

纳微米磁性复合粒子在放射治疗中的应用研究进展

姜 炜¹ 李凤生¹ 杨 毅¹ 刘宏英¹ 楚建军²

(1. 南京理工大学国家特种超细粉体工程技术研究中心, 江苏 南京 210094;

2. 无锡肿瘤防治研究所, 江苏 无锡 214062)

摘要: 磁靶向放射治疗技术将纳微米技术和临床放疗技术有机地结合起来, 可以满足适形调强的放射治疗要求。介绍了磁靶向放射性纳微米复合粒子的最新研究成果, 概括了附载放射性核素的纳微米磁性复合粒子的制备方法, 如溶剂蒸发法、热熔法、包覆法、双壁包裹法等, 从表面修饰效果、电泳性能等方面分析了磁性载体的生物物理化学性质, 并总结了磁靶向放射性纳微米复合粒子在体外和生物体内的初步研究成果, 最后对该项技术的发展前景提出了展望。

关键词: 纳微米复合粒子; 磁性; 放射治疗; 适形调强

中图分类号: TB33; TM271; TQ03-39

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2004)06-0018-04

Application of nano- and micro-magnetic composite particles in radiotherapy

JIANG Wei¹, LI Feng-sheng¹, YANG Yi¹, LIU Hong-ying¹, CHU Jian-jun²

(1. National Special Superfine Powder Engineering Research Center, Nanjing University of Science & Technology,

Nanjing 210094, China; 2. Institute of Wuxi Tumor Prevention and Cure, Wuxi 214062, China)

Abstract: Since the nano/micro-technique and clinical radiotherapy were combined together, magnetically controlled targeted radiotherapy could meet the need of intensity modulation radiation therapy. A review of the new research on magnetically controlled targeted nano- and micro-composite particles was presented. The preparation of nano- and micro-magnetic composite particles, which could load radionuclides, was generalized, such as solvent evaporation, hot melt, coating technique and double-walled technique. The bio-physical and bio-chemical properties of the magnetic carriers, for example, surface modification, electrophoresis and bioadhesive forces, were emphatically introduced. Further, the primary research fruits of magnetically controlled targeted radioactivity nano- and micro-composite particles applied in vitro and in vivo studies were also discussed. Finally, the future prospect of its application was also presented.

Key words: nano- and micro-composite particle; magnetism; radiotherapy; intensity modulation

放射疗法是常用的临床肿瘤治疗方法之一, 与其他治疗方法如化疗、手术切除等相比, 具有诸多优点, 但是目前放射治疗亟待解决的一大难题在于未能定向定位地将放射性核素富集到病灶区, 并在照射时使局部的照射剂量强度提高, 同时又缺乏有效的调控手段, 致使放射性核素分布不均匀、辐射随机化, 造成病灶区内肿瘤细胞杀伤不均匀并辐射到正常组织细胞^[1]。目前, 磁控靶向放射治疗技术成为放疗研究的新途径, 同时这种技术也正符合适形调强的临床放射治疗要求^[2-6]。纳微米磁性复合粒子是实现磁控靶向的理想载体之一, 但是, 到目前为止, 这种新设想尚处于前期探索阶段, 距离真正的临床治疗还有相当长的距离, 还需要开展深入而广泛

的基础及应用研究。笔者着重介绍作为放射性核素载体的纳微米磁性复合粒子的制备方法、生物物理化学性质以及其在体外和生物体内的初步研究成果。

1 附载放射性核素的纳微米磁性复合粒子的制备方法

目前, 磁性微球成为磁靶向系统中研究最多的载体之一。虽然与附载生物活性分子诸如蛋白质、多肽、激素、外源凝集素及抗体等的机理有所不同, 但磁性微球载体的制备方法还是遵循了一些传统技术, 如溶剂蒸发法、热熔法、包覆法、双壁包裹法等^[4,7-9]。

收稿日期: 2004-02-13; 修回日期: 2004-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(50306008)和江苏省自然科学基金(BK2003421)资助项目

