

• 中药现代化论坛 •

基于多成分多靶点的中药药动/药效相关性研究解读与策略

杨义芳¹, 萧伟²

1. 上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200240

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: 针对多成分、多靶点的中药药动/药效(PK/PD)相关性研究进行研读与解析, 通过示范性的研究方案, 提出创新策略。中药PK/PD相关性研究要求在机体病理状态下, 同一含药血清平行进行, 内容主要包括多成分PK参数测定; 血清/靶组织动态指纹图谱和多靶/生物标志物药效动力学模型的建立; 研究PK/PD结合模型, 选择分析程序, 表征有效成分群浓度-时间-效应三者之间的内在关系; 开展指纹谱-PD相关性分析, 从化学指纹和代谢指纹追踪药效变化规律; 构建能表征保留时间和效应相关的特征效应峰指纹谱和能表征峰面积消长和效应相关的量效指纹谱; 将成分群指纹-药效指纹(特征效应峰指纹谱和量效指纹谱)-药代指纹谱图中的多维特征信息整合; 加工与编辑, 构建有效成分群的“活性整合指纹图谱”的多维图像。基于多成分、多靶点的中药PK/PD相关性研究为中药PK/PD结合模型研究及阐明真正起作用的物质基础, 弄清有效成分群的体内相互作用等开拓新的研究思路。

关键词: 中药; 多成分多靶点; 药动学/药效动力学结合模型; 活性整合指纹图谱; 解读与策略

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)12-1521-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.12.001

Analysis and strategy on pharmacokinetic/pharmacodynamic correlation of Chinese materia medica based on multi-components and multi-targets

YANG Yi-fang¹, XIAO Wei²

1. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200240, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: To analyze the correlation of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) of Chinese materia medica (CMM) based on the multi-components and multi-targets, through the example of demonstrative research, we brought forward some innovative strategies. The research requires to use a medicated serum in parallel at a pathologic state. The experiments included the determination of multi-components PK parameters, the establishment of serum dynamic fingerprints and multi-targets PD models, the research on PK/PD binding model, the selection of the analytic program, the representation of internal relations among the concentration, time, and effect in the effective component group, the analyses on the correlation between fingerprint and PD, the tracing of the rule of PD from the chemical fingerprints and metabolic fingerprints, and the construction of a spectrum which could represent the characterization of the correlation between the retention time and the effect and the characterization of dose-effect fingerprint spectrum of the correlation between peak area growth and effects. The multi-dimensional characteristics of fingerprint-pharmacophore fingerprints (feature effect peak and dose-effect fingerprint spectrum)-fingerprint spectrum of PK are integrated, processed, and edited and a multi-dimensional image of “active integration fingerprint” in the active component group was built. A new research method on the combination of the PK/PD of CMM was explored. Only by this way, we will really understand the interaction in active component group *in vivo* and clearly explain the material base which truly works.

收稿日期: 2013-03-26

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项“十一五”计划资助项目(2009ZX09301-007); 上海市自然科学基金资助项目(06ZR14078); 上海市中药现代化专项资助项目(08DZ1971801, 09DZ1975200)

作者简介: 杨义芳 Tel: (021)62473018 E-mail: yangyf4912@163.com

Key words: Chinese materia medica; multi-components and multi-targets; pharmacokinetic/pharmacodynamic model; active integration fingerprint; analysis and strategy

长期以来,中药多以经验给药,对于药物中哪些成分起作用、药物的体内过程如何、药物成分与治疗作用之间有何联系等问题还不是很清楚。正因为此,迄今为止尚未有中药通过美国 FDA 认证而进入药品流通。在西方药物研究者眼中,一个药品含有数以百计的化合物是难以理解的,尤其是对许多化合物的结构与性质还未能了解。但是中药的真正价值在于多种化学成分进入人体后产生的协同作用或是使某些化合物的作用加强,或是对抗某些成分的副作用。因此,中药作为一种新的药品形式要想被欧美医学界认可并接受,关键在于如何采用现代科学技术手段探明中药作用的物质基础、相互作用机制,为传统中药赋予现代科学的内涵。药动学/药效动力学(pharmacokinetic / pharmacodynamic, PK/PD)结合模型着眼于药物的体内过程、药物效应及二者之间的关系,为解决以上问题提供了一种新的解决方案。

