几种 α-氰基丙烯酸酯粘合止血作用与毒性*

何凤慈 陈大燮** 龙在云 周 立 刘英炳 (第三军医大学野战外科研究所) 630042

提 要 不同浓度的 α-氰基丙烯酸异丁酯、异戊酯和 α-氰基丙烯酰乙醇酸异丁酯对抗凝兔血在试管内凝结时间均在 5s 以内;对家兔和大鼠肝、脾、肾出血也均有较快的粘合止血作用,效果明显优于常用的几种止血剂。急性毒性试验证明其毒性较低,而粘合止血剂量小(1ml/次)。亚急性毒性试验结果表明,对家兔血象和肝、肾功能均无明显影响,除粘合部位炎症反应外,未见其他病理变化。

关键词 组织粘合剂;氰丙烯酸盐;止血剂;α-氰基丙烯酸酯

自本世纪 50 年代末发现 α-氰基丙烯酸甲酯具有粘接生物组织的特性以来,国内外对医用粘合剂的研究十分活跃。已有 α-氰基丙烯酸酯类粘合剂用于闭合创面、皮肤移植、管腔脏器(如血管、肠管)粘接和肝、肾、脾、胰创伤止血的研究报道[1],还用于骨科、眼科和口腔科的粘接[2]。它具有粘合止血作用快、组织反应轻、可被吸收等优点[3]。本工作观察国产 α-氰基丙烯酸异丁酯(isobutyl α-cyanoacrylate,简称 504i)、异戊酯(isoamyl α-cyanoacrylate,简称 505i)和 α-氰基丙烯酰乙醇酸异丁酯(isobutyl α-cyanoacryloyl glycolate,简称 IBCAG)体外凝血和对实质脏器出血的粘合止血作用与毒性,并与临床常用的止血剂比较,综合评价其粘合止血效果。

1 材料与方法

1.1 药品

504i、505i 和 IBCAG 均由西南师范大学化学系合成并鉴定。云南白药(云南白药厂产品,批号 860221)、25 号止血粉(南京军区总医院产品,批号 710306)、止血纤维(重庆化工研究院生产,批号 880820)和明胶海绵(武汉生化制药厂,批号 880921)均为市购。其他试剂均为分析纯,市购。

1.2 实验方法

1.2.1 体外凝血试验[4]:取 504i、505i、IBCAG 经无水 $CaCl_2$ 和分子筛(3A)吸水处理的乙酸乙酯配成所需浓度(v/v%),分别取 0.25ml 置干燥试管中,加入家兔抗凝血(家兔经戊巴比妥钠麻醉后由颈总动脉放血,3.8%枸橼酸钠抗凝)0.5ml,立即记录试管内血液全部凝结时间即为凝血时间。

1.2.2 止血试验[5]:家兔或 Wistar 大鼠(本所实验动物室提供)经戊巴比妥钠(40mg/kg,腹腔注射)麻醉后,开腹暴露肝、脾、肾脏,用眼科剪剪去肝(左右叶各一次)、脾(头体各一次)、肾(上下极各一次)组织(家兔约 0.6~1.0cm^2,深度 0.5cm;大鼠约 0.3~0.6cm^2,深度 0.2cm),造成出血创面,并以干纱布保护周围脏器。立即向出血创面涂药,并用纱布稍加压迫(504i、505i、IBCAG 不需加压),记录涂药至创面无渗血时间即为止血时间。

1.2.3 毒性试验:LD_{50} 测定按机率单位法[6]进行。取昆明种小鼠(本校实验动物所提供)按完全随机分组,在预备实验的基础上确定剂量范围,腹腔或皮下注射 504i、505i、IBCAG,观察 24 h 一般活动情况和死亡率,计算 LD_{50} 和 95%可信限。

