

## 阿藿烯对大鼠抗血栓活性作用研究

李晓天, 范媛媛, 石迎迎

郑州大学药学院, 郑州 450001, 河南

**摘要** 目的:研究阿藿烯对大鼠血栓形成和凝血功能的影响,评价其抗血栓活性。方法:将SD大鼠随机分为空白对照组、血塞通阳性药组(50 mg/kg)、阿藿烯低剂量组(25 mg/kg)、中剂量组(50 mg/kg)、高剂量组(75 mg/kg),各组动物连续灌胃5 d,末次给药2 h后建立下腔静脉结扎模型、FeCl<sub>3</sub>致动脉血栓模型、断尾流血时间测定模型测定阿藿烯对血栓形成和凝血的影响;并测定各组大鼠给药前及给药后2 h血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶时间(APTT)。结果:阿藿烯能抑制动静脉血栓的形成,使血栓重量降低,且高剂量阿藿烯对动静脉血栓形成的抑制率均大于40%;同时有效延长大鼠断尾流血时间,并能使大鼠血浆APTT、PT明显延长( $P < 0.05$ ),且都具有剂量依赖关系。结论:阿藿烯有抗血栓活性。

**关键词** 阿藿烯;抗血栓;凝血酶原时间;活化部分凝血酶时间;大鼠

中图分类号:R965.2

文献标识码:A

文章编号:1009-2501(2011)10-1086-04

随着对大蒜活性研究的不断深入,近年研究表明大蒜不但有抗菌消炎<sup>[1]</sup>的作用,也对抗肿瘤<sup>[2]</sup>、降血脂<sup>[3]</sup>有显著疗效。大蒜的生物学和药理学性能与所含硫化物尤其是丙烯基硫化物有

关,其中最主要的成分是阿藿烯<sup>[4]</sup>。阿藿烯作为大蒜的主要有效成分近年研究也表明其有抑制胆固醇合成<sup>[5]</sup>、抗癌<sup>[6]</sup>等方面的药理作用。对心血管系统的研究主要集中在体外抗血小板研究<sup>[7]</sup>。从整体动物方面评价其抗血栓作用则少有报道。本研究重点考察阿藿烯对动静脉血栓形成和流血时间方面的作用,测定其在体抗血栓活性。

### 1 材料与方法

**1.1 试剂和药物** 血塞通肠溶片,云南玉溪维和制药有限公司,批号:1003059;阿藿烯,由郑州大学天然药化实验室提供;注射用生理盐水,郑州永和药业有限责任公司,批号:090528;乌拉坦,国药集团化学试剂有限公司,批号:080411;凝血酶原时间(PT)试剂盒、活化部分凝血酶时间(APTT)测定试剂盒,南京建成生物技术公司,批号:110508;枸橼酸钠,北京化工厂,批号:070821。

**1.2 仪器** DS-671分析天平,日本寺冈;TG 16-WS高速离心机,南赛特仪器有限公司;烘箱,上海博讯实业有限公司;恒温水浴,北京永光明医疗仪器厂。

**1.3 动物** SD大鼠,雌雄各半,体重200~250 g,购自郑州大学动物实验中心,动物合格证号:SCXK(豫)2005-0001。

**1.4 阿藿烯对大鼠下腔静脉结扎血栓形成的测定** SD大鼠40只,雌雄各半,体重240~260 g,随机分为5组,每组8只,即空白对照组、阿藿烯低剂量(25 mg/kg)阿藿烯中剂量(50 mg/kg)、阿藿烯高剂量(75 mg/kg)、血塞通对照组(50 mg/kg)。空白对照组给予等量溶剂,每天灌胃给药1次,连续5 d。于末次给药后2 h,各组大鼠腹腔注射20%乌拉坦(0.5 mL/100 g)麻醉,

