

Preparation of PGlu/PPy Composite Nanoparticles and Neurotoxicity Evaluation

Jingwen Zeng, Zhongbing Huang*, Guangfu Yin

College of Materials Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu
Email: *zbhuang@scu.edu.cn

Received: Apr. 6th, 2013; revised: Apr. 8th, 2013; accepted: May 3rd, 2013

Copyright © 2013 Jingwen Zeng et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Polypyrrole (PPy) nanoparticles doped with poly(glutamic acid) (PGlu) or PGlu/sodium dodecyl sulfate (SDS) were prepared by oxidation polymerization. The PPy nanoparticles were characterized via standard four-probe setup, FT-IR, SEM, Laser Particle Size Analyzer (LPSA) and zeta CAD. In order to evaluate the cytotoxicity and neurotoxicity, the PPy particles were co-cultured with L929 and PC12, respectively. The results show that the dopants have an effect on the morphology and conductivity of PPy nanoparticles. PGlu doped PPy nanoparticles have good cell compatibility. The addition of SDS is beneficial to improve the conductivity of PPy nanoparticles, however it is slightly to the disadvantage of cell viability and neuron growth.

Keywords: PPy Nanoparticle; Neurotoxicity; Neural Outgrowth; PGlu; SDS

聚谷氨酸/聚吡咯复合纳米颗粒的制备及神经毒性研究

曾静雯, 黄忠兵*, 尹光福

四川大学材料科学与工程学院, 成都
Email: *zbhuang@scu.edu.cn

收稿日期: 2013年4月6日; 修回日期: 2013年4月8日; 录用日期: 2013年5月3日

摘要: 采用化学氧化合成法分别制备了聚谷氨酸以及聚谷氨酸/十二烷基硫酸钠掺杂的聚吡咯纳米颗粒。通过四探针法、傅里叶红外光谱、扫描电子显微镜、激光粒度分析和 zeta 电位分析等方法分析其结构和形貌。通过分别与 L929 以及 PC12 细胞共培养表征其细胞毒性和神经毒性。结果表明, 掺杂剂会影响聚吡咯纳米颗粒的表现形貌和电学特性。PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒具有良好的细胞相容性, 十二烷基硫酸钠的加入有利于提高 PPy 颗粒的导电性, 但对细胞存活率和神经轴突的生长有轻微的不利影响。

关键词: 聚吡咯纳米颗粒; 神经毒性; 轴突生长; 聚谷氨酸; 十二烷基硫酸钠

1. 引言

组织工程的日新月异对生物材料提出了新的要求, 传统的组织再生已远远不能满足人们的要求, 各种能刺激特定细胞功能发挥的功能性支架逐渐成为科研工作者的主题^[1,2]。电学刺激作为一种有效改善

细胞粘附和迁移的方法而得到了广泛的关注^[3]。导电高分子由于其既具有金属的导电性, 又具有高分子的易合成、加工和改性的特点而得到了广泛关注。聚吡咯(PPy)是目前研究最多的导电高分子材料, 由于其易合成、机械性能好且具有良好的体外生物相容性以及较高的环境稳定性而被广泛研究并应用于各大生物

*通讯作者。

医学领域,包括组织工程^[1]、药物释放^[4]、生物器件^[5,6]以及神经电极涂层等^[7]。PPy 作为组织工程支架材料的研究主要集中于神经轴突的生长方面,其优越性在于:1) 局部电学刺激,易于控制;2) 作为高分子,可以偶联生长因子等生物活性物质,为神经的生长提供多种刺激^[8]。然而,聚吡咯链本身缺乏活性基团,并不容易活化而连接生物分子,所以,通过掺杂引入活性基团将是一种有效提升其生物活性修饰能力的方法。尽管已经证明 PPy 具有良好的生物相容性^[9,10],但是却鲜有关于 PPy 纳米颗粒细胞毒性以及神经毒性的报道,脆性而易脱落的 PPy 纳米颗粒是否会进入细胞并影响细胞的生长,将会严重影响着聚吡咯作为神经组织工程支架材料的长期应用。在此,本文采用化学氧化合成的方法分别制备了聚谷氨酸(PGlu)和聚谷氨酸/十二烷基硫酸钠(PGlu/SDS)掺杂的 PPy 纳米颗粒,并对其分别进行了傅立叶红外光谱、扫描电子显微镜、激光粒度、zeta 电位以及电导率分析。通过其与小鼠成纤维细胞(L929)以及大鼠肾上腺嗜铬瘤细胞(PC12)共培养,考察了这两种 PPy 纳米颗粒的细胞毒性和神经毒性,并通过 PC12 轴突长度的统计考察其对神经轴突生长的影响。

