）二磷酸基的重叠信号。利用天然同位素丰度低的核进行同位素标记，是一种普遍采用的方法，用脲啶或嘌呤专性的突变株培养，使 ^2H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 等接在碱基的特定位置上，提纯tRNA。用修饰核苷生物合成路线对特异甲基进行 ^{13}C 标记，由于 ^{13}C 信号归属较容易，能很好用于解析tRNA与蛋白质的相互作用。 ^2H 标记用于 ^1H NMR的信号归属， ^{15}N 标记是用 ^{15}N - ^1H 的自旋偶合。由 ^1H NMR谱来解析亚氨基质子。

自然界中抗生素可与DNA结合，并阻止DNA的复制和转录，因此研究小分子和DNA的

作用对研究抗癌药具有重要的意义。磷酸二酯键的扭转角可反映配基与 DNA 双螺旋的结合,³¹P NMR 是研究这种变化的重要技术。发生交联时,在交联部位的磷酸基团可向低场位移达 2ppm;配基与 DNA 浅沟发生共价结合时也可产生类似的效果。

3.2 活体 NMR 研究

3.2.1 研究意义

培养细胞、离体组织器官和活体动物及人体在各种生理病理状态下的代谢变化过程,可用 NMR 方法进行研究。利用表面线圈和梯度场实现局部体积的选择性观察,在无损伤且干扰其正常生理状态的情况下,研究物质和能量代谢变化过程,进行动态跟踪,对代谢产物进行定量,计算速率常数。体内 NMR 研究对象包括动物和人体的一些重要脏器如大脑、肝脏、心脏及肿瘤组织等,可进行生理、病理、生化等过程的机制研究,如缺血、缺氧、肌肉损伤等。

3.2.2 提取物^[31,32]

生物样品提取物对于解释完整细胞的 NMR 研究结果是很有必要的。由于不像活细胞那样受时间限制,累加时间可以延长,低浓度的化合物也可以检测到并加以定量。高氯酸提取物中包含了水溶性的代谢物,广泛用于 NMR 研究。高氯酸的最终深度很关键,合适的浓度为 0.5mol/L^{-1} ,可把假象降至最低。为避免化学变化,高氯酸要尽快被中和,除去金属离子,溶液要低温保存。用氯仿/甲醇可得到细胞的脂溶性提取物,对于研究膜结合磷脂类和糖蛋白非常有用。

3.2.3 培养细胞^[31,33,34]

利用培养细胞进行研究比用实验动物和离体器官有许多优点,比如,细胞更易于控制,无空间定位问题。现在主要利用细胞灌流体系,把细胞包埋在凝胶基质中,粘附在微载体颗粒上,填充在中空透析纤维束中或粘附在网状支撑系统上。

细胞膜性质研究,可以利用¹⁹F NMR 研究生物膜的结构和功能。一般是将¹⁹F 标记的磷脂作为探针,将其制成人工膜或掺入生物膜中,然后测定¹⁹F 的 NMR 信号。

细胞内的 pH 测定,细胞内 pH 的变化与许多生化过程密切相关。利用 NMR 技术测定细胞内的 pH 可做到:不破坏细胞的完整性;可测定很小

的细胞甚至亚细胞器内的 pH;可连续测定,可动态跟踪重要细胞反应的 pH。³¹P NMR 和¹⁹F NMR 是常用的技术。

细胞能量动力学研究,主要利用³¹P NMR 研究培养细胞密度和活力,有报道认为药物敏感和抗药的肿瘤细胞的细胞能量动力学有差别。

细胞内离子测定,利用²³Na NMR 测定胞内²³Na,¹⁹F NMR 测定胞内 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , Mg^{2+} 也可用³¹P NMR 测定,其它离子如³⁹K、³⁵Cl 等也可用 NMR 研究。

代谢途径,利用³¹P NMR 和¹³C NMR 可研究能量代谢过程,如三羧酸循环、糖酵解、磷脂代谢等,¹⁹F NMR 在这方面也有所应用。

黄荣清等^[35-37]观察了人淋巴瘤白血病细胞系 Molt-4 细胞的³¹P MRS,在施加肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 后,其 ATP 及 ATP/Pi 比值下降,表明 TNF- α 对 Molt-4 细胞有抑制作用,同时 γ -干扰素对 TNF- α 有同协作用。他们通过测量 Molt-4 细胞的³¹P MRS 中 ATP 的 α 磷和 β 磷的化学位移差值,得出细胞内 Mg^{2+} 与 ATP 结合的复合物 MgATP 和整个 ATP 量的比值,计算得到 Molt-4 细胞内游离 Mg^{2+} 浓度为 0.258mmol/L 。

