DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.04.060
第23卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 4
488 2001年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2001

3 讨论

目前,体外混合生物人工肝支持系统和肝细胞移植在治疗肝衰竭的临床应用中已取得了良好的效果,但肝细胞来源不足成了较重要的问题。肝细胞的低温保存技术研究已开展多年,但迄今为止,仍然没有一种较为理想的冷冻保存肝细胞的标准方法,冻存后肝细胞的活率明显降低,稍长时间低温保存肝细胞的功能受到影响。因此人们正在探索,试图找到一种更好的保存肝细胞的方法。目前国外有用UW液低温保存肝细胞的方法[3,4],是将分离的肝细胞用UW液制成细胞悬液置于4 ℃冰箱内保存。这种方法简便,能达到保存肝细胞的目的。但是UW液价格昂贵,只能短期保存肝细胞,且复苏后细胞的活率不高。而本室所采用自制配方的超低温保存肝细胞的方法,所用试剂价格便宜,能够较长时间保存肝细胞,且复苏后活率较好,经台盼蓝染色发现其存活率大于90%,且保持了肝细胞的组织特异蛋白的合成功能,将复苏的肝细胞培养24 h后取上清液离心测白蛋白,发现其含量每升约增长了10 g左右。因此,本法是一种较好的肝细胞冻存的方法。它给生物人工肝支持系统应用于临床的推广起到了推动作用,为肝细胞的远程运输提供了一种可行的方法。

关键词:肝细胞;超低温冻存
中图法分类号:R318.52;R322.47 文献标识码:B

参考文献:

[1] 王英杰,李梦东,王宇明,等.体外生物人工肝支持作用的实验研究[J].中华肝脏病杂志,1999,7(1):31-33.
[2] 王宇明,陈国致,董家鸿,等.分离肝细胞的体外灌流法及其应用[J].中华实验外科杂志,1994,11(增刊):45-46.
[3] Olinga P, Merema M, Sloff M J, *et al*. Influence of 48 hours of cold storage in University of Wisconsin organ preservation solution on metabolic capacity of rat hepatocytes[J]. J Hepatol, 1997, 27(4): 738-743.
[4] Marsh D, Hjelmhaug J A, Vreugdenhil P K, *et al*. Hypothermic preservation of hepatocytes. III. effects of resuspension media on viability after up to 7 day of storage[J]. Hepatology, 1991, 13(3): 500-508.

(编辑 汪勤俭)

技术方法

文章编号:1000-5404(2001)04-0488-02

可生物降解材料聚乳酸及聚乙二醇改性共聚物的合成与回收试验

Experiment on the synthesis and retrieval of biodegradable polymers of polylactide and polylactide-polyethylene glycol

任建敏[1],彭承琳[1],王缚鲲[2],邹全明[2],王 宁[2] ([1]重庆大学生物工程学院,重庆 400044;[2]第三军医大学医学检验系临床微生物学与免疫学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 以廉价易得的食用乳酸为原料,采用两步法合成聚乳酸(PLA)及聚乙二醇改性共聚物(PLEA),并介绍了该类聚合物的回收再用技术。方法 利用测定聚合物的特性粘度与分子量分布,探讨合宜的反应条件。结果 该聚合反应条件为:反应温度为140~160 ℃、反应时间24~48 h、引发剂/单体(*W*/*W*)在0.01%~0.04%范围较为合宜。利用本法的回收再用技术,丙交酯的回收率在80%以上。结论 聚乳酸及共聚物的聚合反应,伴随有分子内与分子间的酯转移,与反应条件密切相关。

聚乳酸(Polylactide, PLA)及聚乙二醇改性共聚物(PLEA)毒性小、可生物降解,可有效改善与蛋白质等亲水性物质的生物相容性,延长在生物体内存留的半衰期,在靶向药物载体的研究中意义重大[1,2]。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及规格

乳酸(食品级,80%~85%),PEG(M_w=2 000)分析纯,La_2O_3国产分装,ZnO分析纯,Sn(Oct)$_2$为Sigma公司提供,其它溶剂为国产分析纯。

作者简介:任建敏(1964-),男,四川省渠县人,博士研究生,讲师,主要从事生物医学材料与缓释靶向药物载体方面的研究,发表论文20余篇。电话:(023)68752315
收稿日期:2000-07-20;修回日期:2000-11-17

1.2 D,L-丙交酯制备

丙交酯的合成参照参考文献[3],经改进催化剂用ZnO/La_2O_3(4∶1比例,*W*/*W*),母液回收循环再用,产率由30%提高到40%。

1.3 PLA与PLEA的合成

参考文献[1,4]方法,分别在140 ℃,160 ℃,180 ℃聚合数小时,白色固体(或淡黄色)用丙酮-水体系纯化,真空干燥24 h,测聚合物特性粘度与分子量分布。