1 PK/PD 结合研究现状及发展趋势

PK/PD 模型是综合研究体内药物动力学过程与药效量化指标的动力学过程,是将两种不同形式过程整合为统一体,其本质是一种药量与效应之间的转换过程,为各类药物研究开发中阐明药物作用机制^[1-2]、能动设计药物剂型和给药系统^[3-4]、剂量^[5-6]及临床最佳给药方案^[7-8]提供重要的研究方法和理论依据。PK/PD 相关性研究还有助于解决药物临床反应的群体^[9]和个体差异^[10],用于探讨机体内环境因素对药物体内过程的影响以及临床试验的模拟^[11]、新药评价^[12-13]等。

PK/PD 相关性研究在化学药的研究中较为常见,应用成熟,但在中药研究中的应用较晚且较少,这主要是由于现有的 PK/PD 模型只适合于作用机制明确且成分单一的化学药物,而中药的作用具有多组分和多靶点的特点,这极大地限制了 PK/PD 模型在中药 PK/PD 结合研究中的应用。

近年来,中药药动学从单一有效成分的血药浓度测定到诸多方法联合研究中药及其复方中多种成分的体内代谢及其相互作用,已经有了长足的发展,逐渐成为中药药动学研究的热点方法^[14-21]。但目前对中药及其复方中药的 PK/PD 相关性研究大多还是沿袭了化学药的思路和方法,因此有必要开拓新的研究思路。

2 基于多成分、多靶点的中药 PK/PD 相关性研究解读

2.1 中药药动学研究的难点^[22]

难点之一是难以认识中药的整体观,应用 PK/PD 结合分析的研究方法,综合评价药物活性物质群的 PK 和 PD,体现出药物作用的整体观等;难点之二是难以完整地分析中药作用的物质基础,利用血清药物化学(serum pharmacochemistry)和血清药理学(serum pharmacology)的理论和方法,进行中药 PK/PD 研究,对认识中药药理作用的物质基础具有推动作用。通过代谢基础研究,阐明代谢的生化途径、代谢转化途径、代谢产物的化学结构,这些都可为阐明中药作用的物质基础和创新设计提供基础信息。

2.2 中药“活性分子群”PD 研究

中药的药理作用是各成分的协同作用,其众多的活性成分可视为“活性分子群”。中药口服后,要经过胃酸、各种消化酶和消化道内菌丛的作用或代谢,会引起所含化学成分的结构变化,进入人体以后还会在代谢酶的作用下发生进一步的代谢转化。要认识真正的有效成分,对于 PD 研究来说,采用近年来发展的血清/靶组织药理学研究是一种研究中药活性物质的新方法,直接研究用药后的血液/靶组织中的有效成分,可能会使研究过程简化、发现有效成分的几率提高,对中药活性物质研究更为适宜。

2.3 寻找和选择到合适的药效指标来评价药物的疗效是关键

因为许多药物的效应在体内是无法直接进行连续定量测定的,因此常采用与疾病确实相关的作用靶标和借助于生物标志物(biomarkers)来反映药物的效应^[23]。在选用生物标志物时,必须要了解这些生物标志物的变化与疾病的状态和进程之间的联系和相关性,以及 PD-生物标志物呈过程动态变化,以便使研究更具有临床实际意义。

2.4 建立综合的多指标评价体系

中药及其复方具有多成分、多靶点、整体调节的特点,在 PK/PD 模型研究中,不仅难以选定足以代表全药药动学特征的测试成分,而且也很难将全药的治疗作用落实到某一个或某几个药效指标。因此,从中药的特点和机体对于干预措施的整体反应性出发,综

合的多指标评价体系更有利于中药疗效评价。

2.5 建立中药 PK/PD 结合模型^[24]

