文章编号:1000-5404(2005)11-1169-03

论著

琼脂包嵌凹凸棒微囊体外人全血净化作用研究

杨晓兰[1],马 育[2],黄 维[1],罗 聪[3] (重庆医科大学:[1]生物材料与药物化学研究室,[3]附属一院骨科,重庆 400016;[2]重庆交通学院化学教研室,重庆 400074)

提 要:目的 探讨新型血液灌流吸附剂琼脂包嵌凹凸棒微囊(cross-linked agar entrapping attapulgite clay, CAA)的全血净化功能,为将其进一步应用到血液解毒及血液制品病毒灭活后光敏剂的去除提供实验依据。**方法** 通过静态吸附和体外动态循环灌流吸附,研究了CAA对人血中吩噻嗪类药物、亚甲蓝及安定的吸附净化功能。**结果** CAA对人全血中阳离子型亚甲蓝、吩噻嗪类药物等有相当强的吸附净化作用,但对阳离子特征欠缺的安定清除较少。**结论** CAA能够有效清除人全血中阳离子药物。

关键词: 琼脂;凹凸棒;吸附剂;血液灌流
中图法分类号: R318.08; R457 **文献标识码:** A

Study on the clearance effect of the cross-linked agar entrapping attapulgite clay capsules on the hemoperfusion *in vitro*

YANG Xiao-lan[1], MA Yu[2], HUANG Wei[1], LUO Cong ([1]Research Laboratory of Biomaterials and Pharmaceutical Chemistry, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016; [2]Department of Chemistry, Chongqing Jiaotong University, Chongqing 400074, China)

Abstract: Objective To investigate the adsorptive capacity of cross-linked agar entrapping attapulgite clay (CAA) capsule, a novel adsorbent for hemoperfusion. **Methods** We selected some drugs such as phenothiazines, methylene blue, and diazepam as the model components to test the adsorptive capacity of CAA in human blood *in vitro* by means of static stirred absorption experiment and repeated hemoperfusion. **Results** CAA was of strong adsorption for phenothiazines and methylene blue but of little effect on diazepam. The corresponding adsorptive mechanisms were also discussed here. **Conclusion** CAA could be used as a highly effective adsorbent for the cation drugs in human blood.

Key words: agar; attapulgite; adsorbent; hemoperfusion

血液灌流(hemoperfusion, HP)自20世纪40年代发展至今,已成为治疗药物或毒物中毒、肝性脑病及某些自身免疫性疾病的一种有效手段。迄今,血液灌流常用的吸附剂是活性炭和高分子材料。而无机矿物类吸附材料如麦饭石、硅藻土、蒙脱石、凹凸棒等因资源丰富、安全无毒且有选择性吸附性能而具有潜在的开发应用价值。

近年我室利用药用凹凸棒原料药(南京大学制药厂提供),经琼脂微囊化包嵌,研制成交联琼脂包嵌凹凸棒微囊(CAA)。该珠表面光滑、弹性好,水相吸附试验证明对阳离子型药物如亚甲蓝、吩噻嗪等有较强的选择吸附性能,而对安定、分子量较大的葡聚糖等吸附困难[1]。大白鼠重复血液灌流证明血相容性良好[2]。为进一步探讨CAA对人全血的解毒净化功能,本研究通过静态吸附和动态循环灌流,考查其对人血中吩噻嗪类药物及亚甲蓝、安定的吸附选择性。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与药品

WLQ型微量输液器,浙江新昌国康仪器厂。THZ-82型恒温振荡器,江苏太仓医疗器械厂。日本岛津-265型紫外-可见分光光度计;721-A型分光光度计,四川仪表九厂。旋涡混合器,江苏海门其林医用仪器厂。CAA珠(粒径1~2 mm),本室自制。使用前经肝素-生理盐水(120 U/ml)浸泡10 min后使用。层析用氧化铝(200~300目),上海五四试剂厂。抗凝保鲜人

基金项目: 重庆市医学科技计划资助项目(99-2032)
Supported by the Scientific Plan of Chongqing University of Medical Sciences (99-2032)

作者简介: 杨晓兰(1968-),女,重庆市巴南区人,硕士,讲师,主要从事生物材料和药物化学方面的研究。电话:(023)68719215, E-mail: Xiaolanyang666@yahoo.com.cn

