

# 螯合剂双酚胺酸对铀的解毒和促排作用

陶正琴、徐新华、严雪铭、陈振家、张建时、梁猷毅、谢毓元

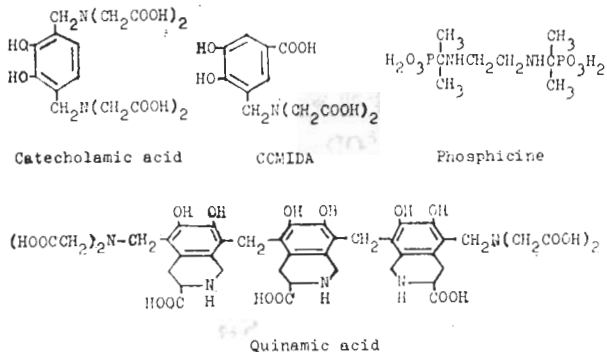
(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 双酚胺酸为邻苯二酚结构的氨基型螯合剂, sc 1g/kg 可提高硝酸铀酰中毒小鼠的存活率, im 0.5g/kg 可显著提高大鼠铀中毒致死剂量, 并使中毒大鼠存活 30 d 以上, im 0.1-0.5 g/kg 或 0.5 g/(kg·d) 连续 2 d 或 ig 2 g/kg 都能增加大鼠尿铀排出, 与对照组相比, 尿铀比值为 1.76-2.50; 此外还能减轻铀中毒后的全身症状和肾脏损害。

**关键词** 双酚胺酸; 儿茶酚-3,6-双(甲叉亚氨基二乙酸); 喹胺酸; phosphicine; 铀; 尿过氧化氢酶; 螯合剂

铀是一种具有化学毒和放射毒的天然放射性元素, 急性中毒可引起严重的肾脏损伤<sup>(1)</sup>, 慢性吸入中毒可引起肺, 骨骼等损害, 动物实验证明铀可诱发肿瘤<sup>(2)</sup>, 国内也有铀中毒的临床报道<sup>(3)</sup>。对于进入体内的铀, 目前尚无理想的解毒和促进排泄的药物。含磷化合物如 phosphicine<sup>(4)</sup>和邻苯二酚类化合物如钛铁试剂(tiron)<sup>(5)</sup>仅限于实验阶段, 近年来还观察到喹胺酸(quinamic acid)对铀有促排解毒作用<sup>(6)</sup>。我们又发现儿茶酚-3,6-双(甲叉亚氨基二乙酸)[catechol-3,6-bis(methyleneimino diacetic acid)]

定名为双酚胺酸(catecholamic acid, CBMIDA)和儿茶酚-4-羧基-6-甲叉亚氨基二乙酸(catechol-4-carboxy-6-methyleneimino diacetic acid, CCMIDA)有明显的铀解毒促排作用, 本文报道实验结果。



## 材 料 和 方 法

**药物** 双酚胺酸、CCMIDA 及 phosphicine 均为白色粉末, 喹胺酸为黄色粉末, 均由本所合成室提供。药物于临用前用蒸馏水配制, 用 NaHCO<sub>3</sub> 调节 pH 为 6, 前 3 个药物为无色透明液, 喹胺酸为黄色澄清液, 硝酸铀酰 UO<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, (国产, AR), 用蒸馏水配成澄清溶液。

1986年6月18日收稿 1986年11月22日修回  
本文曾于1983年9月在北京促排药物研究经验交流会宣读

**动物** ♂小鼠及大鼠均由上海实验动物饲养中心供给。小鼠饲养在能分开食物与粪便的铅皮鼠笼内，每笼10鼠。大鼠饲养于可分离大、小便的有机玻璃代谢笼内，每笼1鼠。动物可以自由摄食和饮水。

**尿铀测定** 采用固态荧光分析法。先收集48 h尿液，经浓  $\text{NH}_3$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  加热处理，然后用醋酸乙酯萃取，再经过  $700^\circ\text{C}$  加热以除去杂质，将回收到的铀用稀  $\text{NH}_3$  稀释，定量滴加在  $\text{NaF}$  片上，在  $950^\circ\text{C}$  煤气喷灯下熔融成熔珠，用紫外分析仪，在  $254\text{ nm}$  处以目视与标准系列比较含铀熔珠荧光强度，将所测得值换算成尿铀排出量，与同批不给药对照组尿铀排出量相比，求得尿铀比值(给药组尿铀排出量/对照组尿铀排出量)。

