

学校编码: 10384
学号: 24020051302557

分类号__密级__
UDC__

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

智能型聚吡咯药物芯片的制备与性能研究

The Preparation and Properties of Intelligent Polypyrrole

Microchips for Drug Delivery

田向东

指导教师姓名: 葛东涛 副教授

石巍 副教授

专 业 名 称: 生物医学工程

论文提交日期: 2008 年 8 月

论文答辩时间:

学位授予日期:

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2008 年 8 月

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()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()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):

年 月 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）：

年 月 日

摘 要

药物芯片是应用微机电技术 (MEMS), 将微型化、智能化、集成化、可控化的特点整合到药物释放领域中, 所开创的新一代药物释放体系。药物芯片具有的潜在微电子集成性, 按需按时的给药方式, 以及微小灵活的个体体积, 使其在药物分析、分析化学、化学检测、组合化学、微生物学、特别是疾病治疗中具有很大应用前景。目前所制备的药物芯片基本上以单晶硅为基底, 通过微机电技术、显微操作技术完成芯片的制备; 制备好的芯片可按照设定的方式进行药物的存储与释放。药物芯片的优点是体积微小, 不同生产批次间重复性高, 但目前药物芯片的制作工艺繁琐, 特别是储药技术要求较高。针对现有药物芯片的不足之处, 本论文将导电聚合物聚吡咯 (PPy) 所具有的药物储存释放性能与硅芯片技术相结合, 制备出了一种新型的聚吡咯药物芯片。该药物芯片具有药物储存简单、药物释放模式多样、细胞相容性好的特点。

本论文的主要研究内容如下: (1) 通过 MEMS 技术在硅片的表面构建由若干金微电极组成的金电极阵列; (2) 通过电化学法依次在每个金微电极上生长掺杂了相同或不同药物的聚吡咯膜 (Ppy-Drug), 以获得基于聚吡咯的药物芯片; (3) 对上述制备出的药物芯片, 通过外部施加电位的变化进行药物控制释放研究; (4) 对药物芯片进行细胞毒性测试。

主要研究结果如下: (1) 在面积为 $6.0\text{mm} \times 6.0\text{mm}$ 的硅片表面制备出数目为 6×6 , 每个电极尺寸为 $150\mu\text{m} \times 150\mu\text{m} \times 0.3\mu\text{m}$ 的金微电极阵列; (2) 制备出固载了药物磺基水杨酸 (SSA) 和三磷酸腺苷 (ATP) 的聚吡咯药物芯片; (3) 药物芯片释放药物的速率可以通过改变释放电位进行调节, 药物芯片释放药物的模式 (连续释药或脉冲释药) 可以通过改变释放药物的电极数目、释放时间以及释放次序进行调节; (4) 药物芯片的稳定性可以通过制备双层聚吡咯膜进行改善, 而双层膜的存在又可以进一步对药物释放的速率进行调控; (5) 细胞毒性测试 (MTT) 结果显示药物芯片具有良好的细胞相容性。

关键词: 药物芯片; 电控制释放; 聚吡咯

ABSTRACT

Controlled-release microchips are designed and fabricated based on microfabrication techniques, which have the characteristic of subminiature, intelligent, integration and controllable. They are a new class of controlled-release systems for drug delivery. Their small size, potential for integration with microelectronics, and ability to store and release chemicals on demand could make controlled-release microchips useful in a number of areas, including medical diagnostics, analytical chemistry, chemical detection, combinatorial chemistry, microbiology, and, more importantly, therapeutics. Although the microchips have the ability to store and release multiple chemical substances on demand and the advantage of easy to industrialization, the process of the fabrication is time-consuming, especially the process of drugs deposited into the reservoirs. In this paper, we combine conducting polymers-Polypyrrole (PPy) with microchips to generate a new class of microchips. Polypyrrole have the ability of controlling drug administration through electrical stimulation. Devices for this study have the advantage of loading drugs conveniently, achieving many complex release patterns, having good cytocompatibility. The main work included as following:

(1). A solid-state silicon microchip, consisting of an array of microelectrode, was fabricated with microfabrication techniques; (2). PPy film doped with drugs was electrochemically deposited on each the gold microelectrode on the microchip; (3). The release of drugs was electrochemically controlled from conducting polymer polypyrrole coated microelectrode, the relationship between the release potential and release velocity was also studied; (4). Evaluate the cytocompatibility of the microchips;

It was found that: (1) A controlled-release microchip, a 6×6mm square silicon device, containing thirty-six microelectrodes on its surface was prepared. Each microelectrode made of gold has a size of 150μm×150μm×0.3μm. (2) SSA doped polypyrrole controlled-release microchips, ATP doped polypyrrole controlled-release

microchip were prepared. (3) In the case of step potential stimulation, the release velocity of drugs incorporated in PPy was not only controlled by adjusting the reduced potential, but also the controlled-release microchips can work in a pulsatile or continuous drug release manner. (4) Improvement the stability of the controlled release microchips by bilayers PPy with PPy-drugs as inner layers and PPy-NaCl as outer layers, at the same time the release rate of drugs were changed accordingly. (5) The microchips have good cytocompatibility.

Key words: Microchip; Electrically controlled drug release; Polypyrrole (PPy);

目 录

第一章 绪论	1
引 言	1
1.1 智能型药物控制释放系统	1
1.1.1 智能控制释放系统概述.....	1
1.1.2 智能水凝胶分类.....	1
1.1.3 智能型药物释放系统.....	4
1.1.4 智能控释技术的问题与展望.....	6
1.2 微机电技术在药物释放领域中的应用	7
1.2.1 微机电系统技术概述 ^[37-40]	7
1.2.2 微机电系统技术在药物释放领域的应用.....	9
1.3 导电高分子聚吡咯在药物释放领域中的应用	13
1.3.1 聚吡咯 (PPy) 的结构特点及其用于药物释放的原理.....	14
1.3.2 以聚吡咯为载体进行药物释放的综述.....	15
1.3.3 以聚吡咯为药物载体进行药物控制释放的机制.....	16
1.4 本论文的研究目的和主要研究内容	16
1.4.1 目前药物芯片的优点及缺点.....	16
1.4.2 本论文的研究目的.....	17
1.4.3 主要研究内容.....	18
参考文献	19
第二章 药物芯片的制备及其性能测试	24
引 言	24
2.1 实验部分	24
2.1.1 实验试剂及仪器.....	24
2.1.2 硅芯片上金微电极阵列的制备.....	26
2.1.3 固载磺基水杨酸的聚吡咯药物芯片 (PPy-SSA 药物芯片) 的制备	
.....	27
2.1.4 固载三磷酸腺苷的聚吡咯药物芯片 (PPy-ATP 药物芯片) 的制备	
.....	28

2.1.5 聚吡咯药物芯片的数码照片.....	28
2.1.6 聚吡咯药物芯片的扫描电镜表征.....	28
2.1.7 循环伏安测试.....	28
2.1.8 磺基水杨酸标准曲线的制作.....	28
2.1.9 三磷酸腺苷标准曲线的制作.....	29
2.1.10 磺基水杨酸电控制释放研究.....	29
2.1.11 磺基水杨酸的自释放研究.....	29
2.1.12 三磷酸腺苷电控制释放研究.....	30
2.2 实验结果.....	30
2.2.1 金微电极阵列的示意图.....	30
2.2.2 硅芯片表面金微电极阵列在金相显微镜下的数码照片.....	31
2.2.3 聚吡咯药物芯片金相显微镜下的数码照片.....	31
2.2.4 聚吡咯药物芯片的扫描电镜照片.....	33
2.2.5 循环伏安曲线.....	35
2.2.6 磺基水杨酸工作曲线.....	37
2.2.7 三磷酸腺苷工作曲线.....	38
2.2.8 PPy-SSA药物芯片释药研究.....	38
2.2.9 单层PPy-SSA和双层PPy-Cl/PPy-SSA（厚度比 1/10）、 PPy-Cl/PPy-SSA（厚度比 1/2）的自释放研究.....	49
2.2.10 PPy-ATP药物芯片释药研究.....	50
2.3 结果讨论.....	54
2.3.1 聚吡咯释放药物原理.....	54
2.3.2 聚吡咯膜厚及掺杂量的计算.....	55
2.3.3 影响聚吡咯控制药物释放的因素.....	56
2.3.4 应用前景.....	57
参考文献.....	59
第三章 芯片的细胞相容性研究.....	61
引 言.....	61
3.1 实验部分.....	61