1.4 聚合物特性粘度与分子量分布的测定

所用仪器:Waters, HPLC/GPC 244高效液相色谱仪。

1.5 聚合物降解与回收试验

聚合物加入一定量的稀盐酸溶液,在水浴中搅拌加热,待聚合物降解成的乳白色粉状微粒后,置于圆底烧瓶中,加入催化剂搅匀,后同丙交酯的制备方法。

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

2 结果

反应温度、反应时间与引发剂量对 PLA 聚合物特性粘度与分子量分布的影响，见表 1。

表 1 反应温度与时间对 η 与 M_w/M_n 的影响

编号	温度(℃)	时间(h)	引发剂(W/W)	η(dl/g)	M_w/M_n	颜色
1	140	52	0.01%	0.4812	1.6	白色
2	140	10	0.02%	0.0964	2.3	白色
3	140	24	0.02%	0.2611	1.7	白色
4	140	48	0.02%	0.4763	2.0	白色
5	140	72	0.02%	0.1962	3.2	白色
6	140	38	0.05%	0.3524	2.3	白色
7	140	18	0.09%	0.2612	3.3	白色
8	160	30	0.01%	0.3921	1.7	白色
9	160	10	0.02%	0.1642	2.0	白色
10	160	24	0.02%	0.3816	1.6	白色
11	160	36	0.02%	0.2461	3.3	白色
12	160	16	0.05%	0.2622	2.2	白色
13	160	8	0.09%	0.1956	3.2	淡黄
14	180	5	0.01%	0.3128	2.0	淡黄
15	180	2	0.02%	0.3211	2.1	淡黄
16	180	4	0.02%	0.3052	2.2	淡黄
17	180	8	0.02%	0.2263	3.2	淡黄
18	180	24	0.02%	0.1543	4.1	棕色
19	180	2	0.05%	0.2863	2.8	淡黄
20	180	1	0.09%	0.1106	3.5	淡黄

聚乳酸及 PEG 共聚物组成与特性粘度的关系及回收试验：选用反应温度为 160 ℃，聚合反应 24 h，催化剂用量为 0.02%，产物各取一定量在相同条件作回收试验，聚合物特性粘度与组成的关系及回收试验见表 2。

表 2 PLEA 共聚物组成对 η 与 M_w/M_n 的影响及回收试验

No.	PEG(wt%)	η(dl/g)	M_w/M_n	共聚物重量(g)	回收丙交酯(g)	回收率(%, $n=3$)
1	0	0.3816	2.4	50	45.2	90.4
2	0.5	0.3234	2.8	50	41.1	83.3
3	5.0	0.2613	3.1	50	40.2	89.3
4	10.0	0.1678	3.5	50	34.6	86.5

3 讨论

从表 1 可得出在一定量引发剂与聚合温度在 140～180 ℃范围条件下，低反应温度有利于聚合物链的增长，且聚合物分子量分布范围小，反应速率较慢；随着反应温度升高，聚合速率提高，聚合物特性粘度降低，聚合物分子量分布范围增大。引发剂用量增大，聚合反应速率提高，加快了分子间与分子内酯交换反应的进程，也使聚乳酸特性粘度大大降低，聚合分散程度增大。综合考虑丙交酯聚合成聚乳酸，反应温度在 140～160 ℃，反应时间 24～48 h，引发剂用量在 0.01%～0.04%范围为宜，这与文献[3]报道一致。

表 2 中，随着 PEG 含量的增加，共聚物的特性粘度下降，分子量降低。这可能是由于羟基化合物与引发剂 $Sn(Oct)_2$ 发生反应时，还能和正在增长的活性链端基发生链转移反应，降低了共聚物的分子量，增大了聚合物的聚合分散程度，与实验结果一致。

关键词：可生物降解；聚乳酸
中图法分类号：R318.08 文献标识码：B

参考文献：

[1] Lim D W, Park T G. Stereocomplex formation between enantiomeric PLA-PEG-PLA triblock copolymers: Characterization and use as protein-delivery microparticulate carrers[J]. J Appl Polym Sci, 2000, 75: 1615—1623.
[2] Zambaux M F, Bonneaux F, Gref R, *et al*. Preparation and characterization of protein C-loaded PLA nanoparticles[J]. J Controlled Release, 1999, 60(2—3): 179—188.
[3] Gilding D K, Reed A M. Biodegradable polymers for use in surgery polyglycolic/poly(actic acid) homo-and copolymers: 1[J]. Polymer, 1979, 20: 1459—1464.
[4] Hans R, Kricheldorf H R, Boettcher C, *et al*. Polylactones: 23. Polymerization of racemic and meso D, L-lactide with various organotin catalysts stereochemical aspects[J]. Polymer, 1992, 33: 2817—2824.

（编辑 薛国文）

技术方法

文章编号：1000-5404(2001)04-0489-02

神经组织联合移植修复成鼠脊髓损伤模型的建立

Model establishment of spinal cord injury repairment with combined vascularized peripheral nerve autograft and fetal spinal cord allograft

郭庆山，王爱民，蒋祖言 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所骨科，重庆 400042）

提 要：目的 建立带血管周围神经与胚胎脊髓联合移植修复成鼠脊髓损伤模型。方法 成鼠胸髓左后柱损伤后，先用自体带血管正中神经转位移植，使神经与脊髓间形成一间隙，再植入胚胎脊髓，观察其生长、发育和分化情况。结果 术后 8 周，有 60%的动物存活。胚胎脊髓存活率为 100%，体积增长 378%。结论 该模型操作简便，动物存活率较高，能充分保证胚胎脊髓的存活、生长和发育，在脊髓损伤修复研究方面有较好应用前景。

作者简介：郭庆山(1971—)，男，山东省肥城市人，硕士，主治医师，主要从事显微外科、脊柱脊髓方面的研究。电话：(023)68757274

收稿日期：2000-03-20；修回日期：2000-07-17

近年来组织移植修复脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)得到较多关注，实验模型也不断改善。本研究建立了带血管周围神经(Vascularized peripheral nerve, VPN)与胚胎脊髓(Fetal spinal cord, FSC)联合移值修复

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