基于定量核磁共振技术的人参皂苷对照品质量评价方法研究

潘坚扬[1,2], 赵芳[1,2,3], 李文竹[1,2], 瞿海斌[1,2*]

(1. 浙江大学 药学院 药物信息学研究所, 浙江 杭州 310058; 2. 组分中药国家重点实验室浙江大学 交叉创新中心, 浙江 杭州 310058; 3. 海正生物制药有限公司, 浙江 杭州 311400)

[摘要] 建立基于定量核磁共振(quantitative nuclear magnetic resonance,qNMR)技术的人参皂苷对照品质量评价方法。采用 Bruker Avance Ⅲ 500 MHz 核磁共振仪,配备 5 mm BBO 探头,采集定量氢谱,30°脉冲,弛豫延迟时间 D_1 为 20 s,探头温度为 303 K,采样次数为 32 次。采用绝对定量法,选择高纯度的定量核磁共振用内标对苯二甲酸二甲酯,以灵敏度相对较好的甲基峰作为定量峰,结合线性拟合解卷积处理提高积分结果的准确性,建立了基于 qNMR 技术的人参皂苷对照品质量评价方法,并完成方法学验证。采用建立的 qNMR 对 5 种人参皂苷类对照品人参皂苷 Rg_1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb_1、人参皂苷 Rd 和三七皂苷 R_1 进行质量评价研究,结果表明 5 种人参皂苷对照品 qNMR 测定值低于厂家提供的 HPLC 归一化含量。该方法可以保障人参皂苷对照品的质量,同时也为相关中药材及其制剂质量评价的准确性提供有力支持。基于 qNMR 技术的中药对照品质量评价方法简单、快捷、结果准确,值得推广用于中药对照品的质量值定量测定。

[关键词] 定量核磁共振法; 人参皂苷 Rg_1; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb_1; 人参皂苷 Rd; 三七皂苷 R_1; 对苯二甲酸二甲酯

Quality evaluation of ginsenoside reference substances based on qNMR spectroscopy

PAN Jian-yang[1,2], ZHAO Fang[1,2,3], LI Wen-zhu[1,2], QU Hai-bin[1,2*]

(1. *Pharmaceutical Informatics Institute, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou* 310058, *China*; 2. *Innovation Center in Zhejiang University, State Key Laboratory of Component-Based Chinese Medicine, Hangzhou* 310058, *China*; 3. *Hisun Biopharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou* 311400, *China*)

[**Abstract**] The present study established a quality evaluation method for ginsenoside reference substances based on quantitative nuclear magnetic resonance (qNMR) spectroscopy. ^{1}H-NMR spectra were collected on Bruker Avance Ⅲ 500 MHz NMR spectrometer equipped with a 5 mm BBO probe. The acquire parameters were set up as follows: pulse sequence of 30°, D_1 = 20 s, probe temperature = 303 K, and the scan number = 32. Dimethyl terephthalate, a high-quality ^{1}H-qNMR standard, was used as the internal standard and measured by the absolute quantitative method. Methyl peaks of comparatively good sensitivity were selected for quantification, and linear fitting deconvolution was adopted to improve the accuracy of integration results. The qNMR spectroscopy-based method was established and validated, which was then used for the quality evaluation of ginsenoside Rg_1, ginsenoside Re, ginsenoside Rb_1, ginsenoside Rd, and notoginsenoside R_1. The results suggested that the content of these ginsenoside reference standards obtained from the qNMR spectroscopy-based method was lower than that detected by the normalization method in HPLC provided by the manufacturers. In conclusion, the qNMR spectroscopy-based method can ensure the quality of ginsenoside reference substances and provide powerful support for the accurate quality evaluation of Chinese medicine and its preparations. The qNMR spectroscopy-based

[收稿日期] 2021-06-20

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09201011-002)

[通信作者] *瞿海斌,教授,Tel/Fax: (0571)88208428,E-mail: quhb@zju.edu.cn

[作者简介] 潘坚扬,高级实验师,E-mail: panjy@zju.edu.cn

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

method is simple, rapid, and accurate, which can be developed for the quantitative assay of Chinese medicine standard references.

