

# 黄酮类化合物对急性贫铀中毒的促排解毒作用初探

李蓉 刘晶 任洞 杨峥嵘 艾国平 徐辉 粟永萍 程天民

(第三军医大学军事预防医学院全军复合伤研究所 创伤烧伤与复合伤国家重点实验室 重庆 400038)

**摘要** 为了寻找对急性贫铀中毒具有促排及较好解毒作用的黄酮类化合物, 给予 Wistar 大鼠贫铀, 20 mg/kg 体重, 立即给予含邻苯二酚基团的黄酮类化合物 (包括 QU、F1、F2、T1、T2、MY、BA), 10 mg/kg 体重, 连续 3 d, 并设邻苯二酚类化合物 8102 及 DMSO 作为实验对照。观察大鼠在 3 d 内的死亡率; 收集 72 h 尿液, 取血液和一侧肾脏, 测定铀含量, 并进行肾功能检测和肾脏等组织病理观察。结果发现, 急性贫铀损伤组死亡率为 30%; 使用促排剂后, 8102 组和 F1 组死亡率为 0; T1、T2 和 DMSO 组死亡率为 20%。T2 组尿铀含量增加, 血铀含量减少, 促排铀效果明显优于其它各促排剂 ( $p < 0.05$ ), 但肾脏铀含量增加; T1 组次之, 8102 组肾脏铀含量降低。给予 8102 后, 可使大鼠血清尿素氮和肌酐浓度大大降低, 且能下降到与正常组相近的水平 ( $p < 0.01$ )。F1 组次之, 但降低幅度不如 8102 显著。F2、T1 和 T2 组的肌酐浓度也显著降低。其余各组肾功能下降不显著。病理观察发现, T2 组肾脏无明显损伤; 8102 和 T1 次之; F1 和 QU 组肾损伤较重。这些结果说明, T2 促排铀效果及对贫铀敏感器官的保护最好, 并可改善肾功能, 应具有作为贫铀促排剂的潜能。T1 的效果次于 T2。

**关键词** 贫铀, 促排, 解毒, 黄酮类化合物

**中图分类号** R818.05, R818.73, R979.6

自 1991 年海湾战争以来, 贫铀 (Depleted uranium, DU) 武器在战争中大量使用, 造成人员损伤, 污染战区环境<sup>[1]</sup>。铀等核燃料在国民经济中的大量应用, 也产生大量贫铀废料。贫铀污染环境, 涉及居民人数多, 影响面广, 长期摄入导致体内蓄积量较大, 但目前还没有找到较理想的高效低毒的促排剂。某些黄酮 (包括异黄酮) 与已有的邻苯二酚类促排药结构类似, 可与铀酰离子形成稳定的螯合物, 部分黄酮类化合物还有保护肾脏、保护骨骼、抗肿瘤、抗自由基和抗辐射等作用<sup>[2-4]</sup>, 故可能在促进贫铀排出和预防损伤方面有重要意义。本研究从已有的黄酮 (异黄酮) 化合物中, 选出符合邻苯二酚结构者, 观察其对急性贫铀中毒的促排和解毒效果, 为进一步研究贫铀中毒的救治奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 贫铀溶液的制备

将贫铀片(<sup>238</sup>U 占 99.75%, <sup>235</sup>U 占 0.2% 及痕量 <sup>234</sup>U) 用浓硝酸微热溶解, 双蒸水稀释至 2 mg/mL, 小滤器过滤灭菌, 4℃ 保存, 备用。

黄酮类化合物溶液: 将 40 mg 粉末用 2 mL 二

甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO) 溶解, 再稀释至 30 mL, 浓度为 1.3 mg/mL。

### 1.2 动物分组

取健康成年雌性 Wistar 大鼠 110 只 (由第三军医大学大坪医院动物所提供), 体质量 130 ± 10g, 随机分组, 每组 10 只。贫铀组腹腔注射贫铀溶液, 剂量为 20 mg/kg 体重。给予贫铀后立即给予促排剂注射, 剂量和途径均来自文献报道<sup>[5]</sup>: (1) 邻苯二酚类促排剂 8102 对照组: 400 mg/kg 体重, 每日腹腔注射 1 次, 连续 3 d; (2) DMSO 对照组: 腹腔注射 3.4% 的 DMSO 1.5 mL, 连续 3 d; (3) 黄酮 (异黄酮) 类化合物组: 包括 QU、F1、F2、T1、T2、MY、BA, 按取代基团的数目和位置分为: 1) 含 1 个邻苯二酚基团; 2) 含 2 个邻苯二酚基团。腹腔注射, 剂量为 10 mg/kg 体重, 连续 3 d。同时设立正常对照组。

