



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1665554 B

(45) 授权公告日 2011.05.18

(21) 申请号 03815926.0

(22) 申请日 2003.04.15

(30) 优先权数据

10221055.1 2002.05.10 DE

60/378,676 2002.05.09 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2005.01.05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/DE2003/001253 2003.04.15

(87) PCT申请的公布数据

WO2003/094990 DE 2003.11.20

(73) 专利权人 汉莫堤克股份有限公司

地址 德国沃森蓝

(72) 发明人 罗兰·河瑞斯

马利塔·派塔力那·林森

米迦勒·后夫曼 沃克尔·浮士德

艾利克·后夫曼 都那特·帝拜斯

(74) 专利代理机构 北京中原华和知识产权代理

有限责任公司 11019

代理人 寿宁

(51) Int. Cl.

A61L 31/16(2006.01)

A61L 33/08(2006.01)

C08L 5/10(2006.01)

C08B 37/10(2006.01)

(56) 对比文件

US 6306166 B1, 2001.10.23, 全文.

US 6258121 B1, 2001.07.10, 全文.

WO 9926983 A1, 1999.06.03, 全文.

WO 9927976 A1, 1999.06.10, 全文.

审查员 俞可嘉

权利要求书 9 页 说明书 30 页 附图 11 页

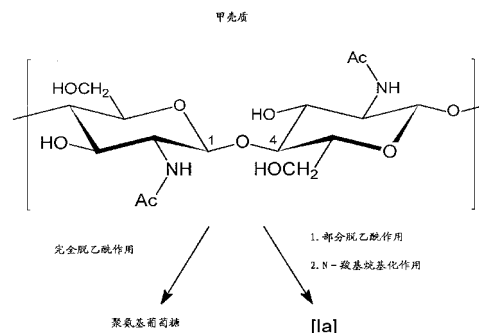
(54) 发明名称

具有血容性的化合物以及血容性表面的制备方法

(57) 摘要

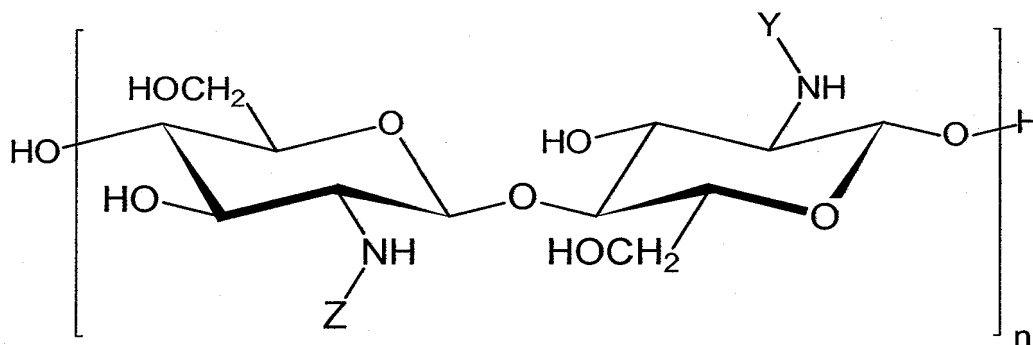
本发明是关于一种具有血容性的化合物以及血容性表面的制备方法,本发明有关于低聚糖和多糖以及它们的应用,其含有糖类单元 N-葡萄糖胺或者 N-乙酰基半乳糖胺用于制备血容性表面,及其上述低聚糖和/或多糖的用于制备血容性表面涂层的方法,其模拟肝素、类肝素硫酸盐和聚氨基葡萄糖共同的生物合成前驱物。本发明进一步描述了上述低聚糖和/或多糖的生产方法,并且公开了多种使用血容性表面涂层的可能性。本发明尤其涉及到上述的低聚糖和/或多糖在支架上的应用,至少一个根据本发明得到的血容性涂层,其包含一个抗增殖性、抗炎性和/或抗血栓形成的活性剂,以及制备上述支架的方法和上述支架在预防心瓣手术后再狭窄方面的应用。

CN 1665554 B

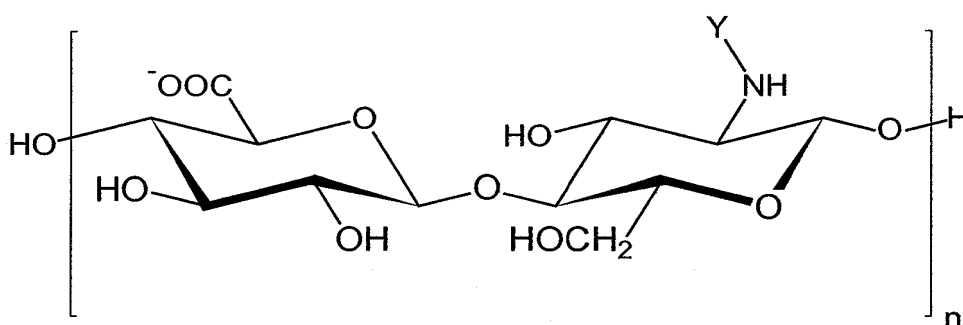


1. 通式 1a 和 1b 所示的化合物：

通式 1a：



通式 1b：



而通式 1a 和 1b 所示的化合物,其中,

n 是 4 ~ 210 内的一个正整数,

Y 与 Z 是相互独立的基团,它们代表如下基团: $-\text{CHO}$, $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$, 直链 $-\text{COC}_3\text{H}_7$, 直链 $-\text{COC}_4\text{H}_9$, 直链 $-\text{COC}_5\text{H}_{11}$, $-\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{COC}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{COO}^-$, $-\text{C}_2\text{H}_4\text{COO}^-$, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{COO}^-$, $-\text{C}_4\text{H}_8\text{COO}^-$, 以及上述化合物的盐类。

2. 根据权利要求 1 所述的通式 1a 所示的化合物,其特征在于其中所述的 Y 和 Z 是相互独立的基团,它们代表如下基团: $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$, 直链 $-\text{COC}_3\text{H}_7$, $-\text{CH}_2\text{COO}^-$, $-\text{C}_2\text{H}_4\text{COO}^-$, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{COO}^-$, 以及上述化合物的盐类。

3. 根据权利要求 1 所述的通式 1b 所示的化合物,其特征在于其中所述的 Y 代表如下基团: $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$, 直链 $-\text{COC}_3\text{H}_7$, 以及上述化合物的盐类。

4. 根据权利要求 1 所述的通式 1b 所示化合物的制造过程,其特征在于把类肝素硫酸盐和 / 或肝素超过 90% 脱硫酸然后利用一种酸将其超过 94% N 酰化。

5. 根据权利要求 1 所述的通式 1a 所代表化合物的制造过程,其特征在于:

- 聚氨基葡萄糖被部分地 N 羧基烷基化然后被 N 酰化,或
- 聚氨基葡萄糖被部分地 N 酰化然后被 N 羧基烷基化,或
- 聚氨基葡萄糖被部分地脱乙酰基然后被 N 羧基烷基化。

6. 权利要求 5 中的过程,特点在于 45% 至 55% 的甲壳质或聚氨基葡萄糖的氨基团被酰化,另一半被羧基烷基化。

7. 通式 1b 中的化合物,其是根据权利要求 4 中所述的过程得到的。

8. 通式 1a 中的化合物,其是根据权利要求 5 中所述的过程得到的。

9. 通式 1a 中的化合物,其是根据权利要求 6 中所述的过程得到的。
10. 根据权利要求 1,2,3,7,8 或 9 的任一权利要求所述的通式 1a 和 / 或 1b 所示的化合物,其特征在于每二糖单元中硫酸根的数量小于 0.005。
11. 根据权利要求 1,2,3,7,8 或 9 的任一权利要求所述的通式 1a 和 / 或 1b 所示的化合物,其特征在于考虑所有 NH-Y 基团的情况下,自由氨基的数量小于 1%。
12. 根据权利要求 1,2,3,7,8,9 的任一权利要求所述的通式 1a 和 / 或 1b 所示的化合物,其特征在于:糖单元的顺序是完全交替的。
13. 根据权利要求 1-3,7-9 的任一权利要求所述的通式 1a 和 / 或 1b 所示的化合物,其特征在于:所有氨基中有 45% -55%的氨基携带 Y 基团,剩下的氨基携带 Z 基团。
14. 权利要求 1 的通式 1a 和 / 或 1b 中的化合物的应用,在于制造医疗器具的血容性表面。
15. 根据权利要求 14 所述的应用,其特征在于其中所述的通式 1a 和 / 或 1b 中的化合物是以共价键和表面键合的。
16. 低聚糖和 / 或多糖在血容性表面涂层中的应用,其特征在于其中所示的低聚糖和 / 或多糖含有 40% ~ 60%的糖单元 N- 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺,剩下的糖单元全部包含一个羧基 / 糖单元。
17. 根据权利要求 16 所述的应用,其特征在于,每一个低聚糖和 / 或多糖的第二糖单元都是 N- 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺。
18. 根据权利要求 17 所述的应用,其特征在于 N- 酰基葡萄糖胺为 N- 乙酰葡萄糖胺, N- 酰基半乳糖胺为 N- 乙酰半乳糖胺。
19. 根据权利要求 16 所述的应用,其特征在于,剩下的糖单元是糖醛酸。
20. 根据权利要求 19 所述的应用,其特征在于,其中所述的糖醛酸完全是 D- 葡萄糖醛酸和 L- 艾杜糖醛酸。
21. 根据权利要求 14-20 任一权利要求所述的应用,其特征在于其中所述的糖单元的顺序都是完全交替的。
22. 根据权利要求 16-20 任一权利要求所述的应用,其特征在于其中所述的低聚糖和 / 或多糖包含充分脱硫酸和充分 N- 酰化的类肝素硫酸盐、以及部分地 N- 羧基烷基化和 N- 酰化的甲壳质。
23. 制造医疗器具生物和 / 或人工表面的血容性涂层的方法,其包括以下步骤:
- a) 提供提供一个医疗器具的表面,以及
 - b) 在此表面上沉积至少一种权利要求 1-3,7-9,16-20 其中之一所述的低聚糖和 / 或多糖作为血容性涂层;
- 和 / 或
- b') 在医疗器具表面或所述的血容性涂层上沉积一生物稳定层。
24. 根据权利要求 23 所述的方法,其特征在于其中所述的血容性涂层或生物稳定涂层是通过浸渍和喷雾的方法附着上的,使用了至少包含了一种以共价键和 / 或粘合的方式结合的活性剂的一种可生物降解和 / 或生物稳定层。
25. 根据权利要求 23 所述的方法,其进一步包含步骤 C):
- C) 在血容性涂层或生物稳定涂层之上和 / 或内沉积至少一种活性剂。

26. 根据权利要求 25 所述的方法,其特征在于其中所述的活性剂至少有一个是通脱浸渍或喷雾的方法形成和 / 或沉积在血容性涂层或生物稳定层的上和 / 或内的,和 / 或者所述的至少一种活性剂是通过共价键和 / 或粘合的方式与血容性涂层或生物稳定层相结合的。

27. 根据权利要求 23-26 任一权利要求所述的方法,其进一步包含步骤 d) :

d) 分别地,在血容性涂层或活性剂层上沉积至少一种可生物降解层和 / 或一种生物稳定层,

或

d') 分别地,在生物稳定层或活性剂层上沉积至少一种权利要求 1-3、7-9、16-19 其中任一权利要求所述的低聚糖和 / 或多糖作为血容性涂层。

28. 根据权利要求 23-26 任一权利要求所述的方法,其进一步包含步骤 e) :

e) 在至少一种可生物降解和 / 或生物稳定层或血容性涂层内和 / 或上沉积至少一种活性剂。

29. 根据权利要求 28 所述的方法,其特征在于其中所述的活性剂至少有一种是通过浸渍或喷雾的方法沉积和 / 或形成在至少一种可生物降解和 / 或生物稳定层或血容性涂层上和 / 或内的,和 / 或者所述的至少一种活性剂是通过共价键和 / 或粘合的方式与至少一种可生物降解和 / 或生物稳定层或血容性涂层相结合的。

30. 根据权利要求 27 所述的方法,其特征在于其中所述的生物稳定和 / 或可生物降解层是以共价键和 / 或粘合的方式形成于医疗器具的表面上,血容性涂层通过共价键与生物稳定层相结合且完全或者不完全覆盖着生物稳定层。

31. 根据权利要求 23 所述的方法,其特征在于其中所述的血容性涂层包括在五糖的分子量范围内的具有不同硫酸盐系数和酰化系数的具有区域选择性合成衍生物的天然起源的肝素,其最高可达到 13kd 的能够达到肝素的标准分子量 ;其是类肝素硫酸盐及其衍生物 ;红血球细胞衣的低聚糖和多糖 ;脱硫酸根和 N- 再酰化肝素 ;N- 羧甲基化和 / 或部分地 N- 酰化聚氨基葡萄糖以及上述物质的混合物具有抗血栓形成活性的原因。

32. 根据权利要求 24 所述的方法,其特征在于其中所述的用于可生物降解层的可生物降解物质是 :聚戊内酯,聚 - ϵ - 癸内酯,聚内酯酸,聚乙醇酸,聚交酯,聚乙醇酸交酯,聚交酯和聚乙醇酸交酯共聚物,聚 - ϵ - 己内酯,聚羟基丁酸,聚羟基丁酸酯,聚羟基戊酸酯,共聚羟基丁酸酯 - 戊酸酯,聚 1,4- 二噁烷 -2,3- 二酮,聚 1,3- 二噁烷 -2- 二酮,聚对二噁酮,作为聚酐的聚马来酸酐,聚羟基甲基丙烯酸酯,血纤维蛋白,聚脲基丙烯酸酯,聚己内酯二甲基丙烯酸酯,聚 -b- 马来酸,聚己酸丙酯丁基 - 丙烯酸酯,多块聚合物,低聚己内酯二醇和低聚二噁酮二醇,聚醚酯多块聚合物,聚乙醇酸三甲基碳酸酯,聚己酸丙酯乙交酯,聚 g- 谷氨酸乙酯,聚 DHT- 亚氨基碳酸酯,共聚 DTE-DT- 碳酸酯,聚双酚 A 亚氨基碳酸酯,聚正酯,聚乙醇酸三甲基碳酸酯,聚三甲基碳酸酯,聚亚氨基碳酸酯,聚 N- 乙基吡咯烷酮,聚乙烯醇,聚酰胺酯,羟基乙酸聚酯,聚磷酸酯,聚磷腈,聚对羧基苯氧基丙烷,聚羟基戊烷酸,聚酐,聚环氧乙烷 - 环氧丙烷,软聚氨酯,聚醚酯,聚烯基草酸酯,聚正酸酯及其共聚物,类脂,角叉藻聚糖,血纤蛋白原,淀粉,胶原,基于聚合物的蛋白质,聚氨基酸,人工合成聚氨基酸,玉米蛋白,改性玉米蛋白,聚羟基烷基酸酯,果胶酸,光化性酸,改性和非改性血纤蛋白和酪蛋白,羧甲基硫酸酯,白蛋白,进而还有,糖醛酸,聚氨基葡萄糖,类肝素硫酸盐,肝素,硫酸

软骨素,右旋糖苷,b-环糊精,聚乙二醇和聚丙二醇的共聚物,阿拉伯胶,瓜尔胶,明胶,胶原,胶原-N-羟基琥珀酰亚胺,类脂,磷脂,改性的上述物质和上述物质的共聚物和/或混合物。

33. 根据权利要求 23-26 任一权利要求所述的方法,其特征在于其中所述的生物稳定层所应用的生物稳定性物质是聚丙烯酸和聚丙烯酸酯,聚酰胺,聚醚酰氨,聚乙烯胺,聚酰亚胺,聚碳酸酯,聚碳氨基甲酸酯,乙烯聚合酮,乙烯聚合氯化物,聚乙烯单卤化物,聚乙烯醚,聚异丁烯,聚乙烯芳香酯,乙烯聚合酯,聚乙烯吡咯烷酮,聚甲醛,聚四亚甲基氧化物,聚乙烯,聚丙烯,聚四氟乙烯,聚氨酯,聚醚氨酯,硅酮-聚醚氨酯,硅酮-聚氨基甲酸酯,硅酮-聚碳酸酯-氨基甲酸酯,聚烯烃橡胶,聚异丁烯,EPDM 橡胶,氟硅氧烷,羧甲基聚氨基葡萄糖,聚芳醚酮,聚对苯二甲酸乙二醇酯,聚戊酸酯,羧甲基纤维素,纤维素,人造纤维,三乙酸酯人造纤维,硝酸纤维素,醋酸纤维素,羟乙基纤维素,丁酸纤维素,纤维素醋酸丁酸酯,乙基乙烯基乙酸酯聚合物,聚砜,环氧树脂,ABS 树脂,EPDM 橡胶,硅酮,聚乙烯卤素和共聚物,纤维素醚,三醋酸纤维素,聚氨基葡萄糖和共聚物,和/或上述物质的混合物。

34. 根据权利要求 33 所述的方法,其特征在于其中所述的聚丙烯酸酯是选自聚甲基丙烯酸甲酯,聚丁基丙烯酸甲酯,聚丙烯酰胺或聚丙烯腈。

35. 根据权利要求 33 所述的方法,其特征在于其中所述的硅酮是选自聚硅氧烷或聚二甲基硅氧烷。

36. 根据权利要求 24-26 任一权利要求所述的方法,其特征在于其中所述的活性剂选自如下的族群:西罗莫司,依维莫司,吡美莫司,生长激素抑制素,他克莫司,罗红霉素,敦耐霉素,子囊霉素,巴菲洛霉素,红霉素,麦迪霉素,交沙霉素,肯卡那霉素,克拉霉素,醋竹桃霉素,多叶霉素,西立伐他汀,辛伐他汀,洛伐他汀,氟伐他汀,罗苏伐他汀,阿托伐他汀,普伐他汀,匹伐他汀,长春碱,长春新碱,长春地辛,长春瑞滨,依托泊苷,替尼泊苷,尼莫司汀,卡莫司汀,洛莫司汀,环磷酰胺,4-羟基环磷酰胺,雌莫司汀,美法仑,异环磷酰胺,苯丁酸氮芥,胸腺素 α -1,苯达莫司汀,达卡巴嗪,白消安,丙卡巴肼,曲奥舒凡,替莫唑胺,塞替派,柔红霉素,多柔比星,阿柔比星,表柔比星,米托蒽醌,伊达比星,博来霉素,丝裂霉素,放线菌素 D,甲氨蝶呤,氟达拉滨,2-甲基四氢噻唑-2,4-二羧酸,特亚林钠,氟达拉滨-5'-二氢磷酸钠,克拉屈滨,疏嘌呤,硫鸟嘌呤,阿糖胞苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,卡培他滨,多西紫杉醇,顺羧酸铂,顺铂,奥沙利铂,安吡啶,伊立替康,托泊替康,羟基脲,米替福新,喷司他丁,阿地白介素,维 A 酸,门冬酰胺酶,培门冬酶,阿那曲唑,依西美坦,来曲唑,福美坦,氨鲁米特,多柔比星,阿奇霉素,螺旋霉素,西法安汀,“皮西丁”蛋白,smc 增殖抑制剂-2w,艾普西隆 A 和 B,米托蒽醌,硫唑嘌呤,霉酚酸酯,反义 c-myc,反义 b-myc,白桦脂酸,喜树碱,硫酸化低聚糖,活性蛋白 C,促黑激素,IL-1 β 抑制剂,富马酸及其酯,卡泊三醇,他卡西醇,拉帕醇, β -拉帕醌,鬼臼毒素,桦木素,鬼臼酸 2-乙基酰胺,莫拉司亭,聚乙二醇化干扰素 α -2b,拉诺司亭,非格司亭,聚乙二醇,达卡巴嗪,依西美坦,来曲,戈舍瑞林,克发咯曼宁,巴利昔单抗,曲妥单抗,达珠单抗,选择蛋白,CETP 抑制剂,钙粘蛋白,细胞分裂素抑制剂,COX-2 抑制剂,NFkB,血管肽素,环丙沙星,喜树碱,氟拉西汀,单克隆抗体,其抑制肌细胞增殖,bFGF 抗体,普罗布考,前列腺素,1,11-二甲氧基铁尿米-6-酮,1-羟基-11-甲氧基铁尿米-6-酮,司克来亭,秋水仙碱,NO 供体,他莫昔芬,星孢素, β -雌二醇, α -雌二醇,雌三醇,雌酮,乙炔雌二醇,磷雌酚,甲羟孕酮,雌二醇环戊丙酸盐,雌二醇苯甲酸脂,曲尼司特,卡美巴考

啉以及其他萜类化合物, 维拉帕米, 其应用于癌症的治疗, 酪氨酸致活酶抑制剂, 环胞素 A, 6- α -羟基紫杉醇, 浆果赤霉素, 人工合成和天然资源中得到大环的二氧化三碳低聚物, 单苯保泰松, 阿西美辛, 双氯芬酸, 氯那唑酸, 氨苯砒, o-氨基甲酰苯氧基乙酸, 利多卡因, 酮洛芬, 甲芬那酸, 吡罗昔康, 美洛昔康, 磷酸氯喹, 青霉胺, 羟氯喹, 金诺芬, 金硫苹果酸钠, 奥沙西罗, 塞来考昔, β -谷固醇, 腺苷蛋氨酸, 麦替卡因, 聚乙二醇单十二醚, 诺香草胺, 左薄荷脑, 苯佐卡因, 七叶皂甙, 艾力替新, 2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基)乙酰胺, 秋水仙酰胺, 秋水仙酰胺 A-E, 茚达诺辛, 诺考达唑, S100 蛋白质, 杆菌肽, 玻璃粘附蛋白受体对抗物, 氮卓斯汀, 胍基环化酶胍基刺激素体素金属蛋白水解酶-1 和-2 的抑制剂, 自由核酸, 混合入病毒递质的核酸, DNA 和 RNA 片段, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-1, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-2, IL-1 β 抑制剂, 反义寡核苷酸, VEGF 抑制剂, IGF-1, 活性剂来自于抗生素, 抗血栓药, 阿加曲班, 阿斯匹林, 阿昔单抗, 合成的抗凝血酶, 比伐卢定, 香豆定, 依诺肝素, 脱硫酸和 N-乙酰化肝素, 组织纤维蛋白溶酶原激活剂, GpIIb/IIIa 血小板膜受体, Xa 因子抑制剂抗体, 肝素, 水蛭素, r-水蛭素, PPACK, 精蛋白酶, 特亚林钠, 尿激酶原, 链激酶, 华法林, 尿激酶, 血管扩张剂, PDGF 对抗物, ACE 抑制剂, 硫代蛋白酶抑制剂, 依前列醇, 伐哌前列素, 干扰素 α , β 和 γ , 组胺对抗物, 5-羟色胺阻滞剂, 编程性细胞死亡抑制剂, 编程性细胞死亡调节剂, 反义寡核苷酸, 卤夫酮, 硝苯地平, 维生素 E, 维生素 B1, B2, B6 和 B12, 叶酸, 特拉呢拉西特, 吗多明, 茶多酚, 表儿茶酸的鞣酸盐, 表没食子儿茶素的鞣酸盐, 乳香脂酸, 来氟米特, 阿那白滞素, 依那西普, 柳氮磺吡啶, 依托泊苷, 双氯西林, 四环素, 曲安西龙, 丝裂霉素, 普鲁卡因胺, 维 A 酸, 奎尼丁, 丙吡胺, 氟卡尼, 普罗帕酮, 索他洛尔, 盐酸美沙酮, 天然的或者人工合成的类固醇, 非甾体抗炎药, 抗病毒剂, 抗真菌药, 抗疟剂, 氯喹, 甲氟喹, 奎宁, 以及更多的天然的萜类化合物, 西波秦皮素葡萄糖甙, 玉蕊精醇-C21-萜类化合物, 14-去氢阿咯思泰啉, 阿咯思科啉, 阿咯思泰啉, 17-脱羟基阿咯思泰啉, 鸥瓦特二交酯, 4, 7-氧环阿尼色梅立酸, 巴查立三萜 B1, B2, B3 和 B7, 土贝母皂甙, 鸦胆子醇 A, B 和 C, 抗痢鸦胆子甙 C, 鸦胆子糖苷 N 和 P, 异去氧地胆草素, 脱门分品 A 和 B, 二羟丙茶碱 A, B, C 和 D, 熊果酸, 西皮他可酸 A, 泽渥萜, 异德国鸢尾醛, 梅他佛立奥, 艾佛散丁 A, 艾思散宁 A 和 B, 长栲利素 B, 黄花香茶菜素 C, 卡美宝宁, 路卡梅宁 A 和 B, 13, 18-脱水-6- α -异戊烯酰查杷林, 美丽红豆杉素 A 和 B, 雷咯尼醇, 雷公藤内酯, 更多的磁麻甙, 毒毛旋花甙元, 马兜铃酸, 阿诺蝶呤, 羟基阿诺蝶呤, 银莲花素, 原白头翁素, 黄连素, 氯化柯立不啉, 西克霉素, 西诺印防己毒素, 本波雷思它丁 A 和 B, 库拉异黄酮 A, 姜黄, 二氢光花椒碱, 氯化光叶花椒碱, 12- β -羟基孕二亚乙基三胺-3, 20-二酮, 白果酚, 银杏酚, 银杏酸, 锦鸡菊素, 大尾摇辛, 大尾摇辛-N-氧化物, 毛果天芥菜碱, 衣诺脱二醇, 糖苷 1a, 鬼臼毒素, 爵床脂素 A 和 B, 拉力亭, 马咯特啉, 马咯特色原烷醇, 异丁酰马咯特色原烷醇, 马奎尔糖苷 A, 马奇安亭 A, 美登素, 莱克里二辛, 石蒜西定, 盘克拉特思坦丁, 鹅掌揪碱, 百思帕森诺立丁, 氧化黄心树宁碱, 马兜铃内酰胺 AIII, 百思帕森诺立丁, 杠柳甙 A, 哈喇秦糖苷, 熊果酸, 脱氧普思咯思婆明, 菲克卢宾, 蓖麻毒素 A, 血根碱, 曼乌小麦酸, 甲基珍珠梅甙, 促黑素细胞激素, 思法立克咯门敏, 思地唑非林, 曼森南天竹碱, 斯坦卜糖苷, 东非马钱碱, 二氢乌撒巴林, 羟基乌撒巴林, 思吹克诺喷他明, 思吹克诺非林, 乌撒巴林, 黄连素, 鹅掌揪碱, 氧化黄心树宁碱, 西瑞香素, 落叶松脂素, 落叶松脂素, 丁香脂素, 伞形酶蛋白, 阿咯蒙森, 乙酰基维斯米酮 B, 去乙酰基维斯米酮 A, 维斯米酮 A 和 B。