[**Key words**] qNMR; ginsenoside Rg_1; ginsenoside Re; ginsenoside Rb_1; ginsenoside Rd; notoginsenoside R_1; dimethyl terephthalate

DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20211108.304

人参皂苷为五加科植物人参和三七的主要有效成分,也是人参、三七药材及其制剂如血塞通注射液、血栓通注射液的主要质控指标。目前常用的人参皂苷定量分析方法为高效液相色谱法,均需要被测物相应的对照品才能完成定量分析。因此,人参皂苷对照品的质量对人参、三七药材及其相关制剂的质量评价结果的准确性起着至关重要的作用。目前国家标准物质中心可提供人参皂苷标准物质 15 种,全国各地可提供人参皂苷对照品的公司较多。各对照品公司所出具的人参皂苷对照品纯度都是以色谱方法根据归一化面积计算所得,这种方法测定的纯度受色谱分离条件影响较大,而且对照品中所含杂质与对照品的最大吸收波长和响应因子也不尽相同,因此,用色谱峰面积归一化法所测得的对照品纯度与其真实值之间会有较大偏差。使用纯度不准确的对照品进行人参、三七药材及其制剂的质量评价所得的数据与真实数据之间会有一定的偏差。化学标准物质的定值在国际上通常采用质量守恒法,该方法有一定的局限性,并且方法复杂,操作繁琐。

定量核磁共振法(quantitative nuclear magnetic resonance,qNMR)在药物分析中的研究应用首次发表于 1963 年[1]。近五十年来,qNMR 技术在药物相关领域得到飞速发展,尤其是现代超高磁场的脉冲傅里叶变换核磁共振仪的应用,使得 qNMR 的分析灵敏度和精密度已经达到或接近高效液相色谱法的水平[2],分析速度甚至能优于高效液相色谱法。根据国际计量局(BIPM)-物质量咨询委员会(CCQM)对“基准测量方法”给出的定义,核磁共振法已达到“基准测量方法”的标准[3-4]。与传统的色谱法相比,qNMR 具有样品制备简单、可同时得到定性和定量数据、测量时间短、非侵入性和非破坏性、无需相关样品的对照物质等优点。近年来,qNMR 已被广泛应用于药品、赋形剂、疫苗、天然产物、多肽、农药以及食品和饮料的成分分析,以及植物提取物、药酒和生物体液的代谢谱和指纹图谱分析。我国亦已有诸多学者采用 qNMR 测定了化合物含量或进行指纹图谱分析[5-10],张琪等[11]对 qNMR 的影响因素进行了探析,作为一种不分离分析的方法,获取准确的信号积分结果是影响 qNMR 准确性的关键。

人参皂苷结构较为复杂,其对照品一般是通过提取分离的方式获得,常常含有水分和各种溶剂残留。LI Z Y 等[12]和 HUANG B M 等[13]采用 qNMR 对部分人参皂苷的纯度进行了分析。本研究选取定量核磁共振分析专用的内标,选择灵敏度相对较好的甲基峰作为定量峰,结合线性拟合解卷积提高积分结果的准确性,建立了基于 qNMR 技术的人参皂苷对照品质量评价方法,并完成方法学验证。该方法可以保障人参皂苷对照品的质量,同时也为相关中药材及其制剂质量评价的准确性提供有力的支持。

1 材料

Bruker Avance Ⅲ 500 M 超导核磁共振波谱仪,质子激发频率 500.13 MHz,配置 BBO 探头,Topspin 2.1 工作站(瑞士 Bruker 公司)。

