

# 余甘子对强致癌物N-亚硝基化合物 在人体内合成的阻断作用

侯开卫 刘凤书 杨臣武

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所)

宋圃菊 梁学军 程 列

(北京医科大学)

**摘要** 本文采用 Ohshima 的方法, 以尿中N-亚硝基脯氨酸(NPRO)量为指标, 研究了余甘子果汁阻断人体内N-亚硝基化合物(NNC)的合成。12名志愿者摄入L-脯氨酸500 mg和硝酸钠300 mg后, 尿中NPRO的量平均为75.10 nmol, 而当摄入上述两种药物的同时, 分别给予同浓度的抗坏血酸和余甘子果汁后, 尿中NPRO的含量则分别降为41.08 nmol和20.79 nmol, 且后者比本底值(25.55 nmol)还低。表明在本实验条件下, 摄入含抗坏血酸75 mg的余甘子果汁13 ml, 即能完全阻断500 mg L-脯氨酸和300 mg硝酸钠在人体内所引起的NPRO的合成。同时也证明, 余甘子果汁能有效地阻断人体内NNC的合成。

**关键词** 余甘子; N-亚硝基化合物; N-亚硝基脯氨酸; L-脯氨酸; 硝酸钠; 抗坏血酸

国内外的研究表明, 致癌性亚硝胺不仅可在动物胃内合成, 也可在人体内合成。而且体内合成是人类接触致癌性N-亚硝基化合物(NNC)的主要来源<sup>[1]</sup>。可见, 选择天然食品来阻断体内合成, 对于防止内源性NNC潜在的致癌危险, 具有重要的理论和实际意义。

我们曾先后报道了余甘子汁在体外模拟胃液条件下和在动物体内对NNC合成的阻断作用的研究结果<sup>[2-3]</sup>。在此基础上, 本文采用 Ohshima 的方法<sup>[4]</sup>, 以尿中NPRO的含量为指标, 定量研究余甘子对人体内NNC合成的阻断结果。我们期望并深信, 这些研究结果能对我国余甘子资源的开发利用价值, 对增加一种效果极佳的防癌天然食品产生积极的影响。

## 一、材料和方法

### (一) 材 料

余甘子汁采自云南省景东县自然分布的山甘野生种的果实, 洗净、凉干、去核、压榨而得, 抗坏血酸含量为591.77 mg/dl。使用时不再稀释或浓缩。硝酸钠为北京红星化工厂出品, 分析纯。其他试剂和仪器同动物试验<sup>[3]</sup>。

## (二) 方 法

1. 受试者摄入前体物及尿收集 受试者为12名男性青年, 身体健康。实验前两天及实验期间均食用相同菜肴, 主食大米和馒头, 不限量。收集尿的当天早餐食用面食糕点。食用两天实验餐后, 测定24 h尿中NPRO含量, 作为本底水平(第1期)。然后以自身为对照, 按如下分期经口摄入受试物: 第2期摄入硝酸钠和L-脯氨酸; 第3期摄入硝酸钠、L-脯氨酸加抗坏血酸; 第4期摄入硝酸钠、L-脯氨酸加余甘子汁。每期实验间隔72 h。硝酸钠和L-脯氨酸剂量分别为300和500 mg, 配成20 ml水溶液; 抗坏血酸剂量为75 mg, 配成10 ml水溶液; 余甘子汁剂量为13 ml。受试者于上午7时口服硝酸钠, 30 min后口服L-脯氨酸或加余甘子汁或加抗坏血酸, 2 h后进餐。摄入硝酸钠前排空膀胱, 收集此后24 h的尿于预先加10 ml As液的聚乙烯塑料瓶中, 以肌酐含量(1.0—1.5 g/24 h尿)监测尿量是否收全。受试者在实验期间禁食芹菜、菠菜、鱼制品以及其他含硝酸盐高的食物, 不吸烟, 不喝茶、咖啡和啤酒, 不服药, 以控制其他因素的干扰。自由饮水。

2. 尿中NPRO的测定 测量24 h总尿量, 混匀后取50 ml尿样, 用醋酸乙酯50、30、30 ml三次萃取, 其余按动物实验<sup>[3]</sup>进行。

3. 尿中肌酐测定用苦味酸法<sup>[6]</sup>。

## 二、结果与讨论

12名志愿受试者吃两天实验餐后, 24 h尿中的NPRO本底水平以及摄入前体物硝酸钠和L-脯氨酸或前体物加余甘子汁或抗坏血酸后, 尿中NPRO排除量的变化见表1。受试者摄入300 mg硝酸钠和500 mg L-脯氨酸后, 尿中NPRO平均含量(75.10 nmol)明显高于本底水平(25.55 nmol), 说明体内出现NPRO合成。但个体差异较大(39.63—144.72 nmol), 是否

表1 摄入不同受试物24h尿NPRO含量 (nmol)

志 愿 受 试 者	各 实 验 期 摄 入 的 受 试 物			
	1 本 底	2 硝酸钠 + L-脯氨酸	3 硝酸钠 + L-脯氨酸 + 余甘子汁	4 硝酸钠 + L-脯氨酸 + 抗坏血酸
1	33.45	85.42	16.01	39.47
2	27.21	45.50	26.24	31.35
3	13.22	144.72	18.69	41.56
4	40.07	72.17	25.58	60.02
5	29.21	57.55	9.60	24.58
6	32.94	39.63	11.86	28.12
7	41.68	91.81	47.70	67.99
8	21.40	57.77	40.05	43.55
9	19.13	50.34	11.50	49.04
10	17.62	45.97	13.70	17.54
11	14.80	54.03	14.24	42.85
12	15.90	105.81	14.39	46.71
平 均	25.55	75.10 <sup>①</sup>	20.79 <sup>①</sup>	41.08 <sup>①</sup>
相对产率(%) <sup>②</sup>		100.00	27.68	54.70
阻断率(%)			109.61	68.66

