

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学 号: 24520061152669

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

智能型透皮胰岛素给药系统的研究

Research of smart transdermal insulin

drug delivery system

林程宏

指 导 教 师: 张其清 教授

侯振清 讲师

专 业 名 称: 生物医学工程

论 文 提 交 日 期: 年 月

论 文 答 辩 时 间: 年 月

学 位 授 予 日 期: 年 月

答 辩 委 员 会 主 席: _____

评 阅 人: _____

年 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(药物控缓释)课题(组)的研究成果,获得(厦门市科技计划项目(3502Z20073007))课题(组)经费或实验室的资助,在(凌峰楼)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 林程宏

2010年 11月 30日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：林程宏

2010年 11月 30日

目 录

中文摘要.....	V
英文摘要.....	VI
第一章 绪论	1
引言	1
1.1 透皮给药系统.....	2
1.2 体内葡萄糖浓度的检测系统.....	9
1.3 本论文的主要研究目的和内容	15
参考文献	16
第二章 智能型透皮给药系统设计	22
引言	22
2.1 实验方法.....	22
2.2 实验结果.....	23
2.3 讨论.....	34
2.4 本章结论.....	41
参考文献	43
第三章 葡萄糖传感阵列的制备以及响应特性	45
引言	45
3.1 实验部分.....	46
3.2 实验结果.....	50
3.3 讨论.....	60
3.4 本章结论.....	65
参考文献	67
第四章 全文总结与展望	68

4.1 本文总结.....	68
4.2 展望.....	69
附件：蛋白酶循环利用系统设计及 D-丙氨酸的生产应用（第八届“挑战杯”福建省大学生课外学术科技作品竞赛内容）	71
1.1 项目可行性论证.....	71
1.2 试验设计与试验平台搭建.....	73
1.3 项目分析与展望.....	80
硕士期间发表论文情况	81
致 谢.....	82

Content

Abstract in Chinese	V
Abstract in English	VI
Chapter 1 Introduction	1
Preface.....	1
1.1 Transdermal drug delivery system.....	2
1.2 System of glucose concentration detection in vivo.....	9
1.3 Main focus of this thesis	15
References.....	16
Chapter 2 Design of transdermal drug delivery system	22
Preface.....	22
2.1 Experiments.....	22
2.2 Results	23
2.3 Discussion.....	34
2.4 Conclusions.....	41
References.....	43
Chapter 3 Preparation of glucose sensor array and the response characteristics	45
Preface.....	45
3.1 Experiment	46
3.2 Results	50
3.3 Discussion.....	60
3.4 Conclusions.....	65
References.....	67
Chapter 4 Main conclusions and expectation	68
4.1 Main conclusion	68
4.2 Expectation	69
Annex: Proteases recycling system design and D-alanine production application	71

1.1 Project feasibility study	71
1.2 Test design and test platform structure	73
1.3 Project analysis and outlook	80
Published dissertation.....	81
Acknowledgements	82

厦门大学博硕士学位论文摘要库

中文摘要

透皮给药作为药物释放的一种新途径已经引起研究者的重视。微针阵列技术作为一种新兴的物理促透方法，在糖尿病等慢性病治疗方面应用前景广阔。

本论文详细介绍了透皮给药技术的基本原理，在此基础上将微型传感电极与微针透皮给药阵列结合，设计了一种智能型透皮胰岛素给药系统，以针对糖尿病病人血糖浓度实时反应的无痛、智能、高效给药。本论文的主要研究成果有：

一、针对透皮给药的要求，分传感与给药阵列芯片、传感显示与控制系统及驱动微泵三部分设计了智能透皮胰岛素给药系统。采用先分层制作再键合组装的分层结构设计了体积为 $15 \times 15 \times 2$ mm 传感与给药阵列芯片，简化其工艺难度，并对 UV-LIGA 技术工艺制作 $400 \mu\text{m}$ 的无痛觉的聚合物微针和微型银电极的工艺进行了探讨。设计了传感显示与控制系统，其中 LM358 构成差分放大器对微型传感器所得信号进行放大，ADC0809 和 AT89C51 芯片进行信号转换、分析、显示与发出给药响应指令，辅助传感与给药阵列芯片工作实现智能化给药。

