

互花米草总黄酮局部用药的抗炎作用

胡芝华¹ 钦佩² 蔡鸣¹ 谢民² 张康宣¹

(¹江苏省药物研究所药理研究室, 南京 210009, ²南京大学生物技术研究, 南京 210093)

摘要 互花米草总黄酮(TFS)是从互花米草(*Spartina alterniflora* Loisel)地上部分提取的生物活性物质, 局部用药的动物体内抗炎作用实验结果显示:1%和3% TFS涂膜外用2 h对甲醛所致小鼠皮肤炎症和巴豆油诱发小鼠耳部水肿均表现明显抗炎作用, 并呈一定的量效关系;3% TFS涂膜外用对角叉菜胶所致大鼠踝关节肿胀有明显抑制作用, 致炎后1 h和5 h时肿胀度与各自的对照组相比有显著差异;4% TFS水溶液阴道给药7日对化学致炎的大鼠阴道损伤有治疗与修复作用。可见TFS外用具有一定的抗炎功效。

关键词 互花米草;总黄酮;局部用药;抗炎

Anti-inflammatory activity of topically applied total flavonoids of *Spartina alterniflora* Loisel in vivo Hu Zhi-Hua¹, Qin Pei², Cai Ming¹, Xie Min², Zhang Kang-Xuan¹ (¹Department of Pharmacology, Jiangsu Institute of Materia Medica, Nanjing, 210009, ²Institute of Biotechnology, Nanjing University, Nanjing 210093), *J. Plant Resour. & Environ.* 1998, 7(2): 6~11

Total flavonoids of *Spartina alterniflora* (TFS) are bioactive materials isolated from *Spartina alterniflora* Loisel, a salt marsh plant. The anti-inflammatory effects of TFS were studied in mice and rats. At 1 h and 2 h after topically applying 1% and 3% TFS membrane, it was found marked anti-inflammatory effect either on formaldehyde-induced skin inflammation or on croton oil-induced ear oedema in mice, and some dose-effect relationship was noted. Topically applied 3% TFS membrane had obvious inhibitory effect on carrageenin-induced swelling of the ankle in rats. The swelling degree at 1 h and 5 h after inflaming showed significant difference *vs* respective control. 4% TFS solution which was administered intravaginally for 7 d had therapeutic and repair effect on chemicals-inflamed vaginal injury in rats. It was suggested that topically applied TFS possesses some anti-inflammatory activities.

Key words *Spartina alterniflora* Loisel; total flavonoids; topically apply; anti-inflammatory

互花米草(*Spartina alterniflora* Loisel)是1979年自美国引进的一种生长于海滩潮间带的盐沼植物^[1],其地上部分的提取液——“生物矿质液”含有多种生物活性物质^[2],其中重要的一类即互花米草总黄酮(Total Flavonoids of *Spartina alterniflora*, TFS)。实验证明,某些黄酮类化合物如木犀草素(luteolin)具有非甾体抗炎药的特征,对多种急、慢性炎症模型均表现出明显的抗炎作用^[3],前文报道以“生物矿质液”为原料研制的护肤保健制品“生物矿质浴剂”

胡芝华,女,1946年4月生,大学,主管药师,主攻实验病理并从事临床前毒理与药理工作。

收稿日期 1997-12-15

在人群应用时显示抗菌、消炎、收敛等功效^[4]。本文报告 TFS 局部应用于动物炎症模型的抗炎作用。

1 材料与 方法

1.1 材料

1.1.1 TFS 由南京大学生物技术研究所提供。外用时按文献[5]方法略加改变,用聚乙烯醇(PVA-124)将 TFS 配制成 1% 和 3% 涂膜剂,用蒸馏水配制成 4% 水溶液,同时另配不含药的空白涂膜,密封保存备用。

1.1.2 试剂 巴豆油(croton oil,由中国药科大学原分析室赠送),用前配成巴豆油合剂(巴豆油 2%,无水乙醇 20%,蒸馏水 5%,乙醚 73%);甲醛(AR,宜兴县化学试剂三厂);聚乙烯醇-124(PVA-124,日本进口,广州医药站化学试剂公司分装);角叉菜胶(carrageenin,辽宁省药物研究所),用生理盐水配成 1% 水溶液备用;2,4-二硝基氯化苯(CP,上海市化学试剂公司工厂,国产分装);明胶海绵(南京第三制药厂);“洁尔阴”洗液(Jieeryin,成都恩威制药有限公司);橄榄油(CP,国产分装,上海化学试剂分装厂)。

