

HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap 分析芪归银方中 黄酮成分体内代谢过程

于小杰^{1,2}, 岳贵娟¹, 薛梦¹, 张娇¹, 刘明玉¹,
梁莉靖¹, 刘湑¹, 马群¹

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 秦皇岛市第一医院药学部, 河北 秦皇岛 066000)

摘要:为进一步明确芪归银方的药效物质基础, 采用 HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap 技术对大鼠灌胃芪归银方后血清中黄酮类活性成分进行表征, 并通过鉴别其尿液及粪便中的代谢物对结果进行佐证。从含药血清中鉴定出 8 个黄酮类化合物, 其中, 芹菜素-6,8-二葡萄糖苷和芹菜素以原型入血, 芒柄花素、木犀草素、毛蕊异黄酮、5,7,4'-三羟基黄酮醇-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷、山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷等 6 个化合物以 II 相代谢产物入血; 从尿液中鉴定出 9 个黄酮类成分, 包括 6 个入血成分的相应代谢产物; 从粪便中检出 3 个黄酮类化合物的原型形式, 未检测到与入血成分相同的成分。实验结果显示, 芪归银方中的黄酮类入血成分大部分是经肾脏代谢排出, 这可为阐明芪归银方延缓耐药的药效物质基础提供依据。

关键词:芪归银方; 黄酮类成分; 代谢过程; HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2017)01-0116-11

doi: 10.7538/zpxb.2017.38.01.0116

Metabolic Processes of Flavonoids in Qi-gui-yin granule (QGY) Based on HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap

YU Xiao-jie^{1,2}, YUE Gui-juan¹, XUE Meng¹, ZHANG Jiao¹,
LIU Ming-yu¹, LIANG Li-jing¹, LIU Tian¹, MA Qun¹

(1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Pharmaceutical Department, First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, China)

Abstract: With the extensive use of the antibiotics, especially abuse, the serious problem of bacterial resistance has happened commonly in clinic, and the multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection has always been the focus and difficulty in clinical anti-infection treatment. After years of clinical trials, it is confirmed that some traditional Chinese medicine have significant antibacterial effect, and can delay or reverse drug-resistant in combination with antibiotics. Qi-gui-yin (QGY), composing of five kinds of

收稿日期: 2016-07-11; 修回日期: 2016-12-08

基金项目: 科学技术部“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09102026)资助

作者简介: 于小杰(1988—), 女(汉族), 硕士研究生, 从事中药新药与质量控制研究。E-mail: yuxiaojie213@163.com

通信作者: 马群(1971—), 女(汉族), 研究员, 从事中药体内过程分析及质量控制研究。E-mail: maqun99@163.com

traditional Chinese medicine (*Astragalus*, *Angelica Lonicera*, *Artemisia apiacea*, *Polygonum cuspidatum*), is mainly used for the treatment of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection, and is certified to have significant synergistic antibacterial effect with imipenem and ceftazidime. Due to the complexity of chemical composition, pharmacodynamic material basis of QGY is not very clear. In order to further clarify pharmacodynamic material basis of Qi-gui-yinggranule(QGY), HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap was used to investigate flavonoids constituents in serum, urine and feces of rats. In previous studies, the chemical compositions of QGY were analyzed by LC-ESI-MS/MS. By comparing the retention time, accurate molecular weight and MS/MS fragmentation with standards and related literatures, 59 compounds were identified or tentatively characterized in QGY, including flavonoids, phenylpropanoid, anthraquinones, isoflavans, isoflavones, saponins and other compounds. Among them, there were 28 flavonoids with the most types, which suggested that the flavonoids were the major constituents of QGY, and would be the medicinal compositions in treatment of resistance bacterial infection. In this work, the metabolic processes of flavonoids in QGY were mainly studied. 8 flavonoids were identified from medicated serum. Among them, Apigenin-6,8-di-C-glu and Apigenin passed into blood with original structure, while the other 6 compounds were phase II metabolites (formononetin, calycosin, luteolin-7-O-glucoside, kaempferol-3-O-glucoside, luteolin and 5,7,4'-trihydroxy-flavonol-7-O- β -D-glucopyranoside). 9 flavonoids were identified in urine, 3 compounds in feces. Among them, 6 serum compounds' metabolites were found in urine, including formononetin, calycosin, luteolin-7-O-glucoside, kaempferol-3-O-glucoside, apigenin and apigenin-6,8-di-C-glu, but no one in feces. The prototype or metabolites of luteolin and 5,7,4'-trihydroxy-flavonol-7-O- β -D-glucopyranoside could not be found in urine and feces, which may be hydrolyzed into small molecular compound in the metabolic process or given off via other metabolic pathways. In this study, it can be found that most of the flavonoids constituents in serum were excreted through kidney. In sum, the bioactive ingredients in QGY were elaborated preliminarily.

Key words: Qi-gui-yinggranule (QGY); flavonoids; metabolic processes; HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap

随着抗生素的广泛及不合理应用,耐药菌感染形势日趋严峻,现已成为严重危害人类健康的重要公共卫生问题。现代医学单凭抗生素的不断升级、多药联用等手段,已不能很好地控制耐药菌感染^[1]。目前,许多中药或其复方的抗菌作用已被医学界所认可。中药或其复方的抗菌作用不是单一的抑制或杀灭细菌,而是通过抗菌、免疫调节、消除细菌耐药性等途径形成多方位组合作用^[2],在抗感染治疗上有着一定的优势。在应用抗生素的基础上联合应用中药,不仅可达到协同抗菌的效果,还有延缓或者逆转细菌耐药性的作用^[3-5]。

本课题组基于中医对感染性疾病的认识,并结合多年临床实践经验,开发了由黄芪、金银花、当归、青蒿、虎杖 5 味中药组成的芪归银方,该方具有益气补血扶正、解表透邪外出、清气血解热毒的功效,可延缓铜绿假单胞菌耐药,并与头孢他啶、亚胺培南等抗生素有协同抗菌作用,在治疗耐药菌感染方面取得了良好效果^[6-10]。但该复方的化学成分复杂,很难确定其通过多成分、多靶点、多途径发挥药效的物质基础,这严重限制了其进一步开发和临床应用。本课题组在前期研究^[11]中采用 LC/MS 技术对芪归银方中的化学成分进行