2011-08-02 收稿 2011-09-13 修回

李晓天,男,博士,副教授,硕士生导师,从事药理学与药物代谢动力学教学与研究工作。

E-mail: zzufyy@126.com

手术结扎大鼠下腔静脉,缝合腹壁 4 h,造大鼠下腔静脉血栓模型。4 h 后重新打开腹腔,在结扎下方 2 cm 处用止血钳夹住血管,将该段血管内血液吸尽,然后纵行剪开管腔,观察有无血栓形成。如有即取出血栓,用滤纸沾去血栓表面的浮血,称血栓湿重,再置 60 ℃ 烤箱烤 20 h,冷却后称血栓干重。按以下公式求出其血栓抑制率:抑制率(%)=(空白对照组血栓湿重-实验组血栓湿重)/空白对照组血栓湿重×100%。

**1.5 阿藿烯对 FeCl<sub>3</sub> 致大鼠颈动脉血栓形成的测定** 动物分组及给药同“1.4”,末次给药 2 h 后,大鼠用乌拉坦麻醉,仰卧位固定于,颈部正中切口,分离左侧颈总动脉约 1.5 cm,参照 Kurz 等<sup>[8]</sup>的方法改良制作颈总动脉血栓模型,分离左侧颈总动脉 1.5 cm,下方置小片塑料薄膜(3 cm×1.5 cm),用于保护血管周围组织。将吸有 70% FeCl<sub>3</sub> 溶液的滤纸片(1 cm×1 cm)敷于暴露的动脉表面上,假手术组敷生理盐水滤纸片。15 min 后取下滤纸条,简单缝合。40 min 后结扎滤纸条两端血管,取出血栓于滤纸上吸干残血,再置于 60 ℃ 烤箱烤 20 h,冷却后在分析天平上称血栓干重,并计算血栓形成抑制率。抑制率(%)=(空白对照组血栓湿重-实验组血栓湿重)/空白对照组血栓湿重×100%。

**1.6 阿藿烯对大鼠尾部流血时间的测定** 大鼠

尾切口流血模型,方法引用 Wong 等<sup>[9-10]</sup>略有改动。大鼠乌拉坦麻醉。在大鼠尾尖 2 mm 处用手术刀横断,并开始计时。同时将大鼠尾巴垂直浸入 37℃ 的生理盐水溶液中,观察大鼠尾尖流血情况。观察时间为 10 min (超过 10 min 的以 10 min 计)。至血流停止的时间为流血时间。

**1.7 大鼠血浆 PT、APTT 的检测** 用“1.5”的实验动物,在其结束时,各大鼠腹主动脉取血,枸橼酸钠与全血按 1:9 比例混合均匀,3000 r/min 离心 10 min,收集各管血浆,用于 PT、APTT 的检测。操作过程严格按照测定试剂盒说明方法对各凝血指标进行测定。

**1.8 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 软件处理数据,所有计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 阿藿烯对大鼠下腔静脉结扎血栓形成的影响** 与空白对照组相比,阿藿烯各剂量组均可抑制大鼠静脉结扎血栓的形成,并且抑制效果随着药物剂量的升高提高。阿藿烯低剂量组较空白对照组血栓重量虽有下降,但差异没有统计学意义。中、高剂量组较空白对照组差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。具体结果见表 1。

表 1 阿藿烯对大鼠下腔静脉结扎致血栓形成的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量(mg/kg)	血栓干重(mg)	抑制率(%)
空白对照组	—	7.8±1.6	—
血塞通组	50	3.6±1.7 <sup>c</sup>	53.6
阿藿烯低剂量组	25	6.7±1.5	14.3
阿藿烯中剂量组	50	5.4±1.5 <sup>c</sup>	31.3
阿藿烯高剂量组	75	4.5±1.2 <sup>c</sup>	44.9

