

# LC-MS/MS测定大鼠大黄素血药浓度及脑组织含量

宋增锋, 彭娟, 马辰\*

(中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

**摘要** 目的: 建立液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法, 对虎杖主要药效成分大黄素在大鼠体内的药代动力学及在脑组织分布的经时变化进行研究, 以探讨虎杖药材在大鼠体内的作用规律。方法: 采用LC-MS/MS方法, 色谱柱: Eclipse Plus-C<sub>18</sub>柱(50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 5 mmol·L<sup>-1</sup>醋酸铵溶液-乙腈(1:1, v/v), 流速: 0.2 mL·min<sup>-1</sup>。ESI离子源, 负离子扫描模式, 多反应离子检测模式: 母离子和子离子的 *m/z* 分别是 269.2 和 181.9 检测生物样品中的大黄素含量。结果: 血浆大黄素在 0.03~6 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内呈良好的线性, 线性相关系数 0.9989, 高、中、低浓度绝对回收率 87.8%~120.3%, 相对回收率为 95.9%~117.2%; 脑组织大黄素在 5.0~1000 ng·g<sup>-1</sup> 范围内呈良好的线性, 线性相关系数 0.9999, 高、中、低浓度绝对回收率 94.1%~97.2%, 相对回收率 99.1%~103.1%。大黄素在大鼠体内药代动力学模型符合二房室模型。结论: 该方法对大黄素测定具有良好的灵敏度、准确度、精密度以及专属性, 完全适应于生物样品中微量大黄素的浓度测定。

**关键词:** 虎杖; 大黄素; 药代动力学; 脑组织分布; LC-MS/MS

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)06-0926-05

## LC-MS/MS determination of plasma and brain concentration of emodin in rats

SONG Zeng-feng PENG Juan, MA Chen\*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract Objective** To develop an LC-MS/MS method based on liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection for the determination of emodin of *Rhizoma Polygoni Cuspidati* in plasma and brain of rat. **Method** The column was Eclipse Plus-C<sub>18</sub> (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), mobile phase was 5 mmol·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Ac solution-acetonitrile (1:1, v/v) at a flow rate of 0.2 mL·min<sup>-1</sup>. The analyte was detected using negative ionization by multiple reaction monitoring mode. The mass transition pairs of *m/z* 269.2 and 181.9 was applied to detect emodin. **Results** The assay exhibited a good linearity in the concentration range from 0.03~6 μg·mL<sup>-1</sup> with a correlation coefficient of 0.9989 from rat plasma. The method recoveries of emodin were from 95.9% to 117.2% and the extraction recoveries of emodin were from 87.8% to 120.3% at three concentration levels from rat plasma samples. A good linearity in the concentration range from 5.0~1000 ng·g<sup>-1</sup> with a correlation coefficient of 0.9999 from rat brain. The method recoveries of emodin were from 99.1% to 103.1% and the extraction recoveries of emodin were from 94.1% to 97.2% at three concentration levels from rat brain samples. **Conclusion** This method is accurate, precise, sensitive and specific, and can be applied to the determination of emodin in biological specimens.

**Key words** *Rhizoma Polygoni Cuspidati*; emodin; pharmacokinetics; distribution in brain; LC-MS/MS

虎杖为常用中药, 具有活血散瘀定痛、清热解毒利湿、化痰止咳通便之功效<sup>[1]</sup>。其主要成分为蒽醌类, 如大黄素、大黄素苷、大黄素甲醚、大黄素甲醚苷等。现代研究表明蒽醌类成分具有抗病原微生物、

保肝利胆、影响胃肠道运动、抗癌等作用<sup>[2]</sup>。目前, 虎杖中大黄素含量的测定方法主要有高效液相色谱-紫外检测法<sup>[3~12]</sup>, 毛细管电泳法<sup>[13]</sup>。大鼠口服虎杖后脑组织中大黄素的含量测定未见报道。