建立中药 PK/PD 结合模型对阐述中药具有多组分/成分和多靶点/生物标志物之间的关系至关重要。中药 PK/PD 结合研究包括数学拟合时-量曲线、计算一系列 PK 参数、数学拟合时-效曲线、PK/PD 模型的建立和选取合适 PK/PD 模型分析程序进行相关性分析。

2.5.1 PK/PD 最佳结合模型研究 根据 PK 和 PD 实验所得的数据分别对直接连接 (direct link) 和间接连接 (indirect link) 模型、直接反响 (direct response) 和间接效应 (indirect response) 模型、软连接 (soft link) 和硬连接 (hard link) 模型、时间非依赖性 (time-invariant) 和时间依赖性 (time-variant) 模型 4 种 PK/PD 拟合模型进行判断, 确定哪种结合方式最好。

2.5.2 PK/PD 模型分析程序选择 国内外大多数药动学应用程序均采用加权非线性最小二乘法进行曲线拟合。线性药动学参数的计算方法主要有: Simplex 法、高斯-牛顿迭代法、改良的高斯-牛顿迭代法如 Marquardt 和 Hartley 法等。许多药学应用程序都包括药效学模型, 如线性模型、对数模型和 Sigmoid 模型 (Hill's 方程)。目前国外较常用的 PK/PD 应用程序有: NONLIN 系列、ADAPT II、PH/EDSIM、JGuiB 等。应根据这些程序的特点以及自身的实际情况选择最适程序, 来完成多组分/成分 PK/PD 探索和实践验证, 确定相应的计算机软件进行 PK/PD 数据的相关性分析, 表征有效成分群浓度-时间-效应三者之间的内在关系。

2.6 微透析技术

微透析 (microdialysis) 技术可应用于 PK/PD 研究^[23], 通过插入实验动物中的探针实现连续取样, 控制微量注射泵体积流量控制进样量和时间, 并运用 HPLC-MS 实现在线检测, 实时分析药物浓度-时间-效应的关系。由于微透析技术操作简单、组织损伤小、时间分辨率和立体分辨率都很高, 因而用该技术来研究药物体内过程已成为热点。

2.7 在正常和病理状态下, 应用同一含药血清平行进行 PK/PD 研究

机体机能状态的差异会影响药物的吸收、分布、代谢、排泄/毒性 (absorption, distribution, metabolism excretion / toxicity) 特性, 不同的机能状态会明显影响药物的分布与消除特征, 故有必要加强病理状

态下的药动学研究。应用同一含药血清平行进行 PK/PD 研究有利于了解主要有效成分及成分群与药理效应的关系, 这将有助于探明中药作用的物质基础, 阐明其作用机制。

2.8 采用多维指纹图谱表征中药复杂物质体系的 PK 整体化学特征

多维指纹图谱 (multi-dimensional fingerprint) 提供了中药复杂体系的化学成分信息, 使用不同仪器分析方法 (检测器) 来获取样品化学信息, 通过综合多种仪器分析方法, 建立给药前样品、给药后 PK 动态等信息源不同、信息互补的多张指纹图谱, 并运用 UPLC-DAD-Q-TOF-MSⁿ、UPLC-MS-SPE-NMR 联用技术进行在线分析, 鉴定化合物的结构, 对指纹峰进行化学成分的归属, 以便完整地表征中药复杂物质体系的 PK 整体化学特征。

综上所述, 中药及其复方多成分、多途径、多靶点、多效应的作用特点, 使得研究中药及其复方物质基础、体内过程、生物效应及其相互关系变得相当复杂。在中医药理论指导下, 开展中药多组分/成分 PK-多靶/生物标志物 PD 结合模型应用研究的思路和方法探讨, 对阐明中药及其复方本质及其规律和揭示中药作用物质基础及作用机制及其科学内涵, 推动中医药走向世界, 并最终实现中药现代化具有重要意义。

