

## 中药效应近红外谱的构建及应用——以大黄配方颗粒为例

张萍<sup>1\*</sup>, 牛明<sup>1</sup>, 谭鹏<sup>2,3</sup>, 韩延忠<sup>1,3</sup>, 张定堃<sup>3</sup>, 孙磊<sup>4</sup>, 房吉祥<sup>1</sup>,  
崔园园<sup>1</sup>, 马艳芹<sup>1</sup>, 马双成<sup>4</sup>, 周永峰<sup>1\*</sup>

(1. 中国人民解放军总医院第五医学中心, 全军中医药研究所, 北京 100039; 2. 四川省中医药科学院国家中医药管理局中药质量生物评价重点实验室, 四川成都 610041; 3. 成都中医药大学药学院, 四川成都 611137; 4. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** 中药配方颗粒的质量一致性是保障其临床疗效稳定性的重要因素。本研究以大黄配方颗粒为示例, 结合近红外光谱和生物活性效价探索构建中药效应近红外谱。建立大黄配方颗粒的近红外检测方法, 并采集不同批次的近红外光谱信息; 基于复方地芬诺酯片致小鼠便秘模型测定不同批次大黄配方颗粒致泻生物效价 (动物实验经中国人民解放军第三〇二医院动物福利伦理委员会批准, 批准号: IACUC-2019-0010); 采用超高效液相色谱法同时测定大黄配方颗粒中芦荟大黄素等 10 种蒽醌类化学成分的含量。对近红外光谱和生物活性效价进行相关性分析, 初步筛选出与活性高度相关的 5 个特征波段: 4 011~4 390  $\text{cm}^{-1}$ 、4 859~5 461  $\text{cm}^{-1}$ 、7 012~7 493  $\text{cm}^{-1}$ 、10 992~11 312  $\text{cm}^{-1}$ 、11 871~12 489  $\text{cm}^{-1}$ 。本研究筛选发现的基于近红外光谱的活性波段可实现大黄配方颗粒质量波动的快速、在线检测, 提高大黄配方颗粒的质量可控性。本文的研究模式对中药配方颗粒的质量控制亦具有一定的参考价值。

**关键词:** 大黄配方颗粒; 近红外; 生物效价; 效应近红外谱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)12-2162-07

## Construction and application of effect-related near-infrared spectroscopy for traditional Chinese medicines — Exemplification by rhubarb dispensing granules

ZHANG Ping<sup>1\*</sup>, NIU Ming<sup>1</sup>, TAN Peng<sup>2,3</sup>, HAN Yan-zhong<sup>1,3</sup>, ZHANG Ding-kun<sup>3</sup>, SUN Lei<sup>4</sup>,  
FANG Ji-xiang<sup>1</sup>, CUI Yuan-yuan<sup>1</sup>, MA Yan-qin<sup>1</sup>, MA Shuang-cheng<sup>4</sup>, ZHOU Yong-feng<sup>1\*</sup>

(1. The Fifth Medical Center of PLA General Hospital, China Military Institute of Chinese Medicine, Beijing 100039, China; 2. Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory of Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610041, China; 3. Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Consistency in quality of traditional Chinese medicine granules is an important factor to ensure reproducible clinical efficacy. In this study rhubarb dispensing granules were utilized to construct an efficacious near-infrared spectroscopy (eNIRS) assay by combining NIRS and biopotency. A NIR method for assaying rhubarb dispensing particles was established, and information on different batches was collected. The diarrhea-inducing biopotency of rhubarb dispensing granules was determined based on a constipation model induced by diphenoxylate

收稿日期: 2019-08-22; 修回日期: 2019-09-14.

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1707000); 首都卫生发展科研专项 (首发 2018-2-5031); 成都市科技局技术创新研发项目 (2016-HM01-00312-SF).

\*通讯作者 Tel: 86-10-66933325, E-mail: zhp1231@126.com;

Tel: 86-10-66933227, E-mail: 852064509@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0661

in mice. The animal protocol was approved by the Animal Ethic Committee of 302 Hospital of Chinese PLA People's Liberation Army (ID: IACUC-2019-0010). Ten anthraquinones were determined in rhubarb dispensing granules by UPLC. The correlation between NIR and biopotency was analyzed and five characteristic bands that correlated highly with bioactivity were identified, including 4 011–4 390, 4 859–5 461, 7 012–7 493, 10 992–11 312 and 11 871–12 489  $\text{cm}^{-1}$ . There were some differences in the main bands of different chemical constituents. In summary, five active bands based on NIRS were identified and found to be able to achieve rapid on-line detection of rhubarb dispensing granule quality. This research model may also provide reference for quality control of other Chinese medicine dispensing granules.

