

小鼠限食/低温游泳模型评价黄连、吴茱萸及其复方寒热药性

任永申^{1,2}, 王伽伯¹, 赵艳玲¹, 张萍¹, 赵海平^{1,2}, 张学儒¹,
周灿平¹, 肖小河^{1*}, 金城¹

(1. 解放军中药研究所解放军 302 医院, 北京 100039; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075)

摘要: 建立黄连、吴茱萸及其复方左金丸、反左金丸寒热药性评价的新方法。通过限食游泳、饲喂高蛋白饲料复制小鼠体质模型; 采用冷热板示差法, 考察药物对小鼠温度趋向性的干预作用; 同时测定耗氧量、肝组织 ATP 酶活性, 考察药物对能量代谢的影响。结果表明, 药物作用按“黄连→左金丸→反左金丸→吴茱萸”方向传递; 即黄连增加动物在高温区分布, 降低耗氧量及 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性 ($n = 6, P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 而吴茱萸表现相反; 提示黄连之性“寒”与吴茱萸之性“热”, 与传统理论认识一致。该方法可以直观且客观地表征黄连、吴茱萸寒热药性的差异及配伍后的变化趋势, 为中药药性理论研究提供了新的技术手段。

关键词: 中药寒热药性; 动物行为学; 温度趋向性; 黄连; 吴茱萸

中图分类号: R285.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 11-1221-07

COLD and HOT nature of Coptis & Evodia and their prescriptions investigated with diet restriction/cold-water swimming mice models

REN Yong-shen^{1,2}, WANG Jia-bo¹, ZHAO Yan-ling¹, ZHANG Ping¹, ZHAO Hai-ping^{1,2},
ZHANG Xue-ru¹, ZHOU Can-ping¹, XIAO Xiao-he^{1*}, JIN Cheng¹

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

2. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: To establish a new method to evaluate the COLD and HOT nature of Coptis & Evodia and their prescriptions Zuojinwan and Fanzuojinwan. Physical models of mice were established by diet restriction with cold-water swimming (weak model, WM) and fed with high protein animal feeds (strong model, SM). An instrument with cold and hot pads was used to investigate the variation of temperature tropism among SM and WM groups of mice affected by drugs. Meanwhile, the oxygen consumption and activity of adenosine triphosphatase (ATPase) were detected, in order to investigate the mechanism of energy metabolism which might be affected by these drugs. The results showed that the drug effects gradually changed in an order of “Coptis → Zuojinwan → Fanzuojinwan → Evodia”. In detail, Coptis increased the remaining rate (RR) of mice on hot pad, decreased oxygen consumption and ATPase activity ($n = 6, P < 0.01$ or $P < 0.05$), while Evodia performed inversely; which indicated the COLD nature of Coptis and HOT nature of Evodia, and confirmed with their traditional definition in medicinal works. In conclusion, the methods applied in this work, can objectively and directly express the nature disparity between the two herbs and predict the tendency of changes of the nature of their combination, which brings a new approach in investigation of the nature theory of traditional Chinese medicine.

Key words: COLD & HOT nature of traditional Chinese medicine; ethology; temperature tropism; Coptis; Evodia

收稿日期: 2009-04-03.

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2007CB512607; 2006CB504703).

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

中药药性是中药基础理论的核心, 又是沟通“理、法、方、药”的桥梁。其中, 寒、热是中药的首要药性, 正如陶弘景所言“药物甘苦之味可略, 唯冷热须明”。寒热药性是我国古代医家通过长期对药物纠正人体寒热 (阴阳) 偏盛偏衰并使之复归平衡作用的反观内视, 而得出的朴素辨证的医学理论, 是哲学的延续, 亦蕴涵着科学的内核。

多年来, 已尝试从内分泌系统、神经递质乃至基因调控等方面阐释中药药性的科学实在及作用机制, 使药性理论得到了较大发展; 同时建立了中医基本证候的动物模型, 为表达中医药理论内涵提供了新的科学载体^[1-10]。但是, 由于中医药理论的整体化观念与个性化用药, 使中医药理论研究本身具有较大的复杂性和挑战性, 鲜有较为系统的理论成果。近年来, 本课题组从热力学理论角度审视中医药, 提出了中医药热力学观, 并将其运用于中药四性理论研究, 为中药药性的客观表述提供了新的科学语言^[11-15]。