1.1.3 动物 昆明种小鼠,24±2 g,性别不拘;Wistar 大鼠,160±20 g,雌雄兼用,由江苏省药物研究所实验动物室提供,合格证:苏动(质)95038。

1.1.4 仪器 BH-2 型显微镜(日本,OLYMPUS),大鼠足跖体积测定装置按文献[6]自制。

1.2 方法

1.2.1 小鼠甲醛致炎模型的制备与 TFS 给药方法 按孙海英等报道^[7]的步骤,取体重 24~26 g 昆明小鼠,雌雄各半,随机分组。以硫化钠脱毛剂将腹部皮肤去毛,24 h 后开始实验。将小鼠仰卧固定,于剑突下 0.5 cm 处皮下注射 1% 甲醛水溶液 0.05 ml/只,致炎后 30 min,在实验组小鼠的致炎部位皮肤分别均匀涂抹 1%、3% TFS 涂膜剂;对照组则涂以空白涂膜剂。涂药后 1 h 和 2 h 分别处死各组动物,剪下皮肤平放于木板,用直径 7 mm 打孔器取下皮片称重,计算 $\bar{X} \pm SD$, t 检验,统计处理。

1.2.2 巴豆油诱发小鼠耳部水肿模型的制备与 TFS 给药方法 按照筛选规程^[8],将 24~26 g 昆明小鼠雌雄各半,随机分组。取巴豆油合剂按 0.1 ml/只涂于小鼠左耳(前后两面),以右耳作对照,致炎后 30 min,对两个实验组致炎的左耳分别涂以 1% 和 3% TFS 涂膜剂;对照组致炎的左耳涂空白涂膜。于涂药后 1 h 和 2 h 分别处死各组动物,再沿耳廓基线剪下两耳,用直径 7 mm 打孔器打下耳片,称重,求同一鼠两耳片重量之差即为肿胀度。计算 $\bar{X} \pm SD$, t 检验统计。

1.2.3 角叉菜胶所致的大鼠踝关节肿胀模型的制备与 TFS 给药方法 将 Wistar 大鼠随机分成 3 组,用专用装置分别对各大鼠右后足跖进行测量,将大鼠右后足跖放入小池内,以其排开液体的体积 ml 数表示。随之分组涂膜。第 I 组为空白对照组,涂以不含药的空白膜,第 II 组涂以 1% TFS 膜,第 III 组涂 3% TFS 膜,20 min 后于各鼠右踝关节周围皮下注射(S.C)1% 角叉菜胶溶液 0.1 ml 致炎,于致炎后 1、2、3 h 和 5 h 分别测量各鼠足跖排开液体的体积 ml 数,致炎前后之差即为足跖肿胀度,将结果列表, t 检验统计处理。

1.2.4 化学致炎大鼠阴道损伤模型的制备与 TFS 给药方法 按金翠英等的方法^[9],略加改

变,取 Wistar 雌性大鼠 15 只,用橄榄油将 2,4-二硝基氯化苯配制成 1% 油溶液作为造型剂。将含有 0.5 ml 上述溶液的明胶海绵块置入大鼠阴道,48 h 后取出,照上法换入第二块造型剂的明胶海绵,96 h 后取出,将大鼠随机分成 3 组:第 I 组:空白对照组,每日置含 0.5 ml 生理盐水海绵一块;第 II 组:互花米草总黄酮组,每日置含 0.5 ml 4% TFS 海绵一块;第 III 组:“洁尔阴”洗液组,每日置含 0.5 ml “洁尔阴”洗液海绵一块。7 日后处死全部动物,剖取阴道与子宫,用 10% 甲醛溶液固定一周,常规病理切片,HE 染色,光镜检查,按表 1 所列标准判定疗效。

表 1 药物对大鼠阴道与宫颈疗效判断标准

Tab 1 Criterion of the therapeutical effect on vagina & cervix uteri of rats

分级 Grade	粘膜表皮层 Mucus epithelium	固有膜层 Proprietary membrane
+++	表皮破损不完整,部分区域呈灶性坏死,可见较多中性白细胞浸润 The epithelium is not intact & rupture, local necrosis & more neutrophils infiltration are noted	血管明显扩张、充血,有较多中性白细胞和淋巴细胞浸润 Obvious dilation & congestion of blood vessel, more neutrophils & lymphocytes infiltration are noted
++	表皮不完整,可见中性白细胞浸润 The epithelium is not intact, some neutrophils infiltration are noted	偶见血管扩张、充血及较多淋巴细胞浸润 Dilation & congestion of blood vessel are noted occasionally, more lymphocytes infiltrate are noted
+	表皮完整,偶见少量中性白细胞 The epithelium is intact, a few neutrophils are noted occasionally	偶见少量淋巴细胞 A few lymphocytes are noted occasionally
-	无明显异常 No marked abnormality are noted	无明显异常 No marked abnormality are noted