2. 材料和方法

2.1 主要试剂与仪器

2.1.1. 试剂

吡咯、氯化铁(FeCl_3)和 SDS 均为分析纯(购自成都科龙化工试剂厂); PGlu(购自南京赛特斯); RPMI-1640(购自 Gibco)、DMEM、小牛血清、胎牛血清、马血清、双抗(20,000 U/mL)以及胰酶(均购自 Hyclone); 神经生长因子(NGF, 来自 PeproTech), 鼠尾 I 型胶原(来自 Sigma)。

2.1.2. 仪器

采用傅立叶红外光谱仪(IR Prestige-21 光谱仪), 扫描电子显微镜(SEM, 日立 S-4800), 激光粒度分析仪(RISE-2008, 济南润之科技), Zeta 电位测量仪(JS94H, 上海中晨), 数字四探针测试仪(SB100A, 上海乾锋电子)等材料进行形貌表征和结构分析。采用酶标仪(3550, Bio-Rad)和荧光倒置显微镜(IX-71, 奥林巴斯)等对细胞试验结果进行表征和分析。

2.2. 方法

2.2.1. 化学合成法制备 PPy 纳米颗粒

溶液配置: 1) PGlu/SDS 掺杂的 PPy 颗粒: 0.07 mol/L 的 SDS 和 0.07 mol/L 的 PGlu 水溶液 100 mL; 2) PGlu 掺杂的 PPy 颗粒: 0.14 mol/L PGlu 的水溶液 100 mL。上述溶液置于 4°C 下预冷 1 h, 再将经减压蒸馏的吡咯加入上述溶液, 强烈搅拌, 吡咯单体浓度为 0.14 mol/L。将预先溶解于水并预冷的 100 mL、0.38 mol/L 的 FeCl_3 溶液在搅拌下逐滴加入上述混合溶液中, 引发氧化聚合。置于冷冻摇床(4°C, 200 r/min)中聚合 12 h 后, 用丙酮反复清洗, 去除颗粒上残留的吡咯单体, 再用去离子水反复冲洗。真空干燥 48 h 后, 经研磨机研磨 6 h, 即获得 PGlu 以及 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒。

2.2.2. 细胞试验

本实验将 L929 以及 PC12 细胞分别与材料进行共培养, 以 MTT 试验所得的细胞存活率表征材料的细胞毒性和神经毒性。L929 所用培养基成分: 每 100 mL RPMI-1640 培养基含有小牛血清 10 mL、双抗 1 mL。PC12 所用培养基成分: 每 100 mL 高糖 DMEM 培养基含有胎牛血清 5 mL、马血清 10 mL、双抗 1 mL。接板前, 将 PC12 细胞用 50 ng/mL 的 NGF 预处理 48 h。由于 PC12 属于不易粘附的细胞, 所以接板前需要用 0.05 mg/mL 的鼠尾 I 型胶原包被培养板。

将细胞以 2×10^4 个/mL 种植在 96 孔板(购自 Corning)中, 每孔加入 100 μL 细胞悬浮液, 在 37°C、5%二氧化碳培养过夜。待细胞完全粘附以后, 每孔加入 100 μL 不同浓度的 PPy 悬浮液进行共培养。空白对照孔不加材料。PPy 悬浮液加入 24、72 和 120 h 后, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT-PBS 溶液 20 μL , 37°C 孵育 4 h, 弃去孔中溶液, 再于每孔中加入 150 μL 二甲基亚砜, 37°C 孵育 30 min 直至板底紫色结晶完全溶解。酶标仪 490 nm 检测吸光度值。

SEM 观察细胞形态。将细胞种植于 $10 \times 10 \text{ mm}^2$ 的盖玻片上并用浓度为 0.1 mg/mL 的吡咯悬浮液培养 72 h。弃去培养液, 用 PBS 反复冲洗, 然后加入预冷的 3%戊二醛-PBS 溶液, 放入 4°C 冰箱中固定过夜。弃去固定液, PBS 反复冲洗, 再用乙醇梯度脱水(30%、50%、70%、85%、90%、95%、100%各 20 min)。CO₂

