PX的构成,同时其浓度的高低也直接与SOD活性密切相关。只有在适当浓度时,其方可维持SOD具有较大的活性。而Mn作为体内重要的必需微量元素,其直接参与了Mn-SOD的构成。如果Mn-SOD的活性降低到相当程度,产生过量的自由基,可引发脂质过氧化反应,从而对生物膜产生有害的影响。很多试验都证明了食物中Mn含量低,可导致Mn-SOD活性下降。例如,断奶大鼠饲以低Mn(0.75 mg/kg饲料)和适量Mn(22 mg/kg饲料)的饲料,历时2月,结果显示,低Mn组大鼠心和肝脏的Mn浓度仅为适量组的56%,且心脏的Mn-SOD活性仅及适量Mn组的57%,不利于保护心脏线粒体免受脂质过氧化之害[5]。本实验从体外进一步证明,低浓度的Mn对SOD活性起应激效应,即当Mn浓度由0 μg/L增加到400 μg/L,SOD活性由5 100 U/mg上升到5 900 U/mg;而高浓度Mn,则对SOD活性起抑制作用,即当Mn浓度增加到500 μg/L时,SOD活性下降为5 200 U/mg。而F作为生物体内重要的必需微量元素,其含量高低对SOD活性也有较大的影响。本实验证明,只有当F维持适当浓度范围时,SOD才有较大活性。

本实验结果提示:微量元素Se、Mn、F与抗氧化物酶SOD活性具有密切关系;只有当微量元素在适当的浓度范围时,SOD活性才可达最高;低浓度Se、Mn、F对SOD活性起激活效应,高浓度Se、Mn、F对SOD活性起抑制效应。因此,在治疗某些因微量元素缺乏而产生的疾病时,应考虑体内的最适浓度,切不可给予过量补充,以免引起体内其它物质的代谢紊乱和疾病。

关键词:超氧化物歧化酶;硒;锰;氟
中图法分类号:Q554 文献标识码:B

参考文献:

[1] 刘 军. 超氧化物歧化酶的研究进展[J]. 天津药学, 2000, 12(4):23-24.
[2] 徐 荷. 超氧化物歧化酶与微量元素、热休克蛋白的关系[J]. 现代预防药学, 1998, 25(2):226-228.
[3] 赵先英,刘毅敏. 抗坏血酸为阻断剂肾上腺素法测定超氧化物歧化酶活力[J]. 药物生物技术, 1996, 3(3):147-149.
[4] 李 力. 超氧化物歧化酶分析方法进展[J]. 内蒙古预防治研究, 1995, 20(1):43-44.
[5] 颜世铭,洪昭毅,李增喜. 实用元素医学[M]. 郑州:河南医科大学出版社, 1999. 231-232.

(编辑 张大春)

文章编号:1000-5404(2004)02-0173-02

技术方法

PELA-BSA微球体外释药特性与释药方程

Characteristics of PELA microspheres loaded with BSA and the drug-release equations

任建敏,肖正华,张梦军 (第三军医大学医学检验系分析化学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 研究白蛋白PELA微球的体外释药特性,得出释药方程。方法 应用复乳法制备牛白蛋白PELA微球,探讨亲水相大分子β-CD、PEG、明胶对"爆释作用"影响,并对实验数据应用计算机拟合,获得通用的微球释药方程。结果 内水相的亲水大分子在提高微球蛋白运载量、成球率的同时,可降低牛白蛋白爆释率65%以上;运用计算机编程得出的释药方程,其释药量随时间t的指数成正比,t的指数值大多在1/2和1范围内。结论 通用释药方程更符合控释微球的实际释药,适用性更广。

可生物降解材料作为药物载体,特别是作为运载蛋白质、多肽的微球载体,已引起人们的极大关注[1~4]。聚乙二醇改性聚乳酸共聚物(PELA)其亲水性与生物相容性优于聚乳酸(PLA)及聚乳酸与乙醇酸共聚物(PLGA),但运载蛋白质、多肽等药物时,在生物介质中,扩散速度快,难以实现长效缓释。为了解决这些问题,我们以牛白蛋白(bovine serum albumin, BSA)为药物模型,应用复乳法制备PELA-BSA微球,探讨内水相中一些亲水大分子如β-CD、PEG、明胶等对释药特性的影响,并对体外释药数据应用计算机编程,获得拟合的释药通用方程。