**尿过氧化氢酶活力测定** 采用间接碘量法<sup>(7)</sup>。

## 结 果

### 对急性铀中毒解毒作用的比较

1. 小鼠试验 小鼠150只，♂，体重  $20 \pm \text{SD } 1\text{ g}$ ，随机分5大组，1组为中毒组，另4组分别给双酚胺酸、CCMIDA，喹胺酸及 **phosphicine** 等螯合剂为解毒组。每大组又分别用3种铀中毒剂量，即 ip 硝酸铀酰 100, 200 和  $400\text{ mg/kg}$ ，每组10只，于中毒后立即 sc 螯合剂，观察7 d内小鼠存活数。表1结果说明，铀中毒量为  $100\text{ mg/kg}$  时，4个解毒药均有较好的解毒作用，铀中毒量增为  $200\text{ mg/kg}$  时，各解毒药有不同程度的解毒效果，其中 **phosphicine** 及双酚胺酸效果较好，喹胺酸及 CCMIDA 次之，当铀中毒量加大到  $400\text{ mg/kg}$ ，**phosphicine** 和双酚胺酸仍有效，而喹胺酸及 CCMIDA 无解毒作用。

2. 大鼠试验 大鼠155只，♂，体重  $168 \pm 19\text{ g}$ ，随机分成17组，每组10只，(3组5只)。实验分为1个中毒组和3个解毒组，先 ip 不同剂量的硝酸铀酰，后立即 im 螯合剂，观察7 d内大鼠存活数(表2)。实验表明，单

Tab 1. Survival of mice after ip  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$  and sc chelating agents.  $n = 10$ .

Chelating agent	Dose (g/kg)	$\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2(\text{mg/kg})$		
		100	200	400
Control	—	3	0	0
Catecholamic acid	1.0	10	6	2
CCMIDA	1.0	10	2	0
Quinamic acid	0.5	9	5	0
Phosphicine	1.0	10	8	8

Tab 2. Survival of rats after ip  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$  and im chelating agents within 7 d.  $n = 10$ .

Chelating agent	Dose (g/kg)	$\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2(\text{mg/kg})$							
		10	20	40	80	160	240	320	500
Control	—	0	0	0	0	0	—	—	—
Catecholamic acid	0.5	—	—	9	9	8	9	8	2
CCMIDA (n = 5)	0.5	—	—	5	5	0	—	—	—
Phosphicine	0.5	—	—	10	10	0	—	—	—

ip 硝酸铀酰 10, 20, 40, 80,  $160\text{ mg/kg}$ , 7 d 内大鼠全部死亡，而双酚胺酸不仅可使 40, 80,  $160\text{ mg/kg}$  硝酸铀酰中毒的各组大鼠活存 8-9/10, (均存活到 30 d)，而且可将硝酸铀酰中毒量提高到 240 和  $320\text{ mg/kg}$ ，每组 10 只大鼠仍存活 9 和 8 只，(1 鼠死于当天)，当中毒量加大到  $500\text{ mg/kg}$ ，双酚胺酸组仍有 2 只存活到 30 d，CCMIDA 及 **phosphicine** 可使 40,  $80\text{ mg/kg}$  硝酸铀酰中毒的各组大鼠全活，但铀中毒量加大到  $160\text{ mg/kg}$  时，就未能显示出解毒作用。

### 不同给药条件双酚胺酸的解毒作用

1. 不同给药剂量 ♂大鼠 30 只，体重  $184 \pm 12\text{ g}$  分成 6 组，每组 5 只，先 ip 硝酸铀酰  $40\text{ mg/kg}$  后立即 im 不同剂量双酚胺酸，观察大鼠存活数。实验表明，双酚胺酸 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 和  $0.5\text{ g/kg}$  均有很好的解毒效果，各组大鼠全部存活到 30 d 以上，对照组在 7 d 内全部死亡。

2. 不同时间给药 ♂大鼠 30 只，体重  $170 \pm 15\text{ g}$ ，分成 6 组，每组 5 只，1 组 ip 硝酸铀酰  $40\text{ mg/kg}$  为中毒对照组，余 5 组于中

Tab 3. Urinary excretion of uranium after ip UN (400  $\mu$ g U/rat) and im chelating agents. n=5. All p<0.01 compared with control

Chelating agent	Dose (g/kg)	U-excretion ( $\mu$ g) in 48 h Drug group	Control	U ratio in urine
Catecholamic acid	0.5	220 $\pm$ 28	88 $\pm$ 12	2.50
CCMIDA	0.5	220 $\pm$ 48	96 $\pm$ 32	2.29
Quinamic acid	0.5	196 $\pm$ 64	104 $\pm$ 32	1.88
Phosphicine	0.25 bid $\times$ 2	212 $\pm$ 72	116 $\pm$ 36	1.82
Catecholamic acid	0.1	152 $\pm$ 40	84 $\pm$ 20	1.80
	0.3	180 $\pm$ 64	88 $\pm$ 20	2.04
	0.5	240 $\pm$ 52	112 $\pm$ 44	2.14
	0.5 bid $\times$ 2	224 $\pm$ 60	96 $\pm$ 32	2.33
	2.0 (ig)	148 $\pm$ 60	84 $\pm$ 12	1.76