3.2.4 离体组织、器官

利用 NMR 研究离体组织和器官包括心脏^[38]、肝脏^[39]、肌肉^[40]、大脑切片^[41]等。程增江等^[42,43]综述了离体灌流心脏的³¹P-核磁共振观测及其在心血管药理学研究中的应用。通常使用的心脏灌流模型都可用于进行 MRS 的测定。进行测定时需将心脏放入磁体中。高分辨的窄孔立式磁体谱仪,磁腔只能容纳较小动物(如大鼠、豚鼠、猫、鸡及体重小于 1kg 的兔子)的心脏,心脏放入样品管(外径 15~25mm)中用营养液灌流,用宽腔探头进行测定。水平宽腔磁体谱仪可对狗或猪等较大的动物心脏做 MRS 测定,通过表面线圈可观测心脏全部或局部区域的信号。程增江等^[44-46]测定了 Langendorff 灌流大鼠和兔心脏的³¹P MRS,并建立了可同步测定 NMR 参数和心功能指标的等容心脏模型,先后观察了维拉帕米对心肌缺血或再灌注损伤的保护作用;还观察了巯基供体的保护作用。

3.2.5 实验动物^[47-52]

1978 年 Chance 等报道了 NMR 用于动物活体实验研究的结果,他们将麻醉了的小鼠放入

NMR 磁腔中,使其头部位于射频线圈的中心,测定了正常和缺氧时的 ^{31}P MRS。1980年 Ackerman 等首次用表面线圈探头测定了大鼠活体脑和肌肉内的 ^{31}P MRS,这大大促进了活体 NMR 的推广和提高。杜泽涵^[53]对动物活体 NMR 技术在脑研究中的应用作了综述。颜贤忠等^[54,55]利用表面线圈探头测定了小鼠大脑、大腿肌肉和肝脏的体内 ^{31}P NMR 谱图。用 ^{31}P 体内 NMR 无损观察 C57 小鼠在缺氧时与能量代谢有关的含磷化合物 Pi、PCr 和 ATP 等变化。当气体中氧气含量降到 5% 时,小鼠大脑的 PCr, ATP 逐渐减少, Pi 不断增加,脑组织内 pH 降低至 6.83~6.93。当 Pi 与 PCr 的峰高比等于 1 时复氧,发现复氧后 Pi 立即降低且 Pi 立即升高的小鼠可以恢复,反之则不能恢复,表明 Pi 和 Ph 反映了大脑缺氧损伤程度。

3.2.6 临床研究^[49,51,56-59]

大脑的 ^1H 和 ^{31}P 谱可给出大脑神经元损失、脱髓鞘、神经胶质组织形成、以乳酸形成为特征的糖原分解以及对能量代谢和 pH 的严重影响的信息。对估计很多大脑疾患包括先天性代谢紊乱非常有价值。对于无特征肌肉痛和肌无力患者,当 MRS 与肌电图结合,可给出有价值的临床信息。 ^1H 可用于研究以脂肪沉积为特征的退变性肌肉疾病。由于 MRS 的空间分辨率的原因, MRS 仍不适合于详细研究局部缺血心脏,但对全心脏缺血患者却可给出一些有用的信息。

3.2.7 体内药物代谢^[60-62]

传统的药物代谢研究方法,往往是给动物服药后经过一定时间再活杀动物,从各组织或器官取样制成匀浆,分离提取,用生化或仪器测试手段测定各样品中药物及其代谢产物的含量。而 NMR 技术可无损地同时测定各种成分,动态地进行观察。在药物代谢研究中, NMR 可鉴定代谢产物,定量分析药物与代谢产物的消长过程,研究膜转运及药物或代谢产物与蛋白质、核酸等的结合作用。用于药物代谢研究的技术主要有 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^{31}P NMR 和 ^{19}F NMR 等。

^1H NMR 在药物代谢研究中的应用要克服体液中 H_2O 的强大信号和大量内源性代谢物的干扰。一些药物含甲基、次甲基、芳香氢或乙酰基等质子信号,同内源性共振峰不重叠,可用 ^1H NMR 作定量定性分析。 ^{19}F NMR 的相对灵敏度接近 ^1H NMR,化学位移范围大,结构近似的代谢