5 mm 标准核磁样品管购自美国 Norell 公司。氘代吡啶-d_5(氘代度>99.5%)、TraceCERT® 认证的核磁共振定量用内标对苯二甲酸二甲酯(批号 BCBL1702V,纯度 99.99%,测量不确定度 0.16%)、顺丁烯二酸(马来酸,批号 BCBG2002V)、反丁烯二酸(富马酸,批号 BCBF2132V)购自美国 Sigma-Aldrich 公司。国家药品标准物质人参皂苷 Rg_1(批号 110703-201530,含量测定用,以 91.7% 计)由中国食品药品检定研究院提供。实验用人参皂苷对照品为人参皂苷 Rg_1、Re、Rb_1、Rd 和三七皂苷 R_1,由 2 个对照品销售公司提供,共计 15 个样品,代号与批号:Rg_1(SH-110820、SH-150921、JL-1、JL-2、SH-140729)、Re(SH-151016、JL-1、SH-140721)、Rb_1(SH-150907、SH-140723)、Rd(SH-150924、SH-140719)、R_1(SH-150813、SH-140722、JL-1)。

2 方法

2.1 样品的制备

对苯二甲酸二甲酯内标以及各人参皂苷对照品在五氧化二磷干燥器中真空干燥 24 h 以上。准确称量内标对苯二甲酸二甲酯约 5 mg 和人参皂苷对照品约 30 mg(精确到 0.01 mg),加入 0.5 mL 氘代

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

吡啶-d_5,超声及涡旋混合至完全溶解,转移至 5 mm 核磁管中,加封直接用于^{1}H-NMR 测试。

2.2 ^{1}H-NMR 测试条件

采用 zg30 脉冲序列测定样品溶液的^{1}H-NMR 图谱。测定温度为 303 K,观测频率 500.13 MHz,谱宽 10 330.578 Hz,中心频率 3 088.51 Hz,90°脉冲宽度 14.62 μs,采样数据点 65 536,扫描 32 次,空扫 2 次,弛豫延迟时间 20 s,每个样品重复测定 3 次。

2.3 数据处理

将得到的^{1}H-NMR 图谱先在 Topspin 2.1 工作站中进行傅里叶变换,对谱图进行相位校正和基线校正,后续谱图标峰、积分等操作在 MestReNova 14.0 软件中完成,采用绝对定量法对皂苷对照品进行定量分析。

人参皂苷对照品含量计算方法如下。

$$P_x = \frac{I_x}{I_{is}} \cdot \frac{N_{is}}{N_x} \cdot \frac{M_x}{M_{is}} \cdot \frac{W_{is}}{W_x} \cdot P_{is}$$

其中,I_x 和 I_{is} 分别为人参皂苷和内标化合物的核磁共振信号强度也就是被测信号的峰面积,N_x 和 N_{is} 分别表示人参皂苷和内标化合物被测信号对应的氢原子个数,M_x 和 M_{is} 分别表示人参皂苷和内标化合物的摩尔质量,W_x 和 W_{is} 分别表示人参皂苷和内标化合物的称样质量,P_x 和 P_{is} 分别表示人参皂苷和内标化合物的质量分数。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取同一份人参皂苷 Rg_1(SH-110820)供试品溶液,按 **2.2** 项下方法连续测定 6 次,记录定量峰积分面积,计算人参皂苷 Rg_1 含量,计算仪器精密度(RSD)。

2.4.2 重复性试验 制备同一批次人参皂苷 Rg_1(SH-110820)供试品溶液 6 份,按 **2.2** 项下方法进行测定,记录定量峰积分面积,计算人参皂苷 Rg_1 含量,计算方法的重复性(RSD)。

2.4.3 准确性试验 取已知浓度的国家药品标准物质人参皂苷 Rg_1(批号 110703-201530),按 **2.1** 项下方法制备样品,平行制备 3 份,按 **2.2** 项下方法进行测定,每个样品重复测定 3 次,记录定量峰积分面积,计算人参皂苷 Rg_1 含量,与其标识浓度进行对比,计算方法的准确性。