37. 根据权利要求 23 所述的方法,其特征在于其中所述的权利要求 1-3、7-9、16-20 中任一项一个所述的低聚糖和 / 或多糖的固定或者沉积是通过疏水作用,范德华力,静电作用,氢键,离子相互作用,交联和 / 或共价键形成的。

38. 一种医疗器具,其是根据权利要求 23 所述的方法得到的。

39. 一种医疗器具,其是根据权利要求 25 所述的方法得到的。

40. 一种医疗器具,其表面直接和 / 或经由至少一层居间的生物稳定层和 / 或可生物降解层和 / 或活性剂层,而涂覆包含至少一种根据权利要求 1-3,7-9,16-20 中任一权利要求所述的低聚糖和 / 或多糖的血容性涂层。

41. 根据权利要求 40 所述的医疗器具,其特征在于其中所述的血容性涂层下或两血容性涂层中间至少存在有一生物稳定层和 / 或可生物降解层。

42. 根据权利要求 40 所述的医疗器具,其特征在于其中所述的血容性涂层是完全或者不完全被至少一个其他的生物稳定层和 / 或可生物降解层所覆盖。

43. 根据权利要求 41 所述的医疗器具,其特征在于其中所述的血容性涂层是完全或者不完全被至少一个其他的生物稳定层和 / 或可生物降解层所覆盖。

44. 根据权利要求 41 所述的医疗器具,其特征在于其中至少一活性剂层存在于所述的生物稳定层和 / 或可生物降解层与血容性涂层之间,其包括至少一种以共价键和 / 或粘联合的抗增殖,抗炎和 / 或抗血栓形成的活性剂。

45. 根据权利要求 41 所述的医疗器具,其特征在于其中至少一种抗增殖,抗炎和 / 或抗血栓形成的活性剂以共价键和 / 或粘联合在所述的血容性涂层和 / 或生物稳定层和 / 或可生物降解层上和 / 或内。

46. 根据权利要求 44 或 45 所述的医疗器具,其特征在于其中所述的活性剂选自如下族群中,其包括:西罗莫司,依维莫司,吡美莫司,生长激素抑制素,他克莫司,罗红霉素,敦耐霉素,子囊霉素,巴菲洛霉素,红霉素,麦迪霉素,交沙霉素,肯卡那霉素,克拉霉素,醋竹桃霉素,多叶霉素,西立伐他汀,辛伐他汀,洛伐他汀,氟伐他汀,罗苏伐他汀,阿托伐他汀,普伐他汀,匹伐他汀,长春碱,长春新碱,长春地辛,长春瑞滨,依托泊苷,替尼泊苷,尼莫司汀,卡莫司汀,洛莫司汀,环磷酰胺,4-羟基环磷酰胺,雌莫司汀,美法仑,异环磷酰胺,苯丁酸氮芥,苯达莫司汀,达卡巴嗪,白消安,丙卡巴肼,曲奥舒凡,胸腺素 α -1,替莫唑胺,塞替派,特亚林,特亚林钠,柔红霉素,多柔比星,阿柔比星,表柔比星,米托蒽醌,伊达比星,博来霉素,丝裂霉素,放线菌素 D,甲氨蝶呤,氟达拉滨,氟达拉滨-5'-二氢磷酸钠,克拉屈滨,巯嘌呤,硫鸟嘌呤,阿糖胞苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,卡培他滨,多西紫杉醇,顺铂,奥沙利铂,安吡啶,伊立替康,托泊替康,羟基脲,米替福新,喷司他丁,阿地白介素,维 A 酸,门冬酰胺酶,培门冬酶,阿那曲唑,依西美坦,来曲唑,福美坦,氨鲁米特,多柔比星,阿奇霉素,螺旋霉素,西法安汀,smc 增殖抑制剂-2w,艾普西隆 A 和 B,米托蒽醌,硫唑嘌呤,霉酚酸酯,反义 c-myc,反义 b-myc,白桦脂酸,喜树碱,硫酸化低聚糖,活性蛋白 C,促黑激素,IL-1 β 抑制剂,富马酸及其酯,“皮西丁”蛋白,卡泊三醇,他卡西醇,拉帕醇, β -拉帕醌,鬼臼毒素,桦木素,鬼臼酸 2-乙基酰胺,莫拉司亭,派可干扰素 α -2b,拉诺司亭,非格司亭,聚乙二醇,达卡巴嗪,来曲,戈舍瑞林,克发咯曼宁,曲妥单抗,依西美坦,巴利昔单抗,达珠单抗,选择蛋白, CETP 抑制剂,钙粘蛋白,细胞分裂素抑制剂, COX-2 抑制剂, NF κ B, 血管肽素, 环丙沙星, 喜树碱, 氟拉西汀, 单克隆抗体, 其抑制肌细胞增殖, bFGF 抗体, 普罗布考, 前列腺素, 1,

11-二甲氧基铁屎米-6-酮, 1-羟基-11-甲氧基铁屎米-6-酮, 司克来亭, 秋水仙碱, NO 供体, 他莫昔芬, 星孢素, β -雌二醇, α -雌二醇, 雌三醇, 雌酮, 乙炔雌二醇, 1 磷雌酚, 甲羟孕酮, 雌二醇环戊丙酸盐, 雌二醇苯甲酸脂, 曲尼司特, 卡美巴考啉以及其他萜类化合物, 其应用于癌症的治疗, 维拉帕米, 酪氨酸致活酶抑制剂, 环胞素 A, 紫杉醇, 人工合成和天然资源中得到大环的二氧化三碳低聚物, 单苯保泰松, 阿西美辛, 双氯芬酸, 氯那唑酸, 氨苯砒, o-氨基甲酰苯氧基乙酸, 利多卡因, 酮洛芬, 甲芬那酸, 吡罗昔康, 美洛昔康, 磷酸氯喹青霉胺, 羟氯喹, 金诺芬, 金硫苹果酸钠, 奥沙西罗, 塞来考昔, β -谷固醇, 腺苷蛋氨酸, 麦替卡因, 聚乙二醇单十二醚, 诺香草胺, 左薄荷脑, 苯佐卡因, 七叶皂甙, 艾力替新, 2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基)乙酰胺, 秋水仙酰胺, 秋水仙酰胺 A-E, 茆达诺辛, 诺考达唑, S 100 蛋白质, 杆菌肽, 玻璃粘附蛋白受体对抗物, 氮卓斯汀, 胍基环化酶刺激素体素金属蛋白水解酶-1 和-2 的抑制剂, 自由核酸, 混合入病毒递质的核酸, DNA 和 RNA 片段, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-1, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-2, 反义寡核苷酸, VEGF 抑制剂, IGF-1, 活性剂来自于抗生素, 抗血栓药, 脱硫酸和 N- 载乙酰化肝素, 组织纤维蛋白溶酶原激活剂, GpIIb/IIIa 血小板膜受体, Xa 因子抑制剂抗体, 肝素, 水蛭素, r- 水蛭素, PPACK, 精蛋白酶, 尿激酶原, 链激酶, 华法林, 尿激酶, 血管扩张剂, PDGF 对抗物, ACE 抑制剂, 硫代蛋白酶抑制剂, 依前列醇, 伐哌前列素, 干扰素 α , β 和 γ , 组胺对抗物, 5-羟色胺阻滞剂, 编程性细胞死亡抑制剂, 编程性细胞死亡调节剂, 反义寡核苷酸, 卤夫酮, 硝苯地平, 维生素 E, 特拉呢拉西特, 吗多明, 茶多酚, 表儿茶酸鞣酸盐, 表没食子儿茶素鞣酸盐, 乳香脂酸, 来氟米特, 阿那白滞素, 依那西普, 柳氮磺吡啶, 依托泊苷, 双氯西林, 四环素, 曲安西龙, 丝裂霉素, 普鲁卡因胺, 维 A 酸, 奎尼丁, 丙吡胺, 氟卡尼, 普罗帕酮, 索他洛尔, 盐酸美沙酮, 天然的或者人工合成的类固醇, 非甾体抗炎药, 抗病毒剂, 抗真菌药, 克霉唑, 氟胞嘧啶, 灰黄霉素, 酮康唑, 咪康唑, 制霉菌素, 特比萘芬, 抗疟剂, 氯喹, 甲氟喹, 奎宁, 以及更多的天然的萜类化合物, 西波秦皮素葡糖甙, 玉蕊精醇-C21-萜类化合物, 14-去氢阿咯思泰啉, 阿咯思科啉, 阿咯思泰啉, 17-脱羟基阿咯思泰啉, 鸥瓦特二交酯, 4,7-氧环阿尼色梅立酸, 巴查立三萜 B1, B2, B3 和 B7, 土贝母皂甙, 鸦胆子醇 A, B 和 C, 抗痢鸦胆子甙 C, 鸦胆子糖苷 N 和 P, 异去氧地胆草素, 脱门分品 A 和 B, 二羟丙茶碱 A, B, C 和 D, 熊果酸, 西皮他可酸 A, 泽渥萜, 异德国鸢尾醛, 梅他佛立奥, 艾佛散丁 A, 艾思散宁 A 和 B, 长栲利素 B, 黄花香茶菜素 C, 卡美宝宁, 路卡梅宁 A 和 B, 13,18-脱水-6- α -异戊烯酰查杷林, 美丽红豆杉素 A 和 B, 雷咯尼醇, 雷公藤内酯, 更多的磁麻甙, 毒毛旋花甙元, 马兜铃酸, 阿诺蝶呤, 羟基阿诺蝶呤, 银莲花素, 原白头翁素, 黄连素, 氯化柯立不啉, 西克霉素, 西诺印防己毒素, 本波雷思它丁 A 和 B, 库拉异黄酮 A, 姜黄, 二氢光花椒碱, 氯化光叶花椒碱, 12- β -羟基孕二亚乙基三胺-3, 20-二酮, 白果酚, 银杏酚, 银杏酸, 锦鸡菊素, 大尾摇辛, 大尾摇辛-N-氧化物, 毛果天芥菜碱, 衣诺脱二醇, 糖苷 1a, 鬼臼毒素, 爵床脂素 A 和 B, 拉力亭, 马咯特啉, 马咯特色原烷醇, 异丁酰马咯特色原烷醇, 马奎尔糖苷 A, 马奇安亭 A, 美登素, 莱克里二辛, 石蒜西定, 盘克拉特思坦丁, 鹅掌揪碱, 百思帕森诺立丁, 氧化黄心树宁碱, 马兜铃内酰胺 AII, 百思帕森诺立丁, 杠柳甙 A, 哈喇秦糖苷, 熊果酸, 脱氧普思咯思婆明, 菲克卢宾, 蓖麻毒素 A, 血根碱, 曼乌小麦酸, 甲基珍珠梅甙, 思法立克咯门敏, 思地唑非林, 曼森南天竹碱, 斯坦卜糖苷, 东非马钱碱, 羟基乌撒巴林, 思吹克诺喷他明, 思吹克诺非林, 乌撒巴林, 黄连素, 鹅掌揪碱, 氧化黄心树宁碱, 西瑞香素, 落叶松脂素, 落叶松脂素, 丁香脂素, 伞形酶蛋白, 阿咯蒙森, 乙酰

基维斯米酮 B, 去乙酰基维斯米酮 A, 维斯米酮 A 和 B。

47. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的 NO 供体是选自硝酸季戊四醇酯和辛地酮亚胺。

48. 根据权利要求 44-46 中的任一权利要求所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的活性剂是选自 6- α -羟基紫杉醇, 浆果赤霉素或多西紫杉醇。

49. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的抗生素是选自头孢羟氨苄, 头孢唑林, 头孢克洛, 头霉素吩, 妥布拉霉素, 庆大霉素, 青霉素类, 双氯青霉素, 苯唑西林, 磺胺类药物或甲硝唑。

50. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的抗血栓药是选自阿加曲班, 阿斯匹林, 阿昔单抗, 合成的抗凝血酶, 比伐卢定, 香豆定或依诺肝素。

51. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的血管扩张剂是选自双嘧达莫, 曲匹地尔或硝普盐。

52. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的 PDGF 对抗物是选自三唑并嘧啶或噻拉明。

53. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的 ACE 抑制剂是选自卡托普利, 西拉普利, 赖诺普利, 依那普利或氯沙坦。

54. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的编程性细胞死亡调节剂是选自 p65, NF-kB 或 Bcl-xL。

55. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的天然的或者人工合成的类固醇是选自环落地生根素 A, 衣诺脱二醇, 马奎尔糖苷 A, 哈喇秦糖苷, 曼森南天竹碱, 斯坦卜糖苷, 氢化可的松, 倍他米松或地塞米松。

56. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的非甾体抗炎药是选自非诺洛芬, 布洛芬, 吲哚美辛, 甲氧萘丙酸或保泰松。

57. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的抗病毒剂是选自阿昔洛维, 更昔洛韦或齐多夫定。

58. 根据权利要求 46 所述的医疗器具, 其特征在于, 其中所述的活性剂的应用涉及到的活性剂是: 他克莫司, 吡美莫司, 硫酸化低聚糖, 胸腺素 α -1, 硝酸季戊四醇酯, 浆果赤霉素, 多西紫杉醇, 秋水仙碱, 6- α -羟基紫杉醇, 紫杉醇, 曲匹地尔, α -和 β -雌二醇, “皮西丁” 蛋白, 特亚林钠辛伐他汀, 大环低值氧化物, 西罗莫司, 酪氨酸磷酸化抑制剂, 2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基) 乙酰胺, 秋水仙碱, 富马酸和富马酸酯类, 激活蛋白 C, 白细胞介素-1 β 抑制剂, 促黑激素, 以及上述活性剂的混合物。

59. 根据权利要求 40 所述的医疗器具, 其特征在于所述的医疗器具包括: 假肢, 器官, 脉管, 主动脉, 心脏瓣膜, 插管, 器官配体, 植入物, 纤维, 空心纤维, 支架, 空心针, 注射器, 隔膜, 镀锡的工具, 血液容器, 滴定盘, 起搏器, 吸附介质, 层析介质, 层析柱, 透析仪, 连接部件, 传感器, 瓣膜, 离心管, 回流交换器, 内窥镜, 过滤器, 泵腔室。

60. 根据权利要求 59 所述的医疗器具, 其特征在于其中所述的医疗器具是支架。

61. 根据权利要求 60 所述的支架, 其特征在于其中所述的聚合物在每涂层上沉积的含量是 0.01mg 至 3mg。

62. 根据权利要求 60 所述的支架, 其特征在于其中所述的支架包含抗增殖、抗炎和 / 或

抗血栓形成活性剂的药物活性浓度是 $0.001-10\text{mg}/\text{cm}^2$ 支架表面。

63. 根据权利要求 60-62 中的任一权利要求所述的支架,其用于防止或者减少再狭窄。

64. 根据权利要求 60-62 中的任一权利要求所述的支架,其持续释放至少一种抗增殖、抗炎和 / 或抗血栓形成活性剂。

65. 根据权利要求 40 所述的医疗器具,其直接接触血液。

66. 根据权利要求 40 所述的医疗器具,其防止或减少蛋白质附着在医疗器具的经过涂覆的表面。

67. 根据权利要求 65 所述的医疗器具,其在诊断检测方法中作为微量滴定板或者承载介质。

68. 根据权利要求 65 所述的医疗器具,其作为吸附介质或者层析介质。

具有相容性的化合物以及相容性表面的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有相容性的化合物以及相容性表面的制备方法,特别是涉及含有蔗糖组成单元 N- 酰基葡萄糖胺和 / 或 N- 酰基半乳糖胺的低聚糖和 / 或多糖在制备相容性表面的应用,利用上述低聚糖和 / 或多糖制备相容性表面涂层的方法以及与血液互容的经过涂覆的表面的应用。

背景技术

[0002] 在人体中,一旦发生创伤,血液所接触的表面就不是人体固有的血管的内表面了。接下来,如果血液接触到了外来表面,血液凝固系统就被激活以减少血液的流失防止因失血过多而威胁生命。有这样一个事实:所有接受植入手术的病人的植入物长期与血液接触,其植入物也是一个外来表面,在与血液接触中采用药物进行控制,就是能抑制血液凝结的抗凝血剂。对于进行体外循环的病人来说,例如血液透析,这也是存在的一个事实。但是,这种凝血抑制疗法在一定程度上存在着相当大的副作用,从脱发,恶心,呕吐,血小板减少,出血性皮肤坏死,增加出血素质,直至具有致命后果的副作用,如脑出血。

[0003] 因此,存在一种对于不形成血栓的相容性材料的需求,例如:假肢、器官配体、隔膜、插管、管状器官、血液容器以及支架,其如果与血液接触,其不会激活凝结系统,从而不会造成血液的凝结。

[0004] 欧洲专利 EP-B 0333730 描述了一种相容性基质的制备方法,该方法是加入、粘合和 / 或修饰以及附着不形成血栓的内皮细胞表面多糖 HS-1。在生物或者人工表面上的特定内皮细胞表面的蛋白类乙酰肝素硫酸盐 (HS1) 的固化导致类似表层适合与血液互容,且适合与血液长久接触。但是,由于需要培养内皮细胞,上述 HS1 的产生过程存在不利之处。因为培养内皮细胞十分耗时,并且只有花费相当高昂的成本才能够获得相对大量的内皮细胞,所以上述过程的经济应用性方面受到了很大的限制。

发明内容

[0005] 本发明的一个目的是提供一种基质,用于相容性表面涂层以及该相容性表面涂层的制备方法以及其为防止或者减少非希望的反应而在表面上的应用。

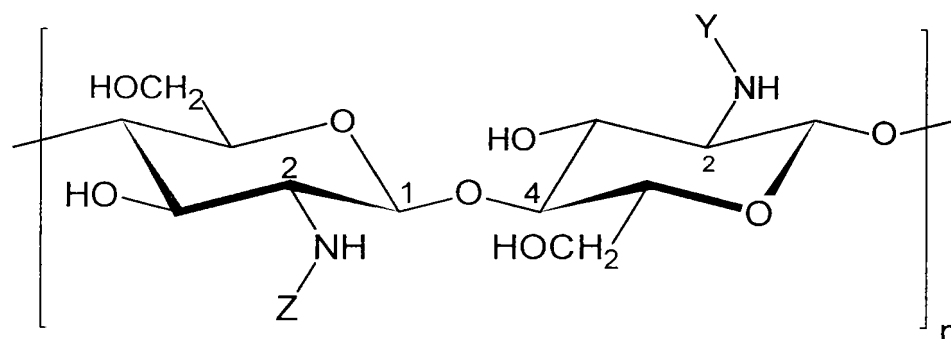
[0006] 尤其地,本发明的一个目的是提供医药产品,其允许该医药产品持续受约束地向内生长,一方面通过选择活性剂和活性剂组合在植入后的最初的几天和几星期来抑制细胞反应,另一方面提供具有抗血栓形成以及生物相容性表面,其能够保证,随着活性剂的减少没有反应在外来表面发生,其所谓的反应长远看,能导致并发症的发生。

[0007] 本发明目的是通过独立权利要求揭露的技术方案来解决的。进而,本发明从属权利要求、说明书、附图以及实例所提供的较佳的实施例进一步作为证据。

[0008] 本发明揭露的多糖通式 1a 如下:

[0009] 通式 1a

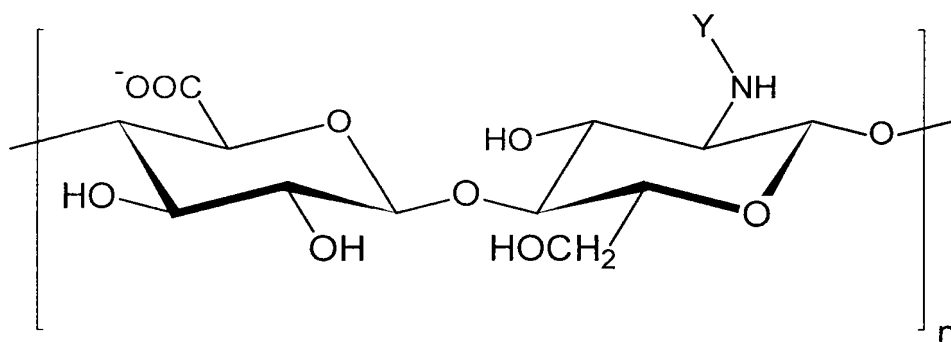
[0010]



[0011] 以及与其结构非常类似的多糖通式 1b 如下：

[0012] 通式 1b

[0013]



[0014] 如通式 1a 所示的多糖的分子量为 2kD ~ 400kD, 较佳为 5kD ~ 150kD, 更佳为 10kD ~ 100kD, 特别更佳为 30kD ~ 80kD。通式 1b 所示的多糖分子量为 2kD ~ 15kD, 较佳为 4kD ~ 13kD, 更佳为 6kD ~ 12kD, 特别更佳为 8kD ~ 11kD。n 是 4 ~ 1050 范围内的一个正整数, n 取值范围较佳为 9 ~ 400, 更佳为 14 ~ 260, 特别更佳为 19 ~ 210。