收稿日期: 2004-02-13;**修回日期:** 2004-09-06

血,重庆市血液中心提供。亚甲蓝对照品,上海试剂三厂;安定、氯丙嗪盐酸盐、异丙嗪盐酸盐,均为原料药。

1.2 方法

1.2.1 试剂处理 层析用碱性氧化铝用2.5 mol/L NaOH回流处理,并用蒸馏水洗至pH≤12;层析用中性氧化铝用甲醇回流,蒸馏水洗涤;二者均在130 ℃活化4 h备用。处理后的氧化铝经乙醚过柱后的洗脱液在紫外无吸收峰。

1.2.2 静态吸附实验 量取2 ml CAA(干重0.30 g)置入25 ml待测物质含量为100 μg/ml人全血溶液,恒温37 ℃振荡吸附2 h。分别于15、30、60、120 min时取样分析剩余浓度。计算吸附量和吸附率。

1.2.3 动态吸附实验 用一次性注射针筒作小型灌流柱,内装3 ml CAA(干重0.46 g),循环池内放入待测物质含量为100 μg/ml的人全血溶液中,籍微量输液泵于37 ℃灌流吸附2 h,控制流速2 ml/min,分别于15、30、60、120 min时在进出口取样分析剩余浓度,计算廓清率。

1.2.4 血药浓度分析 血中氯丙嗪、异丙嗪用碱性氧化铝、血中安定用中性氧化铝干柱固相萃取,结合紫外二阶导数光谱法测定[3]。血中亚甲蓝用分光光度法测定:人全血离心分离红细胞后,用乙腈沉淀血蛋白,上层清液用721-A型分光光度计在653 nm测定药物浓度。

2 结果

2.1 人全血中氯丙嗪的静态吸附

由表1可以看出,氯丙嗪含量为100 μg/ml时2 ml CAA对人血中氯丙嗪的吸附率为44%,吸附量为3.47 mg/g,表明CAA对人血中氯丙嗪有较好的去除作用。

表1 CAA对人血中氯丙嗪的静态吸附($n=3$)

Tab 1 Static state adsorption of chlorpromazine on CAA in blood sample ($n=3$)

Time (min)	Residual concentration (μg/ml)	Adsorptive capacity (mg/g)	Adsorptive rate (%)
0	100	—	—
15	74.55±2.13	2.05	25.45
30	70.32±1.20	2.39	29.68
60	64.12±1.68	2.89	35.88
120	57.01±0.80	3.47	44.00

2.2 人全血中氯丙嗪的动态吸附

由表2可看出,与水相吸附相比,CAA对血中氯丙嗪的吸附率显著降低。水相相同条件下吸附30 min,剩余54.1%,120 min剩余9.78%[1],而血中分别为77.19%和65.34%。说明药物浓度高时,全血中药物的吸附清除较差。其原因可能是:①血液成分复杂,血液中部分阳离子物质可能占据吸附剂的吸附位点,减弱吸附性能;②血液粘性导致药物扩散困难,减小吸附速率;③血浆蛋白对药物结合与解离,导致表观吸附速率下降。动态吸附2 h廓清率为0.013,说明吸附2 h可达到动态平衡,此时药物吸附量为3.81 mg/g,与静态吸附量(3.47 mg/g)接近。

表2 CAA对血中氯丙嗪的动态吸附结果($n=3$)

Tab 2 Adsorption of chlorpromazine on CAA in blood sample ($n=3$)

Time (min)	In water[1] (μg/ml)	In blood			
	Inlet concentration	Inlet concentration	Outlet concentration	Clearance rate	Adsorptive capacity (mg/g)
0	100	100			
15	71.4±4.16	82.60±2.92	73.86±0.90	0.212	
30	54.1±1.84	77.19±1.93	71.04±1.00	0.159	
60	29.2±2.20	73.35±2.40	68.70±1.12	0.127	
120	9.78±1.54	65.34±0.48	64.92±1.07	0.013	3.81

2.3 较低浓度药物的全血灌流

临床病例中,血药浓度通常较低:氯丙嗪的致死量为5~12 μg/ml,中毒量为1~4 μg/ml,异丙嗪分别为20 μg/ml和1 μg/ml,安定>20 μg/ml和10~20 μg/ml[4]。根据临床实际,我们选择较低的血药浓度,进一步考查CAA的解毒净化功能。