**Key words:** rhubarb dispensing granule; near-infrared spectroscopy; biopotency; efficacious near-infrared spectroscopy

中药配方颗粒是中药现代化的一种重要形式,具有服用方便、便于携带、剂量准确等特点<sup>[1,2]</sup>。中药配方颗粒以传统中药饮片为原料,经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒等多道工序生产加工而成<sup>[3-5]</sup>。随着现代加工技术设备的快速发展,配方颗粒因其投料比大而显著的降低了因中药饮片产地不同、批次不同甚至基原不同导致的化学指标性成分的差异,具有较高的一致性。然而,配方颗粒由于原料药材的质量波动以及生产工艺等因素依然导致不同批次配方颗粒间产生差异性。现行配方颗粒的质量控制为结果控制,主要通过检测配方颗粒最终产品的指标性成分含量来判断其质量<sup>[6,7]</sup>。然而,当配方颗粒的化学含量发生变化时,却无法确定是由于原料药材的问题还是生产工艺的问题,此外,这种变化对其活性有无影响也无法确定。

近年来,近红外光谱(NIR)技术作为一种新兴的检测技术备受青睐,其应用已涉及食品、药品等多个行业领域<sup>[8-10]</sup>。相较于传统方法,NIR具有无需处理样品、快速、无损等特点,可用于定性分析、定量分析及生产过程中的在线监测等方面<sup>[11]</sup>。然而,NIR技术也存在其固有的局限性,与化学含量测定相类似,NIR技术仅能够反应出样品加工过程中的波动性,而无法准确判断这种波动是否会影响其活性。

为了寻求解决中药配方颗粒一致性评价的新方法,根据现行中药质量控制管理模式的现状和问题,本研究以大黄配方颗粒为示例,整合近红外光谱技术和生物效价,提出构建中药效应近红外谱(efficacious near-infrared spectroscopy, eNIRS),筛选关联功效的近红外特征波段,为中药配方颗粒的过程控制提供一定的参考依据。

## 材料与amp;方法

**仪器** Waters Acquity UPLC<sup>®</sup> H-Class超高效液相色谱仪; PDA Detector检测器; TUV Detector检测器,

Empower 2 色谱工作站; XS-205 电子天平和 AL-204 电子天平 (Mettler Toledo, Switzerland), 超声仪 (南京新辰生物科技有限公司, 500 W, 40 kHz), Milli-Q 超纯水制备系统 (Millipore, USA); 傅里叶近红外分析仪 (MPA Bruker, Germany) 配有透射采样系统、Result 操作软件。

**动物** 昆明种雄性小鼠, SPF 级, 体重 18~22 g, 动物许可证号: SCXK (京) 2018-0010, 由北京科宇动物养殖中心提供。动物实验过程经中国人民解放军第三〇二医院动物福利伦理委员会批准 (批准号: IACUC-2019-0010)。

**药物与试剂** 芦荟大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (No. 17103003), 大黄酸-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (No. 17101705), 大黄酚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (No. 17111303), 大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (No. 18080601), 大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (No. 17092502), 芦荟大黄素 (No. 18032708), 大黄酸 (No. 18010901), 大黄素 (No. 18022605), 大黄酚 (No. 18011903) 以及大黄素甲醚 (No. 18012301) 等对照品均由成都普菲德生物科技有限公司提供, 以上对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。色谱级甲醇、色谱级磷酸 (85%, Thermo Fisher Scientific, USA), ACS 级 Dimethyl sulfoxide (DMSO, AMRESCO)。23 个不同批次的大黄配方颗粒分别来源于 8 个不同的厂家。

**大黄配方颗粒近红外光谱采集** 取样品, 粉碎, 过 80 目药典标准筛, 统一装入 50 mL 样品杯, 堆积紧密, 采集光谱。采样方式: 光谱扫描范围 12 500~3 500  $\text{cm}^{-1}$ , 样品厚度约 1 cm, 分辨率 8  $\text{cm}^{-1}$ , 以空气为空白, 扫描 32 次, 每个样品重复 5 次, 求平均光谱。