[0015] 通式 1a 和 1b 本身代表二糖, 根据本发明, 其将被视为多糖的一个基本单元, n 个基本单元串联一起形成多糖。上述的基本单元包含有两个糖类分子, 并没有意图暗示通式 1a 和通式 1b 仅涉及具有偶数个糖类分子的多糖。当然, 通式 1a 和通式 1b 也包括拥有奇数个糖类分子的多糖。羟基分别成为低聚糖和多糖的末端基团。

[0016] 基团 Y 和 Z, 相互独立, 取自如下的酰基或者羧基烷基: $-\text{CHO}$, $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$, $-\text{COC}_3\text{H}_7$, $-\text{COC}_4\text{H}_9$, $-\text{COC}_5\text{H}_{11}$, $-\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{COC}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{COO}^-$, $-\text{C}_2\text{H}_4\text{COO}^-$, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{COO}^-$, $-\text{C}_4\text{H}_8\text{COO}^-$ 。

[0017] 较佳的是, 酰基: $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$, $-\text{COC}_3\text{H}_7$ 和 羧基烷基: $-\text{CH}_2\text{COO}^-$, $-\text{C}_2\text{H}_4\text{COO}^-$, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{COO}^-$ 。更佳的是乙酰基、丙基、羧甲基以及羧乙基; 特别更佳的是乙酰基和羧甲基。

[0018] 另外, 较佳的是基团 Y 代表一个酰基, 同时基团 Z 代表一个羧基烷基。更佳的是基团 Y 选自 $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_2\text{H}_5$ 或者 $-\text{COC}_3\text{H}_7$, 尤其佳的是 $-\text{COCH}_3$ 。进而, 更进一步较佳的基团 Z 是羧乙基或者羧甲基, 尤其佳的是羧甲基。

[0019] 分子式 1a 所示的二糖基本单元包含一个取代基 Y 和一个基团 Z。其很清楚的说明了, 本发明的多糖包含两个不同的基团, 分别命名为 Y 和 Z。在此着重指出, 通式 1a 不但包括基团 Y 和 Z 严格按照交替顺序的由二糖基本单元连接而成的多糖, 而且包括氨基上含有

完全随机的基团 Y 和 Z 的多糖。进一步,通式 1a 还应包括含有不同数目的基团 Y 和 Z 的多糖。基团 Y 的数目和基团 X 的数目的比率在 70% : 30% 之间,较佳的比率在 60% : 40% 之间,特别更佳的比率是在 45% : 55%。特别更佳的是通式 1a 所示的多糖,其相当半数的氨基载有基团 Y,剩余半数的氨基载有基团 Z,并随机分布。在多数合适的情况下,上述的“相当半数”意味着严格的 50%,但也包括 45% 至 55% 的范围,尤其是 48% 至 52%。

[0020] 较佳的通式 1a 所示化合物,其中的基团 Y 和 Z 的组合有如下方式:

[0021] $Y = -CHO$ 和 $Z = -C_2H_4COO^-$

[0022] $y = -CHO$ 和 $Z = -CH_2COO^-$

[0023] $Y = -COCH_3$ 和 $Z = -C_2H_4COO^-$

[0024] $Y = -COCH_3$ 和 $Z = -CH_2COO^-$

[0025] $Y = -COC_2H_5$ 和 $Z = -C_2H_4COO^-$

[0026] $Y = -COC_2H_5$ 和 $Z = -CH_2COO^-$

[0027] 尤其更佳的,通式 1a 所示化合物,其中的基团 Y 和 Z 的组合有如下方式:

[0028] $Y = -CHO$ 和 $Z = -C_2H_4COO^-$

[0029] $Y = -COCH_3$ 和 $Z = -CH_2COO^-$

[0030] 尤其较佳的通式 1b 所示的化合物,其中的基团 Y 是下列基团之一: $-CHO$, $-COCH_3$, $-COC_2H_5$ 或者 $-COC_3H_7$ 。进一步较佳的基团选自: $-CHO$, $-COCH_3$, $-COC_2H_5$, 尤其佳的基团是: $-COCH_3$ 。

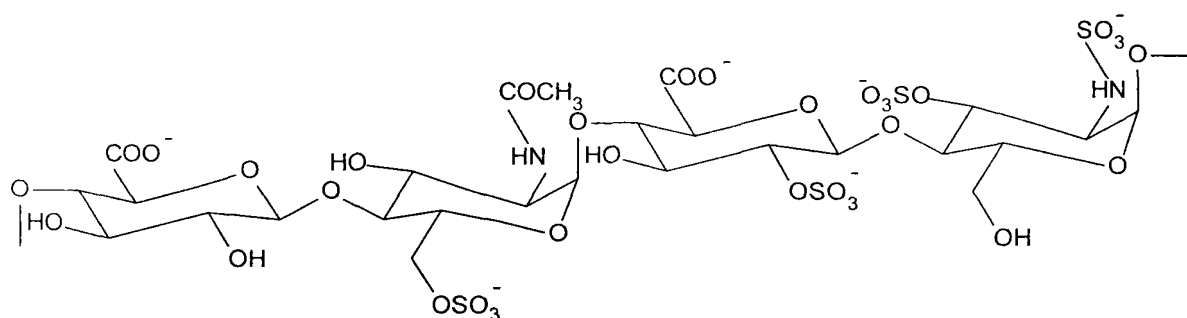
[0031] 通式 1b 所示的化合物仅包含很小数量的自由氨基基团。通过水合苯并戊三酮(茛三酮)测试,不应该检测到自由氨基基团,可以得出如下结论:根据这个测试的灵敏度,全部 $-NH-Y$ 基团中的自由氨基基团应该低于 2%,较佳的应低于 1%,特别更佳的应低于 0.5%,也就是,在较低百分比的 $-NH-Y$ 基团,其中 Y 是 H。

[0032] 通式 1a 和 1b 所示的多糖包括羰基和氨基,通式 1a 和 1b 各自代表的多糖还包括碱金属和碱土金属的盐。因此,诸如钠盐、钾盐、锂盐的碱金属盐或者诸如镁盐、钙盐的碱土金属盐是能够被应用于其中的。进而,与氨水作用,能够形成伯胺、仲胺、叔胺、季胺,吡啶和吡啶衍生物,铵盐,尤其是烷基铵盐和吡啶盐。与多糖作用生成盐的碱包括无机碱和有机碱,例如 NaOH, KOH, LiOH, $CaCO_3$, $Fe(OH)_3$, NH_4OH , 四烷基氨基氢氧化物及其类似化合物。

[0033] 类肝素硫酸盐普遍存在于哺乳动物的细胞表面。根据细胞种类的不同,类肝素在分子量、乙酰化程度以及硫酸化程度有很大的差异。例如,肝脏类肝素硫酸盐,其乙酰化程度大约为 50%,然而,内皮细胞的多糖包被的类肝素硫酸盐的乙酰化程度高达 90% 或者更高。肝素则表现了很低的乙酰化程度,只有 5%。肝脏的类肝素硫酸盐和肝素的硫酸化程度大约为 2/ 每个二糖单元,内皮细胞类肝素硫酸盐基本为 0/ 每个二糖单元,其他类型细胞的类肝素硫酸盐处于 0 到 2/ 每个二糖单元之间。

[0034] 下面表示的是肝素或者类肝素硫酸盐的四糖单元,作为典型的肝素,其硫酸根随机分布并且每个二糖单元的硫酸化程度为 2。

[0035]



[0036] 所有的类肝素具有和肝素一样的生物合成过程。假使是这样的话,首先,建立含木糖键的核心蛋白质。其由木糖组成并有两个半乳糖残基与其相连。对于最后两个半乳糖残基,葡糖醛酸和半乳糖胺相互交替键合直到分别达到各自的链长度。最后,进行由磺基转移酶和差向异构酶作用的类肝素硫酸盐和肝素的共同的多糖前驱物的多级酶改性,通过完成程度不同的反应产生从类肝素硫酸盐到肝素的很宽的频谱。

[0037] D-葡萄糖胺和D-葡萄糖醛酸及L-艾杜糖醛酸交替构成肝素,其中,D-葡萄糖胺和D-葡萄糖醛酸以 β -1,4-葡萄糖苷方式(L-艾杜糖醛酸以 α -1,4-葡萄糖苷方式)连接于二糖,其构成肝素亚单元。这些肝素亚单元依序以 β -1,4-葡萄糖苷方式相互连接,形成肝素。磺酰基的位置是可以改变的。一个四糖单元平均包含4~5个硫酸根。除肝脏类肝素硫酸盐外,类肝素硫酸盐,也指作为肝素硫酸盐,其比肝素包含较少N-键结磺酰基和O-键结磺酰基,但含有较多的N-乙酰基。

[0038] 根据图3所示,通式1a所示的化合物(请参见图3所示)和通式1b所示的化合物(请参见图3所示)与内皮细胞的类肝素硫酸盐在结构上相类似,但是,其克服了前面所述的内皮细胞类肝素硫酸盐在使用上的缺陷。

[0039] 某个特定的五糖单元被认为是具有抗血栓形成的活性的原因,其在于每三分之一商业上的肝素分子中就有该五糖单元。通过特定的分离技术可以制备不同抗血栓形成的活性的肝素。例如,通过抗凝血酶-III-亲和层析法得到的制备产物(高亲和势肝素)具有高活性,其活性序列在每个肝素分子中都有发现,然而在“无亲和势”的制备产物中没有特征的五糖序列,同时检测发现其没有抑制凝结的活性。经由五糖的相互作用,抗凝血酶III的活性,即凝血关键因子凝血酶之抑制剂,基本上呈取幂关系(接合亲和势增加至系数为 2×10^3) [Stiekema J. C. J. ;Clin Nephrology 26, Suppl. No. 1, S3-S8, (1986)]。

[0040] 肝素上的氨基基团大多是N-硫酸盐或N-乙酰化物。最重要的O-硫酸化位置是艾杜糖醛酸上的C2和C6以及葡萄糖胺上C3位置。对于五糖在血浆凝结上的活性主要取决于C6上的硫酸根,其他官能团也有小部分的作用。

[0041] 通过涂覆,具有肝素或者类肝素硫酸盐的医学植入物的涂层表面具有血液相容性并保留有条件的血液相容性。被加入到人工表面的肝素或者类肝素硫酸盐,以一种激烈的方式,部分地失去了其抗血栓形成的活性,该活性与有限的相互作用有关,并归因于上述的具有抗凝血酶III的五糖的空间位阻。

[0042] 因为这些多阴离子物质被固定,血浆蛋白的在肝素盐表面发生强吸附,在大多数的情况下,一方面消除了肝素、类肝素硫酸盐的凝结抑制效应,另一方面通过粘连开始了特定的凝结过程,因此,改变了血浆蛋白(例如,白蛋白,纤维蛋白原,凝血酶)与其粘连着的血小板之三级结构。

[0043] 因此,一方面关联性存在于五糖单元与抗凝血酶 III 之间通过固化而产生的有限的相互作用,另一方面关联性存在于血浆蛋白的沉积发生在医学植入物的肝素-类肝素硫酸盐层,其导致该涂层 (coating) 的抗血栓形成的特性的丧失,并且其甚至发生负面效果,因为血浆蛋白在几秒钟之内发生的吸附作用导致抗凝血表面的丧失,以及粘连血浆蛋白改变了它们的三级结构,因此,血栓性表面出现了。令人惊讶的,通式 1a 和 1b 所示的化合物尽管在结构上和肝素、类肝素硫酸盐不相同,但是其仍然表现出与血液相容的特性,另外就算固定通式 1a 和 1b 所示的化合物,仍没有显著的血浆蛋白的沉淀,而该沉淀则是大规模凝结活化的初始阶段。本发明的化合物在固定于人造表面上仍然保持其血容性特性。

[0044] 进而,肝素及类肝素硫酸盐的硫酸根基团被认为是与抗凝血酶 III 相互作用的必需,并因此使肝素及类肝素硫酸盐具有了抗凝结功效。本发明通式 1b 所示的化合物和通式 1a 所示的化合物不具有凝结抑制活性的,也就是不具有抗凝血作用,由于基本上的完全脱硫,使通式 1b 所示的化合物的硫酸根基团的数量低至每个二糖单元少于 0.2 个硫酸根基团。

[0045] 根据本发明通式 1b 所示的化合物可以通过首先对肝素或者类肝素硫酸盐进行完全脱硫酸,然后进行多糖完全 N 酰化。其中所述的“完全脱硫酸”是指脱硫酸程度超过 90%,较佳的指超过 95%,尤其更佳的是指超过 98%。脱硫酸程度可以通过所谓的水合苯并三酮试验检测获得,该试验检测的是自由的氨基基团。脱硫酸作用进行到例如使 DMMB (dimethylmethylenblue 二甲基亚甲基蓝) 不再发生变色反应的程度。这个变色反应试验也适用于检测硫酸盐化的多糖,但是,其检测范围没有在相关文献中提出。例如,脱硫酸可在混合溶剂中加热吡啶盐实现。尤其是, DMSO (二甲基亚砷)、1,4-二氧六环以及甲醇组成的混合物被认为是合适的。

[0046] 类肝素硫酸盐和肝素经过完全水解被脱硫酸然后进行再乙酰化。此后,每个二糖单元的硫酸根的数量 (S/D) 可以通过 ^{13}C -NMR 测定得到。下表 1 中是肝素和脱硫酸再乙酰化肝素 (Ac-heparin) 实例的结果。

[0047] 表 1:通过 ^{13}C -NMR 测定的肝素和脱硫酸再乙酰化肝素 (Ac-heparin) 的每个二糖单元的官能团分布。

[0048]

	2-S	6-S	3-S	NS	N-Ac	NH ₂	S/D
肝素	0.63	0.88	0.05	0.90	0.08	0.02	2.47
Ac-肝素	0.03	0	0	0	1.00	-	0.03

[0049] 2-S, 3-S, 6-S: 分别在 2, 3, 6 位上的硫酸根

[0050] NS: 氨基上的硫酸根

[0051] N-Ac: 乙酰基上的硫酸根

[0052] NH₂: 自由氨基

[0053] S/D: 每个二糖单元上的硫酸根

[0054] 与肝素中的大约 2.5 硫酸根 / 二糖单元相比较, Ac-肝素中的大约为 0.03 硫酸根 / 二糖单元的硫酸盐含量的获得具有可重现性。

[0055] 如上所述的, 肝素取代类肝素硫酸盐和通式所示化合物的硫酸根含量的差别对于抑制抗凝血酶 III 的活性以及该些化合物的凝结作用具有相当大的影响。

[0056] 通式 1a 和 1b 所示化合物, 其每个二糖单元具有的硫酸根含量小于 0.2, 较佳的小

于 0.07,更佳的小于 0.05,尤其更佳的其每个二糖单元的硫酸根小于 0.03。

[0057] 经由从肝素上消除硫酸根,其得到表面修饰而具合适的血容性,凝结惰性的低聚糖及多糖一方面在凝结过程中没有积极的作用,另一方面其不被凝结系统所检测认为是外来表面。这种涂层成功地模仿了对血液中凝结活性组分之天然状态最高水平的血容性和耐受性。

[0058] 实施例 5 和 6 表明,该表面涂布了本发明的通式 1a 和 / 或 1b 所示化合物,尤其的,其是以共价键方式涂布的,形成了一个钝化的,抗血栓形成的,血容性的,抗增殖性的和 / 或抗发炎性的涂布层。

[0059] “完全 N 酰化”指的是 N 酰化程度超过 94%,较佳的超过 97%,尤其更佳的超过 98%。通过所谓检测自由氨基基团的水合苯并三酮试验,其不发生任何变色反应,可以得到酰化程度完全完成。作为酰化剂,羧酸氯化物,溴化物,或者酸酐是较佳的选择。例如,乙酸酐,丙酸酐,丁酸酐,乙酸氯化物,丙酸氯化物或者丁酸氯化物,适用于制备本发明的化合物。羧酸酐尤其适合作为酰化剂。

[0060] 尤其是对于羧酸酐来说,使用去离子水作为溶剂,较佳的还加入一种助溶剂,该助溶剂加入量为 10 ~ 30% (体积百分含量)。作为助溶剂,甲醇、乙醇、DMSO、DMF、丙酮、二氧六环、THF、乙酸乙酯、以及其他的极性溶剂是适用的。如果使用羧酸卤化物,极性与水互溶的溶剂例如 DMSO 或者 DMF 是较佳的选择。

[0061] 用去离子水作为溶剂,并配合加入体积百分含量为 10 ~ 30% 的助溶剂是较佳的。合适的助溶剂为:甲醇、乙醇、DMSO、DMF、丙酮、二氧六环、THF、乙酸乙酯以及其他的极性溶剂。

[0062] 本发明通式 1a 所示化合物的半个蔗糖分子上有一个羧酸根基团,另一半上有 N- 酰基基团。

[0063] 此类化合物也可从多糖透明质酸 (polysaccharides hyaluronic acid 糖醛酸),多层包被硫酸盐 (dermatan sulphate)、软骨素硫酸盐 (chondroitin sulphate) 制备得到。肝素与类肝素硫酸盐的差别来源于单糖的连接方式,其不是现在的 1,4- 糖苷键连接而是 1,3- 糖苷键连接。二糖又以 1,4- 糖苷键方式相互连接。在抗血液凝结的活性抗血栓形成的多层包被硫酸盐 (dermatan sulphate) 和软骨素硫酸盐 (chondroitinsulphate) 中,其 N- 乙酰葡萄糖胺是被 N- 乙酰半乳糖胺取代的,其中羟基在 C4 上空间位置存在不同。

[0064] 由于在结构上相互关联,根据现有的不同点多糖分类如下:

[0065] 类型 1) 糖醛酸 - 半乳糖胺型 (HexA-GalN)_n:

[0066] 在此说明的是软骨素硫酸盐和多层包被硫酸盐。该基团的典型的结构是糖醛酸与半乳糖胺的 β-1,3- 糖苷键。半乳糖胺的一个部分与相邻的糖醛酸以 β-1,4- 糖苷键相键合。多层包被硫酸盐不同于软骨素硫酸盐,其大量出现于肝素和类肝素硫酸盐的糖醛酸和 L- 艾杜糖醛酸。软骨素硫酸盐的硫酸化程度是 0.1 至 1.3 个硫酸根 / 二糖。多层包被硫酸盐是 1.0 至 3.0 个硫酸根 / 二糖,其硫酸化程度高于软骨素硫酸盐,并达到了肝素的这个参数值。氨基基团是 N- 乙酰化的。

[0067] 肝素和类肝素硫酸盐的脱硫酸和 N- 再乙酰化导致一些化合物,该化合物适用于抗凝血涂层中的应用。

[0068] 类型 2) 糖醛酸 - 葡萄糖胺型 (HexA-GlcN)_n:

[0069] 在此说明肝素、类肝素硫酸盐和透明质酸盐 (hyaluronan)。肝素和类肝素硫酸盐是 β -1,4 单键,当在透明质酸酯中时,其也被认为是这种类型,单糖 D-葡萄糖醛酸和 D-葡萄糖胺是 β -1,3 键单糖。这种多糖只有多糖没有硫酸根,其是 N-酰化的。与肝素和类肝素硫酸盐相比,其分子量最大值达到了 800kD。链长的减少和 N-再乙酰化作用维持酰基得到一个结构,该结构仅仅是通过单糖的 β -1,3 糖苷键连接,来区别于通式 1b。

[0070] 可以通过甲壳质和壳聚糖(聚氨基葡萄糖)来制备更多的化合物。

[0071] 甲壳质是一种含氮多糖,其单体单元由 N-乙酰基-D-葡萄糖胺构成,这些单体单元以 β -1,4 糖苷键的方式结合。其得到包含有大约 2,000 个糖单元的线性聚合物,其摩尔重量大约为 400,000g/mol。甲壳质的溶解性差,其几乎不溶于水、有机溶剂和稀酸或者稀碱。与强酸混合会发生水解,产生 D-葡萄糖胺和乙酸。经过强碱处理,会得到聚氨基葡萄糖和乙酸盐。

[0072] 甲壳质经皂化作用可以容易地得到聚氨基葡萄糖。聚氨基葡萄糖由 β -1,4 糖苷键键合的葡萄糖胺(2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖)(2-amino-2-deoxy-D-glucose)构成。根据聚氨基葡萄糖的成膜性,其进一步被应用于离子交换剂的基材以及一种用于降低血浆中胆固醇水平的添加剂和减肥添加剂。

[0073] 请参阅图 1 所示,经强碱处理的甲壳质部分脱乙酰作用,然后进行自由氨基的一元羧基烷基化,可以得到本发明通式 1a 所示物质。脱乙酰作用的程度,也就是,解掩蔽了的最初的氨基基团的数量能够定量地进行测定。自由氨基的定量测量可以通过水合苯并戊三酮反应来实现。根据进行的试验,脱乙酰程度能够达到 20 ~ 80%。40 ~ 60%的脱乙酰程度是较佳的,45 ~ 55%的脱乙酰程度是尤其更佳的。

[0074] 通过这中合成方式,可以得到多糖,其糖单元随机含有一个 N-乙酰基或者一个 N-羧基烷基。

[0075] 通过甲壳质的碱性水解可以很容易地得到聚氨基葡萄糖(见图 1),同样地可以作为一个合成通式 1a 所示多糖的初始物质。

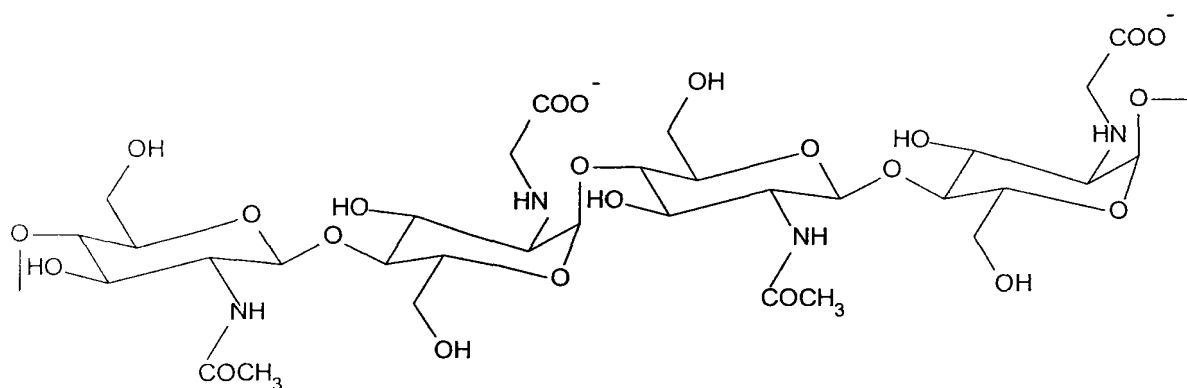
[0076] 聚氨基葡萄糖仅有极少的 N-乙酰基基团。在第一步中充分地羧基烷基化一半的自由氨基,然后酰化剩下的自由氨基,或者首先进行酰化然后用适合的羧基烷基化试剂对剩下的自由氨基进行反应,通过上述步骤可以得到本发明的化合物。较佳的情况是,有一半的自由氨基充分地酰化而剩下的一半也是充分地进行羧基烷基化。

[0077] “部分地 N-酰化聚氨基葡萄糖”是指 N-酰化程度为 30 ~ 70%,较佳为 40 ~ 60%,尤其更佳为 45 ~ 55%。特别的,聚氨基葡萄糖衍生物的氨基基团的事实上的半数载有 Y 残基,另外一半的氨基上,Z 残基随机分布。“事实上的半数”在大多数的情况下指的是精确的 50%,但其应该包括在 45% ~ 50%的范围内。羧基烷基化和酰基化程度可以通过 C13-NMR 测得,例如(偏差 $\pm 3\%$)。