5 ml CAA湿珠(干重0.78 g),用药物浓度为20 μg/ml的全血溶液25 ml循环灌流,流速为2 ml/min。于不同时间取样分析,结果见表3。

表3 CAA对较低浓度药物的全血灌流($n=3$)

Tab 3 CAA hemoperfusion for lower level drugs ($n=3$)

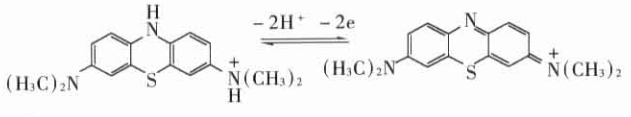
Drug	Time(min)					Adsorptive rate (%)	Clearance rate
	0 (Primary con.,μg/ml)	30 (Residual con.,μg/ml)	60 (Residual con.,μg/ml)	120 (Inlet con.,μg/ml)	120 (Outlet con.,μg/ml)		
Chlorpromazine	20	9.30±0.12	5.12±0.36	3.49±0.14	3.25±0.24	83.75	0.14
Promethazine	20	6.57±0.06	4.43±0.24	2.98±0.37	2.84±0.15	85.80	0.09
Diazepam	20	13.21±0.21	11.43±0.13	10.71±0.20	10.53±0.11	47.37	0.03
Methylene blue	20	7.18±0.11	1.16±0.02	0.40±0.08	0.35±0.03	98.25	0.25

con: concentration

从表3可以看出,在较低浓度时,CAA对血中吩噻嗪类药物如氯丙嗪、异丙嗪有良好的吸附性能,0.5 h清除过半,2 h吸附率分别为83.75%和85.80%。同样条件下,CAA对血中亚甲蓝有极强的吸附性能,2 h吸附率可达到98%。但CAA对安定的吸附则较差,2 h吸附率仅47.37%。

3 讨论

模型药物均属含氮碱性药物,但因碱性不同而具有不同的离解常数,在测定条件下带电状况不同:氯丙嗪的pKa(+1)=9.3,异丙嗪的pKa(+1)=9.1,在人血中主要以阳离子形式存在;安定的pKa(+1)=3.4,在人血中主要以分子形式存在;而亚甲蓝在测定条件下是氧化态,为强电离阳离子:



亚甲蓝还原态(无色) 亚甲蓝氧化态(蓝色或蓝紫色)

实验显示 CAA 对全血中亚甲蓝的吸附最强，其次是氯丙嗪和异丙嗪，安定最差。因此 CAA 具有强的阳离子选择吸附性能，这可能与凹凸棒结构中硅氧四面体中氧原子的强电负性及硅酸中氢的解离有关[5]。提示 CAA 可作为该类阳离子型药物的选择性吸附解毒剂。

据 Wagner 等报道，亚甲蓝可作为血液制品光化学病毒灭活光敏药物。用此方法灭活后，应将光敏药物从血液中清除，以保证血液制品的安全性。目前处于研究阶段的亚甲蓝的清除滤器有 3 种：Pall MB1 filter，Maco Pharma Blueflex filter 和 LeucoVir-MB filter，对亚甲蓝的滤除率依次为 89%、93%、93%（1 μmol/L 亚甲蓝）[6]。而 CAA 对亚甲蓝的吸附率为 98%（6.25 μmol/L 亚甲蓝），故 CAA 可用作血液制品病毒灭活后光敏药物的吸附清除。CAA 清除亚甲蓝对血液成分的影响另文报道[7]。

由于凹凸棒具有独特的离子交换性能和吸附性能，可有效清除血中阳离子吩噻嗪等药物，且稳定无毒，有望将其进一步包膜改性、提高其吸附效率，开发研制成为一种选择吸附阳离子型药物的新型材料。这类材料在血液灌流、血液制品灭活后处理方面有着良好的应用前景。

参考文献：

[1] 汤先觉，马　育，杨晓兰，等. 血液净化用吸附剂研究—交联琼脂包嵌凹凸棒微囊的制备和性能[J]. 生物医学工程学杂志，2000，7(2)：235－237.

[2] 黄　维，杨晓兰，马　育，等. 交联琼脂包嵌凹凸棒微囊重复大鼠血液灌流中生物相容性的初探[J]. 第三军医大学学报，2003，25(12)：1079－1081.

