[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61L 33/00 (2006.01)
A61L 33/04 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680051976.5

[43] 公开日 2009 年 3 月 4 日

[11] 公开号 CN 101378792A

[22] 申请日 2006.12.1
[21] 申请号 200680051976.5
[30] 优先权
[32] 2005.12.2 [33] US [31] 60/741,601
[86] 国际申请 PCT/US2006/046013 2006.12.1
[87] 国际公布 WO2007/064895 英 2007.6.7
[85] 进入国家阶段日期 2008.7.29
[71] 申请人 密执安大学评议会
地址 美国密执安州
共同申请人 密执安危机关注顾问公司（MC3）
[72] 发明人 M·E·迈尔霍夫 车完轼 黄相烈
M·M·雷诺

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 刘 冬 李连涛

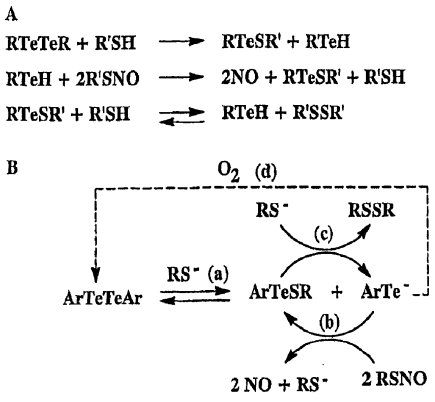
权利要求书 5 页 说明书 36 页 附图 15 页

[54] 发明名称

聚合物组合物、涂层和装置及其制备和使用方法

[57] 摘要

本发明公开提供了生物相容性抗血栓涂层，该涂层包括诱导一氧化氮形成的硫属化物化合物；及掺入了所述硫属化物化合物的生物相容性基质。本文也公开了加入了此类涂层的装置及制备和使用此类涂层的方法。



1. 一种用在可植入医疗装置上的生物相容性抗血栓涂层，所述涂层包含:

诱导一氧化氮形成的硫属化物化合物；及

掺入所述硫属化物化合物的生物相容性基质。

2. 权利要求 1 的涂层，其中所述硫属化物化合物选自有机硒化合物和有机碲化合物。

3. 权利要求 2 的涂层，其中所述硫属化物化合物选自：包含硒的酶和包含碲的酶。

4. 权利要求 1 的涂层，其中所述基质包含聚合物。

5. 权利要求 4 的涂层，其中所述聚合物包括羧基部分、醛部分或卤化物部分中的一个或多个。

6. 权利要求 4 的涂层，其中所述聚合物包含超过约 0.6 mmol/g 的羧基部分。

7. 权利要求 4 的涂层，其中所述聚合物是亲水性的。

8. 权利要求 4 的涂层，其中所述聚合物选自：聚氨酯、聚酯、聚乙烯亚胺、聚甲基丙烯酸酯、聚四氟乙烯和聚二甲基硅氧烷。

9. 权利要求 1 的涂层，其中所述基质还包含治疗剂。

10. 权利要求 1 的涂层，其中所述硫属化物化合物包含羧基部分或胺部分。

11. 权利要求 1 的涂层，其中将所述硫属化物化合物置于所述基质的表面上。

12. 权利要求 4 的涂层，其中所述硫属化物化合物与所述聚合物共价结合。

13. 权利要求 1 的涂层，其中所述基质包含多孔膜结构、纤维性基质或热解法二氧化硅。

14. 权利要求 2 的涂层，其中所述有机硒部分选自硒代胱胺、硒

代胱氨酸、3,3'-二硒基二丙酸、硒代半胱氨酸、依布硒、丙基-硒代胱氨酸、烯丙基-硒代胱氨酸、甲基-硒代胱氨酸、硒代蛋氨酸和硒胆碱、二硒化合物及其组合。

15. 权利要求 3 的涂层，其中所述包含硒的酶选自谷胱甘肽过氧化物酶和含硒代半胱氨酸的硫氧还蛋白。

16. 权利要求 1 的涂层，所述涂层使亚硝基硫醇分解产生一氧化氮。

17. 权利要求 1 的涂层，所述涂层还包含与所述基质分开的层，所述基质包括第一种聚合物，且所述分开的层包含第二种聚合物。

18. 权利要求 17 的涂层，其中所述第二种聚合物是亲水性的。

19. 权利要求 17 的涂层，其中所述分开的层还包含治疗剂。

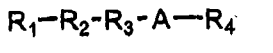
20. 权利要求 1 的置于医疗装置上的涂层，其中所述医疗装置选自：缝合线、血管植入物、支架、支架移植物、心脏瓣膜、药物泵、传感器、药物释放导管、输注导管和药物释放导线。