根据中医药理论, 中药治病乃是利用其自身性味的偏倚, 来纠正人体的失衡状态, 而寒热正是这种偏性的两极, 同时也是机体病态的最普遍表现。药物对机体寒热的干预, 均伴有物质、能量和信息的转移或传递^[16], 可进而表现为机体对寒热环境的趋避 (选择) 的意愿和行为的改变。

为此, 本文拟从药物对动物温度趋向性改变的行为学角度, 尝试建立中药寒热药性的客观评价方法, 即冷热板示差法^[17]。该方法通过复制动物体质模型^[18], 观察药物干预对动物环境温度的趋向性变化来表征药物寒热药性差异。同时, 为凸显药物寒热药性差异, 本文选取黄连、吴茱萸及两者不同配比的复方左金丸及反左金丸作为研究对象, 并选取呼吸耗氧、ATP 酶等与能量代谢密切相关的指标, 从能量变化的角度初步探讨其可能的作用机制。

材料与方法

实验用药 黄连和吴茱萸购自北京同仁堂药店, 经解放军中药研究所肖小河研究员鉴定为毛茛科多年生草本植物黄连 (*Coptis chinensis* Franch.) 的干燥根茎和芸香科植物吴茱萸 (*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.) 的近成熟果实, 样品保存于解放军中药研究所。

药液制备 称取黄连、吴茱萸、左金方 (黄连、吴茱萸比例为 6:1)、反左金方 (黄连、吴茱萸比例为 1:6) 各 200 g, 第 1 次煎煮加 10 倍量蒸馏水, 浸

泡 30 min, 快速加热至沸腾, 而后保持微沸 20 min, 趁热过滤; 第 2、3 次煎煮各加 8 倍量蒸馏水, 快速加热至沸腾, 而后保持微沸 15 min, 趁热过滤, 合并 3 次滤液, 浓缩至 1:1 (即 1 mL 药液含原生药 1 g), 4 °C 储存备用。

供试药液化学组分检测 经 HPLC 分析, 黄连药液的主要成分为小檗碱型生物碱, 含有小檗碱、巴马丁、黄连碱、药根碱等, 生物碱总含量不低于 3.6%; 吴茱萸药液主要含有吴茱萸碱及吴茱萸次碱, 两者总含量不低于 0.15%; 左金丸及反左金丸中均有上述成分检出。

实验动物 清洁级雄性 KM 种小鼠, 体重 (20 ± 2) g, 许可证号: SCKX- (军) 2007-004, 普通饲料 (粗蛋白 19.2%, 粗脂肪 4.1%, 粗纤维 2.5%, 水分 9.5%, 粗灰分 6.6%, 总钙 1.2%、磷 0.87%) 和高蛋白饲料 (粗蛋白 24.9%, 粗脂肪 4.2%, 粗纤维 2.3%, 水分 8.4%, 粗灰分 6.6%, 总钙 1.2%、磷 0.86%) 购于军事医学科学院。

仪器及试剂 动物温度趋向性行为学智能监测系统由解放军中药研究所自主设计并由北京中交仪器公司协助开发 (专利号: ZL2008200004444.2), 包括冷热板温度控制系统、数据采集及分析系统, 可同时监测 6 个通道。其工作原理是: 将动物置于已形成稳定温差的 6 个独立通道内, 由视频系统记录动物活动状况并由软件将其转变为平面坐标系数据点, 从而识别动物在各温区的停留比例 (remaining rate, RR)。停留比例为动物在某个温区出现频数占总监测频数的百分比, 即停留比例 = 温区出现频数 / 总监测频数 × 100%。视频识别软件参考了文献^[19]算法, 数据分析软件采用 Visual Basic 6.0 语言编制。数据采集速度为 12.5 帧/s。绘制正常动物运动轨迹示例图 (图 1), 结果显示每只正常动物在冷热板两温区分布均匀, 无明显的区域偏向性。

Cary50 Bio 紫外分光光度计 (Varian Australia PTY LTD), 白洋 B320 型低速离心机 (北京瑞泰行科技发展有限公司)。考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒和 ATP 酶测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所 (20081009)。其他试剂均为分析纯。

分组及给药 预养期间, 使小鼠学习记忆冷热板 (温度控制板) 不同温区的位置, 并淘汰体温差异较大者。将动物随机分为 11 组, 即空白组 (control)、限食游泳组 (weak model, WM)、高蛋白饲料组 (strong model, SM)、限食游泳 + 黄连组 (WMCC)、