1 材料与方法

1.1 材料

聚乙二醇改性聚乳酸PELA[PLA-PEG2000](95∶5):特性粘度0.022 8 ml/g(在25 ℃,用四氢呋喃为溶剂,粘度法测得)。牛

作者简介:任建敏(1964-),男,四川省渠县人,博士,副教授,主要从事生物分析化学与药物新制剂的教学与科研方面的研究。电话:(023)68753046

收稿日期:2003-04-07;修回日期:2003-09-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

白蛋白(BSA)、明胶由 Sigma 公司提供。聚乙烯醇(PVA-1788)、PEG-2000、β-CD、二氯甲烷及其它化学试剂均为国产分析纯。

1.2 PELA—BSA 微球的制备

100 ml 10% PELA 二氯甲烷溶液中，加入 10 ml 含 4% BSA 和 0～2% 亲水大分子(β-CD、PEG、明胶)，使用 T25B 均质器在 11 000 r/min 乳化 5 min 后，加入到 500 ml 2%PVA 溶液中再乳化 5 min，形成的 w/o/w 复乳于 200 r/min 条件下，在室温磁力搅拌 12～16 h，待溶液挥发尽后，低温离心，水洗 3～8 次，离心收集产物，低温冷冻干燥，在 4 ℃以上干燥贮存备用。

1.3 微球粒径的测定与形态表征

微球粒径与分布通过 LeitzDiaplan 光学显微镜测定(德国生产)，其表面形态由 AMRAY 型扫描电子显微镜观测。

1.4 蛋白运载率测定

PELA-BSA 微球中蛋白运载率可通过测定微球中 BSA 的含量计算获得。即取 3 份一定量的 PELA-BSA 微球，溶解于二氯甲烷中，待完全溶解后，加入一定体积的水，振荡后静置，取上清，用紫外分光光度计测定其含量，后计算其含量。

1.5 PELA-BSA 微球体外释放

按文献[5]的步骤，称取一定量 PELA-BSA 微球 3 份，各加入 2 ml PBS 溶解，封口在 37 ℃恒温振荡器以 40 r/min 速率振荡释放。每隔相同时间间隔(2～3 d)，离心取上清 1 ml，并补充 1 ml新鲜 PBS。取出液用可见/紫外分光光度计(DU640，美国 BEAKMAN)测蛋白含量，由以下公式计算体外累积释放率

$$累积释放率=\sum_{t=0}^{t\to\infty} M_t / M_{actual} \times 100\%$$

其中 M_t 是 t 时刻 BSA 释放量，M_{actual} 是微球中运载 BSA 的实际量。

2 结果

2.1 内水相亲水大分子对微球特性的影响

控制其它工艺条件，内水相中几种亲水性大分子不同浓度对 PELA-BSA 微球特性的影响如表 1。由表 1 可看出，应用复乳法制备 PELA-BSA 微球，内水相中亲水大分子 PEG-2000 或明胶(浓度 2% 以下)与一定浓度 BSA 混合，BSA 的包裹率和微球成球率有所提高，而微球的粒径略有增大；内水相亲水大分子 β-CD(浓度 2% 以下)与一定浓度 BSA 混合，BSA 的包裹率提高，而微球粒径增大，成球率降低。

表 1 内水相亲相水大分子参对微球特性的影响(25 ℃)

编号	亲水大分子 (%)	微球粒径 (μm)	蛋白运载量 (%，n=3)	包裹率 (%，n=3)	成球率 (%，n=3)
MS-1		22.5±7.8	3.75	67.6	88.9
MS-2	β-CD(0.5)	32.12±8.2	3.98	74.6	60.2
MS-3	β-CD(2.0)	33.7±9.1	3.80	77.1	62.2
MS-4	PEG-2000(0.5)	28.2±7.3	4.98	87.2	88.9
MS-5	PEG-2000(2.0)	35.1±10.8	4.50	90.0	95.0
MS-6	Galatin(0.5)	32.8±9.5	4.97	88.3	92.0
MS-7	Galatin(1.0)	36.4±11.6	4.81	90.2	95.0

