

生熟大黄总提取物灌胃给药后游离蒽醌在 SD 大鼠组织中的分布差异研究

方 芳^{1,2†}, 王伽伯^{1†}, 赵艳玲¹, 金城¹, 孔维军^{1,2},
赵海平³, 王红娟¹, 肖小河^{1*}

(1. 解放军中药研究所, 解放军第三〇二医院, 北京 100039; 2. 成都中医药大学, 四川 成都 610075;
3. 江西中医学院, 江西 南昌 330004)

摘要: 大黄应用范围广、疗效确切, 然而近年来国内外实验报道大黄中蒽醌成分具有肝、肾细胞毒性。本文对比研究了生熟大黄总提取物灌胃给药后游离蒽醌在正常 SD 大鼠组织中的分布。肝、脾和肾组织中游离蒽醌类成分含量采用 UPLC-MS/MS 法测定。生熟大黄总提物 (相当于生药量 $14.69 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 灌胃给药, 连续 12 周。结果表明, 游离蒽醌在生大黄组大鼠组织中的分布浓度高于熟大黄组; 大黄游离蒽醌在同一组织中的分布浓度顺序大致为大黄酸 > 大黄素 > 芦荟大黄素; 大黄酸在肝、脾和肾组织中的分布浓度明显高于芦荟大黄素和大黄素, 且大黄酸在生大黄组的组织分布浓度明显高于熟大黄组; 停药恢复 4 周后, 大黄游离蒽醌在组织中检测不到。结果提示生大黄的组织毒性可能高于熟大黄; 大黄酸可能是大黄主要的毒性物质之一; 大黄游离蒽醌在组织中可能无蓄积毒性。炮制过程不仅影响了有效成分的含量还可能影响其成分的组成, 通过影响吸收和作用过程中成分之间的相互作用, 致使生大黄组动物组织中游离蒽醌的分布浓度高于熟大黄组, 这与传统中医药理论炮制减毒的思想认识基本一致。

关键词: 大黄; 蒽醌衍生物; 组织分布; UPLC-MS/MS; 炮制减毒

中图分类号: R969.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0350-05

Tissue distribution of free anthraquinones in SD rats after orally administered extracts from raw and prepared rhubarbs

FANG Fang^{1,2†}, WANG Jia-bo^{1†}, ZHAO Yan-ling¹, JIN Cheng¹, KONG Wei-jun^{1,2}, ZHAO Hai-ping³,
WANG Hong-juan¹, XIAO Xiao-he^{1*}

(1. China Military Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: Rhubarb anthraquinone derivatives (AQs) have been documented to have both therapeutic and toxic effect on liver and kidney, leading to a complex puzzle to assess their benefits and risks. In this study, the tissue distributions of AQs in SD rats after orally administrated extracts of raw and prepared rhubarb were examined whether they undergo different uptake. The total rhubarb extract ($14.49 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of body weight per day od, counted on the quantity of crude material) was administrated orally for 12 weeks. The concentrations of the AQs in different tissues were quantified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

收稿日期: 2010-11-19.

†共同第一作者

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09502-022); 国家自然科学基金资助项目 (30973947); 国家公益性行业科研专项基金资助项目 (200807020).

*通讯作者 Tel: 86-10-66933322, Fax: 86-10-63879915, E-mail: pharmacy302@126.com

The five major AQs, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophynol and physcion, could all be detected in the liver, kidney and spleen, while only rhein, aloe-emodin and emodin reached the quantitative limit. The tissue concentrations of AQs in raw rhubarb group were higher than that in steamed rhubarb group with rhein > emodin > aloe-emodin in the same tissue. On the whole, the tissue distribution of rhein was higher than that of emodin and aloe-emodin in liver, spleen and kidney. AQs could not be detected in those tissues after drug withdraw for 4 weeks, which suggested scarcely any accumulative toxicity of rhubarb. The result indicated that raw rhubarb had more tissue toxicity than steamed rhubarb and rhein may be one of the major poisonous ingredients. The results were concordant with the traditional Chinese medicine theory of toxicity-attenuating effect of processing.