### 1.3 观察指标

1.3.1 死亡率 观察给予贫铀 72 h 后大鼠的死亡情况。

国家自然科学基金项目(30500144)、中国博士后科学基金项目 (20060390680) 资助

第一作者: 李蓉, 女, 1970 年 12 月出生, 2003 年 7 月获博士学位, 副教授, 主要从事放射防护和放射生物学研究

收稿日期: 初稿 2008-06-17, 修回 2008-10-14

**1.3.2 铀含量测定** 将大鼠置于代谢笼,每笼1只,自由饮水和进食,收集贫铀中毒后72 h尿液,用改进的激光荧光法测定尿铀排出量<sup>[6]</sup>。贫铀中毒后72 h处死大鼠,取血清及一侧肾脏,测定铀含量。

**1.3.3 肾功能检查** 在给予促排剂后72 h,从股静脉放血,由临床生化自动检测仪(Hitachi-7150, Hitachi Inc, 上海)检测肾功能,指标包括血清肌酐、尿素氮、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 浓度。

**1.3.4 肾脏病理变化** 于铀中毒后72 h处死大鼠,取另一侧肾脏用甲醛溶液固定、切片、HE染色,光镜下检查病理变化。

## 1.4 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS12.0软件进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 大鼠死亡率

在给予贫铀后72 h,急性贫铀损伤组死亡率为30%,见表1。使用促排剂后,8102组和F1组未死亡;T1、T2和DMSO组死亡率为20%;最高的是MY、BA组,死亡率达80%~90%(因此在后面的几个指标中没有MY和BA的数据)。

**Table 1 The mortality of rats in DU group and in flavonoid groups**

| Group          | Decorporation concentration | Mortality |    |    |    | Total mortality / % |
|----------------|-----------------------------|-----------|----|----|----|---------------------|
|                |                             | 0d        | 1d | 2d | 3d |                     |
| Normal control | 0                           | 0         | 0  | 0  | 0  | 0                   |
| DU             | 2 mg/mL                     | 0         | 0  | 2  | 1  | 30                  |
| 8102           | 52 mg/mL                    | 0         | 0  | 0  | 0  | 0                   |
| DMSO           | 3.4%                        | 0         | 0  | 1  | 1  | 20                  |
| QU             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 1  | 3  | 40                  |
| F1             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 0  | 0  | 0                   |
| F2             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 0  | 2  | 20                  |
| BA             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 0  | 8  | 80                  |
| MY             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 5  | 4  | 90                  |
| T1             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 2  | 0  | 20                  |
| T2             | 1.3 mg/mL                   | 0         | 0  | 1  | 1  | 20                  |

### 2.2 铀含量比较

T2的促排铀效果明显优于其它各促排剂( $p < 0.05$ ),尿铀排出量为贫铀组的2.6倍,血铀含量降低为贫铀组的25%,但肾铀蓄积量增高,见表2。

T1次之,尿铀排出量为贫铀组的1.8倍,血铀含量降低为贫铀组的31%,肾铀蓄积量也增加。8102组尿铀含量增高不如T2组显著,但肾铀含量降低明显。F1组促排效果不如T2、T1显著。