二、微电极的表面修饰是对皮下组织液葡萄糖含量进行实时监测的关键。本论文将常规的电流式葡萄糖电极的修饰运用于微型电极上，用戊二醛交联壳聚糖包裹固定葡萄糖氧化酶，获得微型葡萄糖传感器电极。电极上掺杂直径为 $20 \sim 40$ nm 的纳米金颗粒来增强其导电性。采用电化学方法对电极的响应特性进行了研究。由电极在不同 β -D-葡萄糖浓度的铁氰化钾 PBS 溶液中的循环伏安图可见，固定在微电极上的葡萄糖氧化酶对 β -D-葡萄糖与常规电极一样有优异的电催化活性。在 9.6 mmol/L β -D-葡萄糖的铁氰化钾 PBS 溶液中不同扫速下的循环伏安图中响应峰电流与扫速平方根成线性关系，说明其响应峰电流受扩散控制。制备的葡萄糖微型传感电极对 β -D-葡萄糖浓度的响应电流峰值为 $1 \sim 3 \mu\text{A}$ ，且响应峰电流与浓度关系曲线呈线性关系，线性范围为 $7.2 \times 10^{-3} \sim 45.6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ，适用于智能胰岛素透皮给药系统，对人体血糖进行间接的监测。

关键词： 智能给药 微针阵列 微型葡萄糖传感器 壳聚糖 纳米金颗粒

Abstract

Transdermal drug delivery (TDD) is now widely recognized as one of the most promising system which release drugs in a controlled way into the human body. And it's taken more and more attention today. Micro-array technology is new physical method which can promote permeability of the outermost skin layer.

In this work, a unique design of intelligent transdermal insulin delivery system that combines a micro glucose sensor with a microneedle array was proposed. The system achieve pain-free, smart, timing, positioning, quantitative delivery.

We designed a microneedle array structure to satisfy the requirements of transdermal delivery, and discussed UV-LIGA process technology for the production of polymer micro-needle. Besides, we designed a painless micro-glucose sensor which can detect the glucose concentration of subcutaneous tissue fluid. And its manufacturing process is also discussed. As the last part of the system, we finish a preliminary design of system's signal processing and control circuit.

The chitosan has well biocompatibility and biodegradability, non-toxic. So we fix glucose oxidase with chitosan to construct glucose sensor electrode. The glucose oxidase is coated by chitosan which is crosslinked with glutaraldehyde. At the same time, the chitosan is mixed with nano-gold particles to enhance the electrode's conductivity. The nano-gold particles's diameter is 20 ~ 40 nm. We study the glucose sensing properties of the electrodes in electrochemical experiments. The electrodes' peak current is related with glucose concentration. It's linear range is $7.2 \times 10^{-3} \sim 45.6 \times 10^{-3}$ mol/L. The glucose sensing properties of the electrodes is competent for detection of blood sugar levels.

Key words: Intelligent drug delivery; micro-needle array; micro-glucose sensor; chitosan; nano-gold particles

第一章 绪论

引言

糖尿病是一种胰岛素（Insulin）分泌和作用过程缺陷导致的糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱所致的疾病。正常人的体内有一定浓度的葡萄糖为日常活动提供能量。当进食后，血液中的葡萄糖浓度会升高，在胰腺中胰岛 β -细胞分泌的胰岛素作用下，血液中的葡萄糖进入细胞内，经过一系列生物化学反应，为人类活动提供所需能量。当人体中缺乏胰岛素或者胰岛素不能有效发挥作用或者靶组织细胞对胰岛素敏感性降低时，血液中的葡萄糖不能按正常方式进入细胞内进行代谢，导致血液中的葡萄糖浓度异常增高，发生糖尿病。正常的血糖含量为 80 ~ 120 mg/dL，糖尿病患者的血糖含量会远远高于这个水平，可高达 400 mg/dL，个别甚至达到 500 mg/dL 以上。

