论著

文章编号:1000-5404(2011)15-1586-04

甘露糖修饰超顺磁纳米颗粒的制备及体外特性分析

贺 娟[1],贾延辉[2],邓 均[1],李 艳[1],方立超[1],郑峻松[1] (400038 重庆,第三军医大学医学检验系暨药学院临床检验学教研室[1];571146 海口,75569 部队95分队[2])

[摘要] **目的** 探讨以甘露糖(mannose)修饰超顺磁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticles,SPION)的制备方法并检测其理学性质,通过体外实验探讨该体系能否被网状内皮系统吞噬。**方法** 采用共沉淀法制备Fe_3O_4纳米颗粒,然后加入甘露糖溶液,在通氮条件下90 ℃剧烈搅拌2 h,得到甘露糖包被的SPION。透射电镜测量其大小和分布,傅里叶红外光谱判断甘露糖修饰效果,采用原子吸收分光光度计检测样品中铁含量,体外白细胞吞噬实验检测其能否被白细胞吞噬,细胞毒性实验检测样品的安全性。**结果** 所得样品为球形或类球形,分散性好,核心为Fe_3O_4晶体,核心粒径为(12.89±3.29)nm,包被甘露糖后的整体颗粒直径不超过20 nm;样品的铁含量为69.84 mg/L;红外吸收光谱测定结果表明甘露糖成功结合到Fe_3O_4的表面;体外白细胞吞噬实验表明白细胞对甘露糖修饰的SPION的吞噬率较高,细胞毒性实验表明其对细胞的IC_{50}为100.44 μg/ml。**结论** 制备的mannose-SPION具有粒径小、分散性好、超顺磁性等优点,容易被吞噬细胞吞噬,且细胞毒性较低。

[关键词] 共沉淀法;超顺磁性氧化铁;甘露糖
[中图法分类号] R944.9; R961; R977.6 [文献标志码] A

Preparation and *in vitro* features of mannose-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles

He Juan[1], Jia Yanhui[2], Deng Jun[1], Li Yan[1], Fang Lichao[1], Zheng Junsong[1] ([1]Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Medical Laboratory, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Units 95 of Troop 75569, Haikou, Hainan Province, 571146, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore how to prepare mannose-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) and investigate the physical properties *in vitro*. **Methods** Co-precipitation was applied to prepare iron oxide nanoparticles. Then mannose was added to the solution to prepare the mannose-SPION under high-speed mechanical stirring at 90 ℃ for 2 h. The size and distribution of the obtained nanoparticles were measured by transmission electron microscopy (TEM). Fourier transform infrared spectroscopy (FTIS) was used to evaluate the modification of mannose. Atomic absorption spectrophotometry (AAS) was employed to measure the iron content in the samples. Whether the granules were fully engulfed were measured by phagocytic white blood cells *in vitro* test. The safety of the nanoparticles were measured by cell toxicity test. **Results** The mannose-SPION was in globular or spherical shape, and in good dispersion. The cores were Fe_3O_4, with an average core diameter of (12.89±3.29) nm. The hole diameter of the mannose-SPION was lesser than 20 nm. The iron content of sample was 69.84 mg/L. The result of FTIS indicated that the surface of Fe_3O_4 had mannose. The phagocytosis test showed that mannose-SPION had higher rate of phagocytosis. The cytotoxicity test displayed that the IC_{50} of mannose-SPION for cell was 100.44 μg/ml. **Conclusion** The mannose-SPION possess the characteristics of small size, good dispersion super-paramagnetic response and lower cytotoxicity, and can be phagocytized by phagocyte.

[**Key words**] coprecipitation method; superparamagnetic iron oxide; mannose

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2009BB5335) and the Youth Innovation Foundation of Third Military Medical University (2009XQN18). Corresponding author: Zheng Junsong, Tel: 86-23-68752310, E-mail: zhengalpha@yahoo.com

超顺磁纳米颗粒是指具有磁响应性的纳米粒子,在液体中处于悬浮状态,在外加梯度磁场的作用下可被磁化而发生定向移动,当外加磁场去除后,其又可重新处于悬浮状态,剩磁为零,不会被永久磁化从而具有良好的分散性和可操作性。超顺磁纳米颗粒表面可被修饰,与不同的化学物质或是生物大分子结合,使其具有生物活性。Fe_3O_4是近年来应用广泛的一种超顺磁