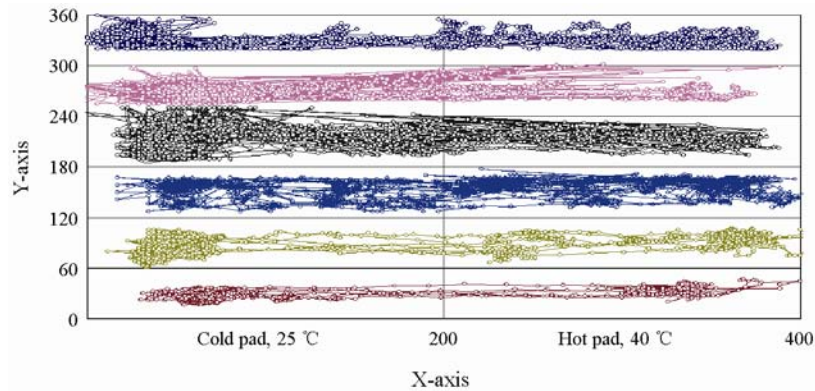


Figure 1 The location of mice on cold and hot pads. There are six channels of mice location on each scattergram, the left half is cold pad set at 25 °C and the right is hot pad set at 40 °C

限食游泳 + 吴茱萸组 (WMER)、限食游泳 + 左金丸组 (WMZJW)、限食游泳 + 反左金丸组 (WMFZJ)、高蛋白饲料 + 黄连组 (SMCC)、高蛋白饲料 + 吴茱萸组 (SMER)、高蛋白饲料 + 左金丸组 (SMZJW)、高蛋白饲料 + 反左金丸组 (SMFZJ)。预试结果显示, 当黄连、吴茱萸、左金丸及反左金丸的剂量为 $20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 时, 动物对药物干预反应灵敏, 且不出现严重的刺激反应, 故设此为给药剂量, 以考察在同等剂量下药物寒热药性差异; 空白组、限食游泳组、高蛋白饲料组给予生理盐水 0.4 mL ; 各组测试前 2 h 灌胃给药, 连续 7 d。

动物模型复制 限食游泳模型: 采用控制饮食 + 低温游泳, 即每日正常饲水, 给予 1 g 普通饲料 / (10 g 体重 $\cdot\text{d}$) (相当于动物正常食量的 45%); 动物每日测试前 1 h 游泳至自然沉降, 水温 (20 ± 5) °C, 水深 20 cm 。高蛋白饲料模型: 每日正常饮水, 同时足量饲喂高蛋白饲料。

动物体重、饮水量、食量测定 每日上午给药前定时称量每只小鼠体重; 于前日晚定时定量给予各组动物饮用水 70 mL , 当日晚更换饮水前测定各组剩余水量, 两者相减即为当日饮水量; 于前日晚定时给予空白组足量普通饲料 50 g 、各高蛋白饲料组给予足量高蛋白饲料 50 g 、各限食游泳组按 10 g 体重给予 1 g 普通饲料, 当日晚测定剩余饲料量, 两者相减即为当日食量。

小鼠冷热板温度趋向性测定 实验室温度 (22 ± 2) °C, 自动温控系统底板温度设置: 低温板 (cold pad) 25 °C, 高温板 (hot pad) 40 °C。每次给药 2 h 后, 将小鼠依次放入冷热板上各通道内, 通过摄像头远程监测其冷热板寒热温区趋向活动, 并对活动轨迹进行全程记录。每次记录 30 min , 取中间 20 min

数据进行统计分析, 计算小鼠在各温区停留比率。

耗氧量测定 末次给药 3 h 后, 将小鼠置密闭容器中, 容器底部放置钠石灰 10 g , 用以吸收小鼠呼吸所产生的 CO_2 , 顶端胶塞开口通橡胶管连接一刻度移液管, 下端置入水中并保持垂直, 所有接口用凡士林密封, 使系统保持良好的气密性, 移液管中水柱体积即小鼠呼吸耗氧体积。记录小鼠消耗 2.5 mL 氧气所需时间, 及 6 min 内消耗氧气体积。