3 基于多成分、多靶点的中药 PK/PD 相关性研究策略

3.1 研究思路

药物代谢指纹的一致性和差异性, 为科学阐明中药作用的物质基础提供了新的研究方法。建立微透析技术, 采用血清/靶组织药物化学和血清/靶组织药理学研究方法, 分别在机体正常和病理状态下, 同一含药血清/靶组织平行进行 PK/PD 研究: (1) 选择多个对靶点/标志物有极显著效应的代表性化合物测定 PK 参数。(2) 建立复杂成分血清/靶组织指纹图谱和血清/靶组织动态指纹图谱 (PK 指纹), 并应用联用技术在线分离分析, 归属各色谱峰化学成分结构。(3) 选择与疾病相关的多靶点和生物标志物多效应指标进行评价, 建立有效成分群多靶/生物标志物药效动力学模式。(4) 研究多成分 PK 指纹-多靶和标志物 PD 结合模型, 选择分析程序, 表征有效成分群浓度-时间-效应三者之间的内在关系。(5) 通过药物信息学的研究方法进行信息的挖掘研究, 融汇了人工智能、模式识别、模糊数学、

数据库、数理统计等多种技术方法,借助计算机对得到的巨量、多维信息应用化学计量学方法开展指纹谱-PD 相关性分析,从化学指纹和代谢指纹追踪药效变化规律;将有效成分群指纹-药效指纹 [由能表征保留时间和效应相关的特征效应峰指纹谱 (feature-effect peak fingerprint spectrum) 和能表征峰面积消长和效应相关的量效指纹谱 (dose-effect fingerprint spectrum) 组成] 和药物代谢指纹谱图中

的多维特征信息,通过特征信息整合/融合、加工与编辑,构建有效成分群的“活性整合指纹图谱(active integration fingerprint)”或称“多维活性指纹图谱(multi-dimensional active fingerprint)”多维图像。旨在探索和解答各化合物体外多靶点作用与有效成分群给药后代谢动力学行为有何差异、相互作用特点、体内存在的作用物质形式等科学问题。其研究策略的模式见图 1。