[基金项目] 重庆市自然科学基金(CSTC2009BB5335);第三军医大学青年创新基金(2009XQN18)
[通信作者] 郑峻松,电话:(023)68752310,E-mail: zhengalpha@yahoo.com

纳米颗粒,但是由于磁性纳米粒子的疏水性和巨大的比表面积,粒子会发生聚集沉淀,导致粒度长大,生成块状大颗粒,使其在生物医学中的应用受到了限制。通过对磁性纳米粒子的表面修饰可以降低其表面能,提高粒子的抗氧化能力,得到分散性好的纳米复合粒子,同时适当的表面修饰可以调节磁性纳米粒子与其他材料的相容性和反应特性[1]。巨噬细胞(macrophage)是机体免疫系统的重要细胞,具有吞噬、杀伤、递呈抗原、分泌生物活性物质、调控机体免疫以及抑制肿瘤等多种功能,是机体非特异防御的关键因素。甘露糖受体(mannose receptor)是巨噬细胞发挥各种重要功能的膜受体之一,是巨噬细胞表面的重要靶标,可与以甘露糖、N-乙酰葡糖胺或岩藻糖为末端的配体结合,在免疫应答过程中都发挥着重要的作用[2]。甘露糖受体作为一种免疫黏附分子,可能通过对不同表达量肿瘤相关抗原的识别参与机体的肿瘤免疫、肿瘤转移以及肿瘤微环境中肿瘤的免疫逃避等过程[3]。本研究制备了甘露糖修饰 SPION,目的是增加其被巨噬细胞吞噬的作用,从而通过巨噬细胞向肿瘤组织浸润的过程达到对早期癌症显影,进而探讨其在肿瘤早期检测方面的应用。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

三氯化铁($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)、氯化亚铁($FeCl_2 \cdot 4H_2O$)、硫酸、蒽酮、甘露糖(D-mannose)、氢氧化钠、溴化钾、氯化铵、盐酸、二甲基亚砜、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾为国产分析纯,1 000 mg/L 的铁标准溶液(批号:090918,国家标准物质研究中心),三羟甲基氨基甲烷(Tris,批号:091230,北京赛百盛生物工程公司),人白细胞(西南医院输血科),无支原体胎牛血清(杭州四季青),改良型 RPMI1640 培养基[赛墨飞世尔生物化学制品(北京)有限公司],人淋巴细胞分离液(中国医学科学院生物工程研究所),葡聚糖-SPION、AEAPS-SPION 样品[N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyltrimethoxysilance, AEAPS,本实验室提供]、MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(碧云天生物技术研究所)。

Hitachi-600 透射电镜(日本日立公司),T6-1 型电动搅拌机(上海标本模型厂),HL-2 恒流泵(上海沪西分析仪器厂有限公司),Multiskan Sepectrun 全波长酶标仪(Thermo),T6 新锐可见光分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),Nicolet 380 傅里叶红外光谱仪(美国国际设备贸易有限公司),S72-120KN 压片机(日本岛津公司),超声波细胞破碎仪(宁波荣顺科技仪器厂),AAnaLyst800 原子吸收分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司)。

1.2 方法

1.2.1 甘露糖修饰的四氧化三铁超顺磁纳米颗粒(mannose-SPION)的制备 通过共沉淀法[4]制备甘露糖修饰的 SPION,具体步骤:在通氮气的条件下,将 1 mol/L $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 0.5 mol/L $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 溶液 50 ml 加入三颈烧瓶,60 ℃水浴恒温加热,用恒流泵以 1 ml/min 的速度滴加 5 mol/L NaOH 溶液,电动搅拌机剧烈搅拌同时监测溶液的 pH 值,反应 1 h 后得到黑色悬液,溶液的 pH 值为 12。在通氮气的条件下,升温至 90 ℃时,加入 500 μl 13.8 mol/L 甘露糖溶液,剧烈搅拌 2 h。将反应后的悬液倒入烧杯内,超声处理 20 min。6 000 r/min 离心 20 min 后,取上清,将上清液进行透析,除去溶液中的氯离子(Cl^-),并用硝酸银监测,至不再有氯化银沉淀产生为止。经 0.22 μm 的微孔滤膜除菌过滤,于 4 ℃保存备用。

1.2.2 透射电镜观察 SPION 的形态和粒径 将制备的 mannose-SPION 用蒸馏水稀释 20 倍后滴加在 200 孔铜网上,自然沉淀 5 min 后,用滤纸吸走边缘多余液体,自然干燥后,用透射电镜观察 SPION 的形态和直径。