小鼠肝组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATP 酶活性测定 末次给药 4 h 后, 颈椎脱臼处死动物, 迅速取出肝脏, 放入预冷至 4 °C 的生理盐水中, 洗去表面血迹, 滤纸洗掉表面水分, 称取肝组织制备 2% 匀浆, 采用定磷法测定 ATP 酶活性。其活性以每小时每毫克组织蛋白中 ATP 酶分解 ATP 产生 $1 \mu\text{mol}$ 无机磷的量作为一个 ATP 酶活力单位 [$\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{protein})\cdot\text{h}^{-1}$]。

统计学处理 各数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 小鼠冷热板各温区停留比率、耗氧量及肝组织 ATP 酶活性均采用单因素方差分析和 t 检验进行统计分析。

结果

1 一般情况

与空白组比较: 限食游泳模型组动物体型瘦弱, 体重下降迅速、之后停留在较低水平, 体重相当于空白组动物的 80%; 饮水量显著减少; 由于食量控制 (为动物正常食量的 45%), 给食后常发生抢食现象; 皮毛松弛枯槁易脱落, 喜热, 常聚集成团, 精神萎靡, 游泳时间缩短, 四肢和尾巴冰凉。高蛋白饲料模型组动物体重增长迅速; 饮水量显著增加; 体态肥胖, 毛色润泽, 活跃好动, 精神亢奋。

与限食游泳模型组相比: 动物给药干预后, 体重下降趋势变缓, 并显著高于模型组, 但仍低于正常动

物; 给予吴茱萸的动物饮水量有增大趋势, 略高于模型组及给予黄连、复方组; 根据体重, 食量被控制在较低水平。

与高蛋白饲料模型组相比: 各给药组动物的体重增长速率有所降低, 下降程度为黄连>左金丸>反左金丸>吴茱萸, 其中吴茱萸组的体重高于同时期正常组但低于模型组; 各给药组的饮水量有所下降, 下降程度同体重, 其中吴茱萸及反左金丸组的饮水量高于空白组, 表现出“体热欲饮”的特征, 而黄连及左金丸组则表现出“寒不欲饮”的特征; 各组食量均略有下降, 以黄连组最为明显 (图 2)。

2 药物对小鼠温度趋向性的影响

采集各组动物每日在热板停留比例, 绘制药物对动物温区选择性影响的作用趋势图 (图 3)。

与空白组比较: 限食游泳组小鼠在高温区停留

比例明显增高 ($P < 0.05$), 而高蛋白饲料组小鼠在高温区停留比例有所减少。

与限食游泳组比较: 给予黄连及左金丸干预的小鼠在高温区停留比例显著提高 ($P < 0.01$); 给予反左金丸组动物仅在前 3 d 表现为热板停留时间增加, 在给药后 4 d 反而表现为在冷板停留比例增加 ($P < 0.05$); 同时, 给予吴茱萸组动物的趋热性在多个时间点均低于同天模型组动物 (图 3A)。