这主要要由于内水相亲水大分子 PEG-2000、明胶等的存在，提高了乳化过程中内水相的粘度，并在 w/o 界面形成稳定的膜。内水相粘度愈大，导致剪切阻力愈大，乳化的液滴愈大，从而形成较大粒径的微球；而在 w/o 界面形成稳定的膜，有助于阻止内水相中溶于水的 BSA 等药物进入外水相，以提高蛋白包裹率，内水相β-CD 的存在，引起 PELA-BSA 微球成球率降低，可能与β-CD 成膜性差有关。

2.2 体外释药特性研究

图 1 显示了由复乳法制备的不同特性的微球释药曲线。BSA 由微球中释放一般表现为 3 个阶段：初次爆释释放、二相扩散释放与三相释放。内水相中亲水性大分子的存在对释药特性影响较大。在 PBS 溶液中，温度为 37 ℃的条件下，24 h 后 MS-1 的初次爆释率为 10.8%，而 MS-3、MS-5、MS-6、MS-7 他它们的初次爆释率为 3.8%、6.6%、5.3% 和 4.2%；45 d 后，它们各自的累积释放为 57.3%、36.0%、42.0%、49.1% 和 38.9%。

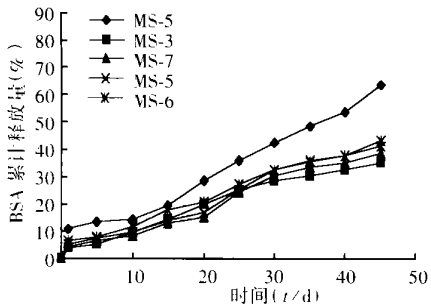


图 1 亲水大分子对 PELA-BSA 微球 BSA 累积释放量的影响(37 ℃)

应用复乳制备 PELA-BSA 微球，内水相的亲水大分子不仅可降低 BSA 的初次爆释，而且可控制 BSA 的释放速率。内水相中含亲水大分子的 MS-3、MS-5、MS-6、MS-7 能有效地阻止 BSA 的爆释，其初次爆释量可降低 65%。同时它们的释放速率也远低于 MS-1，这也许与亲水大分子与 BSA 或 PELA 形成化学键或氢键有关。

2.3 PELA-BSA 的释药方程

对大多数生物降解的聚酯微球，在初次爆释以后与降解之前，其释药机制主要是溶液溶胀扩散释药，其过程包括：①水渗透进入 PELA 基质后，被微球吸收；②微球基质溶胀；③BSA 通过溶胀的微球基质三相释药；④BSA 通过微球基质扭曲的、充满水的通道进一步扩散，最后微球基质降解。

一般情况，溶胀层的厚度保持常数，由溶胀基质控制释释药速度，服从零级释药方程，即

$$m_0 - m_t = kt \quad (0级释药方程) \qquad ①$$

这里，m_0 是药物运载量，m_t 是 t 时刻药物的释放量。

如果药物与聚合物基质均相混合或部分溶解，药物释放服从如下方程：

$$m_0 - m_t = kt^{1/2} \quad (Higuchi\ 方程) \qquad ②$$

然而，药物的实际释药行为并不完全与以上二方程相符，为了获得 PELA-BSA 释药方程，我们应用方程①、②的通用形式③，

$$m_0 - m_t = kt^{\alpha} \begin{cases} \alpha = 1 (0级释药方程) \\ \alpha = 1/2 (Higuchi\ 方程) \end{cases} \qquad ③$$

对图 1 的实验数据，采用方程③的形式，运用计算拟合，则图 1 中各曲线的拟合方程，见表 2。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　PELA-BSA 微球释药的拟合方程

编号	拟合方程	r
MS-1	$m_0-m=kt^{0.488213}$	0.901 59
MS-3	$m_0-m=kt^{0.651079}$	0.966 43
MS-7	$m_0-m=kt^{0.631811}$	0.946 22
MS-6	$m_0-m=kt^{0.590758}$	0.936 16
MS-5	$m_0-m=kt^{0.540946}$	0.943 82