毒后不同时间 im 双酚胺酸 0.5 g/kg 观察 7 d 存活数。实验表明铀中毒后立即或 30 min 内给双酚胺酸均有较好的解毒效果, 存活 4/5 及 5/5, 中毒 4 h 给药, 效果减低, 存活 1/5, 中毒 16 h 或 24 h 给药, 无解毒作用。

#### 对大鼠铀中毒的促排作用

1. 4 种螯合剂的促排效果  $\sigma$  大鼠 40 只, 体重 180 $\pm$ 16 g, 分为 4 个对照组和 4 个给药组, 每组 5 只, 先 ip 硝酸铀酰 400  $\mu$ g 铀/只, 后立即 im 4 种螯合剂, 对照组不给螯合剂, 收集 48 h 尿液, 测尿铀总量, 换算成尿铀排出量, 与同批对照组尿铀排出量相比, 求尿铀比值(表 3)。实验指出 4 种螯合剂均有较好的促排效果, 与对照组相比, 有显著促排作用。

2. 各种不同条件给双酚胺酸的促排作用  $\sigma$  大鼠 45 只, 体重 170 $\pm$ 10 g, 每组 5 只, 对照组单 ip 硝酸铀酰 400  $\mu$ g 铀/只, 给药组在铀中毒后立即 im 双酚胺酸 0.1, 0.3 和 0.5 g/kg 或 0.5 g/(kg·d) 连续 im 2 d, 或 ig 2 g/kg, 测 48 h 尿铀排出量, 与同批对照比较, 得尿铀比值(表 3)。结果表明 im 双酚胺酸 0.1-0.5 g/kg 或 0.5 g/(kg·d) 连续 2 d 均有促排作用, ig 也能显示促排效果。

双酚胺酸对铀中毒大鼠的保护作用  $\sigma$  大鼠 10 只, 体重 228 $\pm$ 7 g, 分中毒组和双酚胺酸解毒组, 给药方法与铀促排试验相同。试验前大鼠先在代谢笼内饲养 2 d, 然后测定药后 2 wk 内体重、食量、尿过氧化氢酶活力、

尿蛋白及尿量等, 以观察大鼠全身状况及肾脏损伤程度。实验结果表明中毒组大鼠出现行动呆滞, 反应迟钝, 食量减少和体重下降等明显中毒症状, 并有尿量增加, 尿蛋白阳性和尿过氧化氢酶活力增加(1-5 d, 图 1)。肉眼可见

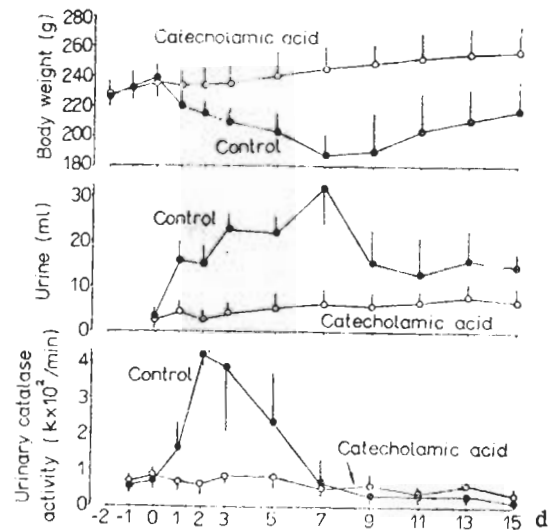


Fig 1. Changes of urinary catalase activity, urine volume and body weight after ip uranyl nitrate (400  $\mu$ g U/rat) and then im catecholamic acid 0.5 g/kg. Proteinuria in control rats on d 2-15 (n=5,  $\bar{x}\pm$ SD)

$$k = \left( \frac{2.303}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x} \right) / \text{min}$$

t: reactive time (min)

a, t=0, concentration of substrate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , ml of blank)

a-x, t= $t_0$ , concentration of substrate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , ml of test)

肾脏肿大,色泽浅淡,表面有弥漫性坏死小灶,肾剖面可见皮质、髓质和肾盂组织结构模糊,伴组织坏死等严重的肾脏损伤,而双酚胺酸解毒组的大鼠,不论全身反应或肾脏损伤都比中毒组轻得多。