[0078] 在第一步反应中,由于相当数量的氨基基团被酰化或者羧基烷基化,所以不可避免地导致通式 1a 所示多糖中的酰基以及 / 或羧基烷基完全随机分布。本发明的式 1a 仅是趋向于表示一种多糖的二糖单元,但并未确定酰基和羧基烷基的交替顺序。

[0079] 下式表示的是典型的 N-羧基甲基化的 N-乙酰化聚氨基葡萄糖的四糖单元:

[0080]



[0081] 本发明描述了通式 1a 和 / 或 1b 所示化合物及其盐应用于涂层,尤其是天然和 / 或人工表面的具有血容性的涂层。“血容性”是指本发明化合物的性质,其与血液凝结系统中的物质或者血小板不发生相互作用,因此不会触发血液凝结链反应。

[0082] 另外,本发明揭示了用于表面的血容性涂层的低聚糖和 / 或多糖。较佳的是上述提到的分子量范围内的多糖。低聚糖和 / 或多糖应用的一个惊人的特性是,它们含有大量的 N- 葡萄糖胺或者 N- 乙酰基半乳糖胺的糖单元。这意味着 40 ~ 60%, 较佳的 45-55%, 尤其更佳的 48-52% 的糖单元是 N- 乙酰基葡萄糖胺或者 N- 乙酰基半乳糖胺,并且事实上,存留的糖单元每一个都有羧基基团。因此,高于 95%, 较佳高于 98% 的低聚糖和 / 或多糖仅具有两个糖单元,一个具有羧基基团而另一个具有 N- 乙酰基团。

[0083] 低聚糖和 / 或多糖的一个糖单元是 N- 乙酰基葡萄糖胺和 / 或 N- 乙酰基半乳糖胺,较佳的是 N- 乙酰葡萄糖胺和 / 或 N- 乙酰半乳糖胺,另一个糖单元是糖醛酸,较佳的是葡萄糖醛酸和艾杜糖醛酸。

[0084] 较佳的是低聚糖和 / 或多糖实质蔗糖葡萄糖胺和 / 或半乳糖胺,事实上半数糖单元载有 N- 乙酰基,较佳的是 N- 乙酰基,且另一半葡萄糖胺单元载有羧基,其通过氨基直接键合或者通过一个或多个亚甲基键合。该些键合于氨基的羧基基团较佳的是羧甲基或者羧乙基。进而,较佳的低聚糖和 / 或多糖,其中事实上半数也就是 48 ~ 52%, 较佳的 49 ~ 51%, 尤其更佳的 49.5 ~ 50.5% 由 N- 乙酰基葡萄糖胺和 / 或 N- 乙酰基半乳糖胺组成,较佳的是 N- 乙酰葡萄糖胺或 N- 乙酰半乳糖胺,事实上另一半数是由糖醛酸组成,较佳的是葡萄糖醛酸和艾杜糖醛酸。尤其更佳的是低聚糖和 / 或多糖显示两个糖单元充分的交替顺序 (也就是不管交替连接情况的数据偏差率)。其连接偏差率应低于 1%, 较佳的低于 0.1%。

[0085] 令人惊讶地,针对本发明的应用,尤其充分脱硫酸和充分 N- 乙酰基化的肝素、以及部分地 N- 羧基烷基化和 N- 乙酰化甲壳质、以及脱硫酸和 N- 乙酰化多层包被硫酸盐,软骨素硫酸盐、和链长减少的透明质酸均适用。尤其是 N- 乙酰化肝素以及部分地 N- 羧基甲基化和 N- 乙酰化聚氨基葡萄糖适合应用于血容性涂层。

[0086] 脱硫酸和乙酰化程度被定义为“充分地”,其意义和前述的一样。“充分地”意思是说统计偏差应该被认真地考虑。充分的交替顺序意味着两个相同的糖单元不会相互键合,但是也不排除是由于错误而发生的键合现象。同时,“事实上的半数”意味着接近 50%, 但允许有细微的偏差,这是因为,尤其是在生物合成制备高分子化合物中,最完美的结果总是达不到的,由于酶没有完美地工作或者催化剂经常发生一定的错误,从而导致必须要认真考虑一定的偏差。但是,在天然的肝素中, N- 乙酰基葡萄糖胺合糖醛酸单元 (而非葡萄糖醛

酸)是具有严格的交替顺序的。

[0087] 进而,揭示了一种表面血容性涂层的过程,该涂层与血液直接接触。在上述过程中,提供有一个天然和 / 或人工表面,且低聚糖和 / 或多糖固定于上述的表面上。

[0088] 可以通过疏水性相互作用、范德华力、静电作用、氢键、离子间相互作用、低聚糖和 / 或多糖的交联键合与表面形成共价键,完成低聚糖和 / 或多糖在表面上的固定。较佳的是低聚糖和 / 或多糖的共价键合(侧结合 side-on bonding),更佳的是共价单点键合(侧结合 side-on bonding),尤其更佳的是共价端点键合(端点结合 end-on bonding)。

[0089] 任何医药产品的天然和 / 或人工表面都可以应用于本发明,诸如假肢、器官、脉管、主动脉、心脏瓣膜、管状器官、器官替代部件、植入物、纤维、中空纤维、支架、皮下注射针、注射器、隔膜、保藏物、血液容器、滴定板、起搏器、吸附器媒介、层析媒介、层析柱、透析器、连接件、传感器、通风器、离心机腔、热交换器、内窥镜、过滤器、泵腔室以及其他应该具有血容性的表面。“医药产品”应该被广泛的理解,尤其是应用于与血液短暂接触(如内窥镜)或者长久接触(如支架)。

[0090] 本发明的涂覆方法揭露如下。可以通过下列的方法来给医疗器具的生物和 / 或人工表面提供血容性涂层。

[0091] a) 提供医疗器具表面和

[0092] b) 沉积有至少一种通式 1a 或者 1b 所示低聚糖和 / 或多糖

[0093] 和 / 或

[0094] 至少一种低聚糖和 / 或多糖,其含有 40%~60%的糖单元 N- 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺,剩下的糖单元全部包含一个羧基 / 糖单元。

[0095] “沉积”指的是至少具有相应化合物的表面的部分涂层,其中该些化合物沉淀和 / 或引入和 / 或固定或者其他任何锚定在表面上或者表面中。

[0096] “全部的剩余蔗糖构建单元”指 93%的剩余的蔗糖构建单元,较佳的为 96%,尤其更佳的为 98%的剩余 60%-40%的蔗糖构建单元具有一个羧基。

[0097] 提供一个未涂覆和 / 或非血容性的表面。非血容性表面指的是能激活血液凝结系统的表面,其或多或少地引起血液凝结。

[0098] 另一个实施例包含如下步骤:

[0099] a) 提供一个医疗器具的表面以及

[0100] b') 在该表面上沉积一生物稳定性涂层

[0101] 或者

[0102] a) 提供一个医疗器具的表面以及

[0103] b) 沉积至少一种通式 1a 或 1b 所示低聚糖和 / 或多糖

[0104] 和 / 或

[0105] 至少一低聚糖和 / 或多糖,其包含 40%~60%糖单元 N- 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺,以及剩余的糖单元每个糖单元都含有一个羧基。

[0106] b') 在该医疗器具表面上沉积一生物稳定性涂层

[0107] d') 沉积更进一步的血容性涂层,至少是本发明通式 1a 和 / 或 1b 所示低聚糖和 / 或多糖的其一

[0108] 和 / 或

[0109] 至少一种低聚糖和 / 或多糖,其 40% -60% 的糖单元 N 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺,其余的糖单元每个糖单元都含有一个羧基。

[0110] 上述的实施例确保:例如,由于不恰当运输或者复杂的植入环境,即使聚合物涂层以及血容性涂层发生机械损害,该表面也不会丧失与血液相容的特性。

[0111] “生物和人工”表面应该理解为,其中的表面是具有人工部件的人工医疗器具的表面,例如,一个具有人工心脏瓣膜的猪心脏。

[0112] 单一涂层通过浸渍或者喷雾方法沉积获得,然而,也可以在沉积一个涂层的同时,与另外的或者更多的活性剂一起作用于该医疗器具表面上,他们各自通过共价键或者粘合方式形成各个涂层。通过这样的方式,一个或者多个活性剂能够随着血容性涂层的沉积的同时被沉积医疗器具表面。

[0113] 活性剂以及可被用于生物稳定性或可生物降解性涂层的其他物质,详细说明如下。

[0114] 还可以存在一个非必要的步骤 c):在最初的生物稳定性或者血容性涂层上沉积形成包含有一个或多个活性剂的一个活性剂涂层。在较佳的实施例中,该活性剂或者这些活性剂以共价键的方式键合在涂层下。并且,较佳的沉积方式是该活性剂以浸渍或者喷雾的方式完成。

[0115] 在步骤 b) 或者步骤 c) 之后,进行步骤 d),其包括至少一个可生物降解涂层和 / 或至少一个生物稳定涂层沉积在血容性涂层、活性剂涂层上。

[0116] 根据另一个实施例的 b') 步骤或者 c) 后,进行步骤 d'),作为血容性涂层,其包括沉积或者固定至少一个本发明通式 1a 和 / 或 1b 所示的低聚糖和 / 或多糖,和 / 或至少一种低聚糖和 / 或多糖,其 40% -60% 的糖单元有 N 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺;其余的糖单元每个糖单元都含有一个羧基。尤其是在步骤 b') 之后进行步骤 d')。

[0117] 在步骤 d) 与 / 或 d') 后,另一个包含有一种或多种活性剂的活性剂层可以沉积入或者沉积在可生物降解和 / 或生物稳定涂层或者血容性涂层。

[0118] 另外,对于沉积的活性剂层,生物稳定性,可生物降解性和 / 或血容性涂层可以进一步包含活性剂,这些活性剂与生物稳定性和 / 或可生物降解性物质或者血容性低聚糖和 / 或多糖同时沉积在医疗器具上,并被包含于各自的涂层中。

[0119] 根据较佳实施例,生物稳定性涂层是以共价键和 / 或粘合的方式形成于医疗器具的表面上,完全或者不完全覆盖着血容性涂层,其键合(较佳的为共价键)于生物稳定性涂层。

[0120] 较佳的血容性涂层包括:在五糖的分子量范围内的具有不同硫酸盐系数(硫酸盐程度)和酰化系数(酰化程度)的天然形成的肝素,,其最高可达到 13kD 的能够达到的肝素的标准分子量,其是肝素硫酸盐及其衍生物,红血球的细胞衣的低聚糖和多糖,脱硫酸根和 N- 再乙酰化肝素,N- 羧甲基化和 / 或部分的 N- 乙酰化聚氨基葡萄糖以及上述物质的混合物产生抗血栓活性的原因。

[0121] 本发明的目的也是提出一种医疗器具,使其根据上述的方法具有血容性涂层。

[0122] 本发明的另一个目的是提供一种医疗器具,使其表面直接被血容性涂层覆盖,或者被至少经由一种生物稳定性和 / 或可生物降解性涂层和 / 或活性剂涂层再与血容性涂层一起覆盖,该涂层由至少一种低聚糖和 / 或多糖构成,其中,40% -60% 的糖单元有 N 酰基葡

葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺 ;其余的糖单元每个糖单元都含有一个羧基。

[0123] 根据较佳的实施例,在前述的低聚糖和 / 或多糖的血容性涂层下,至少具有一生物稳定性涂层,其最好以共价键方式键合于医疗器具的表面。

[0124] 更优选的,如果在血容性表面涂层上,具有至少一生物稳定性和 / 或至少一可生物降解性涂层,其全部或者部分覆盖血容性涂层。特别优选是一可生物降解性涂层来覆盖血容性涂层。

[0125] 进一步优选的实施例中,在较低的生物稳定性涂层和在血容性涂层下方,包括有一个至少包含一个抗增殖性、抗炎性和 / 或抗血栓形成活性剂的活性剂层,其以共价键和 / 或粘合方式连接于血容性涂层。或者,活性剂涂层和 / 或附加的活性剂涂层以及较低处的生物稳定性和 / 或较高处血容性涂层可以进一步包括活性剂,其较佳地与各自的涂层进行沉积时一起完成沉积。

[0126] 基本上,每一涂层也就是,一生物稳定性涂层,一可生物降解涂层和一血容性涂层能够包含一个或更多的抗增殖性、抗炎性和 / 或抗血栓形成的活性剂,并且在前述的涂层中可以存在一个或更多活性剂形成的活性剂涂层。较佳的是具有两层的涂层系统,一个生物稳定性涂层和一个血容性涂层,而血容性涂层是外涂层,该两层都可以包含一种或更多的活性剂。进而,如果在血容性涂层上或血容性涂层下,存在一个或更多活性剂形成的涂层,则是更佳的。另外较佳的是三层系统,其包括一生物稳定涂层、可生物降解涂层和血容性涂层。从而,较佳的选择是最低层为生物稳定层。另外附加一或两层活性剂层也是允许的。两层活性剂涂层相互直接沉淀也是可能的。进一步更佳的实施例是,至少有一种活性剂是以共价键键合在某一层上或某一层中。

[0127] 在涂覆方法和医疗器具使用中,较佳的活性剂为他克莫司,吡美莫司, PI88, 胸腺素 α -1, PETN(硝酸季戊四醇酯), 浆果赤霉素及其衍生物, 多西紫杉醇, 秋水仙碱, 紫杉醇及其衍生物, 曲匹地尔, α - 和 β - 雌二醇, “皮西丁” 蛋白, 特亚林 (tialin) (2- 甲基四氢噻唑 -2,4- 二羧基酸), 特亚林钠 (特亚林的钠盐), 辛伐他汀, 大环低值氧化物 (MCS) 及其衍生物, 西罗莫司, 酪氨酸磷酸化抑制剂, 2-(1-(4- 氯苄基)-1H- 咪唑 -3- 基)-2- 氧代-N-(吡啶 -4- 基) 乙酰胺, 秋水仙碱, 富马酸和富马酸酯类, 激活蛋白 C(aPC), 白细胞介素 -1 β 抑制剂 (IL-1 β 抑制剂), 促黑 (素细胞) 激素 (α -MSH), 以及上述各活性剂的混合物。

[0128] 天然和 / 或人工的医疗器具表面,根据上述的方法涂覆有本发明低聚糖和 / 或多糖的血容性涂层,低聚糖和 / 或多糖的 40-60% 的糖单元含有 N- 酰基葡萄糖胺或者 N- 酰基半乳糖胺,剩余的糖单元每个都含有一个羧基基团,尤其是适合作为直接接触血液循环或者血液的植入物或器官替代部件。根据本发明进行涂覆的医疗器具不但特别适合直接且长久与血液接触,而且表现出惊人的减少甚至防止蛋白质在其表面附着的特性。

[0129] 血浆蛋白在与血液相接触的异质表面的附着,是进一步涉及识别和执行血液系统作用的必要并且最初的步骤。

[0130] 对于从体液中进行体外诊断的样本来说是很重要。因此,本发明的涂层沉淀在微量滴定板或者其他的用于检测的介质上,以减少或者防止样本的蛋白质出现不希望的附着,而这种附着会干扰敏感的检测反应并且会导致歪曲的分析结果。

[0131] 应用本发明的涂层的吸附介质或者层析介质也能够防止或者减少蛋白质的在其

上的附着,因此,可以获得更好的分离以及获得纯度更高的产品。

[0132] 尤其是,支架应用本发明方法进行涂覆。在过去的几年中,已经确立支架植入法用于扩张闭塞的血管。虽然,支架降低了血管再次闭塞的风险,但是直到现在还是没有可能完全防止血管再狭窄。

[0133] 在技术文献中是不可能找到对于再狭窄的准确的概念描述的。使用中,再狭窄的最普通的形态学定义为,一个血管在一个成功的PTA(经皮的腔间血管成形术)之后,血管直径缩小到正常血管的50%以下。这是一个根据血液动力的相关性得到经验值,其归因于临床病理学缺乏大量的科学基础。根据实践经验,临床上病人的恶化经常被认为是一个先前处理过的血管部分再狭窄的信号。

[0134] 由支架引起的再狭窄有三种不同的原因:

[0135] a) 在植入后的第一阶段,支架表面直接接触血液,并且由于出现异质表面而再次封闭血管从而引发急性血栓。

[0136] b) 支架的植入造成血管损伤,导致发生炎症,其在最初七天内的恢复过程中起到重要的作用。如此,并发过程是在随着生长因子的释放的其他过程中一起出现的,由于不受控制的生长,平滑肌细胞的不断增殖从而快速地再次导致血管的闭塞。

[0137] c) 几周以后,支架开始长入血管膜。这意味着支架被平滑肌细胞完全的包围从而切断与血液的接触。这种愈合具有鲜明的特征(新内膜超常增生)并且可能不但导致支架表面被覆盖还会导致支架内部空间的堵塞。

[0138] 已经证明,通过在支架上涂覆肝素来解决再狭窄的问题是徒劳的(J. Whörle et al., European Heart Journal 2001,22,1808-1816)。肝素仅在上述的第一个原因中起到一个抗凝剂的作用,并且只有在溶液中才能发挥它全部的效力。通过使用抗凝剂,第一问题几乎是完全可以避免的。第二和第三个问题现在看来,倾向于通过抑制支架附近平滑肌细胞的生长来解决。例如采用放射性支架或者含有药物活性剂的支架。

[0139] 美国专利 USA 5,891,108 举例揭示了一种中空型支架,其内部含有药物活性剂,可以通过支架上的不同数量的出口释放。然而,EP-A-1127582 揭示了一种支架,该支架表面上具有0.1-1mm深7-15mm长的槽,以用于安放活性剂。这些活性剂储存室通过含有药物活性剂的中空支架上的出口释放活性剂,维持较高的浓度和相对较长的时间,其能够使平滑肌细胞不再包围支架或者使平滑肌细胞非常缓慢地包围支架。结果就是,该支架会以更长的时间暴露在血液中,再次由于血栓导致不断的血管阻塞。

[0140] 提供一种磷酸胆碱涂层是解决这个问题的一个方法(WO 0101957),其中的磷酸胆碱,是红血球膜的一个组分,作为一个支架表面的一个非可生物降解聚合物涂层的组分,将形成一个不形成血栓的表面。依靠其分子量,活性剂被含有磷酸胆碱涂层的聚合物所吸收或者被吸附在其表面上。

[0141] 本发明的支架涂覆有一层血容性涂层,并且还具有一层或者更多层的附加层,其至少含有一抗增殖剂和/或抗炎剂,如果需要还可包含抗血栓形成的活性剂。

[0142] 支架的血容性涂层提供必需的血液相容性,并且,均匀分布在支架的全部表面上的活性剂(或者活性剂组合),使细胞尤其是平滑肌细胞和内皮细胞以一种可控制的方式覆盖支架的表面。因此,不会发生能够导致再狭窄的细胞种群的快速增殖和过度增长,反之,也不通过使用具有血栓形成风险的高药剂浓度,来完全防止细胞在支架表面上的覆盖。

[0143] 因此,活性剂的协同作用可以保证:被共价键合于和/或粘贴于下临涂层的活性剂或者活性剂组合,和/或被共价应用于或者粘贴入于该涂层的活性剂或者活性剂组合,小剂量地持续释放,造成支架表面细胞种群并没有受到抑制,但却防止了其过度的生长。本发明的支架既能够快速地长入血管壁中又能够减少再狭窄和血栓症的风险,其具有这两种效果的结合。一种或多种活性剂的释放持续期为1个月到12个月,较佳的是支架植入后1到3个月。

[0144] 抗增殖物质,抗炎和抗血栓症化合物被用来作为活性剂。较佳的,细胞抑制剂,大环内酯类抗生素和/或他汀类药物被用于作为抗增殖活性剂。可用于抗增殖活性剂物质有:西罗莫司(雷帕霉素),依维莫司,吡美莫司,生长激素抑制素,他克莫司,罗红霉素,敦耐霉素,子囊霉素,巴菲洛霉素(bafilomycin),红霉素,麦迪霉素,交沙霉素,肯卡那霉素(concanamycin),克拉霉素,醋竹桃霉素,多叶霉素,西立伐他汀,辛伐他汀,洛伐他汀,氟伐他汀,罗苏伐他汀,阿托伐他汀,普伐他汀,匹伐他汀,长春碱,长春新碱,长春地辛,长春瑞滨,依托泊苷,替尼泊苷,尼莫司汀,卡莫司汀,洛莫司汀,环磷酰胺,4-羟基环磷酰胺,雌莫司汀,美法仑,白桦脂酸,喜树碱,拉帕醇, β -拉帕醌,鬼臼毒素,桦木素,曲磷酰胺,鬼臼酸2-乙基酰肼,异环磷酰胺,苯丁酸氮芥,苯达莫司汀,达卡巴嗪,白消安,丙卡巴肼,曲奥舒凡,替莫唑胺,促黑(素细胞)激素(α -MSH),塞替派,柔红霉素,多柔比星,阿柔比星,表柔比星,米托蒽醌,伊达比星,博来霉素,丝裂霉素,放线菌素D,甲氨蝶呤,氟达拉滨,氟达拉滨-5'-二氢磷(32P)酸钠,单苯保泰松,阿西美辛,双氯芬酸,氯那唑酸,氨苯砜,o-卡巴芬乙酸,利多卡因,酮洛芬,甲芬那酸,吡罗昔康,美洛昔康,磷酸氯喹,青霉胺,羟氯喹,金诺芬,金硫苹果酸钠,奥沙西罗,塞来考昔, β -谷固醇,腺苷蛋氨酸,麦替卡因,聚乙二醇单十二醚,诺香草胺,左薄荷脑,苯佐卡因,七叶皂甙,克拉屈滨,巯嘌呤,硫鸟嘌呤,阿糖胞苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,卡培他滨,多西紫杉醇,顺羧酸铂,顺铂,奥沙利铂,安吡啶,伊立替康,托泊替康,羟基脲,米替福新,喷司他丁,阿地白介素,维A酸,门冬酰胺酶,曲妥单抗,依西美坦,来曲唑,戈舍瑞林,克发咯曼宁(chephalomannin),培门冬酶,阿那曲唑,依西美坦,来曲唑,福美坦,氨鲁米特,多柔比星,阿奇霉素,螺旋霉素,西法安汀(cepharantin),smc增殖抑制剂-2w,艾普西隆(epothilones)A和B,米托蒽醌,硫唑嘌呤,霉酚酸酯(mycophenolatmofetil),反义c-myc,反义b-myc,选择蛋白(细胞因子对抗物),CETP抑制剂,钙粘蛋白,细胞分裂素抑制剂,COX-2抑制剂,NFkB,血管肽素,环丙沙星,喜树碱,氟拉西汀(Fluroblastin),单克隆抗体,其抑制肌细胞增殖,bFGF(重组牛碱性成纤维细胞生长因子)对抗物,普罗布考,前列腺素,叶酸及其衍生物,B族维生素,维生素D衍生物例如:卡泊三醇和他卡西醇,2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基)乙酰胺,富马酸及其衍生物例如二甲基富马酸,IL-1 β 抑制剂,秋水仙碱,NO供者例如硝酸季戊四醇酯和辛地酮亚胺(syndnoeimines),S-亚硝基衍生物,他莫昔芬,星孢素(staurosporin), β -雌二醇, α -雌二醇,雌酮,雌三醇,雌二醇,磷雌酚,甲羟孕酮,雌二醇环戊丙酸盐,雌二醇苯甲酸脂,曲尼司特,卡美巴考琳(kamebakaurin)及其他萜类化合物,其用于癌症治疗,维拉帕米,酪氨酸激酶抑制剂(酪氨酸磷酸化抑制剂),环胞素A,紫杉醇及其衍生物(6- α -羟基紫杉醇,浆果赤霉素,及其它),人工合成和天然资源中得到大环的二氧化三碳低聚物(MCS)及其衍生物,莫拉司亭(rhuGM-CSF),聚乙二醇化干扰素 α -2b,来格司亭(r-HuG-CSF),非格司亭,聚乙二醇,达卡巴嗪,来曲唑,戈舍瑞林,克发