与高蛋白饲料组动物比较, 各给药干预动物在高温板区停留比例显著提高 ($P < 0.01$), 依次为: 黄连>左金丸>反左金丸>吴茱萸 (图 3B)。

3 药物对小鼠能量代谢的影响

3.1 药物对小鼠耗氧量的影响

为考察药物对动物机体能量代谢的影响, 对动物呼吸耗氧量进行了测定。

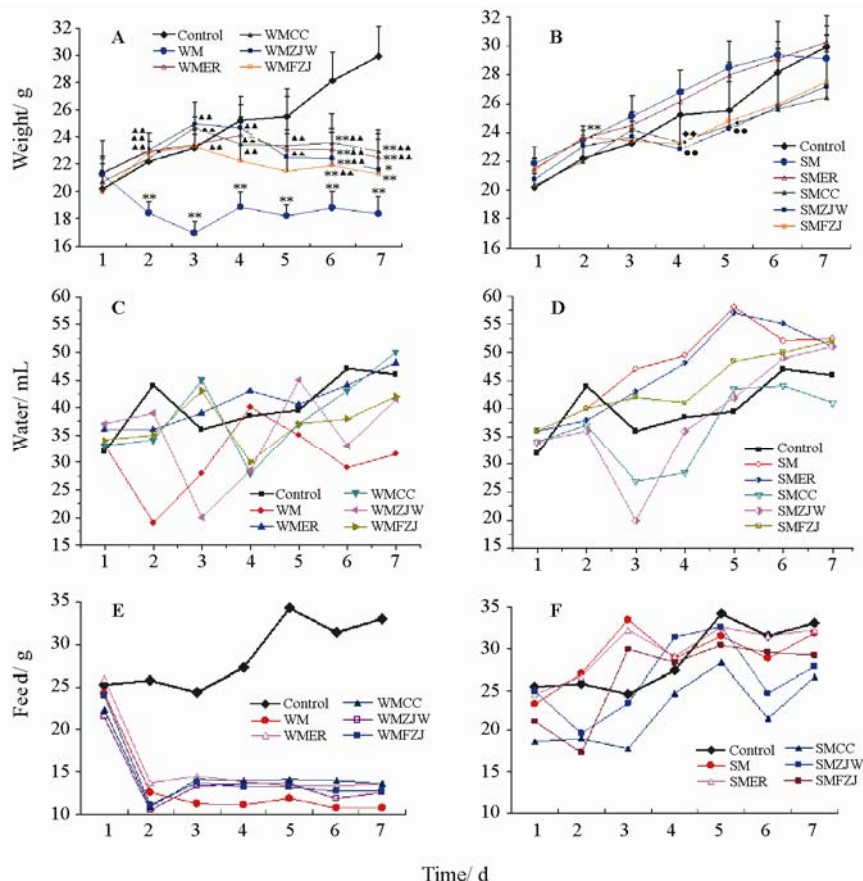


Figure 2 Effect of drugs on body weight (A, B), water (C, D) and feeds (E, F) of mice during 7 days. A, B: The body weight of mice during 7 days. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs weak model (WM); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs strong model (SM). C, D, E, F: The water and animal feeds consumed by all animals in each group during 7 days. A, C, E: Control, mice treated by normal ways; WM (weak model), mice treated with diet restriction and cold-water swimming; WMER, WM mice treated with Evodia; WMCC, WM mice treated with Coptis; WMZJW, WM mice treated with Zuojinwan; WMFZJ, WM mice treated with Fanzuojinwan. B, D, F: Control, mice treated by normal ways; SM (strong model), mice treated with high protein animal feeds; SMER, SM mice treated with Evodia; SMCC, SM mice treated with Coptis; SMZJW, SM mice treated with Zuojinwan; SMFZJ, SM mice treated with Fanzuojinwan

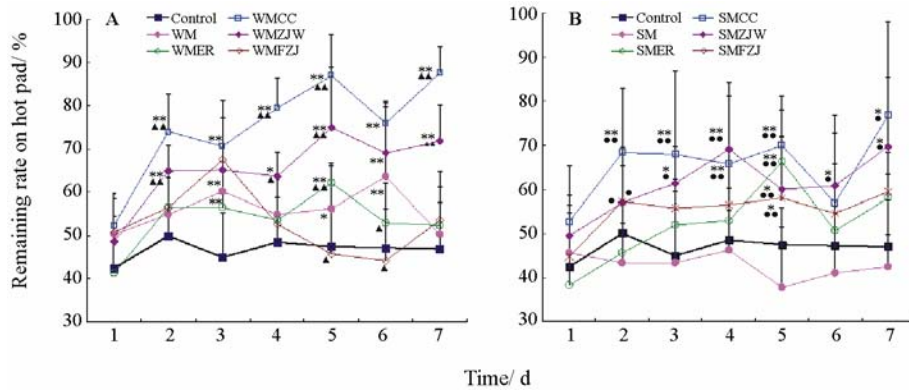


Figure 3 Effect of drugs on mice temperature tropism. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ vs weak model (WM); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs strong model (SM). A: Control, mice treated by normal ways; WM (weak model), mice treated with diet restriction and cold-water swimming; WMER, WM mice treated with Evodia; WMCC, WM mice treated with Coptis; WMZJW, WM mice treated with Zuojinwan; WMFZJ, WM mice treated with Fanzuojinwan. B: Control, mice treated by normal ways; SM (strong model), mice treated with high protein animal feeds; SMER, SM mice treated with Evodia; SMCC, SM mice treated with Coptis; SMZJW, SM mice treated with Zuojinwan; SMFZJ, SM mice treated with Fanzuojinwan