3 结果与讨论

3.1 氘代溶剂与内标化合物的选择

一般情况下,通过对人参皂苷类化合物的溶解性质及内标化合物的溶解性质来选择合适的溶剂。在结构鉴定研究中,人参皂苷一般选用氘代吡啶作为溶剂,以减少残留溶剂峰对样品信号的干扰。本研究也尝试了氘代甲醇,人参皂苷在氘代甲醇中也能溶解,然而甲醇的残留溶剂峰化学位移为 3.30,位于人参皂苷氢信号出峰的高场区,对人参皂苷的信号有一定的干扰。另外,由于氘代吡啶的抗磁各向异性强于氘代甲醇,人参皂苷不同甲基峰在氘代吡啶中化学位移的间距略大。考虑到对人参皂苷进行定量测定的同时可对比文献的化学位移信息确证结构,本研究采用氘代吡啶作为溶剂溶解样品。

内标物的选择在 qNMR 技术应用中是十分重要的。内标物应具有很高的纯度,化学性质稳定且无挥发性,在各种氘代溶剂中均能较好的溶解,不与溶剂和待测样品发生化学反应,结构简单,质子化学位移不干扰样品测定。HOLZGRABE U[14] 总结了常用的定量核磁共振用内标有 15 种,本研究对比了 3 种内标化合物顺丁烯二酸(马来酸)、反丁烯二酸(富马酸)和对苯二甲酸二甲酯。这 3 种内标物都从 Sigma-Aldrich 公司购买 TraceCERT ® 认证(Traceable Certified Reference Materials,认证的设计符合 ISO Guide 31)的 qNMR 用内标。人参皂苷的相对分子质量均在 1 000 左右,考虑到内标化合物与样品的称样量及定量峰积分面积尽量接近以减少称样和积分误差,定量峰化学位移尽量以中心频率左右对称,本研究选择具有 TraceCERT ® 认证的对苯二甲酸二甲酯为内标化合物。

3.2 称样量选择

称样准确性将直接影响准确度,采用高精度的分析天平可减少称量误差,同时要选择合适的称样量,既考虑称量的准确性,也考虑样品溶解度和经济性。本研究对比了内标化合物 1.00 mg,待测对照品 5.00 mg 组和内标化合物 5.00 mg,待测对照品 30.00 mg 组,考察 2 组实验测定结果的重复性。本研究确定采用内标化合物 5.00 mg 左右,待测对照品 30.00 mg 左右的称样量。

3.3 核磁共振实验参数的优化

弛豫延迟时间(D_1)是为了保证实验之前系统具有足够的纵向磁化强度。D_1 对核磁共振信号积分结果的准确性影响较大,通常建议 D_1 为纵向弛豫时间(T_1)的 5 倍或以上。采用反转恢复实验测定被测化合物定量质子的纵向弛豫时间,人参皂苷定

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

量甲基峰的 T_1 均在 1 s 以下,对苯二甲酸二甲酯的 2 个信号的 T_1 分别为 3.868 s(δ 8.12)和 2.057 s(δ 3.80)。为了保证每次采样质子都能得到充分的弛豫,选择 D_1 为 20 s。

扫描次数影响峰面积的重复性和稳定性,增加扫描次数能提高信号峰的信噪比,但会增加分析时间。当扫描次数达到 32 次时,信号峰的信噪比足以满足测定要求,信号峰峰面积稳定。本研究确定的扫描次数为 32 次,每次分析需 8 min 左右。

