



МИКРОФЛУИДНИ ЧИП ЗА ДЕТЕКЦИЈУ РАЗЛИЧИТИХ ЛЕКОВА

MICROFLUIDIC CHIP FOR DETECTION OF VARIOUS DRUGS

Катарина Ђоћић, Горан Стојановић, *Факултет техничких наука, Нови Сад*

Област – Биомедицинско инжењерство

Кратак садржај – Фалсификовани лекови су велики проблем данашњице, а комерцијално доступне методе за анализу лекова имају одређена ограничења. У циљу истраживања нових техника испитивања и анализе лекова, а за потребе овог мастер рада, развијена је микрофлуидна платформа са сребрним електродама. Направљена је комбинацијом три технике фабрикации. Предложена микрофлуидна платформа се може користити за разликовање правих и лажних лекова на основу измерених вредности електричних параметара, као што су отпорност или капацитивност сребрних електрода.

Кључне речи: микрофлуидни чип, ксурографија, импедансна спектроскопија, детекција лекова

Abstract – Nowadays, counterfeit drugs are common problem and the bulk methods for drug analysis have a lot of limitations. In order to explore new techniques of drug testing and analysis, a microfluidic platform with silver electrodes was developed. It was made with a combination of three fabrication techniques and proved to be a good basis for further development of more complex microfluidic systems. The proposed microfluidic platform can be used to differentiate the right drugs, what is achieved by measuring electrical parameters such as the resistance or capacitance between the pairs of silver electrodes.

Keywords: microfluidic chip, xurography, impedance spectroscopy, drug detection

1. УВОД

Производња лекова представља дуготрајан и компликован процес, који захтева велику количину новчаних ресурса. Да би један лек доспео на тржиште, потребно је утрошити око 10 до 15 година и од 1.5 до 1.8 милијарди долара [1]. Са друге стране, процењује се да је око 10 % лекова на тржишту фалсификовано [2] што указује на потребу развоја нових и ефикасних технологија за анализу и детекцију лекова.

Последице лажирања лекова могу бити погубне за јавно здравље, при чему је највише оваквих случајева забележено на територији Азије [3]. У Кини је у 2013. години забележено чак 147 322 случаја чија тотална штета је била око 983 милиона долара [4].

НАПОМЕНА:

Овај рад проистекао је из мастер рада чији ментор је био др Горан Стојановић, ред. проф.

У циљу истраживања нових техника испитивања и анализе лекова, а за потребе овог мастер рада, развијен је микрофлуидни чип са сребрним електродама. Направљен је комбинацијом три технике фабрикации и показао се као добра основа за развој сложенијих микрофлуидних система.