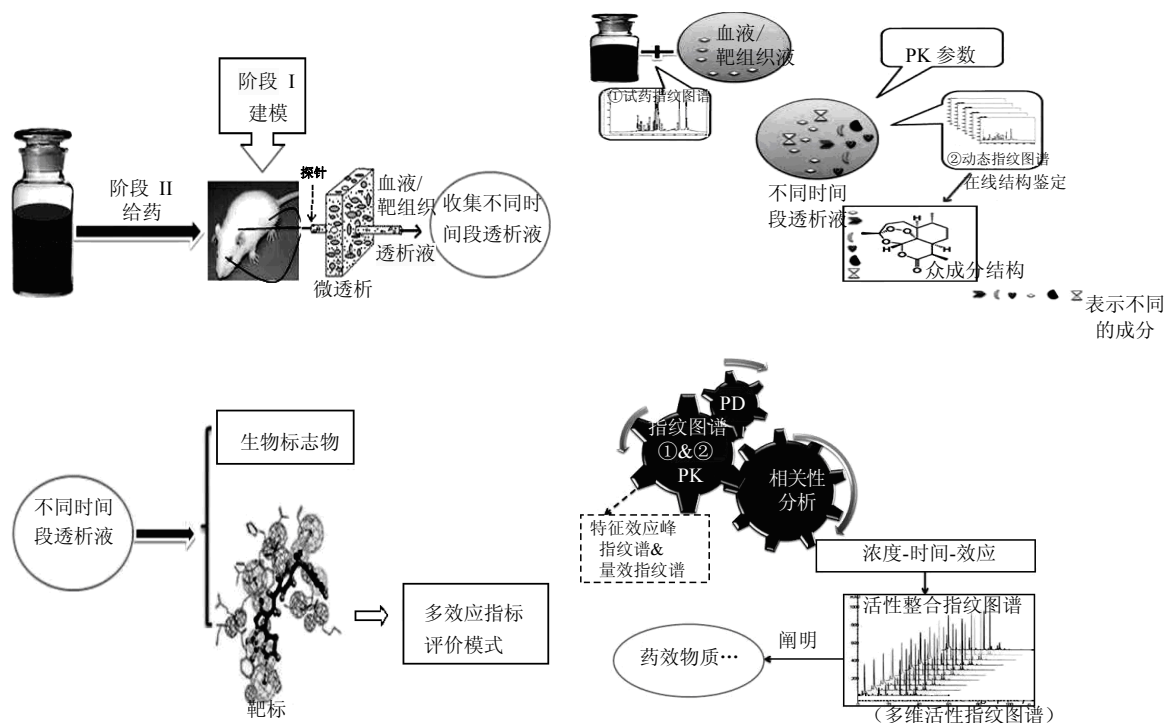


图 1 研究模式图

Fig. 1 Research pattern

通过运用数据挖掘技术对采集的巨量多维原始信息进行压缩降维和归类分析,达到最终以较少的独立活性主成分定性与定量综合体现原多维变量中蕴含的绝大部分整体信息的目的。这种研究策略在最大化保留信息的前提下大大简化了数据分析的难度和工作量,使“多维活性指纹”变得易读和可视。

3.2 科学意义与创新

3.2.1 采用血清/靶组织药物化学和血清/靶组织药理学的理论和方法,应用 PK/PD 相关性研究,以反映多成分、多靶/生物标志物作用的整体观,对完整地分析中药作用的物质基础具有推动作用。

3.2.2 构建中药有效成分群和血清/靶组织化学成分指纹图谱,归属各色谱峰化学成分结构,建立有效成分群化学-PK-PD 的三维研究体系,有助于阐明

药效物质基础。

3.2.3 构建血清/靶组织指纹图谱和 PK 指纹图谱,与药理效应进行归属和关联,建立确切的谱-效关系,能很好地解决中药 PK/PD 相关性研究的难点。

3.2.4 发现化学指纹-药效指纹-药物代谢指纹的关系,鉴别指纹图谱的变化,研究有效部位(成分群)的指纹和药物代谢指纹的一致性和差异性,以及成分群的相互作用,各成分在体内的动态变化与其多靶点和生物标志物药效消长之间的关系,最终对确定真正的活性成分等问题给出科学合理的解释。

3.2.5 选择与疾病确实相关的多靶标和生物标志物多指标的评价,建立有效成分群多靶/生物标志物药效动力学模式;血清/靶组织成分动态指纹图谱(PK 指纹图谱)-多靶/生物标志物药效动力学结合模型相

的体内相互作用如何、成分与药理效应之间有什么联系,在体内真正起作用的物质是什么和各成分表现作用强度等问题仍然不是很清楚,这些问题支撑本课题组进行了PK/PD相关性研究。

4.2 PK/PD 相关性研究方案

以丙酸睾酮致大鼠BPH为药理模型,油菜花粉有效成分群提取物口服给药,运用UPLC-MS/MS指纹图谱技术,采用血清/靶组织药物化学和血清/靶组织药理学研究方法,应用同一含药血清/靶组织平行进行PK/PD结合模型的研究,并与正常大鼠口服给药进行比较。

4.2.1 微透析方法 将大鼠用20%乌拉坦麻醉后,插入胃管,分离右颈静脉,插入血管探针,然后,分离前列腺组织,分别插入前列腺腹叶和背侧叶探针,在微量灌注泵的灌注下,平衡2 h,采用自动低温收集器立即收集透析液。建立稳定同位素内标微透析技术方法。

4.2.2 UPLC-MS 定量测定方法的建立和验证 包括对油菜花粉有效成分群提取物中亚麻酸等6个化合物在正常大鼠和病理状态大鼠血清和靶组织中的测定。

4.2.3 油菜花粉有效成分群提取物药动学研究和PK参数的测定 BPH模型大鼠ig给予油菜花粉有效成分群提取物,隔时取透析液,通过UPLC-MS测定各透析液中对不同靶点具有显著作用的6个化合物[亚麻酸、山柰酚、亚麻酸酰胺、亚麻酸甘油酯、24-亚甲基胆甾醇、山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖基-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-葡萄糖苷]的血药浓度和靶组织浓度,数学拟合时-量曲线,求得相应的 $T_{1/2}$ 、AUC、 C_{max} 等药动学参数。