3.4 定量峰的选择

在对人参皂苷类对照品进行 qNMR 分析之前,先对其进行定性结构分析,将质子峰进行归属,明确每个备选定量峰所对应的质子数,优先选择耦合裂分数较少的、与相邻质子峰分离较好的峰作为备选定量峰。5 种人参皂苷的结构见图 1,其质子通常可以分为甲基质子、连氧碳上质子、烯氢质子、其他的烷基质子、糖的端基质子。本研究中 5 种人参皂苷类化合物的 5 类质子的信号峰与内标物对苯二甲酸二甲酯的苯环上的质子以及甲氧基上的甲基质子单峰均无干扰。人参皂苷类化合物适合定量的质子信号为甲基信号,甲基信号基本为单峰,含有 3 个质子,信噪比较好,故选择与相邻质子分离较好的甲基信号作为定量峰,定量甲基信号的归属参考 CHO J G 等[15]、王洪平等[16]、WANG Y S 等[17]的研究结果。由于在实际研究过程中不能保证被测样品和内标化合物的定量峰化学位移以中心频率左右对称,为了减少实验误差,选取 2 组甲基信号进行定量分析,取其测定结果的平均值作为测量结果。人参皂苷 Rg_1 选取 18 位和 28 位 2 组甲基信号作为定量峰,人参皂苷 Re 选取 28 位和 29 位 2 组甲基信号作为定量峰,三七皂苷 R_1 选取 18 位和 30 位 2 组甲基峰作为定量峰,人参皂苷 Rb_1、Rd 选取 19 位和 29 位 2 组甲基信号作为定量峰,对苯二甲酸二甲酯的苯环上的质子作为内标的定量峰,^{1}H-NMR 谱图见图 2。

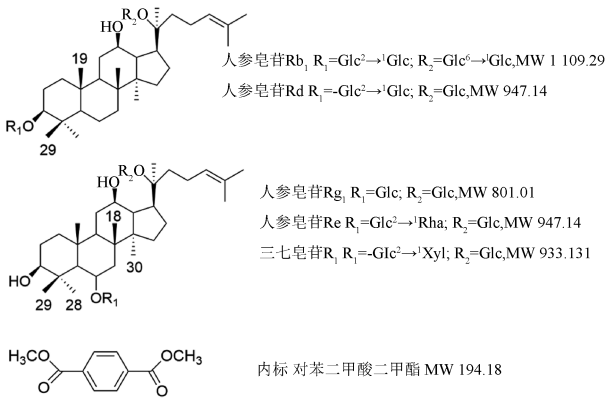
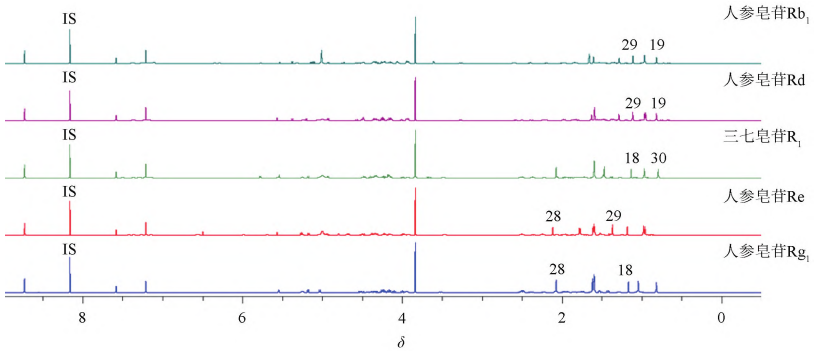


图 1 5 种人参皂苷及内标对苯二甲酸二甲酯结构

Fig. 1 Structures of five ginsenosides and dimethyl terephthalate (internal standard, IS)



18、28、29 和 30 分别表示人参皂苷第 18、28、29 和 30 位甲基信号。

图 2 5 种人参皂苷和内标化合物的^{1}H-NMR 谱图

Fig. 2 ^{1}H-NMR spectra of five ginsenosides and IS

3.5 积分方法的选择

人参皂苷的甲基峰主要出现在高场 δ 0.5 ~ 2.50 的区域,其他脂肪氢的信号也在该区域出峰,部分定量甲基信号在峰底部有脂肪氢信号的重叠。为了提高积分结果的准确性,需要对核磁共振谱图进行解卷积处理,最常用的解卷积方法有线性拟合[18](line fitting)和全谱解卷积[19](global spectral deconvolution, GSD)。本研究采用 GSD 方法积分,