3.1.1 实验试剂及仪器.....	61
3.1.2 细胞培养所需试剂配制.....	63
3.1.3 细胞培养.....	63
3.1.4 MTT实验.....	64
3.2 实验结果.....	65
3.2.1 OD值与材料毒性评级.....	65
3.3 讨论.....	69
第四章 主要结论和研究展望.....	71
4.1 主要结论.....	71
4.2 研究展望.....	72
硕士期间发表论文情况.....	73
致谢.....	74

Contents

CHAPTER 1 INTRODUCTION.....	1
PREFACE	1
1.1 THE REVIEW OF INTELLIGENT DRUG CONTROLLED RELEASE SYSTEM	1
1.1.1 General summary for intelligent drug controlled releae system.....	1
1.1.2 The category of intelligent hydrogels	1
1.1.3 Intelligent drug controlled releae system.....	4
1.1.4 Current problems and prospsects.....	6
1.2 THE APPLICATION OF MICROFABRICATION TO DRUG DELIVERY	7
1.2.1 Introduction of the Micro Electro Mechanical System ^[37-40]	7
1.2.2 MEMS technology for drug delivery	9
1.3 THE APPLICATION OF POLYPYRROLE(PPY) IN DRUG DELIVERY SYSTM.....	13
1.3.1 The structure characteristic of PPY	14
1.3.2 Controlled release devices based on PPy	15
1.3.3 The controlled release mechanism of PPy based drug delivery system	15
1.4 MAIN FOCUS OF THIS THESIS	16
1.4.1 advantages and disadvantages of the controll-release microchip	16
1.4.2 The pursuit of this thesis	17
1.4.3 Main focus of this thesis	18
REFERENCES.....	19
CHAPTER 2 PREPARATION AND PERFORMANCE	
TESTING OF THE CONTROLLED-RELEASE MICROCHIPS	
.....	24
PREFACE	24
2.1 EXPERIMENT.....	24
2.1.1 Main reagents and apparatus.....	24

2.1.2 Fabrication of gold microelectrodes array on a silicon chip.....	26
2.1.3 Preparation of SSA/PPy microchip.....	27
2.1.4 Preparation of ATP/PPy microchip	28
2.1.5 Digital photos of PPy microchip.....	28
2.1.6 SEM images of PPy microchip.....	28
2.1.7 Cyclic-voltammetric curves of PPy	28
2.1.8 standard curves of SSA by fluorospectrophotometer.....	28
2.1.9 standard curves of ATP by bioluminescence.....	29
2.1.10 Cyclic-voltammetric curves of PPy	29
2.1.11 Electrically controlled release of SSA from the microchips	29
2.1.12 Electrically controlled release of ATP from the microchips	30
2.2 RESULTS.....	30
2.2.1 The schematic of microelectrodes array on a silicon chip.....	30
2.2.2 Digital photos of microelectrodes array on a silicon chip	31
2.2.3 Digital photos of PPy controlled-release microchip	31
2.2.4 SEM images of PPy controlled-release microchip	33
2.2.5 Cyclic-voltammetric curves of PPy doped with drugs	35
2.2.6 standard curves of SSA by fluorospectrophotometer.....	37
2.2.7 standard curves of ATP by bioluminescence.....	38
2.2.8 SSA controlled-release microchip release studies	38
2.2.9 PPy-SSA and PPy-Cl/PPy-SSA controlled-release microchip spontaneous release studies.....	49
2.2.10 ATP controlled-release microchip release studies.....	50
2.3 DISCUSSION.....	54
2.3.1 Mechanism of electrically controlled release drugs from the PPy	55
2.3.2 Calculation of the thickness and the mass of dopant of PPy	55
2.3.3 Influencing Factors on electrically controlled release drugs from the PPy-SSA	57
2.3.4 Application prospect of PPy controlled-release microchip	58
REFERENCES.....	59

