

PSI-g-PEG-DDA 对油性超顺磁性氧化铁纳米粒子的包覆 及对肿瘤核磁造影成像的研究*

黄海龙² 翟淑波^{1**} 李彩今² 张赢木² 王静媛² 陈 亮^{1**}

(¹ 吉林大学第一医院 长春 130021)

(² 吉林大学化学学院麦克德米德实验室 长春 130012)

摘 要 天冬氨酸(ASP)自身热缩聚产物聚琥珀酰亚胺(PSI)通过与氨基化聚乙二醇单甲醚(α -胺基- ω -甲氧基-聚乙二醇)和十二胺(DDA)进行连续两步开环反应,制备了双亲性蜈蚣形聚合物聚琥珀酰亚胺接枝聚乙二醇与十二胺(PSI-g-PEG-DDA)。随着改变疏水链段 DDA 的接枝比例,通过胶束粒径的变化确定了最佳的接枝比例。核磁共振波谱(¹H-NMR)及凝胶渗透色谱(GPC)对聚合物的性质进行了表征。通过相转移法,聚合物对油性超顺磁性氧化铁纳米粒子进行包覆,制备了新型的水溶性超顺磁性氧化铁纳米粒子(PSI-g-PEG-DDA@IONPs)。动态光散射(DLS)和透射电镜(TEM)对新型的水溶性氧化铁纳米粒子的粒径与形貌进行了表征。体外 T2 核磁造影成像(MRI *in vitro*)确定了制备的氧化铁纳米粒子的 R2 质子弛豫率。肝癌小鼠模型的体内核磁造影成像(MRI *in vivo*)结果表明新型氧化铁纳米粒子对肿瘤部位有明显的 T2 核磁造影增强效应,并有很长的体内循环半衰期。以上实验结果表明,新型的水溶性纳米氧化铁粒子可以作为一种潜在的用于肿瘤检测的核磁造影剂。

关键词 两亲性蜈蚣形聚合物, 胶束, 超顺磁性氧化铁, 核磁造影成像

近年来,纳米技术快速发展。无机纳米粒子在疾病诊断和治疗领域引起了广泛的兴趣^[1,2]。众多无机纳米粒子中,超顺磁性氧化铁纳米粒子(SPIONPs)由于可以用于核磁共振成像中的造影剂而被广泛研究^[3,4]。尤其是在癌症检测领域,SPIONPs 具有明显的优点,包括对肿瘤区域的非侵入性与实时监测^[5~7]。目前,制备粒径均一,形貌可控的单分散氧化铁纳米粒子通常采用热解法^[8]。合成制备的疏水的纳米粒子就需要修饰功能化分子来赋予其优异的水溶性^[9,10]。葡聚糖修饰的氧化铁纳米粒子,粒径过大,而且合成的氧化铁纳米粒子本身也没有热解法制备的晶体结构完整,导致质子弛豫率相对较低^[11]。配体交换等方法对热解法制备的油性纳米粒子表面修饰,则有可能破坏纳米粒子的表面结构,使晶体表面出现缺陷,质子弛豫率明显降低^[12]。过去的几十年中,两亲性聚合物胶束在载药,诊断成像剂方面飞速发展。此种聚合物胶束具有良好的稳定性,对油性

性纳米粒子进行改性,且不会对纳米粒子表面产生破坏。因此聚合物胶束在纳米医药领域展示了极佳的应用前景^[13~15]。

相对于双亲性嵌段共聚物,两亲性蜈蚣形聚合物由于具有特殊的结构性质以及广泛的用途,已成为当前高分子学科领域研究的热点之一。蜈蚣形聚合物含有亲水侧链和疏水侧链,此种结构易使聚合物相互分离和聚集形成胶束^[16]。值得一提的是,蜈蚣形聚合物胶束由于存在疏水链段,可以与油性纳米粒子表面的疏水配体相互作用,封装功能性纳米粒子,如量子点、氧化铁等。新型的水溶性纳米粒子可以在生物、医药等领域有着广泛的应用前景^[17,18]。蜈蚣形聚合物中,PSI 衍生物由于具有极佳的生物相容性和生物稳定性,在载药领域已广泛应用,但是在负载纳米粒子领域还鲜有报道^[19,20]。

本文中,我们选择生物相容性的双亲性 PSI 衍生物包覆氧化铁纳米粒子,合成路线如图 1 所

* 2013-05-31 收稿,2013-08-06 修稿。

** 通讯联系人,E-mail:shubo0918@163.com;chenliang_jlu@126.com

doi:10.3724/SP.J.1105.2014.13186

示,天冬氨酸(ASP)自身热缩聚产物聚琥珀酰亚胺(PSI)通过与氨基化聚乙二醇单甲醚(α -胺基- ω -甲氧基-聚乙二醇)和十二胺(DDA)进行连续两步开环反应,成功制备了两亲性蜈蚣形聚合物聚琥珀酰亚胺接枝聚乙二醇与十二胺(PSI-g-PEG-DDA),并讨论了 DDA 接枝率对胶束粒径的影响,确定了最佳的接枝比例为 30% (DDA 单元与 PSI 结构单元的摩尔百分比). 由于聚合物含有疏水链段烷基链,可以与油溶性纳米粒子表面的

油酸配体产生足够强的分子间作用力,将氧化铁纳米粒子稳定地封装在胶束内部. 采用相转移法,利用亲疏水比例最佳的聚合物对油溶性超顺磁性氧化铁纳米粒子(SPIONPs)进行了封装,并对此种新型的水溶性 SPIONPs 的粒径,形貌,体外细胞毒性进行了表征. 此外,此种新型水溶性超顺磁性氧化铁纳米粒子(water-SPIONPs)又进行了体内、体外核磁造影成像.

