维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)03-0380-04

复方烫疡油对兔耳瘢痕形成的影响

罗 聪[1],安 洪[1],刘传康[1],欧云生[1],杨正钦[2]

(1. 重庆医科大学附属第一医院骨科,2. 重庆医科大学药理学教研室 重庆 400016)

【摘 要】目的:观察复方烫疡油(FTY)对兔耳腹侧瘢痕形成的影响,探索其作用机制,为临床应用提供依据。方法:用 18 只新西兰大白兔耳部腹侧制作创伤模型,于每侧兔耳腹侧作四个创面,每个创面 1.2cm × 1.0cm 切除全层皮肤。获 144 个创面。将兔随机分为两组(A、B 组)。A 组全部右耳用 FTY 治疗;全部左耳用复方烫疡油赋形剂(灭菌的芝麻油)治疗;B 组全部右耳用磺胺嘧啶银霜治疗;全部左耳用生理盐水治疗。于创伤后 30,60,90 天分别取创面组织作组织学观察,并用免疫组织化学法检测Ⅰ、Ⅲ型胶原、转化生长因子-β1(TGF-β1);TUNEL 法定量检测组织细胞的凋亡指数。结果:FTY 组创面愈合时间较其它组提前约 1.5 天。创面增殖块中组织中Ⅰ、Ⅲ胶原比值、TGF-β1、细胞核增殖抗原(PCNA)表达较其它组低,凋亡指数 FTY 组明显高于其它组。结论:复方烫疡油不仅能促进创面愈合,而且能减少创面瘢痕形成。

【关键词】大黄素;创伤;瘢痕;愈合

【中国图书分类法分类号】R619+.6 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-12-10

Effects of Fu fang Tang Yang You on the formation of proliferation scars of rabbits

LUO Cong, et al

(*Department of Orthopaedic Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of Fu Fang Tang Yang You(复方烫疡油) on the formation of proliferation scars at the ventral side of the ear of rabbits and to explore its possible mechanism. *Methods*: 144 wounds at the ventral side of the ears of 18 New Zealand white rabbits were created, The area of each wound was 1.2cm × 1.0cm. The wounded rabbits were randomly divided into two groups (groups A and B). All the wounds on the right ears of the rabbits in group A were treated with FTY; and the wounds on the left with vegetable oil. All the wounds on the right ears of group B were treated with Sulfadiazine silver cream; and the wounds on the left with normal saline. Tissues from the wounds were examined respectively. 30d, 60d, 90d after injury. Each sample was immunohistochemically stained and examined TGF-β1, type of collagen Ⅰ、Ⅲ and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) monoclonal antibody were examined. The apoptosis index was calculated with TUNEL technique. *Results*: In FTY group, the time of wound healing was reduced by about 1.5 days; The expression of TGF-β1、PCNA in the tissues of the wounds was lower than that of the control group. Meanwhile, the apoptotic index of fibroblasts was obviously higher than that of the control group. *Conclusion*: FTY can promote wound healing with less scar formation.

【Key word】Emodin; Wound; Scar; Healing

创(烧)伤愈合后常遗留增生性瘢痕,造成机体形态改变和功能障碍,复方烫疡油是中医治疗烧烫伤、皮肤溃疡的验方,由虎杖、大黄等中药,经特殊炮制方法制作而成,临床观察发现其对各种皮肤创伤具有抗菌、抗炎、改善局部微循环,促进伤口愈合及减少瘢痕形成等作用,现已知兔耳腹侧创面可以产生类似人类增生性瘢痕样的病理改变[1],故本实验旨在通过实验观察复方烫疡油对兔耳瘢痕模型形成过程中的影响,为临床防治创面瘢痕形成提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

作者介绍:罗 聪(1966-),男,主治医师,博士,主要研究方向:骨修复和重建材料研究。

基金项目:重庆大学研究生教育创新基金(2004A028)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

选用新西兰大白兔 18 只（重庆医科大学动物实验中心提供）雌雄不限。体重 2.0~3.0kg，用速眠新（长春农牧大学兽医研究所），肌注麻醉，每侧兔耳腹侧作四个创面，1.2cm × 1.0cm，切除皮肤全层及软骨，获 144 个创面。然后，随机分成两组（A、B 组）。A 组（FTY 组）全部右耳即刻用 FTY 外涂治疗，全部左耳用 FTY 赋形剂（芝麻油组）外涂治疗；B 组全部右耳（磺胺组）用磺胺嘧啶银霜外涂治疗，全部左耳（盐水组）用生理盐水外涂治疗。每天分别用上述药物各 200mg 治疗 1 次。