临界点干燥, 喷金处理后, 用 SEM 观察细胞的形态。

3. 结果与讨论

3.1. 四探针法测定材料导电性

PGlu 以及 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒压片后的电导率分别为 0.439 S/cm 和 4.247 S/cm。PGlu/SDS 掺杂样的电导率显著高于 PGlu 样。说明 SDS 的掺杂有助于改善 PGlu 掺杂 PPy 纳米颗粒的电学性能。

3.2. 傅里叶红外光谱的测定

图 1 所示为 PGlu(黑色)和 PGlu/SDS(红色)掺杂的 PPy 纳米颗粒的傅里叶红外光谱(FT-IR)。1650 cm^{-1} 左右的吸收峰归属于聚谷氨酸的酰胺 I 键, 说明聚谷氨酸成功的掺杂到了两种 PPy 纳米颗粒中。2860 cm^{-1} 和 2932 cm^{-1} 处的吸收峰归属于 SDS 的 C-H 伸缩振动, 证明 SDS 掺杂成功。黑色谱线上, 1545 cm^{-1} , 1448 cm^{-1} 和 1314 cm^{-1} 附近的吸收峰均为吡咯环的特征峰, 分别归属于聚吡咯环的 C=C、C-C、C-N 键的伸缩振动。这些都是与掺杂有关的键, 会随吡咯的还原而倾向于向高能区移动, 这是由于 SP^2 杂化的增加造成吡咯环键长缩短, 即聚吡咯由导电的醌型结构向不导电的苯型结构转化^[1]。这些峰在红色曲线中都存在, 且红色谱线和黑色谱线的峰形非常相似, 只是相对于黑色谱线有些红移(低能区), 说明在 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒中存在着更多醌型导电的 PPy 结构。黑色谱线上 1718 cm^{-1} 处的吸收峰表明 PPy 在聚合的过程中发生了过氧化。过氧化会降低 PPy 链的共轭规整程度, 从而破坏载流子的迁移通路, 引起电导率下降。这一结果与前面电导率的测试结果一致。

3.3. 粒度分布和 zeta 电位的测定

图 2 所示为两种 PPy 纳米颗粒的粒度分布曲线图: 掺杂 PGlu (a)和 PGlu/SDS (b)的 PPy 颗粒的平均粒度分别为: 1.623 和 2.201 μm 。左上角的放大图显示, 两种材料中均存在一些细小的纳米级颗粒, 由此可知, 微米级的 PPy 大颗粒是由很多细小的 PPy 纳米粒子团聚而成的。PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒的 zeta 电位(14.15 mV)略高于 PGlu/SDS 样(12.43 mV), 即

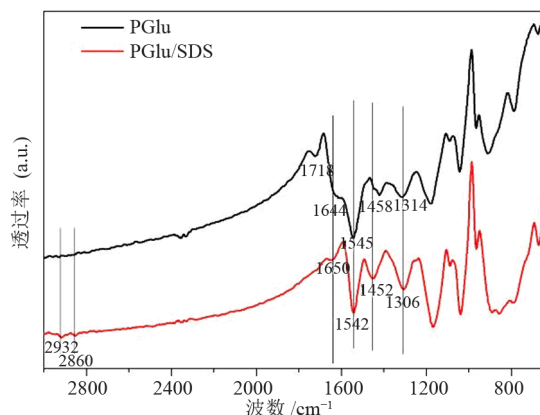


Figure 1. FT-IR of PPy nanoparticles doped with PGlu and PGlu/SDS
图 1. PGlu 以及 PGlu/SDS 共同掺杂的吡咯颗粒的傅立叶变换红外光谱图