物不易出现峰重叠,适合于含氟药物的代谢研究,如 5-氟尿嘧啶等。 ^{31}P NMR 灵敏度较高,生物体内有许多含磷成分,但含磷的药物较少,只有个别药物用 ^{31}P NMR 进行过代谢研究,如 4-羟基环磷酰胺等。 ^{13}C NMR 在结构分析中很有用,利用 ^{13}C 标记药物也可研究代谢过程,但 ^{13}C 标记价格较高。

颜贤忠等^[63]利用体内 ^{19}F NMR 研究了 5-氟尿嘧啶(5-FU)在小鼠肝脏及植入肿瘤组织中的代谢过程。5-FU 在肝脏中的生物半衰期为 15~20min,而在 S180 肿瘤中的生物半衰期为 50~60min。除 5-FU 的信号外,在肝脏中还观测到了 5-FU 的分解代谢产物 FUPA 和 FBAL。而在肿瘤中则只有合成代谢产物氟代核苷酸的信号。

3.3 磁共振成像^[64,65]

核磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)是 NMR 在临床医学中广泛应用的技术。为了无损地了解生物体内非均匀体系的情况,长期以来都是采用 X 射线照相的方法。随着 X 射线层析摄影法(CT)的研究成功,观测生物体内部的断层图像变得简单易行,但这种方法得到的信息还只是生物体内部的解剖学信息。磁共振成像法在此基础上增添了空间信息,使物理和化学的信息图像化。生物体机能诸如病理性改变,首次发生的是生化过程的变化,其结果才是形态学上的变化,因此将物理化学信息图像化是非常有意义的。MRI 不仅有利于疑难病症的早期发现和代谢过程异常的诊断,还有助于了解生物功能^[66-68]。与磁共振波谱联合应用^[69],更使其如虎生翼。由于篇幅所限,其测定原理请参考有关著作。

4. 结束语

本文简要介绍了 MRS 在生物医学研究中的应用。NMR 在生物医学研究中的应用极大促进了 NMR 技术发展, NMR 技术的发展又使其应用领域不断拓宽。蛋白质、多肽、核酸这些生物大分子溶液结构以及它们与小分子的相互作用的 NMR 研究,为从分子水平认识生命运动规律提供了条件。体内 NMR 研究对象可涉及动物和人体的一些重要脏器如大脑、肝脏、心脏等,不仅可进行生理、病理、生化等过程机制的研究,还

可用于临床患者疾病的诊断、治疗效果的检测等。可利用核的种类不断增加,说明NMR技术应用范围越来越广阔。

NMR技术在生物医学研究中应用的局限性^[51,52,56]主要是一些核灵敏度低,解决的办法是提高磁体磁场强度,应用灵敏的同位素磁核标记所研究的对象,还可以通过使用低温超导探头提高灵敏度;射频场功率大时对生物样品有影响,限制了高磁场仪器在人体的应用;仪器价格和维修费用昂贵,在某种程度上限制了该方法的普及应用。但随着对磁共振技术认识的不断深入和研究工作的不断积累,该种技术在生物医学实验研究和临床应用会更加广泛和常规化。

