

· 药物研究 ·

# 微量热法考察“配伍-煎煮”顺序对 左金丸与反左金药性的影响\*

孔维军<sup>1,2</sup>, 赵艳玲<sup>1</sup>, 山丽梅<sup>1</sup>, 肖小河<sup>1</sup>, 郭伟英<sup>2</sup>, 刘 军<sup>1</sup>

(1. 解放军第 302 医院全军中药研究所, 北京 100039; 2. 辽宁医学院药学院, 锦州 121001)

**[摘要]** 目的 从生物物理与生物化学的角度, 探讨黄连和吴茱萸“配伍-煎煮”顺序对左金丸和反左金药性的影响。方法 采用微量热法, 测定大肠埃希菌在黄连和吴茱萸“配伍-合煎”组及“分煎-配伍”组的左金丸和反左金水煎液作用下的生长热谱曲线, 获得相应的生物热动力学参数。根据热动力学模型, 拟合药物的  $k \sim c$  和  $I\% \sim c$  关系, 定量计算药物的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ )。结合本草文献报道, 分析“配伍-煎煮”顺序对左金丸和反左金药性的影响。结果 黄连和吴茱萸“配伍-煎煮”顺序对左金丸和反左金药性有一定影响。反左金对细菌生长有促进作用, 而左金药液均能抑制细菌的生长, “分煎-配伍”组左金丸水煎液的  $IC_{50}$  ( $5.63 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 明显小于“配伍-合煎”组左金丸水煎液的  $IC_{50}$  ( $7.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。表明“分煎-配伍”组的药物对大肠埃希菌的抑制作用强于“配伍-合煎”组。结论 微量热法可用于考察黄连和吴茱萸“配伍-煎煮”顺序对左金丸和反左金药性的影响。

**[关键词]** 左金丸; 反左金; “配伍-煎煮”顺序; 药性; 微量热法**[中图分类号]** R286; R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2008)11-1287-05

## Influence of Compatibility-Decoction Sequence on Medical Property of Zuojinwan and Fanzuojin by Microcalorimetry

KONG Wei-jun<sup>1,2</sup>, ZHAO Yan-ling<sup>1</sup>, SHAN Li-mei<sup>1</sup>, XIAO Xiao-he<sup>1</sup>, GUO Wei-ying<sup>2</sup>, LIU Jun<sup>1</sup> (1. PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China; 2. School of Pharmacy, Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, China)

**ABSTRACT Objective** To investigate the influence of the sequence of "compatibility-decoction" for *rhizoma coptidis* and *fructus evodiae* on medical property of *zuojinwan* and *fanzuojin* based on biophysics and biochemistry. **Methods** Microcalorimetry was used to analyze the thermogenic curves and parameters of *Escherichia coli* growth affected by *zuojinwan* and *fanzuojin* solution. In accordance with thermokinetic model, the relationships between  $k \sim c$  and  $I\% \sim c$  of the drugs were fitted and  $IC_{50}$  were quantitated. The influence of the sequence of "compatibility-decoction" on medical property of *zuojinwan* and *fanzuojin* was evaluated based on the literatures of ancient herbal. **Results** The growth of *Escherichia coli* was improved by decoctions of *fanzuojin*, however inhibited by *zuojinwan*.  $IC_{50}$  of *zuojinwan* in "separated decoction-compatibility" group ( $5.63 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) was lower than that of "compatibility-combined decoction" group ( $7.40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), which showed that the decoction of *zuojinwan* in "separated decoction-compatibility" group was more effective. **Conclusion** Microcalorimetry can be used to evaluate the influence of the sequence of "compatibility-decoction" for *rhizoma coptidis* and *fructus evodiae* on the medical property of *zuojinwan* and *fanzuojin*.

**KEY WORDS** *Zuojinwan*; *Fanzuojin*; Compatibility-decoction; Drug property; Microcalorimetry

“黄连-吴茱萸”药对已有悠久的历史, 而且这一药对配伍比例的变化也会引起功效上的显著改变<sup>[1-3]</sup>。古方中的左金丸(6:1)和反左金(1:6),