1.2 观察指标与方法

1.2.1 大体观察 创面愈合以创面完全上皮化边缘为界，计算创面残留面积。创面未愈合之前，每隔 2 天，用透明膜描绘创面残留面积[1]，用求积仪（地方国营哈尔滨光学仪器厂 QCG-1 型）测量面积。

1.2.2 组织学及免疫组织化学观察 创伤后第 30、60、90 天，每次每组杀兔 3 只，兔耳取材观察。

1.2.2.1 兔耳创面增生块相对增生厚度，按全层皮肤缺损创面厚度 $H = d - (b + c)/a$[2]。

1.2.2.2 创面组织块用 HE 染色观察创面组织情况。

1.2.2.3 创面组织块用免疫组织化学法测定Ⅰ、Ⅲ型胶原、TGF-β1、PCNA。

1.2.2.4 创面组织块用 TUNEL 法检测组织细胞凋亡情况。

1.2.3 图像分析 采用重庆大学 TIGER920G 图像分析软件系统，对免疫组织化学测定结果作半定量分析。并测定组织细胞各期凋亡指数。

1.2.3.1 Ⅰ、Ⅲ型胶原、TGF-β1 的免疫组化染色后，切片用物镜放大 20 × 10 倍，每张切片随机测定 5 个视野，测出Ⅰ、Ⅲ型胶原、TGF-β1 阳性染色密度，取 5 个视野均值作为结果。

1.2.3.2 PCNA 和凋亡测定 用免疫组织化学法测定 PCNA。用 TUNEL 法定量检测组织细胞的凋亡。用高倍镜下数 200 个细胞，计数阳性染色细胞数计算阳性率。

1.2.4 统计学处理 所获资料用 SAS.11.5 统计软件作统计处理。所有数据用均数 + 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用重复测量方差分析和单因素方差分析（One-Way ANOVA）。$P < 0.05$ 为差异有显著统计学意义。

2 结 果

2.1 大体观察

各组兔耳创面逐渐愈合，FTY 组愈合时间最短，60%创面愈合时间平均 6.17 ± 0.22 天，90%创面愈合时间平均 12.19 ± 0.60 天，经重复测量方差分析（Q 检验），与其它组有显著差异。详见（表 1）。各组创面愈合处皮肤均有增厚和未见增厚者，增加程度不均。兔耳增生性瘢痕为明显可触及的圆形斑块、质硬、淡红色。90 天兔耳增生性瘢痕平均厚度：FTY 组 0. 24 ± 0.01cm，磺胺组 0.52 ± 0.03cm，赋形剂组 0.54 ± 0.03cm，盐水组 0.58 ± 0.03cm。FTY 组创面皮肤厚度低于其它组，有显著性差异（$P < 0.05$），见（表 2）。

表 1 兔耳创面愈合率与愈合时间关系

组别	创面数	愈合时间（天）	
		愈合 60%	愈合 90%
FTY组	36	6.17 ± 0.22	12.19 ± 0.60
磺胺组	36	8.42 ± 0.47	13.65 ± 0.27
赋形组	36	8.86 ± 0.49	13.76 ± 0.63
盐水组	36	7.98 ± 0.14	13.98 ± 0.93

将凋亡指数按公式 $2\mathrm{Sin}^{-1}\sqrt{P}$ 转换（P 值为凋亡指数原始数据的分数转换而成的弧度），经重复测量方差分析（Q 检验）。FTY 组 60%和 90%创面愈合平均时间，与其它组有显著差异（$P < 0.01$）。

表 2 兔耳创面瘢痕不同时间增生厚度（cm）

组别	创面数	创伤后时间（天）		
		创伤后 30 天	创伤 60 天	创伤后 90 天
FTY组	36	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0. 24 ± 0.01
磺胺组	36	0.38 ± 0.01	0.48 ± 0.04	0.52 ± 0.03
赋形组	36	0.40 ± 0.03	0.50 ± 0.03	0.54 ± 0.03
盐水组	36	0.41 ± 0.03	0.52 ± 0.03	0.58 ± 0.03