咯曼宁 (cephalomannin), 曲妥单抗, 依西美坦, 巴利昔单抗, 达 (克) 珠单抗, 艾力替新, 2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基)乙酰胺 (Calbiochem), 秋水仙酰胺, 秋水仙酰胺 A-E, 茚达诺辛 (indanocine), 诺考达唑, S 100 蛋白质, PI-88, 促黑 (素细胞) 激素 (α -MSH), 杆菌肽, 玻璃粘附蛋白受体对抗物, 氮卓斯汀, 胍基环化酶胍基刺激素体素金属蛋白水解酶-1 和-2 的抑制剂, 自由核酸, 混合入病毒递质的核酸, DNA 和 RNA 片段, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-1, 纤维蛋白溶酶原激活质抑制物-2, IL-1 β 抑制剂, 反义寡核苷酸, VEGF (血管内皮 (细胞) 生长因子) 抑制剂, IGF-1。

[0145] 采用抗生素进而包括: 头孢羟氨苄, 头孢唑林, 头孢克洛, 头霉噻吩, 妥布拉霉素, 庆大霉素。在手术后阶段具有积极作用的还包括: 青霉素类, 例如: 双氯青霉素, 苯唑西林, 磺胺类药物, 甲硝唑, 抗血栓药, 例如: 阿加曲班, 阿斯匹林, 阿昔单抗, 合成的抗凝血酶, 比伐卢定, 香豆定, “皮西丁”蛋白, 依诺肝素, 血肝素, 组织纤维蛋白溶酶原激活剂, GpIIb/IIIa 血小板膜受体, Xa 因子抑制剂, 活性蛋白 C, “皮西丁”蛋白抗体, 肝素, 水蛭素, r-蛭素, PPACK, 精蛋白酶, 尿激酶原, 链激酶, 华法林, 尿激酶, 血管扩张剂例如双嘧达莫, 曲匹地尔, 硝普盐, PDGF (血小板衍生生长因子) 对抗物例如: 三唑并嘧啶 and 噻拉明 (seramin), ACE 抑制剂例如卡托普利, 西拉普利, 赖诺普利, 依那普利, 氯沙坦, 巯基蛋白酶抑制剂, 半胱天冬酶抑制剂, 细胞死亡抑制剂, 细胞死亡调节剂例如: p65NF-kB 和 Bcl-xL 反义寡核苷酸和依前列醇, 伐哌前列素, α , β 和 γ 伐哌前列素, 组胺对抗物, 5-羟色胺阻滞剂, 卤夫酮, 硝苯地平, 维生素 E, 特拉呢拉西特 (tranirast), 吗多明, 茶多酚, 表儿茶酸的鞣酸盐, 表没食子儿茶素没食子酸酯, 乳香脂酸及其衍生物, 来氟米特, 阿那白滞素, 依那西普, 柳氮磺吡啶, 依托泊苷, 双氯西林, 四环素, 曲安西龙, 丝裂霉素, 普鲁卡因胺, 维 A 酸, 奎尼丁, 丙吡胺, 氟卡尼, 普罗帕酮, 索他洛尔, 盐酸美沙酮。更多的活性剂还包括: 类固醇 (氢化可的松, 倍他米松, 地塞米松), 非甾体抗炎药 (NSAIDs) 例如非诺洛芬, 布洛芬, 吲哚美辛, 甲氧萘丙酸, 保泰松及其它。抗病毒的药剂例如: 阿昔洛维, 更昔洛韦和齐多夫定也是可以应用的。不同的抗真菌药也可以应用于这个领域。例如是: 克霉唑, 氟胞嘧啶, 灰黄霉素, 酮康唑, 咪康唑, 制霉菌素, 特比萘芬。抗疟剂 (Antiprozoal agents) 例如氯喹, 甲氟喹, 奎宁在同样的措施下是有效果的, 更多的天然萜类化合物例如西波秦皮素葡糖甙 (hippocaesculin), 玉蕊精醇-C21-萜类化合物, 14-脱水阿咯思泰啉 (14-dehydroagrostistachin), 阿咯思科啉 (agroskerin), 阿咯思泰啉 (agrostistachin), 17-脱水阿咯思泰啉 (17-hydroxyagrostistachin), 鸥瓦特二交酯 (ovatodiols), 4,7-氧环阿尼色梅立酸 (4,7-oxycycloanisomelic acid), 巴查立三萜 B1, B2, B3 (baccharinoids B1, B2, B3), 土贝母皂甙, 鸦胆子醇 A, B, C (bruceanol A, B, C), 抗痢鸦胆子甙 C, 鸦胆子糖苷 N 和 P (yadanziosides N and P), 异去氧地胆草素, 脱门分品 A 和 B (tomenphantopin A and B), 二羟丙茶碱 A, B, C 和 D, 熊果酸, 西皮他可酸 A (hyptatic acid A), 泽溼萜, 异德国鸢尾醛, 梅他佛立奥 (maytenfoliol), 艾佛散丁 A (effusantin A), 艾思散宁 A 和 B (excisanin A 和 B), 利素长栲利素 B, 黄花香茶菜素 C, 卡美宝宁卡美宝宁 (kamebaunin), 路卡梅宁 A 和 B (leukamenin A 和 B), 13,18-脱水-6- α -异戊烯酰查杷林 (13,18-dehydro-6- α -seneciolyloxychaparrin), 1,11-二甲氧基铁尿米-6-酮, 1-羟基-11-甲氧基铁尿米-6-酮, 东莨菪亭, 美丽红豆杉素 A and B, 雷咯尼醇 (regenilol), 雷公藤内酯, 进而, 磁麻甙, 毒毛旋花 (子) 甙元, 马兜铃酸, 阿诺蝶呤

(anopterin), 水合阿诺蝶呤 (hydroxyanopterin), 银莲花素, 原白头翁素, 黄连素, 氯化柯立不啉 (cheliburin chloride), 西克霉素 (cictoxin), 西诺印防己毒素 (sinococuline), 本波雷思它丁 A 和 B (bombrestatin A and B), 库拉异黄酮 A (cudraisoflavone A), 姜黄, 二氢光花椒碱, 氯化光叶花椒碱, 氯化两面针碱, 12- β -羟基孕二亚乙基三胺-3, 20-二酮 (12- β -hydroxypregnadien-3, 20-dione), 白果酚, 银杏酚, 银杏酸, 锦鸡菊素, 大尾摇辛, 大尾摇辛-N-氧化物, 毛果天芥菜碱, 衣诺脱二醇 (inotodiol), 糖苷 1a, 鬼臼毒素, 爵床脂素 A 和 B, 拉力亭 (larreatin), 马咯特啉 (malloterin), 马咯特色原烷醇 (mallotochromanol), 异丁酰马咯特色原烷醇 (isobutyrylmallotochromanol), 马奎尔糖苷 A (maquiroside A), 麦陈亭 A (marchantin A), 美登素, 立柯力二鲨素 (lycoridicin), 石蒜西定, 盘克拉特思坦丁 (pancratistatin), 鹅掌揪碱, 氧化黄心树宁碱, 马兜铃内酰胺 AII, 百思帕森诺立丁 (bisparthenolidine), 杠柳甙 A, 哈喇秦糖苷 (ghalakinocide), 熊果酸, 脱氧普思咯思婆明 (deoxypsorospermin), 菲克卢宾 (psychorubin), 蓖麻毒素 A, 血根碱, 曼乌小麦酸 (manwu wheat acid), 甲基珍珠梅甙, 思法立克咯门敏思法立克咯门敏 (sphatheliachromen), 思地唑非林 (stizophyllin), 曼森南天竹碱 (mansonine), 斯坦卜糖苷 (strebloside), 东非马钱碱, 二水合乌撒巴林 (dihydrousambarensine), 羟基乌撒巴林, strychnopentamine, 思吹克诺非林 (strychnophylline), 乌撒巴林, 黄连素, 鹅掌揪碱, 氧化黄心树宁碱, 西瑞香素, 落叶松脂素, 甲氧基落叶松脂素, 丁香脂素, 伞形酶蛋白, 阿咯蒙森 (afromoson), 乙酰基维斯米酮 B (acetylvismione B), 去乙酰基维斯米酮 A (bisparthenolidine), 维斯米酮 A 和 B (vismione A and B), 更多的天然萜类化合物例如西波秦皮素葡糖甙 (hippocaesculin), 14-脱氢阿咯思泰啉 (14-dehydroagrostistachin), 阿咯思科啉 (agroskerin), 阿咯思泰啉 (agrostistachin), 17-脱羟基阿咯思泰啉 (17-hydroxyagrostistachin), 鸥瓦特二交酯 (ovatodiols), 4, 7-氧环阿尼色梅立酸 (4, 7-oxycycloanisomelic acid), 鸦胆子糖苷 N 和 P, 异去氧地胆草素, 脱门分品 A 和 B (tomenphantopin A and B), 二羟丙茶碱 A, B, C 和 D, 熊果酸, 西皮他可酸 A (hyptatic acid A), 泽溼萜, 异德国鸢尾醛, 梅他佛立奥 (maytenfoliol), 艾佛散丁 A, 艾思散宁 A 和 B, 长栲利素 B, 黄花香茶菜素。

[0146] 这些活性剂单独地或者联合地以相同或者不同的浓度被应用着。尤其较佳的是除了具有抗增殖效果外还具有免疫抑制剂性质的活性剂。诸如此类的活性剂是: 红霉素, 麦迪霉素, 他克莫司, 西罗莫司, 紫杉醇和交沙霉素。进一步较佳的是一些抗增殖行为物质或者抗增殖活性剂与免疫抑制活性剂的结合。

[0147] 本发明的较佳的活性剂为他克莫司, 吡美莫司, PI88, 胸腺素 α -1, PETN (硝酸季戊四醇酯), 浆果赤霉素及其衍生物, 多西紫杉醇, 秋水仙碱, 紫杉醇及其衍生物, 曲匹地尔, α -和 β -雌二醇, “皮西丁”蛋白, 辛伐他汀, 大环低值氧化物 (MCS) 及其衍生物, 西罗莫司, 酪氨酸磷酸化抑制剂, 2-(1-(4-氯苄基)-1H-吡啶-3-基)-2-氧代-N-(吡啶-4-基)乙酰胺, 秋水仙碱, 富马酸和富马酸酯类, 激活蛋白 C (aPC), 白细胞介素-1 β 抑制剂 (IL-1 β inhibitors), 促黑 (素细胞) 激素 (α -MSH), 以及特亚林 (tialin) (2-甲基四氢噻唑-2, 4-二羧酸), 特亚林钠 (特亚林的钠盐)。

[0148] 活性剂优选的药学活性浓度范围是 0.001-10mg/cm² 支架表面和活性剂涂层或者活性剂包括的涂层。另外, 活性剂能够以相同的浓度包含在相同或不同的涂层中。

[0149] 根据本发明涂覆的医疗器具,尤其是根据本发明涂覆的支架,能够持续并可控制地释放一种活性剂或多种活性剂,适于防止或减少再狭窄(请参阅图6)。

[0150] 直接覆盖在支架上的血容性涂层较佳的包含具有不同硫酸盐系数(硫酸盐程度)和酰化系数(酰化程度)的天然形成与人工合成的肝素衍生物,其及分子量范围在具有抗凝血活性的五糖的分子量和最高可为肝素标准分子量,类肝素硫酸盐及其衍生物;红血球细胞衣的低聚糖和多糖的分子量范围内,其以完善的方式模拟了红血球抗血栓形成表面;与磷酸胆碱正好相反,在此处血液和红血球表面相接触;完全脱硫酸根和N-再酰化肝素;脱硫酸根和N-再酰化肝素;N-羧甲基化和/或部分地N-酰(乙酰)化聚氨基葡萄糖以及上述物质的混合物。这些具有血容性涂层的支架可以利用传统的非涂覆的支架制备,较佳的,即使是在释放完活性剂以后以及在活性剂影响力失效后和基质降解后,血容性涂层以共价键在支架表面形成一永久性的膜。

[0151] 能够根据本发明进行涂覆的传统的支架由不锈钢,镍钛合金或者其他金属和合金组成,或者由人工合成的聚合物组成。

[0152] 根据本发明另一较佳的支架的实施例,其至少涂覆两个涂层。其也使用多层体系。在多层体系中,直接沉积在支架表面的涂层被标记为第一涂层,沉积在第一涂层上的涂层标记为第二涂层,依此类推。

[0153] 根据两层体系的设计,第一层由血容性涂层组成,该血容性涂层被可生物降解涂层以共价键和/或粘贴方式完全覆盖,而该可生物降解涂层至少由一种抗增殖,抗炎和/或抗凝血性活性剂组成。其也使用活性剂组合物以相互利用和补充。

[0154] 可用于外来涂层的可生物降解的物质是:聚戊内酯,聚-ε-癸内酯,聚内酯酸,聚乙二醇酸,聚交酯,聚乙醇酸交酯,聚交酯和聚乙醇酸交酯共聚物,聚-ε-己内酯,聚羟基丁酸,聚羟基丁酸酯,聚羟基戊酸酯,共聚羟基丁酸酯-戊酸酯,聚1,4-二噁烷-2,3-二酮,聚1,3-二噁烷-2-二酮,聚对二噁酮,作为聚酐的聚马来酸酐,聚羟基甲基丙烯酸酯,血纤维蛋白,聚腈基丙烯酸酯,聚己内酯二甲基丙烯酸酯,聚-b-马来酸,聚己酸丙酯丁基-丙烯酸酯,多块聚合物例如:低聚己内酯二醇和低聚二噁酮二醇,聚醚酯多块聚合物例如PEG和聚对苯二甲酸丁二醇酯,聚乙二醇酸三甲基碳酸酯,聚己酸丙酯乙交酯,聚g-谷氨酸乙酯,聚DHT-亚氨基碳酸酯,共聚DTE-DT-碳酸酯,聚双酚A亚氨基碳酸酯,聚正酯,聚乙醇酸三甲基碳酸酯,聚三甲基碳酸酯,聚亚氨基碳酸酯,聚N-乙烯基吡咯烷酮,聚乙烯醇,聚酰胺酯,羟基乙酸聚酯,聚磷酸酯,聚磷腈,聚对羧基苯氧基丙烷,聚羟基戊烷酸,聚酐,聚环氧乙烷-环氧丙烷,软聚氨酯,主链上有氨基酸的聚氨酯,诸如聚环氧乙烷的聚醚酯,聚烯基草酸酯,聚正酸酯及其共聚物,类脂,角叉藻聚糖,血纤蛋白原,淀粉,胶原,基于聚合物的蛋白质,聚氨基酸,人工合成聚氨基酸,玉米蛋白,改性玉米蛋白,聚羟基烷基酸酯,果胶酸,光化性酸,改性和非改性血纤蛋白和酪蛋白,羧甲基硫酸酯,白蛋白,进而还有,糖醛酸,类肝素硫酸盐及其衍生物,肝素,硫酸软骨素,右旋糖苷,b-环糊精,聚乙二醇和聚丙二醇的共聚物,阿拉伯胶,瓜尔胶,明胶,胶原,胶原-N-羟基琥珀酰亚胺,类脂,磷脂,改性的上述物质和共聚物和/或上述物质的混合物。

[0155] 包含活性剂的每一个涂层会通过血液成分的作用慢慢地降解,诸如,活性剂根据降解速度从外来涂层中释放出来,或者由于洗脱行为活性剂自身从基质中溶解出来。一旦可生物降解涂层降解掉,第一血容性涂层保证支架与血液相相容性的需要。该外来涂层的

生物降解作用和相应活性剂的释放仅在相当的一段时间内减少了细胞的快速增殖,同时在外来涂层已经普遍降解下,一个有目的可控的附着被激活。外来涂层的生物降解作用可以方便地持续 1 到 36 个月,较佳的为 1 到 6 个月,尤其较佳的为 1 到 2 个月。很明显,类似的支架能防止或至少在很大程度上减少了再狭窄。在这段时间里正在进行着非常重要的恢复过程。最后,该血容性涂层作为抗血栓形成表面而遮蔽外来表面,以不存在任何威胁生命的反应的方式继续保留。

[0156] 沉积在医疗器具表面的聚合物的量,较佳的为支架,在 0.01mg ~ 3mg/层,较佳的量为 0.20mg ~ 1mg/层,尤其较佳的量为 0.2mg ~ 0.5mg/层。

[0157] 一个具有血容性涂层的支架的制备方法,其规则如下:

[0158] a) 提供一个没有涂覆的支架,

[0159] b) 以共价键方式沉积一个血容性涂层,

[0160] c) 扩散活性剂进入到血容性涂层中,或者

[0161] c') 经由浸渍或者喷涂至少一种活性剂,充分地完全覆盖血容性涂层,

[0162] c'') 经由浸渍或者喷涂至少一种可生物降解和 / 或生物稳定涂层,其至少包含一种活性剂和 / 或其本身就是活性剂,用于充分地完全覆盖和 / 或不完全覆盖血容性涂层。

[0163] 上述的制备步骤提供较大的变异幅度,根据认为对于活性剂的需求,制备步骤被分为几种不同的类型,也可以在这几个类型中进行组合。

[0164] 涂覆规则 I:

[0165] a) 提供一个非涂覆的支架,

[0166] b) 沉积一血容性涂层,

[0167] c) 沉积一活性剂或者一活性剂组合物于血容性涂层上,而不需要基质,

[0168] d) 沉积一活性剂或者一活性剂组合物于血容性涂层上,而不需要基质,并且,用一可生物降解和 / 或生物稳定物质充分形成完全和 / 或不完全覆盖的涂层以用于扩散控制。

[0169] 涂覆规则 II:

[0170] a) 提供一个非涂覆的支架,

[0171] b) 沉积一血容性涂层,

[0172] c) 至少包含一种活性剂的至少一种可生物降解和 / 或生物稳定涂层充分地完全覆盖和 / 或不完全覆盖血容性涂层,该活性剂以共价键合和 / 或粘贴于血容性涂层,

[0173] d) 至少包含一种以共价键键合和 / 或粘贴于基质的活性剂的可生物降解和 / 或生物稳定物质涂层,充分完全覆盖血容性涂层,以及另一没有活性剂作为扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层,其中该扩散膜完全和 / 或部分覆盖其下面的涂层。

[0174] 涂覆规则 III:

[0175] a) 提供一个非涂覆的支架,

[0176] b) 沉积一血容性涂层,

[0177] c) 在血容性涂层上以共价键和 / 或粘贴的方式充分地全部覆盖有至少具有一种可生物降解和 / 或生物稳定的涂层,该涂层至少包括一种活性剂,

[0178] d) 在下面的涂层上,以共价和 / 或粘贴方式沉积活性剂或者活性剂组合物,

[0179] e) 在血容性涂层上以共价键和 / 或粘贴的方式充分地全部覆盖有至少具有一种可生物降解和 / 或生物稳定的涂层,该涂层至少包括一种活性剂,沉积一活性剂或一活性

剂组合物,以及沉积另一没有活性剂作为完全和 / 或部分覆盖下面涂层的扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层。

[0180] 涂覆规则 IV :

[0181] a) 提供一个非涂覆的支架,

[0182] b) 沉积一血容性涂层,

[0183] c) 在血容性涂层上,充分地完全和 / 或不完全覆盖至少两层可生物降解和 / 或生物稳定涂层,该涂层至少包括一种以共价和 / 或粘贴方式结合的活性剂,该活性剂在每层中具有不同的浓度,

[0184] d) 在血容性涂层上,充分地完全和 / 或不完全覆盖至少两层可生物降解和 / 或生物稳定涂层,该涂层至少包括一种以共价和 / 或粘贴方式结合的在每层中具有不同的浓度的活性剂以及至少另一没有活性剂作为完全和 / 或部分覆盖下面涂层的扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层,

[0185] e) 在血容性涂层上,充分地完全和 / 或不完全覆盖至少一可生物降解和 / 或生物稳定涂层,该涂层包括至少一活性剂和 / 或至少另一同组或者其他具有互补性组的活性剂,以相同或者不同的浓度以共价和 / 或粘贴的方式结合,

[0186] f) 在血容性涂层上,充分地完全和 / 或不完全覆盖至少两层可生物降解和 / 或生物稳定涂层,该涂层包括至少一活性剂和 / 或至少另一同组或者其他具有互补性组的活性剂,以及至少另一没有活性剂作为完全和 / 或部分覆盖下面涂层的扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层,

[0187] g) 在血容性涂层上,充分地完全和 / 或不完全覆盖至少两层可生物降解和 / 或生物稳定涂层,该涂层包括:以共价和 / 或粘贴至少一相同和 / 或不同浓度的活性剂,以及另一没有活性剂作为完全覆盖下面涂层的扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层,或者仅是部分覆盖下面涂层但该层已被一至少包括一共价键合于下面的基质和 / 或不用载体而直接粘贴的活性剂涂 层作为扩散膜的可生物降解和 / 或生物稳定涂层。

[0188] 另一有益的实施例是具有至少三层涂层的支架,第一层是血容性涂层覆盖于支架表面,第二层含有活性剂是不可生物降解,第二层被第三层血容性涂层覆盖。外层给支架提供与血液的必要的互容性,第二层作为活性剂的储集层。如果需要,活性剂是经由水解和 / 或加入溶剂溶解涂覆方法所需要的基质,并以共价键键合于基质上,其因此可以持续地以低浓度从第二层中释放并且可以不受限制地扩散出外层的血容性涂层。设置该层的目标不是阻止支架表面的细胞产生而是减少细胞的数目到达一个理想的程度。第一层的目的是在支架植入过程中经涂覆的支架表面发生损伤时使风险最小化,例如,在提供斑块时或者在如卷曲等预处理过程中磨损。一个第二安全保护来源于一个事实,即使一个生物稳定聚合物在身体里经过一个或多或少的一个长期的时间后会退化,其至少会部分地从支架表面剥离。尤其是含有在上述涂覆规则中所述的可生物降解材料的组合物也是可能的。

[0189] 这样的支架可以通过传统的支架制备得到,在其表面沉积第一层血容性涂层,沉积一非生物降解涂层,其至少以共价和 / 或粘贴方式结合,含有一活性剂以及与来自其它组的活性剂形成的组合物,另一层血容性涂层充分地完全覆盖该层。

[0190] 作为生物稳定涂层的物质是应用于医学中的所有常用物质,这些物质是:聚丙烯酸和聚丙烯酸酯,例如:聚甲基丙烯酸甲酯,聚丁基丙烯酸甲酯,聚丙烯酰胺,聚丙烯腈,聚

酰胺,聚醚酰氨,聚乙烯胺,聚酰亚胺,聚碳酸酯,聚碳氨基甲酸酯,乙烯聚合酮,乙烯聚合氯化物,聚乙烯单卤化物,聚乙烯醚,聚乙烯芳香酯,乙烯聚合酯,聚乙烯吡咯烷酮,聚甲醛,聚乙烯,聚丙烯,聚四氟乙烯,聚氨酯,聚烯烃橡胶,聚异丁烯,EPDM 橡胶,氟硅氧烷,羧甲基聚氨基葡萄糖,聚乙烯对苯二甲酸酯,聚戊酸酯,羧甲基纤维素,纤维素,人造纤维,三乙酸酯人造纤维,硝酸纤维素,醋酸纤维素,羟乙基纤维素,丁酸纤维素,纤维素醋酸丁酸酯,乙基乙烯基乙酸酯聚合物,聚砜,环氧树脂,ABS 树脂,EPDM 橡胶,硅酮:如聚硅氧烷,聚二甲基硅氧烷,聚乙烯卤素和共聚物,纤维素醚,三醋酸纤维素,聚氨基葡萄糖和共聚物,和/或上述物质的混合物。