Key words: rhubarb; anthraquinone derivative; tissue distribution; UPLC-MS/MS; toxicity-attenuating effect of processing

大黄为我国常用中药,其临床应用范围广,疗效确切。现代药理学研究表明大黄中蒽醌类成分为其主要药效物质,具有泻下、抗菌、治疗慢性肾衰、利胆退黄及保肝等作用^[1],然而近年来国内外研究报道表明大黄及其蒽醌类成分具有肝、肾和胃肠道毒性^[2-7],引发了国内外对大黄安全性的质疑。因此,科学评价大黄对肝肾组织的保护或损伤作用,对其临床合理用药有重要意义。

炮制减毒是目前中医临床常用的减毒机制之一。有研究表明大黄经炮制减轻胃肠道毒性的主要机制为结合蒽醌含量降低、致泻作用减弱^[8,9],目前炮制减轻大黄蒽醌肝肾毒性的研究还不够深入。本课题组前期研究发现,大黄不同炮制品对正常动物表现出的肝肾损伤程度不同,其中熟大黄的肝肾毒性小于生大黄,炮制使大黄中的结合蒽醌转化为游离蒽醌是其降低大黄肝肾毒性的主要机制之一,且各游离蒽醌表现出的肝肾毒性也各不相同^[10,11]。药物对靶器官的保护或毒性作用与暴露量(组织浓度)有重要关系,通常组织暴露量越高,发生毒性反应的可能性和程度越大。不同大黄炮制品给药后其肝肾组织的蒽醌浓度可能不同,对不同组织的毒性差异也可能不同。而目前还没有不同大黄炮制品给药后游离蒽醌组织浓度分布差异的报道。因此本文测定了生熟大黄总提取物对SD正常大鼠灌胃给药后游离蒽醌在各组织中的分布,从组织浓度水平认识与评价大黄炮制减毒作用。

材料与方

材料与仪器 大黄药材采自甘肃礼县,经解放军第三〇二医院肖小河研究员鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根及根茎。生大黄: 以《中国药典》2005年版(一部)IIA“药材取样法”取大黄药材,除去杂质,粉碎。熟大黄: 由北京仟草

中药饮片有限公司协助完成(得率87.5%),所采用炮制方法严格参照《中国药典(2005年版)》及《北京市中药材炮制规范》。大黄总提物的制备参照马永刚等^[12]研究工艺提取制备。含量测定用大黄素(110756-200806)、大黄酚(110796-200310)、大黄酸(110757-200206)、芦荟大黄素(110795-200504)、大黄素甲醚(110758-200509)和1,8-二羟基蒽醌(0829-9702)均购自中国药品生物制品检定所,甲醇(色谱纯, Fisher US),去离子水,甲酸(分析纯,天津市化学试剂六厂)。

超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用仪(UPLC-MS/MS)(Waters Acquity, USA), Masslynx 4.1 质谱工作站; Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 固相萃取柱[OASIS MAX cartridge 3cc (60 mg), Waters, USA]。

动物 SD大鼠, SPF级, 6~8周龄, 雌雄各半, (180 ± 30) g, 中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供[SCXK-(军)2007-004]。实验动物分笼饲养于解放军第三〇二医院实验动物中心[SYXK(军)2002-00500]。

分组及给药 根据预试验,以最大给药容量(20 mL·kg⁻¹体重)和最大药物浓度(0.22 g·mL⁻¹,以总提取物计)给药(相当于生药量为14.69 g·kg⁻¹,临床最大剂量30 g/60 kg^[13]的4.9倍,按体表面积折算^[14])。将动物预养4周后随机分为生、熟大黄总提取物组和空白组共3组,每组18只,雌雄各半。以上各给药组灌胃给药20 mL·kg⁻¹体重,1次/天,6天/周,空白组给予等体积生理盐水,称重1次/周,按实际体重调整剂量,给药前大鼠禁食不禁水12 h。持续12周,16周后停止给药,自然恢复4周。分别于第16和20周末随机抽取部分动物,脱颈处死,剖腹取肝、脾、肾等组织,冰生理盐水清洗脏器组织表面血迹,滤纸吸尽水分,待精确称重及含量测定。除部分肝、