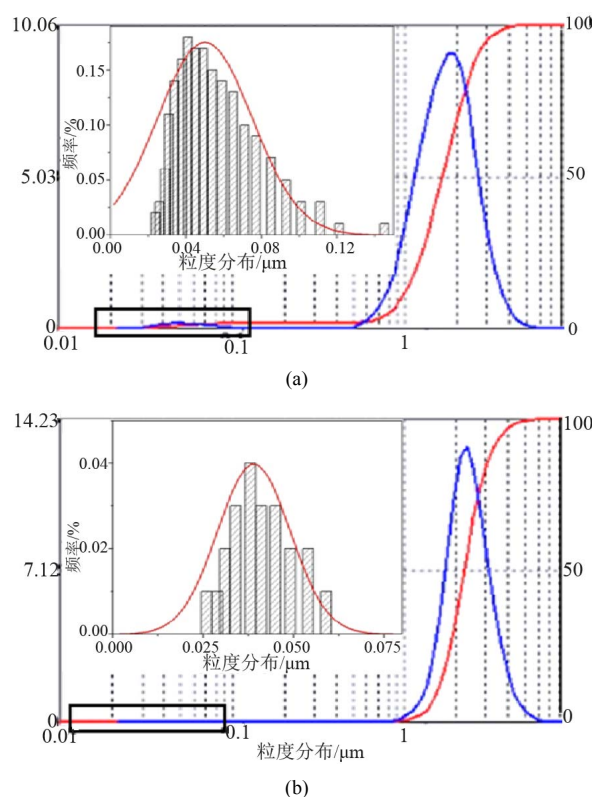


Figure 2. Size distribution of PGlu (a) and SDS/PGlu (b) doped PPy nanoparticles. Insets are amplification of the black frame
图 2. 粒度分布图: PGlu (a)和 SDS/PGlu (b)掺杂的吡咯纳米颗粒。左上插图为下方黑色方框处的放大图

PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒的稳定性优于 PGlu/SDS 样。这一结果与粒度分布测试的结果一致, PGlu 样稳定性更好, 所以在吡咯聚合过程中倾向于均匀的分布于溶液中, 形成尺寸较小的颗粒。而 PGlu/SDS 样则因为稳定性较差而团聚成了较大尺寸的颗粒。

3.4. SEM 的测定

图 3 所示为 PGlu (a)和 PGlu/SDS (b)掺杂的 PPy 颗粒的扫描电镜图。大量的 PPy 纳米颗粒团聚在一起形成微米级大颗粒，这一现象与粒度分析结果相符。由图 3(a)可知，PGlu 掺杂的 PPy 颗粒的粒径较小，直径在 30~60 nm，平均直径约为 50 nm，颗粒表面比较模糊，颗粒间的界线不清晰。如图 3(b)所示，PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒的尺寸较大，直径在 80~170 nm，平均直径约为 110 nm，颗粒表面清晰，颗粒间的界线清楚。我们认为，这一形貌差别是由于大量的 SDS 包裹在吡咯颗粒表面并填充了颗粒之间的间隙，从而比单独 PGlu 掺杂的吡咯样品更呈现出相对平滑的颗粒表面。

基于以上结果，我们初步提出了一个 PGlu (如图 4(a))以及 PGlu/SDS (如图 4(b))掺杂的 PPy 纳米颗粒的形成机理图。在制备 PGlu 掺杂的 PPy 颗粒时，亲水的 PGlu 大分子链在水溶液中充分的舒展，当加入吡咯单体后，吡咯可以在 PGlu 水溶液中及搅拌作用下形成均匀的水-油体系。铁离子易吸附在 PGlu 大分子上，并氧化聚合与之接触的单体，从而形成了相对较小的颗粒。由于大分子链的连接及缺少 SDS 的分散，从而使这些细小颗粒易粘附团聚。而在制备 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 颗粒时，两亲性的 SDS 在 PGlu/SDS 混合水溶液中倾向于形成图 4(b)中红色箭头所示的双层结构。当吡咯单体被加入到 SDS/PGlu 混合溶液后，小分子的吡咯能轻易地进入这些双层结构中，形成稳定而均匀的乳胶束液滴，然后被随之加入的 Fe^{3+} 氧化成聚吡咯，而形成 PPy 胶束粒。在 PPy 聚合过程中，一些含 SDS 分子的 PPy 胶束粒相互碰撞、融合，从

而生成了较大粒径的 PPy 纳米颗粒，这一过程中，SDS 同时作为乳化剂和掺杂剂，发挥着很重要的作用。

3.5. PPy 纳米颗粒细胞毒性的分析

为了定量检测 PPy 纳米颗粒对 L929 和 PC12 细胞的细胞毒性，我们将不同浓度的 PPy 纳米颗粒 (0.5~0.03 mg/mL)分别与上述细胞进行共培养，MTT 检测结果如图 5 所示。图 5(a)和 5(b)分别是 L929 细胞与 PGlu 以及 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒共培养 1~5 天的 MMT 结果。由图可知，L929 细胞分别与两