了分析,共鉴定出 59 种化合物,其中黄酮类化合物有 28 个。据此推测黄酮类成分可能是芪归银方治疗耐药菌感染的主要成分之一。

本实验拟采用 HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap 技术分析鉴定大鼠灌胃芪归银方后,其血清中的黄酮类成分及其代谢产物,通过分析尿液及粪便中的代谢物,推测其代谢途径,希望为进一步阐明芪归银方抗菌、抗感染的药效物质基础提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent Zorbax SB-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm×5 μm);美国 Agilent 公司产品;KH-250 型速控超声波清洗器;昆山禾创超声仪器有限公司产品;旋涡混合仪(XW-80A);海门市其林贝尔仪器制造有限公司产品;超速离心机(Sartorius1-14);美国 Sigma 公司产品;LC-20AT 高效液相色谱仪;日本岛津公司产品,配有 LC-20AT 溶剂输液泵、自动进样器、SPD-M20A 检测器、柱温箱、LC-solution 色谱工作站;HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap:美国 Thermo 公司产品,配有四元泵、自动进样器、离子阱-轨道阱质量分析器、ThermoXcaliber2.1 工作站。

SD 大鼠:由北京维通利华实验动物技术有限公司提供;甲醇、甲酸、乙酸乙酯:分析纯,北京化工厂产品;屈臣氏蒸馏水:广州屈臣氏食品饮料有限公司产品;乙腈:色谱纯,美国 Fisher 公司产品。

1.2 血清样品的制备及代谢物的收集

SD 大鼠常规饲养一周后,随机分为空白组和给药组,每组 8 只。给药组大鼠以芪归银提取物灌胃(含生药 8 g/mL),每次 2 mL,每日 2 次,共给药 3 天;空白组大鼠以 0.9%生理盐水灌胃,灌胃次数和盐水体积与给药组相同,末次灌胃前 12 h 禁食不禁水,末次灌胃 1 h 后从腹主动脉采血。将不同组别血液于 4 °C 以 2 500 r/min 离心 25 min,取上清液,将各组大鼠血清混合后再次离心,收集不同组别血清,于-80 °C 保存,备用。

分别收集不同组别大鼠末次给药前 12 h 内的尿液和粪便,其中,尿液以 2 500 r/min 离心 25 min 后,取上清液,备用;粪便经干燥后保

存,备用。

1.3 样品前处理

血清样品预处理:取 200 μL 含药血清和空白血清,分别加入 600 μL 乙腈,涡旋振荡 3 min,以 14 300 r/min 离心 30 min,静置后取上清液,氮气吹至 50 μL,转移至内套管中,备用。

尿液样品预处理:分别取 10 mL 不同组别大鼠尿液,蒸干后加入适量甲醇,超声溶解,离心后取上清液,蒸干,加入 100 μL 甲醇溶解,离心,收集上清液,备用。

粪便样品预处理:分别取 100 mg 不同组别大鼠粪便,研磨后加入 20 mL 甲醇超声溶解,过滤后收集滤液,减压蒸干,然后加入 1 mL 甲醇超声溶解,离心,收集上清液,蒸干,再加入 100 μL 甲醇溶解,离心后收集上清液,备用。

1.4 分析方法

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Zorbax SB-C18 柱(4.6 mm×150 mm×5 μm);柱温:30 °C;流速:0.8 mL/min;检测波长:270 nm;流动相:A 为乙腈,B 为 0.1%甲酸水溶液;梯度洗脱程序:0~15 min(2%~3%A),15~22 min(3%~17%A),22~32 min(17%~18%A),32~42 min(18%~25%A),42~52 min(25%~32%A),52~60 min(32%~63%A),60~65 min(63%~100%A)。

1.4.2 色谱条件 电喷雾(ESI)离子源,正、负离子模式;雾化电压:正离子模式 4.0 kV,负离子模式 3.0 kV;鞘气流速:30 arb;毛细管温度:350 °C;毛细管电压:25 V;雾化室温度:300 °C;管透镜电压:-110 V;质量扫描范围: m/z 100~1 200。

2 结果与讨论

2.1 化学成分识别

分别对血清样品、尿液样品、粪便样品进行检测,得到不同组别各样品的色谱图,示于图1~3。通过对谱图中化学成分的色谱保留时间、精确分子质量、多级碎片离子等信息的解析,并结合文献[11-12]中已鉴定出的芪归银提取物中的化学成分,对含药血清、尿液、粪便中的芪归银化学成分进行鉴定,结果列于表 1~3。