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

计算所得的仪器精密度 RSD 分别为 1.6%(18 位甲基信号)、1.5%(28 位甲基信号),而采用 line fitting 方法积分,计算所得的仪器精密度 RSD 分别为 0.77%(18 位甲基信号)、0.77%(28 位甲基信号),因此,选择 line fitting 方法进行谱图积分处理。

3.6 方法学验证

仪器精密度 RSD 分别为 0.77%(18 位甲基信号)、0.77%(28 位甲基信号),仪器精密度良好。

方法精密度 RSD 分别为 1.1%(18 位甲基信号)、0.80%(28 位甲基信号),方法重复性良好。

方法准确性试验:国家药品标准物质人参皂苷 Rg_1 的纯度测定结果为 91.44%±1.03%(n=3),标示纯度为 91.7%,方法准确性良好。

3.7 人参皂苷对照品质量分析

采用 qNMR 内标法对来源于 2 个不同公司的 5 种人参皂苷对照品,共计 15 个样品进行含量测定,测定结果见表 1,其测定结果低于厂家的标示纯度,这与 HUANG B M 等[13]的研究结果一致,无论是 HPLC-UV、HPLC-ELSD 甚至 HPLC-TOF-MS 所测得人参皂苷 Rg_1 的面积归一化纯度均高于 qNMR 测得的结果。本研究中厂家标示的人参皂苷对照品纯度为 HPLC 面积归一化纯度,其准确的前提是对照品中的杂质在检测波长下可以被检测到,并且与对照品具有相同的响应系数,而在实际情况中,这个前提并不一定成立,因此,采用面积归一化法作为中药对照品的赋值方法,其测得的结果不够准确和可靠。

表 1 人参皂苷对照品含量测定结果与 HPLC 归一化含量对比(n=3)

Table 1 Comparison of content results of ginsenosides obtained from qNMR and HPLC normalized content(n=3) %

对照品	批号	qNMR		HPLC 归一化
		数据	RSD	
人参皂苷 Rg_1	SH-150921	89.06	0.71	99.24
	JL-1	90.55	0.11	-
	JL-2	85.56	0.53	-
	SH-140729	92.72	0.082	99.41
人参皂苷 Re	SH-151016	90.44	0.057	99.36
	JL-1	92.66	0.002 3	-
	SH-140721	84.20	0.17	98.94
三七皂苷 R_1	SH-150813	93.91	0.22	99.25
	SH-140722	95.67	0.22	99.26
	JL-1	86.59	0.57	-
人参皂苷 Rb_1	SH-150907	88.90	1.2	98.93
	SH-140723	88.38	0.087	99.10
人参皂苷 Rd	SH-150924	91.09	0.40	99.29
	SH-140719	88.97	0.066	99.29

注:-.厂家未提供 HPLC 归一化含量。

4 结论

本研究以 5 种最常用的人参皂苷对照品为例,优化建立了基于 qNMR 技术的中药对照品质量评价方法。为了提高 qNMR 分析方法的准确性,本研究选择 2 组干扰较少的甲基峰作为定量峰,取其平均值作为测量结果,甲基峰灵敏度相对较好,然而部分定量甲基信号在峰底部有脂肪氢信号的重叠,通过优选解卷积积分方法提高积分结果的准确性。采用 qNMR 测定国家标准物质人参皂苷 Rg_1 的含量,测定结果结果与其含量标示值基本一致,说明采用 qNMR 测定人参皂苷对照品含量结果准确。研究发现 qNMR 测得的市售人参皂苷对照品的含量低于厂家的标示值,以这些人参皂苷对照品对人参药材及其相关制剂进行质量评价,其结果与真实结果会有一定的偏差。因此,建立基于 qNMR 技术的中药对照品质量评价方法对于中药质量评价具有重要的意义。

[参考文献]

[1] HOLLIS D P. Quantitative analysis of aspirin, phenacetin, and caffeine mixtures by nuclear magnetic resonance spectrometry [J]. Anal Chem, 1963, 35(11): 1682.