**Table 2 The uranium level in urine and kidney at 72 h after acute DU poison ( $\bar{x} \pm s$ )**

| Group          | Urine contents / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | Kidney contents / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | Serum contents / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ |
|----------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Normal control | 0.004 $\pm$ 0.001                                   | 0.015 $\pm$ 0.002                                   | 0.006 $\pm$ 0.001                                   |
| DU             | 0.131 $\pm$ 0.065                                   | 115.876 $\pm$ 7.474                                 | 0.0807 $\pm$ 0.022                                  |
| 8102           | 0.167 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup>                      | 50.926 $\pm$ 5.233 <sup>a</sup>                     | 0.0271 $\pm$ 0.013                                  |
| DMSO           | 0.142 $\pm$ 0.021                                   | 123.513 $\pm$ 13.250                                | 0.0672 $\pm$ 0.014                                  |
| QU             | 0.153 $\pm$ 0.022 <sup>a</sup>                      | 112.701 $\pm$ 24.903                                | 0.0713 $\pm$ 0.020                                  |
| F1             | 0.207 $\pm$ 0.067 <sup>a</sup>                      | 110.472 $\pm$ 30.543                                | 0.0346 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>                     |
| F2             | 0.154 $\pm$ 0.032                                   | 125.613 $\pm$ 35.832                                | 0.0560 $\pm$ 0.021                                  |
| T1             | 0.242 $\pm$ 0.061 <sup>a</sup>                      | 138.760 $\pm$ 21.041 <sup>a</sup>                   | 0.0249 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>                     |
| T2             | 0.326 $\pm$ 0.076 <sup>a</sup>                      | 193.788 $\pm$ 80.262 <sup>a</sup>                   | 0.0208 $\pm$ 0.012 <sup>a</sup>                     |

Note : <sup>a</sup> $p < 0.05$ , vs. DU group

### 2.3 肾功能改变

急性贫铀中毒时,血清尿素氮和肌酐浓度显著升高,高于正常对照组数倍甚至数十倍,钠离子等电解质紊乱。给予8102后,可使大鼠血清尿素氮和

肌酐浓度大大降低,且下降到与正常组相近的水平( $p < 0.01$ ),见表3。F1组次之,也可使大鼠血清尿素氮和肌酐浓度降低,但降低幅度不如8102显著。F2、T1和T2组的肌酐浓度也显著降低,其余各组肾功能下降不显著。

Table 3 The kidney function at 72 h after acute DU poison (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

| Group          | Urea nitrogen / mmol·L <sup>-1</sup> | Creatinine / μmol·L <sup>-1</sup> | Na <sup>+</sup> / mmol·L <sup>-1</sup> | K <sup>+</sup> / mmol·L <sup>-1</sup> | Cl <sup>-</sup> / mmol·L <sup>-1</sup> |
|----------------|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| Normal control | 7.7±0.6                              | 34.2±4.3                          | 144.5±2.4                              | 6.5±1.0                               | 106.2±3.1                              |
| DU             | 72.8±21.5                            | 655.0±243.2                       | 128.9±7.8                              | 7.5±1.5                               | 96.7±3.8                               |
| 8102           | 6.5±1.5 <sup>a</sup>                 | 46.6±16.7 <sup>a</sup>            | 147.5±2.3                              | 5.1±0.7                               | 108.5±2.3                              |
| DMSO           | 68.3±22.0                            | 651.3±219.5                       | 139.4±8.8                              | 7.6±1.4                               | 100.7±9.1                              |
| QU             | 68.8±29.6                            | 620.2±276.8                       | 138.2±5.1                              | 7.8±1.4                               | 102.2±9.6                              |
| F1             | 58.2±10.7 <sup>a</sup>               | 512.0±179.3 <sup>a</sup>          | 135.9±3.0                              | 7.1±1.0                               | 103.7±6.3                              |
| F2             | 60.9±21.1 <sup>a</sup>               | 618.8±239.6                       | 131.4±10.9                             | 7.8±1.4                               | 91.8±10.3                              |
| T1             | 72.6±13.4                            | 595.7±91.9 <sup>a</sup>           | 137.9±5.7                              | 9.3±1.3                               | 90.6±6.2                               |
| T2             | 72.6±29.7                            | 519.1±209.5 <sup>a</sup>          | 132±9.6                                | 9.8±2.0                               | 87.0±9.4                               |

Note : <sup>a</sup>*p*< 0.05, vs. DU group

2.4 肾脏病理改变

急性贫铀损伤组肾脏近曲小管多数凝固性坏死，髓质小管管型现象普遍，致密颗粒多见，有单个核细胞浸润，见图 1。T2 组肾脏无明显异常，仅个别有轻度坏死，见图 2。8102 组肾小管轻度凝固变性，核尚存，有固缩，皮髓交界处有沉积物，管型少见，肾小管凝固性坏死，但坏死程度和管型不

