

玫瑰精油抗血栓形成作用

库文波, 甘露, 安晓晶, 马建慧, 陈虹, 郑秋生, 王振华*

(新疆特种植物药资源教育部重点实验室, 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

摘要:目的: 研究玫瑰精油对大鼠体外全血血小板聚集以及大鼠动-静脉旁路血栓形成的影响。方法: 大鼠颈总动脉取血后, 随机分为溶剂对照组, 阿司匹林阳性对照组, 玫瑰精油高(100 $\mu\text{g/mL}$)、中(50 $\mu\text{g/mL}$)、低(25 $\mu\text{g/mL}$)剂量组, 分别采用血小板聚集诱导剂二磷酸腺苷(ADP)、钙离子载体(A23187)和 CaCl_2 激发血小板聚集, 以电阻法分别检测玫瑰精油对体外全血血小板聚集的抑制作用。取 Wistar 大鼠 50 只, 均于手术前 3d 进行分组灌胃给药, 即溶剂对照组, 阿司匹林阳性对照组(30mg/(kg \cdot d)), 玫瑰精油(溶于注射用大豆油)高(100mg/(kg \cdot d))、中(50mg/(kg \cdot d))、低(25mg/(kg \cdot d))剂量组, 然后采用大鼠动-静脉旁路血栓形成法观察玫瑰精油对血栓形成的抑制作用。结果: 玫瑰精油能显著抑制 ADP、A23187、 CaCl_2 诱导的大鼠血小板聚集和动-静脉旁路血栓的形成。

关键词: 玫瑰精油; 血小板聚集; 血栓形成

Anti-thrombosis Effect of Rose Essential Oil

SHE Wen-bo, GAN Lu, AN Xiao-jing, MA Jian-hui, CHEN Hong, ZHENG Qiu-sheng, WANG Zhen-hua*

(Key Laboratory of Xinjiang Endemic Phytomedicine Resources, Ministry of Education, School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China)

Abstract: Objective: To investigate the effect of rose essential oil on whole blood platelet aggregation and arteriovenous shunt thrombosis in rats. Methods: The platelet aggregation in whole blood samples from rats was induced by adenosine diphosphate (ADP), calcium ionophore (A23187) and CaCl_2 , respectively. The inhibitory effect of rose essential oil at the doses of 25, 50 mg/L and 100 mg/L on platelet aggregation was measured by electric resistance method *in vitro*. Fifty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups including the control group, aspirin positive control group and three groups respectively administered with rose essential oil at the doses of 25, 50 mg/kg and 100 mg/kg. After oral administration of aspirin or rose essential oil once daily for 3 consecutive days, the effect of rose essential oil on thrombosis were explored by arteriovenous shunt thrombosis method. Results: Rose essential oil could significantly inhibit platelet aggregation induced by ADP, A23187 or CaCl_2 *in vitro* and the arteriovenous shunt thrombosis *in vivo* in a dose-dependent manner. These results demonstrated that rose essential oil had strong anti-platelet aggregation and anti-thrombosis activity *in vitro* and *in vivo*.

Key words: rose essential oil; platelet aggregation; thrombosis

中图分类号: S646.19

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)11-0270-03

玫瑰(*Rose rugosa*)为蔷薇科蔷薇属的多年生常绿或落叶灌木, 在世界范围内广泛种植。玫瑰品种繁多, 有重瓣玫瑰、大马士革玫瑰、百叶玫瑰、香水月季、墨红、白玫瑰、木香花等^[1]。玫瑰在我国各地均有栽培, 涉及的品种较多, 其中甘肃永登、山东平阴、北京妙峰山、新疆和田是国内主要玫瑰种植地^[2]。传统中医和维吾尔医均以玫瑰花入药, 2005 年版药典记载玫瑰

具有“行气解郁、和血、止痛”之功效^[3], 《维吾尔药志》记载玫瑰花具有“理气解郁、镇静安神、和血养血、调经”之功效^[4]。玫瑰花精油, 又称玫瑰油, 是鲜花油之冠, 具有优雅、柔和、纯正、丰满、细腻、香甜的香气。以玫瑰油为原料, 可调配出多种花香型香精, 广泛用于食品、酿酒、熏茶、化妆品、香皂等产品的加香^[5]。目前从玫瑰精油中鉴定出的化合

收稿日期: 2010-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760058); 新疆建设兵团基础 Research 计划项目(2007JC03);