作者简介: 姜炜(1974-), 男, 博士生; 李凤生(1946-), 男, 学士, 教授, 博士生导师, 主要从事超细粉体技术及纳微米技术基础和应用研究, 通讯联系人, 025-84315942, lfs@nssperc.com。

1.1 溶剂蒸发法

溶剂蒸发法是制备磁性微球最常用的方法之一^[10]。Hertzog等^[11]描述了利用溶剂蒸发法制备磁性微球的过程,用二氯甲烷作为挥发性溶剂,非溶剂是体积分数为0.29%的聚乙烯醇水溶液,将聚苯乙烯溶解到二氯甲烷中,配制成不同浓度的聚苯乙烯溶液,然后在聚乙烯醇水溶液中乳化,搅拌3~5h,直到微球形成并硬化,过滤,洗涤,冷冻,以除去其中少量的溶剂。通过扫描电子显微镜可以看出,磁性聚苯乙烯微球具有光滑的表面,四氧化三铁分散在微球中,与非磁性聚苯乙烯相比,磁性聚苯乙烯表现出了相同的表面物理化学性质,这对于微球表面修饰和改性是十分有利的。

1.2 热熔法

用于药物(在这里指四氧化三铁)包裹的另一种微球制备方法是热熔法^[12]。在这种方法中,将聚合物在稍高于其熔点的温度下熔化(由于聚合物一般没有熔点,所以温度设置在其可以自由流动即可),药物加入到流动的聚合物中进行混合,然后将熔化的聚合物/药物的混合体倾倒入搅拌的热溶剂当中。在热熔技术中使用的典型溶剂是硅油和玉米油,溶剂的搅拌行为很快造成了乳液的形成,微球的尺寸可通过搅拌来控制,一旦乳液稳定,微球就已形成。热熔法可以得到光滑致密的微球,这些微球十分适合于生物黏合力的测定。Chickering等^[13]采用热熔法将具有极高生物黏合力的富马酸和脂肪酸的聚酞共聚物制成磁性微球,应用到磁靶向药载系统中具有十分广阔的前景。

1.3 包覆法

理论上聚合物包覆固体微球是制备磁性微球的理想技术,然而制备完全且均匀的包覆金属氧化物的微球是十分困难的。为了寻找一种包覆四氧化三铁微球的方法,可以将包覆玻璃微球的方法借鉴过来,因为玻璃微球在粒径和形貌上与四氧化三铁十分相似。Grüttner等^[14-16]采用包覆法制备了不同聚合物基质的磁性微球,为了确保能够复合上放射性核素,这些磁性微球必须经过特殊的表面修饰(亲水/亲油性、表面功能化等),以便能够通过共价键、离子键、静电相互吸引及螯合作用等与放射性核素复合。

1.4 双壁包裹法

作为一种改进的包覆技术,双壁包裹法是制备以磁性材料为核的磁性微球最有效的方法之一^[11]。双壁微球是由2个同心层的不同聚合物,四氧化三

铁会特定地附载在这2种聚合物中的一种之内。磁性材料能够被包覆在双壁微球的内核,而使外面一层是纯聚合物,这对生物黏合力是一种理想的状态,因为这样可以在排除四氧化三铁对生物黏合力影响的前提下评估微球外层聚合物性质。

Hertzog等^[11]由聚苯乙烯和聚乳酸制备了磁性聚苯乙烯-聚乳酸微球。用四氧化三铁附载在其中任何一种聚合物中可以制成微球,虽然也可以使磁性材料在微球的外表,但通过选择条件使其总是位于内核。聚苯乙烯-聚乳酸微球中四氧化三铁的质量分数可达40%(聚苯乙烯核上附载四氧化三铁),在聚乳酸核上附载了20%和25%的四氧化三铁。