### 大黄配方颗粒多成分含量测定<sup>[12]</sup>

**色谱条件** Waters BEH C18 色谱柱 (2.1 mm $\times$  100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 以甲醇和 0.1% (v/v) 磷酸水溶液的混合溶液为流动相, 梯度洗脱程序为 0.00~5.00 min, 39%~42% 甲醇, 5.01~7.00 min, 42%~51% 甲醇, 7.01~12.00 min, 51%~56% 甲醇, 12.01~15.00 min, 56%~

70% 甲醇, 15.01~17.00 min, 70%~77% 甲醇, 17.01~21.00 min, 77%~78% 甲醇, 21.01~25.00 min, 78%~88% 甲醇; 体积流量为  $0.20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长为 410 nm, 进样量为  $2 \mu\text{L}$ , 柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 柱平衡时间为 5 min; 理论塔板数以大黄素峰计算不得低于 7 000。

**对照品溶液的制备** 精密称取芦荟大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷等 10 个对照品适量, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 先用 DMSO 4.0 mL 溶解, 再用色谱级甲醇稀释至刻度, 配制成浓度为  $7.00 \sim 35.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  储存备用。

**供试品溶液的制备** 准确称取大黄配方颗粒细粉(过四号筛) 0.50 g, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 精密加入甲醇 30 mL, 称定重量, 超声处理 60 min, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用  $0.22 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

**大黄配方颗粒泻下生物效价的测定**<sup>[12,13]</sup> 昆明种雄性小鼠 170 只, 体重 ( $20 \pm 2$ ) g, 分为 17 组, 每组 10 只, 实验前禁食不禁水。其中第 1 组作为正常组, 不给予任何造模和给药; 第 2 组作为模型对照组, 仅仅给与复方地酚诺酯片造成便秘模型; 第 3 组作为阳性对照组, 给与复方地酚诺酯片混悬液造成便秘模型, 再给与酚酞片水溶液灌胃<sup>[13]</sup>; 其余 14 组分别对应 14 批次配方颗粒水溶液 ( $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 给药。先用复方地酚诺酯片混悬液(剂量  $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 灌胃进行造模, 造模 1 h 后灌胃给药, 给药量  $0.4 \text{ mL}/\text{只}$ , 给药后禁食不禁水, 12 h 后收集粪便质量, 置于干燥洁净 EP 管内, 准确称定质量, 计算致泻效价。

#### 数据统计分析

**近红外光谱数据预处理** 采用 OPUS 5.5 软件对各批次配方颗粒近红外光谱进行一阶导数方法预处理, 并导出近红外光谱点数据。

**相关性分析** 用 Metaboanalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 在线数据分析软件对大黄配方颗粒的近红外光谱数据、化学成分含量以及生物活性效价

进行相关性分析, 用 Origin 软件对近红外波段下面积及生物效价进行相关性分析。

**主成分分析** 采用 SIMCA 13.0 对 14 批配方颗粒近红外光谱预处理后的数据进行主成分分析。

## 结果

### 1 近红外光谱结果及预处理

本研究将测得的近红外光谱数据导入 OPUS 5.5 软件中获得 14 批大黄配方颗粒样品的近红外光谱图(图 1A)。鉴于近红外光谱可能受到光照、样品厚度、基线漂移等因素的影响而产生偏差, 因此在分析数据之前需要对其进行预处理。本研究采用导数法对数据进行预处理, 将所有测得的近红外光谱分别采用一阶导数预处理方法进行预处理(图 1B)。