新疆生产建设兵团博士资金项目(2007JC04)

作者简介: 库文波(1984—), 男, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管药理学。E-mail: tinatina3233@sina.com

* 通信作者: 王振华(1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为自由基生物学与医学。E-mail: zhenhuawang@tom.com

物约 224 种, 主要由萜类、醇类、酯类、醛类、醚类等化合物构成, 其中香茅醇、香叶醇、芳樟醇、橙花醇等是国产玫瑰精油的主要成分, 它们在玫瑰香气中起着重要的作用^[6]。本研究采用电阻法体外检测玫瑰精油对不同诱导剂诱导血小板聚集的抑制作用, 采用体内实验观察玫瑰精油对大鼠动-静脉旁路血栓形成的影响, 旨在为玫瑰花的临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

纯天然玫瑰精油(批号: 090216) 新疆伊犁伊帕尔汗香料发展有限责任公司。

乙酰水杨酸(阿司匹林)、二甲基亚砜(DMSO)、二磷酸腺苷二钠盐(adenosine diphosphate, ADP- Na_2)、钙离子载体(A23187) 美国 Sigma 公司; 肝素钠 常州千红生化制药有限公司; 注射用大豆油 铁岭北亚注射用油厂; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物

12 周龄 SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠, 体质量 260~300g, 由新疆维吾尔自治区实验动物研究中心(乌鲁木齐)提供, 合格证号: 2009-00101。

1.3 仪器与设备

QX-200 全血血小板聚集仪 上海医科大学仪器厂; AR-2140 型万分之一电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.4 方法

1.4.1 玫瑰精油抑制血小板聚集的测定

大鼠 20 只, 水合氯醛麻醉后于颈总动脉取血, 肝素钠 (20U/mL) 抗凝, 将取出来的动脉血分为 5 组进行测定, 分别为溶剂对照组(DMSO, 终体积分数 0.5%), 玫瑰精油高(100 $\mu\text{g/mL}$)、中(50 $\mu\text{g/mL}$)、低(25 $\mu\text{g/mL}$) 剂量组和阿司匹林阳性对照组(30 $\mu\text{g/mL}$)。玫瑰精油和阿司匹林均溶于 DMSO, 于反应体系中稀释至体积分数 0.5%, 每组测定 10 个样本。调整全血血小板聚集仪孵育温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 以专用稀释缓冲液(NaCl 8.0g/L、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.427g/L、 CaCl_2 0.2g/L、 KCl 0.2g/L、 D -葡萄糖 1.0g/L、 NaHCO_3 1.5g/L、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.065g/L、肝素钠 2000U, 加 0.1% 迭氮钠 1mL/L, pH7.4) 调零, 取大鼠抗凝全血 0.5mL 于专用硅化试管内, 再加入 0.5mL 的专用稀释缓冲液, 于全血血小板聚集仪搅拌孵育 5min, 加入 5 μL 待测药物(溶剂对照组仅加等体积 DMSO), 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 15min 后移入测量孔, 分别加入 5 μL ADP- Na_2 (终浓度 50 $\mu\text{mol/L}$)、A23187 (终浓度 1.25 $\mu\text{mol/L}$) 或 CaCl_2 (终浓度 1.5mmol/L), 按下定时键, 5min 后血小板聚集仪所测得数值锁定, 记录测定值作为血小板最大聚集率并计算出药物对血小板聚集抑制率^[7]:

$$\text{血小板聚集抑制率} / \% = \frac{a-b}{a} \times 100$$

式中: a . 溶剂对照组血小板最大聚集率; b . 给药组血小板最大聚集率。

1.4.2 玫瑰精油对大鼠溶栓作用的测定

大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 即溶剂对照组, 阿司匹林阳性对照组(30mg/(kg \cdot d)), 玫瑰精油(溶于注射用大豆油)高(100mg/(kg \cdot d))、中(50mg/(kg \cdot d))、低(25mg/(kg \cdot d))剂量组, 各用药组均于手术前 3d 灌胃给药, 每日 1 次, 给药容积 1.0mL/kg。溶液对照组给予等容量注射用大豆油。末次给药后 1h, 将大鼠用水合氯醛(350mg/kg, i.p.)麻醉, 分离右侧颈总动脉及左颈外静脉, 在内径约 1.5mm 聚乙烯管中放入一根长 5cm 已称质量的七号丝线。以含肝素钠(50U/mL)的生理盐水溶液充满聚乙烯管, 聚乙烯管的一端插入左颈外静脉, 另一端插入右颈总动脉。打开夹闭血管的动脉夹, 使血流从右总颈动脉流经聚乙烯管后, 返回左颈外静脉。开放血流 15min 后迅速取出丝线称质量, 减去丝线质量即得血栓湿质量。血栓于烘干箱内烘干后, 称其干质量^[8]。