2 磁性载体的生物物理化学性质

2.1 磁性载体的表面修饰效果

在使用磁性载体的过程中,聚合物基载体均匀的粒径、化学复合方式、表面修饰以及表面电荷决定了其在血液中的循环时间、生物分布,也决定着载体的靶向行为,因而在医学和其他生命科学中作为诊断和治疗工具发挥着越来越重要的作用^[9,17-20],因此,在这个领域开展的研究工作具有十分广阔的研究价值和应用前景。

磁性载体的应用需要在制备过程中针对具体的活性基团采用各种不同的表面修饰,由聚多糖或蛋白质制得的磁性微球已经包含了功能基团如一OH、—NH₂、—SH和/或—COOH等,由于引入了功能基团,磁性微球能够被直接激活和使用。Ugelstad等^[21]综述了激活合成磁性聚合物微球的重要方法,他们主要依靠活性酯的合成、激活羧酸、功能基团的单体共聚及特殊的包覆技术等方法。

2.2 电泳和磁泳分析磁性载体性质

电泳和磁泳对于经化学和生物分子修饰的载体使用效果起到了关键作用。粒径、粒径分布以及聚集程度是磁性载体的重要物理性质,为了获得单个粒子的磁学特性和它们的统计分布,可以运用半自动和全自动微观磁泳分析^[22]方法。流体中磁性粒子的磁响应性可以通过非常简单的定量流动仪测定,在这种仪器中,粒子的团聚通过光学或放射标记的方法来探测^[23]。

粒子表面性质的精确测定对于预测其在体内的效果起到了至关重要的作用^[24-25]。目前已经获得了用聚乙二醇(PEG)包覆由羧酸修饰的磁性葡聚糖的详细结果^[15]。将磁性葡聚糖进行表面修饰,使其表面带有羧酸根,然后与不同化学计量比的PEG进

行酯化, $n(\text{羧基}):n(\text{PEG}) = (12 \sim 24):1$ 。结果表明当磁性葡聚糖经 PEG 酯化处理后, 在整个 pH 值范围内(pH = 2 ~ 11)表现出了与未酯化的磁性葡聚糖微球不同的电泳特性, 用 PEG 包覆后可以有效地减轻羧酸根对磁性葡聚糖微球电泳的影响。

2.3 磁性载体的生物黏合性质

控释药物的运载系统是利用材料与组织间的黏合作用实现的, 这种黏合作用通常叫作生物黏合力, 是许多药载系统实现的一个重要参数。生物黏合作用被用于增加运输时间和特定病灶组织的靶向载送, 有时用来增强聚合物药载系统和靶组织之间的紧密接触和联系^[13, 26-28]。Hertzog 等^[11]开发出了一种新型的电磁力转换器(EMFT), 它是一套全自动的计算机控制系统, 可以远距离精确地测定聚合物微球和活体组织之间的生物黏合力。EMFT 是通过一块标准电磁铁将磁性聚合物微球从一个组织样品中分离出来, 对于磁性载体理想的生物黏合性质而言, 是尽量排除四氧化三铁对载体外层聚合物黏合性的影响。

要使磁性载体充分发挥其效能, 必须兼顾生物黏合性和铁磁性两方面因素的影响, 一方面, 通过增加载体中四氧化三铁的含量来增强载体的磁敏感性; 另一方面, 如果磁性载体中四氧化三铁含量增加, 必定会使微球表面附载上四氧化三铁, 这样会减弱载体的生物黏合力。通过调节 EMFT 可以在电磁铁电流和组织/聚合物界面间的黏合力之间得到一个很好的限定比例关系, EMFT 的主要目标是甄别出各种聚合物作为生物黏合的药载系统的潜能, 同时它也被用来测定制备因素对生物黏合力的影响。生物黏合性被认为完全是磁性载体表面性质的一种功能(物理和化学性质)。通过研究发现, 将磁性材料(四氧化三铁)的影响降至最低的最好方法是将其浓集到微球的内核中, 使其远离表面^[11]。