脾、肾组织器官用于病理组织形态学检查外, 其余样品均用于组织中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚浓度的测定。

不同组织中游离蒽醌的含量测定 对照品溶液的制备: 分别精密称取适量的 5 种对照品, 置于同一量瓶内, 以甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀得到含 5 种对照品各 $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液作为储备液。该储备液在 4°C 避光冷藏可稳定保存 2 个月以上。将此储备液稀释成适当浓度的溶液作为对照品工作液, 内标质量浓度为 $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。供试品溶液制备: 精密称定适量供试品, 加入适量盐酸, 甲醇 1 mL, 匀浆, 离心 ($10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 15 min)。精密吸取上清液 500 μL , 加入活化好的固相萃取小柱, 先后用 5% 氨水和甲醇 3 mL 淋洗, 再用 10% 甲酸甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液备用。色谱条件: Waters Acquity BEH C_{18} 色谱柱 ($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $1.7 \mu\text{m}$), 流速 $0.3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量 5 μL ; 柱温为 35°C ; 流动相: 甲醇-0.1% 甲酸水溶液 (70:30)。质谱电喷雾离子源 ESI, 负离子 MRM 扫描; 雾化气流速 $600 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 碰撞气流速 $0.25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 毛细管电压 3.5 kV, 离子源温度 360°C 。检测离子: $[\text{M}-\text{H}]^- m/z 269 > m/z 240$ (芦荟大黄素), $[\text{M}-\text{H}]^- m/z 283 > 211$ (大黄酸), $[\text{M}-\text{H}]^- 269 > 225$ (大黄素), $[\text{M}-\text{H}]^- m/z 253 > 225$ (大黄酚), $[\text{M}-\text{H}]^- m/z 283 > 240$ (大黄素甲醚), $[\text{M}-\text{H}]^- 239 > 211$ (内标)。5 种游离蒽醌成分的最低定量限 (LOQ) 范围为 $0.01 \sim 1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 最低检测限量 (LOD) 范围在 $0.003 \sim 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, 线性相关系数 $R^2 \geq 0.9978$; 低、中、高 3 个浓度的回收率在 $94\% \sim 107\%$; 日内和日间精

密度 RSD 值低于 10% ($n = 6$), 说明该含量测定方法稳定可靠。

数据处理 所有实验数据均依据 SAS 8.0 版统计软件处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性概率水平 $\alpha = 0.05$ 。

结果

1 大黄总提物和大鼠肝、脾和肾组织中游离蒽醌含量测定结果

生、熟大黄总提取物的出膏率分别为 29.3% 和 32.7%。总提物中的游离蒽醌 (AQs) 和结合蒽醌 (AQGs) 的含量测定结果见表 1。芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 5 种主要游离蒽醌在大鼠肝、脾、肾等组织中都能检测到。但受仪器灵敏度的限制, 本实验只对前三者进行了含量测定和分析 (表 2)。空白样品中检测不到目标成分, 没有干扰。停药 4 周后, 即第 20 周时在大鼠组织中检测不到芦荟大黄素、大黄酸和大黄素等成分, 说明体内可能没有蓄积。

2 芦荟大黄素在大鼠组织中的分布

芦荟大黄素在组织中的分布浓度较低, 明显低于大黄酸; 芦荟大黄素在生大黄组大鼠组织中的分布浓度均高于熟大黄组同一组织中的分布浓度; 芦荟大黄素在生大黄和熟大黄组脾组织中的分布浓度均高于肝 ($P < 0.05$) 和肾组织 (表 2)。

