



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101474541 B

(45) 授权公告日 2011. 01. 05

(21) 申请号 200810241260. 2

(56) 对比文件

(22) 申请日 2008. 12. 16

CN 101168717 A, 2008. 04. 30,

WO 2005118138 A1, 2005. 12. 15,

(73) 专利权人 深圳先进技术研究院

CN 2552003 Y, 2003. 05. 21,

地址 518067 广东省深圳市南山区南海大道
1019 号南山医疗器械产业园 3A

审查员 刁航

(72) 发明人 郑海荣 姜春香 靳巧峰 王战会

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 曾旻辉

(51) Int. Cl.

B01F 3/04 (2006. 01)

B01F 5/06 (2006. 01)

A61K 49/22 (2006. 01)

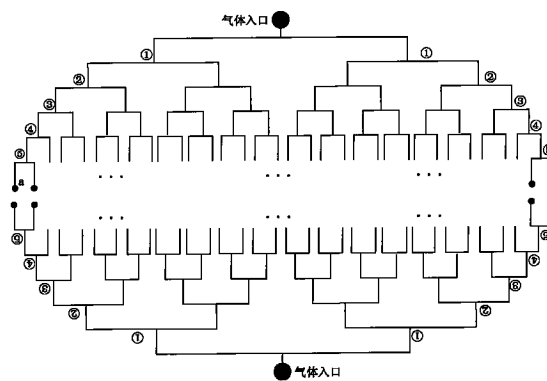
权利要求书 2 页 说明书 17 页 附图 7 页

(54) 发明名称

集成芯片及其装置、以及制备微米级分散体的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种集成芯片、一种采用该芯片的装置和一种制备微米级分散体的方法,该集成芯片的基质为表面亲水性基质;以两层相邻结构为一组结构,集成芯片包括至少一组结构;在一组结构中,第一层结构设置 M 级梯度,第二层结构设置 N 级梯度;M、N 是自然数,M 小于 N;各级梯度中,第一级梯度设置 H1 个通道 1,第二级梯度从每个通道 1 中引出 H2 个分支,形成 H1×H2 个通道 2,以此类推,第 N 级梯度从每个通道 (N-1) 中引出 HN 个分支,形成 H1×H2. ×HN 个通道 N。在远离各通道 M 的一侧,分别设置一收集通道;集成芯片还包括至少一与各收集通道的输出端相连接的收集槽,用于收集和导出产物。本发明的产率非常高,在大规模化生产造影剂方面具有绝对的优势。



1. 一种集成芯片,其特征在于,以两层相邻结构为一组结构,所述集成芯片包括至少一组结构;

在一组结构中,第一层结构设置 M 级梯度,第二层结构设置 N 级梯度;

其中, M、N 是自然数, M 小于 N;各级梯度中,第一级梯度设置 H1 个通道 1,第二级梯度从每个通道 1 中引出 H2 个分支,形成 $H1 \times H2$ 个通道 2,以此类推,第 N 级梯度从每个通道 (N-1) 中引出 HN 个分支,形成 $H1 \times H2 \dots \times HN$ 个通道 N;

在一组结构中,对于第一层结构的任一特定通道 M,均对应于第二层结构从一通道 M 所引出的在第 N 级梯度形成 $H(M+1) \times H(M+2) \dots \times H(N-1) \times HN$ 数量的特定通道 N;

其中,

各特定通道 N 的出口,等距分布在一预设置半径圆形的圆周;

对于该特定通道 M,其输出方向垂直于该圆形,其出口与该圆形的垂线通过该圆形的圆心,该特定通道 M 的出口与该圆心距离一特定长度;

各特定通道 N 的输出方向与所述垂线的夹角为相同锐角或直角;

沿该特定通道 M 的输出方向,在该圆形远离该特定通道 M 的一侧,设置一收集通道;

所述集成芯片还包括至少一与各收集通道的输出端相连接的收集槽,用于收集和导出产物。

2. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于, $M = N-1$ 。

3. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于,各特定通道 N 的输出方向通过该圆形圆心。

4. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于,通道 M 和通道 N 的横截面为矩形;所述矩形高度为 $20 \mu m$ 至 $30 \mu m$ 、宽度分别为 $30 \mu m$ 至 $50 \mu m$ 、 $50 \mu m$ 至 $100 \mu m$,或者,所述通道 M 和通道 N 的横截面矩形宽度分别为 $50 \mu m$ 至 $100 \mu m$ 、 $30 \mu m$ 至 $50 \mu m$ 。

5. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于,所述收集通道的结构至少包括以下结构其中之一:外向放大的锥体、球体、半球体或锥台体,其输入端的管径为 $7 \mu m$ 至 $25 \mu m$,高度为 $20 \mu m$ 至 $30 \mu m$;或者,圆柱体或长方体,其沿对应的特定通道 M 输出方向的截面积略小于该特定通道 M 沿该方向的截面积,高度为 $20 \mu m$ 至 $30 \mu m$ 。

6. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于,其基质为表面亲水性基质。

7. 根据权利要求 6 所述集成芯片,其特征在于,其基质为硅、玻璃、聚二甲基硅氧烷、聚甲基丙烯酸甲酯或聚碳酸酯。

8. 根据权利要求 1 所述集成芯片,其特征在于,第一层结构与第二层结构的组合,为气体通道结构与液体通道结构的组合。

9. 一种装置,其特征在于,包括:第一物质输入单元、第二物质输入单元、至少一如权利要求 1 至权利要求 8 任一所述集成芯片形成集成芯片阵列、贮存单元;

各集成芯片的收集槽,分别与所述贮存单元相连接,用于收集和导出产物;

所述第一物质输入单元分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第一物质;

所述第二物质输入单元分别从各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第二物质。

10. 根据权利要求 9 所述装置,其特征在于,所述第一物质输入单元与所述第二物质输

入单元的组合,为气体输入单元与液体输入单元的组合;或者,所述第一物质输入单元与所述第二物质输入单元均为液体输入单元。

11. 根据权利要求 10 所述装置,其特征在于,所述气体输入单元包括顺序连接的压力储气罐、减压阀、第一传输管、微流量计、调压阀和第二传输管,所述第二传输管分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接;

所述液体输入单元包括顺序连接的储液器、第三传输管、数字控制式注射泵和第四传输管,所述第四传输管分别与各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接。

12. 一种制备微米级分散体的方法,其特征在于,应用于一包括集成芯片阵列的装置中,所述集成芯片阵列由至少一如权利要求 1 至权利要求 8 任一所述集成芯片组成;

所述方法包括以下步骤:

A1、按第一预设条件,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入第一物质;按第二预设条件,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入第二物质;

A2、调节第一物质和/或第二物质的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的物质以同轴流动形式,由对应的各特定通道 N 的物质按轴向进行包裹,分别形成待收集产物流,其轴向与所述垂线重合;

A3、从各收集通道的输出端收集和导出产物。

13. 根据权利要求 12 所述方法,其特征在于,所述第一物质与所述第二物质的组合,为气体与液体的组合;所述气体至少包括氮气、氟碳类气体、氟硫类气体其中之一;所述液体至少包括磷脂类液体、表面活性剂类液体、上述液体的改性液其中之一。

14. 根据权利要求 12 所述方法,其特征在于,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入第一液体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入气体或第二液体;

步骤 A2 中,使各个第一层结构的各通道 M 输出的第一液体以同轴流动形式,由气体或第二液体按轴向包裹所述第一液体,分别形成待收集微液滴流。

15. 根据权利要求 12 所述方法,其特征在于,步骤 A1 中,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入气体,压力低于 10psi,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入液体,流速低于 $3\mu\text{L/s}$;步骤 A2 中,调节气体和/或液体的输入条件。

16. 根据权利要求 15 所述方法,其特征在于,步骤 A1 中,输入气体的压力低于 5psi,输入液体的流速低于 $1.5\mu\text{L/s}$ 。

17. 根据权利要求 15 所述方法,其特征在于,步骤 A1 中,所述液体预先加入特异性配体;或者,步骤 A3 之后,向所述产物加入特异性配体。

18. 根据权利要求 15 所述方法,其特征在于,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入气体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入液体;

步骤 A2 中,调节气体和/或液体的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的气体以同轴流动形式,按轴向包裹液体,分别形成待收集微球流。

19. 根据权利要求 18 所述方法,其特征在于,步骤 A2 中,各个第一层结构的各通道 M 输出的气体,分别在两侧高速流动的液体聚焦作用下形成中轴线位于所述垂线位置的稳定倒锥体,各倒锥体的尖端分别与各收集通道位置相对。

集成芯片及其装置、以及制备微米级分散体的方法

【技术领域】

【0001】 本发明涉及应用造影剂对比显像技术,尤其涉及的是,一种采用微流控技术制造微米级分散体的大规模集成芯片;一种采用该芯片的装置,可用于制备超声造影剂;以及采用该装置制备微米级分散体的方法,微米级分散体可以用作超声造影剂。

【背景技术】

【0002】 在临床诊断中,无创、实时、动态地检测有关组织的结构和功能信息已经变得日益重要。超声诊断技术不仅具有上述的特点,而且,与 X 射线、核磁共振成像技术相比,还具有安全、适应面广、可反复检查、对软组织的鉴别能力强、灵活性强及价格低廉等优点,是世界上使用最广泛的影像技术。

【0003】 应用造影剂对比显像是影像技术发展的核心内容。与各种影像技术相比,超声是应用范围最广泛但惟一未能常规应用造影剂的影像技术,对比超声技术的核心是超声造影剂。

【0004】 1968 年, Gramiak 等首次观察到经导管注射含气盐水可使右心显影增强,揭开了心脏声学造影的序幕。在这一阶段,人们主要利用通过手振生理盐水或 CO₂ 发泡剂等方法制作超声造影剂。其微泡直径较大、均一性不佳,难以通过肺循环。另外因为无外壳的保护,微泡中气体迅速在血液中弥散使得微泡存活时间短暂,有学者将这一时期的造影剂称为第 0 代超声造影剂。

【0005】 1984 年 Feinstein 等采用声振法制备得到稳定的微气泡才真正进入左心造影时代。最开始出现的是包裹空气的微泡,包裹空气的外壳材料种类繁多,大致可以分为:蛋白质外壳、脂质体外壳、表面活性剂外壳和高聚物外壳等,称为第一代超声造影剂。由于空气在血液中的溶解度和弥散度较大,微泡内的空气容易通过外壳弥散入血液,使得造影剂微泡变小或消失。另外,因为微泡的散射信号与直径的 6 次方成正比,只要有少量的空气溢出,微泡的直径轻度变小,就会使微泡的回声信号明显衰减。具有代表性的产品有美国的 Albunex、德国 Schering 公司的 Levovist,第一代的超声造影剂的稳定性和存活时间不够长,极大的限制了它的应用,2000 年后已逐渐退出造影剂市场及研究领域。

【0006】 从 1995 年以来,因为高分子量、低血液溶解度和弥散性的氟碳氟硫类气体的引入,使超声造影剂的存活时间及稳定性有了显著提高,称为第二代超声造影剂。具有代表性的超声造影剂美国的 Optison、**Definity®**、EchoGen 和 AI-700 等,意大利 Bracco 公司的 SonoVue (BR1) 和 BR14 等。

【0007】 目前,国外已有多种新一代产品上市,而国内没有自主上市的产品,意大利 Bracco 公司生产的是唯一被我国卫生部批准商品化的超声造影剂,价格十分昂贵。

【0008】 总而言之,常规超声造影剂是一种含高浓度微泡的悬浮液,微泡以白蛋白、脂质、表面活性剂或高聚物为外壳,平均直径约 2-4 微米,小于红细胞,经周围静脉注射后能够稳定的通过肺循环到达左心系统,进而抵达全身各器官。超声造影剂微泡与血液及人体组织的声阻抗差别极大,与超声波之间的作用非常复杂,可以改变所在部位的背向散射系数、衰