3 磁性载体的体外和体内初步实验

3.1 磁性载体的体外留存实验

放射治疗成功与否受病灶区放射性核素的量与此同位素最敏感的正常组织上沉积的核素量之间的关系影响, 同时又最大限度地避免对周围正常组织和细胞的照射损伤, 在此要求下提出了适形调强放射治疗新思路。应用磁性载体的主要目的是借助体外非均匀磁场可以跟踪和引导磁性载体, 理想的磁靶向放射治疗技术可以解决上述临床难题。但是磁性载体的粒径、粒径分布、表面电荷密度、电动电

势、生物相容性、生物可降解性和磁性是影响其治疗效能的重要因素。如何使这些影响因素满足临床治疗的要求是目前磁靶向放射治疗重点研究的内容之一。

Häfeli 等^[29-30]在此领域进行了大量的基础研究。首先为了能够与放射性核素(如 Tc、Y、I 和 Re 等)达到有效复合, 他们对磁性聚多糖的表面羟基进行了酯化(与柠檬酸、乙二胺四乙酸、二亚乙基三胺五乙酸、三亚乙基四胺六乙酸及其他聚羧酸等)反应, 复合后进行了体外留存实验。结果发现, 经二亚乙基三胺五乙酸修饰的磁性^{99m}Tc-葡聚糖纳米粒子聚集体在体外循环模型系统中经过几分钟后就富集到永磁铁处。在此基础上, 他们又对不同放射性复合物进行了标记率和体外稳定性研究, 结果表明, 放射性复合物的标记率从高到低分别是带正电的^{99m}Tc-sestamibi、中性的^{99m}Tc-exametazime、含 Sn^{2+} 的¹⁸⁸ReO₄⁻ 及¹⁸⁸ReO₄⁻。他们同时测定了 37℃ 条件下放射性复合物在 pH = 7.4 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中的稳定性, 标记稳定性是在室温下经过 4 个半衰期(68 h)后放置在 PBS 中(pH = 7.4)测定的。然后, 又通过在模拟活体环境的人造白蛋白中测定稳定性, ¹⁸⁸Re-磁靶向载体在人造白蛋白中的稳定性和在 PBS 中的相似, 从标记率和稳定性可知, 标记的¹⁸⁸Re-磁靶向载体能够直接用于注射, 满足注射用放疗药物的要求。

3.2 磁性载体的活体研究

在大量体外实验的基础上, Häfeli 等^[29-30]对磁性载体进行了初步的活体实验, 并用 γ 闪烁相机研究^{99m}Tc-二亚乙基三胺五乙酸-葡聚糖或^{99m}Tc-二亚乙基三胺五乙酸-淀粉粒子在小鼠中的生物分散性。在第一个实验中, 磁性粒子通过静脉注射到尾部静脉处距 NdFeB 磁铁 3 cm 处, 通过 γ 闪烁照相机分析^{99m}Tc 的活度分布。约 30% 的活度在永磁铁处被探测出, 剩余的活度在肝脏中, 这可以解释为粒子表面的羧酸根使载体具有高表面电势, 导致了在血液循环中的循环时间缩短, 结果被 RES 捕获并集聚到肝脏前^[18]。第二个实验, 同样的永磁体放在小鼠的右颈静脉处, 再次将磁性粒子通过尾部注射进去, 3 min 后, 约 85% 的活度再次在肝脏中发现, 但是左颈和右颈相比, 右颈富集的活度是左颈的 3 倍。

如何提高磁性载体在血液循环中的循环时间, Muller 等^[18]研究了在非磁性纳米粒子上用嵌段共聚物包覆后对粒子表面性质和生物分散性的影响。如上文所述, 用 PEG 进行包覆后有效地降低(减少)了

羧酸根的影响。目前,PEG 包覆粒子与未包覆的纳米粒子在小鼠体内的对比目前正处于研究阶段。

磁放疗药物的靶向性有望在活体内使肿瘤完全消除,但是,还有许多方面需要改进,同时需要开发更强、体积更小的磁铁和磁装置。McNeil 等^[31]开发了一套可移动大磁粒子的完整系统,能够高度精确地将脑部磁粒子移至任何一个位置。磁性纳米微球(110~140 nm)是理想的范围。此外,使用磁铁可以使其在体液中的流速下降,目前已有文献报道使用 γ 照相机在体外模拟人体循环系统中捕获到了放射性微球^[15]。