如贫铀组广泛，沉积少。T1 组肾近端小管广泛坏死，有沉积物。F1 组肾小管凝固性坏死，但坏死程度和管型不如贫铀组广泛，沉积少。QU 组和 F2 组基本同 F1 组。DMSO 组肾小管凝固性坏死严重，形态不存，上皮溶解破裂。总之，在所使用的促排剂中，T2 对贫铀敏感器官的保护最好，损伤不明显；8102 和 T1 的效果次之；F1 和 QU 组肾损伤较重。

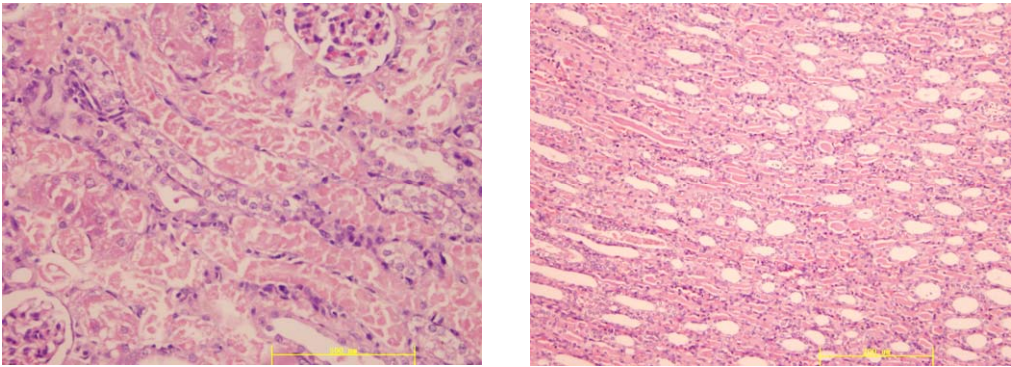


Fig. 1 The kidney tubule necrosis showing obvious cast and deposit in cortical and medullary substance in DU group (HE×400, HE×200)

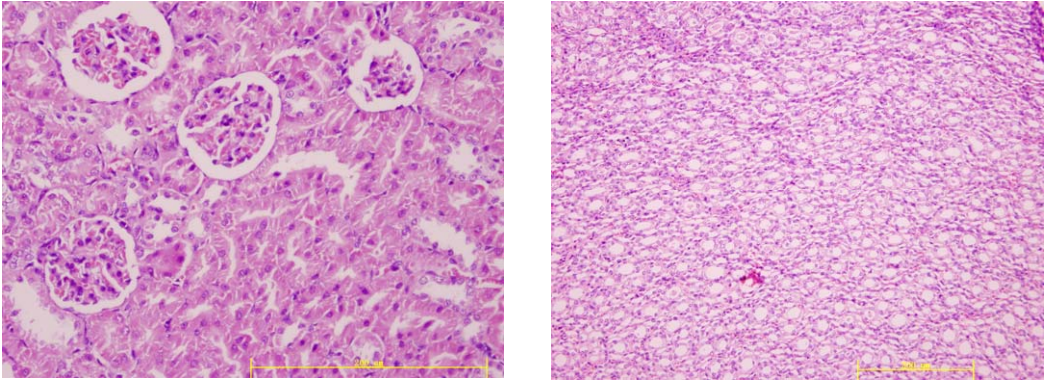


Fig. 2 The kidney tubule without necrosis and cast in T2 group (HE×400, HE×200)

### 3 讨论

进入体内的铀在早期阶段虽然有将近 50% 以上可从体内排出, 但仍有相当一部分铀滞留在肾脏、骨骼、肝脏等重要器官内。铀是锕系放射性元素, 具有重金属化学毒性和放射毒性, 进入人体后, 与体内有机成分结合成金属络合物, 从而使生物分子丧失原有生理生化功能, 导致机体病变。解决铀等重金属中毒的一种主要办法就是使用金属络合剂。这些络合剂必须能够与金属络合形成稳定化合物, 并能与体内的络合配体竞争, 使金属在与体内配体结合之前先与络合剂结合, 最终由尿液、粪便等排出体外<sup>[7-9]</sup>。对贫铀损伤的救治和预防, 最关键是要找出理想的促排药。