### 2 化学成分含量测定

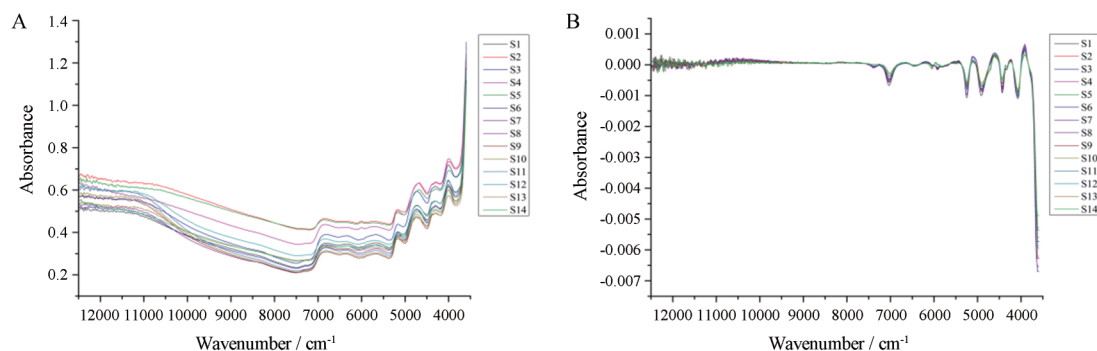
不同批次的大黄配方颗粒中 10 种蒽醌类化学成分的含量测定结果如图 2 所示。结果表明不同批次大黄配方颗粒的化学成分之间具有显著的差异性。如 S1~S3 批次大黄配方颗粒其芦荟大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷的成分含量较高, 而 S4-S8 样品中大黄酚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷以及大黄酸等成分的含量较高(图 2C)。

### 3 泻下效价测定

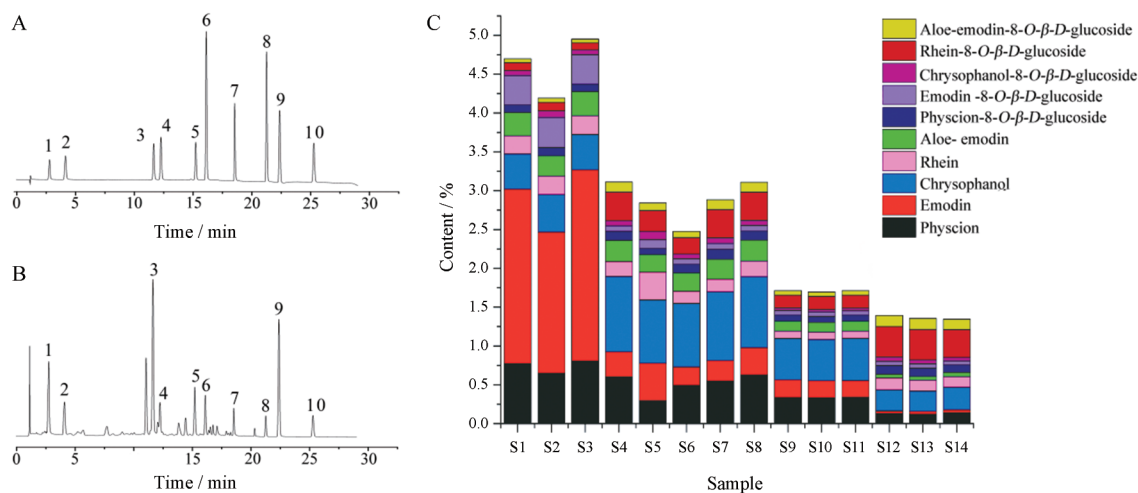
不同批次大黄配方颗粒的泻下效价测定结果如图 3 所示。结果表明不同批次配方颗粒的泻下效价具有差异性, 其中 S1~S3 批次颗粒的泻下效价较高, 可能主要是由于该批次配方颗粒的当量(当量指的是每克的配方颗粒相当于临床使用的饮片量)较高, 而其他不同批次的大黄配方颗粒当量接近, 其效价也无显著性差异。

### 4 基于近红外光谱与生物效价相关分析的活性波段筛选及验证

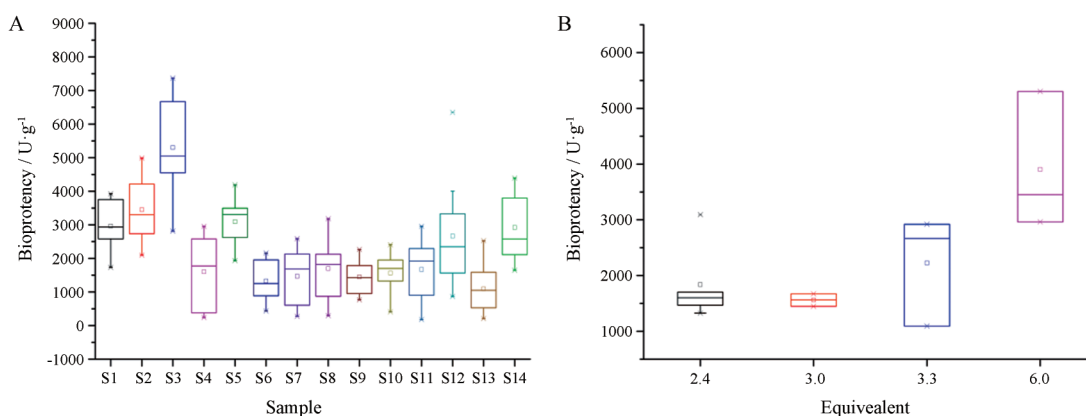
对 14 个批次大黄配方颗粒的近红外光谱数据和泻下效价进行 Person 相关分析, 筛选出与大黄配方颗