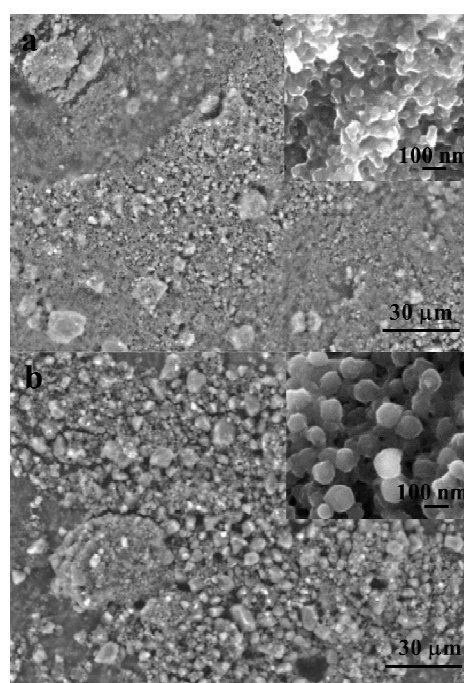


Figure 3. SEM of PGlu (a) and SDS/PGlu (b) doped PPy nanoparticles. Insets in the corner are amplifications
图 3. 扫描电镜图：PGlu (a)和 SDS/PGlu (b)掺杂的吡咯纳米颗粒。右上角插图分别为相应的放大图

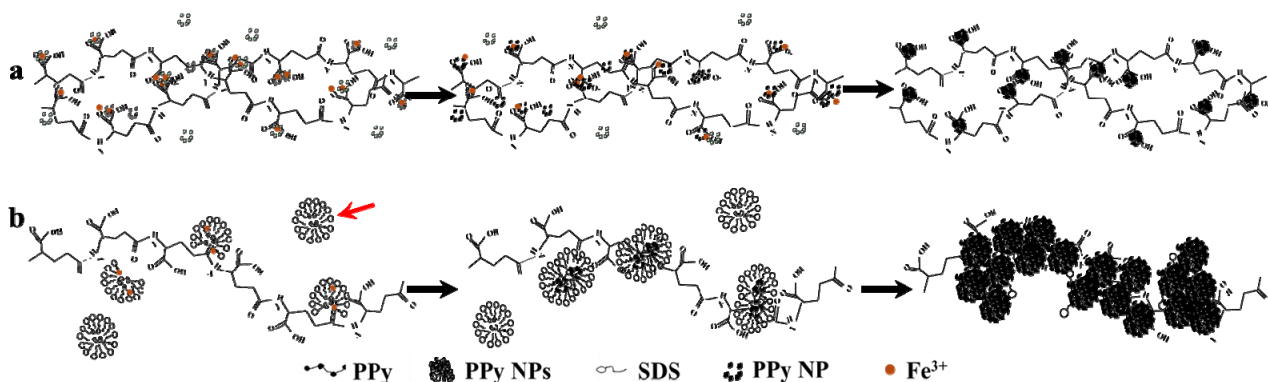


Figure 4. Schematic formation mechanism for the PPy nanoparticles doped with PGlu (a) or PGlu/SDS (b)
图 4. PGlu (a)以及 PGlu/SDS (b)掺杂的聚吡咯纳米颗粒的形成机理示意图