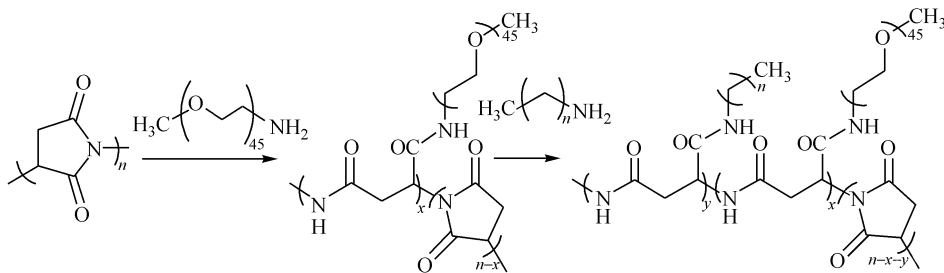


Fig. 1 Synthesis route of PSI-g-PEG-DDA

1 实验部分

1.1 实验试剂与仪器

L-天门冬氨酸,分析纯,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;磷酸,分析纯,北京化工厂;十二胺,天津市光复精细化工研究所;甲氧基封端氨基化聚乙二醇(α -胺基- ω -甲氧基-聚乙二醇), $M_n = 2000$,奥德里奇有限公司;超顺磁性氧化铁(SPIONPs),10 nm,油酸配体,美国欧申纳米技术有限公司.

核磁测试采用 500 Bruker(500 MHz)核磁谱仪,氘带二甲基亚砷作为溶剂,TMS 为内标. 聚合物的分子量及其分布用 GPC(Shimadzu),DMF 为流动相,30 °C 下测量,单分散的聚苯乙烯标样进行普适校正. 动态光散射(DLS)通过 zeta 电位分析仪(Brookhaven Instruments Corporation)获得. 荧光发射光谱通过 Jobin Yvon Spex Fluorolog 3 荧光分光光度计测得. 透射电镜成像(TEM)通过 JEOL-2000 测得. 细胞毒性测试(MTT)采用 BioTek Elx 800,波长为 490 nm. 活体核磁造影成像(MRI)采用 1.5T Siments Avanto MR scanner.

1.2 两亲性蜈蚣形聚合物 PSI-g-PEG-DDA 的合成及表征

1.2.1 中间体琥珀酰亚胺(PSI)的合成

PSI 合成路线如文献[21]报道,具体过程如下:L-天门冬氨酸(10 g,75.2 mmol)加入圆底烧

瓶中,缓慢滴加 85% 磷酸(1 g, 8.67 mmol),室温下搅拌 15 min 后,转至 180 °C 油浴中,在 N_2 气氛保护下加热 3.5 h,自然冷却到室温,向烧瓶中加入 40 mL DMF,将固体溶解,离心除去不溶物. 清液倒入 KCl 饱和溶液,所得沉淀用水反复洗涤,离心后将所得固体置于 40 °C 真空烘箱干燥,得到白色粉末 PSI,产率为 85%.

1.2.2 PSI-g-PEG 的合成

PSI(0.5 g,0.23 mmol)溶解于 DMF 中, α -胺基- ω -甲氧基-聚乙二醇(3.09 g,1.55 mmol)加入上述 DMF 溶液中,氮气保护条件下在 80 °C 反应 48 h. 经乙醚沉淀后得到白色沉淀,利用截留分子量为 8000 的透析袋进行透析提纯,除掉未反应的 PEG,冻干后得到白色固体粉末,产率为 90%.

1.2.3 PSI-g-PEG-DDA 的合成

以接枝率为 30% 为例,将 PSI-g-PEG(500 mg,0.032 mmol)溶于 5 mL DMF 中,DDA(39.8 mg,0.22 mmol)加入上述 DMF 溶液中. 氮气保护条件下在 80 °C 反应 24 h,乙醚沉淀得到白色沉淀,利用截留分子量为 8000 的透析袋进行透析提纯,冻干后得到白色固体粉末,产率为 87%. 其它比例的制备方法与上述方法相同.

1.2.4 聚合物胶束的配制

以 DDA 接枝率 30% 的聚合物为例,用分析天平精确称取 50 mg 聚合物于 25 mL 圆底烧瓶,加入 2 mL 氯仿,超声使其充分溶解. 边搅拌边向

上述溶液中缓慢滴加蒸馏水(5~10 s 1 滴,共 10 mL).滴加完毕后超声 20 min.停止超声后,用旋转蒸发仪除去有机溶剂氯仿.得到的溶液即为聚合物胶束的水溶液.