3 大黄素在大鼠组织中的分布

大黄素在生大黄组大鼠肝、脾组织中的分布浓度高于熟大黄组动物 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, 表 2)。

Table 1 Contents of anthraquinone derivatives and their glycosides in total extract. AQs: Anthraquinone derivatives; AQGs: Anthraquinone glycosides

Sample		Aloe-emodin/%	Rhein/%	Emodin/%	Chrysophanol/%	Physcion/%
Raw	AQs	0.204 ± 0.001	0.267 ± 0.001	0.954 ± 0.001	0.329 ± 0.001	0.455 ± 0.002
	AQGs	0.364 ± 0.002	0.168 ± 0.001	0.467 ± 0.003	0.108 ± 0.001	0.443 ± 0.003
Steamed	AQs	0.451 ± 0.001	0.301 ± 0.002	1.272 ± 0.001	0.339 ± 0.001	0.642 ± 0.001
	AQGs	0.206 ± 0.002	0.107 ± 0.003	0.203 ± 0.002	0.187 ± 0.001	0.235 ± 0.003

Table 2 Contents of anthraquinone derivatives in tissues of rat administrated orally for 12 weeks. ** $P < 0.01$ vs Rhein; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs Raw rhubarb

Animal group	Tissue	Aloe-emodin / $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$	Rhein / $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$	Emodin / $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$
Raw	Liver	$64.96 \pm 17.49^{**}$	123.67 ± 32.30	177.96 ± 84.15
	Kidney	$56.28 \pm 38.45^{**}$	456.74 ± 212.51	85.07 ± 44.77
	Spleen	$111.08 \pm 71.01^{**}$	771.79 ± 430.00	181.04 ± 84.78
Steamed	Liver	$31.45 \pm 8.82^{**\blacktriangle}$	$71.78 \pm 14.75^{\blacktriangle}$	$94.43 \pm 17.33^{\blacktriangle\blacktriangle}$
	Kidney	$51.40 \pm 24.88^{**}$	$248.18 \pm 85.57^{\blacktriangle\blacktriangle}$	85.99 ± 41.69
	Spleen	$96.56 \pm 25.15^{**}$	$133.13 \pm 32.44^{\blacktriangle\blacktriangle}$	$92.01 \pm 3.47^{\blacktriangle}$

Table 3 Statistical table of tissue distribution of rhein. Liver-s, spleen-s, and kidney-s for steamed rhubarb; liver-r, spleen-r and kidney-r for raw rhubarb

Animal group	Tissue	Liver-s	Spleen-s	Kidney-s	Liver-r	Spleen-r
Steamed	Liver-s					
	Spleen-s	0.705 8				
	Kidney-s	0.161 2	0.401 9			
Raw	Liver-r	0.668 5	0.950 7	0.253 1		
	Spleen-r	0.000 1	0.001 3	0.004 2	0.000 1	
	Kidney-r	<0.000 1	0.022 7	0.001 5	0.005 9	0.026 7

4 大黄酸在大鼠组织中的分布

大黄酸在生大黄组大鼠脾和肾组织中的分布浓度明显高于熟大黄组动物 ($P < 0.01$), 生大黄组大鼠肝组织中的分布也高于熟大黄组动物 ($P < 0.05$, 表 2)。从表 3 可见大黄酸在生大黄组大鼠肝和脾 ($P < 0.001$)、肝和肾 ($P < 0.01$) 及脾和肾 ($P < 0.05$) 组织中的分布有显著性差异; 而大黄酸在熟大黄组大鼠组织间的分布没有显著性差异, 提示炮制对大黄酸在大鼠组织中的分布有显著影响。

讨论

本文对生熟大黄总提取物经 SD 正常大鼠灌胃给药后游离蒽醌在组织中的分布差异进行了研究, 结果发现自然恢复 4 周后, 即第 20 周时在大鼠组织中检测不到芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚等成分, 提示大黄蒽醌无组织蓄积, 推测其没有蓄积毒性。