单因素方差分析（Q 检验）。FTY 组 90 天兔耳增生性瘢痕平均厚度低于其它组，有显著性差异（$P < 0.01$）。

2.2 组织学检查

兔耳增生块 HE 染色下观察，增生块以真皮组织增生为主，真皮下有大量成纤维细胞及胶原组织。真皮浅层见结节或漩涡状胶原，FTY 组创面渗出物少、炎症相对较轻，光镜下炎性细胞数目相对较少。

2.3 免疫组织化学检测

兔耳增生性瘢痕Ⅰ型胶原纤维较粗，呈棕黄色，排列密度高，呈漩涡状（图 1）。Ⅲ型胶原表达较细，呈网状（图 2）。FTY 组Ⅰ、Ⅲ型胶原比例明显低于其它组，有显著性差异（表 3）。TGF-β1 检测提示：TGF-β1 表达的位置主要位于表皮颗粒层、棘层、基底层及大量成纤维细胞中。TGF-β1 与 PCNA 表达成正相关，两者均明显低于其它组，有显著性差异（$P < 0.05$）（表 4）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

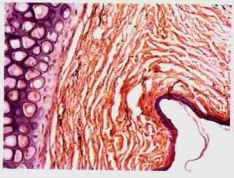


图 1 Ⅰ型胶原纤维免疫组化图

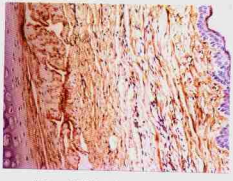


图 2 Ⅲ型胶原纤维免疫组化图

表 3 兔耳创面瘢痕Ⅰ、Ⅲ型胶原免疫组织化学检测

组别	创面数	Ⅰ、Ⅲ型胶原（面密度）比例		
		30天	60天	90天
		Ⅰ/Ⅲ	Ⅰ/Ⅲ	Ⅰ/Ⅲ
FTY组	36	2.31 ± 0.11	1.55 ± 0.06	1.25 ± 0.05
磺胺组	36	2.67 ± 0.14	2.67 ± 0.13	2.38 ± 0.14
赋形组	36	2.78 ± 0.16	2.73 ± 0.19	2.48 ± 0.14
盐水组	36	1.73 ± 0.09	2.60 ± 0.24	2.71 ± 0.12

单因素方差分析（Q 检验）。FTY 组Ⅰ、Ⅲ型胶原比例明显低于其它组，有显著性差异（$P<0.01$）。

2.4 PCNA 免疫组化检测

PCNA 阳性细胞表达的位置主要位于表皮颗粒层、棘层、基底层及大量成纤维细胞中。与 TGF-β1 表达的位置相对应。周围正常皮肤表皮颗粒层内 PCNA 阴性，基底间层及成纤维细胞中有 PCNA 标记。FTY 组 PCNA 阳性细胞标记率，明显低于其它组，平均标记率 28.03 ± 1.32%（30 天），24.55 ± 2.94%（60 天），22.42 ± 2.22%（90 天）。其它组平均标记率见（表 4）。FTY 组与其它组之间均有显著差异（$P<0.01$）（表 4）。

2.5 细胞凋亡检测

结果提示（表 5）：凋亡细胞标记率 60 天时最高，凋亡标记细胞主要位于真皮层及真皮下层。FTY 组在各时期凋亡细胞标记率均明显高于其它组，（图 3,4）有显著差异（$P<0.01$），详见（表 5）。

3 讨 论

复方烫疡油主要由虎杖、大黄等中药组成，经特殊的炮制方法制作而成，富含芦荟大黄素、虎杖

表 5 兔耳凋亡指数（AI/%）

组别	创面数	凋亡指数（AI/%）		
		30天	60天	90天
FTY组	36	6.53 ± 0.18	38.44 ± 0.58	25.97 ± 0.60
磺胺组	36	2.77 ± 0.14	11.14 ± 0.52	8.62 ± 0.59
赋形组	36	6.01 ± 0.42	8.84 ± 0.46	5.87 ± 0.91
盐水组	36	6.14 ± 0.30	9.01 ± 0.22	5.96 ± 0.61

