

聚 α -乙烯基吡啶大孔树脂的合成及其对胆红素的清除*

王惠明 陈长治 董明容 郑九天 俞耀庭

(南开大学分子生物学研究所,天津)

摘 要

本文合成了交联聚 α -乙烯基吡啶珠状树脂,对树脂的交联度及致孔剂等因素进行了探索。实验结果表明:交联度在10%、致孔剂用量为200%时,可获得高比表面积的树脂。聚 α -乙烯基吡啶珠状树脂对胆红素的清除率可达91%。但其血液相容性较差,对血液中白细胞及血小板的破坏达50%。使用时需包膜。

关键词 聚 α -乙烯基吡啶、血液相容性、未结合胆红素

胆红素是人体内的一种代谢产物。它在体内大部分以未结合胆红素型式存在。当人体肝脏功能受到损坏时,胆红素代谢途径受阻,在体内大量积聚,造成游离胆红素浓度增高。由于游离胆红素易于与脑基底核组织的脂类结合,妨碍神经组织的正常功能,甚至使脑组织完全丧失功能。这一病症多发于肝脏发育不全的早产婴儿,即为新生儿黄疸症。

未结合胆红素是胆红素与白蛋白的结合体,分子量达69,000,在血液透析中是难以去除的。因此,近年人们研究如何用血液灌流清除未结合胆红素。1971年 Barakat 采用活性炭血液灌流清除胆红素^[1],其后 Lauterburg^[2,3]等研究了各种包膜活性炭对胆红素的吸附均未获得满意的效果。同年 Rosenbaum^[4]首先开展了合成树脂吸附胆红素的工作。七十年代后的许多研究工作是用 Amberlite XAD 系列树脂进行的^[5,6],但都由于吸附量小,吸附速度慢而未能得到广泛应用。Sidemen 在应用离子交换树脂血液灌流去除胆红素方面进行了许多工作^[7,8]。他提出以大孔离子交换树脂去除胆红素可获得较好效果,并且证明碳酸氢盐型离子交换树脂对血液 pH 值及化学成分影响较小^[9]。八十年代后作者曾对大孔吸附树脂及大孔离子交换树脂清除胆红素进行了研究^[10,11],并取得较好的结果。

本文为了提高树脂对胆红素的清除速度和清除容量合成了高交换容量的大孔聚 α -乙烯基吡啶树脂。同时对该树脂的物理和化学性能进行了初步考察。测定了强碱型和弱碱型聚 α -乙烯基吡啶树脂清除胆红素的性能。并初步考察了聚 α -乙烯基吡啶树脂的血液相容性。

材 料 与 方 法

1. 材料

α -乙烯基吡啶(工业品,天津医药工业研究所);二乙烯基(工业品,含量46.9%,上海

* 1987年3月25日收到。

高桥化工厂); 2, 2, 4-三甲基戊烷(分析纯, 天津试剂一厂); 胆红素(生化试剂, 南京生化制药厂); 溴乙烷(化学纯, 北京化工厂)。

2. 方法

1. 单体纯化 工业品 α -乙烯基吡啶减压蒸馏收集 68—70°C/30 mmHg 馏份, 低温保存备用。

2. 树脂合成 在装有搅拌器的三口瓶中, 加入分散相, 将单体与致孔剂加入后搅拌分散均匀, 升温聚合。珠体固化后分离反应液。珠体水洗多次除去残留单体和分散剂。提取致孔剂后, 干燥备用。

3. 树脂物理性能测定 以比重瓶法测定树脂表观密度。以流动色谱法测定树脂比表面积。

4. 树脂季胺化及转型 干燥树脂置于圆底烧瓶中。加入溴乙烷, 回流 48 小时后分离反应液, 用丙酮洗净残留溴乙烷后转入水相。多次转型处理后转为碳酸氢型备用。

5. 树脂交换量测定 参考美国国家标准离子交换树脂交换量测定方法^[12], 分别测定树脂强碱交换容量和总交换容量。

6. 树脂清除胆红素性能的测定 取 2 ml 湿树脂置于 50 ml 锥形瓶中, 加入 10 ml 浓度为 15 mg/dl 的胆红素溶液。37°C 恒温振荡 2 小时。取样测定胆红素清除率。取 5 ml 湿树脂装柱, 分别加入 25 ml 一定浓度的胆红素溶液和血浆胆红素溶液。37°C 恒温下动态循环 3 小时。流速为 5 ml/min, 定时取样测定胆红素清除率。