\* 通讯作者 Tel: (010) 63165239 E-mail: mach@imm.ac.cn

近年来,串联质谱法得到了快速的发展,它弥补了传统高效液相色谱检测器灵敏度低的缺点,三重四极杆质谱作为其中的代表被广泛运用于生物样本中低浓度药物含量的研究领域。本文以大黄素为指标,建立液相色谱-三重四极杆质谱方法,测定大鼠灌胃给予虎杖提取物后,大黄素血药浓度及大黄素透过血脑屏障在脑组织中的含量随时间的变化情况,反映虎杖在大鼠体内的大黄素的作用规律,且为生物样品中蒽醌类化合物检测提供了一种可靠、简单的测定手段。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Agilent 1100 液相色谱仪、Agilent 6410 三重四极杆质谱(美国 Agilent 公司), Heidolph DF-AX-900 匀浆机, Mettler Toledo AG135 电子天平,岛津 LibrAEL-160 电子天平,国产 XZ-6 减压浓缩器, YKH-III 液体快速混合器(江西医疗器械厂), LD5-2A 离心机(北京医用离心机厂), XZ-6 旋转蒸发器(中科院生物物理所), 水浴锅(科龙仪器厂), 超声波清洗机(天鹏电子新技术有限公司)。

**1.2 实验动物** Wistar 大鼠,  $\delta$ , 体重(220 $\pm$ 20) g 由中国医学科学院动物研究中心提供。

**1.3 试剂** 大黄素对照品购于中国药品生物制品检定所;虎杖药材购于同仁堂药店;大黄素的虎杖提取液由本实验室自制;乙酸乙酯, 色谱纯, 百灵威公司;甲醇为色谱纯;重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

## 2 实验方法

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取大黄素对照品 5 mg 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 0.5 mg $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 大黄素储备液。精密量取大黄素储备液 0.5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 0.025 mg $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 大黄素对照品溶液。

**2.2 给药虎杖样品的制备** 取干燥后的虎杖药材样品, 粉碎成粗粉, 以 6 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 抽滤, 合并滤液, 减压浓缩, 然后将浓缩液转移至蒸发皿中, 于水浴上继续挥干溶剂, 得到虎杖浸膏, 出膏率为 25.1%。称取虎杖浸膏 25.4 g 至烧杯中, 分次加入 0.5% CMC-Na 溶液共 250 mL, 超声助溶, 制得大黄素浓度为 5.71 mg $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的混悬液, 备用。

**2.3 动物试验** Wistar 大鼠,  $\delta$ , 体重(220 $\pm$ 20) g 每组 8 只动物, 给药前禁食 24 h 自由饮水, 以灌胃量 0.01 mL $\cdot$  g<sup>-1</sup>, 剂量为 57.1 mg $\cdot$  kg<sup>-1</sup> (以大黄素计) 灌胃给予虎杖样品, 于 5, 7, 10, 15, 30 min 及 1,

4, 5, 6, 8, 12, 24 h 共 12 个时间点各 8 只大鼠自腹主动脉取血, 完成取血后, 取肝脏。血样经肝素抗凝离心(3000 r $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 10 min) 分取血浆, 将血浆及脑组织于 -25 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 待测。

**2.4 血浆样品的预处理** 精密吸取血浆样品 30  $\mu$ L, 置 10 mL 离心管中, 加入盐酸(2 mol $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 0.1 mL, 涡旋混匀 30 s, 于(70 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 水浴中加热 30 min, 放置室温, 加入乙醚 2 mL, 涡旋提取 5 min, 离心(4000 r $\cdot$  min<sup>-1</sup>) 10 min, 取上清液置小试管中, 于旋转蒸发器 50 $^{\circ}$ C 减压浓缩至干, 放至室温, 精密加入甲醇 1.0 mL, 涡旋混匀, 超声 1 min 助溶, 0.25  $\mu$ m 有机滤膜过滤, 取滤液直接进样。

**2.5 脑组织样品的预处理** 称取脑组织约 0.2 g 精密称定, 加生理盐水 2 mL 匀浆后置于具塞离心管中, 加入盐酸(2 mol $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 0.3 mL, 涡旋混合 30 s, 于(70 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 水浴中加热 20 min, 放至室温, 加入乙酸乙酯 2.5 mL, 涡旋混合提取 5 min, 离心(4000 r $\cdot$  min<sup>-1</sup>) 10 min, 取乙酸乙酯层, 于旋转蒸发器 50 $^{\circ}$ C 减压浓缩至干, 精密加入甲醇 1.0 mL, 涡旋混匀, 超声 1 min 助溶, 0.25  $\mu$ m 有机滤膜过滤, 取滤液直接进样。