4.2.4 油菜花粉有效成分群提取物指纹图谱的建立 采用UPLC-MS方法进行油菜花粉有效成分群提取物指纹图谱方法学研究并验证。

4.2.5 建立不同时相血清化学成分动态指纹图谱和靶组织动态指纹图谱(PK指纹图谱) 采用UPLC-MS方法,首先进行血清/靶组织化学成分指纹图谱方法学研究并验证,建立标准UPLC-MS血清/靶组织化学成分指纹图谱。按标准UPLC-MS血清化学成分指纹图谱和靶组织指纹图谱的方法绘制血清和靶组织动态指纹图谱。

4.2.6 指纹峰化学成分的指认 运用UPLC-DAD-Q-TOF-MSⁿ、UPLC-MS-SPE-NMR联用技术的在线分离分析,利用化学成分结构检索软件,本课题组

分离得到58个化合物作为对照品,通过在线对照、及对长链脂肪酸类、甾醇类、黄酮类与含氮类化合物(有可能尚包含生物内源物)波谱数据的积累和波谱数据结构解析规律的总结,编辑数据库,归属各色谱峰化学成分结构。

4.2.7 油菜花粉有效成分群多靶/生物标志物药效动力学研究方法的建立和PD参数的测定 (1)采用酶联免疫、免疫组化等方法检测血清/靶组织内睾酮(T)、DHT、 E_2 的变化水平,计算每个透析液对5 α -还原酶、芳构化酶的抑制率。(2)不同时相血清/靶组织加入RAW264.7细胞,采用ELISA的方法,测定上清液中PGE₂的量,计算每个透析液对COX-2的抑制率。用人前列腺癌上皮细胞株LNCap进行PSA测定,采用化学发光免疫法测定培养细胞上清液中总PSA的量,计算每个透析液对PSA的抑制率。采用PD应用程序,数学拟合时-效曲线,可求算出一系列药效动力学参数,如 E_{max} 、S、EC₅₀等。

4.2.8 PK/PD模型的建立,选取合适的PK/PD模型分析程序与进行相关性分析 通过对PK和PD实验所得数据的分析,研究PK/PD最佳结合模型,选择PK/PD模型分析程序,确定相应的计算机软件进行PK/PD数据的拟合相关性分析。采用计算机软件进行PK指纹图谱、有效成分群提取物和血清/靶组织化学成分动态指纹图谱-PD相关性分析。

4.2.9 构建“活性整合指纹图谱” 通过药物信息学的方法进行信息的挖掘研究,借助计算机对得到的巨量、多维信息应用化学计量学方法充分抽提出隐含其中的有效信息,剔除其中的冗余信息,绘制出抗前列腺增生保留时间和效应相关的特征效应峰指纹谱及其各色谱峰峰面积/相对峰面积比值与药理效应的相关系数,绘制出量效指纹谱。将有效成分群提取物指纹-特征效应峰和量效指纹-药物代谢指纹谱图中的多维特征信息经计算机整合/融合、拟合加工和编辑后,构建油菜花粉抗BPH的有效成分群的“活性整合指纹图谱”多维图像。

4.3 PK/PD 相关性研究技术路线

PK/PD相关性研究技术路线见图3。

5 结语

该策略对发现有效成分群化学指纹-药效指纹-药代指纹三者之间的内在关系,为科学阐明中药作用的物质基础和解决中药PK/PD相关性研究的难点提供新的研究方法。有效成分群多靶/生物标志物药效动力学模式,更符合中药具有多靶点、多组分