当前和未来的发展将会使磁性载体更加广泛地与治疗手段结合在一起,首要的任务是运载粒子到靶区,接着在限定时间内(立即或经过一段时间)释放药物实施化疗、放疗或者热疗。在过去20年中,将热疗和放疗结合并运用到体外显示出了很好的治疗效果,但是,将其转到临床应用却尚需时日^[32]。

4 结语

虽然附载放射性核素的磁性载体具有诸多优点,可以满足适形调强放射治疗的基本要求。但还不能真正满足放射治疗的实际要求:

(1)磁性载体与放射性核素的复合技术还处在前期研究阶段,对复合机理还不十分清楚,因而也就不能从本质上分析复合的效果,结果导致不能达到预期理想的标记率,这会造成对放射性核素的严重浪费。

(2)磁靶向放射性核素的载体在生物体内的生物相容性及生物降解性和用于化疗药物的载体会有所不同,目前对这些性质的研究大都借鉴化疗药物载体的有关研究结果,如何使传统的磁靶向药载系统和放疗技术有机地结合在一起,还需要进行许多深入的基础研究工作。

(3)磁靶向放疗技术对于浅层肿瘤组织的腔内近距离辐射而言可以满足要求,但是体内深层肿瘤组织的辐射却需要更高的要求,如何在体外磁场的引导下使磁性载体靶向到肿瘤组织附近实施辐射治疗,这需要充分发挥载体的磁学特性,因而需制备出磁敏感性更强的磁性载体,同时还要设计出磁场更强的体外磁控装置(电磁铁和永磁铁)。相信在不久的将来,这类磁性载体定能够最大限度地杀死肿瘤细胞,同时最低程度地辐射周围的正常细胞和组织,减轻病人的痛苦,造福于民。

参考文献

- [1] Berry C C, Rudershausen S, Tekker J, *et al.* [J]. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 2002, 1(3): 105 - 109.
- [2] Schütt W, Grüttner C, Teller J, *et al.* [J]. *Artificial Organs*, 1999, 23(1): 98 - 103.
- [3] Goodwin S, Peterson C, Hoh C, *et al.* [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, 194(1-3): 132 - 139.
- [4] Widder K J, Senyei A E, Scarpelli D G. [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1978, 158(2): 141 - 146.
- [5] Jain R K. [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(12): 3039 - 3051.
- [6] Sgouros G. [J]. *J Nucl Med*, 1992, 33(5): 2167 - 2179.
- [7] Widder K J, Morris R M, Poore G, *et al.* [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1981, 78(1): 579 - 581.
- [8] Gupta P K, Hung C T. [J]. *Int J Pharm*, 1989, 56(13): 217 - 226.
- [9] Arshady R. [J]. *Biomaterials*, 1993, 14(1): 5 - 15.
- [10] Mathiowitz E, Kline D, Langer R S, *et al.* [J]. *Scanning Microsc*, 1990, 4(2): 329 - 340.
- [11] Hertzog B, Mottl T, Yim D, *et al.* *Microspheres for use in a novel electromagnetic bioadhesion testing system* [A]. In: Häfeli U. *Scientific and Clinical Application of Magnetic Carriers* [C]. New York: Plenum Press, 1997. 77 - 92.
- [12] Mathiowitz E, Langer R. [J]. *J Controlled Release*, 1987, 5(1): 13 - 22.
- [13] Chickering D E, Mathiowitz E. [J]. *J Controlled Release*, 1995, 34(3): 251 - 261.
- [14] Grüttner C, Rudershausen S, Teller J. [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2001, 225(1-2): 1 - 7.
- [15] Grüttner C, Teller J, Schütt W, *et al.* *Preparation and characterization of magnetic nanospheres for in vivo application* [A]. In: Häfeli U. *Scientific and Clinical Application of Magnetic Carriers* [C]. New York: Plenum Press, 1997. 53 - 67.
- [16] Grüttner C, Teller J. [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, 194(1-3): 8 - 15.
- [17] Jordan A, Wust P, Scholz R, *et al.* [J]. *Int J Hyperthermia*, 1996, 12(4): 705 - 722.
- [18] Müller R H, Mehnert W, Lucks J S, *et al.* [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 1995, 41(1): 62 - 69.
- [19] Kondo A, Fukuda H. [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1999, 153(3): 435 - 438.
- [20] Weidenfeller B, Hofer M, Schilling F. [J]. *Composites Part A*, 2002, 33(7): 1041 - 1053.
- [21] Ugelstad J, Rembaum A, Kemshead J T, *et al.* *Preparation and biomedical application of monodisperse polymer particles* [A]. In: Davis S S, Illum I, McVie J G, *et al.* *Microspheres and Drug Therapy: Pharmaceutical, Immunological and Medical Aspects* [C]. New York/Oxford: Elsevier Science Publishers, 1984. 365 - 382.
- [22] Reddy S, Moore L R, Sun L, *et al.* [J]. *Chem Eng Sci*, 1996, 51(6): 947 - 956.
- [23] Hartig R, Hausmann M, Schmitt J, *et al.* [J]. *Electrophoresis*, 1992, 13(10): 674 - 676.