1.3 聚合物 PSI-g-PEG-DDA 包覆超顺磁性氧化铁纳米粒子

以 DDA 接枝率 30% 的聚合物为例.用分析天平准确称量 5 mg 超顺磁性氧化铁纳米粒子,加入 2 mL 氯仿使其溶解.用分析天平精确称取 50 mg 聚合物,置于 25 mL 圆底烧瓶中,加入 2 mL 氯仿,超声使其充分溶解.上述配制好的超顺磁性氧化铁纳米粒子溶液缓慢滴加到聚合物溶液中,超声 5 min 使其充分混合.边超声边向上述混和液中缓慢滴加蒸馏水(5~10 s 1 滴,共 10 mL).滴加完毕后超声 20 min.停止超声后,用旋转蒸发仪除去有机溶剂氯仿.用水系滤头(220 nm)滤去聚集的纳米粒子,发现滤头无残留.得到新型水溶性超顺磁性氧化铁纳米粒子(PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@IO)水溶液.

1.4 测试

将芘(10.2 mg)溶于丙酮中(1000 mL)配成浓度为 5×10^{-5} mol/L 的溶液,分别移取 20 μ L 芘溶液于玻璃瓶中,置于室温下挥发除去丙酮.取 1.2.4 节中制得的不同 DDA 截至比例的聚合物胶束(浓度为 0.5 mg/mL)配制成浓度分别为 1×10^{-1} , 5×10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} mg/mL 的聚合物胶束溶液,并分别转移到装有芘的玻璃瓶中.将所有样品在 25 $^{\circ}$ C 下超声 2 h,在室温下放置 48 h 后进行荧光测试.设定激发波长为 333 nm,观察发射波长为 373 和 384 nm 处的荧光强度 I_{373} 和 I_{384} 的变化情况.以 I_{373}/I_{384} 对 $\lg c$ (c 为浓度,单位 mg/mL)作图,所得曲线拐点对应的 c 值即为临界胶束浓度(CMC).将 PSI-g-PEG-DDA 胶束及聚合物 PSI-g-PEG-DDA 包覆 SPIONPs 分别稀释配制成 0.1 mg/mL,0.46 μ m 滤头过滤后进行 DLS 测试.将油性 IO 与水溶性 IO 分别分散到正己烷与水中,滴在双层铜网上,自然晾干后,进行透射电镜测试.取油酸配体的 IO 与包覆后的 IO 固体粉末在室温下进行饱和磁化强度的测定.实验仪器为 Lake Shore Model 7300 VSM.

1.5 体外细胞毒性分析

采用 MTT 法,对 PSI-g-0.3PEG-0.3DDA 与 PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@IO 进行体外细胞毒性的

测试,测试细胞选择为 HepG2.实验过程如下,细胞置于 96 孔盘中(每孔 2×10^4 细胞),培养基选择为通用型 RPMI1640,37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h 后,分别加入不同浓度的上述纳米粒子溶液,孵育 24 h 后,加入 20 μ L MTT,4 h 后加入 100 μ L DMSO,使用 BioTek Elx 800 测定 490 nm 的吸收强度.

1.6 体外核磁造影成像的研究

水溶性氧化铁纳米粒子溶液配制成一系列浓度并置于自制的试管中,根据 Chen 等的方法进行体外核磁造影成像^[22].实验仪器为 1.5T 西门子核磁扫描器和小鼠线圈.

1.7 体内核磁造影成像的研究

吉林大学第二附属医院提供 6~7 周大的 ICR 雄性小鼠,采用皮下注射法向小鼠注射 H22 细胞(1×10^6 细胞).待肿瘤体积达到 300~400 mm³ 时,根据 Lee 等的方法^[23]进行核磁共振成像实验.向小鼠尾静脉注射 0.2 mL 制得的氧化铁纳米粒子(2 mg/mL),经皮下注射麻醉后,在注射前和注射后每隔一定时间分别进行核磁共振成像.实验仪器为 1.5T 西门子核磁扫描器和小鼠线圈.

2 结果与讨论

2.1 PSI-g-PEG-DDA 的 ¹H-NMR 和 GPC 的表征

图 2 为 PSI 的氢核磁谱图(溶剂 DMSO- d_6 , $\delta = 2.51$).在 $\delta = 5.3$ 处的峰为 PSI 环上次甲基的氢质子峰. $\delta = 2.6 \sim 3.5$ 处为 PSI 环上亚甲基的氢质子峰.与标准谱图上的数据一致^[14],证明已成功合成了中间体 PSI. GPC 结果表明 M_n (GPC) = 2.2×10^3 , $M_w/M_n = 1.1$.