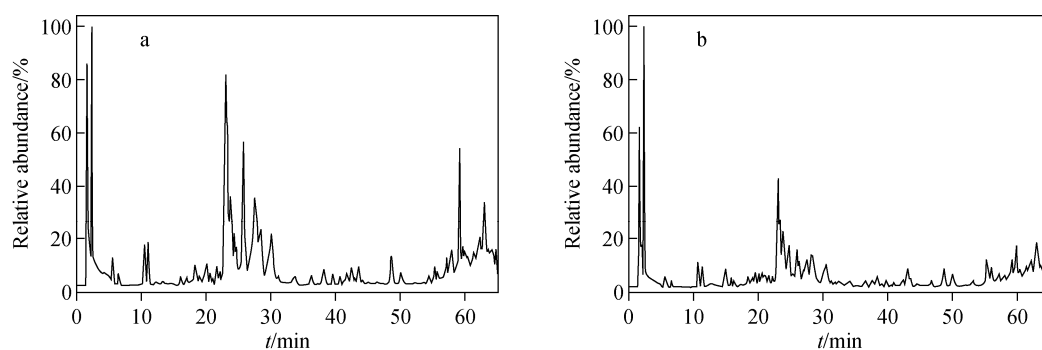


图1 空白组(a)和给药组(b)含药血清的总离子流色谱图

Fig. 1 TIC of the blank group (a) and drug group (b) of medicated serum

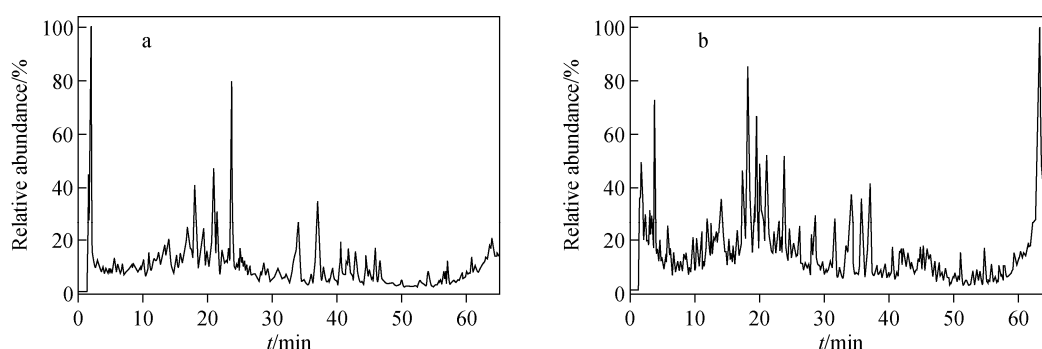


图2 空白组(a)和给药组(b)尿液的总离子流色谱图

Fig. 2 TIC of the blank group (a) and drug group (b) of urine

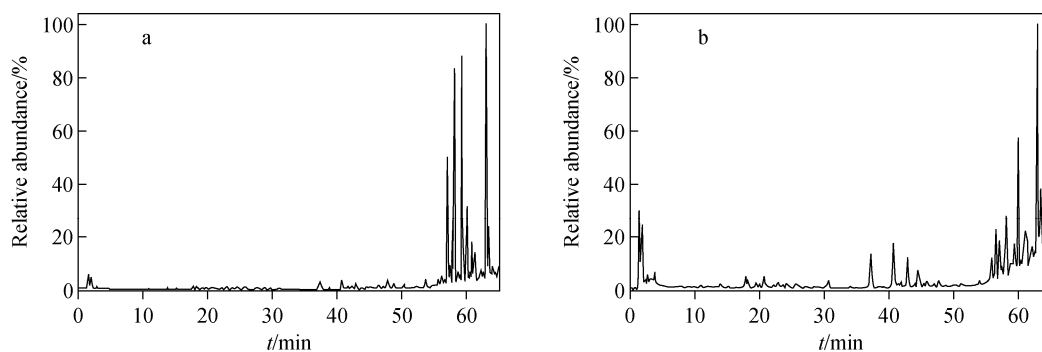


图3 空白组(a)和给药组(b)粪便的总离子流色谱图

Fig. 3 TIC of the blank group (a) and drug group (b) of feces

从含药血清中共鉴定出 8 个黄酮类化合物,分别为芒柄花素、芹菜素-6,8-二葡萄糖苷、木犀草素、毛蕊异黄酮、5,7,4'-三羟基黄酮醇-7- O - β -D-葡萄糖苷、木犀草素-7- O -葡萄糖苷、山奈酚-3- O -葡萄糖苷和芹菜素。

从尿液中共鉴定出 9 个黄酮类化合物,分别为芒柄花素、芹菜素-6,8-二葡萄糖苷、毛蕊

异黄酮、木犀草素-7- O -葡萄糖苷、山奈酚-3- O -葡萄糖苷、芹菜素、芹菜素-6-葡萄糖基-8-阿拉伯糖苷、芹菜素-6-戊烯氧基-8-葡萄糖苷、芹菜素-6-葡萄糖苷-8-戊烯氧基。

从粪便中共鉴定出 3 个黄酮类化合物,分别为芹菜素-6-葡萄糖基-8-阿拉伯糖苷、芹菜素-6-戊烯氧基-8-葡萄糖苷和芦丁。

表 1 含药血清中黄酮类化合物的质谱信息
Table 1 Mass spectrometry information of flavonoids in serum

No.	t_R / min	Formula [M-H] ⁻	Observed mass	Calculated mass	Error/ 10^{-6}	MS ²	MS ³	Identification
1 ^a	18.55	C ₂₂ H ₁₉ O ₁₀	443.097	443.0973	-0.5	267.0652	—	Formononetin
2 ^c	21.93	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	593.1525	593.15	4	—	—	Apigenin-6,8-di-C-glu
3 ^a	24.6	C ₂₂ H ₁₉ O ₁₁	461.0725	461.0715	2.3	285.0400, 327.0514	—	Luteolin
4 ^a	24.79	C ₂₂ H ₁₉ O ₁₁	459.0925	459.0922	0.7	283.0605, 268.0373, 252.8438	224.0480, 240.0429, 211.0392	Calycosin
5 ^b	28.96	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	447.0928	447.0922	1.3	285.0399	—	5,7,4'-Trihydroxy flavanol-7-O-β-D-glucopyranoside
6 ^d	37.37	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₁	461.108	461.1078	0.4	299.0557,	—	Luteolin-7-O-glucoside
7 ^d	38.45	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₁	461.1085	461.1078	1.3	299.0556	—	Kaempferol-3-O-glucoside
8 ^c	43.36	C ₁₅ H ₉ O ₅	269.045	269.0444	1.9	225.0553, 241.0502	—	Apigenin

注:a. 葡萄糖醛酸化;b. 羟基化;c. 原型;d. 甲基化

表 2 尿液中黄酮类化合物的质谱信息
Table 2 Mass spectrometry information of flavonoids in urine

No.	t_R / min	Formula [M-H] ⁻	Observed mass	Calculated mass	Error/ 10^{-6}	MS ²	MS ³	Identification
1 ^c	57.69	C ₁₆ H ₁₁ O ₄	267.0654	267.0652	0.9	252.0418	—	Formononetin
2 ^c	21.93	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	593.1499	593.1500	-0.3	—	—	Apigenin-6,8-di-C-glu
3 ^c	53.87	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	283.0598	283.0600	-0.9	240.0417, 268.0366	—	Calycosin
4 ^c	27.35	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	447.0918	447.0922	-0.8	—	—	Luteolin-7-O-glucoside
5 ^b	22.07	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	463.0867	463.0871	-0.8	—	—	Kaempferol-3-O-glucoside
6 ^c	43.51	C ₁₅ H ₉ O ₅	269.0444	269.0444	-0.1	225.0547, 241.0497, 251.1645	—	Apigenin
7 ^c	24.12	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₄	563.1386	563.1395	-1.6	—	—	Apigenin-6-C-glu-8-C-ara
8 ^c	25.10	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₄	563.1389	563.1395	-1.2	—	—	Apigenin-6-C-pent-8-C-glu
9 ^c	25.58	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₄	563.1389	563.1395	-1.2	—	—	Apigenin-6-C-glu-8-C-pent