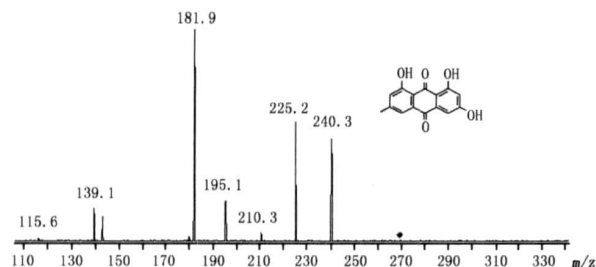
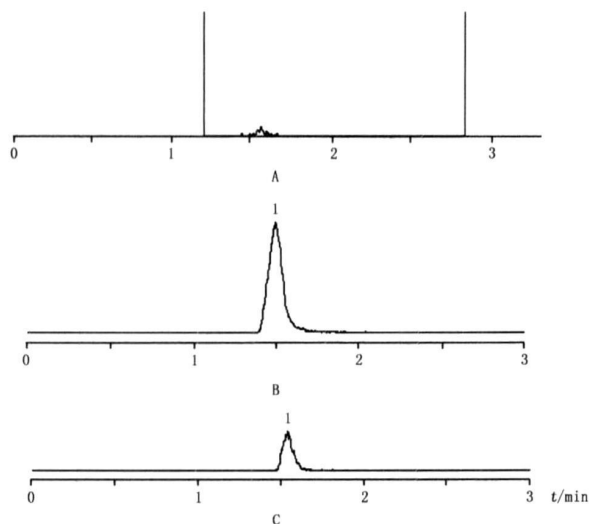
**2.6 色谱及质谱条件** Eclipse Plus C<sub>18</sub> 柱(50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流动相: 乙腈-5 mmol $\cdot$  L<sup>-1</sup> 醋酸铵溶液(1:1); 进样量: 1  $\mu$ L; 流速: 0.2 mL $\cdot$  min<sup>-1</sup>; ESI 离子源; 干燥气温度: 350 $^{\circ}$ C; 干燥气流速: 10 L $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 雾化气压力: 241 kPa; 负离子扫描模式; 离子源电压: 4 kV; 毛细管电压: 40 V; 碎裂电压: 100 V; 多反应离子检测模式: 母离子和子离子的  $m/z$  分别是 269.2 和 181.9。

## 3 实验结果

### 3.1 方法专属性

大黄素结构上含有多个酚羟基, 在负离子模式下得到  $m/z$  269.2 的分子离子  $[M-H]^{-}$ , 以该离子作为母离子进行二级质谱裂解, 主要产生  $m/z$  240.3, 225.2, 181.9 等特征离子, 全扫描质谱图见图 1, 多反应离子检测模式选取母离子  $m/z$  269.2 和子离子  $m/z$  181.9 测定。

取大鼠空白生物样品, 按“2.4”或“2.5”项下方法处理, 作为空白样品; 将一定浓度的大黄素对照品溶液加入到大鼠空白生物样品中, 同法操作, 获得对照样品; 取大鼠给药后血、脑组织样品, 按“2.4”或“2.5”项下方法处理, 获得测试样品。按照选定的色谱方法进行测定, 色谱图见图 2 及图 3。空白对大黄素测定无干扰。

图1 大黄素 $[M-H]^-$ 的全扫描质谱图Fig 1 Mass spectrum of  $[M-H]^-$  ion of emodin图2 空白血浆(A)、空白血浆加大黄素对照品溶液( $C = 4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , B)及大鼠给药后血浆样品(C)色谱图Fig 2 HPLC chromatograms of blank plasma (A), blank plasma spiked with emodin ( $C = 4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , B) and plasma sample after a single i. g. administration extract of Rhizoma Polygoni Cuspidati (C)

1. 大黄素(emodin)

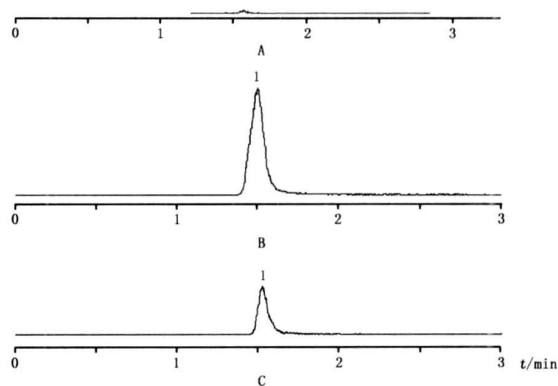
### 3.2 标准曲线及最小检测限

**3.2.1 血浆样品标准曲线** 取空白血浆  $30 \mu\text{L}$ , 加入一定浓度的大黄素对照品溶液, 制成  $0.03, 0.06, 0.12, 0.30, 0.60, 3.0, 6.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  系列浓度的对照品血浆, 按“2.4”项下方法操作, 以大黄素峰面积  $Y$  对浓度  $X (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$  进行线性回归, 回归方程为:

$$Y = 127.5X - 12.63 \quad r = 0.9989$$

结果表明大黄素血浆浓度在  $0.03 \sim 6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好, 最小检测限为  $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $S/N = 3$ )。