1.2.3 mannose-SPION 中铁含量的测定 标准铁溶液的浓度分别为 1、2、4、8、16 mg/L,原子吸收分光光度计 284.3 nm 处测得的标准浓度梯度铁溶液的光密度,用于绘制标准曲线。然后检测 mannose-SPION 样品中铁原子的浓度。

1.2.4 mannose-SPION 中甘露糖含量的测定 用浓度分别为 20、40、60、80、100 mg/L 的甘露糖溶液绘制标准曲线。将配制的梯度浓度的甘露糖溶液和已制备的含 mannose-SPION 的溶液各取 1 ml,加入到试管中,再分别加入 3 ml 2 g/L 的蒽酮试剂[5],迅速浸入冰水中冷却,待溶液混合均匀后,浸入 100 ℃恒温水浴中,自温度重新升至 100 ℃起计时 10 min 后取出,用流动水冷却,然后于室温下平衡 10 min。空白对照为蒽酮试剂,采用分光光度计,测出 620 nm 处光密度值[$D(620)$]。

1.2.5 红外光谱分析 将 Fe_3O_4 溶液和 mannose-SPION 溶液烘干后充分研磨。称取待测物 1.0 mg 和溴化钾 200.0 mg 充分混合研磨,将研磨后的混合物压制成薄片,进行 NicoLet 380 傅里叶红外光谱仪检测[6]。

1.2.6 细胞吞噬实验 采用人淋巴细胞分离液提取的白细胞,加入细胞培养液将细胞个数调至 1.0×10^7/ml[7]。实验分为 3 组:第 1 组为空白对照组;第 2 组为 mannose-SPION 样品组;第 3 组为 AEAPS-SPION 样品组。第 1 组:1 ml 白细胞(1.0×10^7/ml);第 2 组:1 ml 白细胞(1.0×10^7/ml)中加入 200 μl 过滤除菌的 mannose-SPION 样品(Fe 浓度 69.84 mg/L);第 3 组:1 ml 白细胞(1.0×10^7/ml)中加入 200 μl 过滤除菌的 AEAPS-SPION 样品[7](Fe 浓度 192.96 mg/L)。37 ℃孵育 1、2、4、8 h。取出后加入 PBS 洗涤,3 000 r/min 离心 3 min,弃去上清液,如此反复洗涤 3 次。细胞沉淀用去离子水重悬,进行超声破碎(频率 20 kHz 室温条件下处理 30 s,间歇 30 s 后再重复处理 30 s,如此反复 5 次),使白细胞完全破裂。采用原子吸收分光光度计检测各实验组样品中铁含量。白细胞对 Fe 的吞噬率 =(实验组细胞内 Fe 含量 − 空白对照 Fe 含量)/样品 Fe 含量 ×100%。

1.2.7 细胞毒性实验 向 96 孔培养板中加入 L929 细胞,10 000/孔,置于 CO_2 孵箱内 37 ℃孵育 24 h。将样品 mannose-SPION(含铁量为 139.68 μg/ml)除菌过滤,梯度稀释为 69.84、34.92、17.46、8.73、4.365 mg/L。96 孔板后第 1 列为空白对照,再将 6 个不同 Fe 浓度的样品 mannose-SPION 溶液依次加入孔内,10 μl/孔,做 3 个平行孔,37 ℃孵育 24 h。每孔再加入 MTT 溶液 10 μl,继续孵育 4 h。取出后每孔加入 Formazan 溶解液 10 μl,继续孵育,直至在普通显微镜下观察发现 Formazan 全部溶解。在 MuLtiskan Sepectrun 全波长酶标仪(Thermo)570 nm

处测定光密度值[$D(570)$][8]。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行重复测量实验方差分析及回归分析，检验水准为 $\alpha = 0.05$。

2 结果

2.1 透射电镜观察

在 135 000 倍透射电镜下观察，可见 mannose-SPION 核心为高密度的圆形颗粒，表面为分散均匀的甘露糖覆盖层（图1）。以透射电镜标尺 100 nm，测量图中 217 个圆形颗粒的直径，13.4% 的颗粒直径集中在 5～10 nm；57.6% 的颗粒直径集中在 10～15 nm；20.7% 的颗粒直径集中在 15～20 nm；1.8% 的颗粒直径集中在 20～25 nm；0.5% 的颗粒直径集中在 25～30 nm。经正态性检验，颗粒直径符合正态分布，其 95% 置信区间为（8.4，16.9），从而说明颗粒直径 95% 集中在 8.4～16.9 nm。通过数据处理得出 mannose-SPION 的核心粒径为（12.89 ± 3.29）nm。