2 结 果

2.1 TFS 外用对小鼠甲醛致炎模型的抗炎作用

TFS 涂膜剂外用对甲醛所致局部炎症有一定的抗炎作用。作用强度与浓度有关。1% 制剂维持时间较短,3% 制剂在两小时末尚有作用(表 2)。

2.2 TFS 外用对巴豆油诱发小鼠耳部水肿的影响

TFS 涂膜剂局部用于巴豆油诱发的小鼠耳部水肿,结果显示,1%、3% 两种浓度均有抗炎作用。维持时间达 2 h,3% 作用略强(表 3)。

表 2 TFS 外用对小鼠甲醛致炎模型的抗炎作用

Tab 2 Effect of topically applied TFS on formaldehyde-induced topical skin inflammation in mice

组别 Group	药物 Drug	TFS 浓度 Concentration of TFS (%)	给药时间 After treatment (h)	皮片重 Weight of skin (mg) ($\bar{X} \pm SD$)
CK	control	-	1	27.4 ± 7.3
1	TFS	1	1	19.1 ± 6.5**
2	TFS	3	1	20.2 ± 3.4**
CK	control	-	2	25.3 ± 3.6
1	TFS	1	2	21.3 ± 7.2
2	TFS	3	2	21.5 ± 5.0*

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $n = 15 \sim 17$

表 3 TFS 外用对巴豆油诱发小鼠耳部水肿的影响

Tab 3 Effect of topically applied TFS on croton oil-induced ear oedema in mice

组别 Group	药物 Drug	TFS 浓度 Concentration of TFS (%)	给药时间 After treatment (h)	两耳片重量差 Difference of two auricle weight (mg) ($\bar{X} \pm SD$)
CK	control	-	1	5.6 ± 2.5
1	TFS	1	1	3.8 ± 2.0*
2	TFS	3	1	3.1 ± 1.5**
CK	control	-	2	5.7 ± 1.2
1	TFS	1	2	3.9 ± 2.0**
2	TFS	3	2	2.8 ± 1.3**

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; $n = 15 \sim 17$

2.3 TFS 外用对角叉菜胶所致的大鼠踝关节肿胀的影响

1% TFS 涂膜外用时,大鼠足跖肿胀虽呈现被抑制趋势,但无统计学意义;而 3% TFS 涂膜对大鼠足跖肿胀则表现出较明显的抑制作用,其中 1 h 和 5 h 时肿胀度与各自对照组相比有显著差异($P < 0.05$)(表 4)。

表 4 TFS 外用对角叉菜胶所致的大鼠踝关节肿胀的影响

Tab 4 Effect of topically applied TFS on carrageenin-induced ankle swelling of rats

组别 Group	药物 Drug	TFS 浓度 Concentration of TFS (%)	肿胀度 Swelling degree (ml, $\bar{X} \pm SD$)			
			1 h	2 h	3 h	5 h
I	CK	-	0.31 ± 0.13	0.39 ± 0.21	0.43 ± 0.19	0.66 ± 0.16
II	TFS	1	0.26 ± 0.20	0.37 ± 0.18	0.40 ± 0.25	0.60 ± 0.18
III	TFS	3	$0.19 \pm 0.10^*$	0.28 ± 0.11	0.36 ± 0.20	$0.47 \pm 0.18^*$

* $P < 0.05$, $n = 12 \sim 14$

2.4 TFS 外用对化学致炎大鼠阴道损伤的作用

TFS 局部用于化学致炎的大鼠阴道,对损伤有一定的治疗与修复作用,在本实验中与中药复方“洁尔阴”洗剂疗效相近(表 5,图版 I-1~6)。光镜下所见用 TFS 治疗的大鼠阴道与宫颈表皮未见破损,没有或仅有少量炎性细胞浸润;固有膜层未见血管扩张充血,仅见少量中性白细胞与淋巴细胞(图版 I-3,4)。

表 5 TFS 外用对于化学致炎大鼠阴道损伤的作用

Tab 5 Therapeutical effect of topically applied TFS on chemicals-inflamed vaginal injury in rats

组别 Group	治疗天数 Days of therapy	疗效 Therapeutical effect ¹⁾	
		粘膜表皮层 Mucus epithelium	固有膜层 Proprietary membrane
CK	7	+++	+++
TFS	7	+	+
Jieeryin	7	-	+

¹⁾ 本表内疗效等级(+++、+、-)标准见表 1。

Criterion of therapeutical effect grade (+++, +, -) are shown in Table 1.