**3.2.2 脑组织样品标准曲线** 取空白脑组织  $0.2 \text{ g}$  加入一定浓度的大黄素对照品溶液, 制成  $5, 10, 50, 100, 500, 1000 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  系列含量范围的对照品脑组织, 按“2.5”项下方法操作, 以大黄素峰面积  $Y$  对含量  $X (\text{ng} \cdot \text{g}^{-1})$  进行线性回归, 得回归方程:

图3 空白脑组织(A)、空白脑组织加大黄素对照品溶液( $C = 250 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , B)及大鼠给药后脑组织样品(C)色谱图Fig 3 HPLC chromatograms of blank brain (A), blank brain spiked with emodin ( $C = 250 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , B) and brain sample after a single i. g. administration extract of Rhizoma Polygoni Cuspidati (C)

1. 大黄素(emodin)

$$Y = 137.7X - 314.6 \quad r = 0.9999$$

线性范围为  $5.0 \sim 1000 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果表明大黄素脑组织含量在考察范围内线性关系良好。最小检测限为  $1.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $S/N = 3$ )。

**3.3 回收率试验** 将一定浓度的大黄素对照品溶液加入到空白血浆中制成高、中、低 3 个浓度分别为  $4, 2, 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品血浆, 将一定浓度的大黄素对照品溶液加入到空白脑组织中制成高、中、低 3 个浓度分别为  $800, 250, 20 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  的对照品脑组织, 依“2.4”或“2.5”项下方法处理, 每一浓度进行 6 样本分析, 连续测定 3 d 根据当日的标准曲线, 计算样品浓度, 将样品的结果进行方差分析, 计算本法的回收率与精密度。测得血浆高、中、低浓度分别为绝对回收率  $120.3\%$  ( $RSD = 2.3\%$ ),  $108.1\%$  ( $RSD = 3.1\%$ ),  $87.8\%$  ( $RSD = 4.4\%$ ); 相对回收率  $117.2\%$  ( $RSD = 2.6\%$ ),  $100.2\%$  ( $RSD = 4.0\%$ ),  $95.9\%$  ( $RSD = 5.0\%$ ),  $n = 6$ 。脑组织高、中、低浓度分别为绝对回收率  $97.2\%$  ( $RSD = 3.3\%$ ),  $96.7\%$  ( $RSD = 2.8\%$ ),  $94.1\%$  ( $RSD = 3.1\%$ ); 相对回收率  $103.1\%$  ( $RSD = 2.2\%$ ),  $101.3\%$  ( $RSD = 3.1\%$ ),  $99.1\%$  ( $RSD = 3.9\%$ )。

### 3.4 稳定性考察

**3.4.1 冻融稳定性考察** 取  $-25^\circ\text{C}$  保存的生物样品, 考察冻融次数对样品稳定性的影响, 反复冻融 3 次, 按“2.4”或“2.5”项下相应的方法进行样品处理。结果显示, 血浆样品冻融 3 次, 测定结果  $RSD$  小于  $5\%$ ; 脑组织样品冻融 3 次, 测定结果  $RSD$  小于  $6\%$ 。表明反复冻融 3 次样品稳定。

**3.4.2 稳定性考察** 将生物样品按“2.4”或“2.5”项下相应的方法进行样品处理,室温放置,于7 d内检查样品的稳定性。结果显示,血浆样品在6 d内测定结果的RSD( $n=8$ )小于4%,稳定;脑组织样品在5 d内测定结果的RSD( $n=8$ )小于7%,稳定。