以消耗 2.5 mL 氧气所需时间为指标, 与空白组比较, 限食游泳组动物所需时间显著延长 ($P < 0.01$), 表明动物机体代谢需氧量显著降低; 高蛋白饲料模型组动物所需时间明显缩短 ($P < 0.05$), 表明其代谢需氧量显著提高。与限食游泳组比较, 除黄连组所需时间提高外, 其余各组动物所需时间均有所减少, 其中吴茱萸组 ($P < 0.01$) 及反左金丸组 ($P < 0.05$) 有显著差异, 所需时间依次为黄连 > 左金丸 > 反左金丸 > 吴茱萸。结果表明, 随着药物组成中黄连比例的降低与吴茱萸比例的提高, 动物呼吸耗氧量依次提高, 提示黄连与吴茱萸作用性质与方向不同, 即两者药效作用性质表现相反。与高蛋白饲料组比较, 各给药组均显著延长耗氧所需时间 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 依次为: 左金丸 > 反左金丸 > 黄连 > 吴茱萸, 可能因给药组动物体重较模型组低, 从而耗氧量较模型组低 (图 4A)。

以 6 min 耗氧体积为指标, 各组动物耗氧体积变化趋势与耗氧 2.5 mL 所需时间变化趋势相反, 但所表达药物对动物耗氧量干预作用方向一致 (图 4B)。

3.2 药物对小鼠肝组织 ATP 酶活性的影响 与空白组比较, 限食游泳组 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性下降, 而高蛋白饲料组 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性增强; 与限食游泳组比较, 各给药组的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性均有所提高, 依次为: 吴茱萸 ($P < 0.01$) > 左金丸 > 黄连 > 反左金丸; 与高蛋白饲料组比较, 除黄连组降低外, 其余给药组的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性均有所提高, 依次为: 吴茱萸 ($P < 0.01$) > 反左金丸 > 左金丸 > 黄连。结果表明: 吴茱萸提高 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性的能力显著高于黄连 (图 4C)。

讨论

研究表明动物都会避开过低和过高的温度而选择最适合的温度环境^[20], 在合适的温度梯度下, 能够运动的动物倾向于生活在一个狭窄的最适温度区域内^[21, 22], 此区域同时是生命活动的最适宜温度区域^[23, 24]。动物的这种趋向性被称之为温度趋向性 (temperature tropism), 并认为其受机体内在状态和外界干预变化的影响。

由此, 作者试制了冷热板示差系统, 用以客观评价动物在规定条件下对药物干预反应的差异, 并尝试用于评价中药寒热药性。在前期的研究中, 对本系统适宜小鼠活动的板区温度进行了探索, 最终设定 25~40 °C 为最适的板区温差, 并采用障碍法 (两温区间设 5 cm 高隔板), 可以灵敏地检测动物对适宜温区的自觉选择差异; 并完善了冷热板检测及分析评价系统, 结果灵敏可靠、重现性好, 适于动物行为学评价, 有关方法学考察内容将另文报道。

本文采用限食 + 低温游泳、饲喂高蛋白饲料等方法复制不同体质小鼠模型“weak model/strong model”, 并用于考察分别给予黄连、吴茱萸及其复方左金丸、反左金丸后, 动物对冷热区间选择性的改变及药物间的表达差异, 藉此推测药物性质的差异; 同时, 通过对动物机体能量代谢指标的测定, 探讨药物作用对机体影响的可能渠道。实验结果表明, 与空白组比较, 限食游泳组动物在冷热板高温区停留比例提高, 呼吸耗氧降低, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性降低, 体现出机体“寒”证; 高蛋白饲料组表现相反, 体现出“热”证; 组间差异明显, 与文献^[25]报道一致, 表明“寒、热”体