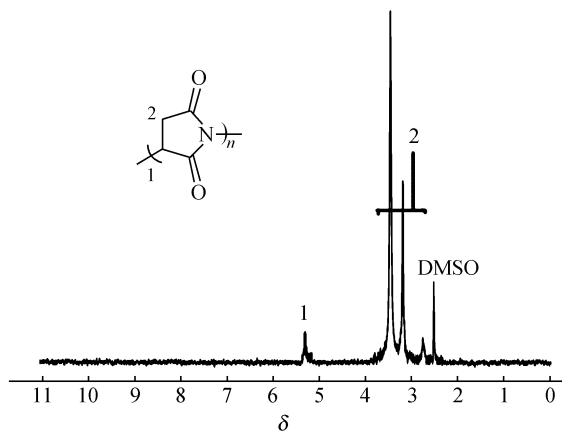


Fig. 2 ¹H-NMR spectrum of PSI

图 3 为 PSI-g-0.3PEG 的氢核磁谱图(溶剂 DMSO- d_6 , $\delta = 2.51$), $\delta = 8.0$ 处为酰胺键上氢的特

征峰, $\delta = 3.61$ 处为 PEG 亚甲基的特征峰, 证明成 PEG 成功接枝在 PSI 上. 此外, 根据 PSI 次甲基特征峰 ($\delta = 5.3$) 与开环后的次甲基的特征峰 ($\delta = 4.6$) 的核磁积分面积进行计算, 得出 NH_2 -PEG-MeO 对 PSI 的开环摩尔比例为 30%. GPC 结果表明 $M_n(\text{GPC}) = 1.58 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.34$, 进一步证明 PSI-g-0.3PEG 被成功制备.

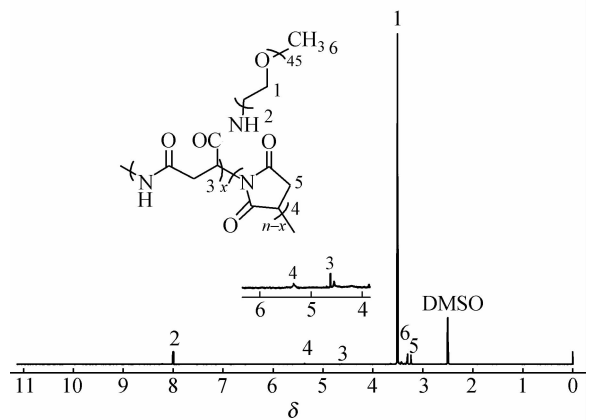


Fig. 3 ^1H -NMR spectrum of PSI-g-PEG

图 4 为 PSI-g-0.3PEG-0.3DDA 的氢核磁谱图 (溶剂 DMSO, $\delta = 2.51$). 在 $\delta = 0.88$ 和 $\delta = 1.25$ 处分别为接入的 DDA 烷基链上甲基和亚甲基上的氢质子峰, 实验证明成功 PSI-0.3PEG-0.3DDA 成功接枝 DDA. 同样, 根据 PSI 次甲基特征峰 ($\delta = 5.3$) 与开环后的次甲基的特征峰 ($\delta = 4.6$) 的核磁积分进行计算, 得出 PSI 的总开环比例为

60%, 即 PEG 与 DDA 对 PSI 的摩尔开环比例分别为 30%, 30%. GPC 结果表明 $M_n(\text{GPC}) = 1.72 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.42$, 进一步证明 PSI-g-0.3PEG-0.3DDA 被成功制备.

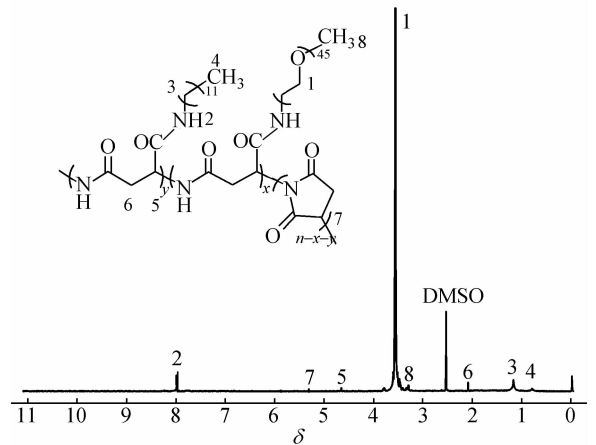


Fig. 4 ^1H -NMR spectrum of PSI-g-PEG-DDA

2.2 DLS 与 CMC 表征

在图 5 中, 测得 3 种聚合物胶束的流体力学直径依次为 27.0, 16.4, 10.4 nm. 由测试结果可知, 随着疏水链段 DDA 接枝比例的增大, 聚合物胶束粒径逐渐减小. 这是因为随着 DDA 接枝比例增大, 聚合物疏水性增强, 胶束内部疏水作用力增强, 胶束的粒径因此变小. CMC 测试结果测得临界胶束浓度分别为 $10^{-1.7} \text{ mg/mL}$, $10^{-2.2} \text{ mg/mL}$, $10^{-2.5} \text{ mg/mL}$. 随着 DDA 比例增加而减小的 CMC 值, 证明了随着 DDA 比例增加, 胶束更容易形成.