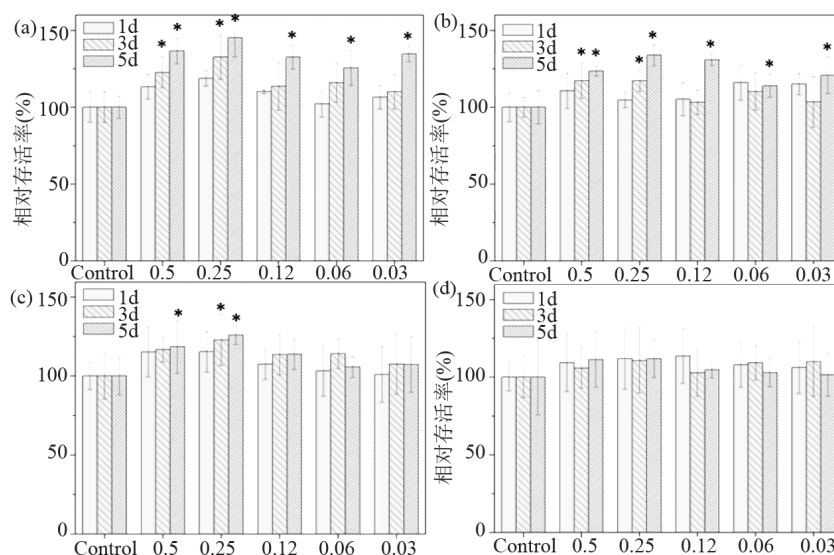


Figure 5. Viability of L929 and PC12 co-cultured with different concentration of PPy doped with PGlu and PGlu/SDS for 1-5 d, respectively. * represents significant difference

图 5. L929 和 PC12 细胞分别与不同浓度的 PGlu 和 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒共培养 1~5 天后的细胞存活率。*代表显著性差异

种 PPy 纳米颗粒共培养 5 天后, 细胞的存活率都显著高于对对照, 由此可知 PPy 纳米颗粒有益于 L929 细胞的增殖, 且当 PPy 浓度较低时, 这种促进作用随浓度的增加而增加, PPy 浓度为 0.25 mg/mL 时促进效果最为显著。然而, 图 5(b)中 L929 细胞的增殖率显著低于图 5(a)。由此可知, 相较于 PGlu 而言, SDS 不利于 L929 细胞的增殖。图 5(c)和 5(d)所示为 PC12 细胞与 PGlu 和 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米共培养的 MMT 结果。测试结果与前面 L929 细胞所得结果相似, 共培养 5 天后, 共培养样的细胞存活率均高于对对照 (仅 PGlu 掺杂的 PPy 浓度为 0.5 和 0.25 mg/mL 时有显著性差异, 这是由于 PC12 细胞在加 NGF 处理后即逐渐停止增殖), 且当颗粒浓度为 0.25 mg/mL 时存活率最高。PGlu 掺杂的 PPy 样的细胞存活率显著高于 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒。由此可知, 掺杂剂 SDS 对细胞的生长和增殖有轻微的不利影响。

3.6. SEM 观察细胞形态

图 6 所示为 0.1 mg/mL PGlu (a,b)和 PGlu/SDS (c) 掺杂的 PPy 纳米颗粒与 L929 细胞共培养 3 天后的 SEM 图, 图 6(b)为图 6(a)中黑框部分的放大图。由图 6(a)可以看出, 与 PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒共培养 3 天以后的 L929 细胞生长良好, 细胞呈长梭形, 伪足生长良好, 细胞表面和周围都能观察到大量的材料(红

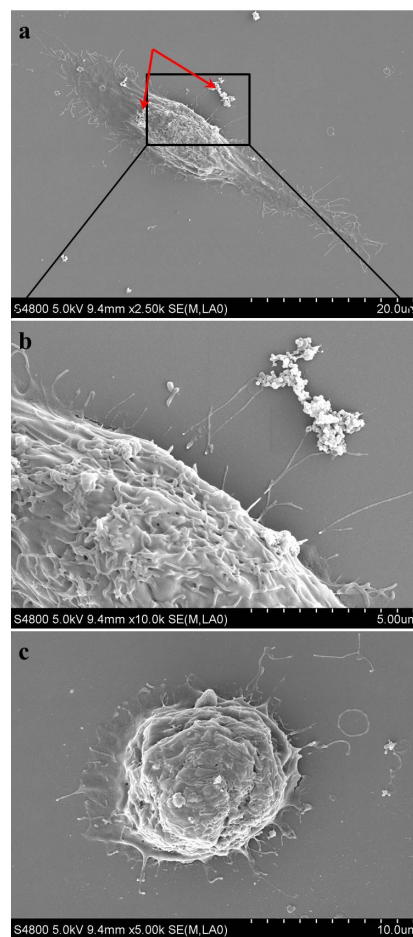


Figure 6. SEM of L929 co-cultured with 0.1 mg/mL PPy nanoparticles doped with PGlu (a) and PGlu/SDS (b) for 3 d
图 6. 0.1 mg/mL PGlu (a)和 PGlu/SDS (b)掺杂的 PPy 颗粒与 L929 细胞共培养 3 天后的 SEM 图