注:b. 羟基化;c. 原型

表 3 粪便中黄酮类化合物的质谱信息
Table 3 Mass spectrometry information of flavonoids in feces

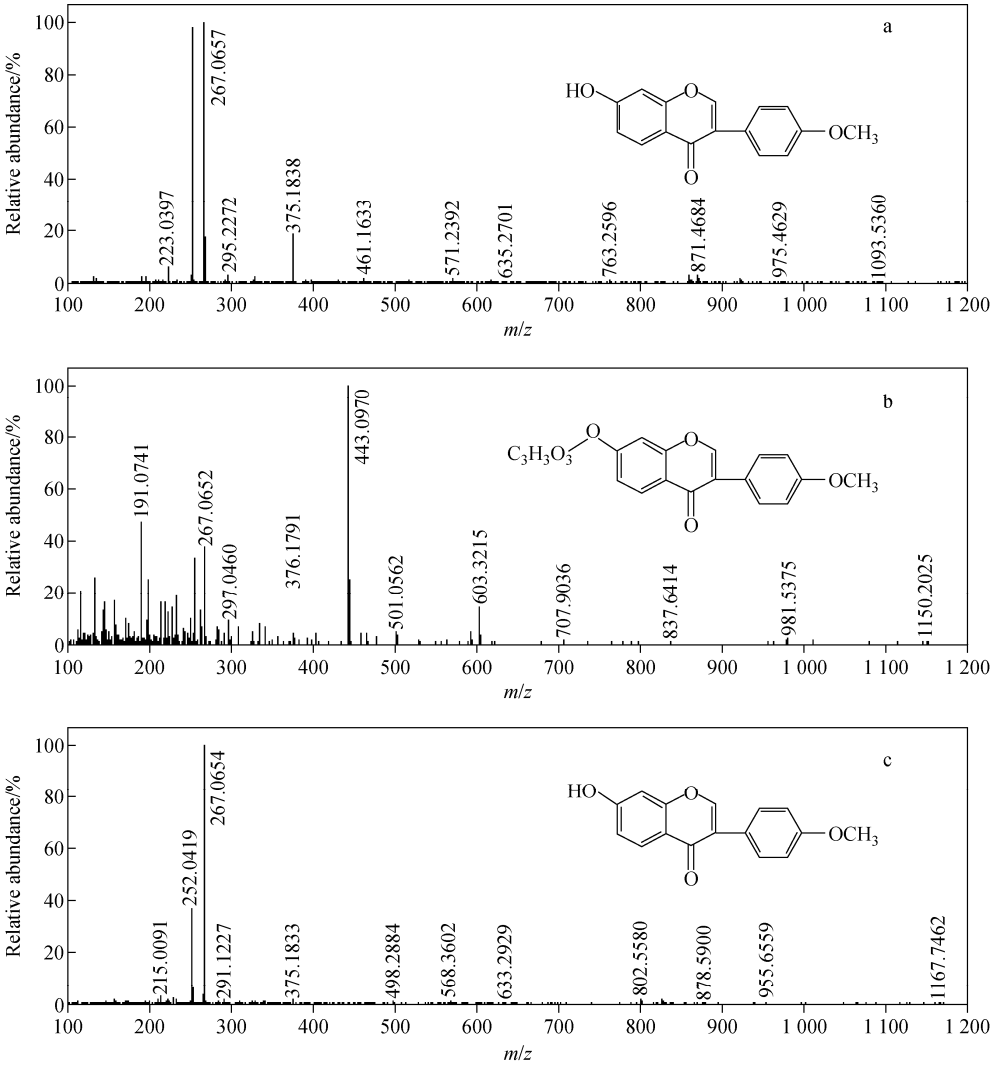
No.	t_R / min	Formula [M-H] ⁻	Observed mass	Calculated mass	Error/ 10^{-6}	MS ²	MS ³	Identification
1	24.44	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₄	563.1389	563.1395	-1.1	—	—	Apigenin-6-C-pent-8-C-glu
2	24.96	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₄	536.1378	563.1395	-3.0	—	—	Apigenin-6-C-glu-8-C-pent
3	27.84	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	609.1462	609.1450	1.9	—	—	Rutin

2.2 代谢途径推测

分析对比含药血清、尿液及粪便中的芪归银化学成分,对其中 6 种入血成分可能的代谢途径进行推断。

芒柄花素:在血清质谱图中, $t=18.55\text{ min}$ 时,检测到 $m/z\ 443$ 分子离子峰;在尿液质谱图

中, $t=57.69\text{ min}$ 时,检测到 $m/z\ 267$ 分子离子峰。结合多级质谱数据,推测可能为芒柄花素与葡萄糖醛酸结合后以Ⅱ相代谢产物的形式入血。由于其极性增大,保留时间缩短,因此经体内代谢后,以原型的形式经尿液排出体外^[13-15],其代谢途径示于图 4。