2. МИКРОФЛУИДИКА

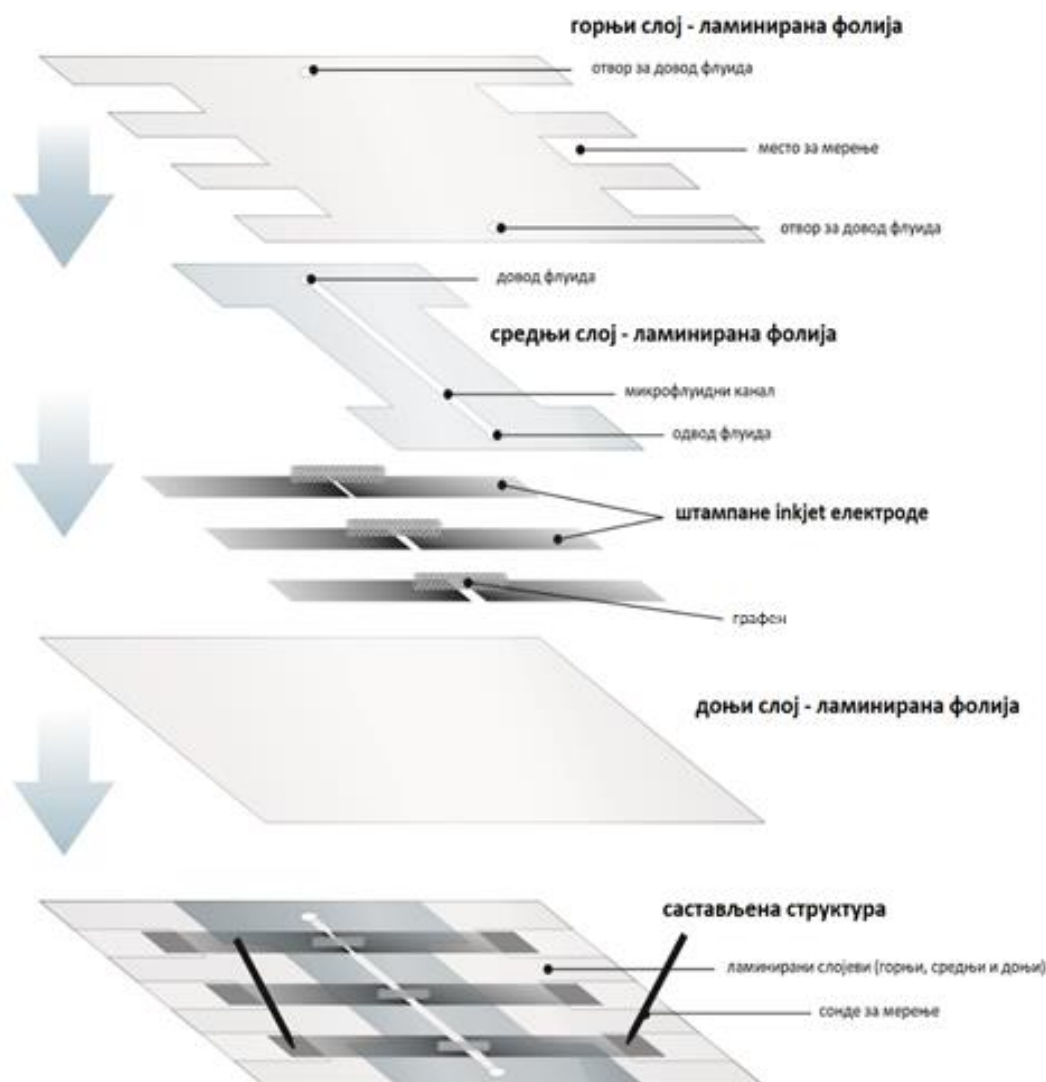
Микрофлуидика је мултидисциплинарна област која се бави проучавањем тока флуида запремине од микролитара (10^{-6}) до пиколитара (10^{-12}) у каналима димензија од десет до хиљаду микрометара [5]. Основна предност микрофлуидних система у односу на макросистеме је могућност посматрања концептуално другачијег понашања флуида. Тако нпр. силе вискозности имају знатно већу улогу у односу на силе инерције, те је захваљујући томе, ток унутар канала микрофлуидних чипова претежно ламиран [6]. Са друге стране, притисак у каналима малог пречника постаје изузетно велики, а флуиди који су њутновски на основној скали могу постати нењутновски при високим вредностима флукса. Електро-кинетички ефекти се јављају на граници течности и канала због хемијских реакција, па се захваљујући томе јавља електро-осмотски ефекат и електрофореза [7].

Микрофлуидика је релативно нова технологија која потиче од четири научне дисциплине [5]: молекуларне анализе, биоодбране, молекуларне биологије и микроелектронике. Прва допринос је од стране молекуларне анализе у домену хемије и биохемије, када је откривено да је на веома малим узорцима течности могуће постићи високу резолуцију и осетљивост методама као што су капиларна електрофореза, хроматографија течности под високим притиском и гасна хроматографија. Са друге стране, 90-тих година прошлог века, Министарство обране Уједињених нација је уложило велике количине ресурса за израду микрофлуидних система за детектовање хемијског и биолошког оружја, које се сматра највећом терористичком претњом. Трећи утицај долази у време развоја геномике, када је потврђено да микроанализе у овој области решавају одређене проблеме посматрања ДНК у односу на принципе класичне биологије. Четврти утицај, али не и најмање важан, долази од стране нових технологија израде микроелектронских чипова, када се показало да су за испитивање ћелија сисара погоднији еластомери, уместо тадашњих материјала - силикона и стакла [5].