参考文献

1. Becker, E. D.; *Anly Chem*, 1993, 65 (6): 295A (En)
2. Henrisken, O.; *Acta Radiol*, 1994, 35 (2): 96 (En)
3. Seelig, J. and Burlina, A. P.; *Clinica Chimica Acta*, 1992, 206: 125 (En)
4. Sheng-kwei Song, Hotchkiss, R. S., Neil, J., Morris, P. E., JR., Chung, Y. Hsu, and Ackerman, J. J. H.; *Am J Physiol*, 1995, 269 (Cell Physiol 38): C318 (En)
5. London, R. E.; *Annu Rev Physiol*, 1991, 53: 241 (En)
6. Mason, R. P., Rodbumrung, W. and Antich, P. P.; *NMR Biomed*, 1996; 9: 125 (En)
7. London, R. E. and Gabel, S. A.; *Biochemistry*, 1989, 28: 2378 (En)
8. Mason, R. P., Skula, H. and Antich, P. P.; *Magn Reson Med*, 1993, 29: 296 (En)
9. Rottman, G. A. Judd, R. M. and Yin, F. C. P.; *Magn Reson Med*, 1995, 34: 628 (En)
10. Wray, S. and Wilkie, D. R.; *NMR Biomed*, 1992, 5: 137 (En)
11. Ravichandran, R., Hong Liu, Steven, A., Jennifer, L. and Saul, S.; *J Clin Invest*, 1995, 96: 1464 (En)
12. Neil, J. J., Duong, T. Q. and Ackerman, J. J. H.; *Magn Reson Med*, 1996, 35: 329 (En)
13. Yi Li, Neil, J. J. and Ackerman, J. J. H.; *NMR Biomed*, 1995, 8: 183 (En)
14. Ming Zhao, Fortan, L. G. and Evelhoch, J. L.; *Magn Reson Med*, 1995, 33: 610 (En)
15. Abraha, A., de Freitas, M. D. E., Margarida, M., Castro, C. A. and Gerald, C. F. G. E.; *J Inorg Biochem*, 1991, 42: 191 (En)
16. Grunder, W., Krumbiegel, P., Buchali, K. and Blesin, H. J.; *Phys Med Biol*, 1989, 34 (4): 457 (En)
17. Maeda, M., Okada, K. and Ito, K.; *J Inorg Biochem*, 1991, 41: 143 (En)
18. Cross, H. R., Radda, G. K. and Clarke, K.; *Magn Reson Med*, 1995, 34: 673 (En)
19. Opella, S. J.; *Annu Rev Phys Chem* 1994; 45: 659 (En)
20. Hinds, M. G. and Norton, R. S.; *Methods Mol Biol*, 1994, 36: 131 (En)
21. Wuthrich, K.; *J Biol Chem*, 1990, 265 (36): 22059 (En)
22. Kuszewski, J., Gronenborn, A. M. and Clore, G. M.; *J Magn Reson B*, 1995, 107 (3): 293 (En)
23. Jelinek, R., Valente, A. P., Valentine, K. G. and Opella, S. J.; *J Magn Reson*, 1997, 125 (1): 185 (En)
24. 姜厚理, 冯锐, 杜泽涵. *波谱学杂志*, 1994, 11 (1): 93 (中)
25. Clore, G. M. and Gronenborn, A. M.; *J Magn Reson*, 1983, 53, 423 (En)
26. Hore, P. J. and Broadhurst, R. W.; *Progress in NMR Spectroscopy*, 1993, 25 (4): 435 (En)
27. Feigon, J., Sklenar, V., Wang, E., Gilbert, D. E., Macaya, R. F. and Schultze, P.; *Methods Enzymol*, 1992, 211: 235 (En)
28. Varani, G. and Tinoco, I. Jr.; *Q Rev Biophys*, 1991, 24 (4): 479 (En)
29. Germann, M. W., Zhou, N., van de Sande, J. H. and Vogel, H. J.; *Methods Enzymol*, 1995, 261: 207 (En)
30. Carlstrom, G., Chen, S. M., Miick, S. and Chazin, W. J.; *Methods Enzymol*, 1995, 261: 163 (En)
31. Kaplan, O. and Cohen, J. S.; *Br Cancer Res Treatment*, 1994, 31: 285 (En)
32. Tyagi, R. K., Azrad, A., Degani, H. and Salomon, Y.; *Magn Reson Med*, 1996, 35: 194 (En)
33. Gupta, R. K. and Gupta, P.; *Ann Rev Biophys Bioeng*, 1984, 13: 221 (En)
34. Szwergold, B. S.; *Annu Rev Physiol*, 1992, 54: 775 (En)
35. 黄荣清, 杜泽涵, 杨志刚, 冯锐. *波谱学杂志*, 1996, 13 (2): 107 (中)
36. 黄荣清, 杜泽涵, 杨志刚, 冯锐. *生物化学与生物物理学报*, 1996, 28 (2): 153 (中)
37. 黄荣清, 杜泽涵, 颜贤忠, 李光玉, 冯锐. *波谱学杂志*, 1996, 13 (5): 429 (中)
38. Murphy, E., Steenbergen, C., Levy, L. A., Gabel, S. and London, R. E.; *Am J Physiol*, 266 (Cell Physiol 35): C1323 (En)
39. Katherine, J. M. L. and Yifat, O. D.; *Physiol Chem Phys & Med NMR*, 1994, 26: 227 (En)
40. Balschi, J. A., Kohler, S. J., Bittl, J. A. Spronger Jr, C. S. and