胆红素溶液浓度测定是根据文献[13]用 721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)进行比色测定。

7. 血液相溶性测定 取 19 ml 湿态树脂置于 20 ml 体积灌流柱中, 加入正常人的新鲜全血 50 ml [使用抗凝剂 ACD-A(0.8% 枸缘酸·H₂O, 2.2% 枸缘酸钠·2H₂O, 2.45% 葡萄糖·H₂O, pH 7.5)], 每 100 ml 抗凝剂用于 400 ml 新鲜全血。天津市河东医院提供血液。室温下循环 2 小时, 流速 7 ml/min。定时取样在显微镜下对白细胞及血小板计数。

8. 血浆化学成份分析 全血进行体外灌流实验前后, 分别取少量样品离心分离血浆。用自动生化分析仪(CORONA, 西德 Boehringer Mannheim) 分析血浆各化学成分的变化情况。

结 果 与 讨 论

1. 树脂的物理性能

合成一系列不同交联度和不同致孔剂比例的树脂。物理性能测定结果表明(表 1), 当致孔剂比例为 100%, 交联度低于 7% 时, 树脂比表面积小于 1 m²/g, 溶胀度高于 150%。交联度大于 10% 时, 树脂的比表面积增大, 而溶胀度与凝胶树脂接近。交联度为 20% 致孔剂比例为 100% 时, 树脂比表面积达 117 m²/g。交联度为 10% 致孔剂比例为 300% 时, 树脂的比表面积仅有 0.38 m²/g。

2. 树脂的化学性质

表 2 列出树脂经季胺化后的强碱交换容量和总交换容量。结果表明, 聚 α -乙烯基吡

表1 树脂的物理性质

编 号	交联度(%)	致孔剂(%)	比表面积 (m^2/g)	表观密度 (g/ml)	溶胀度(%)
M-1	4	100	0.18	0.6714	210
M-2	7	100	0.50	0.5622	150
M-3	10	100	25.10	0.6306	110
M-4	20	100	117.00	0.5542	30
M-9	10	200	74.70	0.3287	35
M-10	10	300	0.38	0.3320	110
G-1	4	0	—	1.0285	60
G-2	7	0	—	1.0314	45

吡啶树脂的总交换容量一般都超过聚苯乙烯型阴离子交换树脂的总交换容量。最高可达 9 meq/g 以上。树脂季铵化程度随交联度升高而下降。低于文献报道的线型聚 α -乙烯基吡啶季铵化程度在 25—54% 之间的结果。由于季铵化程度的限制, 强碱交换量在 3.0 meq/g 以下。

表2 树脂的化学性质

编 号	交联度(%)	致孔剂(%)	强碱交换量 (meq/g)	总交换量 (meq/g)	含水量 (%)	季铵化率 (%)
M-5	4	200	2.90	9.24	91.4	31.0
M-6	7	200	2.14	8.50	87.0	25.0
M-7	10	200	1.40	7.19	82.0	19.5
M-8	20	200	0.98	6.21	79.0	15.7