3. ДИЗАЈН МИКРОФЛУИДНОГ ЧИПА

Предложена микрофлуидна платформа дизајнирана је као транспарентна трослојна структура направљена

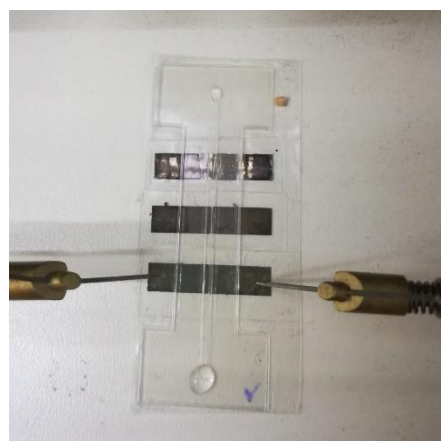
од поливинилхлорид фолије (PVC), чији је шематски приказ представљен на слици 1.



Слика 1. Шематски приказ дизајниране микрофлуидне платформе

На доњој фолији, која има улогу супстрата, су одштампане сребрне електроде помоћу Inkjet штампача. Димензије електрода су 10 mm x 4 mm, а дебљина је око 250 nm. Између сва три пара електрода је направљено растојање од 0.1 mm, 0.3 mm и 0.6 mm, респективно.

У овом простору смештен је слој графена. У средњем слоју је направљен микрофлуидни канал помоћу катер плотера, коме се могу задати жељени облик и димензије. На горњем слоју фолије су направљени отвори за одвод и довод флуида. Сви слојеви су ламинирани на температури од 130 °C како би се добила компактна структура лака за руковање. Коначни изглед микрофлуидне платформе димензија 2.5 cm x 5.5 cm са сондама за мерење је приказан на слици 2.



Слика 2. Изглед фабриковане компоненте

5. РЕЗУЛТАТИ МЕРЕЊА

Одрађено је две врсте испитивања: а) мерење електричних параметара у циљу детекције правог лека и истог лека, али разблаженог и б) мерење електричних параметара у циљу разликовања различитих лекова са одговарајућом концентрацијом. За мерење параметара је коришћен импедансни анализатор HP4149A, приказан на слици 3.



Слика 3. Импедансни анализатор HP4149A

Као први корак је мерена електрична отпорност између сребрних електрода када су различити лекови били убризгани у микрофлуидни канал.

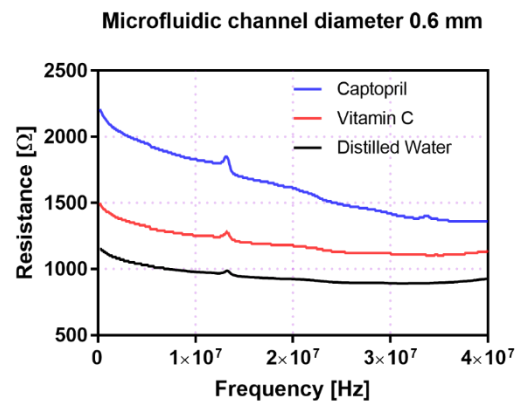
На сликама 4, 5 и 6 приказани су резултати отпорности у функцији фреквенције за три различита флуида – лек, витамин Ц и дестиловану воду.

На основу приложених графика се може закључити да је мерена отпорност на крајевима сребрних електрода, због непостојања јона, најмања за дестиловану воду. Осим тога, између електрода се налази графен који се одликују високом проводношћу што имплицира мању отпорност.