目前用于促排的化合物有很多种。研究发现, 以 U(VI) 的配位与 Fe(III) 有很大的相似性。目前, 仿生化学研究中, 设计合成锕系元素的螯合剂都是基于能结合铁的物质 (Siderophore)。这些能结合铁的物质中, 可与金属螯合的单元一般是邻苯二酚或异羟肝酸。因此合成邻苯二酚类似物, 可能在铀的促排方面有新的发现。国内研究发现邻苯二酚类螯合剂 7601 及其衍生物 8102, 对铀的促排效果较好, 具有促排和抗自由基作用的双重功能, 促排活性基团是邻苯二酚。有学者对比了碳酸氢钠等与苯酚类螯合剂 8102 对浓缩铀的促排效果<sup>[10]</sup>。结果发现, 8102 对铀中毒有明显的解毒和促排效果, 中毒后立即给药组大鼠出现肾小管上皮坏死, 随给药时间的延后, 坏死程度加重, 蛋白管型增多, 但仍比对照组稍轻<sup>[10]</sup>。因一些黄酮, 包括黄酮中的一类—异黄酮, 其结构与邻苯二酚类螯合物类似, 且易被修饰, 经分子结构改造后, 可形成具有一至三个邻苯二酚基团的化合物。部分异黄酮衍生物, 还含有多个酰胺基团, 可与  $\text{UO}_2^{2+}$  生成稳定的螯合物。生物学研究表明, 黄酮 (异黄酮) 类还具有保护肾脏、保护骨骼、抗肿瘤、抗自由基和抗辐射等一系列作用<sup>[2-4]</sup>, 这是其它促排剂或防护剂不具备的。

本研究对具有邻苯二酚基团的黄酮类化合物进行了贫铀促排解毒效果的研究, 对各促排剂的给药剂量, 根据文献报道的最佳剂量给予<sup>[2, 3, 10]</sup>; 以大鼠急性贫铀中毒为研究模型, 发现给予贫铀后 72 h, 8102 组和 F1 组无死亡, 表明使用 8102 和 F1 对动物的死亡率影响不大。T1、T2 和 DMSO 组死亡率减低至 20%, 这可能和观察的时间较短, 仅 72h 有关; 另外还可能与 T2、T1 与铀结合后, 在肾脏的沉积量较多有关。

我们的研究发现, 使用促排剂 T2, 可使尿

铀排出量显著增加, 血铀含量降低, 表明 T2 的促排铀效果明显优于其它促排剂; 但在肾脏的蓄积量比 DU 组增高。其原因可能因肾脏既是贫铀的主要滞留器官, 又是主要的排泄器官; 在铀排出体外的过程中, 尿: 粪排出比例为 20: 1<sup>[11]</sup>, 铀可能暂时蓄积在肾脏; T2 对肾脏的保护作用最佳, 甚至强于 8102 组, 说明尽管 T2 与铀形成的络合物在肾脏的沉积较多, 但对肾脏的影响最轻微, 推测 72h 时贫铀在肾脏的蓄积可能仅是一时性增加, 但还需持续观察。这一点与潘秀颀等的观察结果是一致的<sup>[12]</sup>, 他们将 DMSO 给予吸入贫铀粉尘的大鼠, 发现在吸入后 6 个月内, DU+DMSO 组大鼠肾脏和肝脏铀含量高于 DU 组, 6 个月后, 两组之间无显著差异。另外, T2 是异黄酮化合物, 其活性基团是邻苯二酚, 为何在 72h 没有如邻苯二酚类化合物 8102 那样使肾脏铀沉积减少<sup>[11]</sup>, 是否可能还存在其它影响肾脏沉积的活性基团, 比如存在的另一个活性基团与铀结合, 形成的络合物和肾脏的亲和力较强, 导致了铀在肾脏的沉积量较多<sup>[13]</sup>。

此外, T1 对铀的促排解毒能力仅次于 T2, 而 F1 对改善肾功能也有一定的效果。本研究也验证了 8102 应不失为一个较好的铀促排剂, 即使延长观察时间, 也可显著降低急性贫铀中毒的死亡率, 明显改善肾功能, 但在保护肾脏、增加尿铀排出量和减少血铀含量方面不如 T2 显著。

总之, 对急性贫铀中毒, T2 的促排解毒效果最显著, T1 和 F1 次之, 其它黄酮类化合物无作用。对这几个促排剂不尽完善的地方, 比如这些黄酮类化合物在体内分布及代谢周期如何与吸入 DU 的量及体内代谢周期相匹配等, 还需进一步探索, 对贫铀中毒的促排解毒机理还需进一步研究。