减系数、声速及其它声学特性,注入血管后能增强局部组织的超声回波能力,从而明显改善超声影像对组织血流灌注的显影效果,显著提高超声诊断的敏感性和特异性,突破了常规超声发展的瓶颈,进一步拓展超声诊断领域。

[0009] 并且,超声造影剂不仅可用于常规造影增强,还可用于靶向诊断和介入治疗,将特异性配体结合到造影剂微泡表面,使它到达感兴趣的组织或器官,选择性地与相应受体结合,从而达到特异性增强靶区超声信号或局部靶向治疗的目的。而介入治疗的研究,使超声造影剂的应用范围不断扩大,应用价值不断提升。

[0010] 例如,利用造影剂微泡降低超声空化阈值,从而促进超声溶栓或提高高功率聚焦超声的治疗效果;或利用超声波破坏携带基因或药物的造影剂微泡,使基因或药物靶向释放并促进其穿透,以介导基因转移或药物靶向治疗;或利用造影剂引导射频或微波治疗并即时评价治疗效果等。

[0011] 靶向超声造影剂的研究正成为超声影像学领域的热点。无论从活性基团的选择、修饰方法的发明、靶向作用的检测,还是体内药代药效研究和临床应用都取得了非常可喜的成绩。随着高分子材料的快速发展和微泡制备工艺的不断完善,微泡超声造影剂必将朝着更加个性化的方向发展,未来的微泡超声造影剂不仅能应用于不同生理和病理状态下的特异超声成像,还可以作为携带药物或治疗基因的载体,在治疗领域开辟一片新的天地。为此,国外医疗机构预测 超声造影剂不久将成为超声诊断或治疗中的常用试剂,具有巨大的社会效益和经济价值。

[0012] 目前,超声领域研究的热点集中在两方面:一是各种增强超声造影的成像技术,如:触发成像技术、二次谐波成像技术、次谐波成像技术、基波脉冲抵消成像技术、能量脉冲反向成像技术、低机械指数实时成像技术等;另一方面则是研究新的更加稳定可靠的超声造影剂。

[0013] 理想的超声造影剂应具备以下特性:(1) 安全无毒,粘稠度低,无生物活性,对循环系统没有生理上的影响,不明显稀释红细胞浓度;(2) 微泡大小符合要求,具有一定的气泡压力,使灌注后保持足够长的时间和足够强的回波强度;(3) 反射性好,衰减伪差小,回波信号及多普勒信号增强明显,能够发生谐波共振增大背散射面积;(4) 能静脉给药,体内稳定性好,使用方便,对造影显像的仪器条件没有极为特殊的要求,便于普及;(5) 具有稳定的浓度和剂型,易于消毒、灭菌、保存、运输,能够批量生产。

[0014] 目前最常用的制备超声造影剂微泡的方法是声振法和机械振荡法。

[0015] 声振法是利用超声波振荡时产生的高频变换的正负声压,其中的负声压使存在于造影剂制备液中的气体膨胀形成微小气泡,此时,制备液中的脂质或白蛋白、表面活性剂、多聚体等趁机包裹微小气泡形成稳定的造影剂微泡。超声造影剂中的白蛋白类、脂类、多聚体类、表面活性剂类等,其制备过程都是采用声振法。

[0016] 但是,声振法存在以下缺点:(1) 探头式声振仪的工艺参数,包括功率、探头在液面的位置、深度等,不易控制,工艺重现性受到一定影响;(2) 由于探头要放在制备液内部,因此在声振过程中很难做到无菌操作,并存在金属污染的可能,给造影剂的质量控制、制备工艺增加了一定难度;(3) 声振过程中产生较多的热量,对脂质的活性,尤其在制备携带某些配体、药物或基因的造影剂时,对同时声振的配体、药物或基因的活性产生很大的影响。

[0017] 机械振荡法是利用高频机械振荡时,制备液中各点受力的时相不同产生不同的正

负压力,其中的负压可使存在于制备液中的气体形成微小气泡。频率越高,正负压力的变换越快,负压的时间越短,气体膨胀越小,形成的气泡就越小;振幅越小,产生的负压力越小,相同时间情况下,由负压产生的气体膨胀越小,形成的气泡越小,由于制备超声造影剂需要形成较小的微泡,因此,制备超声造影剂的机械振荡装置需要较高的频率、较低的振幅。

[0018] 但是,机械振荡法存在以下缺点:(1) 造影剂微泡粒径大小不能够精确控制;(2) 形成的微泡粒径分布比较宽,声学特性不稳定,微泡中均含有一定数量大于 10 微米的微泡,这些大的微泡可能会造成局部血管的堵塞或者破裂,使得超声造影剂的使用潜存一定的风险性;(3) 形成微泡的外壳厚度不均匀;(4) 机械振荡方法来产生足够的力把气体从周围环境引入到液体溶液中形成气泡,振荡速度很大程度上决定形成微泡的数量和大小,如国内临床批准使用的造影剂 SonoVue,使用手摇的方式制备,重复性不够好。

[0019] 因此,现有技术存在缺陷,需要改进。

【发明内容】

[0020] 本发明所要解决的技术问题是提供一种实用的大规模微流控流动聚焦装置,以及粒径均一、可控制、单分散的声学性质稳定的超声造影剂制备方法,以制备粒径大小可控并且呈单分散性的超声造影剂。在此基础上,提供一种集成芯片、采用该集成芯片的装置和采用该装置制备微米级分散体的方法。

[0021] 本发明的技术方案如下:

[0022] 集成芯片的一种技术方案是,以两层相邻结构为一组结构,所述集成芯片包括至少一组结构;在一组结构中,第一层结构设置 M 级梯度,第二层结构设置 N 级梯度;其中,M、N 是自然数, M 小于 N;各级梯度中,第一级梯度设置 H1 个通道 1,第二级梯度从每个通道 1 中引出 H2 个分支,形成 H1×H2 个通道 2,以此类推,第 N 级梯度从每个通道 (N-1) 中引出 HN 个分支,形成 H1×H2.....×HN 个通道 N;

[0023] 在一组结构中,对于第一层结构的任一特定通道 M,均对应于第二层结构从一通道 M 所引出的在第 N 级梯度形成 H(M+1)×H(M+2).....×H(N-1)×HN 数量的特定通道 N;

[0024] 其中,各特定通道 N 的出口,等距分布在一预设置半径圆形的圆周;对于该特定通道 M,其输出方向垂直于该圆形,其出口与该圆形的垂线通过该圆形的圆心,该特定通道 M 的出口与该圆心距离一特定长度;各特定通道 N 的输出方向与所述垂线的夹角为相同锐角或直角;沿该特定通道 M 的输出方向,在该圆形远离该特定通道 M 的一侧,设置一收集通道;所述集成芯片还包括至少一与各收集通道的输出端相连接的收集槽,用于收集和导出产物。

[0025] 集成芯片的又一种技术方案是, M = N-1。

[0026] 集成芯片的又一种技术方案是,各特定通道 N 的输出方向通过该圆形圆心。

[0027] 集成芯片的又一种技术方案是,通道 M 和通道 N 的横截面为矩形;所述矩形高度为 20 μm 至 30 μm、宽度分别为 30 μm 至 50 μm、50 μm 至 100 μm,或者,所述通道 M 和通道 N 的横截面矩形宽度分别为 50 μm 至 100 μm、30 μm 至 50 μm。

[0028] 集成芯片的又一种技术方案是,所述收集通道的结构至少包括以下结构其中之一:外向放大的锥体、球体、半球体或锥台体,其输入端的管径为 7 μm 至 25 μm,高度为 20 μm 至 30 μm;或者,圆柱体或长方体,其沿对应的特定通道 M 输出方向的截面积略小于该

特定通道 M 沿该方向的截面积,高度为 20 μm 至 30 μm 。

[0029] 集成芯片的又一种技术方案是,其基质为表面亲水性基质。

[0030] 集成芯片的又一种技术方案是,其基质为硅、玻璃、聚二甲基硅氧烷、聚甲基丙烯酸甲酯或聚碳酸酯。

[0031] 集成芯片的又一种技术方案是,第一层结构与第二层结构的组合,为气体通道结构与液体通道结构的组合。

[0032] 装置的一种技术方案是,其包括:第一物质输入单元、第二物质输入单元、至少一集成芯片形成的集成芯片阵列、贮存单元;其中,集成芯片为上述任一关于集成芯片的技术方案,所对应的集成芯片;

[0033] 各集成芯片的收集槽,分别与上述贮存单元相连接,用于收集和导出产物;所述第一物质输入单元分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第一物质;所述第二物质输入单元分别从各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第二物质。

[0034] 装置的又一种技术方案是,所述第一物质输入单元与上述第二物质输入单元的组合,为气体输入单元与液体输入单元的组合;或者,所述第一物质输入单元与上述第二物质输入单元均为液体输入单元。

[0035] 装置的又一种技术方案是,所述气体输入单元包括顺序连接的压力储气罐、减压阀、第一传输管、微流量计、调压阀和第二传输管,所述第二传输管分别与上述集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接;所述液体输入单元包括顺序连接的储液器、第三传输管、数字控制式注射泵和第四传输管,所述第四传输管分别与上述集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接。

[0036] 制备微米级分散体的方法的一种技术方案是,应用于一包括集成芯片阵列的装置中,所述集成芯片阵列由集成芯片组成,其中,集成芯片为上述任一关于集成芯片的技术方案,所对应的集成芯片;装置为上述任一关于装置的技术方案,所对应的装置;

[0037] 所述方法包括以下步骤:A1、按第一预设条件,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入第一物质;按第二预设条件,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入第二物质;A2、调节第一物质和/或第二物质的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的物质以同轴流动形式,由对应的各特定通道 N 的物质按轴向进行包裹,分别形成待收集产物流,其轴向与上述垂线重合;A3、从各收集通道的输出端收集和导出产物。

[0038] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,所述第一物质与上述第二物质的组合,为气体与液体的组合;所述气体至少包括氮气、氟碳类气体、氟硫类气体其中之一;所述液体至少包括磷脂类液体、表面活性剂类液体、上述液体的改性液其中之一。

[0039] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入第一液体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入气体或第二液体;步骤 A2 中,使各个第一层结构的各通道 M 输出的第一液体以同轴流动形式,由气体或第二液体按轴向包裹上述第一液体,分别形成待收集微液滴流。

[0040] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A1 中,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入气体,压力低于 10psi,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入液体,流速低于 3 $\mu\text{L/s}$;步骤 A2 中,调节气体和/或液体的输入条件。

[0041] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A1 中,输入气体的压力低于 5psi,输入液体的流速低于 $1.5 \mu\text{L/s}$ 。

[0042] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A1 中,所述液体预先加入特异性配体;或者,步骤 A3 之后,向所述产物加入特异性配体。

[0043] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入气体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入液体;步骤 A2 中,调节气体和/或液体的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的气体以同轴流动形式,按轴向包裹液体,分别形成待收集微球流。

[0044] 制备微米级分散体的方法的另一种技术方案是,步骤 A2 中,各个第一层结构的各通道 M 输出的气体,分别在两侧高速流动的液体聚焦作用下形成中轴线位于所述垂线位置的稳定倒锥体,各倒锥体的尖端分别与各收集通道位置相对。

[0045] 采用上述方案,本发明提供了一种集成芯片、采用该集成芯片的装置和采用该装置制备微米级分散体的方法。在此基础上,本发明提供了一种实用的大规模微流控流动聚焦装置,以及粒径均一、可控制、单分散的声学性质稳定的超声造影剂制备方法,以制备粒径大小可控并且呈单分散性的超声造影剂;本超声造影剂制备简便、效果好且安全,制备的微泡外壳厚度均匀,具有很高的应用价值。