- Ingwall, J. S. ; *J Magn Reson*, 1989, 83; 128 (En)
41. Badar-Goffer, R. , Morris, P. , Thatcher, N. and Bachelard, H. ; *J Neurochem*, 1994, 62; 2488 (En)
42. 程增江, 杜泽涵. 波谱学杂志, 1997, 14 (1); 81 (En)
43. 程增江, 董华进. 国外医学《药学分册》, 1997 (1); 1 (中)
44. 程增江, 杜泽涵, 董华进, 颜贤忠, 冯锐. 波谱学杂志, 1996, 13 (5); 411 (中)
45. 程增江, 杜泽涵, 董华进. 军事医学科学院院刊, 1996, 20 (3); 161 (中)
46. 程增江, 杜泽涵, 冯锐, 李光玉. 波谱学杂志, 1997, 14 (4); 291 (En)
47. Koretsky, A. P. and Williams, D. S. ; *Annu Rev Physiol*, 1992, 54; 799 (En)
48. Kilby, P. M. , Bolas, N. M. and Radda, G. K. ; *Biochimica et Biophysica Acta*, 1991, 1085; 257 (En)
49. Prichard, J. W. ; *Clinica Chimica Acta*, 1992, 206; 115 (En)
50. Corbett, R. J. T. , Laptook, A. R. , Tollefsbol, G. and Kim, B. ; *J Neurochem*, 1995, 64; 1224 (En)
51. Leach, M. O. ; *Anticancer Res*, 1996, 16; 1503 (En)
52. de Certaines, J. D. , Larsen, V. A. , Podo, F. , Carpinelli, G. , Briot, O. and Henriksen, O. ; *NMR Biomed*, 1993, 6; 345 (En)
53. 杜泽涵. 波谱学杂志, 1995, 12 (4); 373 (中)
54. 颜贤忠, 朱好勤, 李桦, 冯锐, 杜泽涵, 阮金秀. 波谱学杂志, 1994, 11 (3); 257 (中)
55. 颜贤忠, 晏礼明, 徐家鹤, 杜泽涵, 吴本玠. 波谱学杂志, 1994, 11 (2); 147 (中)
56. Negendank, W. ; *NMR Biomed*, 1992, 5; 303 (En)
57. Doyle, V. L. , Payne, G. S. , Collins, D. J. , Verrill, M. W. and Leach, M. O. ; *Phys Med Biol*, 1997, 42; 691 (En)
58. Negenbank, W. , Li Chun-Wei, Padavic-Shaller, K. , Murphy-Boesch, J. and Brown, T. R. ; *Anticancer Res*, 1996, 16; 1539 (En)
59. Pappas, A. A. , Komoroski, R. A. , Thompson, J. R. and Jr. Hough, A. J. ; *Human Pathology*, 1992, 23 (1); 4 (En)
60. Malet-Martino, M. C. and Martino, R. ; *Biochimie*, 1992, 74; 785 (En)
61. Komoroski, R. A. ; *Analytical Chem*, 1994, 66 (20); 1024A (En)
62. 司仪康. 药学报, 1997, 32 (3); 236 (中)
63. 颜贤忠, 李桦, 杜泽涵, 阮金秀. 波谱学杂志, 1996, 13 (3); 239 (中)
64. 彭朴, 宋维良, 张有吉译. 核磁共振实验新技术及其应用. 第六章: 核磁共振成像. 北京, 1991 (中)
65. Hornung, P. A. and Schuff, N. ; *Clin Chem*, 1992, 38 (9); 1608 (En)
66. Iyer, S. B. , Goldberg, H. I. and Benz, C. C. ; *Invest Radiol* 1990, 25; 1076 (En)
67. McCoy, C. L. , McIntyre, D. J. O. , Robinson, S. P. , Aboagye, E. O. and Griffiths, J. R. ; *Br J Cancer*, 1996, 74 (Suppl27) S226 (En)
68. Testini, M. , Jr. Catalano, G. , Macatini, L. and Paccione, F. ; *Int Surg* 1996, 81; 88 (En)
69. Sijens, P. E. , Eggermont, A. M. M. , van. Dijk, P. and Oudkerk, M. ; *NMR Biomed*, 1995, 8; 215 (En)

Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy to Biomedical Research

Tian Jianguang and Du Zehan

(National Center for Biomedical Analysis Beijing, 100850)

Abstract Applications of magnetic resonance spectroscopy (MRS) to biomedical research is reviewed. Although the invention of MRS is only 50 years and its applications to biomedical research is 20 years, it has showed great potentials. The aspects of its applications involve structure of biopolymers in solution, in vivo NMR and magnetic resonance imaging. The range of its applications involves extracts of biological samples, cultured cells, isolated tissues and organs, experimental animals and human. MRS is the unique tool to noninvasively study biochemistry and mechanism of physiology and pathology, and provides advantages to solve the problems encountered in basic and clinical medicine.

Key words magnetic resonance spectroscopy biomedical research applications