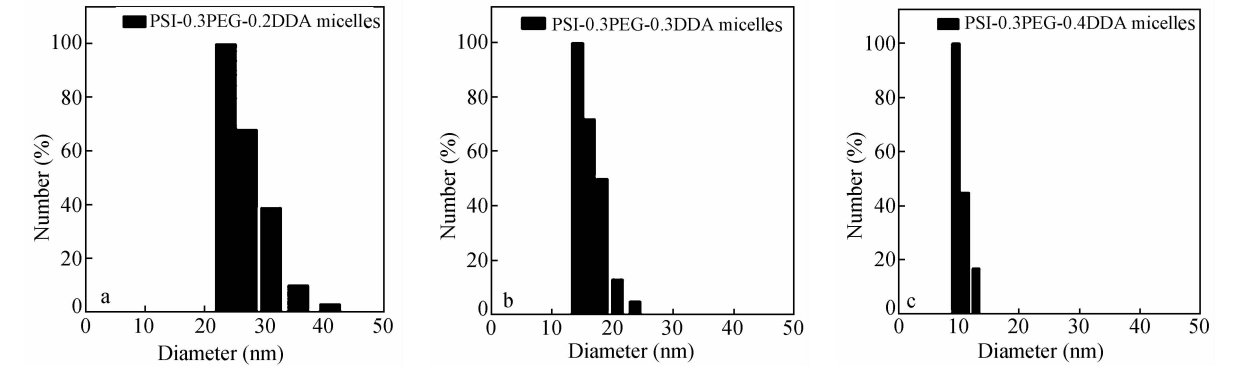


Fig. 5 Particle size distribution measured by DLS in aqueous solution of (a) PSI-g-0.3PEG-0.2DDA micelles, (b) PSI-g-0.3PEG-0.3DDA micelles and (c) PSI-g-0.3PEG-0.4DDA micelles

如图 6 所示, 测得 3 种水溶性 IONPs 流体力学直径依次为 58.0, 50.8, 50.2 nm. 由测试结果可知, 随着 DDA 接枝率增加, 水溶性纳米粒子粒径略有下降但总体变化不大. 由于 DDA 接枝率

20% 的胶束容易聚集沉淀, 以及接枝率 40% 的聚合物可供开环的部分相对较少, 影响未来功能化分子的引入, 综合各种因素 DDA 接枝率的最佳比例为 30%.

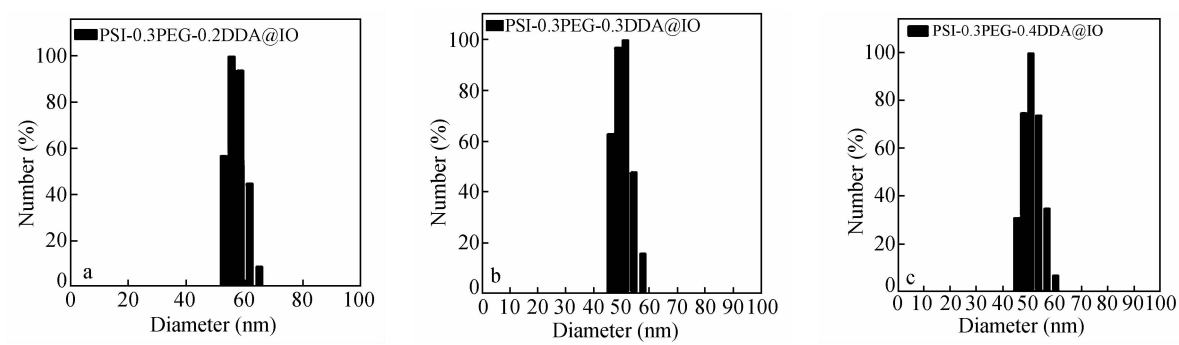


Fig. 6 Particle size distribution measured by DLS in aqueous solution of (a) PSI-*g*-0.3PEG-0.2DDA@ IO and (b) PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA@ IO and (c) PSI-*g*-0.3PEG-0.4DDA@ IO

2.3 TEM 表征

图 7 为 PSI-*g*-PEG-DDA@ IO 的透射电镜图,从图中可以看到包覆后的 IO 为核壳结构,并且其尺寸分布非常的均匀,无团聚现象.通过 TEM 图可知通过配体交换后得到的量子点的尺寸约 50 nm 左右,比 DLS 得到的结果略小,原因在水溶液中 PSI-*g*-PEG-DDA 是充分伸展的,DLS 的测试状态是氧化铁水溶液,而 TEM 的测试状态是干燥无水的条件,所以 DLS 测得的尺寸结果较大.由此得到的 IONPs 的纳米尺寸保证其可以在生物应用中可以实现 EPR 效应聚集在肿瘤区域,实现 MRI 造影成像检测的效果.

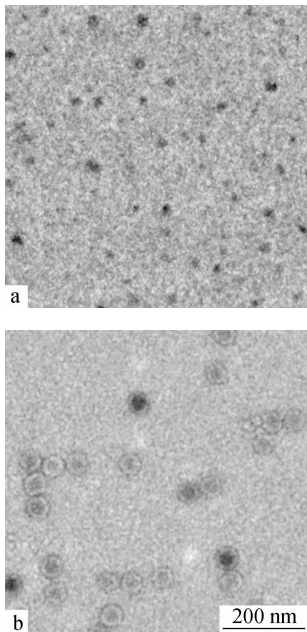


Fig. 7 TEM image of (a) oleic acid@ IO and (b) PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA@ IO

2.4 热失重 (TGA) 分析

如图 8 所示,PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA@ IONPs 经灼烧后,残留质量分数为 8%,即新型水溶性氧

化铁纳米粒子中 F_3O_4 含量为 8%.已知油酸配体的氧化铁纳米粒子的 F_3O_4 含量为 82%,经换算可知,两亲性蜈蚣形聚合物 PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA 对油酸配体的超顺磁性氧化铁纳米粒子的包覆效率为 97%.