21. 一种与生物植入物联合使用的组合物，所述组合物包含与硫属化物部分共价结合的基质；其中所述硫属化物部分选自有机硒部分和有机碲部分。

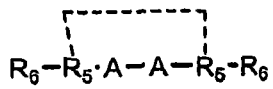
22. 权利要求 21 的组合物，其中所述有机硒部分是二硒部分。

23. 权利要求 21 的组合物，其中所述有机碲部分是二碲部分。

24. 权利要求 21 的组合物，其中所述硫属化物部分包含选自结构 I 或 II 的部分:



I



II

其中 R_1 代表烷基、H、芳基或键;

R_2 代表烷基、酰氨基、羧基、氨基或键;

R_3 代表烷基或键;

每次出现时，A 独立代表 S、Se 或 Te;

R_4代表 H、烷基或键;

如果结构 II 是环状结构，则虚线代表任选包括的键;

每次出现时，R_5独立代表烷基、芳基、酰胺基、羧基、氨基或键;及

每次出现时，R_6独立代表 H、羧基、氨基、芳基或键。

25. 权利要求 21 的组合物，其中所述基质包含聚合物部分。

26. 权利要求 25 的组合物，其中所述聚合物部分包含聚氨酯、聚酯、聚乙烯亚胺、聚甲基丙烯酸酯、聚四氟乙烯或聚二甲基硅氧烷。

27. 权利要求 21 的组合物，其中所述基质包含纤维性基质或热解法二氧化硅。

28. 一种生物相容性可植入分析物传感器，所述传感器包含:

电极表面和置于其上的权利要求 1-19 中任一项的至少部分分析物可渗透的涂层。

29. 权利要求 28 的分析物传感器，所述传感器是可皮下植入的。

30. 权利要求 28 的分析物传感器，所述传感器是可血管内植入的。

31. 权利要求 28 的分析物传感器，所述传感器检测亚硝基硫醇。

32. 一种在有需要的患者中治疗心血管疾病或病症的方法，所述方法包括植入装置以进入血流或组织，其中所述装置包含权利要求 1-19 中任一项的涂层。

33. 权利要求 32 的方法，其中所述心血管疾病或病症是再狭窄、冠状动脉疾病、动脉粥样硬化、动脉粥样化形成、脑血管疾病、绞痛、局部缺血性疾病、充血性心脏衰竭、与急性心肌梗塞相关联的肺水肿、血栓形成、高血压中的高的或提高的血压、血小板聚集、血小板粘连、平滑肌细胞增殖、与使用医疗装置相关联的血管或非血管并发症、与使用医疗装置相关联的创伤、血管或非血管壁损伤、外周血管疾病或经皮冠状动脉腔内造影术后的新内膜增生。

34. 权利要求 32 的方法，其中所述心血管疾病或病症是再狭窄或

动脉粥样硬化。

35. 权利要求 33 的方法，其中所述医疗装置选自缝合线、血管植入物、支架、支架移植物、心脏瓣膜、药物泵、药物释放导管、输注导管和药物释放导线。

36. 权利要求 32 的方法，所述方法包括另外的给予抗感染药的步骤。

37. 一种直接将一氧化氮释放到有需要的患者的目标部位的方法，所述方法包括将权利要求 21-27 中的组合物直接植入到所述患者的所述目标部位。

38. 权利要求 37 的方法，其中所述组合物向所述患者的所述目标部位提供持续释放的一氧化氮。

39. 一种医疗装置，所述医疗装置包含权利要求 21-27 中任一项的组合物，或权利要求 1-19 中任一项的涂层。

40. 权利要求 39 的医疗装置，所述医疗装置选自血管内或血管外的医疗装置、球囊、导管尖、修复性心脏瓣膜、缝合线、手术钩环、合成血管移植物、支架、支架移植物、血管或非血管移植物、分流器、动脉瘤填料、管腔内的铺设系统、引导丝、栓塞剂、过滤器、药物泵、动静脉分流器、人造心脏瓣膜、人造植入物、手术引入血管的或在血管或非血管部位的异物、导线、起搏器、可植入的脉冲产生器、可植入的心脏除纤颤器、心脏复律除颤器、除纤颤器、脊髓刺激器、脑刺激器、骶骨神经刺激器、化学传感器、介入心脏病学装置、导管和塑料管。

