

普鲁卡因在氰化物中毒中作用的初步研究

姜声扬 刘祖舜 庄 勋

摘 要 为了对普鲁卡因等药物拮抗氰化物中毒作用及其机制进行研究, 采用 LD_{50} 测定的序贯法, 观察了普鲁卡因及其药物组合对氰化物 LD_{50} 的影响。同时采用原子吸收火焰分光光度法, 测定了普鲁卡因对氰化物引起脑神经元钙改变的影响。普鲁卡因具有拮抗氰化物中毒作用。此作用在其单独应用时相对较小, 当普鲁卡因合用亚硝酸钠或硫代硫酸钠, 或三者一起合用时其抗毒效价分别达到 2.81, 3.57和 6.22, 而且普鲁卡因的抗氰作用具有剂量-反应关系。氰化物中毒时, 脑神经元钙的含量在 30分钟内明显升高。普鲁卡因具有抑制氰化物中毒所引起的脑神经元钙升高的作用。普鲁卡因抗氰作用可能与其维持神经细胞内的钙稳态有关。

关键词 普鲁卡因 氰化钾中毒 神经元钙 小鼠

Primary Study on Effect of Procaine on Cyanide Intoxication Jiang Shengyang, Liu Zhusun, Zhuang Xun. Department of Health Toxicology, Nantong Medical College 226001

Abstract The study investigated the effect of procaine, alone or joint use with other antagonists in protecting against the toxicity of cyanide and its effect on neuronal calcium of the brain in cyanide intoxicated mice. The results showed that procaine might provide a significant protection against the toxicity of potassium cyanide, but its effect was lower than that of sodium nitrite or sodium thiosulfate while the protective effect of sodium nitrite and sodium thiosulfate could be enhanced by procaine. When procaine was used jointly with sodium nitrite and sodium thiosulfate, the protective effect was obviously, the anti-toxic potency might increased 6.22 times. Potassium cyanide (7mg/kg, ip) significantly increased the total calcium level of brain from 28.37 ± 0.75 to $48.05 \pm 1.06 \mu\text{g/g}$ dry wt. Within 30-min. Pretreated with procaine, 15-min before potassium cyanide injection, might prevent the increase of whole brain total calcium, and could also alleviate the toxic symptoms of the mice. Therefore the mechanism of procaine antagonizing cyanide intoxication seemed related to inhibiting the increase of neuronal calcium, thereby keeping the homeostasis of neuronal calcium.

Key words Procaine, Cyanide Intoxication, Neuronal Calcium, Mouse

氰化物广泛应用于电镀、贵重金属提取、化工生产、有机玻璃与合成橡胶及雷管炸药的生产等, 其毒作用是由于其离解出的氰基 (CN^-) 对呼吸链的终末酶——细胞色素氧化酶 aa_3 的抑制, 而导致细胞内窒息所致。中毒时的治疗一般使用亚硝酸类、硫代硫酸钠等, 而有关普鲁卡因在氰化物中毒中的作用很少有人报道。本研究拟通过普鲁卡因对氰化物中毒

的拮抗及其对脑神经元钙的影响来观察普鲁卡因在氰化物中毒中的作用。

1 材料和方法

1.1 动物与试剂

NIH小鼠 (由浙江省实验动物中心提供), 体重 18.0~22.0克, 各试验组均为雌雄各半, 实验前动物隔夜禁食, 饮水不限。实验室温度控制在 18~22℃。盐酸普鲁卡因 (南京制药厂); 氰化钾 (上海试剂一厂), 临用前配制; 维拉帕米注射液 (天津和平制药厂); 亚硝酸钠

作者单位: 226001 南通医学院

(上海试剂一厂); 硫代硫酸钠 (上海荧光材料厂)。

1. 2 氰化钾 LD₅₀的测定及普鲁卡因的抗氰作用

动物按 0. 2ml /10g 在同一条件下给药, 用序贯法^[2]测定氰化钾 LD₅₀值。腹腔注射氰化钾前 3 分钟各小鼠分别用普鲁卡因、亚硝酸钠和硫代硫酸钠或其不同组合进行腹腔注射 (见表 1)。观察小鼠中毒表现和 3 小时内死亡情况并求出抗毒效价。

抗毒效价 = 氰化钾 LD₅₀ (用普鲁卡因或其他药物组合) / 氰化钾 LD₅₀

1. 3 不同剂量普鲁卡因对氰化物中毒的拮抗

采用 18. 5, 24. 6, 36. 9 和 73. 9mg /kg 的普鲁卡因剂量提前 3 分钟给各小鼠腹腔注射, 然后用序贯法求各普鲁卡因剂量组预注后氰化钾的 LD₅₀