1.5 数据分析

实验结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理和分析。采用单因素方差分析进行多组间样本均数比较, $P < 0.05$ 表明有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 玫瑰精油对大鼠全血血小板聚集抑制作用

表 1 玫瑰精油对 ADP 诱导大鼠全血血小板聚集的抑制作用($n=10$)
Table 1 Inhibitory effect of rose essential oil on rat platelet aggregation induced by ADP ($n=10$)

组别	电阻/ Ω	抑制率/%
溶剂对照组	9.2 \pm 1.03	0
低剂量组	8.3 \pm 0.77*	9.9
玫瑰精油 中剂量组	6.2 \pm 1.00**	32.5
高剂量组	5.5 \pm 0.78**	39.8
阿司匹林阳性对照组	4.5 \pm 0.78**	50.6

注: *.与溶剂对照组比较, 有显著性差异($P < 0.05$); **.与溶剂对照组比较, 有极显著性差异($P < 0.01$)。下同。

表 2 玫瑰精油对 A23187 诱导大鼠全血血小板聚集的抑制作用($n=10$)
Table 2 Inhibitory effect of rose essential oil on rat platelet aggregation induced by A23187 ($n=10$)

组别	电阻/ Ω	抑制率/%
溶剂对照组	9.0 \pm 0.73	0
低剂量组	7.7 \pm 1.33*	16.1
玫瑰精油 中剂量组	6.0 \pm 1.20**	29.6
高剂量组	5.3 \pm 0.67**	43.0
阿司匹林阳性对照组	4.6 \pm 0.96**	49.2

表3 玫瑰精油对CaCl₂诱导大鼠全血血小板聚集的抑制作用(n=10)
Table 3 Inhibitory effect of rose essential oil on rat platelet aggregation induced by CaCl₂ (n=10)

组别	电阻/Ω	抑制率/%
溶剂对照组	10.1 ± 0.71	0
低剂量组	9.1 ± 0.77*	16.7
玫瑰精油 中剂量组	7.2 ± 0.91**	30.0
高剂量组	6.2 ± 0.64**	39.6
阿司匹林阳性对照组	6.1 ± 0.56**	41.0

如表1~3所示, 25.0、50.0、100.0 μg/mL的玫瑰精油可剂量依赖性地抑制ADP、A23187和CaCl₂诱导的大鼠全血血小板聚集, 且抑制作用呈剂量依赖性。100 μg/mL玫瑰精油对ADP、A23187和CaCl₂诱导大鼠全血血小板聚集抑制率分别达39.8%、43.0%和39.6%。

2.2 玫瑰精油的抗血栓形成作用

表4 玫瑰精油对大鼠动-静脉旁路模型血栓形成的抑制作用(n=10)

Table 4 Inhibitory effect of rose essential oil on arteriovenous shunt thrombosis (n=10)

组别	剂量/(mg/(kg·d))	血栓干质量/mg
溶剂对照组	—	1.59 ± 0.08
低剂量组	25.0	1.56 ± 0.12
玫瑰精油 中剂量组	50.0	1.16 ± 0.13**
高剂量组	100.0	1.01 ± 0.18**
阿司匹林阳性对照组	30.0	0.93 ± 0.10**

如表4所示, 与溶剂对照组相比, 中、高剂量玫瑰精油和阿司匹林对大鼠动静脉旁路血栓形成均具有明显的抑制作用($P < 0.01$), 且玫瑰精油作用具有剂量依赖性(表1)。表明玫瑰精油有一定的抗血栓形成作用。

3 结论与讨论

血小板聚集是血小板参与止血和血栓形成过程的重要因素之一, 血小板聚集性异常升高与多种缺血性血栓病相关, 血小板聚集功能的测定对于临床上诊断血栓前状态和血栓性疾病具有重要意义^[9]。目前多种血栓性心脑血管疾病的发生均与血小板异常聚集有关, 抗血小板药物对这些疾病的防治有一定的积极作用^[9]。