糖尿病是以高血糖为主要特征的一种终生疾病，不可能完全治愈，因此一旦控制不好会给人体各个脏器带来病变，严重者可发生急性并发症，如酮症酸中毒、乳酸酸中毒和高渗性昏迷而威胁生命。慢性并发症以大、微血管的并发症最为严重，大血管的并发症表现为动脉硬化、冠心病、心肌病、脑中风等，微血管的并发症临床主要表现为眼底血管病变及白内障等导致患者失明，有的还会带来肾功能衰竭的严重后果。此外，还包括神经血管病变、合并肝脏病变及合并免疫系统病变等，对人的危害是巨大的。

随着人们生活水平的提高，糖尿病的发病率在逐年增加，它是现代疾病中的第三杀手，其对人体的危害仅次于癌症和心脑血管疾病。在许多发达国家，糖尿病的患病率已高达 2 ~ 5% ^[1]。发展中国家的糖尿病患病率也在迅速上升。在我国就有 3000 多万糖尿病人，且以每年 10% 的速度增长，患病率高达 3.21% ^[2]，占全世界糖尿病患者的五分之一。据世界卫生组织（WHO）预计，糖尿病患者人数在 2025 年可能增加到两亿三千万以上。

为了减少糖尿病并发症，糖尿病病人必须密切监视自身的血糖，并加以控制。“糖尿病控制和并发症试验(DCCT)”研究表明，糖尿病患者检测血糖越频繁，

血糖控制越理想，并发症也就越少：频繁检测血糖能帮助 I 型糖尿病患者减少或延缓并发症。强化治疗(包括强化自我监测和胰岛素管理)设立严格的血糖控制目标，使 I 型糖尿病患者并发症发病率分别降低：糖尿病眼病 76%、糖尿病肾病 50%、神经病变 60%、心血管疾病 35%^[1]。“英国糖尿病前瞻性研究(UKPDS)”表明，良好控制血糖使 II 型糖尿病患者出现并发症的风险减少：糖尿病眼病降低 25%，早期糖尿病肾病降低 33%，并发症所致的死亡降低 33%，中风降低 33%以上^[3]。所以研究及时、有效、方便的诊断糖尿病与治疗糖尿病的设备非常有意义。

1.1 透皮给药系统

长期以来人们的给药方式均是以口服和注射为主，但前者存在胃肠吸收及肝脏的新陈代谢而使药物吸收性差的缺点^[4]，后者则会带来疼痛感且无法控制药物缓慢释放。随着分子生物学的发展，出现了诸如胰岛素的各种蛋白质和缩氨酸类药物，它们不宜口服而又须长期使用，每天的注射显然是令人痛苦和难以忍受^[2]。为解决此类问题，一方面人们通过改变剂型来改进生物吸收和药代动力学^[3]，另一方面投入相当多的精力来研究新的给药途径。经皮药物释放系统(Transdermal Drug Delivery System, TDDS)又称经皮治疗系统(Transdermal Therapeutic System, TTS)，就是在这种背景下诞生的(以下简称经皮给药)。它是直接采用药膏或皮肤贴片的形式将药置于皮肤表面，不经注射而使药物通过表皮通道进入真皮，再经由毛细血管进入体循环在作用部位积聚，进而达到全身用药的目的。

传统的经皮给药方式是被动型的，药物是通过皮肤简单地扩散^[5]。它的最大缺点是皮肤角质层对药物有严重的阻碍作用。一方面大多数药物分子无法通过这层障碍，另一方面释放的剂量太少，而过于缓慢的释放速度也很难达到治疗的水平。