1. 4 普鲁卡因对氰化钾中毒小鼠神经元钙的影响

NIH 小鼠 80 只, 随机分为五大组, 每大组分四小组, 每小组设 4 只小鼠。第一大组: 生理盐水 (0. 1ml /10g, ip), 15 分钟后氰化钾 (7. 0mg /kg, ip); 第二大组: 维拉帕米 (1. 0mg /kg, ip), 15 分钟后生理盐水; 第三大组: 维拉帕米 (1. 0mg /kg, ip), 15 分钟后氰化钾

(7. 0mg /kg, ip); 第四大组: 普鲁卡因 (37. 0mg /kg, ip), 15 分钟后生理盐水; 第五大组: 普鲁卡因 (37. 0mg /kg, ip), 15 分钟后氰化钾 (7. 0mg /kg, ip)。分别对各小鼠于最后给药后 0, 15, 30, 45 分钟用颈椎脱臼法处死, 立即开胸, 从右心耳处进针达左心室, 注入 3ml 双蒸水, 断头并取出鼠脑。对各鼠脑样本进行恒重, 采用干、湿硝化法^[3]硝化鼠脑, 然后在 310 原子吸收分光光度计 (上海分析仪器厂) 上测定各鼠脑中全脑总钙的含量。

文中数据用两个 LD₅₀ 的比较、曲线拟合及 *F* 检验进行统计。

2 实验结果

2. 1 普鲁卡因拮抗氰化钾中毒作用

腹腔注射普鲁卡因或亚硝酸钠或硫代硫酸钠均可使注氰化钾小鼠的 LD₅₀ 升高 (*P* < 0. 01, 见表 1), 三者抗毒效价强度为硫代硫酸钠 > 亚硝酸钠 > 普鲁卡因。普鲁卡因 + 硫代硫酸钠的抗氰效价大于单一用药组 (*P* < 0. 01), 与亚硝酸钠 + 硫代硫酸钠的效果相当 (*P* < 0. 05), 而普鲁卡因 + 亚硝酸钠的抗氰效果低于普鲁卡因 + 硫代硫酸钠组 (*P* < 0. 01), 与单用硫代硫酸钠相当 (*P* > 0. 05); 当普鲁卡因与亚硝酸钠和硫代硫酸钠一起应用时, 其抗氰效价远大于两药合用组, 抗毒效价达到 6. 22

表 1 普鲁卡因及其药物组合对小鼠氰化钾 LD₅₀的影响

处理组	预处理药物 (mg /kg)			动物数 (个)	氰化钾的 LD ₅₀ (mg /kg)	抗毒效价
	普鲁卡因	亚硝酸钠	硫代硫酸钠			
1	—	—	—	15	7. 52 (7. 22~ 7. 83)	
2	37. 0	—	—	20	10. 44 (10. 06~ 10. 77)*	1. 38 (1. 33~ 1. 43)
3	—	43. 9	—	16	15. 86 (15. 32~ 15. 41)*	2. 11 (2. 07~ 2. 15)
4			1. 0	20	19. 56 (18. 35~ 20. 86)*	2. 60 (2. 44~ 2. 77)
5	37. 0	43. 9	—	20	21. 33 (19. 85~ 22. 40)*	2. 84 (2. 64~ 2. 98)
6	37. 0	—	1. 0	20	26. 88 (25. 98~ 27. 82)*	3. 57 (3. 45~ 3. 70)
7	—	43. 9	1. 0	20	27. 91 (26. 46~ 29. 43)*	3. 71 (3. 52~ 3. 91)
8	37. 0	43. 9	1. 0	20	46. 77 (44. 13~ 49. 58)*	6. 22 (5. 87~ 6. 59)

* 与第一组比较 *P* < 0. 01

2. 2 不同剂量普鲁卡因的抗氰效果

普鲁卡因的剂量与氰化钾的 LD₅₀ 值有明显的剂量-反应关系 (见表 2)。除 73. 9mg /kg

普鲁卡因剂量组与 36. 9mg /kg 普鲁卡因剂量组 *P* > 0. 05 外, 其余相临组间 *P* 均 < 0. 05。经曲线拟合, 方程为 $Y = 7. 4276 + 13. 4146X -$

18. 9990X²。表明随着普鲁卡因剂量的增大, 氰化钾的 LD₅₀值也增大。当普鲁卡因的剂量达到 52. 17mg /kg 时, 氰化钾的 LD₅₀达到最高。