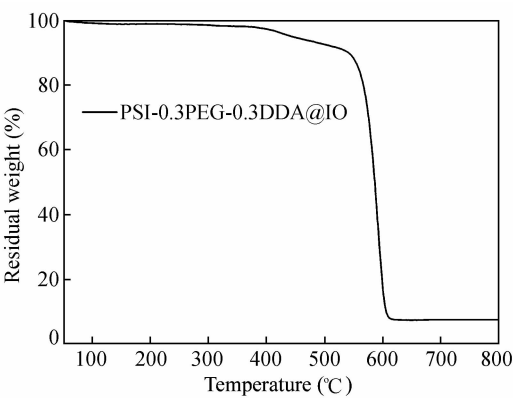


Fig. 8 TGA curve of PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA@ IONPs

2.5 磁滞回 (VSM) 分析

如图 9 所示,PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA@ IO 保持了油酸配体氧化铁纳米粒子的超顺磁性.油溶性的油酸配体的氧化铁纳米粒子的饱和磁化强度为 64.2 emu/g,经修饰制备的水溶性的 PSI-0.3PEG-0.3DDA@ IONPs 的饱和磁化强度为 7.01 emu/g.

2.6 体外细胞毒性分析

生物成像试剂的细胞毒性在临床应用中至关重要.如图 10 所示,MTT 结果表明 PSI-*g*-0.3PEG-0.3DDA 溶液和 PSI-*g*-PEG-DDA@ IO 溶液培养的细胞,其细胞活性随培养液浓度变化并无明显变化,并且细胞存活率保持在 75% 以上.当 PSI-*g*-PEG-DDA@ IO 浓度低于 0.5 mg/mL 时,细胞存活率可达 90% 以上.实验结果表明,PSI-*g*-PEG-DDA 聚合物空胶束或者 PSI-*g*-PEG-DDA@ IO 对

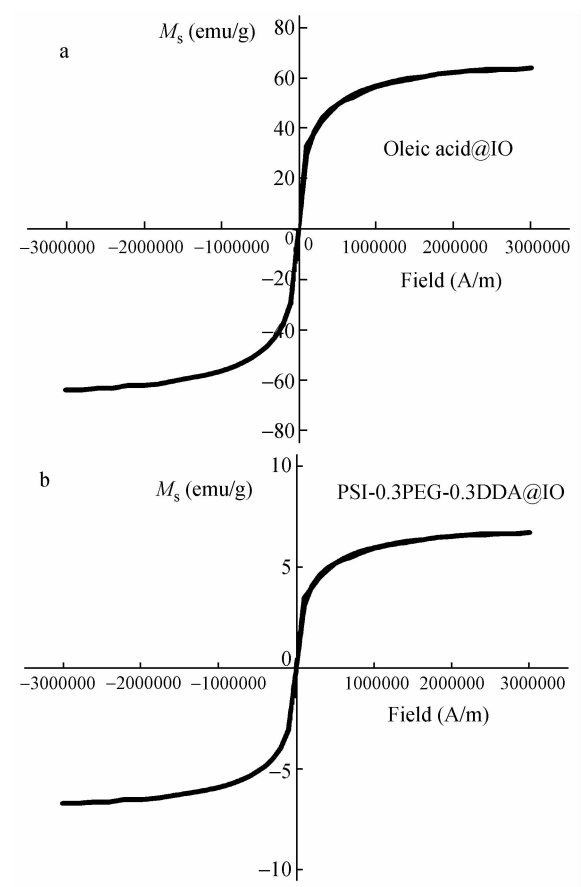


Fig. 9 VSM analysis of (a) oleic acid@ IO and (b) PSI-0.3PEG-0.3DDA@ IO

HepG2 细胞并无显著毒性,即可以进行生物医疗领域的应用.

2.7 体外核磁造影成像研究

体外核磁造影成像如图 11 所示,随着 Fe 浓度的增加,T2 造影效果逐渐增强.T2 质子弛豫时间的倒数与 Fe 浓度 (mmol/L) 进行线性模拟,得出 T2 质子弛豫率 R_2 为 $187.3\text{ m}(\text{mol/L})^{-1}\text{ s}^{-1}$. PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@ IO 较高的弛豫率可能是因为 PSI-g-0.3PEG-0.3DDA 对油溶性 IO 的表面

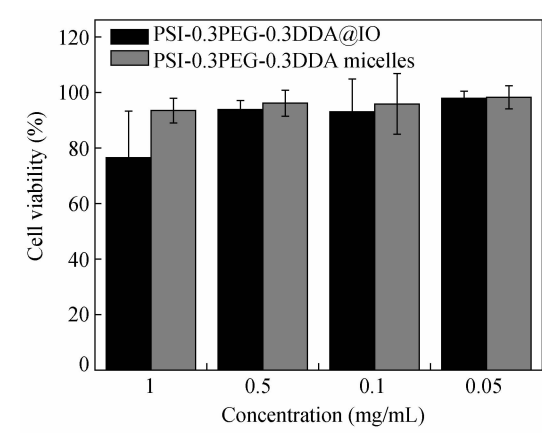


Fig. 10 Cytotoxic activity assay results on HepG2 with different PSI-g-0.3PEG-0.3DDA and PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@ IO concentrations

结构与油酸配体在包覆修饰的过程中没有受到破坏,结构完整.