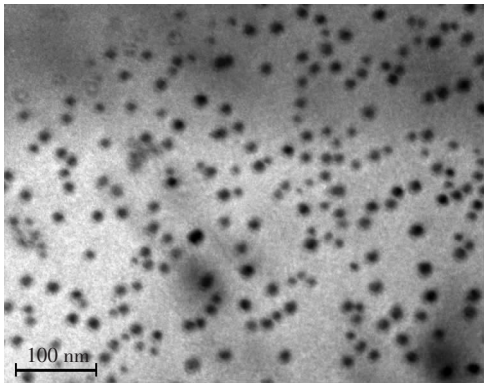


图1 mannose-SPION 颗粒透射电镜观察

2.2 mannose-SPION 中铁离子的含量

标准铁溶液的浓度分别为 1、2、4、8、16 mg/L，原子吸收分光光度计 284.3 nm 处测得的标准浓度梯度铁溶液的光密度值分别为 0.043、0.084、0.170、0.330、0.580。以 Fe 标准溶液浓度 C 为横坐标，光密度值为纵坐标，进行线性回归，得到标准曲线回归方程：$y = 0.036\ 4x + 0.013\ 3$，$r = 0.997\ 4$。将 mannose-SPION 溶液稀释 20 倍后，测得样品中铁的含量为（3.494 ± 0.001）mg/L，则 mannose-SPION 样品中铁的含量为（69.842 ± 0.001）mg/L。

2.3 mannose-SPION 中甘露糖的含量

甘露糖溶液的浓度分别为 20、40、60、80、100 mg/L，分光光度计在 620 nm 处测得的甘露糖溶液的光密度值分别为 0.243、0.301、0.393、0.494、0.558。以甘露糖溶液的浓度 C 为横坐标，光密度 $D(620)$ 为纵坐标，进行线性回归，得到标准曲线回归方程：$A = 241.43C - 36.038$，$r = 0.996$。计算得 mannose-SPION 中甘露糖的浓度为（75.743 ± 0.071）mg/L。

2.4 红外吸收光谱

Nicolet 380 傅里叶红外光谱仪对样品 Fe_3O_4、mannose-SPION 进行检测。由图 2 可知，所制备的 Fe_3O_4 磁性纳米粒子在 $\sigma = 565\ cm^{-1}$ 处有较强的吸收峰，这是 Fe-O 的伸缩振动峰。通过对 Fe_3O_4 红外吸收光谱图和 mannose-SPION 红外吸收光谱图的分析比对，由图 3 可知，mannose-SPION 在（1 200～1 000）cm^{-1} 的指纹区出现新的吸收峰。在红外吸收光谱中，C-O（醚、酯、羧酸）的特征吸收峰在（1 300～1 000）cm^{-1}，由此可以初步推断出样品 mannose-SPION 中含有 C-O 基团，该基团来自于甘露糖。由此证明所制备的磁性纳米粒子的表面已成功包被甘露糖。