**Figure 1** Near-infrared spectra of different batches samples of Dahuang formula granules. A: Near-infrared spectroscopy of 14 samples; B: Near-infrared spectroscopy of 14 samples after first derivative



**Figure 2** Typical UPLC chromatograms and contents of chemical components in Dahuang from different manufacturers. A: Reference solution; B: Sample solution; C: The results of chemical components. 1: Aloe-emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; 2: Rhein-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; 3: Chrysophanol-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; 4: Emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; 5: Physcion-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside; 6: Aloe-emodin; 7: Rhein; 8: Chrysophanol; 9: Emodin; 10: Physcion

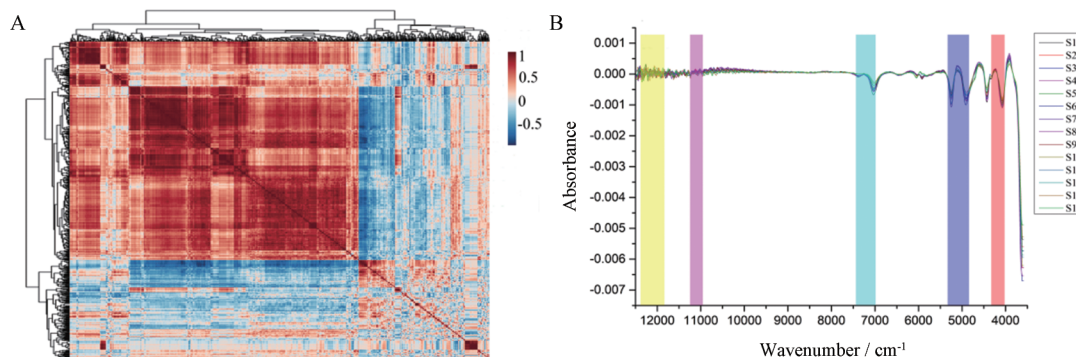


**Figure 3** The cathartic biological potency determination results of samples

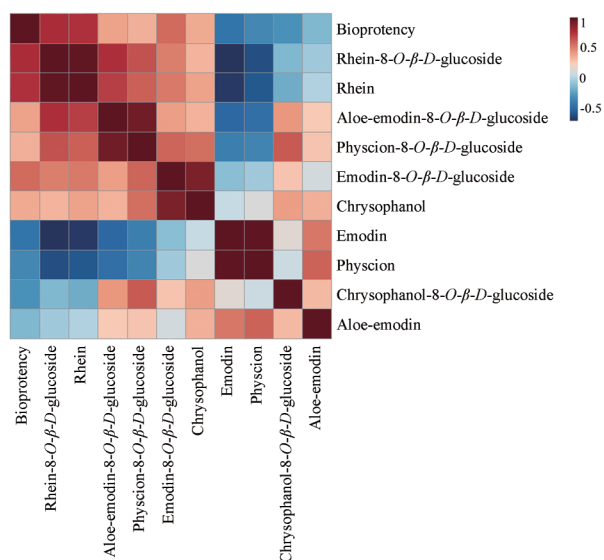
粒泻下效价相关性最高的波段 (相关系数 $\geq 0.6$ ) (图 4A), 结果共计筛选出 4 011~4 390、4 859~5 461、7 012~7 493、10 992~11 312、11 871~12 489  $\text{cm}^{-1}$  等主要活性相关波段 (图 4B)。

## 5 基于化学成分与生物效价的相关分析的活性成分物质基础初探

对 14 个批次大黄配方颗粒的化学成分含量和泻下效价进行 Person 相关分析, 结果如图 5 所示。结果



**Figure 4** Screening and verification of NIR active band. A: The result of person correlation analysis between NIS and the bio-thermal activity; B: The results of active band screening