### 参考文献

- 1 Dang H S, Pullat V R, Sharma R C. Health Phys, 1995, 68(3): 328-31
- 2 周永, 糜漫天, 杨镇洲. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25(1): 21-24  
ZHOU Yong, MI Mantian, YANG Zhenzhou, et al. Chin J Radiol Med Prot, 2005, 25(1): 21-24
- 3 杨峥嵘, 何飞, 郭朝华, 等. 第三军医大学学报, 2004, 26(2): 179  
YANG Zhengrong, HE Fei, GUO Chaohua, et al. J Third Mil Med Univ, 2004, 26(2): 179
- 4 秦民坚, 吉文亮, 刘峻, 等. 中草药, 2003, 34(7): 640-641  
QIN Minjian, JI Wenliang, LIU Jun, et al. Chin Tradit

- Herbal Drug, 2003, **34**(7): 640-641
- 5 Stradling G N. J Ally Compd, 1998, **271**(1): 72-77
- 6 李蓉, 艾国平, 徐辉, 等. 第四军医大学学报, 2004, **25**(6): 503-506  
LI Rong, AI Guoping, XU Hui, *et al.* J Fourth Mil Med Univ, 2004, **25**(6): 503-506
- 7 Ramounet-Le Gall B, Grillon G, Rateau G, *et al.* Radiat Prot Dosim, 2003, **105**(2): 535-538
- 8 Akihiko K, Akira H, Toshiaki N. Free Radical Bio Med, 1994, **16**(3): 855-859
- 9 Martinez A B, Mandalunis P M, Bozal C B, *et al.* Health Phys, 2003, **85**(2): 343-347
- 10 刘实晶, 罗梅初, 陈桂宝, 等. 上海医科大学学报, 1996, **23**(2): 275-277
- LIU Shijing, LUO Meichu, CHEN Guibao, *et al.* J Shanghai Med Univ, 1996, **23**(2): 275-277
- 11 曹根发, 朱寿彭. 工业卫生与职业病, 2002, **28**(1): 8-11  
CAO Genfa, ZHU Shoupeng. Ind Health Occup Dis, 2002, **28**(1): 8-11
- 12 潘秀颀, 杨陟华, 曹珍山, 等. 毒理学杂志, 2005, **19**(3 S1): 248  
PAN Xiujie, YANG Zhihua, CAO Zhenshan, *et al.* J Toxicol. 2005, **19**(3 S1): 248
- 13 吴福丽, 王建营, 延玺, 等. 化学进展, 2004, **16**(3): 438-442  
WU Fuli, WANG Jianying, YAN Xi, *et al.* Prog Chem, 2004, **16**(3): 438-442

## Study on decorporating and detoxicating acute depleted uranium poison with some flavonoids

LI Rong LIU Jing REN Jiong YANG Zhengrong AI Guoping XU Hui  
SU Yongping CHENG Tianmin.

(State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine,  
Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**ABSTRACT** In order to investigate decorporating and detoxicating acute depleted uranium poison of flavonoids, the decorporation effect of flavonoids with catechol group, chelating agent of catechols amino carboxylic acid type (8102) and dimethyl sulfoxide (DMSO) were studied under DU exposure and Wistar rats as animal model. In 3d later after injecting DU with dose of 20 mg/kg and then injecting flavonoids with dose of 10 mg/kg in abdomen, the mortality, uranium contents, kidney function and pathological observation of kidney were investigated. It has been found that nearly 20% mortality occurs both in the T2 and in T1 groups meanwhile 30% mortality occurs in the control group. But death has not been observed in 8102 group. The concentration of excreted urine uranium increases and the level of serum uranium decreases when T2 used. The retention of uranium in kidney with T2 group also increases. Large reducing of urea nitrogen and creatinine in serum has been observed in 8102 and F1 groups, and reducing of creatinine has also been observed in F2, T1 and T2 groups. The serious injury of kidney has not been observed in T2 group. The protection efficiency can be listed as T2> 8102>T1>F1>QU. It has been revealed that flavonoid T2 is the most effective protector from the damage and poison of DU.

**KEYWORDS** Depleted uranium, Decorporation, Detoxication, Flavonoids

**CLC** R818.05, R818.73, R979.6