即是通过改变该药对配伍比例而得来, 分别主治胃实热证和胃寒证, 这一配伍比例体现了中医经典类方“形似而神不同”的实质。现代临床应用也证明, 调整黄连、吴茱萸的用量比例, 可用于治疗多种与脾胃功能失调有关的疾病, 如胃脘痛、腹痛、呕吐、呃逆、泄泻、便秘、痢疾、反酸暖气、痞满等<sup>[4]</sup>。近年来, 对“黄连-吴茱萸”药对的物质基础进行了较多的研究, 得出了黄连与吴茱萸配伍后可使黄连中生物碱溶出率降低的结论<sup>[5-7]</sup>, 其中文献<sup>[5, 6]</sup>进一步证实了黄连与吴茱萸配伍后各种黄连生物碱的溶出率与黄连用量成相同比例下降。中医复

**[收稿日期]** 2008-01-04**[基金项目]** \* 国家自然科学基金资助项目(基金编号: 30772740); 军队十一五自然基金(基金编号: 06MA360)**[作者简介]** 孔维军(1982-), 男, 河南信阳人, 硕士, 研究方向: 药物新剂型与新型给药系统。电话: 010-66933324, E-mail: kongwj302@126.com。**[通讯作者]** 赵艳玲, 电话: 010-66933324, E-mail: zhao2855@263.net。

方的得来多采用单药先配伍后共煎的方式,由于药材在共煎过程中影响因素众多,如黄连组分和吴茱萸组分之间的相互作用对溶解度的影响、药渣对组分的吸附作用、可能发生的化学反应等,因此对吴茱萸存在时黄连生物碱溶出率降低的真正原因尚无合理解释,为了消除药材共煎过程中黄连组分和吴茱萸组分之间的相互作用对溶解度的影响以及药渣对组分的吸附作用,潘良胜等<sup>[8]</sup>设计了黄连和吴茱萸药材先分煎,然后再用分煎液配伍的思路,研究了配伍后主要组分的含量变化规律,结果表明黄连水煎液和吴茱萸水煎液配伍后色谱峰具有加和性,吴茱萸中主要组分含量未见明显变化,黄连生物碱的含量下降,下降最多可达 15.1%。这一结论也提示“黄连-吴茱萸”药对的“配伍-煎煮”顺序对单味药的成分溶出有一定的影响,那么这一影响对复方的药性又会产生什么样的作用呢?为此,笔者在本实验中选用微量热法<sup>[9-12]</sup>考察了黄连和吴茱萸“配伍-合煎”组及“分煎-配伍”组的左金丸和反左金水煎液对大肠埃希菌生长代谢的影响<sup>[13,14]</sup>,以期为这两味药配伍理论及药性理论研究提供依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 仪器** 采用瑞典 Thermometric 公司产的 TAM Air Isothermal Calorimeter 进行细菌代谢热谱图测定。该热活性检测仪配置 Pico TC-80 数据采集和分析软件,可同时独立测定 8 个样品。其热稳定性好,恒温工作范围为 5 ~ 60 ℃,波动 ±0.02 ℃,热功率最小检测限为 2 μW,24 h 基线漂移 ≤ 2 × 10<sup>-7</sup> W。其他有关仪器结构原理及操作详见文献<sup>[15]</sup>,实验时系统控温度于 37 ℃。

**1.2 材料** 菌株:大肠埃希菌 (*Escherichia coli* CMCC B44103, *E. coli*,由中国药品生物制品检定所提供)。培养基:LB 液体培养基,取氯化钠(NaCl)10 g,酵母膏5 g,蛋白胨 10 g,溶解于 1 000 mL 去离子水中,调节 pH 值至 7.0 ~ 7.2 后分装。121 ℃ 高压蒸气灭菌 30 min,冷却后置于 -4 ℃ 冰箱中保存备用。样品:黄连、吴茱萸产于四川,购自河北祁新中药颗粒饮片有限公司,并经解放军第 302 医院肖小河研究员鉴定确认为 *Coptis chinensis* Franch. 和 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth., 无菌水配制药品,所有试剂均为分析纯。

类方的制备:①“配伍-合煎”组:按左金丸(黄连:吴茱萸 = 6 : 1)和反左金(黄连:吴茱萸 = 1 : 6)的配伍比例称取生药材 210 g,10 倍量去离子水浸泡 60 min,煎煮 60 min,共煎 3 次,合并煎煮液,浓缩干燥得干膏;②“分煎-配伍”组:黄连和吴茱萸药材的称重同①,分别加入 10 倍量去离子水浸泡 60 min,单