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图 4 芒柄花素的代谢途径

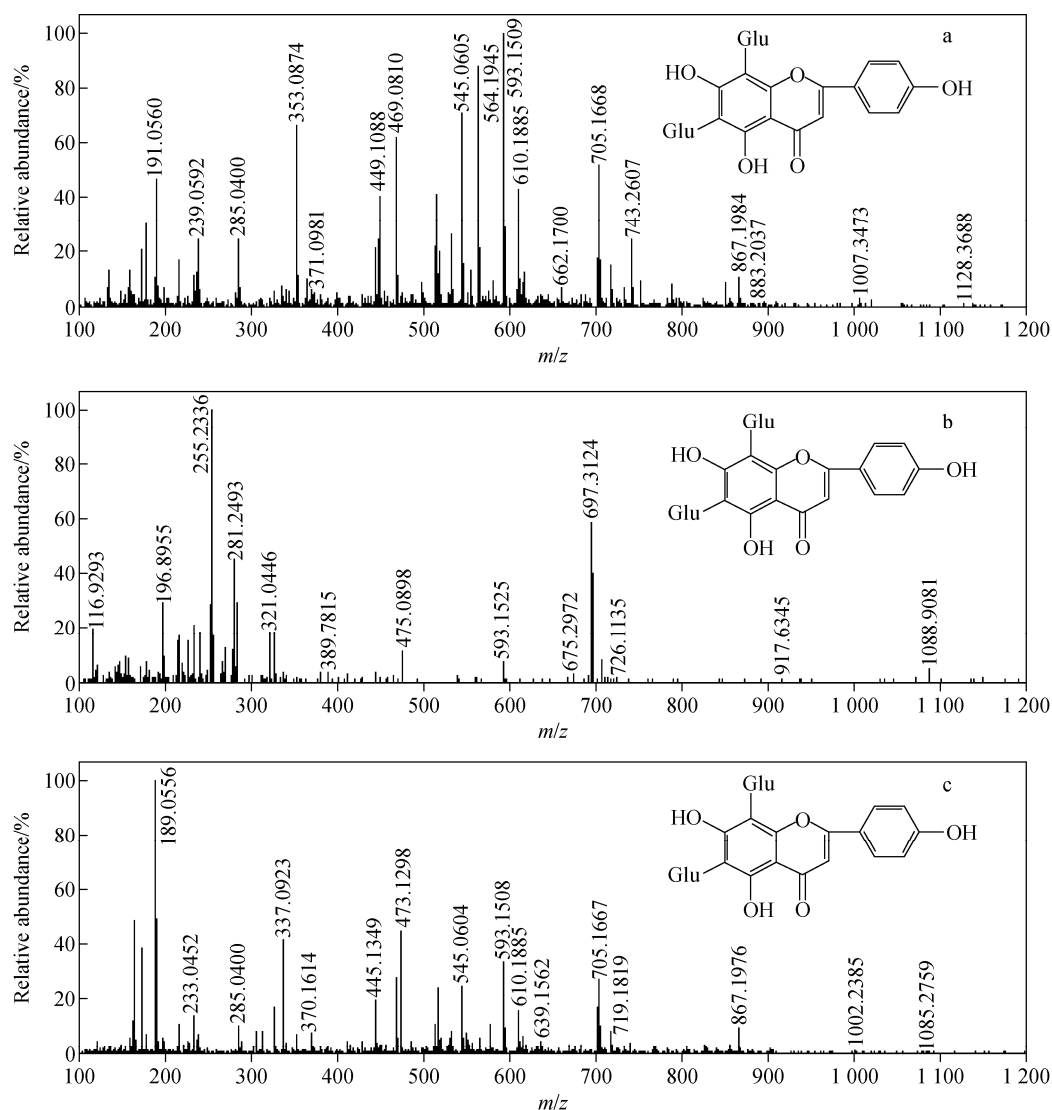
Fig. 4 Metabolic pathway of formononetin

芹菜素-6,8-二葡萄糖苷:在血清质谱图中, $t=21.93$ min时,检测到 m/z 593分子离子峰;在尿液质谱图中, $t=21.93$ min时,检测到 m/z 593分子离子峰。结合多级质谱数据,推测可能为芹菜素-6,8-二葡萄糖苷以原型的形式入血,经体内代谢,以原型的形式经尿液排出体外^[16],其代谢途径示于图5。

毛蕊异黄酮:在血清质谱图中, $t=24.61$ min时,检测到 m/z 459分子离子峰;在尿液质谱图中, $t=24.79$ min时,检测到 m/z 283分子离子峰。结合多级质谱数据,推测可能为毛蕊

异黄酮以葡萄糖醛酸结合物的形式入血,极性增大,保留时间缩短,经过一系列代谢过程后,以原型的形式经尿液排出体外^[14-15],其代谢途径示于图6。

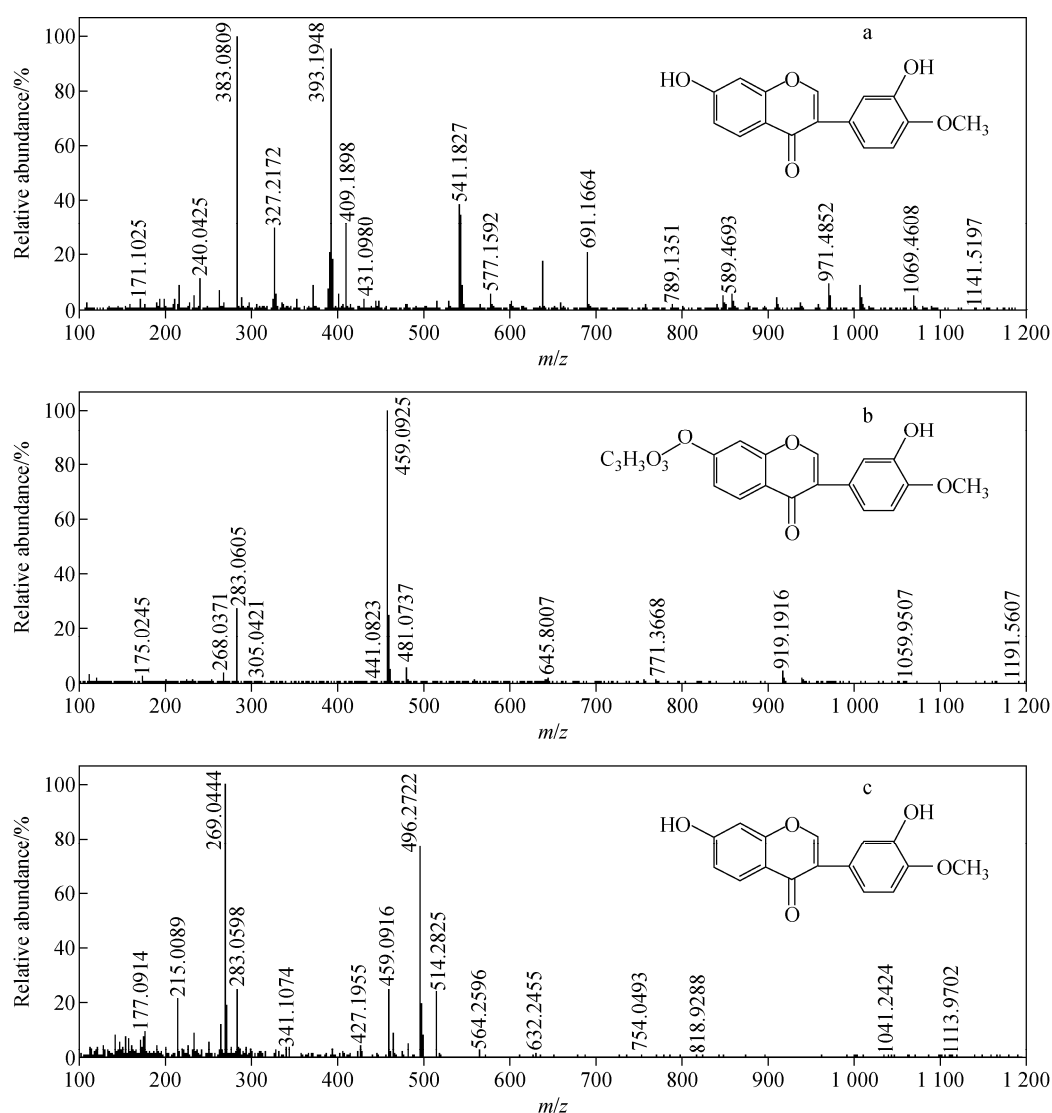
木犀草素-7-O-葡萄糖苷:在血清质谱图中, $t=37.37$ min时,检测到 m/z 461分子离子峰;在尿液质谱图中, $t=27.35$ min时,检测到 m/z 447分子离子峰。结合多级质谱数据,推测可能为木犀草素-7-O-葡萄糖苷与甲基结合后以Ⅱ相代谢产物的形式入血,经体内代谢,以原型的形式经尿液排出体外^[16-17],其代谢途径示于图7。