将凋亡指数按公式 $2\sin^{-1}\sqrt{P}$ 转换（P 值为凋亡指数原始数据的分数转换而成的弧度），用单因素方差分析（Q 检验）。得 FTY 组凋亡指数在 60 天以后与其它组有显著差异（$P<0.01$）。

表 4 兔耳创面瘢痕 TGF-β1、PCNA 免疫组化检测

组别	创面数	TGF-β1、PCNA 平均积分光密度					
		30天		60天		90天	
		TGF-β1	PCNA	TGF-β1	PCNA	TGF-β1	PCNA
FTY组	36	191.36 ± 2.33	28.03 ± 1.32	154.94 ± 2.30	24.55 ± 2.94	77.58 ± 3.18	22.42 ± 2.22
磺胺组	36	294.11 ± 5.80	48.89 ± 1.82	325.22 ± 5.15	40.64 ± 2.27	214.69 ± 4.32	41.58 ± 2.31
赋形组	36	301.78 ± 5.23	44.47 ± 1.91	345.28 ± 6.55	44.81 ± 3.24	306.44 ± 3.41	50.83 ± 3.41
盐水组	36	308.36 ± 6.46	41.11 ± 1.88	359.47 ± 7.23	45.61 ± 2.28	310.50 ± 4.57	50.17 ± 3.11

单因素方差分析（Q 检验）。表 4 示：TGF-β1 与 PCNA 表达成正相关，TGF-β1、PCNA 表达均明显低于其它组，有显著性差异（$P<0.01$）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

大黄素、大黄酸、大黄素等成份。在临床治疗皮肤创伤中，发现其具有减少瘢痕形成的作用。经本实验亦证实此点，其作用机制可能与下述情况有关。

3.1 早期组织细胞的保护作用

在烧烫伤早期强烈热损伤至部分组织结构破坏、细胞变性、坏死。局部微循环障碍、血管通透性增加，伴有炎性因子、氧自由基大量释放，残留细胞水电解质及能量代谢障碍。在分子水平表现为细胞DNA损伤，染色质再分布，细胞酶活性下降。而复方烫疡油中的大黄素是TNF-α、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12的抑制剂，能通过抑制内毒素诱生的IL-12 mRNA过度表达，能抑制细胞内白三烯（LT-C4，LT-B4）的生物合成[3]；大黄酸具有显著提高细胞色素aa、b、c、c_1、含量，增加ATP的生成[4]；大黄酸中的羟基与超氧离子发生单电子转移反应，阻断了邻苯三酚自氧化的自由基反应，具有清除氧自由基的作用[5]。而且大黄素还有促进细胞内DNA修复功能，有对抗紫外线损伤细胞DNA的功能[6]。同时大黄素能快速而短暂地诱导凋亡蛋白酶级联反应（caspase 3 cascade）的活性，促使受损细胞凋亡，减少坏死，减轻炎性因子释放[8]。本实验亦发现FTY组创面分泌物少、炎症相对较轻；光镜下炎性细胞数目相对较少；FTY组在各时期凋亡细胞标记率均明显高于其它组，有显著差异（$P<0.01$）。因此，复方烫疡油此时表现为修复受损细胞DNA损伤、抑制局部氧化应急反应和抑制炎症，有利于组织细胞修复缺损。本实验观察到组织切片中创缘的表皮细胞、残存的毛囊上皮细胞，较其它组（磺胺嘧啶银霜、植物油、生理盐水）增生活跃，且细胞层次多，真皮浅层有核细胞数明显增多。提示复方烫疡油有促进伤口愈合的作用，而非赋形剂的作用。

3.2 减少瘢痕形成的作用

病理性瘢痕是真皮组织损伤后组织异常修复的结果，主要表现为成纤维细胞外基质合成增加、降解不足、Ⅰ、Ⅲ型胶原比例失调，而TGF-β1在瘢痕形成中起重要作用[9-11]。本实验显示复方烫疡油处理后组织基质中Ⅰ、Ⅲ型胶原比例部分恢复，TGF-β1表达降低，与其它组对照，有显著性差异（$P<0.05$），与文献报道[11]相似。大黄素能快速而短暂地诱导凋亡蛋白酶级联反应（caspase 3 cascade）的活性，促使成纤维细胞凋亡，减少瘢痕形成[6]。同时观察到组织中TGF-β1、PCNA之间的关系，发现TGF-β1与PCNA表达成正相关（表5）。提示复方烫疡油减少瘢痕形成的作用与抑制TGF-β1表达有关，进而抑制成纤维细胞增殖，降低PCNA表达，成纤维细胞外基质合成减少。这可能也是复方烫疡油减少瘢痕形成的机制之一。