3. 交联度对树脂清除胆红素性能的影响

在致孔剂比例为 200% 时考察不同交联度的季铵型树脂对胆红素的清除率, 结果表明, 交联度为 10% 时, 树脂对胆红素的清除效果较好(图 1)。

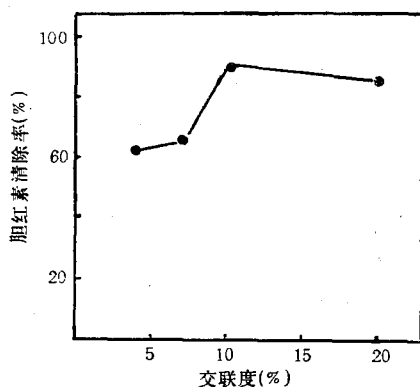


图1 树脂交联度对胆红素清除性能的影响

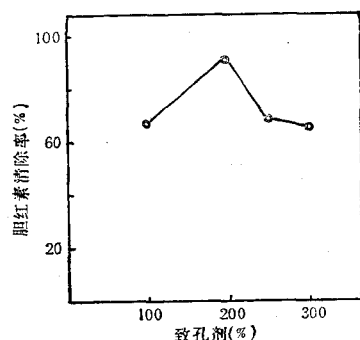


图2 致孔剂比例对胆红素清除性能的影响

4. 致孔剂比例对树脂清除胆红素性能的影响

在交联度为 10% 时, 致孔剂比例为 200% 可获得清除胆红素性能较好的树脂。其清除率可达 91.7% (图 2)。这种 M-7 树脂, 比表面积为 $74.7 \text{ m}^2/\text{g}$, 强碱交换量为 1.40

meq/g, 总交换量为 7.19 meq/g, 是季铵型。它的比表面积虽比 M-4 树脂小, 强碱交换量和总交换量都比上述三种树脂高。这与树脂对胆红素的清除, 树脂的比表面积、交换容量是影响清除效果的重要因素的解释是一致的^[4]。

5. 动态清除胆红素实验结果

在动态清除胆红素过程中, 季铵型树脂的清除效果大大优于叔胺型树脂的清除效果。在胆红素的分子结构中, 有两个丙酸基, 使胆红素能以阴离子型式被阴离子树脂交换。实验结果表明, 季铵型树脂在 3 小时内清除率可达 90%, 而叔胺型树脂却只有 56%。上述两类树脂均可在 90 分钟内达到平衡 (图 3)。

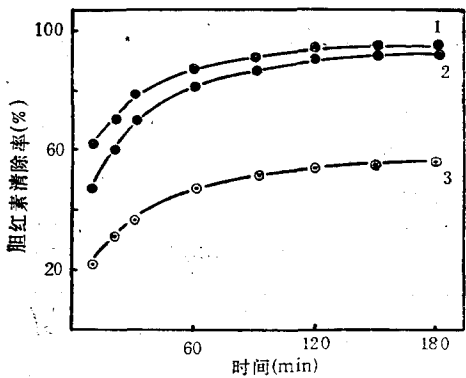


图 3 动态清除胆红素性能的比较
—1—M-7 树脂季铵型; —2—M-8 树脂季铵型;
—3—M-8 树脂叔胺型

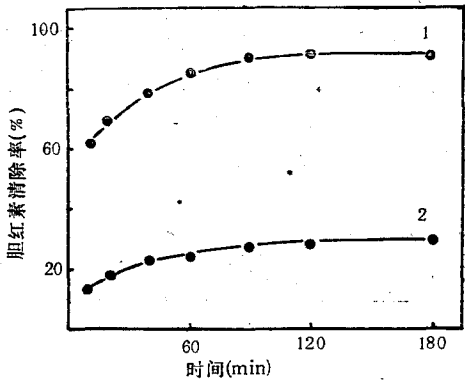


图 4 在胆红素溶液与血浆胆红素中清除胆红素性能的比较
—1—胆红素溶液; —2—血浆胆红素

表 3 树脂体外人血灌注对血液有形成份的影响

	体外灌注前	灌注 120 (分钟)	保留率(%)
白细胞 $1 \times 10^3/\text{ml}$	116 ± 20	48 ± 13	41.4
血小板 $1 \times 10^3/\text{ml}$	160 ± 16	88 ± 15	55.0

表 4 树脂对血液化学成份的影响

	体外灌注前	灌注 120 (分钟)	影响程度 (t)
谷草转氨酶	13.8 ± 3.1	17.0 ± 3.4	1.97
谷丙转氨酶	5.5 ± 1.8	8.0 ± 1.6	4.04
肌酸激酶	56.5 ± 2.7	62.0 ± 7.0	3.04
碱性磷酸酶	161.5 ± 22.9	142.0 ± 23.2	2.04
谷氨酰转肽酶	6.0 ± 1.6	4.5 ± 0.6	3.47
白蛋白	4.4 ± 0.2	4.2 ± 0.2	1.70
总蛋白	6.7 ± 0.1	6.7 ± 0.1	
甘油三酯	105.0 ± 6.3	116.0 ± 11.2	2.87
胆固醇	196.5 ± 13.8	210.0 ± 8.4	2.36
肌酐	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	3.71
尿素	30.3 ± 1.6	29.2 ± 2.3	3.09