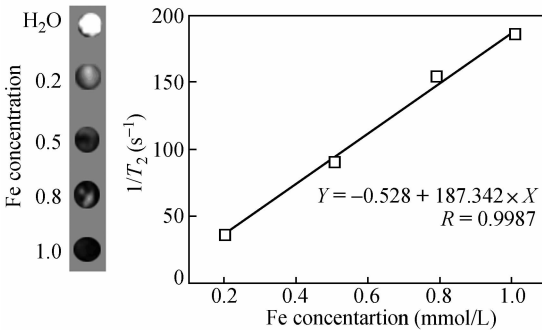


Fig. 11 T2-weighted phantom images of PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@ IO at elevated iron concentrations and 1/T2 versus Fe concentration curve of PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@ IO

2.8 体内核磁造影成像研究

据报道,肿瘤区域存在非正常的血管而导致纳米粒子不容易伴随血液循环从瘤体中脱离出来,而是进行富集,此种现象即为 EPR 效应.另外,由于超顺磁性氧化铁可以有效地改变人体中

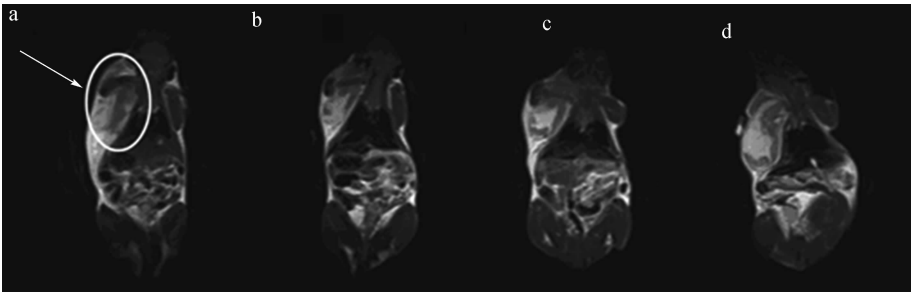


Fig. 12 T2-weighted fast spin echo images of ICR mice with liver cancer tumor: (a) blank (injected with PBS buffer) and after injection of 0.2 mL PSI-g-0.3PEG-0.3DDA@ IONPs with a concentration of 2.0 mg/mL for (b) 1 h (c) 24 h and (d) 48 h (The arrow denotes allograft tumors.)

质子的自旋-自旋弛豫时间,从而增强磁共振成像的对比度和分辨率,故可以作为肿瘤核磁共振成像(MRI)的造影剂.如图 12 所示,图 A 为空白对照,B,C,D 分别为 PSI-PEG-DDA@ IO 注入小鼠体内 1 h,24 h,48 h 后核磁成像结果,由图中可以看到,注射水溶性纳米粒子后 1 h 小鼠左腋下肿瘤部位显像相对于空白组边缘有明显的 T2 造影增强效应,24 h 后肿瘤部位清晰度增加,这是因为随着时间的增长,由于 EPR 效应,富集在肿瘤区域的 IONPs 逐渐增加,导致 T2 核磁造影增强.48 h 后肿瘤部位清晰程度略微减弱但仍可观察到,说明制得的水溶性纳米粒子有很长的体内循环的半衰期,有很长的检测时限,而商业产品菲立

磁的检测时间上限为 12 h.

3 结 论

本文制备了双亲性蜈蚣形聚合物 PSI-*g*-PEG-DDA,讨论了用于修饰油溶性氧化铁纳米粒子的最佳接枝比例.制备的水溶性纳米氧化铁纳米粒子展示出良好的理化性能和低的细胞毒性.体外核磁造影实验结果表明,并从理论上研究了此种新型水溶性氧化铁纳米粒子的 R2 质子弛豫率.体内核磁造影实验表明纳米粒子有很长的体内循环的半衰期,有很长的检测时限.综上,此种新型的水溶性氧化铁纳米粒子可以作为潜在的核磁造影剂.