色箭头所示), 说明 PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒具有良好的细胞相容性, 能紧密的贴附在细胞表面而不影响细胞的表现形貌。如图 6(b)所示, L929 细胞及其附近的 PPy 纳米颗粒之间有几条细而长的伪足, 说明细胞的伪足倾向于向其附近的 PPy 纳米颗粒延伸。然而, 如图 6(c)所示, L929 与 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒共培养 3 天以后, 细胞呈圆形, 伪足短而稀疏。结合前面的 MTT 结果可知, SDS 不仅不利于 L929 细胞的增殖, 而且对 L929 细胞的形态也有影响, 主要表现在影响伪足的生成和细胞的变形与铺展。细胞周围的 PPy 纳米颗粒能诱导附近细胞伪足的生长。

3.7. PPy 纳米颗粒对 PC12 轴突生长的影响

为了定量测定两种 PPy 纳米颗粒对 PC12 细胞轴突生长的影响, 我们将 0.1 mg/mL 的 PGlu 和 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒分别与 PC12 细胞共培养 5 天后, 分别对每张图片中 PC12 细胞的平均轴突长度进行统计。图 7 所示分别为空白对照样(a), 无 PPy 颗粒, PGlu 样(b)、PGlu/SDS 样(c)与 PC12 细胞共培养 5 天后的光学显微镜图片及其平均轴突长度柱状图(d)。空白对照样、PGlu 样以及 PGlu/SDS 样的平均轴突长度分别为 $17.12 \pm 1.46 \mu\text{m}$ 、 $21.15 \pm 3.77 \mu\text{m}$ (有显著性差异)和 $18.50 \pm 3.21 \mu\text{m}$ (无显著性差异)。由此可知, PPy 颗粒

对 PC12 细胞轴突的生长有一定的促进作用, 这一结果与 Suter 等 RBI 实验的结果相一致^[13]。他们认为, 基底与细胞骨架之间的相互作用能促进神经轴突末端生长锥的变形和迁移, 从而加速神经轴突的生长。然而, PGlu/SDS 样促进轴突生长的情况并不明显, 说明 SDS 的加入削弱了 PPy 纳米颗粒促进轴突生长的作用。

4. 结论

本文中, 我们通过化学氧化法制备了 PGlu 和 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 纳米颗粒。FT-IR 结果显示, 两种掺杂剂都成功的掺杂到了相应的 PPy 纳米颗粒中。但 PGlu 掺杂样导电性较差, 部分 PPy 链为不导电的苯型结构。PGlu/SDS 掺杂样的表面电荷略低, 更容易团聚成较大的微米颗粒, 它们团聚颗粒的平均尺寸分别为 $1.623 \mu\text{m}$ (PGlu)和 $2.201 \mu\text{m}$ (PGlu/SDS)。掺杂剂还会影响 PPy 纳米颗粒的表现形貌, PGlu 和 PGlu/SDS 掺杂的 PPy 颗粒直径分别为 $\sim 50 \text{ nm}$ 和 $\sim 110 \text{ nm}$ 。L929 和 PC12 细胞共培养结果显示, PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒生物相容性好, 能有效的促进细胞的增殖和神经轴突的生长, 且不会影响细胞的表现形貌。但是掺杂的 SDS 对增殖和神经轴突的生长都有轻微的不利影响。综上所述, 尽管 PGlu 掺杂的 PPy 纳米颗粒导电