为了克服皮肤的阻碍，增强其对药物的渗透性，人们采取了各种各样的措施。这些措施包括化学的^[6,7]、物理的(微针阵列、电离子透入疗法^[8]、电致孔^[9]、超声波^[10]、光波^[11]、射流注射器^[12])以及化学和物理相结合的等等。其目的均是通过改变或破坏皮肤角质层的结构，创造出能允许药物大分子通过的通道而又不引起临床意义上的损伤。

利用微针阵列来改进皮肤的通透性是一种较新的药物释放途径,它可以创造出微米尺寸的通道——比分子尺寸大一个数量级,因此,允许大分子通过,甚至超分子的复合体以及微粒也可能通过。而其它方法创造的通道则基本都是纳米尺寸的,对于一些药物大分子来说通过仍很困难^[13]。

尽管微针的概念早在上世纪 70 年代便已提出,但直到上世纪 90 年代,随着微机电系统技术的成熟,微针经皮给药技术才得到实验验证,其应用才真正逐步开始。

1.1.1 微机电系统概述

微机电系统(Micro Electro-Mechanical System, MEMS)是指微型化的器件或器件组合,将电子、机械、光学或者其他的方面的功能相结合的综合集成系统。其采用微型结构(包括集成微电子、微传感器和微执行器),使之能在极小的空间内实现一定的智能化的功能。MEMS 技术是一门多学科交叉的新兴学科,它涉及精密机械、微电子、材料、微细加工、系统与控制等技术学科,同时也运用到了物理、化学、力学、生物学等若干基础学科的知识,其目标是通过系统的微型化、集成化来探索具有新原理、新功能的元件和系统,开辟一个全新的科学技术领域和产业。它们不仅可以降低机电系统的成本,而且还可以完成许多大尺寸机电系统无法完成的任务,例如尖端直径为 5 脚的微型镊子可以夹起一个红细胞,3 mm 大小的能够开动的小汽车,可以在磁场中像蝴蝶大小飞行的飞机等等,而且可以嵌入到大系统中,把自动化、智能化、可靠性提高到一个新的水平,是目前最具发展潜力及前瞻性的前沿科学研究领域^[14-16]。

自从 1959 年,美国物理学家、诺贝尔获得者 R.Feynman 提出微型机械的设想以来, MEMS 技术得到了国际学术界广泛的关注和研究。1987 年美国 UC Berkeley 大学运用硅表面牺牲层工艺和静电驱动技术研制出了 60 ~ 100 μm 的硅静电电机,引起国际学术界的轰动,使人们看到了电路与执行部件集成制作的可能^[17]。1985 年,来自 MIT、Berkeley、stanford、AT&T 和 NSF 的 15 名科学家提出了“小机器、大机遇”的呼吁。1993 年美国 ADI 公司采用硅表面牺牲层技术成功地将微型加速器计商品化,并大批量应用于汽车防撞气囊,标志着 MEMS 技术商品化的开端^[18,19]。此后, MEMS 技术发展迅速,特别是深槽刻蚀技术出

现后，围绕该技术发展了多种新型加工工艺。目前，部分 MEMS 器件已经产业化，如微型加速度计，微型压力传感器、数字微镜器件、喷墨打印机的微喷嘴、生物芯片等，并且应用领域十分广泛^[19,20]。近年来，国际上 MEMS 的专利数正呈指数规律增长说明，MEMS 技术全面发展和产业快速起步的阶段已经到来。