按前法制备家兔肝脏出血模型,并用 504i、505i、IBCAG 粘合创面止血。术中严格无菌操作,术后动物常规饲养。分别于术后不同时间取血,按常规

* 国家自然科学基金资助课题

** 重庆化工研究院

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

检查肝、肾功能，纤维蛋白原、凝血酶原时间和血红细胞、白细胞、血小板计数。第 8 周处死动物，进行心、肝、肾等主要脏器大体和组织病理学检查。

2 结果

2.1 体外凝血作用

不同浓度的 504i、505i、IBCAG 对抗凝兔血在试管内凝血时间为 5s 以内，溶剂乙酸乙酯无试管内凝血作用（见表 1）。

表 1 不同浓度的 504i、505i 和 IBCAG 体外凝血作用（时间单位：s）

Tab 1 The blood coagulation effects of different concentration of isobutul α-cyanoacrylate (504i), isoamyl α-cyamoacrylate (505i) and isobutyl α-cyanoacyloyl glycolate (IBCAG) in vitro. (time:s)

agent	concentrations		
	70%	80%	90%
ethyl acetate	No coagulation	No coagulation	No coagulation
504i	2.48±0.44 (20)	1.90±0.38 (20)	2.27±0.38 (20)
505i	4.76±0.61 (20)	3.16±1.40 (20)	3.43±1.34 (20)
IBCAG	3.77±1.11 (20)	4.52±0.65 (20)	4.16±0.70 (20)

$\bar{x} \pm s$, the test times in brackets.

2.2 止血作用

在家兔和大鼠肝、脾、肾出血模型，504i、505i 均有较快的止血作用，且效果可靠，明显优于常用的止血剂；IBCAG 止血作用虽慢，但成膜完整，且韧性好，不易产生膜下渗血（见表 2、3）。

表 2 几种止血药对大鼠肝、脾、肾出血的止血作用（时间单位：s）

Tab 2 The hemostatic effects of some hemostatic agents on rat liver, spleen and kidney hemorrhage model. (time:s)

agent	liver	spleen	kidney
504i	8.0±2.8 (20)	9.2±1.6 (9)	8.0±1.3 (11)
505i	7.8±1.2 (14)	8.6±2.0(7)	8.8±2.7 (8)
IBCAG	23.1±10.5 (21)	18.1±2.4 (20)	22.4±2.3 (21)
No. 25 hemostatic powder	29.1±4.3 (12)	28.8±6.9 (5)	34.1±10.6 (9)
Yun-nan Bai Yao	86.4±36.1 (11)	129.2±16.7 (5)	123.2±62.4 (7)
hemostatic fiber	94.4±42.7 (10)	135.6±43.4 (8)	156.4±65.7 (8)
gelatin sponge hemostatic	81.5±24.0 (14)	83.2±20.7 (6)	87.4±19.2 (8)

$\bar{x} \pm s$, The experimental times in brackets.

表 3 几种止血药对家兔肝、E 手、肾出血的止血作用（时间单位：s）

Tab 3 The hemostatic effects of some hemostatic agents on rabbit liver, spleen and kidney hemorrhage model. (time:s)

agent	liver	spleen	kidney
504i	16.8±5.8 (20)	13.8±6.1 (8)	27.0±5.1 (10)
505i	16.4±4.7 (20)	9.4±1.2 (8)	28.9±4.5 (15)
IBCAG	54.6±19.0 (15)	41.5±12.9 (8)	67.4±29.6 (17)
No. 25 hemostatic powder	78.3±30.8 (9)	101.3±28.0 (4)	84.2±24.3 (11)
Yun-nan Bai Yao	146.9±35.1 (20)	153.1±19.3 (6)	122.7±24.5 (20)
hemostatic fiber	107.6±33.1(8)	58.5±16.2 (2)	98.1±30.7 (8)
gelatin sponge hemostatic	98.5±42.3 (5)	182.3±110.0 (4)	151.0±90.0 (8)

$\bar{x} \pm s$, the experimental times in brackets.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3 毒性试验

