

刺玫果阻断二甲基亚硝胺在大鼠体内合成及肝保护作用

延边医学院卫生学教研室 金长炼 洪淳赞 李永烈 尹元汉

延边医院病理科 曹东铨 金昌范 李柱虎

摘要 刺玫果汁在大鼠胃内阻断二甲基亚硝胺 (DMN) 的合成, 其阻断率为 98.49%, 与刺玫果汁同样量的抗坏血酸阻断率为 9.04%, 提示刺玫果汁中除抗坏血酸外还含有阻断 DMN 合成的活性成分。给亚硝酸钠和氨基比林的大鼠血清谷——丙转氨酶 (SGPT) 和山梨醇脱氢酶 (SDH) 活力比正常组增高一倍, 并引起肝细胞变性和坏死, 在同样条件下, 同时给刺玫果汁大鼠的 SGPT 和 SDH 活力保持正常水平肝细胞也没受损伤, 而同时给同样量的抗坏血酸组大鼠 SGPT 和 SDH 活力比正常组增高一倍, 并引起肝细胞变性和坏死。

关键词: 二甲基亚硝胺; 阻断; 蔷薇

N——亚硝基化合物 (NOC) 是已知的强致癌物, 抗坏血酸可在体内阻断其合成^[1]。刺玫果为蔷薇科蔷薇属植物野蔷薇 (*Rosa davurica* Pall.) 的成熟果实, 主要产于东北三省, 它含有大量的抗坏血酸。本文研究刺玫果汁对 NNC 合成的阻断作用及肝毒性的拮抗作用, 探讨其可能的防癌作用。

材料与方法

一、主要试剂和仪器: 二甲基亚硝胺 (DMN) 标准品, 日本半井化学药品株式会社产品; 亚硝酸钠、氨基比林、抗坏血酸及其它试剂均为分析纯; SP—2305E 型气相色谱仪, 北京分析仪器厂出品。

二、刺玫果汁: 刺玫果采自吉林省珲春地区, 挑选后在阴凉通风处干燥, 将果制成每 ml 相法于 1g 干果的浓缩汁, 在冰箱中保存备用。

三、实验动物及分组: 10 周龄 Wistar 大鼠 (体重 220~250g) 40 只, 随机分成 5 组, 每组 8 只, 雌雄各半。A 组: 正常对照组, B 组: DMN 双前体物—亚硝酸钠加氨基比林的阳性对照组, C 组: 亚硝酸钠组, D 组: 双前体物加抗坏血酸组, E 组: 双前体物加刺玫果汁组。

四、实验方法: 每日按表 1 将药物临时配制后灌胃, 共处理两周, 停药 48h 后称重, 按表 1 再灌胃一次, 0.5h 后立即解剖 (解剖前 5min 开始用乙醚麻醉), 心脏穿刺取血, 取胃和肝脏作如下实验: 1. 大鼠胃内容物中 DMN 含量测定: 取胃剪破后, 立即放入 5ml 10% 氨基磺酸胺溶液中, 搅拌, 以停止亚硝化反应, 过滤, 用水洗残渣两次, 合并滤液, 用同体积二氯甲烷提取三次合并提取液, 用无水硫酸钠脱水, 在 K—D 浓缩仪中通氮气下浓缩至 1ml, 取 2.0μl 注入至气相色谱中, 测定各管 DMN 峰值, 在相同条件下注入标准 DMN, 以保

留时间定性, 峰高定量, DMN 回收率为 80~82%。检测条件: 色谱柱为 2m×3mm 不锈钢柱, 填充物为 10% 聚乙二醇 20M+1% KOH 的 Chromosorb WAW—DM—CS, 柱温 175℃, 载气为氦气, 流速为 20~40ml/min。

2. 参照文献^[2]的方法测定大鼠血清谷——丙转氨酶 (SGPT) 和山梨醇脱氢酶 (SDH) 活力。

3. 取材: 解剖动物后, 取肝脏, 并立即以 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, HE 染色。

结果

一、各组大鼠胃内容物中 DMN 生成量; 氨基比林和亚硝酸钠在大鼠胃内合成 DMN, 在同样条件下, 单一的亚硝酸钠未能合居 DMN, 从表 2 可看出, 刺玫果汁明显阻断 DMN 在大鼠胃内的合成, 而同样量的抗坏血酸的阻断作用不明显。

表 1 大鼠分组和给药情况*

组别	动物数	亚硝酸钠 mg/ml	氨基比林 mg/ml	抗坏血酸 mg/ml	刺玫果汁** ml	水 ml
A	8	—	—	—	—	1.00
B	8	3.5	0.05	11.57	0.25	—
C	8	3.5	0.05	—	—	0.95
D	8	3.5	0.05	11.57	0.25	1.50
E	8	3.5	0.05	11.57	0.25	—

* 每 100g 体重给药量, ** 0.7ml 果汁含抗坏血酸 1.5mg

表 2 各组大鼠胃内 DMN 生成量及阻断率

组别	动物数	DMN 生成的 动物数	DMN 生成量 (mg/只) X±SD	阻断率 (%)
A	8	0	0	—
B	6	6	0.354±0.188	—
C	7	0	0	—
D	5	5	0.322±0.093**	9.04
E	7	1	0.00534±0.00912***	98.49