3.3 广谱抗菌，改善微循环，促进伤口愈合

据文献报道，大黄酸能够抑制内皮的纤维蛋白溶酶原激活剂抑制剂（因子）（PAI-1）mRNA的过度表达，因而有促进血管内膜功能及结构的恢复；芦荟大黄素是血管平滑肌增生的抑制剂，能降低血管内膜过度增生所至的狭窄。大黄素对多种血管有舒张作用，能降低苯福林、5-羟色胺和KCL的缩血管作用[12]。大黄素对绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、白喉杆菌、痢疾杆菌、炭疽杆菌、新型隐球菌、真菌有抑制作用[13-15]，且不易产生耐药性。由于可减少细菌性创面感染，也相应地促进了创面愈合，减少瘢痕形成。

参 考 文 献

[1] 黄 康，陈玉林. 创面愈合评价指标进展[J]. 中国修复重建外科杂志，2001;15(2):126-129.

[2] 李荟开，刘建波，夏 炜，等. 增生性瘢痕动物实验模型的建立与应用[J]. 中华整形外科杂志，2001;17(5):276-278.

[3]董昆山，王秀琴，董一凡，编著.《现代临床中药学》[M]. 北京：中国中医药出版社，1998;1.

[4] Ying Du, Kam Ming Ko. Effects of emodin treatment on mitochondrial ATP generation capacity and antioxidant components as well as susceptibility to ischemia-reperfusion injury in rat hearts: Single versus multiple doses and gender difference[J]. Life Sciences, 2005;77:2770-2782.

[5] 乔 林，陈德昌，景炳文，等. 大黄对烫伤后大鼠肠粘膜上皮细胞线粒体功能的影响[J]. 中华急救医学杂志，2002;11(1):16-18.

[6] Chang LC, Sheu HM, Huang YS, et al. A novel function of emodin: enhancement of the nucleotide excision repair of UV-and cisplatin-induced DnA damage in human cells [J]. Biochem-Pharmacol, 1999; 58(1): 49-57.

[7] Chem YC, Shen SC, Lee WR, et al. Enodin induces apoptosis in human promyeloleukemic HL-60 cells accompanied by activation of caspase 3 cascade but independent of reactive oxygen species production[J].Biochem Pharmacol,2002;64(12):1713-1724.

[8] Yu-Ting Su, Huei-Ling Chang, Song-Kun Shyue, et al. E-modin induces apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through a reactive oxygen species-dependent mitochondrial signaling pathway [J]. Biochemical Pharmacology, (2005;70:229-241.

（下转第 458 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

积分法所得 Ki 无变化，而根据半抑制浓度方法所得 Ki 有显著变化(表 1)。

表 1 不同预设 Km 时测定黄嘌呤对 Bacillus fastidiosus 胞外尿酸酶 Ki 的比较

Km (mmol/L)	Ki(μmol/L)	
	简化积分法	半抑制浓度法
0.10	35.0 ± 2.7 (4)[a]	27.0 ± 2.3 (3)[b]
0.21	34.5 ± 3.0 (4)[a]	31.0 ± 2.6 (3)[c]
0.30	35.5 ± 3.0 (4)[a]	31.3 ± 2.6 (3)[c]