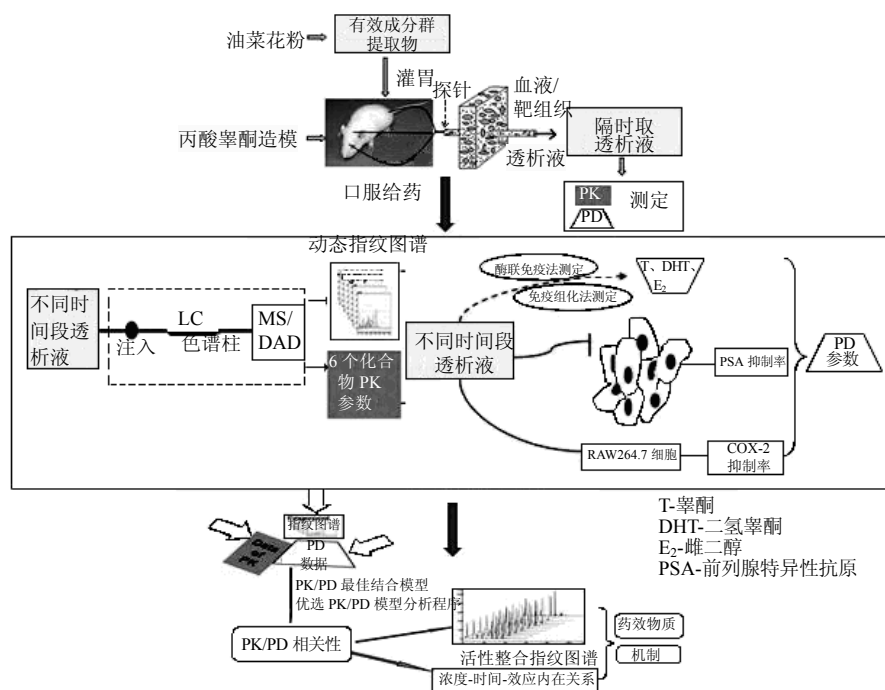


图3 PK/PD相关性技术路线流程图

Fig. 3 Technical flow chart of PK/PD correlation

的特性。“活性整合指纹图谱”多维图像反映多靶/生物标志物作用与多成分关联的多元指纹信息，是使巨量多维原始信息最终以较少的独立活性主成分定性与定量地综合体现原多维变量中蕴含的绝大部分整体信息，并将这些巨量多维信息变得易读和可视，为中药 PK/PD 结合模型研究开拓了新的研究思路与方法。

参考文献

- [1] Li L, Li Z Q, Deng H C, *et al.* A mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for CYP3A1/2 induction by dexamethasone in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33: 127-136.
- [2] Pelligand L, King J, Toutain P, *et al.* Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of robenacoxib in a feline tissue cage model of inflammation [J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 2011, 35: 19-32.
- [3] 刘宏伟. 磷酸川芎嗪鼻用 pH 敏感型原位凝胶及其 PK/PD 结合模型研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [4] Kalombo L, Brooks E, Hansen R, *et al.* *In vivo/in vitro* pharmacokinetic and pharmacodynamic study of spray-dried poly-(dl-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles encapsulating rifampicin and isoniazid [J]. *Int J Pharm*,

2013, 444(1/2): 10-17.

- [5] Teeguarden J G, Housand C J, Smith J N, *et al.* A multi-route model of nicotine-cotinine pharmacokinetics pharmacodynamics and brain nicotinic acetylcholine receptor binding in humans [J]. *Toxicol Pharmacol*, 2013, 65(3): 12-28.
- [6] Teeguarden J G, Housand C J, Smith J N, *et al.* Cortical responses to amphetamine exposure studied by pCASL MRI and pharmacokinetic/pharmacodynamic dose modeling [J]. *Orig Res Article Neuro Image*, 2013, 68: 75-82.
- [7] Li J, Nekka F. A rational quantitative approach to determine the best dosing regimen for a target therapeutic effect: A unified formalism for antibiotic evaluation [J]. *J Theor Biol*, 2013, 319: 88-95.
- [8] Guyonnet J, Manco B, Baduel L, *et al.* Determination of a dosage regimen of colistin by pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modeling for treatment of G. I. T. disease in pigs [J]. *Science*, 2010, 88: 307-314.
- [9] Ruhs H, Becker A, Drescher A, *et al.* Population PK/PD mode 1 of homocysteine concentrations after high-dose methotrexate treatment in patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(9): 1-8.
- [10] Isabelle K D, Flora T M, Nyberg J, *et al.* Population pharmacokinetic modeling and optimal sampling strategy