长期以来血小板聚集活性的检测一直是血小板体外功能评价的标准^[10]。电阻法是根据聚集的血小板在电极上增厚使电阻增大的原理, 动态反映血小板聚集程度。该法不仅可用于血浆, 还能在全血中测定, 能更好地反映血小板体内生理状态^[11]。A23187是一种钙离子载体, 可将细胞外钙离子运输到细胞内, 可迅速地增加血小板内游离钙离子的浓度, 另外细胞外游离钙离子浓度升高也增加通过钙离子通道进入血小板的钙离子, 诱

导血小板聚集发生^[12]。因此, CaCl₂和A23187都会使细胞内Ca²⁺浓度增加, 诱导血小板聚集。ADP作用于血小板膜, 促进凝血因子血栓素A₂(TXA₂)的生成, 从而导致血小板聚集。本研究采用电阻法证实了玫瑰精油对ADP、钙离子载体A23187和CaCl₂诱导的大鼠体外全血血小板聚集有明显抑制作用, 并进一步通过动静脉旁路血栓实验证实玫瑰精油对体内血栓形成具有抑制作用, 表明玫瑰精油可通过抑制血小板聚集起到抗血栓形成作用。

玫瑰花为传统维吾尔医用药, 《中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册》收录了玫瑰花口服液和玫瑰花糖膏两种单方制剂, 分别具有“补益支配器官(心、脑、肝)”和“舒心爽神, 健胃止痛”之功效^[13], 另玫瑰花糖膏具有“通阻清理”等功效^[14], 玫瑰花精油具有消肿止痛之功效^[15], 可见玫瑰花及其精油功效与传统活血化瘀中药类似。本实验的研究结果证明玫瑰精油具有抗血栓和抗血小板聚集作用, 进一步证明了这一点, 玫瑰精油可能是玫瑰花的主要活性部位。我们发现玫瑰精油具有较强的抗氧化活性^[16], 是否抗氧化活性介导了玫瑰精油的抗血栓和抗血小板聚集作用值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 张建祥, 金其璋. 从成分的角度来看玫瑰油和香水月季油的不同用途[J]. 香料香精化妆品, 2006(1): 27-30.
- [2] 《中国香料植物栽培与加工》编写组. 中国香料植物栽培与加工[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1985: 260-263.
- [3] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 2005年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 139.
- [4] 刘勇民. 维吾尔药志[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 293.
- [5] 徐金玉, 李勇, 张晓敏, 等. 新疆玫瑰精油与保加利亚玫瑰精油化学成分及香气比较[J]. 冷冻与速冻食品工业, 2006, 12(3): 29-31.
- [6] 程劫, 谢建春, 孙宝国. 国产玫瑰精油的化学成分及香气特征[J]. 中国食品添加剂, 2007(5): 66-70.
- [7] 杜保生, 颜天华, 马莹, 等. 红景天苷对大鼠和小鼠血液系统的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 51-54.
- [8] 史传英, 董六一. 血塞通氯化钠注射液对脑血流量及血栓形成的影响[J]. 安徽医药, 2009, 13(4): 374-376.
- [9] BRASS L. Fifty (or more) ways to leave your platelets (in a Thrombus)[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(6): 989-991.
- [10] 韩正雪, 赖光强, 张维, 等. 地龙酒制剂对血小板聚集的影响[J]. 中国实用医药, 2008, 17(3): 26-27.
- [11] 陈松鹤, 孙丽云, 徐水平, 等. 电阻法测定血小板减少患者全血中血小板聚集功能[J]. 上海医科大学学报, 1986, 13(6): 430-434.
- [12] 金云海, 蒋毅萍, 林继红. 花椒油素对A23187和钙调节血小板及细胞内游离钙作用的研究[J]. 第一军医大学学报, 2000, 20(6): 513-514.
- [13] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1998: 152-153.
- [14] 艾克白尔·买买提, 买和木提·买买提, 艾合买提·买买提. 维吾尔药玫瑰花糖膏制作须注意的几个问题[J]. 中国少数民族医学, 2009(11): 46-47.
- [15] 茹仙如·麦米提明. 玫瑰花在维吾尔医治疗中的应用[J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(3): 25.
- [16] 甘露, 刘婷, 库文波, 等. 4种新疆地产芳香植物精油抗氧化作用比较研究[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 36-39.