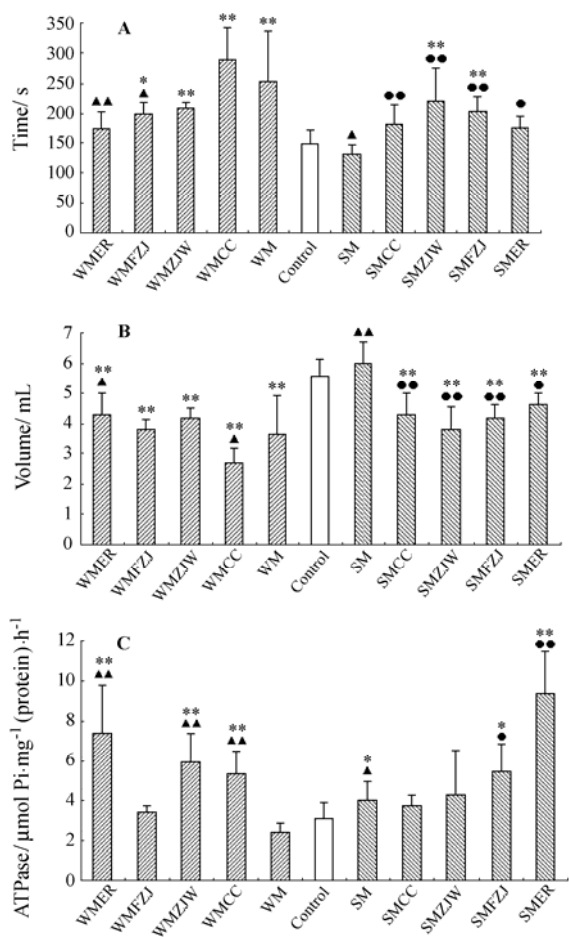


Figure 4 Effect of drugs on oxygen-consumption and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of mice. A: The time (second) cost for consuming 2.5 mL oxygen; B: The volume (mL) of oxygen consumed in 6 min; C: The activity of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in mice hepatic tissue ($\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{protein})\cdot\text{h}^{-1}$). $n=6$, $\bar{x}\pm s$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; $\blacktriangle P<0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$ vs weak model (WM); $\bullet P<0.05$, $\bullet\bullet P<0.01$ vs strong model (SM). A, B, C: Control, mice treated by normal ways; WM (weak model), mice treated with diet restriction and cold-water swimming; WMER, WM mice treated with Evodia; WMCC, WM mice treated with Coptis; WMZJW, WM mice treated with Zuojinwan; WMFZJ, WM mice treated with Fanzuojinwan; SM (strong model), mice treated with high protein animal feeds; SMER, SM mice treated with Evodia; SMCC, SM mice treated with Coptis; SMZJW, SM mice treated with Zuojinwan; SMFZJ, SM mice treated with Fanzuojinwan

质模型复制成功。与模型组比较，药物增加动物在高温区分布，程度为黄连 > 左金丸 > 反左金丸 ≈ 吴茱萸；降低动物呼吸耗氧，顺序为黄连 > 左金丸 > 反左金丸 > 吴茱萸；提高 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶活性，顺序为吴茱萸 > 左金丸 > 黄连 > 反左金丸。这些结果提示，黄连、吴茱萸及其复方寒热药性变化顺序为：黄连(寒) → 左金丸 → 反左金丸 → 吴茱萸(热)。

综上所述，本文采用冷热板示差法，以宏观动物

行为学 (体重/饮食/温度趋向性) 为主要指标，辅以能量代谢相关指标 (耗氧量/ $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶活性)，观察“寒、热”模型动物在药物干预之后的行为、意志、能量代谢的改变，并根据中医“制热以寒，制寒以热”理论，演绎推测药物的四性赋值，结果与传统本草记载一致^[25]。可以溯见，本研究所采用的研究方法思路更接近于千百年来中医药临床疗病实践和理论思维方法实际；为阐释中药寒热药性差异的客观真实性提供了新的科学依据，并为中药寒热药性及其他中医药基础理论研究提供了新的技术手段和理论尝试。

References

- [1] Xiao XH. Speculating about scientific investigation on nature of Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2008,39:481-484.
- [2] Huang JS, Bai JC, Huang GL, et al. Determining blood parameters FT3, FT4, T, E2 and cortisol to explore nature of Cold Syndrome and Heat Syndrome [J]. Chin J Integr Med (中国中西医结合杂志), 2002, 22: 113-115.
- [3] Wang JB, Jin C, Xiao XH. Review and thinking of study of nature of Chinese material medica [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2008, 23: 572-576.
- [4] Zhu DZ, Wei X, Zhao L, et al. Effect of sour-flavor Chinese Herbal Formula on cell apoptosis and gene expression in diabetes mellitus type 2 rat model [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2006, 17: 21-24.
- [5] Yang Z, Zhang YO, Huang WX, et al. Application of genomics and biochip technology in research and development of Chinese materia medica [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2002, 37: 490-496.
- [6] Tan CE, Li WH, Tang ZH, et al. Screening and identification of functional gene sets in aged kidney-yang deficiency syndrome: cDNA microarray assay [J]. Liaoning J Tradit Chin Med (辽宁中医杂志), 2008, 35: 1444-1441.
- [7] Shen ZY, Zhang XM, Lin W, et al. Establishment of a quantitative mathematical model of Shen-deficiency Syndrome based on whole genome transcriptional profiles [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med (中国中西医结合杂志), 2008, 28: 131-134.
- [8] Shen ZY, Huang JH, Chen WH. Comparison of gene expression profiles between rats of Shen Deficiency Syndrome and Shen-yang Deficiency Syndrome differentiated according to therapeutic efficacy of drugs used [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med (中国中西医结合杂志), 2007, 27: 126-129.
- [9] He Y, Pao SZ, Xu HB. The establish of Shen Deficiency