3 讨 论

本实验结果表明, TFS 外用对炎症早期的毛细血管通透性增高和水肿、中期的炎性渗出和炎性细胞的游走与浸润具有一定的抑制作用,而且随着用药剂量(药物浓度)增大而有所增强。但这方面的探索尚是初步的,其抗炎作用的确切机制还有待于进一步深入研究。

文中所采用的化学致炎大鼠阴道损伤病理模型的依据是致炎损伤剂 2,4-二硝基氯苯在一定的浓度下可造成机体组织红肿、糜烂与炎性反应。这些表现与临床上阴道炎、宫颈糜烂时常见的上皮缺损、粘膜充血、红、肿及分泌物增多等病症较为吻合,制备的损伤模型稳定可靠、损伤深度适当,仅限于阴道及宫颈(阴道部)的粘膜层,适用于药物对女性生殖道抗炎愈创的疗效验证。TFS 对此病理模型表现有一定的治疗与修复作用,接近于临床常用中药复方“洁尔阴”外用洗剂的疗效。因此,若将 TFS 与某些有协同作用的中药成分组成复方,则可望进一步发挥其抗炎效能。

参考文献

- 1 徐万国, 卓荣宗. 我国引进互花米草 (*Spartina alterniflora* Loisel) 的初步研究 (I). 见: 米草研究进展——22 年来的研究成果论文集. 南京大学学报, 1985 (增刊): 212~225.
- 2 钦佩, 谢民. 生物矿质水. 见: 钦佩, 仲崇信主编. 互花米草的应用研究. 北京: 海洋出版社, 1992. 46~51.
- 3 陈敏珠, 金问桢, 戴炯明等. 木犀草素对炎症和免疫功能的影响. 中国药理学与毒理学杂志, 1986, 1(1): 46.
- 4 钦佩, 谢民, 王长永等. 生物矿质浴剂对皮肤的保健作用. 自然杂志, 1989, 12(12): 930.
- 5 张维谷. 地塞米松涂膜剂的研制. 现代应用药学, 1988, 5(4): 25.
- 6 孟红. 介绍一种测量动物足跖容积的简易装置. 中国医院药学杂志, 1992, 12(1): 35.
- 7 孙海英, 李万亥, 刘丽琳. 丁苯乙肟对甲醛皮肤致炎模型的抗炎作用的研究. 中国药理学通报, 1988, 4(3): 159.
- 8 陈敏珠. 抗炎药物筛选规程. 见: 中药药理学学会主编. 药理学进展——抗炎免疫药理分册. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 178~179.
- 9 金琴英, 马豹山, 卢亚利. 大鼠阴道损伤病理模型的建立. 中国药理学通讯, 1994, 11(1): 28.

图版说明 Explanation of plate

图版 I

1. 对照大鼠阴道, 表皮破损, 中性白细胞浸润, 固有膜血管扩张充血, 中性白细胞与淋巴细胞浸润 ($\times 100$);
2. 对照大鼠宫颈 (阴道部) 表皮呈灶性坏死、缺损、不完整 ($\times 100$);
3. 用互花米草总黄酮治疗大鼠阴道, 表皮见少量中性白细胞浸润, 固有膜可见少量中性白细胞与淋巴细胞 ($\times 100$);
4. 用互花米草总黄酮治疗大鼠宫颈 (阴道部), 表皮无炎性细胞浸润, 固有膜见少量中性白细胞与淋巴细胞 ($\times 100$);
5. 用“洁尔阴”治疗大鼠阴道, 表皮未见明显异常, 固有膜仅见少量淋巴细胞 ($\times 100$);
6. 用“洁尔阴”治疗大鼠宫颈 (阴道部), 表皮、固有膜均未见明显异常 ($\times 100$).

Plate I

1. Control: vagina, epithelium is rupture, neutrophils infiltrate; in proprietary membrane, dilation & congestion of blood vessel, neutrophils & lymphocytes are noted ($\times 100$);
2. Control: cervix uteri, epithelium is intact, rupture & local necrosis are noted ($\times 100$);
3. TFS: vagina, a few neutrophils infiltration in epithelium; a few neutrophils & lymphocytes in proprietary membrane ($\times 100$);
4. TFS: cervix uteri, no inflammatory cell infiltration in epithelium; a few neutrophils & lymphocytes in proprietary membrane ($\times 100$);
5. Jieeryin: vagina, no marked abnormality are noted in epithelium; only a few lymphocytes in Proprietary membrane ($\times 100$);
6. Jieeryin: cervix uteri, no marked abnormality are noted either in epithelium or in proprietary membrane ($\times 100$).