煎 60 min,共煎 3 次,合并煎煮液,与 100 ℃ 水浴共煎 60 min,浓缩干燥得干膏。

样品配制:溶剂为无菌水,配制成左金丸和反左金均为相当于生药 150 mg · mL<sup>-1</sup> 终浓度的混悬液。

**1.3 实验方法** 采用安瓿法。在无菌条件下,向参比池各 20 mL 安瓿瓶内分别加入 5 mL 已灭菌去离子水作为参比;反应池各安瓿瓶中精确加入 5 mL 培养基,接种大肠埃希菌混悬液,接种量为 1 × 10<sup>6</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>,加入不同量药液(各瓶中药液终浓度分别为 0,0.75,1.50,3.00,4.50,6.00,7.50 和 9.00 mg · mL<sup>-1</sup>),加盖瓶塞,密封。上述均为无菌操作。放入微量热仪中跟踪记录大肠埃希菌生长代谢的“Power-time”曲线,控温于 37 ℃,当曲线重新返回基线时,实验结束。

### 2 结果

**2.1 大肠埃希菌正常生长代谢热谱曲线** 在 37 ℃ 时,安瓿法测定了 8 个通道安瓿瓶内大肠埃希菌正常生长代谢热谱曲线。细菌的生长曲线共分为 4 期:指数生长期、停滞期、恢复期和衰亡期。在细菌的指数生长期中,有:  $P_t = P_0 \exp(kt)$  或  $\ln P_t = \ln P_0 + kt(1)$ ,  $P_0, P_t$  分别是细菌在指数生长的起始点和  $t$  时热功率。将热谱曲线上指数生长期的  $P_t, t$  值带入式(1)中,用计算机进行线性拟合得到 8 个通道安瓿瓶内大肠埃希菌正常生长代谢的生长速率常数  $k$  (见表 1)。由表 1 可得,  $k = (0.03875 \pm 0.0011) \text{ min}^{-1}$ , 相关系数  $R$  均大于 0.995 0,可见结果有良好的重现性和相关性。

表 1 8 个通道安瓿瓶内大肠埃希菌正常生长代谢的生长速率常数 37 ℃

通道	$K/\text{min}^{-1}$	$R$	通道	$K/\text{min}^{-1}$	$R$
1	0.038 9	0.997 6	5	0.038 7	0.998 5
2	0.039 1	0.995 7	6	0.039 0	0.997 8
3	0.038 4	0.998 4	7	0.038 2	0.995 9
4	0.038 4	0.996 9	8	0.039 3	0.997 3

**2.2 左金丸及反左金作用下大肠埃希菌生长代谢热谱曲线** 在 37 ℃,安瓿法测定了不同“配伍-煎煮”的左金丸及反左金药液作用下大肠埃希菌的生长代谢热谱曲线,“配伍-合煎”组见图 1,2;“分煎-配伍”组见图 3,4。图谱显示,“配伍-合煎”组和“分煎-配伍”组左金丸药液均能抑制大肠埃希菌的生长代谢,随着药液浓度的增大,抑菌作用增强,表现为:相对于空白对照,最高峰的出峰时间  $t_m$  延后,最大发热功率  $P_m$  降低,随着药液浓度 ( $C$ ) 的增加,  $t_m$  逐渐增加、 $P_m$  逐渐减小,而且“分煎-配伍”组这种抑制作用的强度更大,趋势更明显;反左金药液对大肠埃希菌生长代谢有不同程度的促进作用,随着

药液浓度的增大,促菌作用增强,表现为:相对于空白对照,最高峰的出峰时间  $t_m$  提前,最大发热功率  $P_m$  升高,随着药液浓度 ( $C$ ) 增加,  $t_m$  逐渐减小、 $P_m$  逐渐增大,而且“分煎-配伍”组这种促菌作用更强,趋势更明显。以上结果提示:黄连和吴茱萸“配伍-煎煮”顺序对左金丸和反左金丸的促菌和抑菌作用有较大的影响。

图 1 不同浓度“配伍-合煎”左金丸药液作用下大肠埃希菌生长代谢曲线

a-空白, b-0.75 mg · mL<sup>-1</sup>, c-1.50 mg · mL<sup>-1</sup>, d-3.00 mg · mL<sup>-1</sup>, e-4.50 mg · mL<sup>-1</sup>, f-6.00 mg · mL<sup>-1</sup>, g-7.50 mg · mL<sup>-1</sup>, h-9.00 mg · mL<sup>-1</sup>

图 2 不同浓度“配伍-合煎”反左金药液作用下大肠埃希菌生长代谢曲线

a-空白, b-0.75 mg · mL<sup>-1</sup>, c-1.50 mg · mL<sup>-1</sup>, d-3.00 mg · mL<sup>-1</sup>, e-4.50 mg · mL<sup>-1</sup>, f-6.00 mg · mL<sup>-1</sup>, g-7.50 mg · mL<sup>-1</sup>, h-9.00 mg · mL<sup>-1</sup>