表 2 不同剂量的普鲁卡因对氰化钾 LD₅₀的影响

组别	普鲁卡因剂量	氰化钾 LD ₅₀
	(mg /kg)	(mg /kg, P= 0. 05)
1	73. 9	9. 36 (8. 93~ 9. 82) [△]
2	36. 9	9. 71 (9. 41~ 10. 02)
3	24. 6	9. 29 (9. 01~ 9. 57)
4	18. 5	8. 47 (8. 22~ 8. 73)
		7. 52 (7. 22~ 7. 83)

[△]除 1组和 2组 P> 0. 05外, 其余各组及组间 P< 0. 05

2. 3 普鲁卡因对氰化钾中毒脑神经元钙的影响

小鼠腹腔注射氰化钾后, 全脑总钙开始升高, 各时间段与 0时相比 P< 0. 01。在 30分钟时达到最高, 是 0时的 1. 69倍 (见表 3)。注射普鲁卡因或维拉帕米+ 氰化钾组各时间段的全脑总钙与 0时相比 P> 0. 05,但在 15, 30, 45分钟时间段的全脑总钙均明显低于相同时间段的氰化钾组 (P< 0. 05)。由此说明氰化物中毒后, 小鼠全脑总钙可有明显增高。普鲁卡因或维拉帕米有抑制氰化钾升高全脑总钙的作用。

表 3 普鲁卡因、维拉帕米对氰化钾中毒小鼠全脑总钙的影响

处理组	全脑总钙 (μg /g)			
	0 (min)	15 (min)	30 (min)	45 (min)
生理盐水+ 氰化钾	28. 37± 0. 75	44. 86± 2. 08 *	48. 05± 1. 06 *	43. 65± 1. 79 *
维拉帕米+ 生理盐水	27. 39± 2. 20	27. 97± 1. 89 [△]	23. 39± 2. 40 ^{△△}	25. 58± 5. 90 [△]
维拉帕米+ 氰化钾	28. 15± 3. 44	28. 84± 6. 22 [△]	29. 13± 3. 95 [△]	30. 64± 3. 30 [△]
普鲁卡因+ 生理盐水	28. 01± 0. 70	25. 01± 4. 29 [△]	23. 12± 0. 56 ^{△△}	23. 15± 2. 38 [△]
普鲁卡因+ 氰化钾	27. 04± 1. 67	22. 61± 3. 84 [△]	28. 33± 5. 82 [△]	25. 01± 3. 82 [△]

与同一组的 0分钟比* P< 0. 05,* * P< 0. 01; 与生理盐水+ 氰化钾组比较[△]P< 0. 05,^{△△}P< 0. 01

3 讨论

普鲁卡因临床一般用作局部麻醉药。关于其对抗氰化物作用仅有个别报道^[4]。本研究发现小鼠腹腔注射普鲁卡因后, 氰化钾的 LD₅₀值得到提高, 抗毒效价为 1. 38, 但远较传统的抗氰药物亚硝酸钠和硫代硫酸钠为低。当普鲁卡因与硫代硫酸钠合用时, 其抗氰作用与亚硝酸钠+ 硫代硫酸钠这一经典用药组合相当。当普鲁卡因、亚硝酸钠和硫代硫酸钠联合应用时, 其抗毒效价达到 6. 22, 是亚硝酸钠和硫代硫酸钠合用的 1. 68倍。而且普鲁卡因的抗氰作用具有明显的剂量-反应关系。

氰化物的原发性损害, 即其对细胞色素氧化酶的抑制可致细胞发生内窒息。脑组织缺氧可使钙的内环境发生动摇。细胞内钙稳态的失调在细胞中毒性损伤中起着十分重要的作用。细胞内游离钙离子浓度持续升高, 与细胞损伤

甚至死亡之间存在着密切相关性^[5]。本实验发现: 当亚致死剂量的氰化钾注入小鼠体内后, 随即出现明显的震颤、惊跳、抽搐、呼吸困难等表现。全脑总钙水平明显开始上升, 中毒后 30分钟的全脑总钙水平为 48. 05± 1. 06, 是注入当时的 1. 69倍。这就说明氰化物中毒可使神经细胞内钙离子水平持续升高, 而致神经细胞内钙稳态失调, 从而加剧了氰化物的毒作用。普鲁卡因和维拉帕米具有钙通道阻断作用。普鲁卡因可抑制神经末梢内钙离子通过胞浆膜, 同时可抑制钙从贮库中释放^[6], 并且通过抑制 Na⁺ 和 Ca⁺ 的内流, 维持细胞内环境的稳定, 保护缺氧引起的中枢损害^[7]。氰化物中毒后, 小鼠震颤发作与脑钙升高有显著相关, 钙通道阻断剂硫氮唑酮在降低脑钙的同时也减轻震颤的发作^[8]。我们实验发现经普鲁卡因预处理后注入氰化钾的小鼠, 其震颤、惊跳