CHAPTER 3 EVALUATE THE CYTOCOMPATIBILITY OF THE MICROCHIPS	61
PREFACE	61
3.1 EXPERIMENT.....	61
3.1.1 Main reagents and apparatus.....	61
3.1.2 Preparation of reagents for cell culture.....	63
3.1.3 cell culture.....	63
3.1.4 MTT test.....	64
3.2 RESULTS	65
3.2.1 OD value and evaluate the rank of cytocompatibility	65
3.3 DISCUSSION.....	69
CHAPTER 4 MAIN CONCLUSIONS AND EXPECTATION .	71
4.1 MAIN CONCLUSION	71
4.2 EXPECTATION	72
PUBLISHED DISSERTATION.....	73
ACKNOWLEDGEMENTS.....	74

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 绪论

引 言

药物控制释放技术最早应用于农业方面，主要用于化肥、农药的释放。60年开始向医学领域扩展，70年代中期开始用于设计大分子量药物（如多肽）的释放，80年代开始研究各种机制控制的药物释放体系，90年代人们开始向智能性控制释放进军。随着科学技术的飞速发展，各学科之间相互渗透、互相促进，新材料、新工艺的不断涌现大大促进了智能性药物控释技术的发展，智能性控制释放已成为控制释放领域最热门的研究之一^[1-4]。

1.1 智能型药物控制释放系统

1.1.1 智能控制释放系统概述

控释给药是一个重要的医药研究领域，时辰药理学研究使恒速释药体系也不能满足临床治疗疾病的需要，如糖尿病人使用胰岛素、对心律不齐病人用抗心律失常药、胃酸抑制剂控制胃溃疡、避孕药、癌症的化疗等^[5-7]；此外，时辰药理学的研究表明，某些疾病的发作显示出生理节奏的变化。因此，便需要一种能根据生理或病理需要而释放相应药量的系统，即近年来出现的智能式释药系统。智能给药系统可按照生理节律的需要调整药物的释药速率，这样可增加药物的耐受性，减少毒副作用，同时更好地发挥疗效。

智能给药系统能对外界的某种刺激信号，如磁场、光、温度、电场及特定的化学物质等，做出响应，根据刺激信号的性质、强弱调整药物的释放。依据刺激信号的不同，智能给药系统可以分为化学刺激响应性药物释放系统、物理刺激响应性药物释放系统和生物信号刺激响应性药物释放系统^[9-10]。

化学刺激响应性药物释放系统主要包括 pH 刺激响应性药物释放系统和化学物质刺激响应性药物释放系统两大类。

1.1.2 智能水凝胶分类

智能高分子材料又称智能聚合物、机敏性聚合物、刺激响应型聚合物、环境

敏感型聚合物，是一种能感觉周围环境变化，而且针对环境的变化能采取响应对策的高分子材料。外界环境刺激因素有：温度、pH、压力、声波、离子、电场、溶剂和磁场等，对这些刺激因素产生有效响应的智能高分子物质自身性质，如相、形状、光学、力学、电场、表面积、反应速度和识别性能等随之变化。智能高分子材料作为智能材料的一种已在生物医学、智能给药系统、化学转换器、记忆元件开关、传感器、人造肌肉、化学存储器分子分离体系、活性酶的固定、组织工程、化学化工等方面得到了广泛的应用^[11-15]，尤其在智能给药系统中备受关注。

pH响应性凝胶：这类凝胶中含有大量易水解或质子化的酸、碱基团，如羧基和氨基。这些基团的解离受外界pH的影响：当外界pH变化时，这些基团的解离程度相应改变；另外，这些基团的解离还会破坏凝胶内相应的氢键，使凝胶网络的交联点减少，造成凝胶网络结构发生变化，引起凝胶溶胀。pH敏感水凝胶通常含有可离子化基团，可分为阴离子型、阳离子型和两性型。其中阴离子型pH敏感水凝胶的研究以丙烯酸类单体的聚合物居多，其制得的水凝胶一般在pH值较低的介质中处于收缩状态，在pH值处于弱酸至弱碱之间时，溶胀率急剧增大，当介质的碱性再大时，凝胶又处于收缩态；阳离子型水凝胶的pH敏感主要来自链上碱性基团的质子化，其溶胀机理同阴离子型pH敏感水凝胶相似；而两性型pH敏感水凝胶骨架含有一定比例的酸、碱性基团，研究表明其在整个pH范围内都有一定的溶胀率，特别是在pH较高和较低处，溶胀率均很大，而在中间pH范围则较小。这主要是因为酸碱基团之间的相互作用，在弱酸、弱碱条件下，这种作用能加快溶胀速率；但在酸性或碱性较强时，两性水凝胶就与相应的阴、阳离子型水凝胶比较接近^[16-20]。