[0046] 最显著的优点是制作的超声造影剂微泡具有高度单分散性和粒径可控性,满足超声造影成像技术的要求。微泡粒径的多分散性指数 $< 2\%$,粒径随着气体压力的增加而变大,随着液体流速的增加而减小,控制非常灵活;同时,采用多个收集通道所形成的微喷嘴阵列大大提高了微泡的制备效率;生产装置具有重复使用性,降低了生产成本。

[0047] 并且,本发明的装置和方法可用于制备多种类型的微米级分散体,包括超声造影剂微泡,以及微液滴或其他微型混和物。常规的超声造影剂可直接用该装置制备,如脂类、白蛋白类、多聚体类、表面活性剂类等;通过加入特异性配体,还可以制备靶向超声造影剂,有些壳材,如蛋白分子,在高温和超声条件下失活,所以本发明方法解决了以往声振法所不能解决的技术问题。该发明装置对这两种方法都适用,特别是当采用后一种选择时更具有优势,其优点一是减少了制备环节,二是减少了制备环节微泡的破坏。而且,本发明装置在造影剂制备过程中产热少,因此尤其适合用于制备兼药物或基因靶向载体的超声造影剂。

【附图说明】

[0048] 图 1 为本发明实施例的超声造影剂制备装置的示意图;

[0049] 图 2 是本发明实施例的微流控大规模集成芯片的底层通道结构示意图;

[0050] 图 3 是本发明实施例的微流控大规模集成芯片的顶层通道结构示意图;

[0051] 图 4 是图 2 虚线框所示的喷嘴结构放大示意图;

[0052] 图 5 是本发明实施例的微泡形成示意图;

[0053] 图 6 是本发明另一实施例的微流控大规模集成芯片的示意图;

[0054] 图 7 是图 6 虚线框所示结构的放大图;

[0055] 图 8 是本发明实验一生成的微泡照片;

[0056] 图 9 是本发明实施例装置的另一种喷嘴结构示意图;

[0057] 图 10 是本发明实施例的连通腔中,各特定通道 N 的出口所在平面的示意图;

[0058] 图 11 是图 10 所示的纵向平面的示意图。

【具体实施方式】

[0059] 以下结合附图和具体实施例进行详细说明。

[0060] 超声造影剂微泡的粒径大小及其分布是超声造影剂的重要指标,然而,目前的超声造影剂制作方法如声振法、机械振荡法产生的微泡粒径分布范围较宽,且主要通过手摇或者振荡的方式形成,声学性质不稳定。因此,提出一种大规模微流控超声造影剂的制备方法及装置,结合目前较成熟的微纳米加工技术制作微流控大规模集成芯片,利用流动聚焦原理,制备出粒径大小可控制且高度单分散性的微泡,微泡外壳厚度均匀,不仅可以获得稳定的声学性质,也可以减少不同大小微泡之间的融合成大微泡的可能,具有更高的有效性和安全性,操作具有较好的重复性和可控性。

[0061] 因此,本发明提出一种采用了微流控技术的集成芯片,通过微流控方式,可大规模地制备微米级分散体,包括超声造影剂或其他微型混和物。

[0062] 集成芯片的基质为表面亲水性基质,所述表面亲水性基质包括亲水性基质、以及表面进行过亲水性处理的疏水性基质;需要说明的是,通道的材料不一定要有亲水性,但是,疏水性材料的效果没有亲水性材料的效果好,对于疏水性的材料,可将其表面处理为亲水性,也能获得类似于亲水性材料的效果;表面为亲水性的基质,可以很顺畅地产生微泡。

[0063] 一个例子是,其基质为硅、玻璃、聚二甲基硅氧烷、聚甲基丙烯酸甲酯或聚碳酸酯。其中,工艺上可满足结构要求、不易与通道内的气体、液体发生反应的材料均可作为基质,本发明对此不作任何额外限制;例如,聚二甲基硅氧烷具有良好的绝缘性,能承受高电压;热稳定性高,适合加工各种反应芯片;具有优良的光学特性,可应用于多种光学检测系统;此外,它还可以和硅、氮化硅、氧化硅、玻璃等许多材料形成很好的密封,其还具有高疏水性以及对生物大分子较强的表面吸附特性,因此已广泛应用于微流控芯片研究领域。

[0064] 以两层相邻结构为一组结构,所述集成芯片包括至少一组结构;即所述集成芯片可以包括两层结构,或者包括四层结构、六层结构、八层结构甚至更多。例如,所述集成芯片仅设置一组结构。即,所述集成芯片为偶数层结构,进行上下堆叠或倾斜堆叠而形成,各层结构的具体特征如下所述:所述集成芯片任一端的边缘层结构,与该边缘层结构相邻的层结构,组成了一组结构;所述集成芯片可以有一组结构,也可以有多组结构。集成芯片也可以平行排列而形成,即一组结构或多组上下堆叠的多层结构平行排列。

[0065] 在一组结构中,具有两层相邻的结构,其中,第一层结构设置 M 级梯度,第二层结构设置 N 级梯度;其中,M、N 是自然数,M 小于 N;各级梯度中,第一级梯度设置 H1 个通道 1,第二级梯度从每个通道 1 中引出 H2 个分支,形成 H1×H2 个通道 2,以此类推,第 N 级梯度从每个通道 (N-1) 中引出 HN 个分支,形成 H1×H2...×HN 个通道 N。优选的例子是,每级分支相对于前一级分叉的分支要均匀分布,主要是为了保证最后各通道出来的同样的液体的流速一致,或同样的气体的流速一致;即,第 N 级梯度从每个通道 (N-1) 中引出 HN 个分支,某一通道 (N-1) 所引出的 HN 个分支,相对于该通道均匀分布。

[0066] 其中,第一层结构的各通道 1,用于输入第一种物质;第二层结构的各通道 1,用于输入第二种物质。第一种物质和第二种物质,可以为不同的气体或液体,也可以为两种不同

的液体,还可以是,第一种物质为气体,第二种物质为液体,也可以是,第一种物质为液体,第二种物质为气体。例如,第一层结构作为气体通道,第二层结构作为液体通道;或者,第一层结构作为液体通道,第二层结构作为气体通道;或者,第一层结构作为第一种液体通道,第二层结构作为第二种液体通道。

[0067] 例如,第一层结构作为气体通道,第二层结构作为液体通道;此时,第一层结构的 H_1 个通道 1 分别连接气体输入口,第二层结构的 H_1 个通道 1 分别连接液体输入口;第一层结构的 $H_1 \times H_2 \dots \times H_M$ 个通道 M 分别连接气体输出口,第二层结构的 $H_1 \times H_2 \dots \times H_N$ 个通道 N 连接液体输出口。或者,第一层结构作为液体通道,第二层结构作为气体通道,其余类似,不做赘述。

[0068] 一个优选的例子是, $M = N - 1$, 即 M 比 N 小 1, 第一层结构的梯度数比第二层结构的梯度数少一层。例如, N 为 8, M 为 7。

[0069] 或者, M 比 N 小 2、3、4、…… 等等, 例如, N 为 8, M 为 4; 又如, N 为 6, M 为 3; 又如, N 为 9, M 为 7; 又如, N 为 21, M 为 12。本发明对此不做额外限制, 只需能够实现第一层结构与第二层结构梯度数的差异即可。

[0070] 其中, H_1 、 H_2 、 H_3 、…… H_M 、 $H(M+1)$ 、 $H(M+2)$ 、…… $H(N-2)$ 、 $H(N-1)$ 、 H_N 可以全部相同, 也可以部分相同, 还可以均不相同。例如, H_1 、 H_2 、 H_3 、…… H_M 、 $H(M+1)$ 、 $H(M+2)$ 、…… H_N 均为 2, 并且, $M = N - 1$, 这样通道 N 的数量是通道 M 的 2 倍; 这种情况下, 由于 H_1 为 2, 因此有两个气体入口和两个液体入口; 或者, H_1 为 2, H_2 至 H_N 均为 3; 或者, H_1 为 1, H_2 为 2、 H_3 为 3、 H_4 为 4、…… H_N 为 N; 或者, 其均不相同, 如 H_1 为 4, H_2 为 1、 H_3 为 6、 H_4 为 5、…… H_N 为 2。本发明对此不做额外限制, 只需能够实现各级分支结构即可。

[0071] 对于通道的形状, 各通道的横截面优选为矩形; 其中, 通道 M 横截面与通道 N 横截面, 可以为形状相同或者不相同的矩形, 例如, 所述矩形的高度为 $20 \mu\text{m}$ 至 $30 \mu\text{m}$, 通道 M 横截面的宽度为 $30 \mu\text{m}$ 至 $50 \mu\text{m}$, 通道 N 横截面的宽度为 $50 \mu\text{m}$ 至 $100 \mu\text{m}$; 或者, 通道 M 横截面的宽度为 $50 \mu\text{m}$ 至 $100 \mu\text{m}$, 通道 N 横截面的宽度为 $30 \mu\text{m}$ 至 $50 \mu\text{m}$; 或者, 通道 M 横截面与通道 N 横截面的宽度均为 $30 \mu\text{m}$ 至 $50 \mu\text{m}$ 。

[0072] 一个例子是, 通道为均一或不均一的长方体, 但是截面一定是矩形, 例如通道为一个正四棱锥台、一个横截面为相似矩形的四棱锥台、或一个梯形台。一个优选的例子是, 各通道为长方体, 通道的横截面为矩形, 其高度为 $20 \mu\text{m}$ 至 $30 \mu\text{m}$, 宽度为 $30 \mu\text{m}$ 至 $100 \mu\text{m}$ 。例如, 该矩形的高度为 $25 \mu\text{m}$, 宽度为 $40 \mu\text{m}$; 又如, 该矩形的高度为 $28 \mu\text{m}$, 宽度为 $35 \mu\text{m}$; 又如, 该矩形的高度为 $22 \mu\text{m}$, 宽度为 $45 \mu\text{m}$; 又如, 该矩形的高度为 $21 \mu\text{m}$, 宽度为 $85 \mu\text{m}$; 又如, 该矩形的高度为 $29 \mu\text{m}$, 宽度为 $65 \mu\text{m}$; 又如, 该矩形的高度为 $29 \mu\text{m}$, 宽度为 $75 \mu\text{m}$ 。

[0073] 一个优选的例子是, 通道 M 横截面与通道 N 横截面, 为高度相同的矩形。

[0074] 也就是说, 对于某一通道, 垂直于其通道方向的截面, 即该通道的通道截面作为所述横截面, 为正方形或长方形, 需要说明的是, 通道截面还可以为三角形、菱形、五边形或其他形状, 本发明对此不做额外限制; 对于各通道而言, 只需其通道截面的面积, 至少为 600 平方微米即可, 例如, 其通道截面的面积为 800 、 900 或 1000 平方微米。又如, 各通道为圆柱体或其他形体; 或者, 各通道还可以是弯折变向的方形体、圆形体或螺旋状, 例如呈 L 形、Y 形等; 此时, 通道的输出方向为其最后一段未弯折通道的方向, 例如, L 形通道的输出方向为变向后具有出口的一段通道的方向。

[0075] 在一组结构中,对于第一层结构的任一特定通道 M,均对应于第二层结构从一通道 M 所引出的 HM 个分支中的某一分支;该分支在第 M+1 级梯度形成 H(M+1) 个分支..... 在第 N 级梯度形成 $H(M+1) \times H(M+2) \dots \times H(N-1) \times H_N$ 数量的特定通道 N;即对于第一层结构的任一通道 M,在第二层结构中,与该第一层结构通道 M 对应的第二层结构通道 M 在下一级梯度将引出 H(M+1) 个分支,这些分支最终在第 N 级梯度形成 $H(M+1) \times H(M+2) \dots \times H(N-1) \times H_N$ 个通道 N,与该第一层结构通道 M 相对应。