表 2 显示出释药方程的通用形式③, 时间(t)的指数α 落在 1/2 和 1 之间, 相关系数均在 0.900 0 以上。

3　讨论

本研究介绍了降低微球"初次爆释"的一种方法, 在应用复乳法制备微球的过程中, 控制其它工艺条件, 在内水相加入一定量的亲水大分子如β-CD、PEG 和明胶, 初次爆释率可降低 65%, 同时可提高蛋白运载量, 其成球率与亲水大分子的成膜性有关。其体外释药数据通过计算机编程, 得出如下通用方程:

$$m_0-m=kt^{\alpha}\begin{cases}\alpha=1 & (0\text{级释药方程})\\ 1/2<\alpha<1 & (\text{大部分微球释药})\\ \alpha=1/2 & \textit{Higuchi}\ \text{方程(小部分微球释药)}\end{cases}$$

此通用方程更适合实际的微球释药情况。

关键词: 微球; 可生物降解
中图法分类号: R914.4　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Zhou S, Xiao X, Li X, *et al*. Poly-D, L-lactide-co-poly(ethylene glycol) microspheres as potential vaccine delivery systems[J]. J Control Release, 2003, 86(2-3): 195-205.

[2] Vila A, Sánchez A, Tobío M, *et al*. Design of biodegradable particles for protein delivery[J]. J Control Release, 2002, 78(1): 15-24.

[3] Kissel T, Li Y, Unger F. ABA-triblock copolymers from biodegradable polyester A-blocks and hydrophilic poly(ethylene oxide) B-blocks as a candidate for in situ forming hydrogel delivery systems for proteins[J]. Adv Drug De, 2002, 54(1): 99-134.

[4] Zambaux M F, Bonneaux F, Gref R, *et al*. Protein C-loaded monomethoxypoly (ethylene oxide) poly(lactic acid) nanoparticles[J]. Int J Pharm, 2001, 212(1): 1-9.

[5] Li J K, Wang Nuo, Wu X S. A novel biodegradable system based gelatin nanoparticle and poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres for protein and peptide drug delivery[J]. J Pharm Sci, 1997, 891(8): 891-895.

(编辑　王　红)

文章编号: 1000-5404(2004)02-0175-02

个案与短篇

双侧肾上腺原发性非霍奇金淋巴瘤 1 例

A case report of primary non-Hodgkin lymphoma of bilateral adrenal glands

张哉根, 叶明福, 汤金梁　(第三军医大学新桥医院病理科, 重庆 400037)

患者, 男性, 42 岁。腰背部隐痛向双肩部及骶尾部放射 1 个月, 并逐渐加重。B 超示: 右肾上腺大小 9.4 cm×6.3 cm, 弱回声, 界清, 包膜完整; 左侧肾上腺大小 12.4 cm×13 cm, 弱回声, 界不清, 部分区有包膜。初步诊断: 双侧肾上腺恶性肿瘤。CT 示: 双侧肾上腺区巨大块影, 右侧肿块毗邻肝脏。左侧肿块较右侧更大, 与胃后壁、脾脏关系密切, 界限不清, 提示双侧肾上腺恶性肿瘤可能性大。静脉肾盂造影双肾功能好。实验室检查: 尿常规未见异常, 血糖、血脂、醛固酮、皮质醇和 17 羟类固醇均在正常值范围。剖腹探查: 双侧肾上腺肿块, 左侧已突破包膜, 行双侧肾上腺肿瘤切除术。

病理检查: 巨检 灰白灰红色结节状肿块 2 个, 大小分别为左侧 1.5 cm×10 cm×3.6 cm, 部分有包膜, 右侧 11.0 cm×10.0 cm×3.5 cm, 见图 1。包膜完整, 肿块切面均为灰白灰红色, 质细嫩。光镜检查: 瘤组织呈弥漫性生长, 瘤细胞中等大小, 圆或卵圆形, 胞质少, 核圆或卵圆形, 少数可见核裂, 染色质粗细不均, 有些可见小核仁, 核分裂像较少。左侧肾上腺肿瘤边缘区瘤细胞间可见散在的神经节细胞, 见图 2。免疫组化: CD45(+)、CD45RO(-)、CD20(+), 见图 3, NSE 神经节细胞(+), 而瘤细胞(-)。病理诊断: 双侧肾上腺原发性 B 细胞性非霍奇金低度恶性淋巴瘤。



图 1　双侧肾上腺淋巴瘤的大体切面

作者简介: 张哉根(1950-), 男, 浙江省宁波市人, 副主任医师, 主要从事肿瘤病理方面的研究。电话: (023)68774697

收稿日期: 2003-07-01; 修回日期: 2003-09-28

(下转 178 页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net