- for bayesian estimation of amikacin exposure in critically ill septic patients [J]. *Ther Drug Monit*, 2010, 32(6): 749-756.
- [11] Pasipanodya J G, Gumbo T. A new evolutionary and pharmacokinetic-pharmacodynamic scenario for rapid emergence of resistance to single and multiple anti-tuberculosis drugs [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11: 457-463.
- [12] 庄露凝, 谷元, 刘昌孝. 药动学-药效学模型在新药评价中的应用 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(3): 161-166.
- [13] Simonelli M, Zucali P A, Lorenzi E, *et al.* Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of lapatinib in combination with sorafenib in patients with advanced refractory solid tumors [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(5): 989-998.
- [14] 邱碧菡, 潘林梅, 朱华旭, 等. 黄连解毒汤-方证对应的 PK-PD 研究和数据挖掘技术的应用 [J]. *中国药房*, 2012, 23(3): 286-288.
- [15] 赵星, 赵云丽, 于治国. 中药复方脑得生指标成分组合药动学的研究方法 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(3): 227-233.
- [16] 林力, 刘建勋, 张颖, 等. 中药复方双参通冠方的 PK/PD 数据分析研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2012, 14(3): 1583-1589.
- [17] 孙晓芳. 首乌方对帕金森病大鼠血液-纹状体左旋多巴药动学及神经递质的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [18] 田乐, 狄留庆, 周伟, 等. 中药多组分网络靶点效应 PK-PD 结合模型应用研究与思考 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2012, 14(4): 1824-1830.
- [19] 宋珏, 路通, 谢林, 等. 黄连解毒汤的药动学-药效学相关性研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(10): 2042-2046.
- [20] 柳晓泉. 丹参水溶性成份的多靶点心血管保护作用的 PK-PD 研究 [A] // 第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议论文集 [C]. 南京: 第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议, 2012.
- [21] 史俊. 石杉碱甲-磷酸川芎嗪复方干预阿尔茨海默症的研究 [D]. 上海: 华东理工大学, 2012.
- [22] 刘昌孝. 中药药代动力学研究的难点和热点 [J]. *药学报*, 2005, 40(5): 395-401.
- [23] 李静, 潘国凤, 周英, 等. 微透析技术在靶组织局部药物浓度检测中的应用 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2012, 28(5): 396-398.
- [24] 束云, 李连达. 药代动力学-药效动力学结合模型在中药研究中的应用 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(11): 1405-1408.
- [25] 阎家骏, 张关富, 潘建刚, 等. 前列腺与舍尼通治疗慢性前列腺炎的疗效比较 [J]. *医药导报*, 2006, 25(3): 220-221.
- [26] 金丽丽, 李坤, 杨义芳. 抗良性前列腺增生药物的作用靶点 [J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(3): 161-165.
- [27] 杨必成, 杨义芳. 花粉治疗前列腺疾病的物质基础研究进展 [J]. *中草药*, 2009, 40(1): 144-149.
- [28] Yang N Y, Yang Y F, Li K. Analysis of hydroxy fatty acids from the pollen of *Brassica campestris* L. var. *oleifera* DC. by UPLC-MS/MS [J]. *J Pharm*, 2013, DOI: 10.1155/2013/874875.
- [29] Yang N Y, Li K, Yang Y F, *et al.* Aromatase inhibitory fatty acids derivatives from the pollen of *Brassica campestris* L. var. *oleifera* DC. [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(2): 132-137.
- [30] 李永辉, 杨义芳, 孔德云, 等. 花粉超临界提取物中棕榈酸和亚麻酸的含量测定及药效相关性分析 [J]. *中国医药工业杂志*, 2008(11): 823-826.
- [31] 杨义芳, 李坤, 金丽丽, 等. 油菜花粉抗良性前列腺增生的药效物质基础和作用机制初步研究 [A] // 第11届上海国际生物技术与医药研讨会论文集 [C]. 上海: 第11届上海国际生物技术与医药研讨会, 2009.