6. 树脂在人血浆中对胆红素的清除效果

用人血浆配制胆红素溶液进行动态清除胆红素实验。结果见图 4。M-7 季铵型树脂在人血浆中清除胆红素能力大大降低, 仅为在胆红素溶液中的三分之一。由于人血浆中成份十分复杂, 特别是有大量的蛋白存在。在树脂清除胆红素的过程中, 影响胆红素分子在溶液中的扩散, 甚至堵塞树脂的孔道, 致使树脂在血浆中清除胆红素的能力比在胆红素溶液中大大降低。

7. 树脂的血液相容性及对血液化学成份的影响

表 3 与表 4 列出了在体外实验中树脂对血液有形成份的破坏情况和对血液化学成份的影响。结果表明, 树脂的血液相容性不佳, 对白细胞和血小板破坏达 50%。碳酸氢盐型聚 α -乙烯基吡啶树脂对血液化学成份的影响很小。

致谢 本文得到南开大学高分子化学研究所李弘、边国民同志的帮助, 谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Barakat, T., *Br. J. Surg.* 1971, 58, 355.
- [2] Lauterburg, B. H., Dickson, E. R., Pineda, A. A. and Carlson, G. L., *J. Lab. Clin. Med.* 1979, 94, 585.
- [3] Skelly, P. J. and Tighe, B., *J. Polymer* 1979, 20, 1051.
- [4] Rosenbaum, J. L., *New. Engl. J. Med.* 1971, 284(6), 874.
- [5] Willson, R. A., Hofmann, A. F. and Kuster, G. R., *Gastroenter*, 1974, 66, 95.
- [6] Kawamate, T., *Artif. Organs*, 1977, 1, 128.
- [7] Sideman, S., Mor, L. and Brandes, J. M., *Trans. ASAIO* 1979, 25, 497.
- [8] Sideman, S., in: *Hemoperfusion Kidney and Liver Supports and Detoxification*. Sideman, S. and Chang, T. M. S. eds. Hemisphere-McGraw Hill, New York. 1980, p 175.
- [9] Sideman, S., in: *The Past, Present and Future of Artificial Organs*. Piskin, E. and Chang, T. M. S. eds. Meteksan, Ankara. 1983, p 228.
- [10] Tong MingRong, Chen ChangZhi, Liu RongXun, Yu YaoTing He BingLin, in: *Proceedings of the Fifth International Symposium on Hemoperfusion and Artificial Organs*. Chang, T. M. S. and He B. L. eds. China Academic Publishers, 1985, p 379.
- [11] Chen ChangZhi, Wang HuiMing, Tong MingRong, Yu YaoTing, Song JiChang, Qian ShaoCheng, Chang HuiZhen, *Intern. J. Artif. Organs*, 1986, 9(5), 323.

SYNTHESIS OF MACROPOROUS POLY- α -VINYLPYRIDINE RESINS AND ITS REMOVAL OF UNCONJUGATED BILIRUBIN

WANG Huiming CHEN Changzhi TONG Mingrong ZHENG Jiutian YU Yaoting

(Institute of Molecular Biology, Nankai University, Tianjin)

ABSTRACT

Macroporous poly-vinylpyridine resins with quaternary ammonium group were synthesized and the relationship between the ratio of crosslinking and diluent used was studied. Experimental results showed that resins with high specific surface area could be obtained with 10% crosslinking agent and 200% diuent. Removal of bilirubin by the above resin was 91%. The blood compatible properties were not satisfactory and 50% leukocytes and erythrocytes remained after 2 hrs. of circulation.

Key words Poly- α -vinylpyridine, Blood compatible properties, Unconjugated bilirubin