与空白对照组比较<sup>c</sup> $P < 0.01$

**2.2 阿藿烯对 FeCl<sub>3</sub> 致大鼠颈动脉血栓形成的影响** 造模实验表明 FeCl<sub>3</sub> 有效地使动脉产生血栓,而阿藿烯各剂量组对动脉血栓模型也能有效地产生抑制作用。阿藿烯各剂量组均能有效抑制动脉血栓的产生,低剂量组减少血栓形成但与对空白对照组没有统计学差异,而中、高剂量组则更有效地减少血栓重量,且与空白对照组相比有统计学差异( $P < 0.05, P < 0.01$ )。结果见表 2。

**2.3 阿藿烯对大鼠流血时间的影响** 给药后大鼠流血时间显著增加,但阿藿烯低剂量与空白对照组没有统计学差异,阿藿烯中、高剂量与空白对照组相比均有统计学差异( $P < 0.05, P < 0.01$ ),并且高剂量流血时间较阳性药流血时间更长。见表 3。

**2.4 阿藿烯对大鼠血浆 PT、APTT 的影响** 与空白对照组比较,阿藿烯各剂量均能使大鼠血浆

的 PT、APTT 明显延长,且具有剂量依赖性关系,结果见表 4。

表 2 阿藹烯对 FeCl<sub>3</sub> 致大鼠颈动脉血栓形成的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量(mg/kg)	血栓干重(mg)	抑制率(%)
空白对照组	—	6.7±1.6	—
血栓通组	50	4.1±1.1 <sup>c</sup>	38.6
阿藹烯低剂量组	25	6.2±1.1	7.7
阿藹烯中剂量组	50	5.6±1.3 <sup>b</sup>	22.6
阿藹烯高剂量组	75	3.9±1.2 <sup>c</sup>	42.6

与空白对照组比较<sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>c</sup> $P<0.01$

表 3 阿藹烯对大鼠流血时间的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量(mg/kg)	流血时间(s)
空白对照组	—	104±15
血栓通组	50	134±13 <sup>c</sup>
阿藹烯低剂量组	25	107±17
阿藹烯中剂量组	50	122±14 <sup>b</sup>
阿藹烯高剂量组	75	147±19 <sup>c</sup>

与空白对照组比较<sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>c</sup> $P<0.01$

表 4 阿藹烯对大鼠血浆 PT、APTT 的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量(mg/kg)	PT(s)	APTT(s)
空白对照组	—	10.2±1.3	13.6±1.8
血栓通组	50	15.4±1.6 <sup>c</sup>	21.3±2.5 <sup>c</sup>
阿藹烯低剂量组	25	10.6±1.8	14.4±2.1
阿藹烯中剂量组	50	12.8±1.4 <sup>b</sup>	18.6±2.8 <sup>c</sup>
阿藹烯高剂量组	75	13.3±1.7 <sup>c</sup>	24.7±2.2 <sup>c</sup>

与空白对照组比较<sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>c</sup> $P<0.01$

### 3 讨论

人体凝血机制是一套高效而精密的系统,它不但维持着正常血管中的血液流动,而且保证了受损血管中纤维蛋白凝块的快速形成。凝血反应初期,血小板黏附到损伤血管所暴露的内皮下胶原上面,而黏附的血小板经过一系列活化反应释放出颗粒内容物,特别是 ADP、肾上腺素、胶原可活化血小板膜的磷脂酶 A<sub>2</sub> 促进血栓的产生。有文献报道阿藹烯对 ADP、胶原诱导的血小板聚集均有不同程度的抑制作用<sup>[7]</sup>。本文重点从体内血栓形成和凝血功能方面对阿藹烯的抗血栓作用进行评价。

静脉血栓主要由纤维蛋白和血细胞构成,血液处于高凝态或淤血情况下容易发生。下腔静脉

结扎模型模拟淤血情况诱导血栓的形成。FeCl<sub>3</sub> 诱导动脉血栓模型采用损伤内皮的模型,内皮损伤后前列环素、凝血酶、C 蛋白、S 蛋白、组织因子均参与血栓形成。而动脉血栓由于动脉血流速度快,只有血小板先在动脉上黏附聚集才能诱导血栓形成。阿藹烯各组能显著降低动脉和静脉血栓形成,且都呈剂量依赖性。