图 3 不同浓度“分煎-配伍”左金丸药液作用下大肠埃希菌生长代谢曲线

a-空白, b-0.75 mg · mL<sup>-1</sup>, c-1.50 mg · mL<sup>-1</sup>, d-3.00 mg · mL<sup>-1</sup>, e-4.50 mg · mL<sup>-1</sup>, f-6.00 mg · mL<sup>-1</sup>, g-7.50 mg · mL<sup>-1</sup>, h-9.00 mg · mL<sup>-1</sup>

图 4 不同浓度“分煎-配伍”反左金药液作用下大肠埃希菌生长代谢曲线

a-空白, b-0.75 mg · mL<sup>-1</sup>, c-1.50 mg · mL<sup>-1</sup>, d-3.00 mg · mL<sup>-1</sup>, e-4.50 mg · mL<sup>-1</sup>, f-6.00 mg · mL<sup>-1</sup>, g-7.50 mg · mL<sup>-1</sup>, h-9.00 mg · mL<sup>-1</sup>

### 2.3 药物作用下大肠埃希菌生长代谢的热力学参数

将由热谱曲线上得到的细菌指数生长期的  $P_1$ ,  $t$  值带入式(1)中,求得药物作用下大肠埃希菌指数生长期的生长速率常数  $k$ 。大肠埃希菌在左金丸及反左金作用下的生长速率常数  $k_m$ 、最大发热功率  $P_m$ 、最高峰出峰时间  $t_m$  见表 2。

**2.4 细菌生长抑制率 ( $I$ ) 和半抑制率浓度 ( $IC_{50}$ )** 细菌生长抑制率 ( $I$ ) 定义为:  $I(\%) = [(k_1 - k_2) / k_1] \times 100\%$  (2)。式中,  $k_1$  为空白对照组细菌的生长速率常数,  $k_2$  为试药组的生长速率常数。  $IC_{50}$  即为抑制率为 50% 时的药物浓度,  $IC_{50}$  可用来衡量细菌对药物的敏感性,  $IC_{50}$  越小,表明细菌对药物越敏感,即抑菌作用越强<sup>[16]</sup>。左金丸在不同浓度下对大肠埃希菌的生长抑制率  $I(\%)$  及  $IC_{50}$  见表 2。表 2 数据显示,两组左金丸药液具有较强的抑菌作用,而且随着药液浓度的增加,抑菌作用增强,“分煎-配伍”组左金丸药液的  $IC_{50}$  (5.63 mg · mL<sup>-1</sup>) 明显小于“配伍-合煎”组左金丸药液的  $IC_{50}$  (7.40 mg · mL<sup>-1</sup>),表明“分煎-配伍”组左金丸药液的抑菌作用更强。两组反左金药液对大肠埃希菌的生长代谢具有促进作用,所以  $IC_{50}$  未能求出,而且从  $k_m$ 、 $P_m$ 、 $t_m$  和  $I(\%)$  的数值上可以看出,“分煎-配伍”组反左金药液的促菌作用更强。

**2.5 生长速率常数  $k$  与药物浓度  $C$  的关系** 以大肠埃希菌指数生长期的生长速率常数  $k_m$  对左金丸及反左金药液浓度  $C$  进行线性拟合,得到大肠埃希菌在左金丸及反左金不同浓度药液作用下的  $k$ - $C$  曲线,见图 5。

**2.6 细菌生长抑制率  $I(\%)$  与药物浓度  $C$  的关系** 以细菌生长抑制率  $I$  对左金丸及反左金药液浓度  $C$  进行线性拟合,得到大肠埃希菌在左金丸及反左金不同浓度药液作用下的  $I$ - $C$  曲线见图 6。