[0076] 其中,各特定通道 N 的出口等距分布在一预设置半径圆形的圆周,即,这些通道 N 的出口排列形成正多边形,并位于正多边形上的各个顶点;例如,这些通道 N 的出口形成正三角形、正方形、正五边形、正六边形..... 正 99 边形、正 100 边形、正 101 边形等等;特殊的,当仅有两个通道 N 时,出口位于该预设置半径圆形的某一直径的两端。其中,预设置半径可根据实际情况而设置,例如,根据不同的反应物、不同的反应条件,预设置该圆形半径的大小。圆形的半径与通道的尺寸有关系,以第一层通道输入气体,第二层通道输入液体为例,气体出口垂直于前述圆形时,液体出口均布在气体出口的周边即可。例如,该圆形半径为 150 μm 至 1500 μm ,更具体的例子是,该圆形半径可为 250 μm 、500 μm 、700 μm 、1100 μm 、1200 μm 、1400 μm 等等。优选的是,该圆形半径与通道的宽度相对应,通道的宽度越大,则该圆形半径越大。

[0077] 需要说明的是,当尺度较小时,例如,以微米级进行量度时,通道的出口、以及收集通道的输入端,往往是一个面的概念;而本发明各实施例中,凡是涉及到点与点之间的连线,应理解为出口面的中心点,或者,输入端的面的中心点;例如,一个三角形或矩形的几何中心点;或者,大致为出口面的中心点,或输入端的面的中心点。这样,出口排列形成正多边形,才能获得更好的精度。并且,出口之间的连线、出口与收集通道的输入端之间的连线才能更精确,以获得更好的效果。

[0078] 一个例子如图 10 所示,有六个特定通道 N,其出口等距分布在一预设置半径圆形的圆周,六个出口形成一正六边形,位于一横向平面中,该横向平面位于一连通腔中,液体分别从各个特定通道 N 的出口流向该预设置半径圆形的圆心,即,液体出口到圆心的距离相同,并且排列为正六边形;并且,正六边形中,任意两个相对的特定通道 N,位于一个纵向平面内;例如任意两个相对的特定通道 N,与该预设置半径圆形的圆心形成对称或大致对称关系。

[0079] 上例中,任一纵向平面如图 11 所示,两个相对的特定通道 N,对于该特定通道 M 的出口与该圆形的垂线,形成轴对称关系;第一层气体从出口输出之后,继续再流动一段距离,即一段特定长度,该特定长度主要是与第二层液体通道矩形横截面的高度或宽度有关系,例如,该特定长度为液体通道横截面的宽度或高度的 25% 至 75%,如通道横截面的高度的 30%、40%、50%、60%、70% 等等,优选的例子是,当只有两个液体通道和一个气体通道时,所有出口全部在一个平面内,如图 4 和图 5 所示,气体通道出口与圆心的距离就是液体通道横截面的宽度的一半;当有多个液体通道,气体通道出口垂直于液体通道出口所在平面时,气体通道出口与圆心的距离就是液体通道横截面的高度的一半。之后气体与液体混合,在进入所述收集通道的输入端之前,形成待收集产物流,通过收集通道进行收集;例如,形成倒锥体或其他形状的待收集产物流,通过收集通道进行收集。

[0080] 上面这两个例子,描述的是偶数个特定通道 N,任一纵向平面具有形成轴对称关系

或大致对称的一对特定通道 N ;需要说明的是,如果是奇数个特定通道 N,虽然在纵向平面上不能形成一对特定通道 N,但是,同样可实现本发明的效果。例如,五个特定通道 N,其出口等距分布在一预设置半径圆形的圆周,五个出口形成一正五边形,位于一横向平面中,该横向平面位于一连通腔中,液体分别从各个特定通道 N 的出口流向该预设置半径圆形的圆心。

[0081] 该特定通道 M 的输出方向垂直于该圆形,该特定通道 M 的出口与该圆形的垂线通过其圆心,即这个通道 M 的输出方向与圆形所在的平面相垂直,这个通道 M 的出口在该平面的投影位于该圆形的圆心。各特定通道 N 的输出方向与所述垂线的夹角相同,并且,这些夹角为锐角;例如,各特定通道 N 的输出方向通过该圆形圆心,各特定通道 N 根据其数量,位于该圆形的各等分线上,假设有 3 个特定通道 N,则相邻两个特定通道 N 之间的夹角为 120 度;或者,各特定通道 N 可组成一个直圆锥体,该直圆锥体以该特定通道 M 的输出方向为旋转轴,各特定通道 N 与该旋转轴的夹角相同,并且,这些夹角为锐角;例如,夹角均为 30 度、45 度、60 度、75 度或 80 度等等。例如,由于各特定通道 N 的出口等距分布在一预设置半径圆形的圆周,当各特定通道 N 的数量为偶数时,对称于该旋转轴的两条特定通道 N 的出口,所对应的两条特定通道 N 形成一包括该旋转轴的平面,并且,两条特定通道 N 在其输出方向上,可形成一等腰梯形。例如,各特定通道 N 形成一种对称的形状;例如为一个半截的六棱锥体,即一个六棱锥台,其底面为正六边形,六棱可组成三个等腰梯形。

[0082] 这样,在一组结构中,通过调节一层结构的输入条件与另一层结构的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的物质以同轴流动形式,由对应的各特定通道 N 的物质按轴向包裹某一通道 M 输出的物质,即以某一通道 M 输出的物质的流向为轴,通过输出对应的各特定通道 N 的物质,从而形成一层层的覆以对应的各特定通道 N 输出的物质;或者说,各特定通道 N 输出的物质沿轴向,以同心圆形式覆盖在通道 M 输出的物质上;分别形成待收集产物流,例如,待收集产物流形成一倒锥体;其轴向与所述旋转轴重合。即某个第一层结构的某一通道 M 输出的物质,一直沿着其输出方向流动,或者以螺旋形绕着其输出方向流动;以其输出方向为轴向,由其对应的各特定通道 N 的物质按轴向包裹之。

[0083] 各特定通道 N 的出口与该特定通道 M 的出口连通设置;例如,各特定通道 N 的出口通过一连通腔与该特定通道 M 的出口连通设置;本发明各例中,对连通腔不作任何限制,只需能够实现形成一待收集产物流并通过收集槽输出即可,也可以不设置该连通腔。

[0084] 沿该特定通道 M 的输出方向,在该圆形远离该特定通道 M 的一侧,对应设置一收集通道;用于在所述收集通道的输入端之前,形成待收集产物流,在收集通道的输入端收集产物,通过收集通道输出到收集槽;即设置了与通道 M 的数量相同的收集通道,对于各个特定通道 M,分别沿其输出方向设置一收集通道,特定通道 M 与其收集通道的输出方向相同,同在一直线上。

[0085] 一个例子是,所述收集通道的结构包括以下结构的一种或多种:外向放大的锥体、球体、半球体或锥台体,锥台体即一个锥体切去尖端的剩余台体部分,其输入端的管径为 $7\mu\text{m}$ 至 $25\mu\text{m}$,高度为 $20\mu\text{m}$ 至 $30\mu\text{m}$;或者,圆柱体或长方体,如图 9 所示,其沿对应的特定通道 M 输出方向的通道截面的面积略小于该特定通道 M 沿该方向的通道截面的面积,高度为 $20\mu\text{m}$ 至 $30\mu\text{m}$,此时,需要控制圆柱体或长方体通道的长度,使得微泡正好在收集槽中产生,以具备速度梯度,从而产生剪切力。例如,收集通道的结构为外向放大的锥体,或

者,收集通道的结构为外向放大的锥台体与圆柱体的组合。

[0086] 所述集成芯片还包括至少一与各收集通道的输出端相连接的收集槽,用于收集和导出产物。

[0087] 并且,利用现有的微纳米级加工技术,经过甩胶、曝光、显影、浇注、剥离、粘合等步骤,可以制作出基于聚二甲基硅氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS)、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 或聚碳酸酯 (PC) 的微流控大规模集成芯片。

[0088] 例如,H1 为 1,H2 至 HN 均为 2,如图 11 所示,所述特定通道 M 的出口与其对应收集通道输入端的连线,垂直于两个特定通道 N 出口的连线,即每个特定通道 M 对应于两个特定通道 N,两个特定通道 N 各自的出口,两者连成线段的中线为特定通道 M 的出口与对应的收集通道的输入端的连线;并且,通常情况下,这两个特定通道 N 关于上述中线对称设置;也就是说,这是一个特例,此时,两个出口不能形成一个确定的圆形,仍是等距分布在一预设置半径圆形的圆周,因此,两个特定通道 N 各自的出口,两者连成线段的中垂线为特定通道 M 的出口与对应的收集通道的输入端的连线。由于两个特定通道 N 出口所构成的圆形不是唯一的,因此前述连线亦是属于特定通道 M 的出口与所述圆形圆心的垂线之一。

[0089] 这样,当 N 为 9,M 为 8 时,则第一层结构最终形成 2 的 (M-1) 次方,即 2 的 7 次方,即 128 个通道出口,第二层结构最终形成 2 的 (N-1) 次方,即 2 的 8 次方,即 256 个通道出口;也就是说,其具有 128 个通道 M,每个通道 M 对应着两个通道 N,共有 128 个输出端;例如通道 M1 对应着通道 N11 和通道 N12,通道 N11 和通道 N12 的输出方向相对,并位于同一直线上;通道 N11 的出口到通道 M1 的出口的距离、与通道 N12 的出口到通道 M1 的出口的距离相同。

[0090] 在上述实例中,装置的典型特征是集成了 128 个扩展形喷嘴腔体,例如,如图 3 所示,第一层结构输入气体,如图 2 所示,第二层结构输入液体;喷嘴结构如图 4 所示,每一气体输出通道口对应着两个相对的液体输出通道口;则气体在喷嘴的最窄点,即喷嘴口,同时也是收集通道的最窄点,具有最大的剪切力,如图 5 所示,随后在扩展形喷嘴处,产生一个速度递减梯度,利于微泡的聚焦及脱落;因此,利用喷嘴阵列可提高微泡的生产效率。

[0091] 更具体地说,本发明部分例子中,采用了流动聚焦原理 (flow-focusing) 产生微泡,气体在两侧液体的包被下处于同轴流动中心位置,即中轴线,气体由高速运动的液体聚焦形成稳定的锥体,并且与喷嘴口位置对齐,由于喷嘴口处最窄,具有最大的剪切力,如图 5 所示,随后的扩展形喷嘴产生一个速度梯度,由锥顶端射出的微射流在喷嘴口处脱落,形成均一尺寸的微泡。

[0092] 采用上面的各个实施例,就可以将微流控大规模集成芯片用于超声造影剂的制备中,并且,上述各实施例所述集成芯片,还可以应用在制备其他微型的混和物中,例如,微液滴等等。

[0093] 并且,采用上述任一实施例所述集成芯片,本发明还提供了一种装置。该装置包括第一物质输入单元、第二物质输入单元、贮存单元和至少一如上述任一实施例所述集成芯片,这些集成芯片形成至少一个集成芯片阵列。各集成芯片的收集槽,分别与所述贮存单元相连接,用于收集和导出产物;所述第一物质输入单元分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第一物质;所述第二物质输入单元分别从各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接,用于输入第二物质。该装置可用于制备微米级分散体,包括超声造影

剂或其他微型混和物。

[0094] 其中,所述第一物质输入单元与所述第二物质输入单元的组合,为气体输入单元与液体输入单元的组合;即所述第一物质输入单元为气体输入单元,所述第二物质输入单元为液体输入单元,或者,所述第一物质输入单元为液体输入单元,所述第二物质输入单元为气体输入单元。或者,所述第一物质输入单元与所述第二物质输入单元均为液体输入单元。