急性毒性试验表明小鼠腹腔或皮下注射 504i、505i 和 IBCAG 后，活动明显减少，精神萎糜，屈曲体态，不进水食。腹腔注射组多数动物于 4 h 内死亡，尸检见肠粘连，未见内脏出血、坏死。皮下注射组多数于 7 h 内死亡，注射部位与肌肉组织粘连，内脏无明显病变。LD_{50}和 95%可信限见表 4。

表 4 504i、505i、IBCAG 半数致死量测定 (ml/kg；LD_{50}±95% 可信限)

Tab 4 The median lethal dose of 504i, 505i and IBCAG: (ml/kg; LD_{50}±95% confidence limit)

agent	subcutaneous injection	intraperitaneal injection
504i	79.9±20.0	20.0±4.6
505i	59.5±15.9	12.4±3.7
IBCAG	17.4± 1.1	3.1±0.1

家兔肝脏出血经 504i、505i、IBCAG 粘合止血后，伤口愈合良好。除 504i、505i 组术后第 1、2 周血液白细胞计数显著增加(与术前比较，$P<0.05$)外，IBCAG 组白细胞数量和各组血小板、红细胞数量，凝血酶原时间、纤维蛋白原含量和肝肾功能均无显著变化。病理学检查除见各组动物有大网膜覆盖肝脏表面，形成粘连外，未见其他异常改变。光镜下见肝脏出血面与药物粘合部位有炎症细胞浸润，主要为吞噬细胞，损伤缘有膜状物覆盖，并伴有成纤维细胞和纤维组织增生，邻近肝组织结构正常。心肌、肾、脾脏未见形态学异常。

3 讨论

α-氰基丙烯酸分子上的氰基和酯基均为电负性大的基团，有强吸引电子的能力，在亲核试剂存在时，使 C=C 极化，从而使 β-碳原子产生负离子去稳定化。当上述单体与生物组织或血液接融时，体液中的阴离子(如 OH^-、NH_2^-、SH^-)即可引发，产生负离子体系，迅速聚合、固化，这一过程伴有能量的释放[7]。本实验结果表明，504i、505i、IBCAG 在体外对抗凝兔血具有瞬时止血作用，其结果与文献报道相似[4]，表明它们的体外凝血作用是由于聚合反应，不需要凝血机制参与。实验结果还表明 504i、505i、IBCAG 对家兔和大鼠肝、脾、肾出血均有良好的止血作用，其效果优于目前临床常用的止血剂。504i、505i 成膜迅速，能与组织紧密粘合，但膜脆性较大；IBCAG 止血作用虽不如 504i、505i 迅速，但成膜完整，粘接牢靠，膜韧性较高(待发表资料)。

文献报道 α-氰基丙烯酸酯组织反应轻，毒性低[1]。本实验结果也表明 504i、505i、IBCAG LD_{50}较大，毒性低，而临床应用剂量小(1ml/次)，完全可以达到对人体无严重毒副作用的要求。504i、505i、IBCAG 用于肝脏创面止血剂量时，仅见家兔术后第 1、2 周白细胞升高，这可能与手术应激反应有关。病理学检查除肝创面有炎症细胞浸润、成纤维细胞和纤维组织增生等局部慢性炎症病变外，其他并无异常，肝、肾功能和凝血机制亦无明显影响。提示 504i、505i 和 IBCAG 作为创伤性出血的急救用药，若从配方上加以改进，加入适当的添加剂或将两种单体混配，以缩短固化时间，提高韧性和粘合强度及延长贮存稳定性，可望进入临床应用。