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图5 芹菜素-6,8-二葡萄糖苷的代谢途径

Fig. 5 Metabolic pathway of apigenin-6,8-di-C-glu



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图 6 毛蕊异黄酮的代谢途径

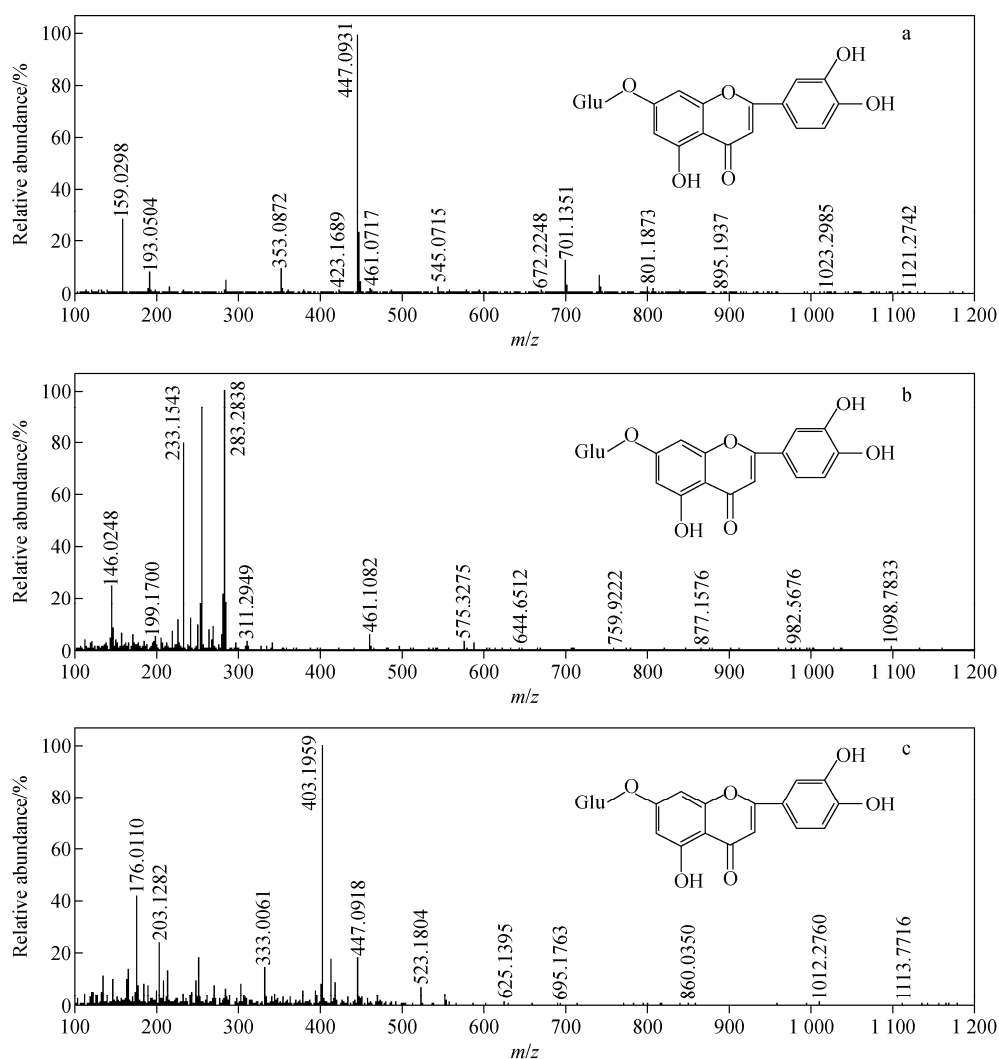
Fig. 6 Metabolic pathway of calycosin

山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷: 在血清质谱图中, $t=38.45$ min 时, 检测到 m/z 461 分子离子峰; 在尿液质谱图中, $t=22.07$ min 时, 检测到 m/z 463 分子离子峰。结合多级质谱数据, 推测可能为山奈酚-3-*O*-葡萄糖苷与甲基结合后以 II 相代谢产物的形式入血, 经体内代谢, 以羟基结合物的形式排出体外^[18], 其代谢途径示于图 8。