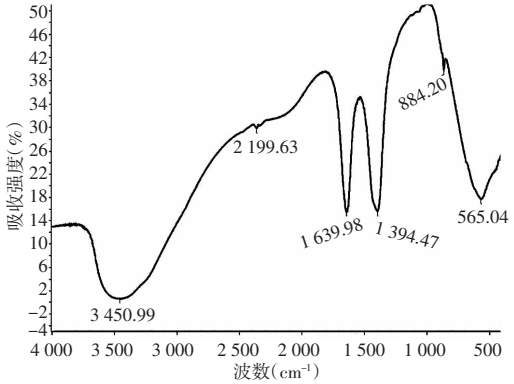


图2 红外吸收光谱对 Fe_3O_4 基团分析

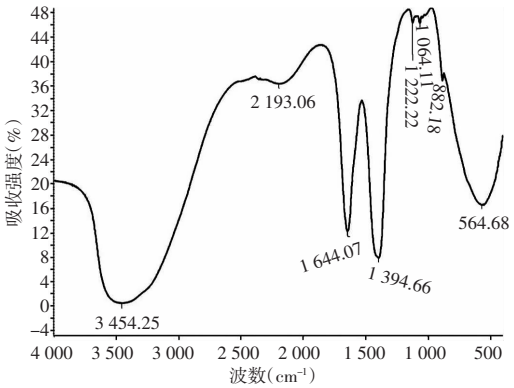


图3 红外吸收光谱对 mannose-SPION 基团分析

2.5 细胞吞噬率

通过原子吸收分光光度计，第 1 组白细胞内铁含量检测结果（0.112 ± 0.064）mg/L。第 2 组孵育 1、2、4、8 h 后，白细胞内铁含量检测结果分别为 1.707 ± 0.143、2.393 ± 0.084、2.613 ± 0.162、2.461 ± 0.097 mg/L，白细胞对 Fe 的吞噬率各时间点为 11.42%、16.33%、17.91%、16.82%。第 3 组 1、2、4、8 h 各时间点，白细胞对 AEAPS-SPION 吞噬实验，白细胞内铁含量检测结果分别为 2.292 ± 0.224、2.737 ± 0.113、2.430 ± 0.231、3.453 ± 0.243 mg/L，得到各时间点的吞噬率为 5.65%、6.80%、6.01%、8.66%。经重复测量实验方差分析可得 mannose-SPION 与 AEAPS-SPION 在 1、2、4、8 h 各时间点的吞噬率有统计学差异（$P < 0.05$），随着时间增加，白细胞对样品的吞噬率趋于增大，且第 2，3 组之间有统计学差异（$P < 0.05$），白细胞对 mannose-SPION 的吞噬率明显比 AEAPS-SPION 的吞噬率大。

2.6 mannose-SPION 的细胞毒性

MuLtiskan Sepectrun 全波长酶标仪（Thermo）570 nm 测定各孔光密度值，加入 mannose-SPION 浓度为 139.68 mg/L，光密度值为 0.217 ± 0.004；加入浓度为 69.84 mg/L，光密度值为 0.269 ± 0.010；加入浓度为 34.92 mg/L，光密度值为 0.436 ± 0.021；加入浓度为 17.46 mg/L，光密度值为 0.456 ± 0.015；加入浓度为 8.73 mg/L，光密度值为 0.471 ± 0.011；加入 4.365 mg/L，光密度值为 0.500 ± 0.007；空白值为 0.504 ±

0.061。通过对数据处理得到公式：$y = 1\ 443.1x^2 - 1\ 441.8x + 372.27$，计算得到 IC_{50} 为 100.44 mg/L。

3 讨论

采用化学共沉淀法制备纳米颗粒 Fe_3O_4，反应原理：$Fe^{2+} + 2Fe^{3+} + 8OH^- = Fe_3O_4 + 4H_2O$，本实验制备的 Fe_3O_4 颗粒直径为(12.89 ± 3.29)nm。制备过程中，直接用化学共沉淀法制备的磁性纳米粒子其疏水性和巨大的比表面积，导致粒子容易发生聚集沉淀。因此，本实验加入 mannose 作为包裹剂，制备具有核-壳结构的 Fe_3O_4 磁性纳米粒子。甘露糖可与甘露糖受体结合，甘露糖受体是巨噬细胞发挥各种重要功能的膜受体之一，是巨噬细胞表面的重要靶标，在免疫应答过程中都发挥着重要的作用。动物体内的网状内皮系统具有十分丰富的巨噬细胞，这些吞噬细胞是细胞免疫系统的组成部分，当超顺磁性氧化铁纳米粒子通过静脉注射进入体内，吞噬细胞就会把超顺磁性氧化铁纳米粒子作为异物而摄取，从而使超顺磁性氧化铁集中在网状内皮细胞的组织和器官中[9]，从而通过巨噬细胞向肿瘤组织浸润达到对早期癌症显影的目的。

磁性液体是由具有超顺磁性的强磁性微颗粒包一层长链有机分子的界面活性剂，弥散于一定的基液中形成的胶体，具有固体的强磁性和液体的流动性。磁性纳米材料由于其疏水性和巨大的比表面积以及粒子间磁性的相互作用，容易聚集，因此制备的磁性颗粒应该大小和形状可控，且粒度均匀、分散性好，为了得到分散性较好的纳米粒子，还需进行表面修饰。SPION 提供了一个可修饰的表面，使其可与各种生物分子连接，如肿瘤标志物抗体[10]、用于基因治疗的 DNA[11] 和抗肿瘤药物，使其具有靶向性。纳米微粒进入临界尺寸呈现出超顺磁性，但在粒径大于临界尺寸时，却表现出高的矫顽力。因此制备的纳米颗粒应该小于临界尺寸，具有超顺磁性，较低的矫顽力、饱和磁化强度、比饱磁化强度、比剩余磁化强度和剩磁参数。