参考文献

1. Kimura K. Cyanoacrylate tissue adhesive in surgery. 日本接着協会誌，1986；22：77
2. Brauer GM，Lee CH. Oligomers with pendant isocyanate groups as tissue adhesives：II. Adhesion to bone and other tissues. J Biomed Mater Res，1989；23：753
3. Mungiu C，Gogalniceance D，Leibovici M，et al. On the medical use of cyanocrytic esters：Toxicity of pure n-butyl-a-cyanocrylate. J Polymer Sci：Polymer Symposium，1979；66：189
4. Leonard F. The N-alkylalphacyanoacrylate tissue adhesives. Ann NY Acad Sci，1968；146：203
5. Largis JK，Katz AR. Experimental evaluation of

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

amylose succinate absorbale hemostat in a canine model. J Biomed Mater Res: Applied Biomaterials, 1987; 21: 299

6. 孙瑞元。半数致死量。见：徐叔云 卞如濂 陈修主编。药理实验方法学。北京：人民卫生出版社，1982：400～406

7. Millet CH. Properties of cyanoacrylates-An overview. Adhesives Age, 1981; (10): 27

(收稿：1992-07-08；修回：1993-02-11)

Adhesive-hemostatic effect and toxicity of 3α-cyanoacrylic esters

He Fengchi, Chen Daxie, Long Zaiyun, et al (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract It was found that citrated rabbit blood in a test tube could be coagulated within 5 seconds after the addition of isobutyl α-cyanoacrylate, isoamyl α-cyanoacrylate and isobutyl α-cyanoacrylate glycolate in different concentrations respectively. All these monomers exhibited quick and reliable styptic effect on the hemorrhage of the liver, the spleen and the kidneys of rabbits and rats respectively, and their styptic effect was superior to that of most conventional hemostatics. The test for their acute toxicity revealed that they were of quite low toxicity and their dosage for adhesive-hemostatic purpose was about one gram. There was no evident injurious effect on the functions of the kidneys and the liver and the peripheral hemogram in rabbits. The test for subacute toxicity revealed no obvious pathological changes but some imflammatory responses over the site of drug application.

Key words tissue adhesives; hemostatics; cyanoacrylates; α-cyanoacrylatic ester

(上接 112 页)

为 1.0mg(参考值 5.5mg～12.0mg)，但 17-KS 及血皮质醇正常，故诊断肾上腺皮质功能减退的依据不足；(7)因为此瘤最先发现于右肾上腺，浅表淋巴结不大；胸部 X 线及 CT 检查未见纵隔淋巴结肿大，头颅 CT 检查均未见转移灶；而且剖腹探查时见肝、胆、胃、十二指肠、脾、大网膜、腹主动脉及髂内血管上部均未见明确包块或转移灶，故笔者认为此瘤属于原发；(8)化疗效差。

肾上腺淋巴瘤少见，国外有人对 173 例 NHL 病人行 CT 检查，发现肾上腺淋巴瘤仅 7 例[1]。迄今 40 年文献报道的原发性肾上腺淋巴瘤不过 7 例[2]。国外报道的首例肾上腺淋巴瘤，大量证据支持合并阿狄森氏病[3]。在 7 例原发性肾上腺淋巴瘤中，有 1 例合并肾上腺皮质功能不全且有临床表现[2]。还有继发性肾上腺淋巴瘤浸润的阿狄森氏病，化疗后肾上腺皮质功能恢复的报道。

一般认为临床上对此瘤的诊断以 CT 检查的意义较大[1]。原发性者确诊后应尽早手术切除，如已播散可作姑息性化疗。国外内尚未对此瘤放疗的报道。

关键词 肾上腺；淋巴瘤

参考文献

1. Paling MR, Williamson BRJ. Adrenal involvement in non-Hodgkin lymphoma. American Journal of Roentgenology, 1983; 141: 303～305

2. Harris GJ, Tio FO, Hoff DDV. Primary adrenal lymphoma. Cancer, 1989; 63(4): 799～803

3. Lee Yeu-Tsu N. Malignant lymphoma: Nodal and extranodal disease. New York: Grune and Stratton, 1974: 268

(收稿：1992-07-15；修回：1992-12-08)

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net