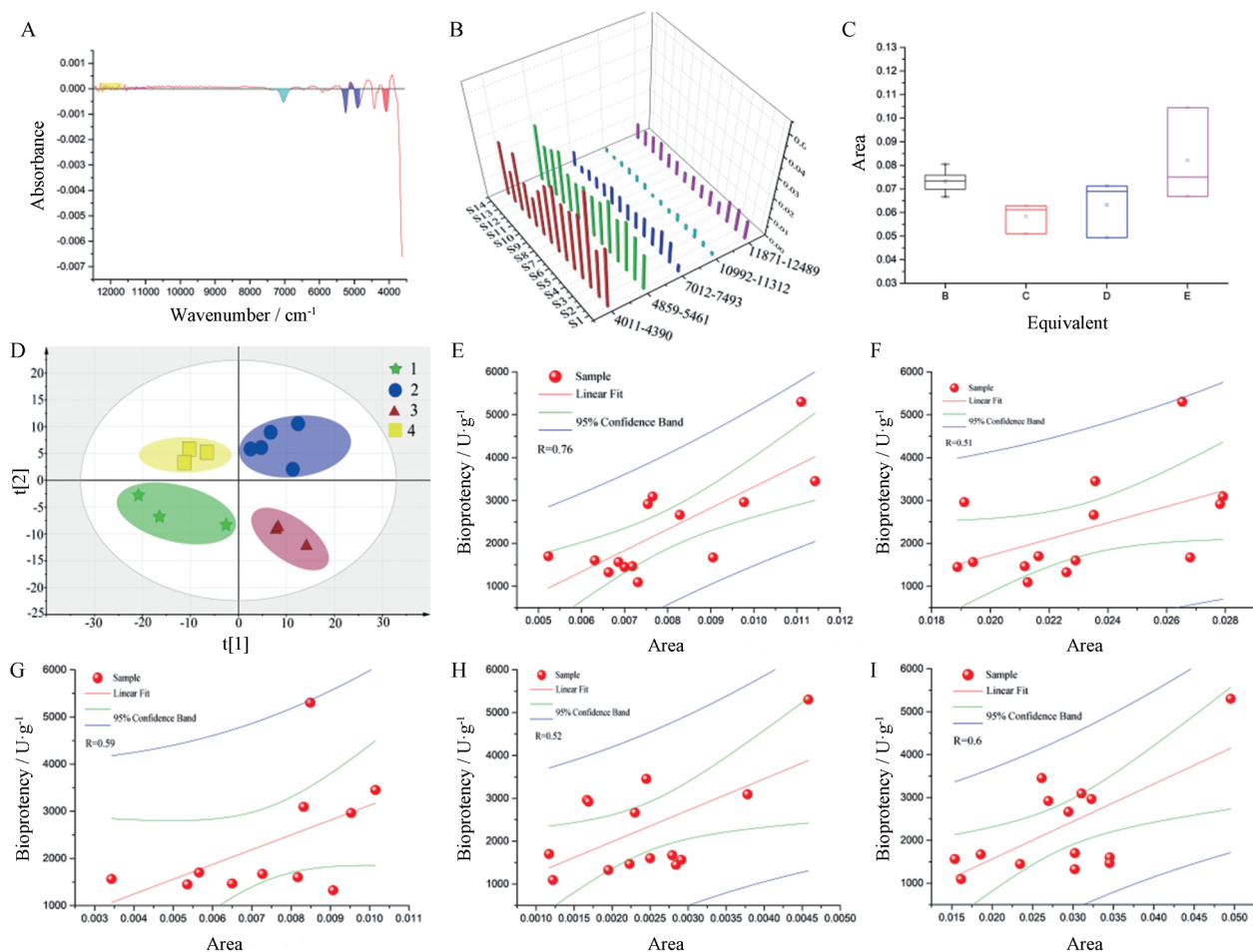


**Figure 5** The result of person correlation analysis between chemical and the bio-thermal activity

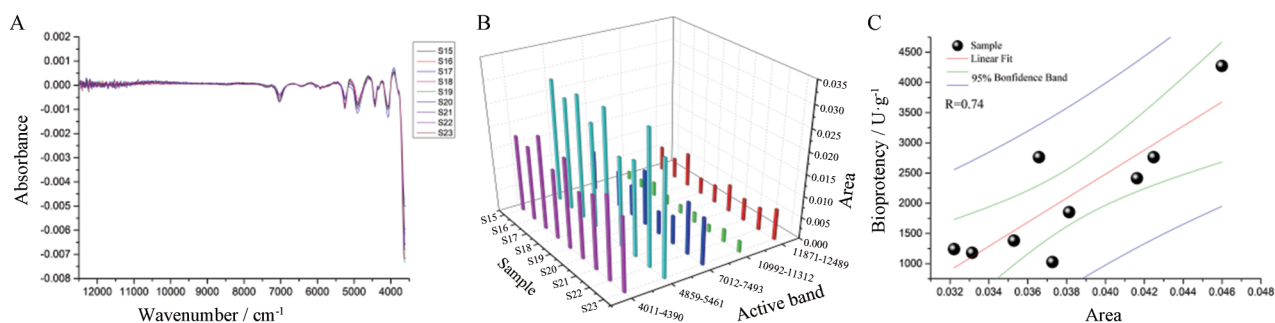
表明,部分化学成分与其泻下效价相关性之间具有显著的相关性,其中,大黄酸、大黄酸-8-O-β-D-葡萄糖苷以及大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷与其泻下效价具有显著的相关性,可能是其泻下活性的主要活性成分。

### 6 大黄配方颗粒效应近红外谱的构建及应用

基于所筛选出的近红外活性波段,计算该波段下的面积,以不同波段的面积为主要指标,构建效应近红外谱,结果如图所示。结果表明不同批次配方颗粒的效应近红外谱存在一定的差异性(图6A和6B)。将效应近红外谱用于不同当量的配方颗粒评价,结果表明所建立的效应近红外谱能够显著的区分不同当量的配方颗粒(图6C)。对不同厂家配方颗粒的效应近红外谱进行PCA分析,结果表明效应近红外谱能够将不同的厂家良好的区分开(图6D)。进一步考察了大黄配方颗粒的近红外不同活性波段与其泻下效价的相关性,结果发现所筛选出的近红外波段与泻下效价均具



**Figure 6** Construction and application of efficacious near-infrared spectroscopy. A: Area of active band; B: The efficacious near-infrared spectroscopy; C: The relation between the peak area and equivalent in the effective band; D: The result of PCA analysis; E: The correlation between the area of 4 011–4 390  $\text{cm}^{-1}$  and bioprotency; F: The correlation between the area of 4 850–5 461  $\text{cm}^{-1}$  