REFERENCES

1 Nie S,Xing Y,Kim G,Simon J. Annu Rev Biomed Eng,2007,(9):257~288

2 Mahl D,Diendorf J,Ristig S,Greulich C,Li Z,Farle M,Koller M,Epple M. J Nano Res,2012,14(10):1153~1160

3 Cai W,Chen X. Small,2007,11(3):1840~1854

4 Sun Lin(孙琳),Liu Guifeng(刘桂峰),Zhuang Jiaqi(庄家骐),Zhang Huimao(张惠茅),Yang Wensheng(杨文胜). Chem J Chinese U(高等学校化学学报),2010,12(31):2313~2315

5 Sun Q Q,Cheng D,Yu X S,Zhang Z Q,Dai J,Li H,Liang B L,Shuai X T. J Mater Chem,2011,39(21):15136~15326

6 Chen Y,Tao J,Xiong F,Zhu J,Gu N,Zhang Y,Ding Y,Ge L. Drug Development Indust Pharm,2010,36(10):1235~1244

7 Wu L,Cao Y,Liao C,Huang J,Gao F. Eur J Radio,2011,80(2):582~589

8 Jun Y W,Lee J H,Cheon J. Angew Chem Int Ed,2008,28(47):5122~5135

9 Bae K H,Lee K,Kim C. Biomaterials,2011,1(32):176~184

10 Masoudi A,Hosseini H,Reyhani S,Shokrgozar M,Oghabian M,Ahrmadi R. Inter J Pharm,2012,439(1):28~40

11 Wang Qiaoying(王巧英),Su Hongying(苏红莹),Lin Ling(林玲),Xia Chunchao(夏春潮). Chinese Sci Bull(科学通报),2009,54(9):1173~1180

12 Karakoti A S,Das S,Suntharampillai T,Sudipta S. Angew Chem Int Edi,2011,50(9):1980~1994

13 Otsuka H,Nagasaki Y,Kataoka K. Adv Drug Delivery Rev,2003,3(55):403~419

14 Sun Ting(孙婷),Yang Bohan(杨伯涵),Li Kun(李昆),Li Yapeng(李亚鹏),Wang Jingyuan(王静媛). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2011,(10):1138~1143

15 Zhou Z,Ma X,Jin E,Tang J,Sui M,Shen Y,Van K,Edward A,Murdoch,W,Radosz M. Biomaterials,2013,34(22):5722~5735

16 Nikodem T,Dominik J,Han M Y,Vancso G J. Prog Polym Sci,2009,34(5):393~430

17 Cui Y,Gong X Q,Zhu S J,Li Y H,Su W Y,Yang Q H,Chang J. J Mater Chem,2012,22,462~469

18 Li Kun(李昆),Sun Ting(孙婷),Sun Yuan(孙媛),Yang Bohan(杨伯涵),Meng Xinlei(孟新蕾),Li Yapeng(李亚鹏),Wang Jingyuan(王静媛). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2012,(2):180~186

19 Chen H,Xu W,Chen T,Yang W,Hu J,Wang C. Polymer,2005,46(6):1821~1827

20 Chiriac A,Neamtu I,Nita L,Nistor M. Compos Part B-Eng,2011,42(6):152~1531

21 Huang H,Li Y,Sun X,Lv Y,Chen L,Wang J. New J Chem,2013,37:1623~1629

22 Chen K,Xie J,Xu H T,Goldman E R,Mattoussi H,Biswal S,Wang A,Chen X Y. Biomaterials,2009,36(30):6912~6919

23 Lee Y P,Lu Y. H,Park S Y J. Korean Phy Soc,2008,4(53):2279~2282

Organic Soluble Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Coated with PSI-g-PEG-DDA and MRI Imaging for Cancer Diagnosis

Hai-long Huang², Shu-bo Zhai^{1*}, Cai-jin Li², Ying-mu Zhang², Jing-yuan Wang², Liang Chen^{1*}

(¹ The First hospital of Jilin University, Changchun 130021)

(² Alan G. MacDiarmid Institute, College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012)

Abstract This research aimed to develop a novel polymeric micelle system to deliver iron oxide nanoparticles to tumor regions. To achieve the purpose above, the amphiphilic centipede-like polymer poly(succinimide)-grafted-poly(ethylene glycol)-dodecylamine (PSI-g-PEG-DDA) was successfully synthesized. A study on structure and properties was conducted then through gel permeation chromatography (GPC) and nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). Through the phase transfer process, the amphiphilic polymer was used to encapsulate the superparamagnetic iron oxides (SPIOs) for preparing the stable water-soluble SPIOs. The product was found to form spherical micelles in aqueous media due to its amphiphilic nature with an average particle size of 50 nm measured by dynamic light scattering (DLS) and TEM imaging. Magnetization curve showed the water-soluble IONPs kept the superparamagnetic property of organic IONPs. An MTT assay showed no significant cytotoxicity of IONPs to HepG2 cells. Remarkably, MRI showed that IONPs displayed a clear concentration-dependent T_2 signal reduction effect, with an R_2 value of $187.3 \text{ (mmol/L)}^{-1} \text{ s}^{-1}$. The result of mice magnetic response imaging (MRI) *in vivo* showed that this new type of SPIOs caused a great enhancement effect on T_2 magnetic resonance and long half-life in the circulation, which confirmed that it could be used as a potential contrast agent.

Keywords Amphiphilic centipede-polymer, Micelle, Superparamagnetic iron oxides, Magnetic response imaging

* Corresponding authors: Shu-bo Zhai, E-mail: shubo0918@163.com

Liang Chen, E-mail: chenliang_jlu@126.com