与双倒数法测定结果比较 [a]P>0.2, [b]P<0.02, [c]P>0.05。

抑制常数是筛选酶抑制剂的最合理指标。测定与半抑制浓度对应的 Ki 需要明确抑制类型、所用底物浓度及无抑制剂时 Km 等参数，而且要求所用底物浓度越低越好，故必需用尽可能高灵敏度的定量方法。但无论所用定量方法灵敏度多高，其所用底物浓度太低则所得初速度对底物浓度误差很敏感，这会显著降低所得 Ki 的可靠性。相反，用低浓度底物下的积分法测定酶活性和抑制常数对初始底物浓度误差都不敏感[3,4,8]，甚至不需要准确确定无抑制剂时 Km。另外，本文结果表明用简化积分法测定 Ki 所需底物浓度低于 10% Km 即可，并不需要低于 2% Km[7]，这更可显著降低对定量方法灵敏度的要求，便于常规实验。因此，在实践中对于已知抑制类型抑制剂和其类似物，可根据定量方法灵敏度与 Km 的相对大小选择测定抑制效力的方法；当反应不可逆且可连续监测反应曲线时，在较低底物浓度下用简化积分法测定 Ki 筛选抑制剂更便于实验。

(通讯作者：廖飞。重庆医科大学生物化学与分子生物学教研室。Tel:86-23-68485073, E-mail, liaofeish@vip.sina.com)。

参 考 文 献

[1] Bronson DD, Daniels DM, Dixon JT, et al. Virtual kinetics: using statistical experimental design for rapid analysis of enzyme inhibitor mechanisms [J]. Biochem Pharmacol,1995;50(5):823-831.

[2] Kakkar T, Pak Y, Mayersohn M. Evaluation of a minimal experimental design for determination of enzyme kinetic parameters and inhibition mechanism [J]. J Pharmcol Exp Ther, 2000;293(5):861-869.

[3]. Liao F, Zhu XY, Wang YM, et al. The comparison of the estimation of enzyme kinetic parameters by fitting reaction curve to the integrated Michaelis-Menten rate equations of different predictor variables [J]. J Biochem Biophys Methods, 2005;62(1):13-24.

[4] 赵利娜，廖 飞，赵运胜. 用积分法考察黄嘌呤对 Candida sp.尿酸酶的抑制作用 [J]. 第四军医大学学报, 2005;26(19):1792-1794.

[5] Liao F, Yang X, Zhou QX, et al. Fast estimation of Michaelis-Menten constant of arylesterase with a pair of medium concentration of substrate [J]. J Med Coll PLA,2003;18(5):312-316.

[6] 赵利娜，廖 飞，赵运胜. 用线性动力学方法考察黄嘌呤对尿酸酶的抑制作用[J]. 第四军医大学学报,2005;26(15):1360-1362.

[7] Meyer-Almes FJ, Auer M. Enzyme inhibition assay using fluorescence correlation spectroscopy: a new algorithm for the derivation of K(cat)/K(M) and K(i) values at substrate concentration much lower than the Michaelis constant[J]. Biochemistry, 2000;39 (43):13261-13268.

[8] 廖 飞，朱小云，王咏梅，等. 在高于米氏常数的底物浓度下用积分法测定尿酸酶活性 [J]. 第四军医大学学报,2004;25 (17): 1551-1554.

(上接第 383 页)

[9] 刘冠贤，叶任高，谭志明，等. 大黄素延缓狼疮性肾炎间质成纤维化作用的研究[J]. 中国实验临床杂志, 1999;11(3):24-32.

[10] Ning Y, Wang J, Qu S. Effect of emodin on human kidney fibroblast proliferation [J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2000; 20(2):105-106.

[11] Zhu J, Liu Z, Huang H, et al. Rhein inhibits transforming growth factor betal induced plasminogen activator inhibitor-1 in endothe lial cells [J]. Chin Med (Engl), 2003;116(3): 354-359.

[12] Yin C, Xu C. Effect of aloe-emodin on proliferation of vascular smooth muscle cells after arterial injury [J]. Zhongguo Zhon Xi Yi Jie He Za Zhi, 1998; 18(7): 420-422.

[13] 阴 健，郭力弓，编著.《中药现代研究与临床应用》(Ⅱ)[M]. 北京：中医古籍出版社，1995.

[14] Agarwal SK, Singh SS, Verma S, et al. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from Rheum emodi [J]. Ethnopharmacol, 2000; 72(1-2): 43-46.

[15] Wu Yanwena, Gao Wenyuan, Xiao Xiaohe, et al. Calorimetric investigation of the effect of hydroxyanthraquinones in Rheum officinale Baill on Staphylococcus aureus growth [J]. Thermo- chimica Acta, 2005;429:167-170.