有关溶质在双水相系统中分配模型的前期研究中,比较成功的主要有2类模型,Edmond等提出的渗透维里模型,以及Flory和Huggins根据热力学基本原理提出的Flory-Huggins晶格模型。前者在预测聚合物的成相行为和蛋白质的分配上有较高的准确度,后者在粒子的能量概念上可以很好地拟合实验数据。自20世纪80年代中期以来,各国学者开展了进一步的研究工作,各类用于计算生物物质在双水相系统分配系数的模型也时有报道,诸如Baskir晶体吸附模型、Hayne模型、Pitzer模型、Grossman自由体积模型等,但结果均难以令人满意^[29]。1989年,Diamond和Hsu以Flory-Huggins理论为基础,推导出生物分子在有关双水相体系中的分配模型。Diamond-Hsu模型既可计算聚合物/聚合物双水相系统中低分子质量肽的分配系统,又能计算高分子质量蛋白质的分配系数,有一定的普适性。此后,针对该模型在计算蛋白质在聚合物/盐双水相系统中的分配系数时精确度不高的缺点,Diamond等和梅乐和等^[30]相继提出了改进的Diamond-Hsu模型,进一步提高了Diamond-Hsu模型的精确度和普适性。

参考文献

- [1] Huddleston J. [J]. Trends in Biotechnology, 1995, 136(7): 311.
- [2] 黎海斌, 李琳, 郭祀远. [J]. 现代化工, 2002, 22(5): 59 - 62.
- [3] Coimbra J S R, Thoenmes J, Kula M R, et al. [J]. Arq Biol Tecnol, 1997, 40(1): 189 - 196.
- [4] Harris D P, Andrews A T, Wright G, et al. [J]. Bioseparation, 1997, 7(1): 31 - 37.
- [5] Bradoo S, Saxena R K, Gupta R. [J]. Process Biochemistry, 1999, 35(1-2): 57 - 62.
- [6] 焦庆才, 刘茜, 陈耀祖. [J]. 高等学校化学学报, 1998, 19(3): 391 - 394.
- [7] Sinha J, Dey P K, Panda T. [J]. Biochemical Engineering Journal, 2000, 6(3): 163 - 175.
- [8] Kimura K, Kobayashi H. [J]. J Chromatogr B, 1996, 680(1-2): 213 - 219.
- [9] 秦德华, 潘杰, 高红. [J]. 中国抗生素杂志, 1998, 23(2): 144 - 147.
- [10] 关怡新, 傅晖, 朱自强. [J]. 浙江大学学报(自然科学版), 1997, 31(4): 498 - 504.
- [11] 巢志茂, 庸一, 神腾平三郎. [J]. 中国药学杂志, 1999, 34(7): 444 - 446.
- [12] Chang W J, Koo Y M. [J]. Biotechnol Tech, 1998, 12(6): 455 - 457.
- [13] Kang E C, Akiyoshi K, Sunamoto J. [J]. J Bioact Compat Polym, 1999, 14(1): 6 - 16.
- [14] Mishima K, Totoki M, Nomiya T, et al. [J]. Solv Extr Res Japan, 1996, 3(3): 288 - 243.
- [15] 李伟, 朱自强, 梅乐和. [J]. 化工学报, 1998, 49(1): 92 - 96.
- [16] Porto A L F, Lima-Filho J L, Aires-Barros M R, et al. [J]. Biotechnol Tech, 1997, 11(9): 641 - 643.
- [17] 侯卫东, 杨国宁. [J]. 畜牧兽医学报, 1998, 17(1): 7, 19.
- [18] 谭天伟, 沈忠耀. [J]. 微生物学通报, 1996, 23(6): 368 - 370, 36.
- [19] Alred P A, Tjerneld F, Kozlowski A, et al. [J]. Bioseparation, 1992, 2(6): 363 - 373.