[0191] 在多涂层体系中,新沉积的涂层充分地完全覆盖其下面的涂层。上下文中的“充分地”的意思是:至少在支架的其与血管壁直接接触的支架表面,被完全覆盖至少 90%,较佳的为 95%,尤其较佳的要使支架的至少 98%的表面被覆盖。

[0192] 本发明的支架同时解决了极性血栓形成问题和植入支架后内膜增生的问题。另外,不管是单层的还是多层的体系,本发明的支架尤其适合于持续释放一种或者更多抗增殖和/或免疫抑制剂的活性剂。由于具有能够以一定量持续释放活性剂的特性,本发明涂覆的支架几乎完全防止再狭窄发生的危险。

[0193] 另外,根据上述的过程,任何塑料表面都能涂覆低聚糖和/或多糖形成的血溶性涂层。作为塑料,合成聚合物以及生物聚合体是合适的,包括,例如,单体乙烯,乙烯基醋酸盐,甲基丙烯酸,乙烯基吡啶,三氟乙烯,丙烯,丁烯,甲基戊烯,异丁烯,苯乙烯,氯苯乙烯,氨基苯乙烯,丙烯腈,丁二烯,丙烯酸酯,二乙烯基苯,异戊二烯,乙烯基氯,乙烯基醇,乙烯基吡啶,乙烯基吡咯烷酮,四氟乙烯,三氟氯乙,乙烯基氟,六氟代异丁烯,丙烯酸,丙烯醛,丙烯酰胺,甲基丙烯酰胺,马来酸,羟甲基甲基丙烯酸,甲基甲基丙烯酸,马来酸酐,甲基丙烯酸酐,甲基丙烯腈,氟苯乙烯,氟酰基苯胺,3,4-异硫氰酸根合苯乙烯,烯丙基醇,磺酸,甲代烯丙基磺酸,己二烯邻苯二甲酸,氰基丙烯酸,二甲基氨基乙基甲基丙烯酸,十二烷基甲基丙烯酸,对乙酰氨基酚基乙氧基甲基丙烯酸,乙二醇二甲基丙烯酸,2-羟基乙烯基甲基丙烯酸,甲醛,氟醛 (fluoral),氯醛,乙烯基氧化物,四氢呋喃,丙烯氧化物,烯丙基缩水甘油醚,环氧氯丙烷,丙三醇,三甲基丙烷,季戊四醇,山梨醇,邻苯二甲酸,丁二酸,富马酸,己二酸,噻吩,二甲亚胺,环己烷己二酰二胺,环己烷癸二酰胺,环己烷十二烷联氨,氨基苯甲酰胺,次苯基二胺,酰胺酰肼,二甲基哌嗪,苯并咪唑,四氨基苯,吡喃酮, ϵ -己内酰胺,间苯二甲酸,谷氨酸,白氨酸,苯基丙氨酸,缬氨酸,赖氨酸,尿素,二异氰酸酯,硫脲以及其他或者上述单体的混合物。进而,考虑下述聚合物:硅酮,纤维素以及纤维素衍生物,油脂,聚碳酸酯,聚氨基甲酸酯,琼脂糖,多糖,右旋糖酐,淀粉,甲壳质,聚氨基葡萄糖,明胶,胶原 I-XII 以及其他的蛋白质。

[0194] 附图说明

[0195] 图 1 是甲壳质的二糖的结构片断,其可以通过碱式水解转化为聚氨基葡萄糖,或者通过部分脱乙酰作用以及后来的 N-羧基烷基化作用转化为通式 1a 所示的化合物。

[0196] 图 2 是聚氨基葡萄糖的二糖结构片断,其能够通过部分 N-酰基化作用以及后来的 N-羧基烷基化作用,或者通过部分 N-羧基烷基化作用以及后来的 N-酰基化作用,转化为通式 1a 所示的化合物。

[0197] 图 3 是肝素或者是类肝素硫酸盐的一个四糖单元,其中的类肝素硫酸盐的硫酸根

随机分布并且每二糖单元的硫酸化程度为 2, 就像典型的肝素 (图 3a)。作为结构近似的比较, 图 3 是通式 1b 所示化合物的一个实例, 图 3c 是具有用于 N- 羧基甲基化部分 N- 乙酰化的聚氨基葡萄糖典型结构的部分。

[0198] 图 4 是一个进入 PVC 管内展开的表面改性的不锈钢冠状支架在血小板流失 (PLT-loss) 方面的影响。一个未经涂覆的不锈钢冠状支架作为一个参比进行测量。设定没有不锈钢冠状支架的 PVC 管的血小板流失水平为 0 值。因此, SH1 是具有肝素以共价方式涂覆的支架, SH2 是具有软骨素硫酸盐涂覆的支架, SH3 是由从红血球衣中得到的多糖涂覆的支架, SH4 是由 Ac- 肝素以共价方式涂覆的不锈钢冠状支架。

[0199] 图 5 是具有完全脱硫酸和 N- 再乙酰化肝素 (Ac- 肝素) 以共价方式涂覆的支架, 和具有红血球衣的低聚糖和多糖涂覆的支架与未涂覆的支架和具有聚丙烯酸涂覆的支架, 在植入猪肉中 4 个星期后, 再狭窄率的比较示意图。

[0200] 图 6: 定量的冠状血管造影: 包含具有 Ac- 肝素涂覆的支架 (a.) 和与之比较的没有涂覆的支架 (b.) 的导管片断的断面部分的图片。在动物试验中, 4 个星期后, 可以清晰地观察到形成的内膜的厚度明显不同。

[0201] 图 7 是紫杉醇在支架 (无担体介质) 上的洗脱曲线图。

[0202] 图 8 是植入 PLGA 基质的紫杉醇的洗脱曲线图。

[0203] 图 9 是植入 PLGA 基质的紫杉醇的洗脱曲线图和未稀释的完全覆盖基础涂层的紫杉醇涂层中的紫杉醇的洗脱曲线图。

[0204] 图 10 是植入基质中的亲水性活性剂的洗脱曲线图和游离于用于扩散控制的全部覆盖基础涂层的聚合物 (外涂层) 的活性剂的洗脱曲线图。

[0205] 图 11 是秋水仙碱从 PLGA 基质上的洗脱曲线图。

[0206] 图 12 是辛伐他汀从 PLGA 基质上的洗脱曲线图。

[0207] 图 13 是一种抑制素在基质上的洗脱曲线图, 该基质具有完全覆盖基础涂层的作为扩散控制涂层的聚苯乙烯。

[0208] 图 14 在 Chandler 循环之后, 以空管 (control) 作为对照, 涂覆 (coat.) 和没涂覆 (unco.) 的支架间血液中血小板数 (platelet number), 新鲜的抽取的血液 (donor) 的血小板数和保存在注射器中 60 分钟后 (syringe 60) 的血小板数的比较。

[0209] 图 15 在新鲜抽取的血液中的 (donor), 空管中 60 分钟后的 (syringe60), 没有涂覆的支架 (unco.) 与有涂覆的支架 (coat.) 的血小板因子 IV 浓度的比较。

[0210] 图 16 是在新鲜抽取的血液中的 (donor), 空管中 60 分钟后的 (syringe60), 没有涂覆的支架 (unco.) 与有涂覆的支架 (coat.) 的活性补体因子 C5a 的比较示意图。

[0211] 图 17 是表示具有完全脱硫酸根和 N- 再乙酰化肝素 (Ac- 肝素) 共价涂覆的且具有 D, L- 丙交酯乙交酯共聚物第二层的支架与没有涂覆的支架 (植入猪肉中 12 星期后) 的再狭窄直径比率 % 的比较图表。随时间变化的 PLGA 情况下形成的狭窄也在该图中表示, 但是, 在植入支架 (post) 后, 再狭窄直径比率代表的血管直径与初始状态直接相关。试验中, 使用了 6 ~ 9 个月大小的家猪, 在植入支架的前 (pre) 后 (post) 都采用血管内超声波 (IVUS) 测定血管直径。一星期后 (1WoFUP), 一月后 (4WoFUP), 六个星期后 (6WoFUP) 以及三个月后 (12WoFUP) 分别采用冠状血管造影和血管内超声波 (IVUS) 分别测定支架面积。得到的数据具有令人惊讶的积极的效果, 不用怀疑, 其来自于支架的涂层。虽然狭窄的值在三

个月后,没有涂覆的支架与涂覆的支架几乎没有差别,但是 PLGA 涂覆的支架与血管壁之间的作用是相当平稳的。一个星期后,其狭窄值是 6% 明显低于没有涂覆的植入物的 10.4%。金属表面的覆盖层在 4 个星期后达到 10% (增长 33%),其狭窄率要低于没有涂覆的支架的狭窄率两倍,该没有涂覆的支架在相同时间内其狭窄率达到最高的 22.6% (增长 54%)。涂覆的支架在 6 个星期后达到最高的狭窄率 12.33%。12 个星期后,两个体系的值基本相同,大约是 11%。

[0212] 图 18 是定量的冠状血管造影图片,分别是图 17 所示的动物试验在 1 个星期后,4 个星期后,6 个星期后和 3 个月后植入猪体内的具血容性的 PLGA 涂覆的支架。

具体实施方式

[0213] 为更进一步阐述本发明为达成预定发明目的所采取的技术手段及功效,以下结合附图及较佳实施例,对依据本发明提出的具有血容性的化合物以及血容性表面的制备方法其具体实施方式、步骤、特征及其功效,详细说明如后。

[0214] 实施例 1

[0215] 制备脱硫酸根再乙酰化肝素

[0216] 100ml 安伯莱特 IR-122 阳离子交换树脂填入直径 2cm 的柱,与 400ml 3M 盐酸交换成氢型并用蒸馏水清洗,直到洗脱液不含氯化物且 PH 为中性。在 10ml 水中溶解 1g 肝素钠,然后倒入阳离子交换柱并用 400ml 水洗涤。洗脱液可以倒进含有 0.7g 吡啶的接收器并用吡啶滴定至 PH 值为 6,再冷冻干燥。

[0217] 用回流冷凝器把 0.9g 肝素吡啶盐加入盛有 90ml 按 6 : 3 : 1 体积比配置的 DMSO : 1,4 二氧六环 : 甲醇混合液的圆底烧瓶内,加热至 90℃ 并持续 24 小时。然后加入 823mg 氯化吡啶,加热至 90℃ 并持续 70 小时。接下来,用 100ml 水稀释并用稀苏打水滴定至 PH 为 9。从水中析出脱硫酸根肝素并冷冻干燥。

[0218] 100mg 脱硫酸根肝素溶解于 10ml 水中,冷却至 0℃ 并与 1.5ml 甲醇搅拌混合。在溶液中加入 4ml 道威克斯 1×4 氢氧根型阴离子交换树脂和 150 μ l 乙酸酐,在 4℃ 下搅拌 2 小时。接下来,滤除树脂,将溶液透析并冷冻干燥。

[0219] 实施例 2

[0220] N- 羧基甲基化,部分 N- 乙酰化聚氨基葡萄糖

[0221] 将 1g 部分水解的聚氨基葡萄糖溶解于 100ml 1% 的醋酸溶液,加入 100ml 甲醇,再加入 30ml 溶有 605 微升醋酸酐的甲醇,室温下搅拌 40 分钟。加入 140ml 甲醇和 60ml 25% 氨水的混合溶液,生成沉淀。过滤后用甲醇和二乙基醚洗涤,真空干燥一夜。

[0222] 将 1g 部分水解且部分 N- 乙酰化的聚氨基葡萄糖悬浮于 50ml 水中,在加入 0.57g 一水合乙醛酸,聚氨基葡萄糖衍生物会在 45 分钟内溶解。用 2N NaOH 将溶液的 PH 调整到 12。加入溶有 0.4g 氰基硼氢化钠且含水尽可能少的溶液,搅拌 45 分钟。然后,将产物在 400ml 乙醇中沉淀,过滤后用乙醇洗涤,真空干燥一夜。

[0223] 实施例 3

[0224] 脱硫酸根 N- 丙酰化肝素的合成

[0225] 100ml 安伯莱特 IR-122 阳离子交换树脂填入直径 2cm 的柱,与 400ml 3M 盐酸交换成氢型并用蒸馏水清洗,直到洗脱液不含氯化物且 PH 为中性。在 10ml 水中溶解 1g 肝素

钠,然后倒入阳离子交换柱并用 400ml 水洗涤。洗脱液可以倒进含有 0.7g 吡啶的接收器并用吡啶滴定至 PH 值为 6,再冷冻干燥。

[0226] 用回流冷凝器把 0.9g 肝素吡啶盐加入盛有 90ml 按 6 : 3 : 1 体积比配置的 DMSO : 1,4 二氧六环 : 甲醇混合液的圆底烧瓶内,加热至 90°C 并持续 24 小时。然后加入 823mg 氯化吡啶,加热至 90°C 并持续 70 小时。接下来,用 100ml 水稀释并用稀苏打水滴定至 PH 为 9。从水中析出脱硫酸根肝素并冷冻干燥。

[0227] 100mg 脱硫酸根肝素溶解于 10ml 水中,冷却至 0°C 并与 1.5ml 甲醇搅拌混合。在溶液中加入 4ml 道威克斯 1×4 氢氧根型阴离子交换树脂,再加入 192 微升丙酸酐,在 4°C 下搅拌 2 小时。接下来,滤除树脂,将溶液透析并冷冻干燥。

[0228] 实施例 4

[0229] N- 羧基甲基化,部分 N- 丙酰化聚氨基葡萄糖

[0230] 在 150ml 0.1N 的盐酸溶液中溶解 2g 聚氨基葡萄糖,氮气环境下回流 24 小时。冷却至室温后,用 2N NaOH 把溶液的 PH 值调节至 5.8。将溶液从去矿化的水中透析,并冷冻干燥。

[0231] 将 1g 部分水解的聚氨基葡萄糖溶解于 100ml 1% 的醋酸溶液,加入 100ml 甲醇,再加入 30ml 溶有 772 微升丙酸酐的甲醇溶液,室温下搅拌 40 分钟。加入 140ml 甲醇和 60ml 25% 氨水的混合溶液,生成沉淀。过滤后用 甲醇和二乙基乙醚洗涤,真空干燥一夜。

[0232] 将 1g 部分水解且部分 N- 乙酰化的聚氨基葡萄糖悬浮于 50ml 水中,在加入 0.57g 一水合乙醛酸后,聚氨基葡萄糖衍生物会在 45 分钟内溶解。用 2N NaOH 将溶液的 PH 调整到 12。加入溶有 0.4g 氰硼化钠且含水尽可能少的溶液,搅拌 45 分钟。然后,将产物在 400ml 乙醇中沉淀,过滤后用乙醇洗涤,真空干燥一夜。

[0233] 实施例 5 :

[0234] 根据 ISO 10933-4 (体外测量) 对通式 1a 和 1b 所示的化合物进行血容性测量。

[0235] 为了测量通式 1a 和 1b 所示的化合物的血容性,纤维素膜,硅试管和不锈钢支架被涂上了通式 1a 和 1b 所示的化合物,对肝素做了测试,又对相应的单个测试使用的没有涂层的材料表面做了测试。

[0236] 5.1 涂有去硫酸盐再乙酰化肝素 (Ac 肝素) 的纤维素膜 (铜纺)

[0237] 为了检查在柠檬酸全血和 Ac 肝素尤其是涂有肝素的纤维素膜之间的生理性凝结, Sakariassen 改进的 Baumgartner 腔灌注系统被采用 [Sakariassen K.S. et al. ; J. Lab. Clin. Med. 102 :522-535 (1983)]. 这个腔由有机玻璃加工而成包括四个构成部分和圆锥形嘴、带螺纹的节点,允许对两个改良后的膜同时进行检测,这样每一次运行都具有了统计上的覆盖度。这个腔的结构允许准薄片状的灌注条件。

[0238] 在 37°C 下灌注 5 分钟后,将隔膜萃取出来,在附着的血小板固定后测量血小板占据。以高度形成血栓的内皮下层基质的 100% 血小板占据作为反面标准,各自的结果与其相比较。在异质材料表面形成血浆蛋白层之前会发生血小板附着。血浆蛋白纤维蛋白素原对血小板聚集起辅助作用。这样的激活作用导致在血小板表面会键合几种与凝结有关的水浆蛋白如玻璃体结合蛋白,纤维结合蛋白和血管假性血友病因子。在异质表面接触血液时,上述的相互作用到了表面形成血栓的程度时血小板占据便发生了。从这个事实看结论产生了 :在灌注表面的血小板占据越低,所检查表面的血容性就越高。

[0239] 通过对涂有肝素和 AC 肝素的膜的进行检查可以清楚地看到,通过给异质表面涂附 AC 肝素使其血容性有了改善。涂有肝素的膜的血小板占据为 45-65%,而涂有 AC 肝素的膜的血小板占据为 0-5% (以内皮下基址血小板占据为 100%为参照)。

[0240] 由于缺少产生血小板激活作用所必需的血浆蛋白,在 AC 肝素表面的血小板附着被极大的减弱。而附着肝素表面的迅速初始血浆蛋白吸收为激活作用、血小板沉积和聚集提供了最佳的先决条件,最终由于凝血连锁的激活作用,血液基于相应的防御机理与异质表面发生了反应。AC 肝素比肝素更好的满足了异质表面对血容性的需要。

[0241] 依靠血液提供的涂层,血浆蛋白吸收和血小板占据的相互作用是表面形成血栓的直接因素,通过这个体外实验被很清楚的认识到了。因此利用共价结合的肝素作为抗凝血工作表面是受很大限制或是完全不可能的。共价键结合的肝素和血液之间的相互作用把它们归到不希望的对立面——涂有肝素的表面会导致血液凝结。

[0242] 显然地,肝素抗凝血的突出重要性没有被转移给共价结合的肝素。系统应用中在溶解的形式下它可以充分的显示其特性。但是如果肝素不是共价结合,它的抗凝血特性也是不能持久的。不同的是 AC 肝素 (“没有亲和力”的肝素),由于脱硫酸和再乙酰化,事实上失去了全部原始分子的抗凝血特性,但却作为回报得到了有特色的抗凝血特性,其被明确的发现于对抗凝血酶 III 的不活泼性和对凝血起始过程失去亲和力并在共价结合后保持。

[0243] 因此 AC 肝素和通式 1a 和 1b 所示的化合物是和凝血系统表面接触的异质表面的最合适的伪装。

[0244] 5.2 在硅酮上的固化

[0245] 通过一个长一米,内径 3mm 的硅酮导管,将 100ml 按体积比 1/1 混合的乙醇/水溶液在 40°C 下用泵循环 30 分钟。然后加入 2ml 3-(三乙氧基甲硅烷基)丙胺,在 40°C 下再用泵循环 15 小时。然后分别用 100ml 乙醇/水混合液和 100ml 水清洗 2 小时。

[0246] 在 4°C 下将 3mg 脱乙酰和再乙酰化肝素 (AC 肝素) 溶解在 30ml PH 值为 4.75 并混合有 30mg CME-CDI (N-环己基-N'-(2-吗啉代乙基)碳化二亚胺甲基-P-甲苯磺酸酯)的 0.1M MES-缓冲液中。将溶液在 4°C 下通过导管用泵循环 15 小时。然后分别用水,4M NaCl 溶液,水各清洗 2 小时。

[0247] 5.3 血小板数量测定 (EN30993-4)

[0248] 在一个 1m 长内径 3mm 的硅酮导管中放入两个 2cm 长的尺寸合适的玻璃管。然后,用可收缩的导管将丙酮导管封闭成环形并在用注射器排除空气的条件下填满 0.154M 的 NaCl 溶液。在此过程中,用一个注射器注入溶液,另一个排除空气。在排除空气 (没有气泡) 的条件下,用两个注射器将溶液和来自健康测试者的含枸橼酸盐的全血进行交换。然后,推上玻璃管堵住注射器的凹孔,导管被夹紧成一个透析泵。血液以 150ml/分钟的流量循环 10 分钟。在灌注前后分别用 Coulter 流气式计数器测量血小板数量。没有涂层的硅酮导管血小板的损失为 10%,相对地,据例 5.2 涂有涂层的硅酮导管的血小板损失平均为 0% (实验次数 :n = 3)。

[0249] 在这个动态测试系统中还表现出,在涂有 AC 肝素表面的血小板激活作用被减小了。同时,可记录的是,肝素的固化对所用表面的血容性效果起负面作用。相反地,根据不活泼的特点,AC 肝素表现为在和血小板接触时没有反应。

[0250] 5.4 在 316 LVM 不锈钢冠状支架上的全血实验

[0251] 符合生物相容性实验 31mm 长的 316LVM 不锈钢支架被共价涂附上 AC 肝素。在总共 2cm^2 表面且占据系数大致为 $20\text{pm}/\text{cm}^2$ 支架表面上,大概需要 $0.35\ \mu\text{gAC}$ 肝素。作为比较:在血栓预防中,每天正常的肝素用量为 20-30mg,至少 60,000 倍于此值。

[0252] 这些实验在 RWTH Aachen 的生理学院进行,使用确定血液动力的循环系统 [A. Henseler, B. Oedekoven, C. Andersson, K. Mottaghy ;KARDIOTECHNIK 3(1999)]. 有涂层和无涂层的支架在长 600mm 内径 4mmPVC 管 (医用级别的 PVC) 中展开并测试。这些实验的结果证实了讨论过的硅酮导管实验。一开始的 50% 的灌注液血小板损失被用 AC 肝素精制后的支架减少了多于 80%。

[0253] 在导管中展开且表面改良过的冠状支架对血小板损失的影响在一个 45 分钟全血灌注的 Chandler 测试中被进一步评估。最初,没有支架的 PVC 管被分析,结果影响为零。考虑到捐赠血液 3.6% 的标准个体偏差,空导管的平均血小板损失为 27.4%。以这个基本值为基础,不同的表面改良过的支架在 PVC 管中展开并在相似的条件分析它们的血小板损失。同样地,只占总测试面积 0.84% 的有涂层的支架对血小板数量产生了显著的可重复的影响。根据空导管 (基本值),被抛光的,表面进行非涂层化学处理的支架的平均血小板损失为 22.7%。这与 PVC 空管的血小板损失相比少于 1%。一个直接的结果是作为支架材料的 316LVM 医用不锈钢与医用 PVC 表面相比在血小板损坏方面强 100 倍,尽管其测试面积只占总面积的 0.84%。

[0254] 经分析,不锈钢支架上的表面涂层可以明显的减少支架引起的大量血小板损失 (见图 4)。最有效是 81.5% 的 AC 肝素。

[0255] 如果考虑到涂有 AC 肝素的支架对血小板损失的效果,那么与之一致的好结果产生了。灌注液中的血小板损失和所供表面的血小板附着之间的相互关系显示了测量的可靠性。

[0256] 5.4.1 支架的共价血容性涂层

[0257] 没有展开的医用 LVM316 不锈钢支架在超声波浴中用丙酮和乙醇脱脂 15 分钟后在 100°C 的干燥箱中烘干。然后,浸入 2% 的 3- 甲硅烷 3 乙氧丙氨溶液 5 分钟,其中溶剂为体积比 50/50 的乙醇 / 水混合液。接着 100°C 下干燥 5 分钟。然后,用脱矿质水将支架清洗一夜。

[0258] 在 4°C 下将 3mg 脱硫酸根再乙酰化肝素溶解在 30mlPH 值为 4.75 并混合有 30mgCME-CDI(N- 环己基 -N'-(2- 吗啉代乙基) 碳化二亚胺甲基 -P- 甲 苯磺酸酯) 的 0.1M MES- 缓冲液 (2-(N- 吗啉代) 乙烷磺酸) 中。在 4°C 的溶液中,10 个支架被搅拌 15 小时。然后分别用水,4M NaCl 溶液,水各清洗 2 小时。