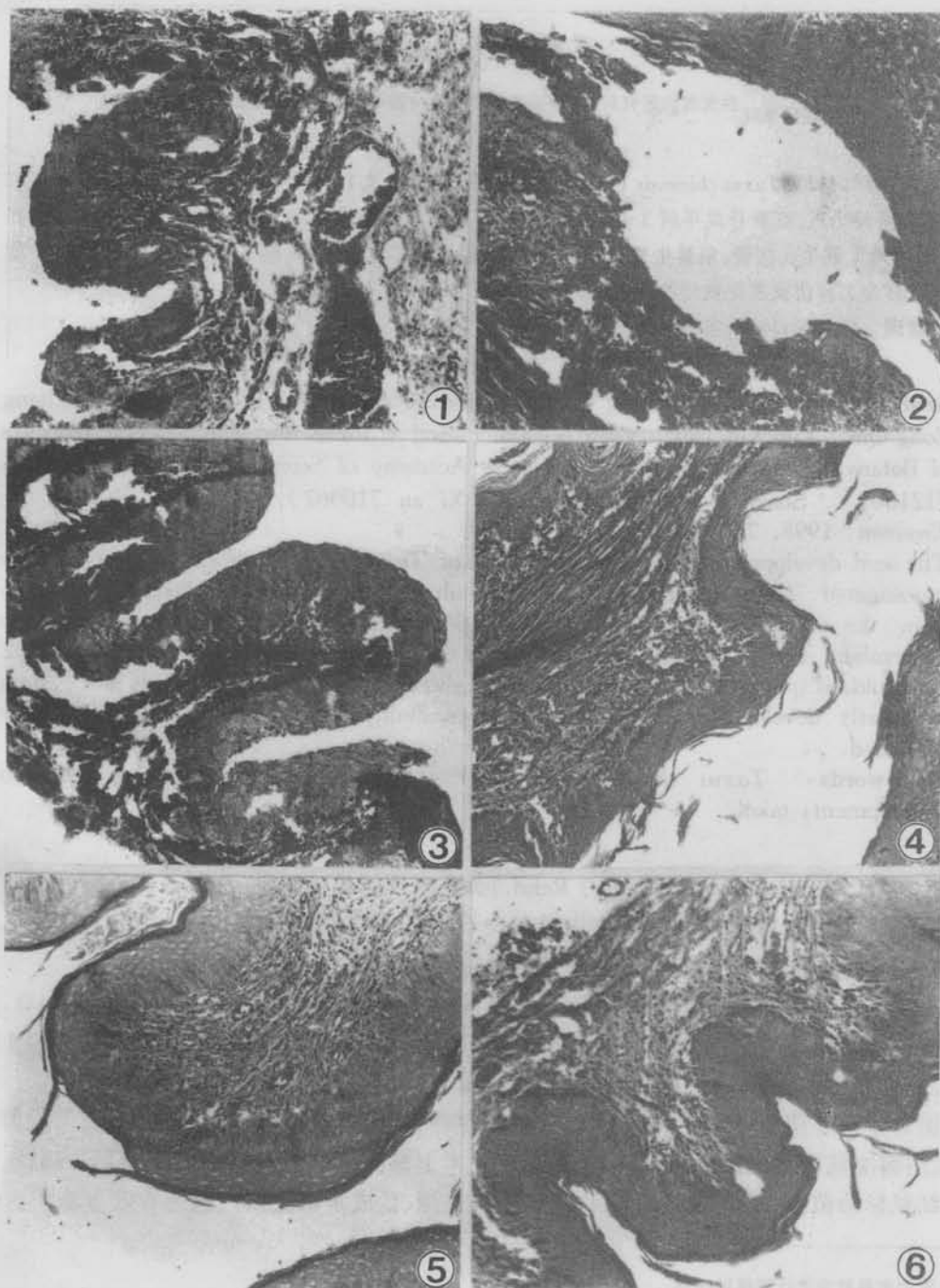
(责任编辑: 惠红)

胡芝华等:互花米草总黄酮局部用药的抗炎作用

图版 I

Hu Zhi-Hua *et al*: Anti-inflammatory activity of topically applied
total flavonoids of *Spartina alterniflora* Loisel *in vivo*

Plate I



See explanation of the end of text