- [20] Johansson H O, Karlstrom G, Tjerneld F. [J]. Macromolecules, 1993, 26(17): 4478 - 4483.
- [21] Tong A, Wu Y, Tan S, et al. [J]. Anal Chim Acta, 1998, 369(1-2): 11 - 16.
- [22] Kamihira M, Kaul R, Mattiasson B. [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1992, 40(11): 1381 - 1387.
- [23] Guin M R. Isolation and purification of protein by single-stage metal affinity partitioning in aqueous two-phase systems and by multi-stage counter-current distribution [D]. Colorado: University of Colorado, 1996.
- [24] 谭天伟, 王丙武, 刘德华. [J]. 化工学报, 1996, 46(5): 621 - 626.
- [25] 林东强, 朱自强, 姚善泾, 等. [J]. 化工学报, 2000, 51(1): 1 - 6.
- [26] 邓修, 吴俊生. 化工分离工程[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [27] 梅乐和, 朱自强, 林东强. [J]. 化学工程, 1999, 27(2): 23 - 27.
- [28] Mistry S I, Kaul A, Merchuk J C, et al. [J]. J Chromatogr A, 1996, 741(2): 151 - 163.
- [29] Sargantanis I G, Karim M N. [J]. I & E C Research, 1997, 36(1): 204 - 211.
- [30] 梅乐和, 朱自强, 林东强, 等. [J]. 浙江大学学报(自然科学版), 1999, 33(1): 52 - 56. ■
- [28] Mikos A G, Peppas N A. [J]. J Controlled Release, 1990, 12(1): 31 - 37.
- [29] Roberts W K, Häfeli U O. [J]. Applied Radiation and Isotopes, 1999, 51(5): 543 - 549.
- [30] Häfeli U O, Roberts W K, Pauer G J, et al. [J]. Applied Radiation and Isotopes, 2001, 54(6): 869 - 879.
- [31] McNeil R G, Ritter R C, Wang B, et al. [J]. IEEE Trans on Biomed Eng, 1995, 42(8): 802 - 808.
- [32] Häfeli U O, Pauter G J. [J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 1999, 194(1-3): 76 - 82. ■

(上接第21页)

- [24] Shinkai M, Suzuki M, Iijima S, et al. [J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1995, 21(2): 125 - 137.
- [25] Klivanov A L, Maruyama K, Torchilin V P, et al. [J]. FEBS Lett, 1990, 268(1): 235 - 237.
- [26] Schütt W, Klinkmann H. Cell Electrophoresis[M]. New York/Berlin: Walter de Gruyter, 1985. 125 - 155.
- [27] Marlow B, Fairhurst D, Schütt W. [J]. Langmuir, 1988, 4(3): 776 - 780.