[0259] 5.4.2 用 HPLC 测定涂层支架的葡萄糖胺含量

[0260] 水解:涂层支架在小的水解导管中,在室温下用 3ml 3M 的盐酸严格控制时间为 1 分钟后将其抛弃。除去金属探针,在 100°C 的干燥箱内加封 16 小时后导管被静置。接着冷却,蒸发 3 次直到干燥,用 1ml 脱气并过滤过的水吸收,并以 HPLC 的水解产物标准测量。

[0261]

支架	取样面积	脱硫酸再乙酰化 肝素. (克/ 例)	面积 [cm]	脱硫酸再乙酰化肝 素 [g/cm]	脱硫酸再乙酰化肝素 [pmol/cm]
1	129.021	2.70647E-07	0.74	3.65739E-07	41.92
2	125.615	2.63502E-07	0.74	3.56084E-07	40.82
3	98.244	1.93072E-07	0.74	2.60908E-07	29.91
4	105.455	2.07243E-07	0.74	2.80058E-07	32.10

5	119.061	2.33982E-07	0.74	3.16192E-07	36.24
6	129.202	2.53911E-07	0.74	3.43124E-07	39.33
7	125.766	2.53957E-07	0.74	3.43185E-07	39.34

[0262] 实施例 6

[0263] 有涂层的冠状支架的活体实验（图 5）

[0264] 6.1 有 AC 肝素涂层的冠状支架的活体实验

[0265] 根据 AC 肝素得出的在体外实验中得到的血容性实验数据，AC 肝素表面作为金属支架的抗凝血涂层的适用性在活体实验中被讨论（动物实验）。实验的目的主要是评估涂在支架上的 AC 肝素引起的脉管反应。除了记录可能的血栓形成问题之外，再狭窄过程的相关参数如新内膜面积，官腔流明和狭窄度也被记录。

[0266] 动物实验在公认的心脏病学家 Hess 教授的指导下在瑞士的 Inselspital Bern 进行。实验使用饲养 6-9 个月大的猪，用以验证支架对已被长时间确定且被公认的动物模型的有效性。

[0267] 和预期的结果一样，实验中没有出现急性、亚急性、迟急性的血栓形成事件，这也证明了 AC 肝素的抗凝血特性。

[0268] 4 周之后动物们被解散，提取植入支架的冠状动脉片断并分析组织形态。

[0269] 在整个实验阶段，尤其是在组织学实验中没有被观察到由于使用涂有 AC 肝素支架而导致的急性或亚慢性中毒症状、过敏反应或进一步的刺激作用。在支架植入和随后的冠状血管造影期间数据集被确定，它能够解释血管与植入的支架的反应。

[0270] 没有涂层的支架和涂有 AC 肝素的支架之间的区别是显而易见的。在没有涂层的支架上可以很容易的观察到一个很清晰的新内膜层的产生。4 周之后，没有涂层支架表面在外围组织的增殖现象进展到这样一个程度，有了最终导致支架区域血管闭合的危险。

[0271] 相反地，在涂有 AC 肝素的支架上，可以观察到一个明显要薄的新内膜层，这样可以在维持宽松的血管流明的情况下很好的控制支架向内生长。

[0272] 与观察到的现象相一致，详细的组织形态测定和冠状血管造影数据也证明了如下结论即，通过涂附 AC 肝素（SH4），新内膜增生（“再狭窄”）和没有涂层的支架相比被抑制大概 17-20%。这个结果很意外同时也是很显著的。可以肯定的，抗凝血表面除了具有血容性特性外，不要求同时具有影响新内膜增生的功能，如阻止再狭窄。

[0273] 一方面，支架表面涂附了高密度、永久性的 AC 肝素，与金属表面的直接细胞接触被避免了。在科技文献中，某种金属离子放射进入移植片附近组织可能是引起再狭窄的原因，可以把通过用一种涂层来阻止直接金属接触作为一种抑制再狭窄的方法。

[0274] 另一方面，这样的正面效果听起来很有道理，因为在一个不活泼的抗凝血支架表面血小板聚集消失的同时，生长因子的增殖也消失了。因此，从流明方面开始，一个新内膜增殖刺激因素被忽略了。

[0275] 实施例 7

[0276] 涂有共价结合的 AC 肝素和 PLGA50/50 第二上层的冠状支架的体内实验

[0277] 7.1 体外使用的基质的血容性

[0278] 为了评估 PLGA50/50 的血容性，将不锈钢支架涂附了聚合物，并在 RWTHAachen 的生理学院做了体外全血测试。采用的固定且标准化的 Chandler 循环系统是一个动态封闭导管系统，它的运行不需要泵。血容性实验中，全血、血小板因子 IV、补体因子 5a (C5a) 被确

定（见图 14-16）。为了比较的原因，也包括了没有涂层的支架。

[0279] 进行实验

[0280] 将捐赠血液用 1.5U/ml 肝素吸收。把支架置入 PVC 管（内径 3.5mm 长 95cm）并用气囊式导管固定。4 个导管（K3-K6）和两个空导管（L1,L2）都被填入 7.5ml 等渗氯化钠溶液并在 37°C 下在 Chandler 环中以 5r/min 的速度旋转 60 分钟。为了抗血液凝结，样本被分别放在单口瓶（monovetties）和样本广口瓶中（PF4-CTAD, C5a-EDTA, BB-EDTA）并被分别的处理。

[0281] 对血小板数量的测定显示，在空导管、有涂层的支架和无涂层的支架之间没有明显的区别。有涂层和无涂层的支架释放的 PF4 在同一个等级上。对补体因子 5a（C5a）的测定显示有涂层的支架比没有涂层的支架激活作用小。

[0282] 7.2 体内使用基质的血容性

[0283] 实验的主要目的是评估 PLGA 涂层对支架引起的血管反应的影响。实验使用了 28 头饲养 6-9 个月大的猪。分别在一周后（1WoFUP）、一月后（4WoFUP）、六周后（6WoFUP）和三个月后（12WoFUP）检查支架区域。获得的数据显示意外且令人惊奇的正面效果，不容置疑地，这是由于使用了 PLGA50/50。尽管三个月后无涂层支架和有涂层支架在狭窄的程度没有什么不同，血管壁对涂有 PLGA 的支架的反应已经实质上平稳了。一周后的狭窄值为 6%，明显的低于无涂层支架的 10.4%。4 周后金属表面的覆盖为 10%（增长了 33%），狭窄率比无涂层支架要低，其最大值为 22.6%（增长了 54%）。有涂层支架在 6 周后达到最大值仅为 12.33%。12 周后两个系统都为大概 11%（见图 16）。

[0284] 再狭窄过程的数据是通过定量的冠状血管造影（QCA）和学管内超声波检查（IVUS）获取的。

[0285] 实施例 8

[0286] 用他克莫司作为表面涂层的实验

[0287] 采用甲苯胺蓝的预实验：

[0288] 由于他克莫司很难用化学方法检测到，首先的预实验采用甲苯胺蓝（Aldrich）来进行

[0289] 化学药品：

[0290] 不锈钢导管 LVM316 :2.5cm 长,直径 2mm。

[0291] 多乳酸化合物 :Fluka, Lot. 398555/123500, HNo. 0409。

[0292] 甲苯胺蓝 :Aldrich, Lot. 19,816-1, HNo. 0430。

[0293] pH 值 7.4 的 PBS 缓冲液 :14.24g Na_2HPO_4 , 2.72g NaH_2PO_4 , 9g NaCl 。

[0294] 实现：

[0295] 用分析天平给支架称重，并记录重量。在一个小的水解导管中，将 0.5g 多乳酸化合物溶于 2ml 三氯甲烷中。然后，在水浴中将溶液加热至 65°C。将溶液在冷冻室冷却。往那里加入溶于 200 微升的 20 μg 甲苯胺蓝。将支架在得到的溶液中浸泡。几分钟之后，用镊子将支架取出移入蒸发罩直到溶剂蒸干。然后，第二次将支架进行浸泡。支架风干后再冷冻干燥 10 分钟。干燥后的支架再次称重。两次测量的重量差值就是固化的有甲苯胺蓝的多乳酸化合物的量（样本 1）。

[0296] 将实验用同样的溶液重复一次（样本 2）。

[0297] 在样本 3 中,将来自实验 1(样本 1)和实验 2(样本 2)的浸渍溶液(1.93ml)加入 250mg 多乳酸化合物和溶于 0.825ml 三氯甲烷的 0.825mg 甲苯胺蓝。多乳酸化合物加热溶解。然后,将一个按上述方法支架浸泡两次。

[0298] 结果:

[0299] 未处理的支架重量分别为 176.0mg 和 180.9mg。在多乳酸化合物溶液中浸泡后,重量为 200.9mg 和 205.2mg。

[0300] 浸渍溶液含有 500mg 多乳酸化合物和 200 μ g 甲苯胺蓝。样本 1 和 2 中附着的甲苯胺蓝的量可以按这个比例测量到。样本 3 中,2.755ml 溶液含有 1mg 甲苯胺蓝和 638.6mg 多乳酸化合物(初始重量 - 消耗样本 1+2;大概 50mg)。这里在一个准备中给出两个支架来获得更好的吸收。由于浸渍溶液非常粘稠,会产生很厚的涂层,用三氯甲烷将它从 2.625ml 稀释到 4ml。

[0301] 浸渍溶液的浓度:

[0302]

样本	体积 (ml)	c(多乳酸化合物 mg/ml)	c(甲苯胺蓝 μ g/ml)
1	2.2	227.3	90.9
2	2.2	227.3	90.9
3	2.755	231.8	363.0
4	4.0	134.5	212.5

[0303] 导管和生成的涂层的重量:

[0304]

样本	净重	总重量	多乳酸化合物 & 甲苯胺蓝	甲苯胺蓝
1	176.0mg	200.9mg	24.9mg	9.96 μ g
2	180.9mg	205.2mg	24.3mg	9.72 μ g
3	317.2mg	410.8mg	93.6mg	135.73 μ g
4	180.8mg	194.8mg	14.8mg	23.38 μ g

[0305] 例 9

[0306] 不同浓度涂层的洗脱行为

[0307] 在预实验中,取得了甲苯胺蓝乙醇溶液($c = 0.1\text{mg/ml}$)的 UV-Vis 光谱,确定了最大吸收。在最大吸收时测量到的溶液中甲苯胺蓝浓度被为 627nm。一个刻度曲线产生了。

[0308] 将一支架同 25ml 生理盐水放入的 PH 值 7.4 的磷酸盐缓冲液(14.24g NaH_2PO_4 , 2.72g K_2HPO_4 and 9g NaCl)中,在室温下轻轻搅拌。在之后的 0.5, 1, 2, 3, 6, 24, 48 和 120 小时,每次取 3ml 样本,进行分光镜测量后放回。

[0309]

时间 /h	abs. s1	C (ng/ ml)	abs. s2	C (ng/ml)	abs. s3	C (ng/ml)	abs. s4	C (ng/ml)
0	0.0002	0	-0.0002	0	0.0036	0	0.0063	0
0.5	-0.0011	0	0.0011	6.4	0.0095	29.2	0.0125	30.7
1	0.0003	0.5	0.0014	7.9	0.0164	63.3	0.0121	28.7
2	0.0007	2.5	0.0008	5.0	0.0256	108.9	0.0131	33.7
3	-0.0004	0	0.0006	4.0	0.0294	127.7	0.0136	36.1
6	0.0013	5.4	0.0015	8.4	0.0333	147.0	0.0142	39.1
24	0.0017	7.4	0.0020	10.8	0.0527	246.0	0.0239	176
48/96	0.0024	10.9	0.0033	17.3	0.1096	524.8	0.0147	41.6
120	0.0017	7.4	0.0038	19.8	0.1110	531.7	0.0161	48.5

[0310] 经过不同时间后的样本的吸收。为测量浓度从测量结果中减去试管的差别 (abs. at T = 0)。

[0311] 实验分别在 12 天和 13 天后终止。所有支架上的涂层在实验结束后依然存在。为了测量甲苯胺蓝和多乳酸化合物各自溶解的量,这些支架用水和乙醇清洗并冷冻干燥 1 小时后称重。

[0312]

S.	最终重量	初始重量	PL+Tb	diss. PL+Tb	diss. Tb.	rem. Tb.
1	196.5	200.9mg	24.9mg	4.4mg	1.76 μ g	8.2 μ g
2	199.4	205.2	24.3mg	5.8mg	2.32 μ g	3.48 μ g
3	385.4	410.8	93.6mg	25.4mg	36.83 μ g	98.8 μ g
4	191.3	194.8	14.8mg	3.5mg	5.52 μ g	17.86 μ g

[0313] 在浓度为每 ml 浸渍溶液 90 μ g 甲苯胺蓝时,甲苯胺蓝的释放量很小以至于吸收处于检出极限。在浓度为 200 μ g/ml 时,值在可测量区域后的数小时。建议测量时在一个烧杯(广口瓶)中放两个样本来产生更高的吸收。在多乳酸化合物和甲苯胺蓝浓度最高时,好像发生了饱和效应。此时较薄样本的洗脱比例几乎为线性。所有支架的涂层在几天之后都可以检测到。

[0314] 大概 2 周后,附着的甲苯胺蓝溶解了平均 1/4-1/5。所以,结果是在大概在 8 到 10 周之内样本还将有洗脱的甲苯胺蓝。

[0315] 浸渍溶液不要太稠并应该冷却,以使三氯甲烷在提取时不至蒸发太快,否则涂层会很厚并且不均匀。这里,样本 4(134mg/ml) 中的多乳酸化合物浓度看起来就足够了,最重要的是,高浓度时溶液会变得非常粘稠使多乳酸化合物很难溶解。

[0316] 实施例 10

[0317] 经由喷涂方法得到的支架涂层

[0318] 例 1 和例 2 中预制且没有展开的支架称重后水平悬挂在一个直径为 0.2mm 的细金属棒上,金属棒粘在加料装置的旋转轴上并以 28r/min 的速度旋转。支架这样放置是为了使支架内部不碰到金属棒。加液幅度为 2.2cm,加液速度为 4cm/s,支架和喷嘴的距离为

6cm,这样的条件下支架被喷上各自的喷涂液。室温下干燥(约15分钟)和在通风橱中干燥一夜后再次称重。

[0319] 例 11

[0320] 含有纯净基质的支架涂层:

[0321] 喷涂液的制备:

[0322] 将 176mg 多乳酸化合物称重,用三氯甲烷补足到 20g。

[0323] 每个支架用 3ml 喷涂液喷涂,在喷涂之前和之后的分别称重,产生的涂层厚度用放大 100 倍的显微镜测量确定。

[0324]

支架编号	喷涂前	喷涂后	涂层重量	涂层厚度
1	0.0193g	0.0205g	1.2mg	10.4 μm
2	0.0193g	0.0205g	1.2mg	10.4 μm
3	0.0204g	0.0216g	1.2mg	10.4 μm
4	0.0206g	0.0217g	1.1mg	10.4 μm

[0325] 实施例 12

[0326] 含有纯净活性剂的支架涂层

[0327] 喷涂液的制备:将 44mg 红杉醇溶于 6g 三氯甲烷。

[0328] 在喷涂前后分别给支架称重。

[0329]

支架编号	喷涂前	喷涂后	涂层重量
1	0.0194g	0.0197g	0.30mg

[0330] 实施例 13

[0331] 在 PBS 缓冲溶液中洗脱行为的测定

[0332] 将每一个支架放入足够小的烧瓶,加入 2ml PBS 缓冲液,用石蜡封口后在 37°C 干燥箱中培养。选定的时间段结束后,每一个烧瓶中浮在表层的物质被获取并测量它的 306nm 的 UV 吸收。

[0333] 实施例 14

[0334] 含有活性剂填充的基址的血容性支架的涂层(图 7)。

[0335] 喷涂液:多乳酸化合物 RG502/紫杉酚-用三氯甲烷把含有 145.2mg 多乳酸化合物和 48.4mg 紫杉酚的溶液补足到 22g。

[0336]

支 架	喷 涂 液	涂前重量 (g)	涂后重量 (g)	涂层重量	活性剂重量	活性剂 μg/mm ²	涂层厚度
1	0.8ml	0.02180	0.02215	0.35mg	146 μg	1.97	7.9 μm
2	0.8ml	0.02105	0.02142	0.37mg	154 μg	2.08	6.7 μm
3	0.8ml	0.02247	0.02285	0.38mg	158 μg	2.14	9.8 μm
4	0.8ml	0.02395	0.02432	0.37mg	154 μg	2.08	11.0 μm
5	0.8ml	0.02247	0.02286	0.39mg	163 μg	2.20	9.1 μm
6	0.8ml	0.02442	0.02482	0.40mg	167 μg	2.26	12.2 μm

[0337] 实施例 15

[0338] 含有活性剂填充的基址和活性剂表面涂层的支架涂层（图 8）：

[0339] 基础涂层：19.8mg 多乳酸化合物和 6.6mg 紫杉酚，用三氯甲烷补足到 3g。

[0340] 表面涂层：8.8mg 紫杉酚，用三氯甲烷补足到 2g。

[0341]

支架	喷涂液	涂前重量 (g)	涂后重量 (g)	涂层重量	活性剂重量	活性剂 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$	涂层厚度
1	0.85ml	0.0235	0.0238	0.30mg	131 μg	1.56	9.7 μm
2	0.85ml	0.0260	0.0264	0.40mg	175 μg	2.09	10.1 μm

[0342] 实施例 16

[0343] 含有亲水活性剂的多乳酸化合物和活性剂自由基质表面涂层的支架涂层（图 9）：

[0344] 喷涂液：

[0345] 基础涂层：22mg 多乳酸化合物和 22mg 亲水活性剂被称重并用三氯甲烷补足到 5g。

[0346] 表面涂层：22mg 多乳酸化合物和 22mg 聚丙烯被称重并用三氯甲烷补足到 5g。

[0347]

喷涂液	涂前重量	涂后重量	涂层重量	活性剂重量
0.85ml	0.0135g	0.0143g	0.8mg	200 μg

[0348] 以上所述，仅是本发明的较佳实施例而已，并非对本发明作任何形式上的限制，虽然本发明已以较佳实施例揭露如上，然而并非用以限定本发明，任何熟悉本专业的技术人员，在不脱离本发明技术方案范围内，当可利用上述揭示的方法及技术内容作出些许的更动或修饰为等同变化的等效实施例，但是凡是未脱离本发明技术方案的内容，依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与修饰，均仍属于本发明技术方案的范围内。

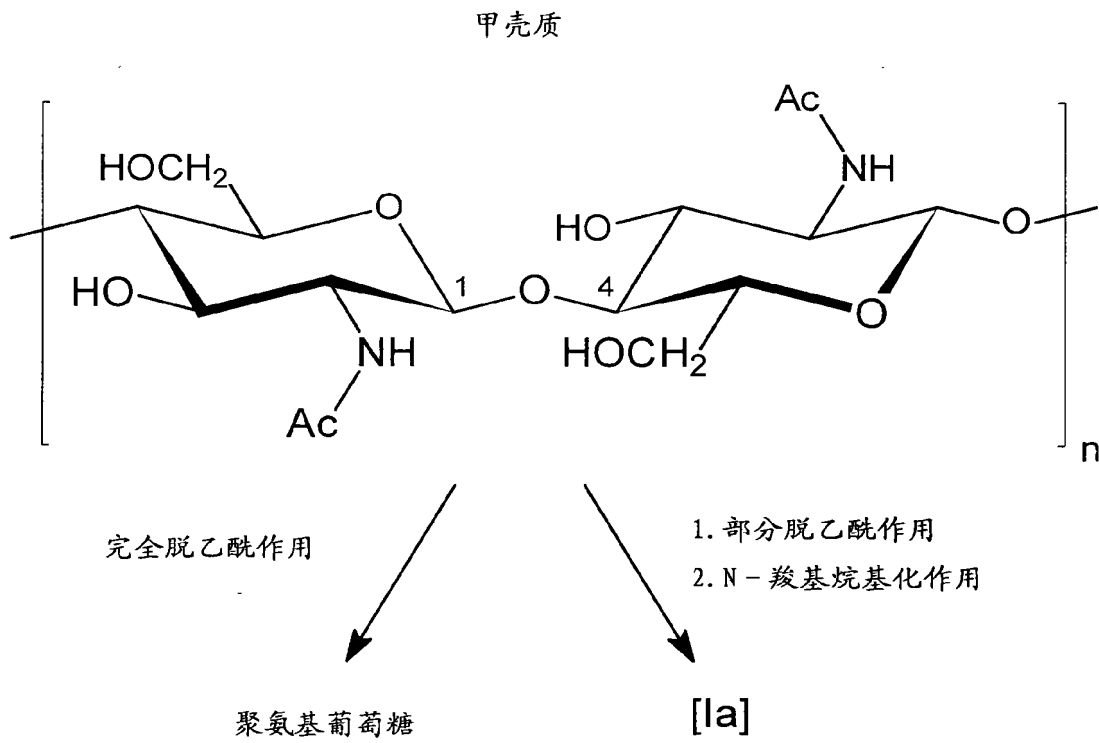
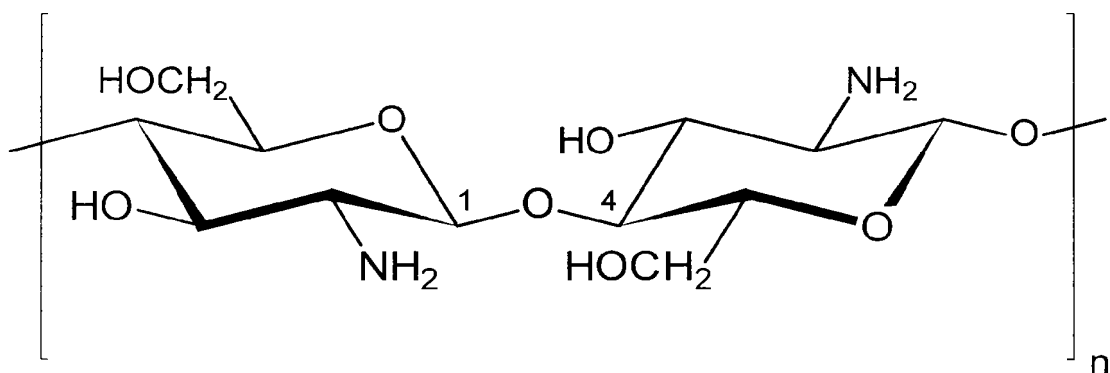


图 1

氨基葡萄糖



- 1. 部分 N-酰基化作用
- 2. N-羧基烷基化作用

- 1. 部分 N-羧基烷基化作用
- 2. N-酰基化作用

[Ia]

[Ia]