表2 药物作用下大肠埃希菌生长代谢热力学参数

方法与组方	$C/$ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$k_m/$ min	$P_m/$ mW	$t_m/$ min	$I/$ %	$IC_{50}/$ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
空白	0	0.039 9	8.505	637.0	0	
配伍-合煎	0.75	0.031 9	8.569	640.7	20.1	7.40
左金丸	1.50	0.029 5	8.417	635.7	26.1	
	3.00	0.026 0	8.389	664.0	33.3	
	4.50	0.023 5	8.261	687.3	41.1	
	6.00	0.021 2	8.198	715.7	46.9	
	7.50	0.019 6	8.121	754.0	51.0	
	9.00	0.017 4	8.021	760.7	56.4	
	反左金	0.75	0.047 6	8.896	630.7	-19.3
反左金	1.50	0.051 0	9.053	628.3	-27.8	
	3.00	0.053 4	9.080	627.3	-33.8	
	4.50	0.056 9	9.168	625.7	-42.6	
	6.00	0.058 7	9.203	622.3	-41.7	
	7.50	0.059 4	9.182	620.7	-48.9	
	9.00	0.062 2	9.226	617.3	-55.9	
	分煎-配伍					
左金丸*	0.75	0.027 32	8.451	657.3	29.7	5.63
	1.50	0.025 17	8.342	654.0	35.3	
	3.00	0.023 54	8.273	669.0	39.5	
	4.50	0.021 06	8.265	697.3	45.8	
	6.00	0.018 49	8.138	709.0	52.4	
	7.50	0.016 35	7.947	734.0	57.9	
	9.00	0.013 89	6.793	742.3	64.3	
反左金*	0.75	0.039 79	8.588	652.3	-2.3	
	1.50	0.040 69	8.591	647.3	-4.7	
	3.00	0.041 48	8.629	632.3	-6.7	
	4.50	0.042 11	8.614	629.0	-8.3	
	6.00	0.043 87	8.693	629.0	-10.3	
	7.50	0.044 86	9.229	622.3	-15.4	
	9.00	0.046 77	9.687	610.7	-20.3	

### 3 讨论

本实验提出了一个研究中药配伍的新思路,即先对单味药材进行煎煮,然后对单煎液进行配伍研究。这一思路可以消除药材共煎过程中黄连组分和吴茱萸组分之间的相互作用对溶解度的影响,以及药渣对组分的吸附作用,对研究中药物质基础、弄清中药配伍规律具有重要的意义。

对“配伍-合煎”组和“分煎-配伍”组的左金丸及反左金作用于大肠埃希菌的热谱曲线进行研究,结果表明,左金丸具有较强的抑菌作用,反左金促进细菌的生长,即寒凉药方左金丸能使细菌代谢热的输出显著减少,而温热药方反左金使细菌代谢热的输出显著增加。这与本草文献报道左金丸性为寒凉、反左金性为温热一致,也与以往四性药理作用研究的结果相印证,即温热药一般能提高中枢神经系统的兴奋性,促进呼吸循

环和代谢活动;寒凉药能降低中枢神经系统的兴奋性,减弱呼吸循环和代谢活动。而且两组药液的这种抑菌和促菌作用具有明显的差别,“分煎-配伍”组左金丸药液的抑菌作用和反左金的促菌作用明显强于“配伍-合煎”组,推测其原因可能是合煎时吴茱萸中的组分引起了黄连生物碱的溶解度降低,活性成分溶出减少<sup>[8]</sup>。

传统的中药配方和研制大多采用“配伍-合煎”的方式,而本研究结果表明,中药的“配伍-煎煮”顺序对复方的药性有很大的影响,这也给实际生产开发以启示,在生产黄连和吴茱萸的中成药时,在工艺设计中应考虑“配伍-煎煮”方式和顺序对药物主成分溶出及药性的影响。

采用微量热法研究中药及复方的药性是笔者在中医药传统理论的指导下,结合生物热力学的先进技术所做的有益尝试。研究证明,该方法科学可行,突破了传

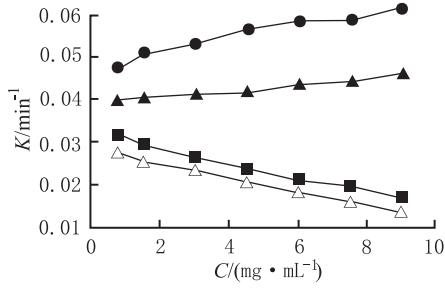


图 5 大肠埃希菌在 4 种药液作用下的 K-C 曲线

—■—左金丸;—●—反左金;—▲—左金丸\*;—△—反左金\*

①“配伍-合煎”组:左金丸作用于大肠埃希菌的 k-C 曲线:  $k = -0.0017C + 0.032$ ,  $r = 0.9883$ ;反左金作用于大肠埃希菌的 k-C 曲线:  $k = 0.0016C + 0.0481$ ,  $r = 0.9767$ ;②“分煎-配伍”组:左金丸\*作用于大肠埃希菌的 k-C 曲线:  $k = 0.0016C + 0.0281$ ,  $r = 0.9981$ ;反左金\*作用于大肠埃希菌的 k-C 曲线:  $k = 0.0008C + 0.0391$ ,  $r = 0.9893$