[0095] 例如,该装置包括气体输入单元、液体输入单元、贮存单元和至少一如上述任一实施例所述集成芯片,这些集成芯片形成至少一个集成芯片阵列。或者说,该装置包括:用于控制气体、液体的流动参数的仪表,以及用于气体及液体通过微喷嘴阵列的芯片,所述微喷嘴具有基本上一致的直径。

[0096] 例如,整个超声造影剂制备装置的框图如图 1 所示,气体源输出气体,经流量计或压力计控制流量,输出到大规模微流控芯片中;液体源输出液体,经 数控注射泵控制流量,输出到大规模微流控芯片中;反应生成产品,进行产品收集,例如通过产品收集设备进行收集。例如,通过各集成芯片的收集槽,收集和导出产物,这些收集槽分别与所述贮存单元相连接,将最终的产物导入到所述贮存单元中;这样可以有效地收集最终的产物。

[0097] 一个例子是,所述气体输入单元分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接,用于输入气体;所述液体输入单元分别从各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接,用于输入液体。

[0098] 例如,所述气体输入单元分别与各集成芯片的第一层结构的各通道 1 相连接,所述液体输入单元分别从各集成芯片的第二层结构的各通道 1 相连接;或者,所述气体输入单元分别与各集成芯片的第二层结构的各通道 1 相连接,所述液体输入单元分别从各集成芯片的第一层结构的各通道 1 相连接。

[0099] 一个例子是,所述气体输入单元包括顺序连接的压力储气罐、减压阀、第一传输管、微流量计、调压阀和第二传输管,所述第二传输管分别与各集成芯片的一层结构的各通道 1 相连接。

[0100] 又一个例子是,所述液体输入单元包括顺序连接的储液器、第三传输管、数字控制式注射泵和第四传输管,所述第四传输管分别与各集成芯片的另一层结构的各通道 1 相连接。

[0101] 一个优选的例子是,所述装置的各集成芯片中,各通道截面为矩形,其高度为 $20\ \mu\text{m}$ 至 $30\ \mu\text{m}$;通道 M 横截面的宽度为 $30\ \mu\text{m}$ 至 $50\ \mu\text{m}$ 、通道 N 横截面的宽度为 $50\ \mu\text{m}$ 至 $100\ \mu\text{m}$,或者,通道 M 横截面的宽度为 $50\ \mu\text{m}$ 至 $100\ \mu\text{m}$ 、通道 N 横截面的宽度为 $30\ \mu\text{m}$ 至 $50\ \mu\text{m}$;其中,所述收集通道的结构至少包括以下结构其中之一:外向放大的锥体、球体、半球体或锥台体,其输入端的管径为 $7\ \mu\text{m}$ 至 $25\ \mu\text{m}$,高度为 $20\ \mu\text{m}$ 至 $30\ \mu\text{m}$;或者,圆柱体或长方体,其沿对应的特定通道 M 输出方向的截面积略小于该特定通道 M 沿该方向的截面积,高度为 $20\ \mu\text{m}$ 至 $30\ \mu\text{m}$ 。所述集成芯片的基质为硅、玻璃、聚二甲基硅氧烷、聚甲基丙烯酸甲酯或聚碳酸酯。第一层结构与第二层结构的组合,为气体通道结构与液体通道结构的组合。H1 为 1, H2 至 HN 均为 2; N 为 8, M 为 7, 第一层结构和第二层结构均在收集通道两侧对称设有两个初始通道,即 2 个气体入口和 2 个液体入口,则第一层结构最终形成 2^2 的 (M-1) 次方,即 128 个通道出口,第二层结构最终形成 2^2 的 (N-1) 次方,即 256 个通道出口;该实

例中,装置的典型特征是集成了 128 个扩展形喷嘴腔体,气体在喷嘴的最窄点,即收集通道的最窄点,具有最大的剪切力,随后的扩展形喷嘴产生一个速度递减梯度,利于微泡的聚焦及脱落;喷嘴阵列可提高微泡的生产效率。

[0102] 更具体地说,如图 1 所示,气体由压力罐经减压阀输送到芯片的气体入口,由微流量计、调压阀监控气体的流动,连续性的液体由数字控制式注射泵以恒定的流速泵入液体入口,经过微流控大规模集成芯片产生的微泡由特殊的贮存瓶存储,该贮存瓶为现有技术。

[0103] 其中,微流控大规模集成芯片是利用微纳米加工技术制作而成,例如,该芯片具有上下两层结构。

[0104] 更具体的一个例子是,该芯片底层结构如图 2 所示。通道由两个对称设置液体入口开始逐级扩展,最终经过 8 级梯度,共 7 级扩展形成 256 个分支,即 N 为 8。每两个属于一个初始入口的分支作为微喷嘴的液体入口,这样就形成 128 个微喷嘴。图 2 中点划线指示的位置 a' 是一个微喷嘴的气体入口,共 128 个气体入口,产生的微泡经收集槽收集存储。

[0105] 该芯片顶层通道结构如图 3 所示,与底层结构类似,通道由两个对称设置气体入口开始逐级扩展,有 7 个梯度,经 6 级扩展,即 M 为 7,单个初始气体入口最终形成 64 个分支。因此,经过扩展总共形成了 128 个分支,与底层相对应的气 128 个气体入口相通,如 a 与 a' 相通。

[0106] 其中,可以将底层与顶层的结构互换,如图 6 所示,这是本发明中微流控大规模集成芯片的替换形式,顶层为液体通道结构,底层主要为气体通道,底层的两个初始入口经 6 级扩展成 128 个分支,作为微喷嘴的气体入口。图 7 为图 6 中虚线框所示部分一个微喷嘴的放大图,与图 4 的主要区别是两个液体入口与顶层液体通道相通。

[0107] 如图 4 所示,是图 2 虚线所示部分的放大图,为该集成芯片阵列中一个微喷嘴的示意图,微喷嘴是微泡形成的基本单元,其中,箭头代表气体、液体的流动方向,一个气体入口与顶层气体通道相通,在大箭头形状的收集通道的最窄处剪切力最大。收集通道入口的口径在 $7\ \mu\text{m}$ - $25\ \mu\text{m}$ 范围内,通道高度为 $25\ \mu\text{m}$,优选的是与同一层结构内其他通道的高度一致,气体入口宽度为 $30\ \mu\text{m}$ - $50\ \mu\text{m}$,液体入口宽度为 $50\ \mu\text{m}$ - $100\ \mu\text{m}$,气体在两侧高速流动的液体聚焦作用下形成位于中轴线位置的稳定锥形,如图 5 所示,并且与喷嘴口位置对齐,由于喷嘴口处最窄,具有最大的剪切力,随后的扩展形喷嘴产生一个速度梯度,由锥顶端射出的微射流在喷嘴口处脱落,形成均一尺寸的微泡,微泡形成示意图如图 5 所示,可以形象地看到流动聚焦形成的锥形及微泡。

[0108] 其中,如图 9 所示,本装置微喷嘴形状可以由形成速度梯度的其它几何形状代替,如矩形结构,只需能够产生一个速度梯度,让锥顶端射出的微射流在喷嘴口处脱落即可。

[0109] 需要说明的是,各图中对于部分尺寸进行放大,这是出于图解说明的目的,而没有按照严格的比例进行绘制。这些图示的不严格绘制,对本发明各技术方案和各实施例均不构成任何额外限制。

[0110] 采用上面的各个实施例,就可以大规模集成扩展形微喷嘴阵列,通过在不同的通道入口输入气体和液体,可以实现并且有利于微泡的大规模生产。采用各种不同的气体和液体,从集成芯片的各组结构的第一层结构各通道 1 中输入气体,本发明的装置可用于制备多种类型的超声造影剂微泡。

[0111] 交换气体、液体入口,即从集成芯片的各组结构的第一层结构各通道 1 中输入液体,可用于生成大量微液滴;或者,分别通入两种不相容的液体,会生成底层液体包裹上层液体的微液滴,非常适用于食品行业和化妆品行业。

[0112] 其中,采用多个收集通道所形成的微喷嘴阵列,微喷嘴的数量可以增减,对于一组结构,最少有一个喷嘴,第一层结构设置 N 级梯度时,通道的扩展级数为 N-1,即比梯度数 N 少 1。在只有一个初始入口的情况下,最后分支是 2^{N-1} 个,喷嘴的个数一般是 2^{N-2} 个。在有二个对称设置的初始入口的情况下,喷嘴的个数一般为 2^{N-1} 个。例如,N 为 8 时,有 8 级梯度,扩展了 7 级,每级扩展一倍,第一级梯度设置 1 个通道 1,第八级梯度设置 128 个通道 8,在只有一个初始入口的情况下,对应有 64 个喷嘴;在有二个对称设置的初始入口的情况下,对应有 128 个喷嘴。在易于控制流体流速、气体压力的前提下,喷嘴个数越多越好。

[0113] 并且,还提供了一种制备微米级分散体的方法,这些微米级分散体之间不相溶;该方法应用于一包括集成芯片阵列的装置中,所述集成芯片阵列由至少一如上述任一实施例所述集成芯片组成;所述装置为上述任一实施例所述装置。所述方法包括以下步骤。

[0114] A1、按第一预设置条件,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入第一物质;按第二预设置条件,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入第二物质。其中,第一物质和第二物质可以为不同的液体;或者,第一物质可以为液体,第二物质可以为气体;或者,第一物质可以为气体,第二物质可以为液体。

[0115] 一个例子是,步骤 A1 中,向各集成芯片的一层结构的各通道 1 输入气体,压力低于 10psi,压力大于 0 即可,向各集成芯片的另一层结构的各通道 1 输入液体,流速低于 $3\mu\text{L/s}$,流速大于 0 即可;例如,输入气体的压力低于 5psi,输入液体的流速低于 $1.5\mu\text{L/s}$;又如,输入气体的压力低于 8psi,输入液体的流速低于 $2.5\mu\text{L/s}$;又如,输入气体的压力低于 7.5psi,输入液体的流速低于 $2.0\mu\text{L/s}$;又如,输入气体的压力低于 4psi,输入液体的流速低于 $2.8\mu\text{L/s}$ 。这样,就可以制备均一的微泡,这些微泡可应用于超声造影剂中。

[0116] 具体应用中,所述气体至少包括氮气、氟碳类气体、氟硫类气体其中之一;所述液体至少包括磷脂类液体、表面活性剂类液体、上述液体的改性液其中之一。

[0117] 为了保证微泡在体内具有较长的存活时间,该装置可使用的气体材料主要是在血浆中有低溶解度的氟碳、氟硫类气体,如 C3F8、C4F10、SF6 等,也可以是这些气体成分之间的组合或者它们与氮气的组合如氮气和 C4F10、氮气和 C3F8 的组合。

[0118] 而制备液泡,即微泡,其壳材来自液体,这些液体主要包括磷脂类,如 DPPC、DPPA、DPPE、DSPC、DSPE、DSPA 等;表面活性剂类,如 Span20、Span60、Span 80 等, Tween20、Tween 60、Tween 80 等,以及磷脂类的组合、表面活性剂类的组合、或者磷脂类与表面活性剂类的组合;这些材料既能显著降低气液界面的表面张力,又具有良好的生物相容性和血液相容性。

[0119] 或者,制备液泡的壳材是在上述壳材的基础上进行改性得到的具有特殊功能的材料,包括 DSPE-PEG2000、DSPE-PEG5000、DSPE-PEG(2000)Biotin、DSPE-PEG(2000)Carboxylic Acid 等等。磷脂的疏水性长链和亲水性极性头的分子结构使其在水性环境中能够自行调整其分子结构,疏水性链紧密排列在一起,而亲水性头暴露于水相,最终形成囊泡状结构,这种结构能够阻碍气体扩散出形成的微泡,亲水性的外壳使其具有优良的生物相容性。同时,不同的极性头可以使磷脂具有不同的荷电性,通过调整这些荷电磷脂的成分