温敏性凝胶：温度敏感水凝胶随着温度的微小变化其体积变化可达数倍甚至几十，这一现象称为凝胶的相转变，发生这种相转变的温度称为水凝胶的相转变温度。目前已报道的温度敏感水凝胶有离子化的丙烯酸衍生物的共聚物，聚(N, N-二乙基丙烯酰胺)和聚(N-异丙基丙烯酰胺)等非离子型水凝胶。以N-异丙基丙烯酰胺(NIPPA_m)类均聚物和共聚物为例，这种智能材料有较低的临界溶解温度^[21]，当温度升高到其最低临界温度(LCST)以上会发生从溶胀的软透明状态到消胀的硬不透明状态的变化，其体积变化范围可达几十倍，并能快速吸收和释放水而体现出开关性能^[22]。对NIPPA_m进行改造如末端修饰，可赋予该材料

不同的智能特性。一般说，加入亲水末端可升高相转变温度，其原因为聚合链与水作用增强而延缓了相转变现象，如PNIPAAm-NH₂和PNIPAAm-OH。而加入疏水末端可降低相转变温度，如PNIPAAm-C18h35。利用这些材料制成的释药系统其释药只与外界温度有关，而与材料本身结构无关，可用于被动、主动靶向系统，增加由局部温度变化引起的定位释放。

化学物质影响性凝胶：化学物质敏感性水凝胶指其溶胀行为会因特定物质（如糖类）的刺激而发生变化，例如：将单体与葡萄糖氧化酶化合物在冷冻状态下辐照，可形成葡萄糖氧化酶固定化的水凝胶。此凝胶浸入葡萄糖溶液后，可将葡萄糖氧化为葡萄糖酸使pH值下降，从而导致叔氨基质子化而使凝胶溶胀，且溶胀体积随葡萄糖溶液浓度增大而增大。药物释放体系可依据病灶引起的化学物质（或物理信号）的变化进行自反馈，通过凝胶的溶胀与收缩调控药物释放的通、断。另外，可在相转变附近将生理活性酶、受体或细胞包埋入凝胶中，使其在目标分子等附近诱发体积相变而起作用^[23]。

磁场响应性水凝胶：包含有磁性微粒子的高吸水性凝胶称为磁场响应性凝胶。当把铁磁性“种子”材料预埋在凝胶中并置于磁场时，铁磁材料被加热而使凝胶的局部温度上升，导致凝胶膨胀或收缩，撤掉磁场，凝胶冷却恢复至原来大小。包埋铁磁材料的方法有：一种是将微细镍针状结晶置于预先形成的凝胶中；一种是以聚乙烯醇涂着于微米级镍薄片上，与单体溶液混合后再聚合成凝胶。

电场响应性水凝胶：电敏型凝胶也称为电活性凝胶，其溶胀性易受电场（或电流）的影响。电敏型凝胶在直流电场作用下，会发生电收缩现象。这是由于自由离子在电场作用下产生定向移动会造成凝胶内外离子浓度不均，形成渗透压变化引起凝胶变形。再一个原因是自由离子定向移动会造成凝胶内不同部位pH值不同、从而影响凝胶中聚电解质电离状态，使凝胶结构发生变化，造成凝胶形变。电敏凝胶一般是由交联聚合电解质（分子链上带有可离子化基团的高分子）网络组成。在此类凝胶中，荷电基团的抗衡离子在电场中迁移，使凝胶网络内外离子浓度发生变化，导致凝胶体积或形状的改变。电敏感凝胶在直流电场作用下发生电收缩的同时放出所含的水。网络上带正电的凝胶，在电场作用下，水分从阳极放出，带负电的凝胶，水分从阴极放出，中性凝胶不发生电收缩现象。

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