MEMS 技术由于其尺寸的特殊性，加工工艺也比较特殊。在当前工业中有三种独特的微机械加工技术：

A. 体硅微制造：体硅微制造通过基底材料的去除（通常是硅晶片）来形成所需的三维立体微结构。腐蚀加工是这一技术的核心，主要包括干法腐蚀和湿法腐蚀。体硅微制造的特点是工艺比较成熟，生产成本低，但材料损失大，适合简单几何形状的制造。

B. 表面微加工：相对于通过物理、化学方式去除基底材料的体硅微制造来说，表面微加工主要靠在基底上逐层添加材料而构造微结构。沉积技术，特别是低压化学气相沉积技术（LPCVD）常被用来建立这种微结构。表面微加工技术先要构造 MEMS 的组成部分，然后再去除，以在深度（厚度）方向形成必要的空间。通常湿法腐蚀被用来达到去除的目的。表面微加工器件一般由三种典型的部件组成：牺牲层、微结构层、绝缘层。表面微加工的特点是需要基底上构造材料层，掩模设计比较复杂，整个工艺耗时多、成本高，但其优势是不受硅晶片厚度的限制、薄膜材料的选择范围大、适合于复杂形状系统的制造。

C. LIGA 工艺：是德国卡尔鲁厄核研究中心研究出的一种微结构成形工艺。LIGA 是德文 Lithographie, Galvanoformung 和 Abformung 三个词，即光刻、电铸和注塑的缩写。包括三个工艺过程：深层同步辐射 X 射线光刻、电铸成型及铸塑^[21]。LIGA 技术与上述两种工艺有根本区别，由于 X 射线有非常高的平行度、极强的辐射强度、连续的光谱，可进行三维任意横向几何形状微结构的制作，结构纵横比很大，可以加工塑性材料、金属材料及陶瓷材料，或对这些材料的组合进行加工。目前，新兴发展起来的使用 SU-8 负型胶代替 PMMA 正胶作光敏材料，以减少曝光时间和提高加工效率；通过使用紫外光源曝光的 UV-LIGA 技术，准分子激光光源的 Laser-LIGA 技术和用微细电火花加工技术制作掩模的 MicroEDM-LIGA 技术等准 LIGA 技术或 LIGA-like 技术来降低 LIGA 技术的设

备要求，是 LIGA 技术新的发展动向。这是，由于 LIGA 技术需要极其昂贵的 X 射线光源和制作复杂的掩模板，使其工艺成本非常高，限制该技术在工业上推广应用。

除了以上三种加工工艺外，微型机械加工中还有其它的特种加工工艺。例如电火花、激光、电子束、离子束等加工也能加工出数十至数百微米的元件。

1.1.2 微机电系统技术在药物释放领域的应用

近年来，随着微机电系统（MEMS）的发展，它所具有的集计算，传感，与执行为一体的功能，为药物的释放提供了一个新的平台。微机电系统的特点在于超小型化，多样性和微电子技术，它能够执行复杂，细微的工作^[22]。把 MEMS 的这些特点与药物释放技术结合起来，将赋予药物释放技术新的发展空间，科学家们已经开始了这方面的尝试。

一、药物芯片的研制

1999 年，Langer R^[23]等首先将微制造技术应用到药物释放领域中，制备了药物芯片释放系统，见图 1.1。该药物芯片是以单晶硅为介质，通过传统微电子技术：光刻、刻蚀等在硅片上蚀刻出若干小槽——用来储存药物，称为储药格，储药格的一端用金膜进行封口。每片封口金膜作为阳极并通过单独的导线连出，这样通过施加合适的氧化电位就可以将金膜溶解掉，储药格中的药物就会溶出扩散出来，见图 1.2。每个储药格都可以单独控制它的打开与否，这样就可以获得多种药物释放模式，包括连续释放和脉冲释放。2004、2005 年 Langer 课题组对制备的芯片进行了简单的封装后进行了动物实验，研究了芯片植入体内后药物释放的动力学过程，体内进行的模型药物卡氮芥（BCNU）的释放显示了对肿瘤组织生长明显的抑制作用^[24]。