和比例,可以调整磷脂微泡的稳定性。含有 PEG 长链的磷脂,如 DSPE-PEG2000,具有抵抗其在体内循环时被网状内皮系统捕获的能力,延长在体内的循环的时间。含有 Biotin 配体的磷脂,如 DSPE-PEG(2000)Biotin,具有识别抗体 avidin 能力,因此具有靶向功能。这样,通过不同的磷脂组分之间进行组合,并调整各组分的比例,就可以得到不同功能和作用的微气泡。

[0120] A2、调节第一物质和 / 或第二物质的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的物质以同轴流动形式,由对应的各特定通道 N 的物质按轴向包裹通道 M 输出的物质,分别形成待收集产物流,其轴向与所述垂线重合。

[0121] 例如,步骤 A2 中,单独调节不同气体或不同液体的输入条件,或者单独调节气体或液体的输入条件,或者同时调节气体和液体的输入条件,使各个第一层结构的各通道 M 输出的物质以同轴流动形式,由对应的各特定通道 N 的物质按轴向进行包裹对应通道 M 输出的物质,分别形成待收集产物流,其轴向与所述垂线重合;例如,分别形成一倒锥体的待收集产物流,其轴向与所述垂线重合。

[0122] A3、从各收集通道的输出端收集和导出产物。

[0123] 例如,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入气体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入液体;这样,可以得到一种通过气体由两侧液体流动聚焦在喷嘴处形成微泡的方法,形成高度单分散的微泡,适合于超声造影成像技术。或者,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入液体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入气体;这样,可以得到一种通过液体由两侧气体流动聚焦在喷嘴处形成微液滴的方法。

[0124] 同上所述,一个优选的例子是,所述集成芯片,H1 为 1,H2 至 HN 均为 2,N 为 9,M 为 8。其具有 128 个通道 M,每个通道 M 对应着两个通道 N,共有 128 个输出端;例如通道 M1 对应着通道 N11 和通道 N12,通道 N11 和通道 N12 的输出方向相对,并位于同一直线上;通道 N11 的出口到通道 M1 的出口的距离、与通道 N12 的出口到通道 M1 的出口的距离相同。

[0125] 另一个例子是,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入气体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入液体;步骤 A2 中,使各个第一层结构的各通道 M 输出的气体以同轴流动形式,由各个第二层结构的对应某一通道 M 的各通道 N,所流出的液体按轴向包裹对应通道 M 的气体,分别形成待收集微球流。其中,同轴流动形式已如前述。

[0126] 在上例的基础之上,步骤 A2 中,各个第一层结构的各通道 M 输出的气体,分别在两侧高速流动的液体聚焦作用下形成中轴线位于所述垂线位置的稳定倒锥体,各倒锥体的尖端分别与各收集通道位置相对。

[0127] 又一个例子是,步骤 A1 中,向各集成芯片的第一层结构的各通道 1 输入第一液体,向各集成芯片的第二层结构的各通道 1 输入气体或第二液体;步骤 A2 中,使各个第一层结构的各通道 M 输出的第一液体以同轴流动形式,被气体或第二液体按轴向包裹,分别形成待收集微液滴流;例如分别形成一倒锥体的待收集微液滴流。

[0128] 在上述各例中,步骤 A1 中,所述液体可以预先加入特异性配体;或者,步骤 A3 之后,向所述产物加入特异性配体。这样,可以根据需要,加入不同的特异性配体,从而制备出靶向超声造影剂。

[0129] 下面继续对集成芯片、装置和方法,尤其是制备超声造影剂的方法,做出详细说明。

[0130] 在超声造影成像技术中,微泡造影剂的尺寸影响它通过肺部微循环的能力及对超声的反射率,直径必须小于 $7\mu\text{m}$ 才可以安全通过肺部微动脉而不引起堵塞,其中,超声的散射强度、入射强度具有以下关系公式(1):

$$[0131] \quad I/I_0 \sim \frac{1}{9}nV[k^4r^6(\gamma_c + \gamma_d \cos\theta)^2/d^2] \quad (1)$$

[0132] 其中, I 、 I_0 分别是超声的散射强度、入射强度; n 是散射粒子数; V 是散射体积; k 是波数; r 是粒子半径,即微泡半径; γ_c 是压缩项 ($\gamma_c = (k_s - k_m)/k_m$, k_s 、 k_m 分别是散射粒子的压缩率和介质的压缩率,公知技术); γ_d 是密度项 ($\gamma_d = (3\rho_s - 3\rho_m)/(2\rho_s + \rho_m)$, ρ_s 、 ρ_m 分别是散射粒子和介质的密度,公知技术); θ 是散射角; d 是到散射粒子的距离。由公式(1)可以看出,微泡的散射率是微泡半径六次方的函数,即,超声造影剂微泡的散射强度与气泡半径六次方成正比,说明微泡越小,反射率越差,所以微泡的最佳直径尺寸不能太小。因此,临床应用要求微泡的最佳直径尺寸在 $2\mu\text{m}$ 至 $5\mu\text{m}$ 之间。

[0133] 由微流控聚焦系统产生的微泡直径主要与气体、液体的流动速率有关,表面张力的影响较小,可以忽略,如以下公式(2)所示:

$$[0134] \quad d_b/D \propto (Q_g/Q_l)^{0.4} \quad (2)$$

[0135] 其中, Q_g 、 Q_l 分别是气体、液体的流动速率; D 是喷嘴口直径; $Q_g/Q_l < 1$ 。

[0136] 利用调压阀调整气体压力,设置注射泵流速参数控制液体的流动速率,一般情况下气体压力 $P < 5\text{psi}$ (Pounds per square inch, $1\text{psi} = 6.895\text{kPa}$),液体流速 $Q < 1.5\mu\text{L/s}$,可以得到直径 $d_b < 5\mu\text{m}$ 的微泡,微泡粒径的多分散性指数 $< 2\%$ 。

[0137] 为了证实本发明装置制备的微泡的粒径及生产效率,采用上述一集成芯片进行了以下实验,其在每一层结构为对称两个初始入口, $H1$ 为 1, $H2$ 至 H_N 均为 2, N 为 8, M 为 7,第一层结构有 128 个 M 通道,第二层结构有 256 个 N 通道;其集成了 128 个扩展形喷嘴腔体,第一层结构通入气体,在喷嘴的最窄点输出,如图 4、图 5 所示。具体说明如下。

[0138] 实验一:

[0139] 气体采用氮气,液体采用如下配制: $\text{PH} = 7.4$ 的磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 8ml,吐温 80 (Tween80) 1ml 配制成均匀的混合物,调节气体压力为 1.8psi ,液体流动速率 $2.0\mu\text{Ls}^{-1}$,可获得微泡直径约为 $3.6\mu\text{m}$,每分钟大约可以产生 7×10^9 个微泡。如图 8 所示,是在奥林巴斯倒置显微镜下拍到的产生的微泡的图片,可以看出微泡粒径分布具有高度单分散性,粒径分布比较均匀,外壳厚度员比较均匀。

[0140] 实验二:在实验一的基础上,液体流动速率不变,增加气体压力至 4.5psi ,获得微泡直径约为 $6\mu\text{m}$,从显微镜得到的结果来看,粒径分布同样比较均匀,比较实验一与实验二,可以得到:改变气体压力可灵活控制微泡粒径的大小;同理,当然也可改变液体流速,可达到相同的效果。

[0141] 实验三:在实验一的基础上,气体压力不变,增加液体流速至 $2.7\mu\text{Ls}^{-1}$,获得微泡直径约为 $3\mu\text{m}$,粒径分布同样比较均匀,比较实验二与实验三,可以得到:可改变液体流速可灵活控制微泡粒径的大小。

[0142] 实验四:气体采用全氟碳 (PFC),液体采用如下方法配制:脂质二棕榈酸磷脂酰胆碱 (DPPC)、二棕榈酸磷脂酸聚乙二醇 (DPPA)、5000 化二棕榈酸磷脂酰乙醇胺 (DPPE-PEG5000) 以 $81 : 8 : 10$ 的摩尔比,溶解在氯仿 (CHCl_3) 中,在真空及氮气条件下形成均匀的混合

物,加入 1mol% 的荧光剂 (DiI-C18) 和 4mg/ml 的 NaCl 溶液到含有磷脂混合物的试管中,室温下超声处理 20 分钟并混入 10% 浓度的丙三醇和 1,2 丙二醇的混合物 (GPW),气体压力 10psi,液体流动速率 $1.0 \mu \text{L s}^{-1}$,通过上述芯片可获得微泡直径 $5 \mu \text{m}$,每分钟大约可以产生 8×10^9 个微泡。

[0143] 本发明具有以下优点:

[0144] 最显著的优点是制作的超声造影剂微泡具有高度单分散性和粒径可控性,满足超声造影成像技术的要求。微泡粒径的多分散性指数 $< 2\%$,粒径随着气体压力的增加而变大,随着液体流速的增加而减小,控制非常灵活。并且,通过采用微喷嘴阵列,大大提高了微泡的制备效率;同时,该装置具有重复使用性,降低了生产成本。

[0145] 本发明的装置可用于制备多种类型的超声造影剂微泡,制备的微泡外壳厚度均匀。

[0146] 常规的超声造影剂可直接用该装置制备,如脂类、白蛋白类、多聚体类、表面活性剂类等;如上所述,靶向超声造影剂的制备,有两种选择,一种是目前最常用的:在常规超声造影剂制备完成后加入特异性配体,另行制备;另一种是在造影剂制备完成前的制备液中预先加入特异性配体,在形成造影剂微泡的同时特异性配体就会镶嵌到微泡的壳上,有些壳材如蛋白分子在高温和超声条件下失活,所以这种方法是以往声振法所不能的。该发明装置对这两种方法都适用,特别是当采用后一种选择时更具有优势,不仅减少了制备环节,还减少了制备环节微泡的破坏。

[0147] 并且,本发明装置和方法在造影剂制备过程中产热少,因此尤其适合于制备兼药物或基因靶向载体的超声造影剂。造影剂微泡携带基因或药物的方式分两种:黏附法和整合法,其中整合法具有明显的优势,原因在于:黏附法仅仅通过简单的混合将药物或基因黏附在造影剂微泡的表面,一方面结合量少,另一方面黏附的药物或基因与微泡结合不牢固,经静脉注射后,在血流冲击下很容易脱落,靶向性差;而整合法既可以将药物或基因黏附在微泡表面,更可将其整合在微泡膜上或包裹在微泡内,在使结合量增加的同时,又使靶向性更好。通常采用声振法时,在制备过程中产生较高的温度,在制备时不能同时加入药物或基因,只能采用黏附法制备,本发明装置在制备过程中产热少,因此可采用整合法制备兼药物或基因靶向载体的超声造影剂。

[0148] 本超声造影剂制备简便、效果好且安全,具有很高的应用价值。同时,如上所述,本发明还可用于制备微液滴。

[0149] 针对一个气体入口、两个液体入口构成的最简单的微泡制备单元,其生产速率约为 107 个/分钟,本专利中所述大规模微流控芯片可显著提高产率,如集成 128 个微泡制备单元,则其产率可提高到 109 个/分钟,此外,与已有的商品化超声造影剂相比,如美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准临床使用的一种超声造影剂 Difinity,其产率约为 109/45 秒,本专利所述大规模微流控芯片的产率可与其相媲美,更重要的是, Difinity 造影剂的粒径分布具有多分散性,粒径分布较宽,平均直径在 $1.8 \mu \text{m}$ 左右,直径的标准偏差为 $1.5 \mu \text{m}$,但是最大的微泡直径竟达到 $20 \mu \text{m}$,从而导致微泡的共振频率范围较大,而现在的超声成像系统的带宽限制只能探测到很窄的共振频率范围,所以大约只有 18% 的微泡信号可检测到,换言之,82% 的微泡不起作用而浪费掉,减少了成像系统的灵敏性,本专利所述装置制备的造影剂具有很高的单分散性,具有有效信号微泡的比例高于 92%,可提高超声造影成像技术