通过对红外光谱图的比对可以推断 Fe_3O_4 与甘露糖成功连接，通过原子吸收分光光度计和蒽酮硫酸法可以准确的测定样品中 Fe 和甘露糖的含量。通过细胞吞噬实验发现白细胞对 mannose-SPION 的吞噬率较高。内皮网状系统可以吞噬进入体内的异物，若颗粒直径较小，可减少颗粒被吞噬的概率，使其更多的到达指定的机体部位。在非病毒转运体系的表面修饰亲水性的物质，如 PEG[12]、PHPMA[13]、Pluronic[11]，以及将转运体系表面的电性中和可大大减少转运体系与血浆蛋白的相互作用，减少巨噬细胞的吞噬，延长循环时间。

毒理学中固定浓度实验法判断样品毒性的标准[14]为 0.05 mg/L(剧毒)、0.50 mg/L(高毒)、1.00 mg/L(中等毒)、5.00 mg/L(低毒)，一般体外实验认为样品的 IC_{50} 大于 20.00 mg/L 时，样品为微毒性或是无毒性。本实验制备的样品 IC_{50} 为 100.44 mg/L，远大于 20.00 mg/L 的微毒性，因此该样品是一种无毒性的样品，安全性较好，利用本样品制备生物样品时可使较多的生物样品进入机体，达到理想的效果。

参考文献：

[1] Tartaj P, Serna C J. Synthesis of monodisperse superparamagnetic Fe/silica nanospherical composites[J]. J Am Chem Soc, 2003, 125(51): 15754-15755.

[2] Diebold S S, Plank C, Cotton M, *et al*. Mannose receptor-mediated gene delivery into antigen presenting dendritic cells [J]. Somat Cell Mol Genet, 2002, 27(1/6): 65-74.

[3] Napper C E, Taylor M E. The mannose receptor fails to enhance processing and presentation of a glycoprotein antigen in transfected fibroblasts [J]. Glycobiology, 2004, 14(10): 7C-12C.

[4] Gaikwad S P, Dhage S R, Potdar H S, *et al*. Co-Precipitation method for the preparation of nanocrystalline ferroelectric SrBi2Nb2O9 ceramics [J]. J Electroceram, 2005, 14(1): 83-87.

[5] Leyva A, Quintana A, Sanchez M, *et al*. Rapid and sensitive anthrone-sulfuric acid assay in microplate format to quantify carbohydrate in biopharmaceutical products: method development and validation [J]. Biologicals, 2008, 36(2): 134-141.

[6] Iwaki M, Cotton N P, Quirk P G, *et al*. Molecular recognition between protein and nicotinamide dinucleotide in intact, proton-translocating transhydrogenase studied by ATR-FTIR Spectroscopy [J]. J Am Chem Soc, 2006, 128(8): 2621-2629.

[7] 邓均，贺娟，郑峻松，等. AEAPS 与葡聚糖共修饰超顺磁纳米颗粒的制备及性质[J]. 第三军医大学学报，2009，31(19)：1866-1868.

[8] 刘光伟，马海霞，吴优，等. 应用双光子显微镜和流式细胞仪定性及定量确定小鼠巨噬细胞的吞噬功能[J]. 细胞生物学杂志，2007，29(2)：291-295.

[9] 贺娟，邓均，郑峻松，等. 氨基硅烷化超顺磁纳米颗粒的制备及其在小鼠体内的分布[J]. 中国医学影像学杂志，2010，18(2)：101-105.

[10] Liu C H, You Z, Liu C M, *et al*. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging reversal by gene knockdown of matrix metalloproteinase-9 activities in live animal brains[J]. J Neurosci, 2009, 29(11): 3508-3517.

[11] Jain T K, Richey J, Strand M, *et al*. Magnetic nanoparticles with dual functional properties: drug delivery and magnetic resonance imaging [J]. Biomaterials, 2008, 29(29): 4012-4021.

[12] Vinogradov S V, Bronich T K, Kabanov A V. Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interactions with cells[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54(1): 135-147.

[13] Toncheva V, Wolfert M A, Dash P R, *et al*. Novel vectors for gene delivery formed by self-assembly of DNA with poly(L-lysine) grafted with hydrophilic polymers[J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1380(3): 354-368.

[14] 谢斌，丁玉峰. 毒理学的研究进展[J]. 医药导报，2007，26(10)：1186-1187.

(**收稿**:2011-01-19;**修回**:2011-02-18)

(编辑 龙 亮)