[3] 马　育，杨晓兰，黄　维，等. 氧化铝干柱层析固相萃取测定血中吩噻嗪类药物含量[J]. 第三军医大学学报，2002，24(7)：872－874.

[4] 徐　婉，陈源世. 常见毒物的微量分析[M]. 北京：群众出版社，1982. 368－369.

[5] Bradley W F. The structure scheme of attapulgite[J]. Am Mingeral，1940，25(6)：405－410.

[6] Riggert J，Humpe A，Leglar T J. Filtration of methylene blue-photooxidized plasma：influence on coagulation and cellular contamination[J]. Transfusion，2001，41(1)：82－86.

[7] 马　育，夏　云，杨晓兰，等. 血液净化吸收剂 CAA 去除血浆亚甲蓝对人血浆正常成分的影响[J]. 生物医学工程学杂志，2003，20(2)：311－313.

（编辑　陈聪连）

（上接 1168 页）

于手术野，以便术中收集血液及腹水。取纵行切口切开腹壁时，无法用氩气刀电凝止血，用 4 号丝线结扎止血。探查腹腔并置肝切大拉钩，暴露手术野。取左侧髂窝处切口，显露髂外静脉，递阻断带，递尖刀切开静脉前壁，插入体外转流管；左髂窝静脉置管同髂外静脉方法，建立体外转流通道。游离病肝时，切断肝周韧带，递肝移植专用器械。切除病肝后，用氩气刀彻底止血。于下腔静脉裂孔至剑突打开膈肌及心包，递 4 根 4-0 Prolene 线垫片针牵引心包，止血，充分显露右心房，心耳钳夹闭下腔静脉，扩大下腔静脉口。

植入供肝：递 3-0 Prolene 缝线和 4-0 Prolene 线，进行供肝与患者行各种相关血管吻合。停止体外转流，拔出门静脉插管，用 1 000 ml 冰林格式液加入 20 g 的白蛋白灌注门静脉及肝动脉。递 5-0 Prolene 线连续外翻缝合门静脉，再递 6-0 Prolene 线行肝动脉端端吻合，切开受体肝总管置 12" T 型管，以 5-0 可吸收线间断吻合肝总管。清点敷料及器械无误，冲洗腹腔，放置引流管，与 T 管从皮肤引出固定。患者复温达 35～36 ℃，送患者至移植科 ICU。

2　体会

经典式原位肝移植术并不一定需作静－静体外转流式，而该病人患有布加综合征，其特点是肝静脉和（或）邻近的下腔静脉阻塞造成肝静脉流出道阻塞的一系列临床表现，即主要是肝后性门脉高压与下腔静脉高压的表现[1]。如肝脾肿大、腹水、胸腹壁腰段静脉曲张。加之，患者已发展为肝硬化和门脉高压，而且腹壁有特别明显的海蛇头状重度静脉曲张，在下腔静脉肝后段至右心房开口处有明显的狭窄。在这种情况下行肝移植术若不采取转流式，容易引发并发症及意外情况，将增加手术的不稳定性和危险性。

由于手术时间较长，易感染。因此，必须加强消毒隔离工作，严格执行无菌技术操作，对手术环境和手术物品均要严格无菌消毒，尽量控制手术室外流动人员。要求手术室护士配合主动、敏捷，术前要了解取肝手术和体外手术步骤方法。熟练掌握手术特殊器械性能和使用方法。因手术易损伤大血管，有必要熟悉手术医生的操作规程，掌握大出血的应急措施，头脑时刻保持清醒，条理清楚，以防发生手术意外。密切观察体温变化，预防低温引起不良反应，因手术时间较长，需要大量输血及补充液体，加上供体植入期间放入大量冰屑降温会导致患者体温过低，增加感染机会。又要预防温度过高，引起手术野出血较多，术中维持鼻咽温度在 35～36 ℃，肛温低于 32 ℃容易诱发心律失常[2]。因此，手术床下要垫加温毯，用于患者保暖和复温，随时保持输液、输血、加温。

关键词：布加综合征；肝移植；手术配合

中图法分类号：R473.2　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 胡小荣. 心血管麻醉及体外循环[M]. 北京：人民卫生出版社，1997. 536.

[2] 范立红. 低温体外循环术后体温监测[J]. 护士进修杂志，1997，12(10)：40.

（编辑　栾　嘉）