的灵敏度,特别是在超声分子影像技术中,靶向造影剂的黏附率约为每平方米 5-25 个,微泡的单分散性对提高成像灵敏度显得尤为重要,因此,在这个意义上讲,本专利所述装置制备的造影剂在规模化生产方面具有绝对的优势,临床应用价值非常高。

[0150] 应当理解的是,对本领域普通技术人员来说,可以根据上述说明加以改进或变换,而所有这些改进和变换都应属于本发明所附权利要求的保护范围。

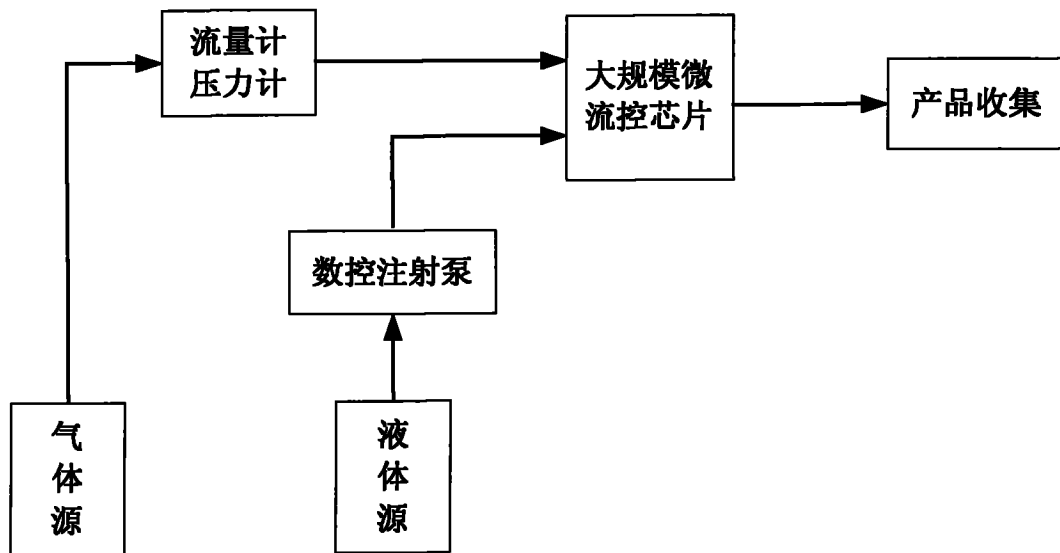


图 1

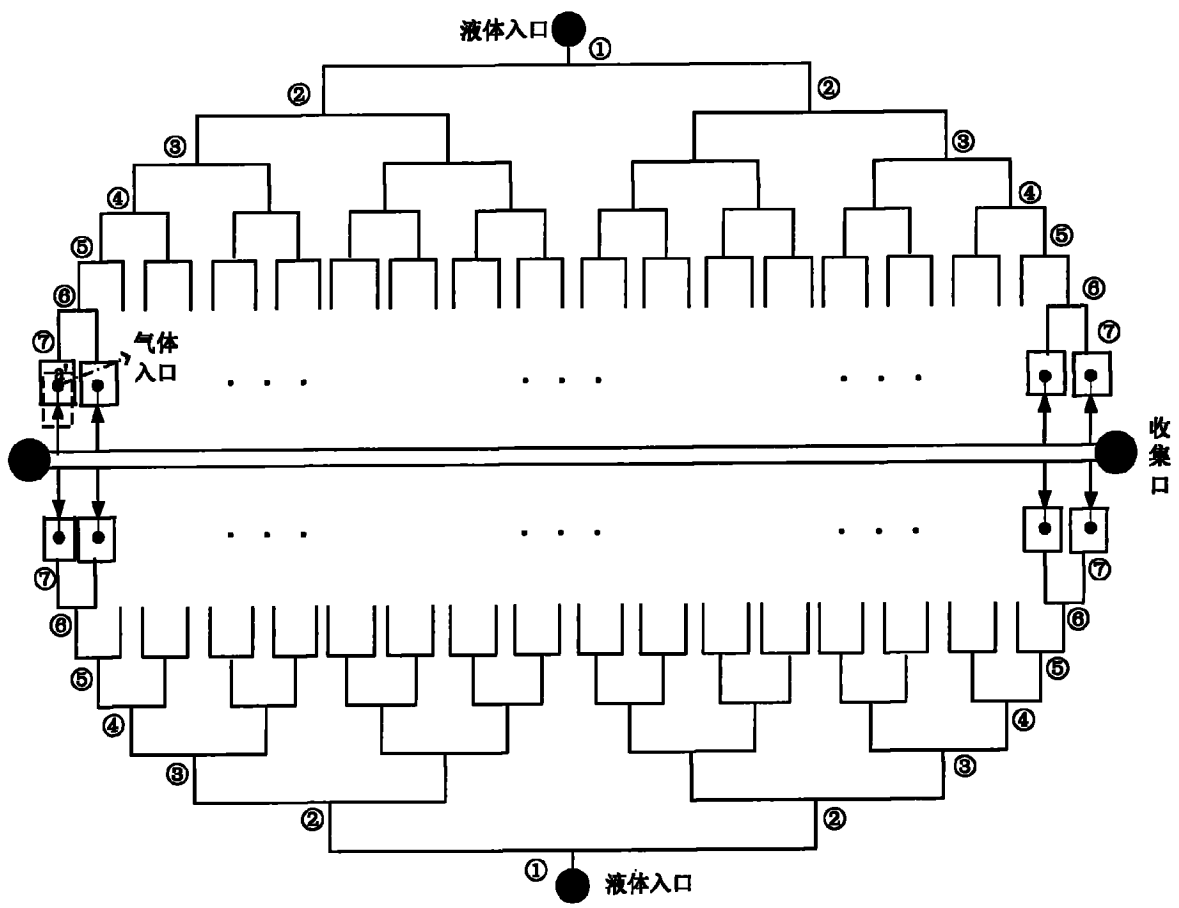


图 2

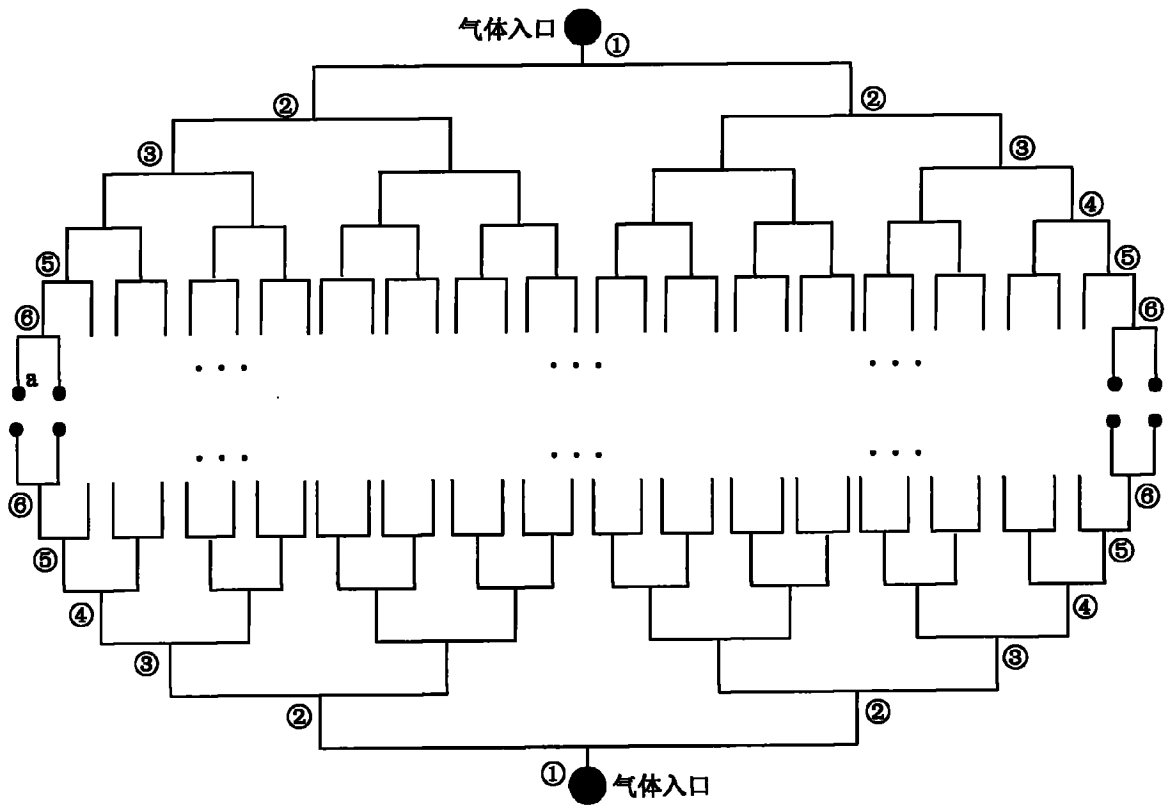


图 3

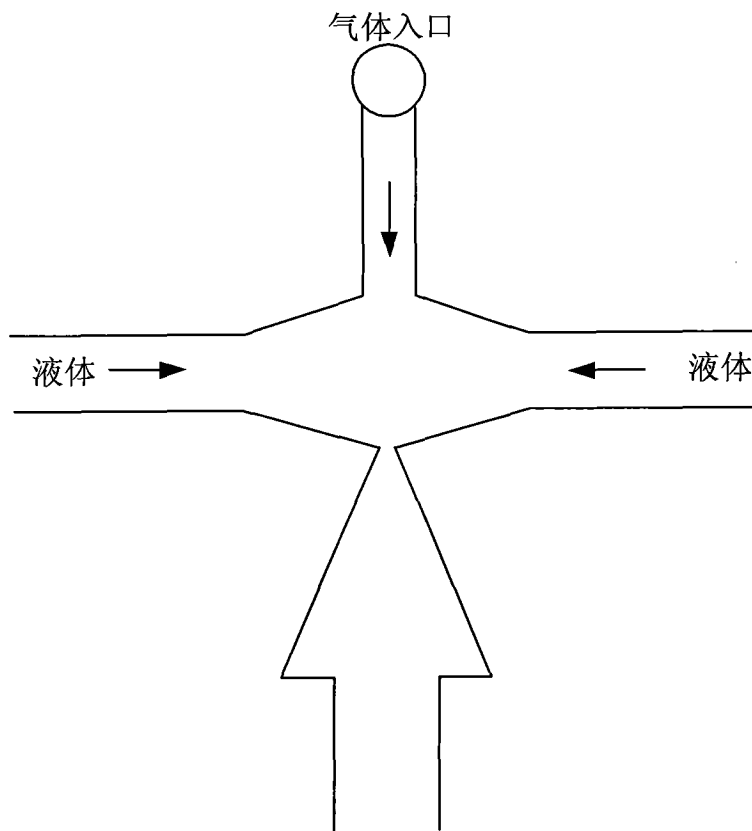