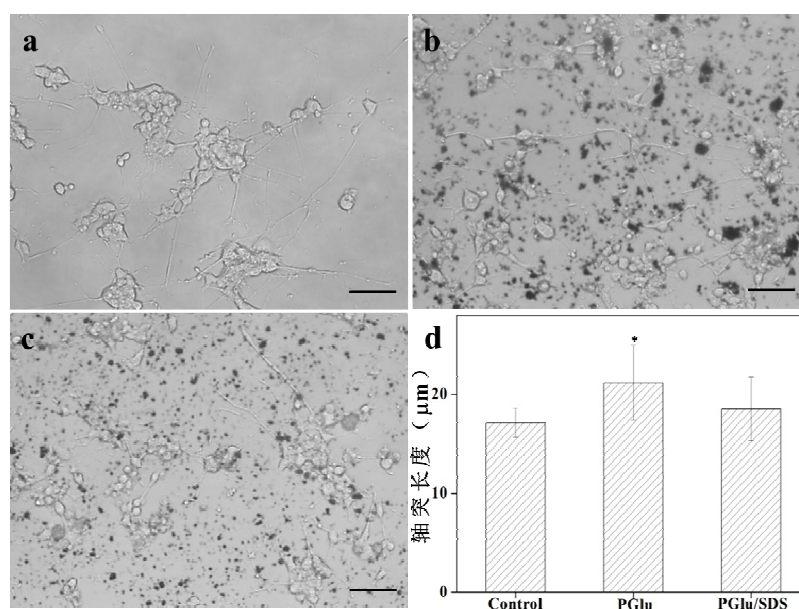


Figure 7. Images of PC12 cells (a) co-cultured with 0.1 mg/mL PPy doped with PGlu (b) and PGlu/SDS (c), (a) for blank control. (d) Neurite length of PC12 cells. Scale bars are 100 μm . * represents significant difference.

图 7. PC12 (a) 与 0.1 mg/mL PGlu (b) 以及 PGlu/SDS (c) 掺杂的 PPy 纳米颗粒共培养 5 天后的显微照片, (a) 为空白对照。(d) 平均轴突长度柱状图。* 代表显著性差异, 图中标尺为 100 μm

性略低,但并不致影响后期的电刺激实验。SDS 有助于提升 PPy 纳米颗粒的导电性,共掺杂 PGLu 和 SDS 将是一种既引入活性基团又保证导电性的行之有效的方法,且可以根据电刺激实验的具体要求适当调节 SDS 的掺杂比例。

参考文献 (References)

- [1] N. K. Guimard, N. Gomez and C. E. Schmidt. Conducting polymers in biomedical engineering. *Progress in Polymer Science*, 2007, 32(8-9): 876-921.
- [2] D. D. Zhou, et al. Conducting polymers in neural stimulation applications. *Implantable Neural Prostheses*, 2010, 2: 217-252.
- [3] G. Shi, et al. A novel electrically conductive and biodegradable composite made of polypyrrole nanoparticles and polylactide. *Biomaterials*, 2004, 25(13): 2477-2488.
- [4] R. A. Green, N. H. Lovell and L. A. Poole-Warren. Impact of co-incorporating laminin peptide dopants and neurotrophic growth factors on conducting polymer properties. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(1): 63-71.
- [5] H. R. Kang. Solid-state conducting polymer actuator based on electrochemically-deposited polypyrrole and solid polymer electrolyte. *High Performance Polymers*, 2006, 18(5): 665-678.
- [6] K. Ghanbari, S. Z. Bathaie and M. F. Mousavi. Electrochemically fabricated polypyrrole nanofiber-modified electrode as a new electrochemical DNA biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 2008, 23(12): 1825-1831.
- [7] R. T. Richardson, et al. Polypyrrole-coated electrodes for the delivery of charge and neurotrophins to cochlear neurons. *Biomaterials*, 2009, 30(13): 2614-2624.
- [8] 徐海星, 闫玉华, 李世普. 聚吡咯/聚乳酸多孔复合导电材料的制备与表征[J]. *中南大学学报(自然科学版)*, 2010, 4: 1321-1326.
- [9] 杨水晶等. 聚吡咯对 PC-12 细胞轴突生长情况的研究[J]. *中国科技论文在线*, 2008, 3(9): 659-662.
- [10] W. R. Stauffer, X. T. Cui. Polypyrrole doped with 2 peptide sequences from laminin. *Biomaterials*, 2006, 27(11): 2405-2413.
- [11] T. G. Davidson, T. G. Turner. An IR spectroscopic study of the electrochemical reduction of polypyrrole doped with dodecyl-sulfate anion. *Synthetic Metals*, 1995, 72: 121-128.
- [12] B. B. Zhao, Z. D. Nan, Formation of self-assembled nanofiber-like Ag@PPy core/shell structures induced by SDBS. *Materials Science and Engineering C*, 2012, 32: 1971-1975.
- [13] D. M. Suter, P. Forscher. Substrate-cytoskeletal coupling as a mechanism for the regulation of growth cone motility and guidance. *Journal of Neurobiology*, 2000, 44(2): 97-113.