### 3.5 药代动力学研究结果

按照“2.4”项下方法对各时间点血浆样品进行处理,测定血浆中大黄素含量,得到大黄素药-时曲线图,见图4。

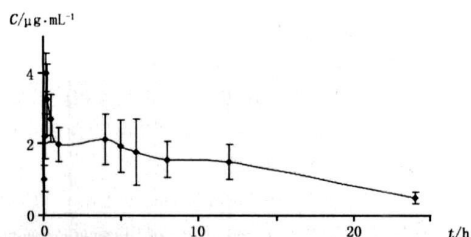


图4 大鼠口服虎杖提取物后的大黄素平均药时曲线

Fig 4 Mean plasma concentration-time curve for emodin in rats after a single i.g. administration extract of Rhizoma Polygoni Cuspidati

血药浓度测定数据采用3P97药代动力学软件进行曲线拟合,虎杖中大黄素在大鼠体内的动力学行为符合二室开放模型,主要动力学参数见表1。

表1 大鼠给予虎杖提取物后  
大黄素的药代动力学参数( $n=8$ )

Tab 1 Main pharmacokinetic parameter of emodin in rats after an i.g. administration of extract of Rhizoma Polygoni Cuspidati

| 药代学参数<br>(pharmacokinetic parameter)                   | 参数值<br>(values) |
|--------------------------------------------------------|-----------------|
| $t_0$ /min                                             | 4.09            |
| AUC / $\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ | 2376.39         |
| $T_{\text{max}}$ /min                                  | 9.01            |
| $C_{\text{max}}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  | 3.39            |
| $t_{1/2\alpha}$ /min                                   | 5.74            |
| $t_{1/2\beta}$ /min                                    | 653.95          |
| CL / $\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}^{-1}$  | 0.0240          |
| V/F / $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$                  | 10.983          |

虎杖中大黄素在大鼠体内血药浓度很快吸收入血达到峰值( $T_{\text{max}}=9\text{ min}$ ),药时曲线出现双吸收峰,在10 min实测血药浓度达到 $(3.973 \pm 0.535) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,给药4 h血药浓度又出现一个小的上升,血药浓度为 $(2.131 \pm 0.705) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,24 h血药浓度低于 $C_{\text{max}}$ 的1/10。分布相半衰期 $t_{1/2\alpha}=5.74\text{ min}$ ,说明大黄素分布迅速,消除相半衰期 $t_{1/2\beta}=653.95\text{ min}$ 清除率 $\text{CL}=0.0240\text{ L} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,提示大

素体内消除较缓慢,表观分布容积 $V/F=10.983\text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,表观分布容积较大,提示虎杖中大黄素体内分布广泛。

### 3.6 讨论 虎杖中大黄素脑组织分布研究

按照“2.5”方法对各时间点脑组织样品进行处理,测定脑组织中大黄素含量,结果见表2。

表2 大鼠脑组织中不同时间大黄素  
含量(平均值 $\pm$ SD,  $n=8$ )

Tab 2 Mean concentration for emodin in rats brain after a single i.g. administration extract of Rhizoma Polygoni Cuspidati (mean $\pm$ SD,  $n=8$ )

| 时间 (time) | C / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|-----------|-------------------------------------|
| 5 min     | 45.1 $\pm$ 4.8                      |
| 7 min     | 126.7 $\pm$ 10.1                    |
| 10 min    | 280.5 $\pm$ 17.2                    |
| 30 min    | 95.0 $\pm$ 4.9                      |
| 1 h       | 25.7 $\pm$ 5.4                      |
| 4 h       | 26.6 $\pm$ 1.9                      |
| 12 h      | 23.2 $\pm$ 2.3                      |
| 24 h      | 14.1 $\pm$ 1.9                      |

测定结果表明,口服虎杖后,大黄素在10 min达到脑组织浓度高峰,大鼠脑组织中的大黄素浓度低,且大黄素在脑组织内相对消除较快。

### 4 讨论

采用LC-MS法测定生物样品中的药物浓度具有选择性好、灵敏度高等优点,目前正越来越多地应用于药代动力学及药物组织分布的研究。由于大鼠脑组织中大黄素浓度低,因而对其检测方法提出了更高的要求。HPLC-UV方法的定量下限通常在 $0.04\text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ [10],不能达到测试要求,我们采用液相色谱串联质谱技术,以二级质谱选择离子反应监测方式扫描检测血浆和脑组织中大黄素的浓度,采用负离子模式下以分子离子 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$  269.2为主要的离子化模式,以该离子作为母离子进行二级质谱裂解,主要产生 $m/z$  240.3 225.2 181.9等特征离子,多反应离子检测模式选取母离子 $m/z$  269.2和子离子 $m/z$  181.9测定,使得最低检测限在 $1.5\text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ ,定量下限 $5.0\text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。提高了检测的专属性和灵敏度,最低定量限可达 $5.0\text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。且前处理方法简单,回收率高,分析时间大大缩短,生物样品中的内源性物质与杂质对测定物质没有干扰。本方法成功用于大鼠口服虎杖后,血浆和脑组织中大黄素的动态分布研究,为大黄素的药代动力学研究提供一个灵敏可靠的检测方法。