and bioprotency; G: The correlation between the area of 7 012–7 493  $\text{cm}^{-1}$  and bioprotency; H: The correlation between the area of 10 992–11 312  $\text{cm}^{-1}$  and bioprotency; I: The correlation between the area of 11 871–12 489  $\text{cm}^{-1}$  and bioprotency



**Figure 7** The verification results of eNIS. A: Near-infrared spectroscopy of samples after first derivative; B: The efficacious near-infrared spectroscopy; C: The relation between the area and equivalent in the effective band

有显著的相关性(图6E~6I)。

### 7 大黄配方颗粒效应近红外谱的验证

为进一步验证大黄配方颗粒效应近红外谱的科学性,另取9批不同于上述批次的大黄配方颗粒样品,采集其近红外光谱信息以及测定泻下生物效价,计算大黄配方颗粒在上述活性波段下的面积,建立效应近红外谱(图7A和7B),并评价效应近红外谱在不同批次大黄配方颗粒中的应用情况(图7C)。结果表明,大黄配方颗粒的效应近红外谱与其泻下效价具有显著的相关性,能够较为准确的反映不同批次配方颗粒的效价高低情况。

### 讨论

随着现今中药配方颗粒品种的丰富、社会认可度的提升,配方颗粒在临床调剂中使用比例愈加提高,已经成为中药临床使用的重要形式,代表着中药饮片未来的发展方向。特别是,国家食药总局于2016年3月1日发布《中药配方颗粒管理办法(征求意见稿)》公告,结束向社会公开征求意见,并向行业开放中药配方颗粒生产,可以预见众多药企将涌入这一蓝海,促进配方颗粒产业的发展;但是虽经过多年试点,行业尚未形成统一的标准,各厂家产品质控的方法标准均不太一致,其必将导致市场局面的混乱,进一步增加了质量监管的难度。因此,如何能够保证中药配方颗粒的一致性则显得至关重要。