虽然实验动物流血时间的测定与临床出血症状不尽相同,但作为评价抗血栓药物对体内凝血因子的作用还是有一定意义的。实验表明阿藹烯能显著提高大鼠流血时间,表明阿藹烯能抑制体内凝血机能,这应该与其抗血栓形成作用有关。PT 反应外源性凝血途径功能,而 APTT 反应内源性凝血途径功能。通过测定阿藹烯对 PT、APTT 均有延长作用,且对 APTT 延长更显著,

推测阿藿烯抗血栓作用更主要的是通过抑制内源性凝血途径实现的。

综上,阿藿烯有显著的抗血栓活性,能显著抑制动静脉血栓的形成,其抗血栓机制可能与显著延长 PT 和 APTT 有关,而其具体的抗凝机制有待进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] 梁群,孙辉,蒋希成. 大蒜提取液与环丙沙星对铜绿假单胞菌生物被膜弹性蛋白酶影响的研究[J]. 中医药信息, 2011, 28 (3): 131 — 133.
- [2] 王广彬,赵瑞杰,王文魁,等. 大蒜素诱导肿瘤细胞凋亡研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31 (1): 73 — 76.
- [3] 郑丽红,林健,张绪龙. 大蒜油对喂饲高脂饲料大鼠血脂的影响[J]. 海峡药学, 2010, 22(9): 27 — 29.
- [4] Knowles LM, Milner JA. Allyl sulfides modify cell growth [J]. Drug Metab Drug Int, 2000, 17(1): 81—107.
- [5] Rolf Gebhardt, Halgund Beck, Karl G. Wagner.

Inhibition of cholesterol biosynthesis by allicin and ajoene in rat hepatocytes and HepG2 cells[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1994, 1213(1): 57 — 62.

- [6] Hassan HT. Ajoene (natural garlic compound): a new anti-leukaemia agent for AML therapy [J]. Leukemia Res, 2004, 28(7): 667—671.
- [7] 张晓林,张相年,杨安平,等. 阿藿烯对兔血小板聚集抑制作用[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(7): 282 — 283.
- [8] Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride [J]. Thromb Res, 1998, 89(3): 129—136.
- [9] Wong PC, Crain EJ, Xin B. Apixaban, an oral, direct and highly selective factor Xa inhibitor: *in vitro*, antithrombotic and antihemostatic studies [J]. Thromb Res, 2008, 6(5): 820—829.
- [10] 张文平,巫冠中,刘国卿. G004 抗实验性血栓形成作用及机制[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(2): 162—167.

## Inhibitory effect of ajoene on thrombosis in rats

LI Xiao-tian, FAN Yuan-yuan, SHI Ying-ying

Pharmaceutical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan, China

**ABSTRACT** **AIM:** To study the effect of ajoene on thrombosis in rats. **METHODS:** SD rats were randomly divided into five groups according to body weight: normal control group, Panax notoginseng Saponins group (50 mg/kg), and ajoene groups (25, 50, 75 mg/kg). Rats were given drugs everyday for 5 days, 2 h after the last administration using model of ligation of the inferior vena cava, FeCl<sub>3</sub> induced thrombosis and cuticle bleeding time to text the antithrombotic effect. Meanwhile collect blood plasma to text pronthrombin time (PT), thromboplastin time (APTT). **RESULTS:** Ajoene could inhibit the

formation of arterial and venous thrombosis, and inhibition rates of high dose ajoene on thrombosis of the arteriovenous were more than 40%. And it also could significantly increase the cuticle bleeding time, prolong the levels of PT, APTT ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION:** Ajoene can inhibit experimental arterial and vein thrombosis. And it has the satisfactory effect on anti-thrombosis.

**KEY WORDS** Ajoene; Antithrombotic; PT; APTT; Rats

本文编辑:余文涛