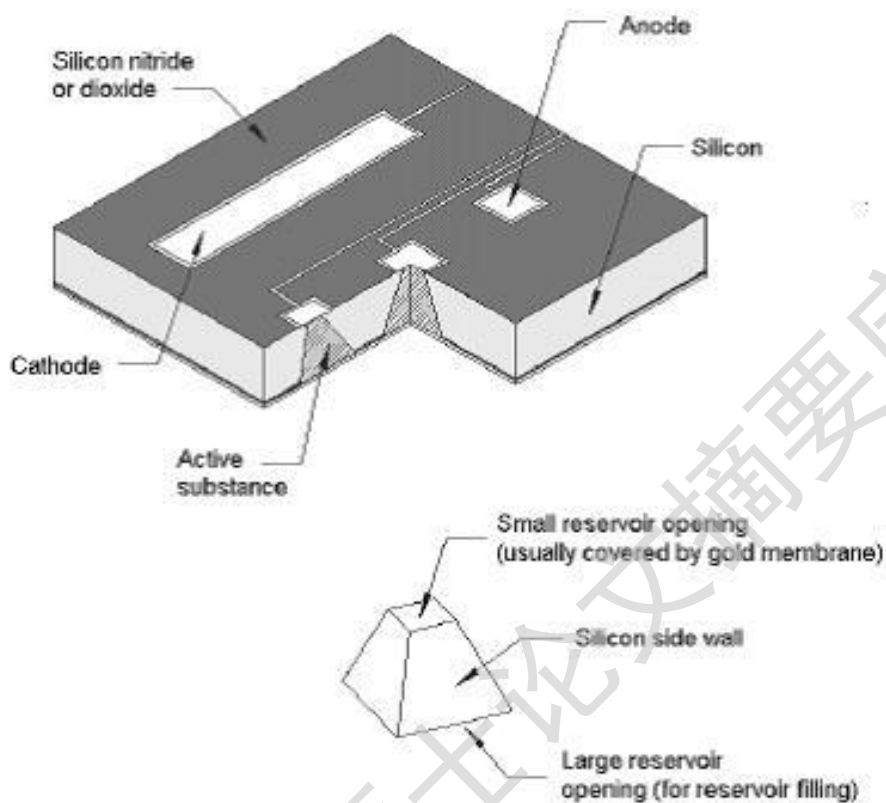


图 1.1 药物芯片的结构示意图^[25]

Fig. 1.1 Structure of drug delivery chip

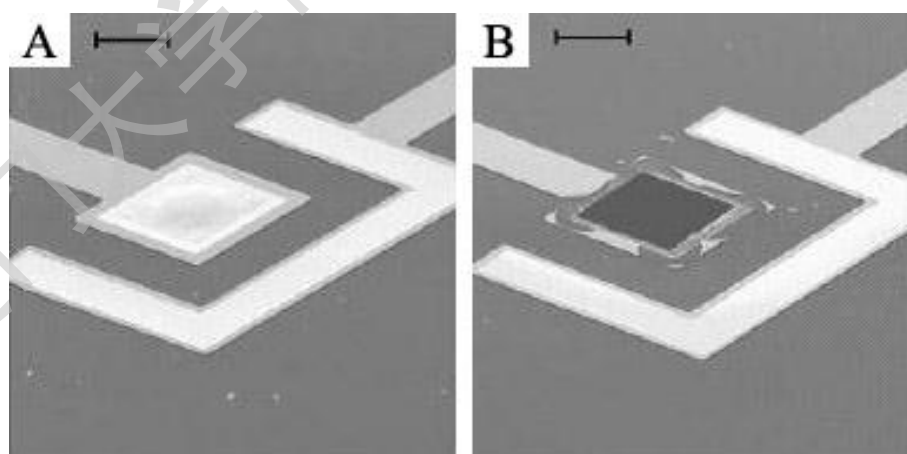


图 1.2 (A)通电前完整的金膜；(B)通电后金膜被腐蚀掉，储药格打开^[25]。

Fig. 1.2 (A) Complete gold membrane; (B) Au film after electricity was out corrosion, and lattice of drug reservoir open.

Maloney JM 等^[24]在该药物芯片的基础上做了进一步的改进，他将打开金膜

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库