[2] LIU N Q, CHOI Y H, VERPOOTE R, et al. Comparative quantitative analysis of artemisinin by chromatography and qNMR

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[J]. Phytochem Anal, 2010, 21 (5): 451.
[3] KING B. Metrology in chemistry: part Ⅱ. future requirements in Europe [J]. Accredit Qual Assur, 2000, 5 (7): 266.
[4] KING B. The practical realization of the traceability of chemical measurements standards [J]. Accredit Qual Assur, 2000, 5 (10/11): 429.
[5] 师小春, 张雅军, 吴先富,等. 定量核磁共振氢谱法测定依诺肝素钠中多硫酸软骨素和硫酸皮肤素的含量 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40 (11): 1935.
[6] 韦英亮, 莫建光, 潘艳坤. 磺胺类标准物质期间核查 NMR 定量方法研究 [J]. 波谱学杂志, 2013, 30 (3): 371.
[7] 黄亮, 张伟, 黄挺, 等. 肌酐纯度标准物质的定值方法及其不确定度评定研究 [J]. 分析测试学报, 2014, 33 (7): 840.
[8] 张琪, 朱红波, 吴先富, 等. 邻苯二甲酸酯类标准物质核磁共振定量方法的建立 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35 (7): 1287.
[9] 李文竹, 杨嘉誉, 赵芳, 等. 参麦注射液中人参总皂苷的^{1}H qNMR 定量方法研究 [J]. 中国中药杂志,2022,47(3):587.
[10] 李文竹, 杨嘉誉, 赵芳, 等. 基于^{1}H-NMR 技术的参麦注射液指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志,2022, 47(3): 581.
[11] 张琪, 朱红波, 杨化新, 等. 核磁共振法定量影响因素探析 [J]. 中国药品标准, 2014, 15 (6): 404.
[12] LI Z Y, WELBEK E, WANG R F, et al. A universal quantitative ^{1}H nuclear magnetic resonance (qNMR) method for assessing the purity of dammarane-type ginsenosides [J]. Phytochem Anal, 2015, 26 (1): 8.
[13] HUANG B M, XIAO S Y, CHEN T B, et al. Purity assessment of ginsenoside Rg_1 using quantitative ^{1}H nuclear magnetic resonance [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 139:193.
[14] HOLZGRABE U. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications [J]. Prog Nucl Magn Reson Spectrosc, 2010, 57 (2): 229.
[15] CHO J G, LEE M K, LEE J W, et al. Physicochemical characterization and NMR assignments of ginsenosides Rb_1, Rb_2, Rc, and Rd isolated from *Panax ginseng* [J]. J Ginseng Res, 2010, 34 (2): 113.
[16] 王洪平, 杨鑫宝, 杨秀伟, 等. 吉林人参根和根茎的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38 (17): 2807.
[17] WANG Y S, JIN Y P, GAO W, et al. Complete ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectral assignment of five malonyl ginsenosides from the fresh flower buds of *Panax ginseng* [J]. J Ginseng Res, 2016, 40 (3): 245.
[18] LAATIKAINEN R, NIEMITZ M, MALAISSE W J, et al. A computational strategy for the deconvolution of NMR spectra with multiplet structures and constraints: analysis of overlapping ^{13}C-^{2}H multiplets of ^{13}C enriched metabolites from cell suspensions incubated in deuterated media [J]. Magn Reson Med, 1996, 36 (3): 359.
[19] BERNSTEIN M A, SYKORA S, PENG C, et al. Optimization and automation of quantitative NMR data extraction [J]. Anal Chem, 2013, 85 (12): 5778.

[责任编辑 孔晶晶]

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net