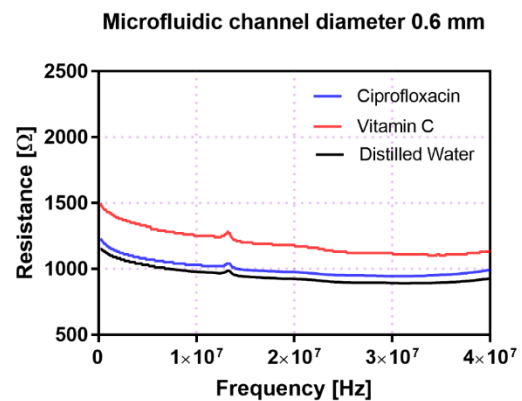
У случају витамина Ц на слици 4, отпорност је већа за око 34% у односу на дестиловану воду. Такође, лек *Captopril* се одликује највећом вредношћу електричне отпорности захваљујући уградњи честица лека у структуру угљеничних наноцевчица, које смањују првобитну велику проводност. Да ли ће лек имати већу или мању отпорност у поређењу са витамином Ц зависи највише од његове структуре и постојања количине активних јона.

На слици 5 се стога може приметити да је отпорност лека *Ciprofloxacin* мања од отпорности витамина Ц и приближна отпорности дестиловане воде, док је за *Diclofenac*, који је приказан на слици 6, ситуација слична као код лека *Captopril*.

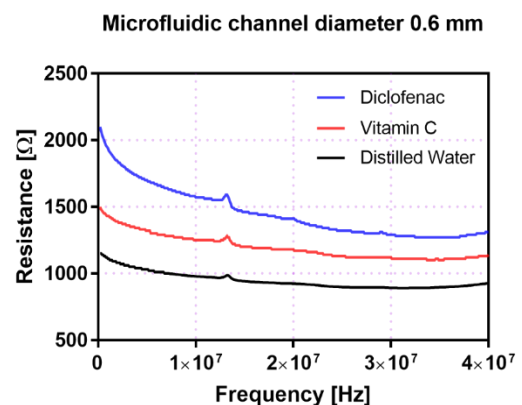
Овај уређај је у стању да детектује свако разблажење праве концентрације лека, што значи да описана микрофлуидна структура може открити прави и лажни лек (лек који садржи неодговарајуће активне супстанце или има мању концентрацију исте).



Слика 4. Отпорност у функцији фреквенције за три различита флуида на растојању између електрода од 0,6 mm



Слика 5. Отпорност у функцији фреквенције за три различита флуида на растојању између електрода од 0,6 mm



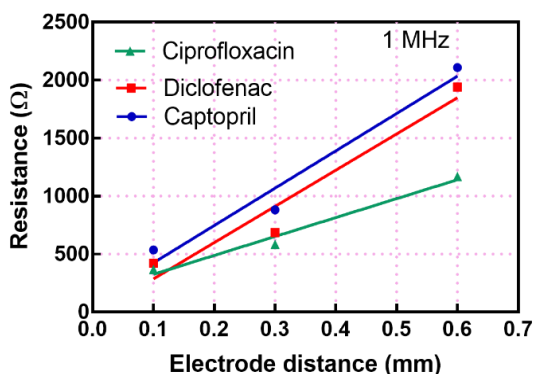
Слика 6. Отпорност у функцији фреквенције за три различита флуида на растојању између електрода од 0,6 mm

У другом делу експеримента, мерена је електрична отпорност и капацитивност између сребрних електрода за три различита лека унутар микрофлуидног канала: *Captopril*, *Ciprofloxacin*, *Diclofenac*.

На основу слике 7 може се закључити да отпорност расте, како се повећава растојање између електрода, што је у складу са следећом једначином:

$$R = \rho \frac{l}{S} \quad (1)$$

где је l дужина угљеничних наноцевчица. *Captopril* се одликује највишим вредностима електричне отпорности, затим *Diclofenac*, и на крају *Ciprofloxacin*.