芹菜素: 在血清质谱图中, $t=43.36$ min 时, 检测到 m/z 269 分子离子峰; 在尿液质谱图

中, $t=43.51$ min 时, 检测到 m/z 269 分子离子峰。结合多级质谱数据, 推测可能为芹菜素以原型入血, 经体内代谢后, 以原型的形式经尿液排出体外^[16], 其代谢途径示于图 9。

血清中检测到的木犀草素和 5,7,4'-三羟基黄酮醇-7-*O*- β -D-葡萄糖苷, 在尿液及粪便中均未检测到其原型及可能的代谢产物, 这可能是因为该化合物在代谢过程中水解为小分子化合物, 或经其他代谢途径排出。



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图7 木犀草素-7-O-葡萄糖苷代谢途径

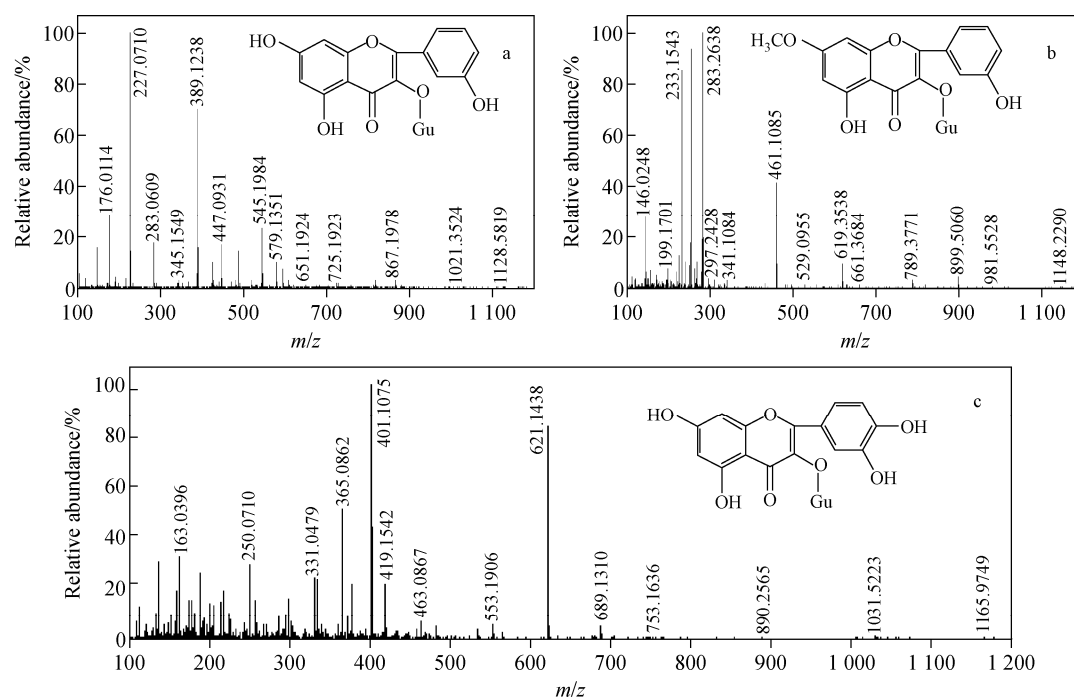
Fig. 7 Metabolic pathway of luteolin-7-O-glucoside

3 结论

中药成分复杂多样,很难确定其通过多成分、多靶点、多途径发挥药效的物质基础。一般认为,以适当途径给药后,中药在体内经过吸收、分布、代谢等过程,最终入血成分才可能是其药效物质基础。因此,分析给药后的入血成分及其代谢产物,寻找成分间的相互作用规律,可以为药效物质基础研究提供依据。

本工作采用 HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap 技术对芪归银含药血清中的黄酮成分进行表征,通过尿液及粪便中的代谢产物进行入血成分的代谢途径推测。从含药血清中鉴定出 8 个黄酮类化合物,其中芒柄花素、毛蕊异黄

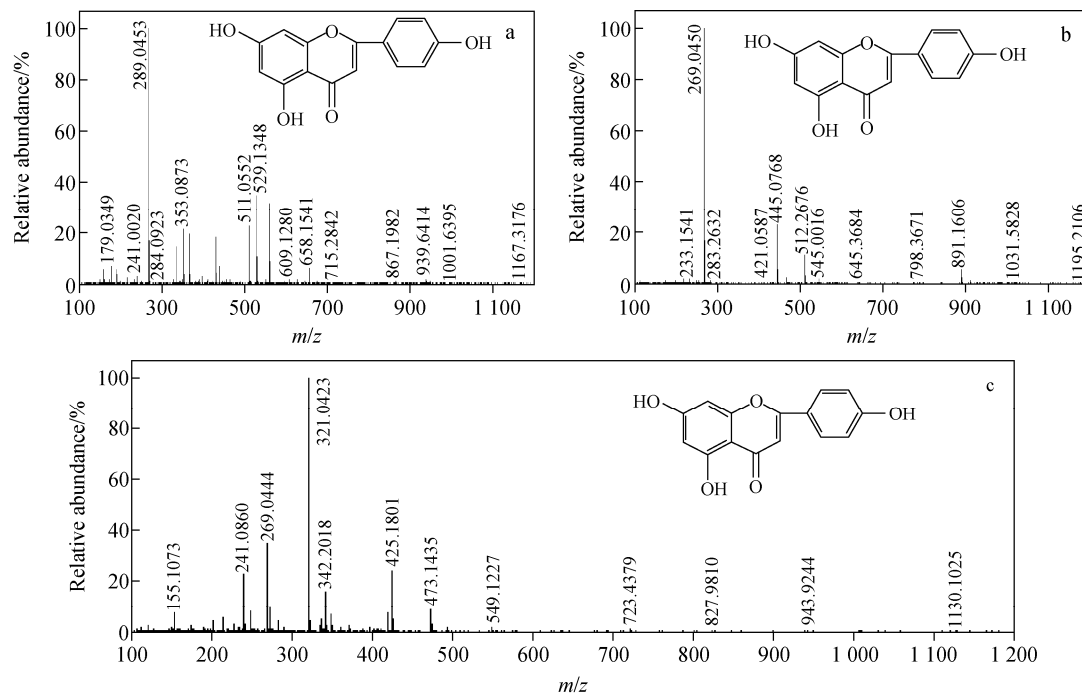
酮、木犀草素-7-O-葡萄糖苷、山奈酚-3-O-葡萄糖苷以Ⅱ相代谢产物的形式入血,芹菜素-6,8-二葡萄糖苷和芹菜素以原型入血,这 6 个入血成分经体内代谢,最终经尿液排出。含药血清中检测到的木犀草素和 5,7,4'-三羟基黄酮醇-7-O-β-D-葡萄糖苷,在尿液及粪便中均未检测到其原型及可能的代谢产物,推测其在代谢过程中可能水解为小分子化合物或经其他代谢途径排出。通过对芪归银方中黄酮类成分的体内代谢过程进行较为系统的分析,发现芪归银方中黄酮类入血成分大部分是经肾脏代谢排出,这可为阐明芪归银方延缓耐药的药效物质基础提供依据。