①配对t检验P<0.01。

②以实验2的量为100%计算。

可以认为这与各人口腔里形成的亚硝酸盐的量不同有关。这在许多资料中反映出，人体摄入硝酸盐后在胃肠道上部吸收入血循环后，其中一部分由唾液腺分泌到口腔中的硝酸盐被细菌还原成亚硝酸盐。此种转变比例虽然较稳定，但其绝对量个体间差异很大<sup>[6]</sup>。随唾液进入胃内的亚硝酸盐可能与此时摄入的L-脯氨酸在酸性条件下合成NPRO。Stich等研究了不同膳食时尿NPRO含量的变化，发现食亚硝酸盐加工的肉制品，尿NPRO含量较高(2.5—78.5 μg)；食不加硝酸盐的肉和鱼制品，尿NPRO含量则较低(0—0.8 μg)；而素食者也较低(0—3.5 μg，平均0.8 μg)<sup>[7]</sup>。可见，摄入膳食中可能已形成的不同的NPRO，也是影响24 h尿NPRO含量的另一因素。但本实验受试者不吃鱼肉等类制品，因而从膳食中摄入已形成的NPRO的可能性极小。

从实验结果可看出，在摄入前体物的同时，摄入已知阻断剂抗坏血酸75 mg，尿中NPRO含量平均为41.08 nmol，比只摄入前体物者降低较多，差异极为显著( $P < 0.01$ )。但此值仍高于本底水平较多，表明在本实验条件下，该剂量的抗坏血酸只有部分阻断作用。而在摄入前体物的同时摄入相当于75 mg抗坏血酸的13 ml余甘子汁，尿中NPRO含量却明显低于相同剂量的抗坏血酸，差异极显著( $P < 0.01$ )，并降到本底水平。表明此剂量的余甘子汁在本实验条件下能完全阻断300 mg硝酸盐与500 mg L-脯氨酸在人体内引起的NPRO合成。这与动物实验的结果一致。可否认为余甘子汁除抗坏血酸外，还有其他阻断体内亚硝化的成分(如单宁、酚类物质等)。

其他学者和我们的研究说明，NPRO模型是一个简便、灵敏、可靠的方法，且无致癌和致突变作用，故可用于反映人体内源性亚硝化能力的指标<sup>[8]</sup>。利用这一方法来研究天然食品对NNC体内合成的影响，筛选出有效的阻断剂作为对抗NNC危害的保健食品，具有较大的实用意义。本实验表明，作为一种天然食品，余甘子汁具有明显减少和消除人类接触内源性N-亚硝基化合物的作用。

### 参 考 文 献

- [1] 徐勇, 1986, 人体内N-亚硝基化合物的合成及其影响因素, 国外医学卫生学分册, (5):282。
- [2] 刘凤书等, 1988, 热带作物学报, 9(2)。
- [3] 侯开卫等, 1988, 热带作物学报, 9(3)。
- [4] Ohshima, B. et al., Quantitative estimation of endogenous nitrosation in human by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine, *Cancer Res.*, 1981, 41:3658.
- [5] 上海市医学化验所, 1979 临床生化检验, 上海科学技术出版社, 109。
- [6] Bartholomew, B. Hill MJ., The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate, *Food Chem. Toxicol.*, 1984, 22:789.
- [7] Stich, HF et al., 1984, The effect of dietary factors on nitrosoproline levels in human urine, *Int. J. Cancer*, 33:625.
- [8] 吴永宁, 1986, 监测尿中N-亚硝基氨基酸作为内源性亚硝化的指标, 国外医学卫生学分册, 13(4):218。

THE BLOCKING EFFECT OF *PHYLLANTHUS EMBLICA* L.  
ON THE FORMATION OF STRONG CARCINOGEN  
N-NITROSO-COMPOUND IN HUMAN BODY

Hou Kaiwei      Liu Fengshu      Yang Chenwu

(The Research Institute of Economic Insects CAF)

Song Puju      Liang Xuejun      Cheng Lie

(Beijing Medical University)

**Abstract** The paper deals with the blocking effect of *Phyllanthus emblica* L. on the formation of N-nitroso-compound in human body. Ohshima's method was used to measure the quantity of N-nitroso-proline (NPRO) in urine as an index. Each one of the twelve tested men absorbed 500 mg L-proline and 300 mg sodium nitrate, after that, the average quantity of N-nitroso-proline in their urine was 75.10 nmol. However, when absorbing L-proline and sodium nitrate, they absorbed again ascorbic acid and *Phyllanthus emblica* L. juice of the same concentration with ascorbic acid separately. The content of NPRO in their urine was down to 41.08 nmol and 20.79 nmol respectively. The content of NPRO of the latter is lower than background number (25.55 nmol). It indicated that if a man absorbed 13 ml *Phyllanthus emblica* L. juice containing 75 mg ascorbic acid in this experiment, the synthesis of NPRO, which was formed by absorbing 500 mg L-proline and 300 mg sodium nitrate in human body could be blocked. Besides, it also showed that the *Phyllanthus emblica* juice could block the synthesis of N-nitroso-compound in human body effectively.

**Key words** *Phyllanthus emblica* L.; N-nitroso-compound; N-nitroso-proline; L-proline; sodium nitrate; ascorbic acid