现行的中药配方颗粒的质量一致性评价方法主要包括化学评价以及生物评价等方法。然而,这些评价方法均具有一定的局限性:化学评价方法多为通过检测个别性指标成分的含量以及化学指纹图谱等方法来评价中药质量的一致性,但是这种方法却无法全面反映其整体质量波动,与其临床疗效更缺乏关联性;生物评价虽然能够关联其临床功效,能够较好的反映出其临床功效的差异性,但其主要采用动物、细胞等体内外实验方法完成,实验过程复杂,对于企业而言,可操作

性较差,难以应用。

本研究以大黄配方颗粒为示例,整合近红外光谱法以及生物评价两种评价方法,提出构建中药配方颗粒效应近红外谱。效应近红外谱的建立主要包括两个步骤:建立配方颗粒近红外光谱测定方法和生物活性测定方法,基于谱效相关进一步筛选关联功效的近红外特征波段,最后验证所筛选出活性波段的科学性。在本研究中初步筛选出与大黄配方颗粒泻下活性高度相关的5个特征波段:4 011~4 390、4 859~5 461、7 012~7 493、10 992~11 312以及11 871~12 489 cm<sup>-1</sup>,进一步对所筛选出的活性波段进行验证,结果表明能够有效地将不同当量的配方颗粒区分开,表明该方法具有一定的可行性。此外,课题组在前期研究中发现大黄根据其化学成分的差异性可分为大黄酸型和大黄酚型两种化学型,并且大黄酸型泻下效价显著高于大黄酚型,本研究也进一步佐证了这个研究结果<sup>[14,15]</sup>。效应近红外谱的提出和建立不仅可为中药配方颗粒的过程控制提供一定的参考,也可以为近红外光谱在食品、药品等领域的快速检测提供一定的借鉴。

### References

- [1] Zhao MG. Advances in the research of traditional Chinese medicine formula granules [J]. J China Prescr Drug (中国处方药), 2019, 17: 31-32.
- [2] Li X, Jia XB, Chen Y, et al. Study on the standardization of the technology of *Schisandra chinensis* formula granules [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31: 2078-2079.
- [3] Zhang H, Wang JN, Chen Y, et al. Application of chemometrics in preparation technology and quality evaluation of traditional Chinese medicine formulated granules [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2019, 42: 474-478.
- [4] Li R, Zhai HQ, Tian WL, et al. Comparative analysis between origin of cooked traditional Chinese medicine powder and modern formula granules [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 965-969.

- [5] Ma LS. Advances in the research of traditional Chinese medicine formula granules [J]. Guide China Med (中国医药指南), 2013, 11: 81-82.
- [6] He J, Zhu XJ, Yang PR, et al. Current situation and new ideas on future trends of Chinese materia medica granules for prescriptions [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 4717-4725.
- [7] Sun YY, Shi P. Countermeasures for promoting internationalization of Chinese materia medica by virtue of formula granule [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2013, 44: 929-934.
- [8] Ding GY, Wang YH, Liu AN, et al. From chemical markers to quality markers: an integrated approach of UPLC/Q-TOF, NIRS, and chemometrics for the quality assessment of honeysuckle buds [J]. RSC Adv, 2017, 7: 22034-22044.
- [9] Bai G, Hou YY, Ding GY, et al. A smart near-infrared spectroscopy evaluation system for quality management of Chinese medicinal materials based on quality markers [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 197-203.
- [10] Di TY, Gao XJ, Zhang X, et al. Comparative identification studies on wild and cultivated *Glycyrrhiza uralensis* produced Ningxia based on index components and near-infrared spectroscopy [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 536-541.
- [11] Roggo Y, Chalou P, Maurer L, et al. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44: 683-700.
- [12] Tan P, Zhang HZ, Zhang DK, et al. Quality evaluation of rhubarb dispensing granules based on multi-component simultaneous quantitative analysis and bioassay [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 2683-2690.
- [13] Zhang CE. Study on the Syndrome (Disease)-Dosage Relationship of Traditional Chinese Medicines: an Instantiation Using Rhubarb (中药证(病)-量关系研究—以大黄为例) [D]. Chengdu: Chengdu University of traditional Chinese Medicine, 2017.
- [14] Zhang XR, Wang JB, Xiao XH, et al. Antimicrobial activity and chemical differences between the two chemotypes of rhubarbs [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2010, 45: 1144-1148.
- [15] Wang JB, Zhang XR, Xiao XH, et al. Rationality of commercial specification of rhubarb based on chemical analysis [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2010, 35: 470-476.