## 讨 论

本实验证明 phosphicine 对大鼠急性铀中毒有一定的促排和解毒作用,效果与文献(4)报道相近。喹胺酸对大鼠促排铀的效果与 phosphicine 相似,但对小鼠的解毒效果不如后者。双酚胺酸对大鼠具有很好的解铀毒作用,如 ip 硝酸铀酰 10 mg/kg,中毒组大鼠在 7 d 内全部死亡,而双酚胺酸组可将铀中毒量加大到 320 mg/kg,10 只大鼠有 8 只活存 30 d 以上,铀中毒量增至 500 mg/kg,10 只中仍有 2 只活存到 30 d,活存大鼠健康状况良好。phosphicine 组仅能使 40, 80 mg/kg 铀中毒的 10 只大鼠全活,如铀中毒量为 160 mg/kg,10 只大鼠在 7 d 内全死,由此可见双酚胺酸的解毒效果比 phosphicine 为佳,这与体外试验双酚胺酸与  $UO_2^{2+}$  的螯合物稳定性超过 phosphicine 的结果是一致的<sup>(8)</sup>。双酚胺酸对大鼠有很好的促排铀的作用,1 次给药的促排率与 phosphicine 4 次给药相近。药物的解毒效果与促排效果不完全平行的原因可能是解毒作用的机理除促进铀排泄外,还有某些其他机理有待进一步研究。

双酚胺酸的有效剂量较宽,从 0.1 g/kg 到 0.5 g/kg 都有较好解毒促排效果,ig 也有一定作用,为临床使用提供可选择的有利条件;双酚胺酸与一般解毒药相仿,中毒后给药越早,效果越好,这可能是由于中毒早期,

$UO_2^{2+}$  尚未完全与体内蛋白结合,易被双酚胺酸螯合成低分子化合物迅速经肾脏从尿排出体外。双酚胺酸与 CCMIDA 在结构上大同小异,但双酚胺酸的解毒效果比 CCMIDA 好,这可能由于双酚胺酸具有更多的络合基团的缘故。双酚胺酸不仅疗效显著,而且毒性也较低,我们在另一实验中测得 im 双酚胺酸大鼠急性  $LD_{50}$  为 2.92 g/kg,治疗指数可达 29,总之,双酚胺酸是一个很有希望的铀解毒促排剂。

## 参 考 文 献

- 1 Goel KA, Gary VR, Gary V. Histopathology of kidney of albino rat poisoned with uranyl nitrate *Bull Environ Contam Toxicol* 1980; 24 : 9
- 2 Leach LJ, Yuile CL. A five-year inhalation study with natural uranium dioxide ( $UO_2$ ) dust--II postexposure retention and biologic effects in the monkey, dog and rat. *Health Physics* 1973; 25 : 239
- 3 范积雄、乌家美、肖宝鉴. 一例硝酸铀酰复合烧伤的医学观察. *辐射防护* 1981; 1 (4) : 49
- 4 Иванников А Т. Эффективность применения аминоалкилфосфоновых кислот в удалении урана из организма. *Гиг Тр Проф Завол* 1975 (5) : 45
- 5 Basinger MA, Jones MM. Tirons (sodium 4,5-dihydroxybenzene-1,3-disulfonate) as an antidote for acute uranium intoxication in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1981; 34 : 351
- 6 严雪铭、陶正琴、徐新华,等. 喹胺酸对 11 种金属化合物的解毒. *中国药理学报* 1985; 6 : 73
- 7 王樟龄. 间接碘量法测定尿中过氧化氢酶. *原子能* 1966; (2) : 103
- 8 张华麟、华 潇、蒋 凝、颜庆瑜、谢毓元. 酚胺酸类螯合剂——I、邻苯二酚——3,6——二甲撑亚氨基二乙酸与碱土金属、锰(II)、镉(II)、锌(II)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、铁(III)、钍(IV)及铀酰离子螯合物稳定性的研究. *化学学报* 1987; (待发表)

## Detoxication and mobilization of uranium by catecholamic acid

TAO Zheng-Qin, XU Xin-Hua, YAN Xue-Ming, CHEN Zhen-Jia, ZHANG Jian-Shi, LIANG You-Yi, XIE Yu-Yuan

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** Catecholamic acid [catechol-3,6-bis(methyleneimino diacetic acid), CBMIDA] is a chelating agent synthesized in our laboratory. CBMIDA was shown to be effective in treatment of uranium intoxication. CBMIDA sc 1 g/kg considerably increased the survival of mice acutely poisoned by ip uranyl nitrate (UN). All rats given im 0.1-0.5 g/kg CBMIDA lived 30 d after ip UN 40 mg/kg, while the control rats died within 7 d. The lethal dose of UN was significantly increased in rats after im CBMIDA 0.5 g/kg, therein CBMIDA was more effective than phosphicine. After ip UN

(400 µg U/rat) following im CBMIDA 0.1-0.5 g/kg or 0.5 g/kg daily for 2 d or ig 2 g/kg in rats, the excretion of uranium in urine was increased, the ratio was 1.76-2.50 in comparison with the control group. Within 2 wk, CBMIDA group showed less intoxication and renal damages than the control rats.

**KEY WORDS** catecholamic acid; catechol-3,6-bis (methyleneimino diacetic acid); quinamic acid; phosphicine; uranium; urinary catalase; chelating agents