图 2

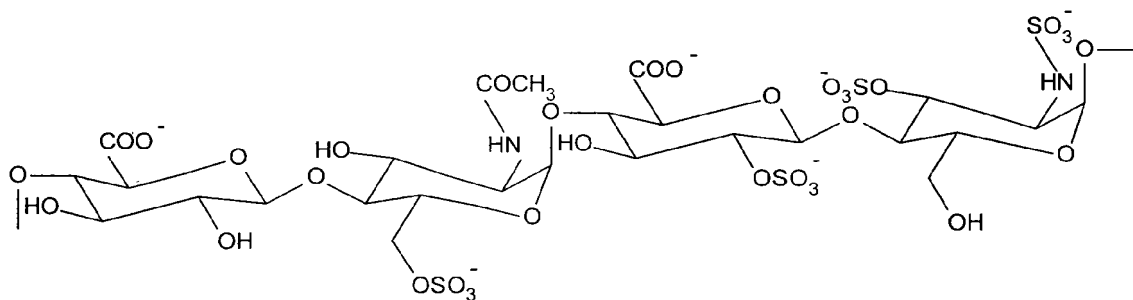


图 3a

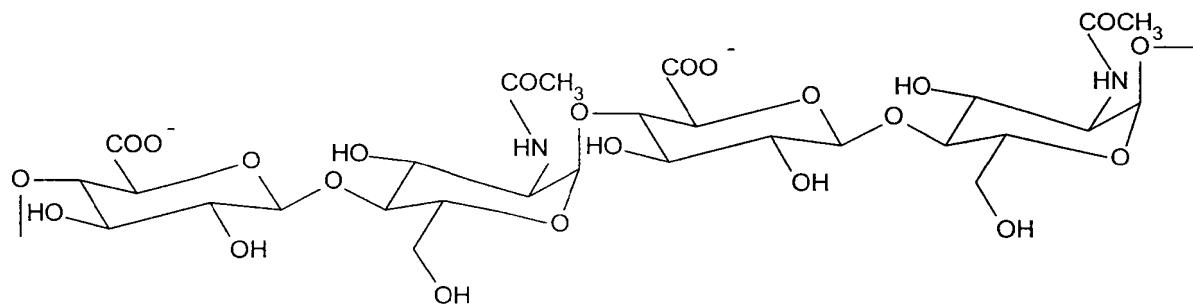


图 3b

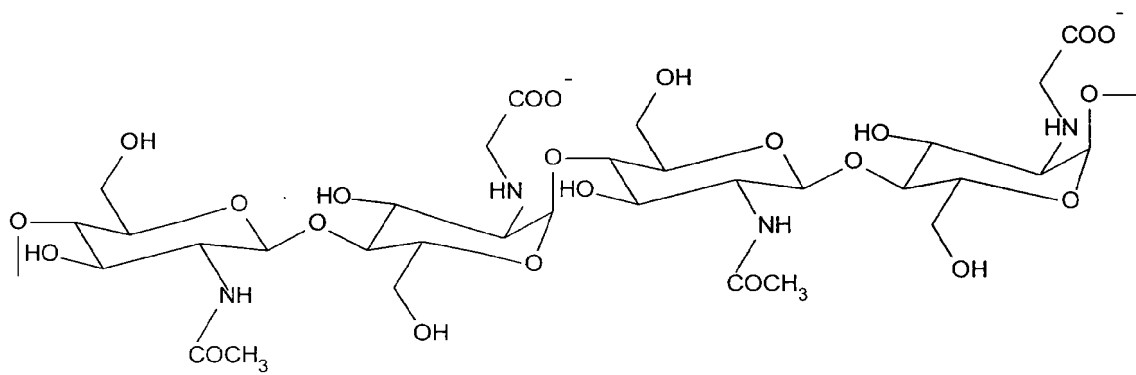


图 3c

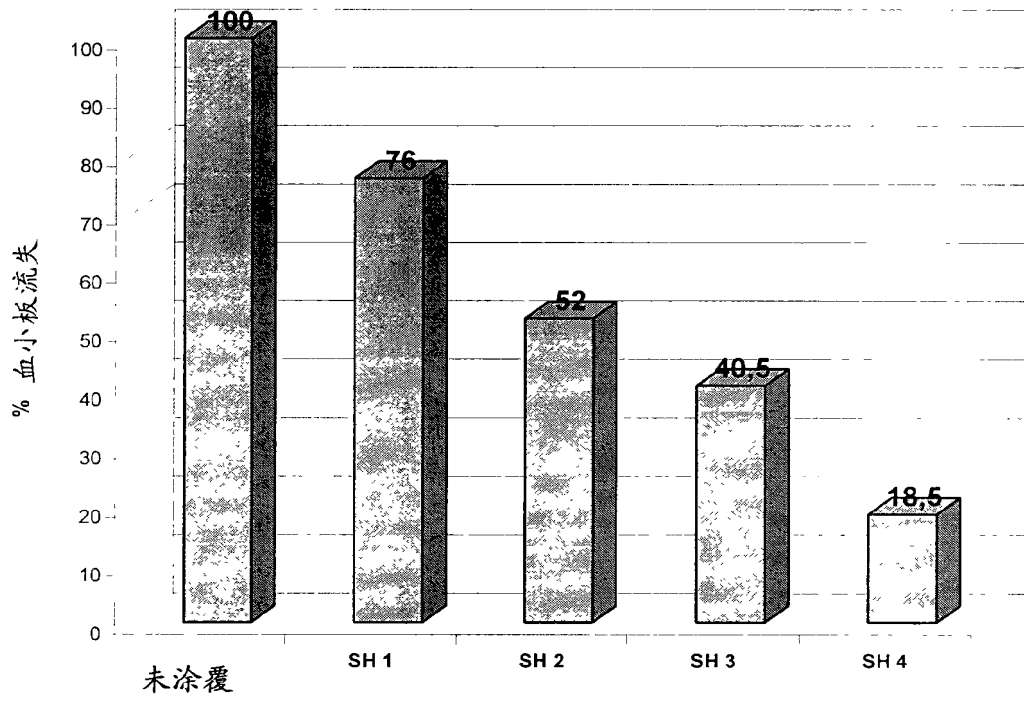


图 4

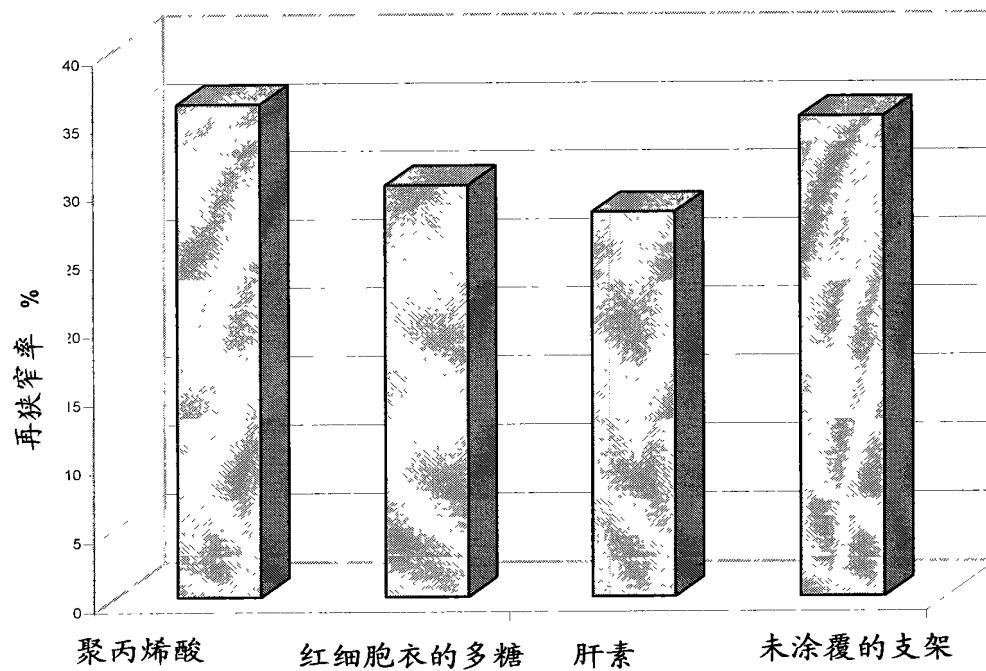


图 5

AC-肝素支架

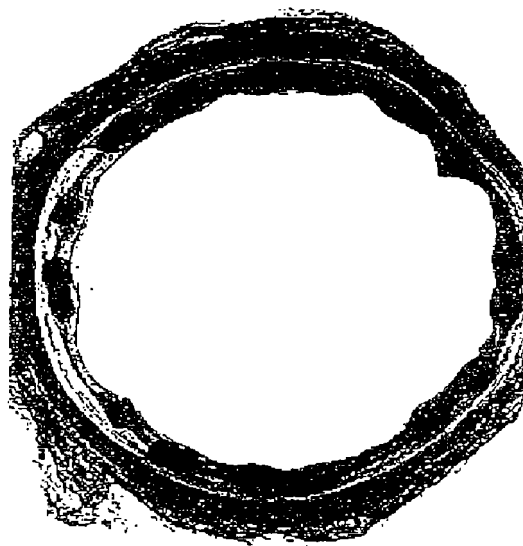


图 6a

未涂覆支架

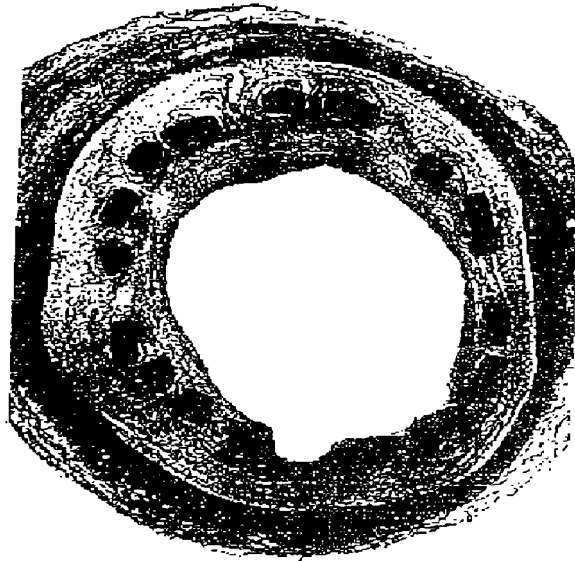


图 6b

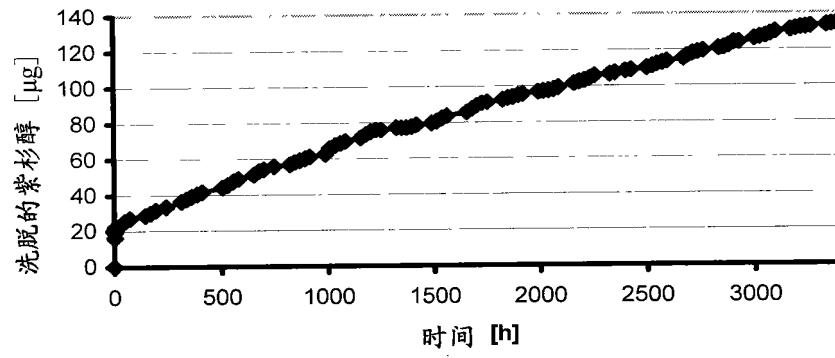


图 7

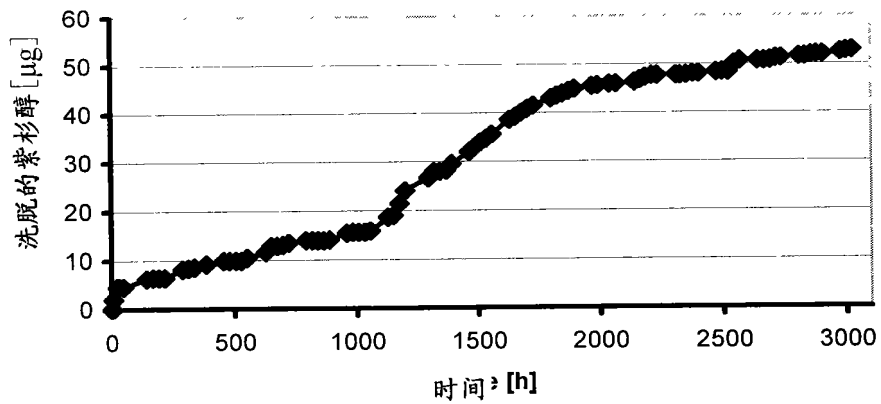


图 8

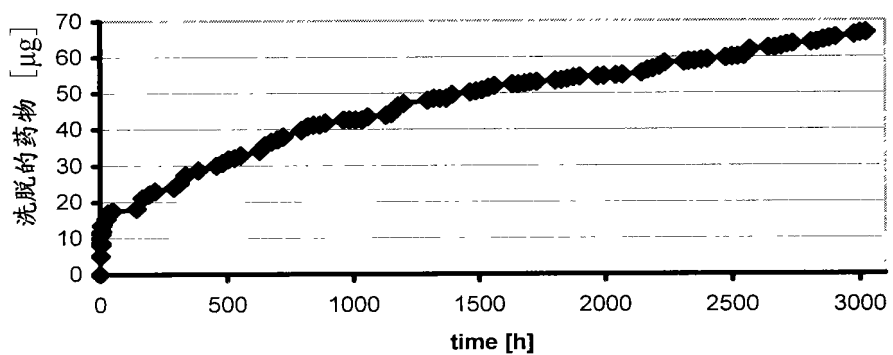


图 9

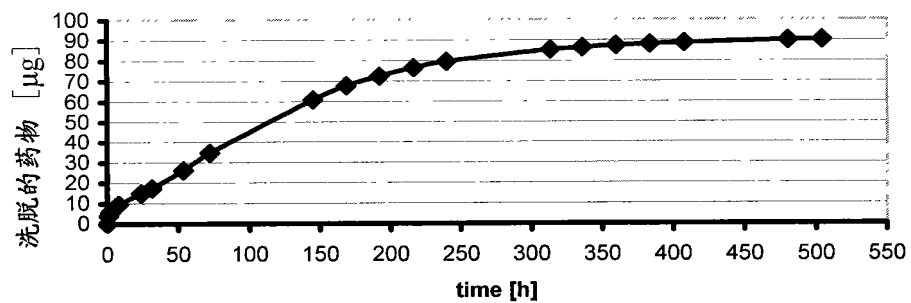


图 10

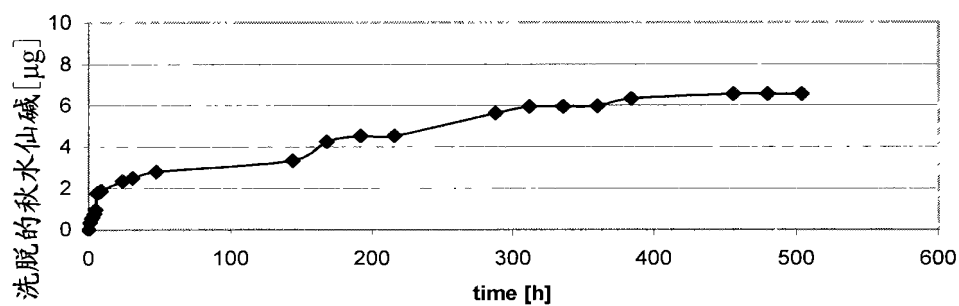


图 11

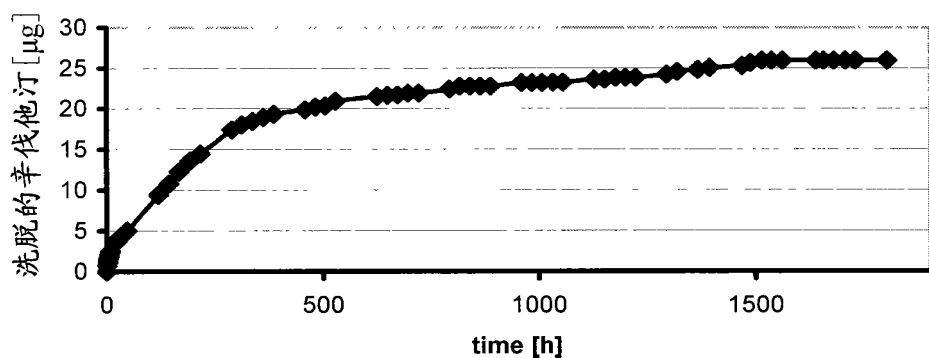


图 12

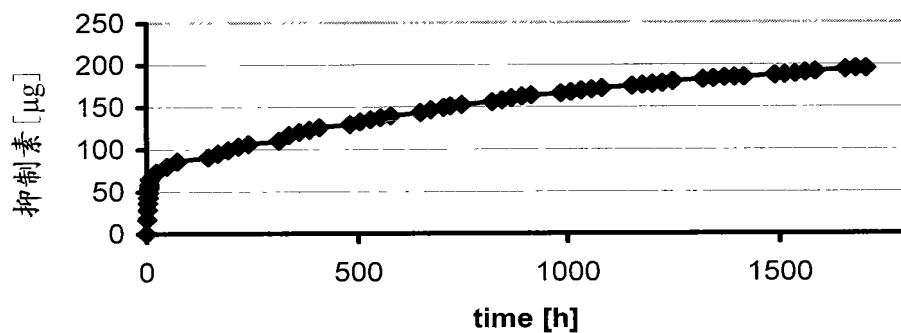


图 13

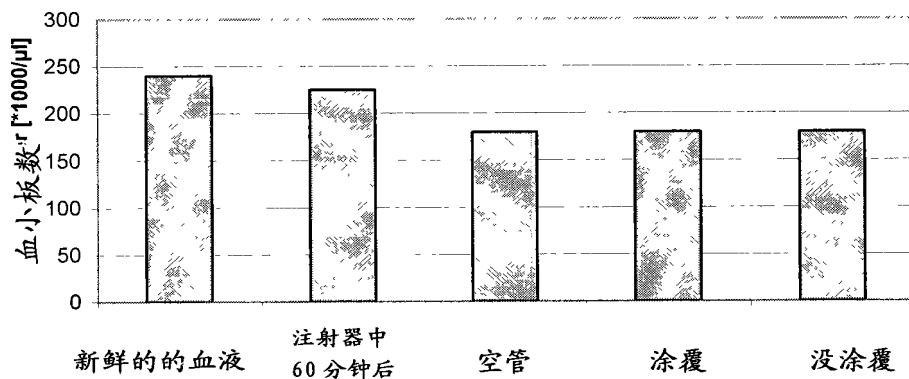


图 14

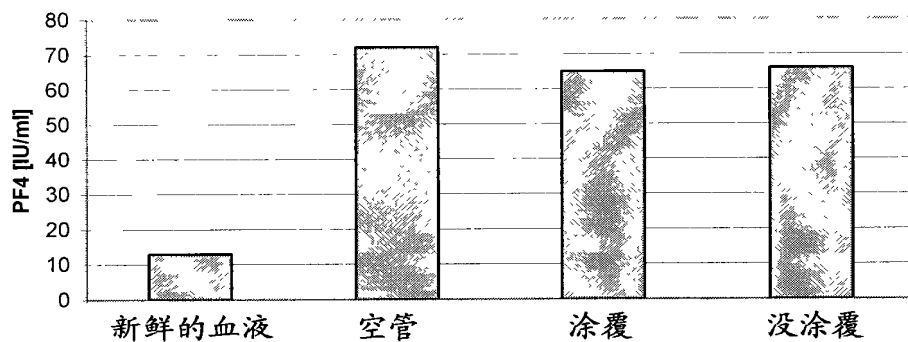


图 15

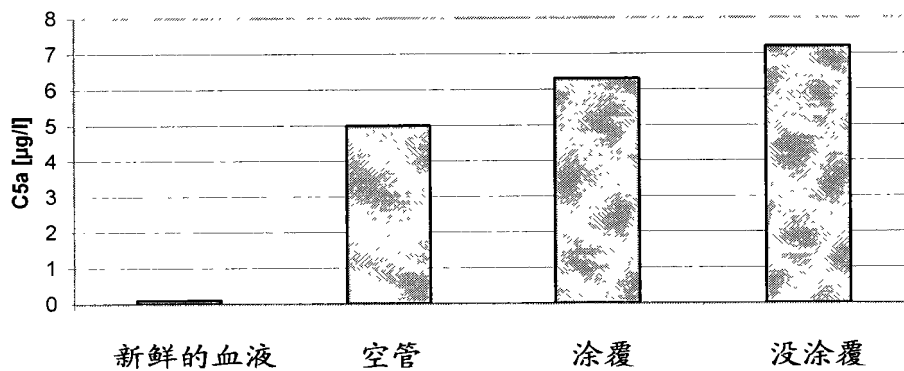


图 16

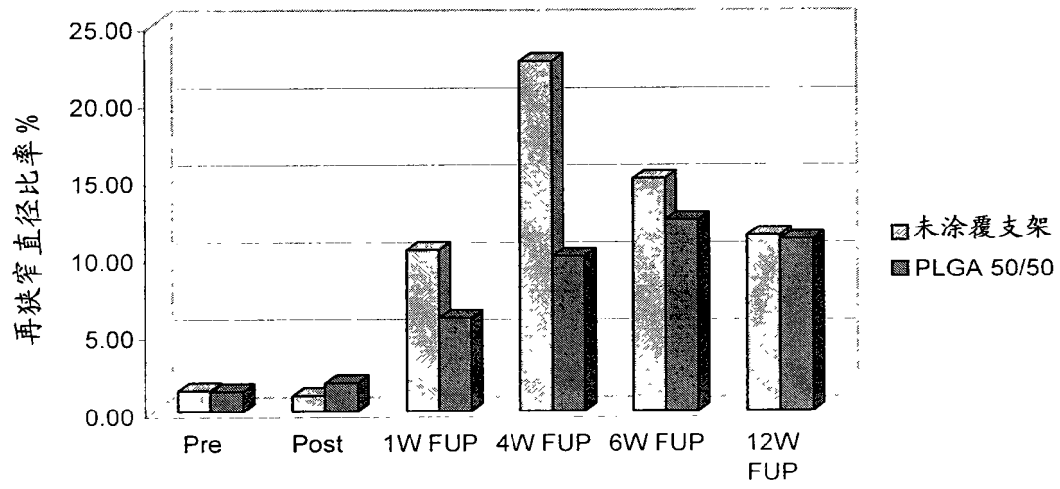
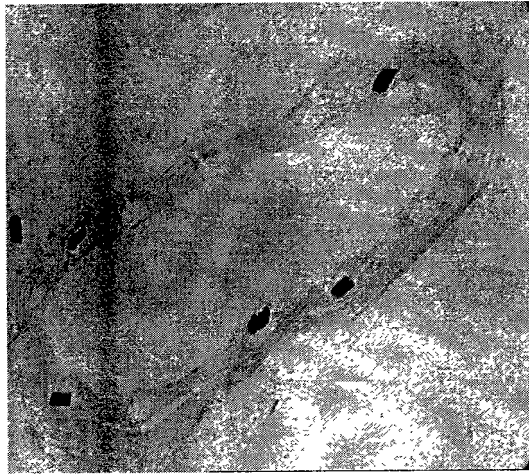


图 17

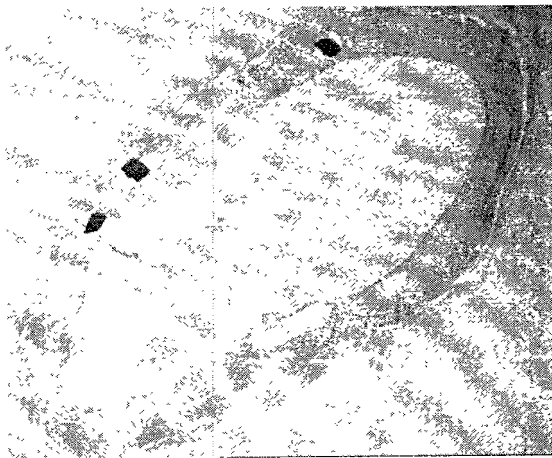
一周后



4 周后



6 周后



12 周后

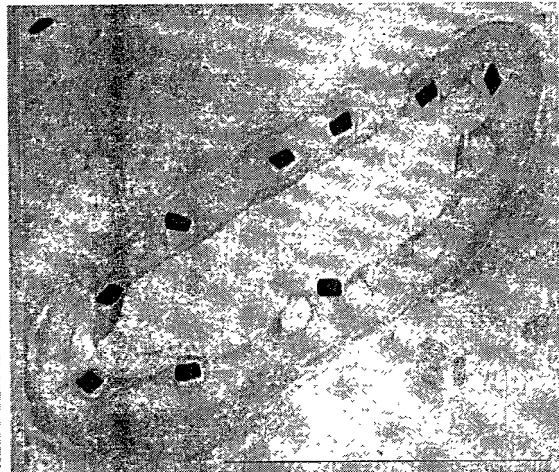


图 18