** 在实验期间, 因灌胃不当, C, D, E 三个组大鼠中各死一只, B, D 两个组大鼠中可能因急性肝中毒各死 2 只, 与 B 组相比较 ** P>0.05, *** P<0.001

表3 实验末期各组大鼠 SGPT 和 SDH 值

组别	动物数	SGPT (X±SD)	SDH (X±SD)
A	8	147.75±34.79	7.56±4.30
B	6	281.00±95.28 *	14.84±6.80 *
C	7	149.86±29.21	6.96±6.92
D	5	271.40±158.16 *	14.10±6.49 *
E	7	146.14±40.95	7.24±7.07

与 A 组比较 *P<0.01

结 果

一、各组大鼠胃内容物中 DMN 生成量：氨基比林和亚硝酸钠在大鼠胃内合成 DMN；在同样条件下，单一的亚硝酸钠未能合成 DMN，从表 2 可看出，刺玫果可明显阻断 DMN 在大鼠胃内的合成，而同样量的抗坏血酸的阻断作用不明显。

二、实验末期各组大鼠 SGPT 和 SDH 值：SGPT、SDH 活力均为衡量肝脏受损程度的敏感指标之一，本实验结果表明，各组的 SGPT 和 SDH 值与 A 组比较，B、D 组有显著性差异，而 C、E 组无显著性差异（表 3）。

三、实验末期各组大鼠肝脏病理学改变：病理学检查结果表明 B 组大鼠肝脏肉眼可见其表面明显粗糙，充血或肿大，镜下可见肝组织明显充血、肝细胞变性坏死，纤维组织增生，肝组织分割成假小叶，D 组大鼠肝脏也有轻度或严重病变。病理学检查结果按等级分组资料的统计方法处理，各组与 A 组比较，除 C、E 两组外均有显著性差异（表 4）。

表4 各组大鼠肝脏病理组织学检查结果*

组别	动物数	镜 下 病 变					P
		-	±	+	++	++++	
A	8	8	0	0	0	0	
B	6	0	0	0	3	3	<0.01
C	7	7	0	0	0	0	>0.05
D	5	1	1	0	1	2	<0.01
E	7	6	1	0	0	0	>0.05

* 病变程度划分：—正常；±轻度充血，肝细胞轻度浊肿；+肝窦充血，肝细胞浊肿较明显，范围只限于中央静脉周围；++肝细胞浊肿变性明显，范围较广，出现少量肝细胞坏死灶；+++肝细胞变性坏死，病灶较广并有纤维组织增生，假小叶形成

讨 论

氨基比林属于叔胺类，它在一定条件下 N—亚硝基化形成 DMN^[3]，DMN 可在动物体内导致急性肝中毒，肝细胞大量坏死和 SGPT 活性急剧增高^[4]，本次实验结果与文献报道相符^[3,4]。

刘中申^[5]等对刺玫果进行了深入研究，指出，刺玫果具有抗疲劳耐缺氧、抗衰老、增强免疫功能等作用，但至今尚未见到刺玫果防癌方面的报道。本实验着重从防癌角度研究了刺玫果对 DMN 合成的阻断作用与肝的保护作用。本实验证实，刺玫果在体内如同体外^[6]明显阻断 DMN 的合成，其作用远比同量抗坏血酸强，这些作用类似于中华猕猴桃汁^[7]，因此刺玫果可能预防由强致癌—亚硝基化合物引起的机体损伤和肿瘤，为全面开发刺玫果这一宝贵的野生资源提供一定的科学依据。

参 考 文 献

1. Mirvish ss, et al. Ascorbate—Nitrite Reaction: Possible Means of Blocking the Formation of Carcinogenic N—nitroso Compounds. Science, 1972; 177: 65
2. 崔福生主编. 医学生化检验手册. 天津: 天津科学技术出版社, 1982, 256: 295
3. Taylor HW, et al. Tumor Induction in Rats by Feeding Aminopyrine or Oxytetracycline with Nitrite Int. J. Cancer, 1975, 16: 211
4. Mirvish ss, et al. Formation of N—nitroso compounds: Chemistry, kinetics, and in Vivo Occurrence. Toxicol Appl Pharmacol, 1975, 31 (3): 325
5. 刘中申, 等. 刺玫果抗衰老实验研究. 中医药学报, 1990, (1): 46
6. 洪淳赞, 等. 体外刺玫果汁清除亚硝酸钠及阻断二甲亚硝胺合成的效果. 延边医学院学报, 1992, 15 (2): 94
7. 宋圃菊, 等. 中华猕猴桃的防癌作用. 营养学报, 1984, 6 (2): 109

The Blocking Effects of Fruit of *Rosa davurica* Pall. (ROP) on the Formation of Dimethylnitrosamine (DMN) and Protection of liver in Rats

Jin Changlian. et al

The blocking of fruit of RDP on the formation of DMN in rats, fruit juice of RDP gave 98.49% blocking effect, whereas ascorbic acid (Vc) solution of the same concentration as in the fruit juice of RDP gave 20.66% blocking effect. The better blocking effect of the juice suggested that there might be some of other blocking substances besides Vc in fruit of RDP. fruit of RDP antagonized hepatotoxicity of DMN by blocking formation of DMN.

Key words: *Rosa*; dimethylnitrosamine blocking; hepatotoxicity