- Syndrome model and change of pathology [J]. J Shanxi Coll Tradit Chin Med (山西中医学院学报), 2008, 9: 55-57.
- [10] Yang L, Zhu BD, Peng C. Study on developing the standard animal model of blood deficiency syndrome [J]. Lab Anim Sci Administ (实验动物科学与管理), 2006, 23: 5-9.
- [11] Xiao XH, Jin C, Zhao YL. Biothermodynamics expression for the pharmacotendency of traditional Chinese drugs and its applications [J]. J US-China Med Sci (美中医学), 2006, 3: 1-7.
- [12] Yu HM, Zhou HZ, Xiao XH, et al. Advances and prospects of four properties of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med (中国中医基础医学杂志), 2001, 7: 621-624.
- [13] Yu HM, Xiao XH, Liu TS, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine (I): comparing the nature of Dried Ginseng and Red Ginseng based on microcalorimetry [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2002, 27: 393-396.
- [14] Zhou SH, Xiao XH, Zhao YL. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine: comparison of properties of Zuojinwan and Fanzuojin by microcalorimetry [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2004, 29: 1183-1186.
- [15] Zhou SH, Pan WJ, Xiao XH, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese materia medica—Comparison of different preparation properties of Coptidis Rhizoma by microcalorimetry [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 25: 1230-1232.
- [16] Yin XG. Modern science value of matter transformation theory of traditional Chinese medicine [J]. Discov Nat (大自然探索), 1998, 17: 107-111.
- [17] Zhou CP, Wang JB, Zhang XR, et al. Investigation on the differences between COLD and HOT nature of *Coptis chinensis* Franch and its processed material based on animal's temperature tropism [J]. Sci Sin C (中国科学 C 辑), 2009, 39: 621-716.
- [18] Cheng XH, Tian DF, Liu XH, et al. Effect of Yiqi Jiedu decoction on free radical metabolism in mice with Qi Deficient constitutional status induced by exhaustive swimming [J]. J Hunan Univ Tradit Chin Med (湖南中医药大学学报), 2007, 24: 712-714.
- [19] Aguiar P, Mendonça L, Galhardo V, et al. OpenControl: a free opensource software for video tracking and automated control of behavioral mazes [J]. J Neurosci Methods, 2007, 166: 66-72.
- [20] Wang LZ, Li XC, Sun T. Preferred temperature, avoidance temperature and lethal temperature of tadpoles of the common giant toad (*Bufo gargarizans*) and the Chinese forest frog (*Rana chensinensis*) [J]. Chin J Zool (动物学杂志), 2006, 3: 1-7.
- [21] Liu JS, Wang DH, Sun RY. Metabolism and thermoregulation in three species of rodent from Northeastern China [J]. J Thermal Biol, 2004, 29: 177-183.
- [22] Liu JS, Wang DH, Sun RY. Climatic adaptations in metabolism of four species of small birds in China [J]. Acta Zool Sin (动物学报), 2005, 51: 24-30.
- [23] Zhang HF, Liu XC, Wang YX, et al. Effects of temperature, salinity and pH on hatch and larval activity of *Epinephelus coioides* [J]. J Trop Oceanograph (热带海洋学报), 2006, 25: 31-36.
- [24] Székely M, Pétervári E, Balaskó M, et al. Effects of orexins on energy balance and thermoregulation [J]. Regul Pept, 2002, 104: 47-53.
- [25] Gao XS. Theory of Properties of Traditional Chinese Medicine (中药药性论) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1992: 118.