虎杖中大黄素在大鼠体内吸收入血迅速。本文

对于口服虎杖后大黄素为指标的药代动力学及组织分布研究,可为与大黄素结构相似的蒽醌类成分进一步以体内代谢研究提供参考,有助于进一步阐明虎杖药理作用的物质基础。

## 参考文献

- JIA Peng(贾鹏). Summary of clinical functions of Rhizoma Polygoni Cuspidati (虎杖临床功用琐谈). *J Sichuan Tradit Med* (四川中医), 1993, 12(24): 24
- WU Xiao-chun(伍晓春), LU Yu(陆豫). Research of pharmacological action and clinical application of Rhizoma Polygoni Cuspidati (虎杖的药理作用及临床应用研究进展). *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2005, 2(2): 22
- ChP(中国药典). 2005 Vol I (一部): 17
- ZHOU Hong(周红), YU Chun-fang(俞春芳), WANG Jin-feng(王金锋). Determination of emodin in Guanjiexie pills maternity and child by HPLC(HPLC法测定关节克痹丸中大黄素含量). *China Pharm* (中国药师) 2007, 10(5): 474
- ZHANG Tong(张彤), DING Yue(丁越), TAO Jian-sheng(陶建生), *et al*. Determination of emodin in compound recipe of Rhizoma Polygoni Cuspidati particles by HPLC (HPLC法测定复方虎杖颗粒中大黄素). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38(4): 550
- PENG Juan(彭娟), MA Chen(马辰). Discussion and improvement on the determination of emodin in Rhizoma Polygoni Cuspidati Pharmacopoeia of People's Republic of China 2005 (对中国药典 2005版虎杖中大黄素测定方法的商榷与改进). *Beijing J Tradit Chin Med* (北京中医), 2007, 26(4): 234
- JIANG Ye(蒋晔), HAO Xiao-hua(郝晓花), LIU Hong-ju(刘红菊). Determination of emodin and physcion in rat excrement and urine by HPLC(HPLC法测定灌胃虎杖提取物大鼠粪便及尿液中大黄素和大黄素甲醚). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38(1): 57
- ZHANG Xu-xue(张须学), LI Hai-xia(李海霞), LIU Yan-ze(刘延泽). Study of diversities of chemical compositions about different parts of Rhizoma Polygoni Cuspidati by HPLC(HPLC法研究雄、雌虎杖不同部位化学成分的变化). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37(8): 1258
- MA Yun-tong(马云桐), WAN De-guang(万德光), SONG Liang-ke(宋良科). HPLC fingerprint of Rhizoma Polygoni Cuspidati (虎杖药材 HPLC 指纹图谱研究). *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31(12): 972
- HAO Xiao-hua(郝晓花), JIANG Ye(蒋晔), JIANG Shao-hao(姜少灏), *et al*. Determination of emodin and physcion in rat plasma by nonaqueous RP-HPLC (非水反相液相色谱法测定大鼠虎杖给药后血浆中大黄素、大黄素甲醚的含量). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(4): 453
- YUAN Ke(袁珂), YANG Zhong-han(杨中汉), YIN Peng-hui(殷鹏辉), *et al*. The process choice of Rhizoma Polygoni Cuspidati extracted substance and quality analysis(虎杖提取物的生产工艺优化及其质量检测). *Chin J Med Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2000, 12(17): 6
- ZHONG Da-fang(钟大放). Several questions about biological analytical standard curve by weighing least square method (以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若干问题). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(5): 343
- HUANG Sheng(黄晟), GU Li(谷莉), ZHAO Liang(赵亮), *et al*. Determination of resveratrol-3-O- $\beta$ -D-glucoside emodin and rheochrysin in Rhizoma Polygoni Cuspidati by capillary zone electrophoresis(毛细管电泳法测定虎杖药材中白藜芦醇苷、大黄素和大黄素甲醚的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2006, 26(1): 20

(本文于 2008年 5月 21日收到)