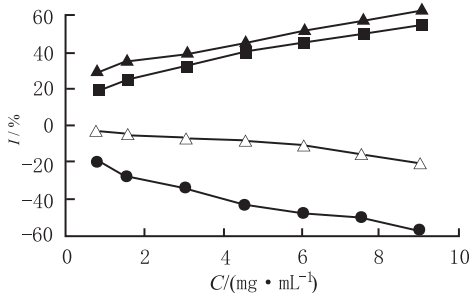


图 6 大肠埃希菌在 4 种药液作用下的 I-C 曲线

—■—左金丸;—●—反左金;—▲—左金丸\*;—△—反左金\*

①“配伍-合煎”组:左金丸作用于大肠埃希菌的 I-C 曲线:  $I = 4.3022C + 17.74$ ,  $r = 0.9910$ ;  $IC_{50} = 7.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;②“分煎-配伍”组:左金丸\*作用于大肠埃希菌的 I-C 曲线:  $I = 4.0597C + 27.27$ ,  $r = 0.9980$ ;  $IC_{50} = 5.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。由 I-C 曲线求得的  $IC_{50}$  与表 2 中  $IC_{50}$  值基本吻合

统中药复方药性研究中思想和方法的局限性,是定性定量刻画医学经典类方药性客观差异的有效手段,为祖国中医经典类方的研究提供了新的思路和方法。

[参考文献]

[1] 杨威,金香兰,于有华,等. 黄连与吴茱萸配伍比例与功能关系的相关性分析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(11):49-51.  
 [2] 黄兆胜,李盛青,何丽春,等. 黄连与吴茱萸的不同比例配伍对大鼠红细胞膜 ATP 酶活性的影响[J]. 中药药理

与临床, 2001, 17(5):1-2.

[3] 沈涛,蒋通荣. 黄连配伍吴茱萸对大鼠红细胞内谷胱甘肽含量的影响[J]. 四川中医,2006,24(6):16-17.  
 [4] 李盛青,刘国平. 左金丸药理与应用[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(5):471-472.  
 [5] 叶富强,徐颂芬. 黄连与吴茱萸配伍比例对黄连生物碱含量的影响[J]. 河北中医, 2000,22(5):397-399.  
 [6] 彭明兴,吴永江,程翼宇. 黄连与吴茱萸配伍时黄连中主要化学组分溶出率变化规律研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7):629-630.  
 [7] 修彦凤,徐德生,冯怡,等. 不同用量的吴茱萸炮制黄连后成分的比较[J]. 中草药,2003, 34(4):320-322.  
 [8] 潘良胜,徐晓梅,吕秀阳,等. 黄连与吴茱萸分煎后配伍时主要组分含量变化规律研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(4):258-261.  
 [9] 余惠雯,肖小河,刘塔斯,等. 中药四性的生物热力学研究—参叶和参花药性的微量热学比较[J]. 中草药, 2001, 32(10):910-913.  
 [10] LIU Y, LI X, QU S S, et al. Microcalorimetric investigation of the toxic action of Cd<sup>2+</sup> on Rhizopus nigricans growth [J]. J Biochem Biophys Methods, 2000, 45:231-239.  
 [11] 周韶华,潘五九,肖小河,等. 中药四性的生物热力学研究—黄连不同炮制品药性的微量热学比较[J]. 中草药, 2004, 35(11):1230-1232.  
 [12] LI X, LIU Y, WU J, et al. Microcalorimetric study of Staphylococcus aureus growth affected by selenium compounds[J]. Thermochim Acta, 2002, 387:57-61.  
 [13] 李向阳,从东俊,于静涛,等. 微量热法测定芦荟对大肠埃希菌的代谢作用研究[J]. 中国卫生检验杂志,2002, 12(1):44-45.  
 [14] 黄旭军,李强国,刘汉胜,等. 微量热法研究不同产地的大黄对大肠埃希菌生长代谢的影响[J]. 湘南学院学报(医学版), 2006,8(4):14-15.  
 [15] WADSO I. Microcalorimetric techniques for characterization of living cellular systems-Will there be any important practical application? [J]. Thermochim Acta, 1995, 269-270:337-350.  
 [16] LIU Y, LIANG H G, QU S S, et al. Kinetics of the action of Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> on bacillus subtilis growth as studied by microcalorimetry[J]. Chin J Chem, 2002, 20(12):1171.