抽搐、呼吸困难等表现较氰化钾组小鼠轻,各检测时间段的全脑总钙水平平均比氰化钾组低,且与对照组差异无显著性。因而可推测普鲁卡因可抑制氰化物中毒所导致的神经细胞内钙离子水平升高,起到维持细胞内钙稳态的作用,并由此减轻脑细胞的损伤,起到缓解中毒症状,甚至减少死亡的作用。

综上所述,普鲁卡因具有一定的拮抗氰化物中毒的效果,此作用在其单独应用时较小。关于普鲁卡因的抗氰机制尚不清楚,目前的结果提示这种抗氰效果可能与其能抑制氰化物中毒所致的脑神经元钙升高,维持细胞内钙离子的稳定有关。普鲁卡因在与亚硝酸钠和硫代硫酸钠合用时作用明显增强,可能是在亚硝酸钠和硫代硫酸钠起主要解毒作用的同时,普鲁卡因通过维持细胞钙稳态而起到其协同作用。Way^[9]等发现亚硝酸盐的抗氰作用主要和其扩血管作用有关,普鲁卡因也具有松弛血管平滑肌扩张血管的作用,但此作用是否与其抗氰作用有关尚有待进一步研究。

4 参考文献

1 Antoniu B, Kim DH, Morii M, et al. Inhibitors of Ca re-

- lease from the isolated sarcoplasmic reticulum I Ca channel blockers. *Biochim Biophys Acta*, 1985, 816 (1): 9
- 2 林琼芳. 中国百科全书卫生统计学分册. 上海: 科技出版社, 1985, 205
- 3 曹国模, 吴启运. ICP/AES法对人发中 16种元素的测定. *南通医学院学报*, 1988, 8 73
- 4 刘祖舜, 等. 几种药物不同部位与不同途径给药对动物 LD₅₀的影响. *药学报*, 1964, 11 (4): 266
- 5 Tump BF, Beresky IK, Sato, T, et al. Cell calcium, Cell injury and cell death. *Environ Health Perspect*, 1984, 57 281
- 6 Noguchi A, Takamura M, Yamada K, et al. Procaine inhibits cyclic AMP-induced steroidogenesis in isolated bovine adrenocortical cells. *J Pharmacol*, 1990, 52 (1): 81
- 7 Lucus LF, West CA, Rigor BM, et al. Procaine against cerebral hypoxia by local anesthetics: a study using brain slices. *J Neurosci Methods*, 1989, 28 (1-2): 47
- 8 Johnson JD, Meisenheimer TL, Isom GE, et al. Cyanide-induced neurotoxicity: role of neuronal calcium. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1986, 84 (3): 464
- 9 Way JL, Sylvester D, Morgan RL, et al. Recent perspectives on the toxicodynamic basis of cyanide antagonism. *Fundam Appl Toxicol*, 4, S231-S239

(收稿: 1997-05-20 修回: 1997-06-26)

欢迎订阅 1998年《中国工业医学杂志》

《中国工业医学杂志》是中华人民共和国卫生部主管, 中华预防医学会主办的全国性学术刊物, 由中华预防医学会职业病临床专业委员会负责编辑工作。

自 1988年创刊以来, 本刊始终贯彻“立足实际, 放眼未来, 百家争鸣, 求新求实”的宗旨, 在坚持科学性、实用性的基础上, 力求内容丰富, 文字精炼, 形式多样, 以适应广大劳动卫生职业病工作者的需要。本刊已成为劳动卫生职业病工作者及厂矿工卫、安技人员的良师益友。在全国首届优秀科技期刊评比中本刊荣获三等奖。

本刊设有论著、专题研究、讲座、综述、临床实践、调查报告、实验研究、病例报告、知识更新、尘毒防治及劳动卫生监督、监测、管理等栏目。刊登有关职业病、劳动卫生的科研论著、综述及讲座, 职业流行病学调查报告, 职业病诊断标准研究报告, 职业病诊断、急救、治疗、护理方面的体会、经验教训, 职业病病例报道, 职业病的临床病例或病理讨论, 职业病的劳动保护及安全技术方面的经验介绍。劳动卫生管理经验及体会等。

本刊为双月刊, 16开本, 64页, 激光照排, 每期定价 4.00元 (含邮费)

现征订 1998年订户, 全年 6期一次收订, 计 24.00元, 欢迎订阅。

邮局汇款: 沈阳市铁西区南十一西路 18号 《中国工业医学杂志》编辑部 (邮编 110024)

银行转款: 开户行: 交行沈阳分行铁西办事处 (邮编 110021) 户头: 《中国工业医学杂志》编辑部

帐号: 203201502043-08