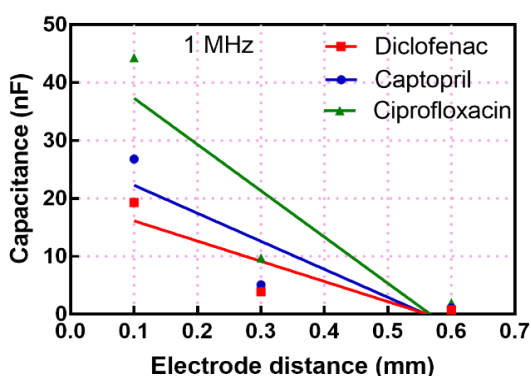


Слика 7. Отпорност као функција растојања између сребрних електрода

Стога можемо рећи да се на основу калибрационе криве лека може одредити његов тип, тј. предложени микрофлуидни чип може одредити који лек се налази у микрофлуидном каналу. Како би разликовање типова лекова било поуздано, потребно је да се њихове отпорности значајно разликују. У овом експерименту је то постигнуто на растојању између електрода од 0.6 mm. Са већом дистанцом микрофлуидног чипа, честице лека имају већу површину за уградњу у структуру графена, па су самим тим и разлике у вредностима електричних параметара веће. Ово доводи до могућности разликовања лека у микрофлуидном каналу. Супротно од отпорности, капацитивност се смањује са повећањем растојања између електрода, што је приказано на слици 8 и у складу је са следећом једначином:

$$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r S}{d} \quad (2)$$

где је d растојање између електрода, S површина и једнака је $w \cdot t$, где је w ширина, а t дебљина сребрних електрода. Измерена капацитивност је реда nF.



Слика 8. Капацитивност као функција растојања између сребрних електрода

6. ЗАКЉУЧАК

У жељи да се допринесе развоју микрофлуидике, развијена је микрофлуидна платформа за детекцију и анализу лекова комбиновањем три методе фабри-

кације. Развој микрофлуидике, као науке, може решити велики број проблема са којима се данас суочава фармацеутска индустрија. Отворени су нови аспекти решавања проблема, а развојем микрофлуидних чипова омогућена је појава нових метода за анализу лекова. Овим методама, анализа флуида постаје потпуно нова димензија, управо због особина које флуиди показују на микроскопском нивоу [1].

7. ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ping C., Sicen W., „Applications of microfluidic chip technology in pharmaceutical analysis: A review“, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2018.
- [2] Fadi El-Jardali, Elie A Akl, Racha Fadlallah, Sandy Oliver, Nadine Saleh, Lamya El-Bawab, Rana Rizk, Aida Farha, Rasha Hamra, “Interventions to combat or prevent drug counterfeiting: a systematic review”, *BMJ Open* 2015
- [3] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/substandard-and-falsified-medical-products>
- [4] Zhang M., Zhang J., Cheng T. C. E., Hua G., Xen Y., Liu Y., “The Effect of Unannounced Inspection on Prevention of Drug Discovery”, Vol. 28, No. 1, *Systems Engineering Society of China*, 2018
- [5] <https://www.fluigent.com/microfluidic-expertise/what-is-microfluidic/microfluidic-definitions-and-advantages/>
- [6] Damiati S., Kompella B. U., Damiati A. S., Kodzius R., „*Microfluidic Devices for Drug Discovery Systems and Drug Screening*“, Vol. 9, No. 103, *Genes*, 2018.
- [7] Whitesides M. G., “*The origins and the future of microfluidics*”, Vol 442, *Nature*, 2006.

Kratka biografija:



Катарина Ћоћић рођена је 1995. године у Краљеву. Завршила је Гимназију у Врњачкој Бањи 2014. година, а дипломирала на Факултету техничких наука 2018. године на тему „Упоредна анализа радио-фреквенцијске и микроталасне аблације канцера јетре“. Проглашена је за најбољег студента своје генерације.



Горан Стојановић докторирао је на Факултету техничких наука 2005. године, а од 2015. године је у звању редовног професора за ужу научну област Електроника. У својој досадашњој каријери је објавио више од 80 научних радова у часописима са импакт фактором. Тренутно је координатор или учесник 4 међународна пројекта из програма H2020.