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图 8 山奈酚-3-O-葡萄糖苷代谢途径

Fig. 8 Metabolic pathway of kaempferol-3-O-glucoside



注: a. 芪归银提取物; b. 含药血清; c. 尿液

图 9 芹菜素的代谢途径

Fig. 9 Metabolic pathway of apigenin

参考文献:

- [1] 刘清泉,孔令博,高洁,等.扶正透邪法干预多重耐药菌株感染的理论及实验研究[J].中国医院用药评价与分析,2011,11(9):773-774.
LIU Qingquan, KONG Lingbo, GAO Jie, et al. Theoretical and experimental study on the reatment principle of Fuzheng Quxie for multiple drug-resistant infection[J]. Evaluation and Analysis of Drug-use in Hospitals of China, 2011, 11 (9): 773-774(in Chinese).
- [2] 李睿明,雷朝霞.细菌耐药性对抗策略——中药延缓、逆转细菌耐药性,治疗耐药细菌感染的研究[J].医学与哲学:临床决策论坛版,2006:45-47.
LI Ruiming, LEI Chaoxia. Tactics for prewition of bacterad resistance; research on theeffects of Chineses traditional medicine to delay and counter of bacterial resistance, and bacterial infection therapy[J]. Medicine and Philosophy, 2006: 45-47(in Chinese).
- [3] 程嘉艺,柴纪严,柴瑞华.扶正颗粒抗菌作用的实验研究[J].中医研究,2008,21(1):22-25.
CHENG Jiayi, CHAI Jiyen, CHAI Ruihua. Experimental study on the antibacterial effect of Fuzheng granule[J]. Traditional Chinese Medicinal Research, 2008, 21(1): 22-25(in Chinese).
- [4] 曹颖.双黄连及清开灵对产ESBLs大肠埃希菌抑菌作用的研究[D].北京:北京中医药大学,2011.
- [5] 朱小明,杨家卿,张昌峰,等.黄连解毒汤抗铜绿假单胞菌生物被膜及与阿奇霉素协同抗菌作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):155-158.
ZHU Xiaoming, YANG Jiaqing, ZHANG Chang-feng, et al. The in vitro effects of Huanglian jiedu decoction against pseudomonas aeruginosa biofilms and its synergism with azithromycin on planktonic pseudomonas aeruginosa[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(11): 155-158(in Chinese).
- [6] 孔令博,刘清泉,杨琦,等.芪归银方对抗生素体外抑制多重耐药铜绿假单胞菌作用的影响[J].世界中医药,2014,9(3):288-290.
KONG Lingbo, LIU Qingquan, YANG Qi, et al. Study on the effect of Qiguiyin decoction and antibiotics inhibiting multi-drug resistant pseudomonas aeruginosa in vitro [J]. World Chinses Medicine, 2014, 9(3):288-290(in Chinese).
- [7] 高洁,刘清泉,田金洲,等.芪归银方对耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药作用的影响[J].中医杂志,2012,53(16):1 408-1 411.
GAO Jie, LIU Qingquan, TIAN Jinzhou, et al. Effect of Qiguiyin formula on the imipenem-resisting pseudomonas aeruginosa[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 53(16): 1 408-1 411(in Chinese).
- [8] 孔令博,刘清泉,邱泽计,等.扶正透邪方联合抗生素体外干预多重耐药铜绿假单胞菌研究[J].中国中医急症,2011,20(4):582-584.
KONG Lingbo, LIU Qingquan, QIU Zeji, et al. Study on the bacteriostasis of multidrug resistant pseudomonas aeruginosa by fuzhengtouxie decoction cooperating with antibiotics in vitro[J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2011, 20(4): 582-584(in Chinese).
- [9] 孔令博,刘清泉,王兰,等.芪归银方对多重耐药铜绿假单胞菌感染大鼠淋巴细胞增殖的影响[J].中医杂志,2013,54(18):1 585-1 587.
KONG Lingbo, LIU Qingquan, WANG Lan, et al. Effect of Qiguiyin formula on the lymphocyte proliferation in rats with multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 54 (18): 1 585-1 587(in Chinese).
- [10] KONG L B, MA Q, GAO J, et al. Effect of Qiguiyin decoction, on multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection in rats[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2015, 21(12): 916-921.
- [11] YU X, ZHANG J, LIU Q, et al. Chemical profiling of fifty constituents in Qi-gui-yin granule (QGY) by on-line high-performance liquid chromatography coupled with ESI-LTQ-Orbitrap mass spectrometer[J]. Research Journal of Chemistry & Environment, 2013, 17(11): 16-27.
- [12] QIAO X. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2008, 47 (3): 516-525.
- [13] 王茜.茵陈术附汤在大鼠体内药物代谢动力学研究[D].上海:上海中医药大学,2013.
- [14] 姜鹏.复肝方多成分在大鼠体内药物代谢动力学研究[D].上海:上海中医药大学,2013.
- [15] 陈龙虎.基于不同层次的复方鳖甲软肝片药效物质辨识及相关问题探讨[D].成都:成都中医药大学,2013.
- [16] 陈艳琰.基于“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究——芫花-甘草配伍毒效表征与物质基础研究[D].南京:南京中医药大学,2014.
- [17] 王媛.木姜子枝叶化学成分及生物活性研究[D].西安:陕西科技大学,2013.
- [18] 李淑娇.当归-红花配伍协同增效作用与相关机制研究[D].南京:南京中医药大学,2015.