图 4

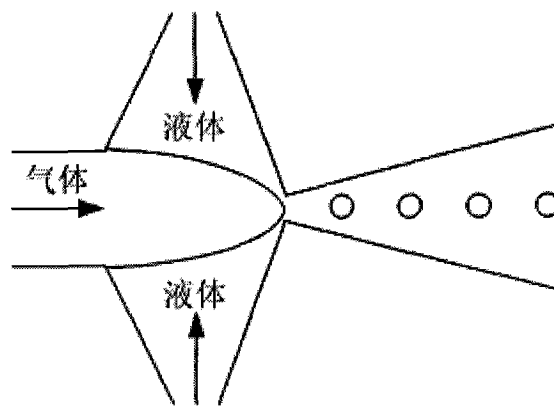


图 5

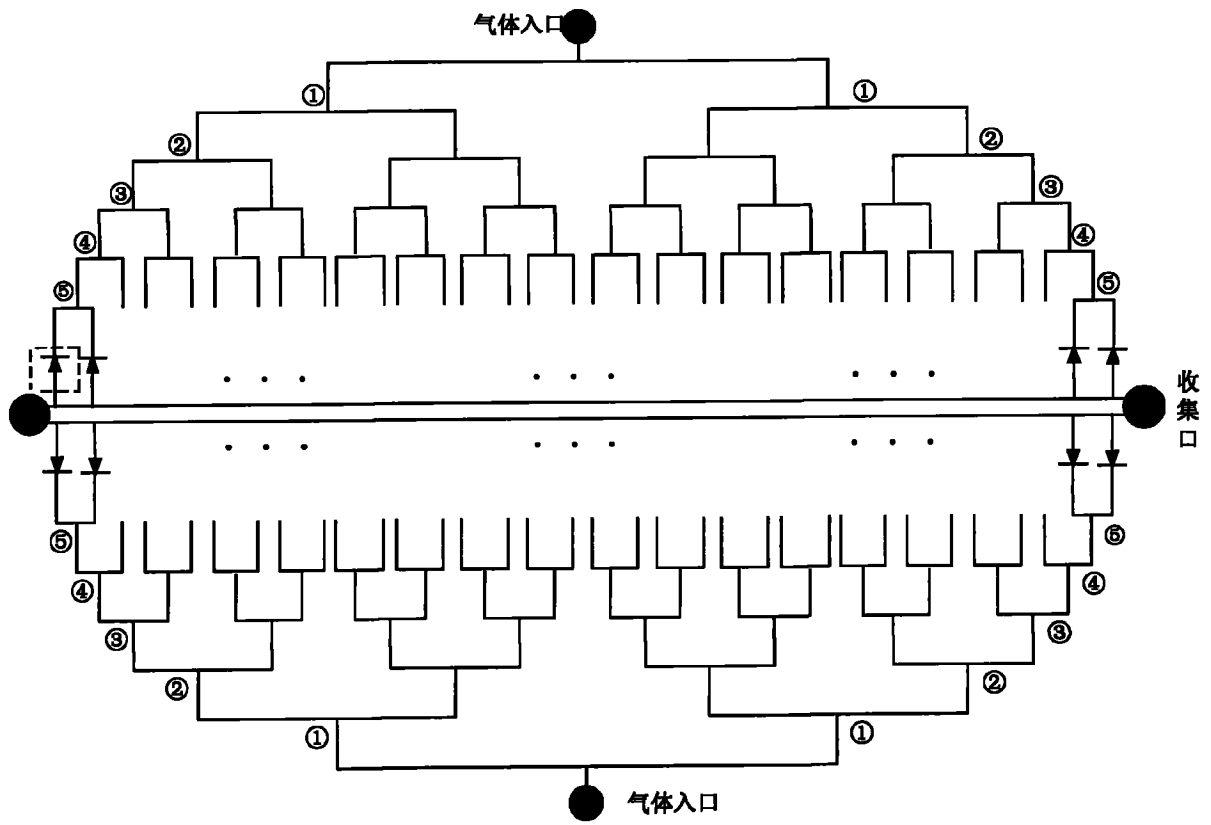


图 6

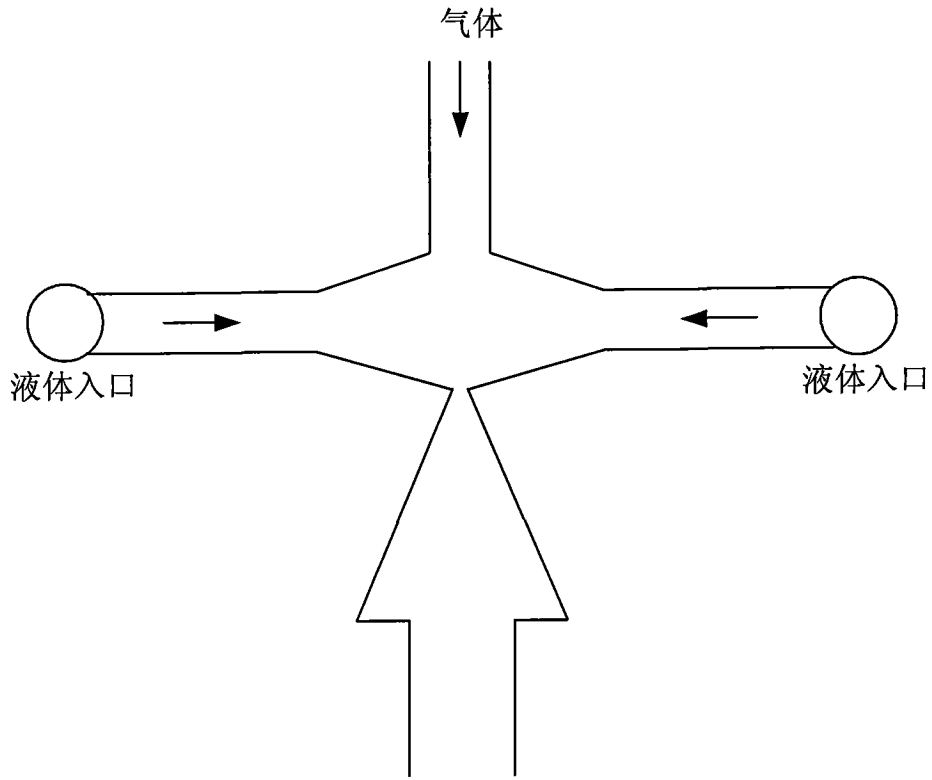


图 7

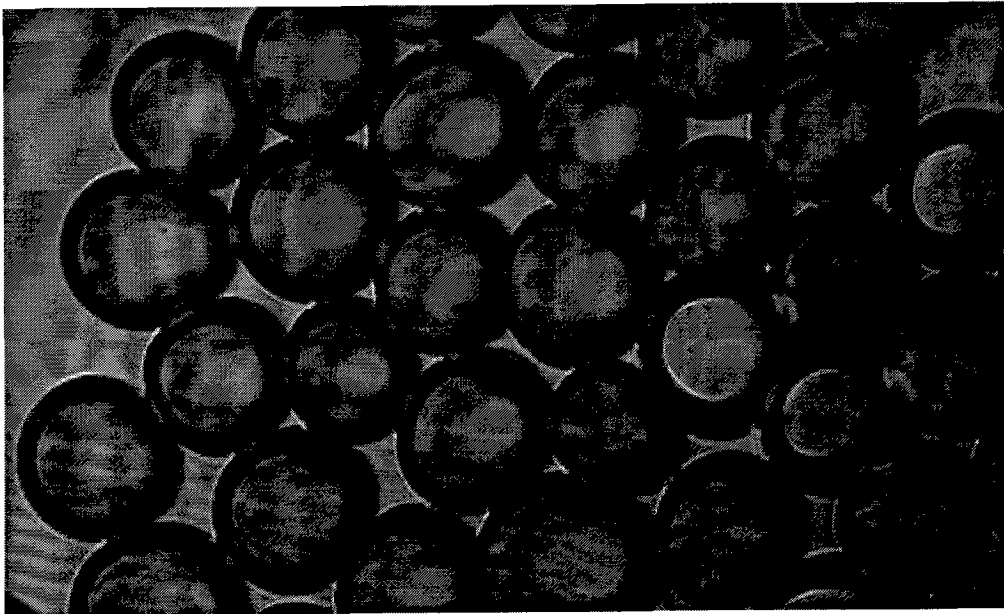


图 8

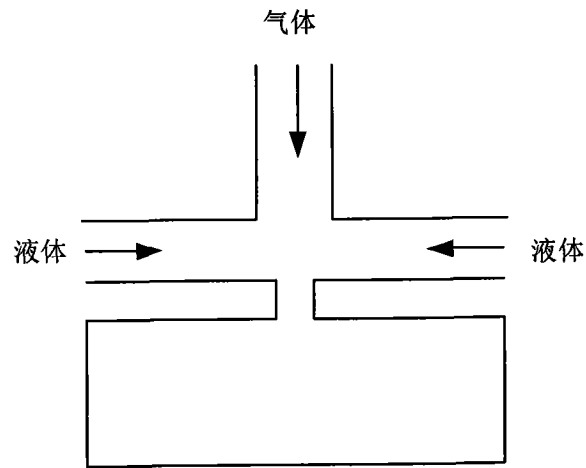


图 9

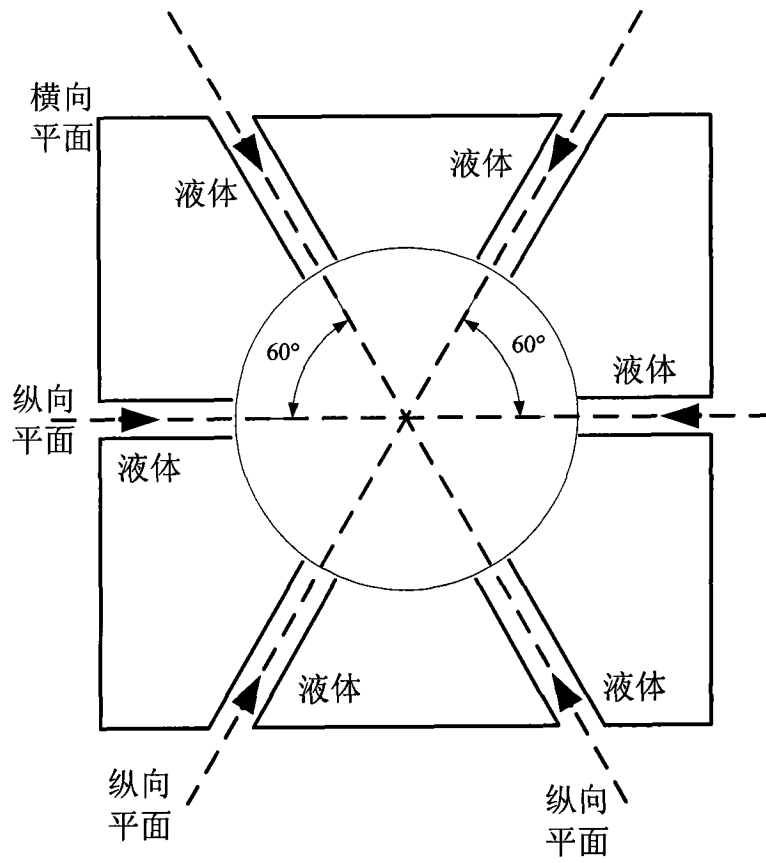


图 10

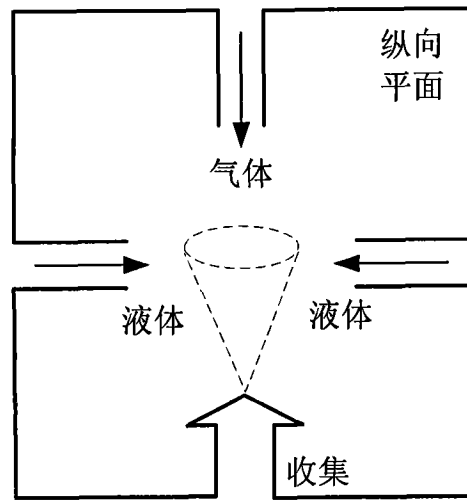


图 11