目前有关大黄酸毒性作用的研究主要集中在肝和肾, 而在本实验中发现大黄酸在脾组织中的分布浓度较高 (表 2)。大黄酸在脾组织中分布浓度较高的原因及其脾毒性有待进一步深入研究。

组织分布结果表明游离蒽醌在同一组织中的分布顺序大致为: 大黄酸 > 大黄素 > 芦荟大黄素 (表 2), 其中大黄酸在肝、脾和肾组织中的分布浓度明显高于芦荟大黄素 ($P < 0.01$), 在脾和肾组织中分布浓度高于大黄素。文献^[15-17]表明无论大鼠的灌胃样品是大黄游离蒽醌提取物还是大黄结合蒽醌提取物, 大鼠血清中化学成分是相似的, 即以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素游离蒽醌为主, 其中大黄酸含量最高, 其他蒽醌类成分含量较低, 这与本实验大黄酸在组织中的分布浓度较高的结果基本一致。另外机体对大黄酸的吸收能力较强^[17, 18], 大黄酸的清除半衰期长、清除率低^[19], 大黄酸及其代谢产物较易经肠肝循环再吸收^[17, 20], 芦荟大黄素、大黄素在体内能被氧化为大黄

酸^[21, 22]等原因也可能导致大黄酸在组织中的分布浓度较高。大黄素是大黄中含量较高的蒽醌单体, 长期以来被认为可能是大黄主要的毒性作用物质之一^[2, 5]。但是大黄游离蒽醌的体外实验发现其对 HK-2 和 HepG2 细胞毒性大小顺序为: 大黄酸 > 大黄素 > 芦荟大黄素^[3]。通常药物的毒性与剂量呈正相关, 因此推测大黄酸可能是大黄主要的肝肾毒性作用物质, 在大黄的肝肾毒性研究中, 大黄酸应该引起特别的注意。

本文含量测定结果显示游离蒽醌在熟大黄组动物组织中的分布浓度普遍低于生大黄组。而靶器官中成分暴露量与组织毒性通常呈正相关, 从理论上推测熟大黄的组织毒性可能低于生大黄, 此结果与文献^[10, 11]报道一致。目前普遍认为炮制使大黄中的结合蒽醌转化为游离蒽醌是其降低大黄肝肾毒性的主要机制之一, 本实验中总提取物蒽醌含量测定的结果也如此, 即熟大黄总提取物中游离蒽醌的含量高于结合蒽醌, 且总蒽醌的含量二者之间没有明显区别 (表 1)。因此, 如果只从含量角度来看, 熟大黄组大鼠组织中游离蒽醌的含量应高于生大黄组, 但本实验结果却与此相反, 生大黄组大鼠组织中游离蒽醌的含量却高于熟大黄组。提示中药炮制机制可能不仅仅是影响有效成分的含量, 炮制可能进一步影响成分的组成, 因此影响了在吸收和作用过程中成分之间的相互作用, 通过影响不同成分的吸收代谢和吸收代谢机制, 使不同成分在组织中的分布浓度不同, 表现出肝肾毒性差异不同。本课题组在前期研究中发现炮制减毒作用与结合蒽醌和鞣质类成分的下降均有关^[10]。有资料显示, 鞣质能和四环素类抗生素、氨基比林、维生素 B1 和铁剂形成难溶性复合物从而影响药物成分的吸收^[23]。因此, 在炮制过程中鞣质的变化是否影响了蒽醌类成分在体内的药代动力学过程, 其机制有待进一步深入研究, 从而为中药炮制减毒提供新的依据。

References

- [1] Xu X, Li BP, Zhang HF. Advancement of the study on rhubarb [J]. Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志), 2003, 37: 56–59.
- [2] National Toxicology Program (NTP). Toxicology and carcinogenesis studies of emodin (CAS NO: 1518-82-1) feed studies in F344/N rats and B6C3F1 mice [J]. Natl Toxicol Program Tech Rep, 2001, 493: 1–278.
- [3] Wang QX, Wu CQ, Liao MY. The study on toxicology of rhubarb and its fundamental ingredients [J]. J Toxicology (毒理学杂志), 2007, 21: 301–302.
- [4] Xu Y. Clinical analysis of 30 cases of herbal drug-induced liver injury [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med (现代中西医结合杂志), 2005, 14: 600–601.
- [5] Wang QX, Wu CQ, Yang HL, et al. Cytotoxicity of free anthraquinone from *Radix et Rhizoma Rhei* to HK-2 cells [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2007, 16: 189–192.
- [6] Wang M, Lv B, Fan YH, et al. Effects of stimulant laxatives on intestinal transit function of rats [J]. Zhejiang Med J (浙江医学), 2005, 27: 261–262.
- [7] Zhu YM. Purgative of anthraquinone and melanosis [J]. Chin J Digest (中华消化杂志), 2004, 24: 314–315.
- [8] Zhu ST, Lei P, Li XZ, et al. Comparative study on laxative and hemostasis of different processed materials of the radix of *Rheum palmatum* L [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2008, 31: 199–201.
- [9] Zhong HJ. The clinical application of the processed rhubarb and the processing methods [J]. Lishizhen Med Mat Med Res (时珍国医国药), 2004, 15: 409.
- [10] Wang JB, Ma YG, Zhang P. Effect of processing on the chemical contents and hepatic and renal toxicity of rhubarb studied by canonical correlation analysis [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2009, 44: 885–890.
- [11] Wang JB, Ma YG, Jin C. Study toxicity-attenuating effect and dose-toxicity relationship of rhubarb by processing based on correspondence analysis [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 34: 2498–2502.
- [12] Sun YQ, Xiao XH, Ma YG, et al. Study on dynamic variation patterns of anthraquinones of *Radix et Rhiroma Rhei* at different decoction times [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药学报), 2006, 22: 281.
- [13] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2005 ed. Part I. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 17–18.
- [14] Chen Q. Methodology Research on the Pharmacology of Traditional Chinese Medicine (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001: 1167–1170.
- [15] Fuchikami H, Satoh H, Tsujimoto M, et al. Effects of herbal extracts on the function of human organ icanion-transporting poly-peptide OATP-B [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34: 577–582.
- [16] Deng C, Wu Y, Meng XL, et al. Endotoxin components of *Radix et Rizoma Rhei* [J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2008, 24: 31–33.
- [17] Ma YM, Zhao Y, Xie H. Pharmacokinetics of anthraquinones in rats after intragastric gavage of Taohechengqi decoction [J]. Chin Pharm Bull (中国药理学通报), 2005, 21: 1267–1270.
- [18] Zhu W, Zhang L, Wang MX, et al. The pharmacokinetics of rhein in 12 healthy volunteers after oral administration of rhubarb extract [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30: 1458–1461.
- [19] Han GZ. Drug Metabolism and Pharmacokinetics of Chinese Herbal Medicine (中草药药代动力学) [M]. Beijing: Chinese Medicine Science and Technology Press, 1999: 627.
- [20] Bachmann M, Schlatter C. Metabolism of [¹⁴C] emodin in the rat [J]. Xenobiotia, 1981, 11: 217–220.
- [21] Krumbiegel G, Schulz HU. Rhein and aloe-emodin kinetics from senna laxatives in man [J]. Pharmacology, 1993, 47 (suppl 1): 120.
- [22] Sun Y, Shu Q, Chen QH. Excretion of emodin and its metabolites in mice [J]. J Nanjing Coll Pharm (南京药学院学报), 1986, 17: 132–135.
- [23] Tang GW. A brief introduction on combination of Chinese and west medicine in gastrointestinal tract [J]. Shizhen J TCM Res (时珍国药研究), 1996, 7: 76–77.