41. 一种抑制由血液暴露于医疗装置引起的血小板聚集和血小板粘连的方法，所述方法包括将权利要求 39 的医疗装置植入患者中。

42. 一种促进患有动脉粥样硬化的受试者血管生成的方法，所述方法包括将权利要求 39 的医疗装置植入到所述患者经历或有血液灌注不足危险的组织部位。

43. 硫属化物化合物在用于检测 S-亚硝基硫醇的传感器中的用

途。

44. 包含聚合物和硫属化物化合物的组合物用于在体内产生一氧化氮的用途。

聚合物组合物、涂层和装置及其制备和使用方法

关于联邦政府资助的研究或开发的声明

政府对在研究过程中部分地由国家健康研究院(NIH)支持进行的本发明享有一定权利，资助号 EB-000783 和 EB004527。

相关申请

本申请要求 2005 年 12 月 2 日递交的美国临时专利申请系列号 60/741,601 的权益，该专利的全部公开内容通过引用结合到本文中。

背景

接触血液并可植入的医疗装置例如血管移植物、血管内的导管、冠状动脉和血管支架、用于起搏器和除纤颤器电线的绝缘材料、体外旁路回路和氧合器等由许多不同材料制造。这些材料与人血液和组织的不相容性可使患者产生严重的并发症，最后导致功能性装置的失效。此类装置在血管中的植入可导致内皮层的损坏及遍及植入物部位的几乎立即的炎症反应。例如除了打开动脉粥样硬化性阻塞的动脉外，血管支架的放置在某些情况中可引起内皮破裂、内层破碎和有病血管的中层切开。损伤后的三到七天内，可能出现几个过程，这些过程包括粘连及嗜中性白细胞、单核细胞和淋巴细胞试图破坏异物时的募集和激活。

血液相容性的生物材料一般采用两种方法之一开发。第一种方法采用抑制血液-材料相互作用的化学表面部分。第二种方法试图模拟沿所有健康血管内壁排列的天然内皮细胞(EC)。内皮细胞产生抑制血小板功能和平滑肌细胞增殖的一氧化氮(NO)。包括此类性质的材料对治疗循环疾病也可能是重要的。

提供可以在体内产生一氧化氮和/或在医疗装置中提供一氧化氮的抗血栓形成性质的材料，尤其是与医疗装置一起使用的材料可能是理想的。此类装置例如可排除或使给予抗凝剂的需要降低到最小，这些抗凝剂可能具有临床风险例如出血过多。

概述

本发明公开部分地涉及能够例如在体内产生一氧化氮的组合物。该组合物可包括硫属化物化合物或部分，并且可还包括生物相容性基质。硫属化物化合物包括选自有机硒、有机碲、有机硫及其组合的那些化合物。硫属化物化合物也可以是包括硒、碲或硫中至少一种或其组合的酶。该组合物可还包括生物相容性基质。

本文提供了用在可植入医疗装置上的生物相容性抗血栓涂层，该涂层包括诱导一氧化氮形成的硫属化物化合物；及掺入所述硫属化物化合物的生物相容性基质。生物相容性基质可包括聚合物，该聚合物例如可以是亲水性的。在其他实施方案中，该基质可包含包括羧基部分、醛基部分或卤化物部分中一种或多种的聚合物。在非限制性的实例中，该基质包括超过约 0.6 mmol/g 的羧基部分。硫属化物化合物可包括羧基和/或胺部分。

硫属化物化合物可以放置在基质表面，和/或可以与该基质例如聚合物、多孔膜结构、纤维性基质或热解法二氧化硅共价结合。本文中公开的涂层和基质可还包括治疗剂。

在实施方案中，所公开的涂层可还包括与基质分开的层。例如该基质可包括第一种聚合物，而分开的层可包括第二种聚合物。该分开的层可还包括治疗剂。在实施方案中，第二种聚合物可以是亲水性的。

也提供了与生物植入物联合使用的组合物，该组合物包括与硫属化物部分共价结合的基质；其中该硫属化物部分选自有机硒部分、有机碲部分或其组合。

也提供了直接将一氧化氮释放到有需要的患者的目标部位的方

法。一般而言，该方法包括将所公开的涂层和/或组合物直接植入到患者的目标部位。

也提供了用本文中所公开的涂层和组合物实施方案涂覆的医疗装置。

附图简述

本发明公开的实施方案和实践、其他实施方案及其特征和特性根据接下来的描述、附图和权利要求将是显而易见的。

图 1 描述了 S-亚硝基硫醇(RSNO)和硒醇化合物之间的假设催化循环;

图 2 描述了示范性的有机硒化合物;

图 3 描述了在 0.5μm-25μm 之间的 SNAP (S-亚硝基-N-乙酰基-DL-青霉胺(pencillamine))的各种浓度下，含有依布硒的 RSNO 传感器的定量响应;

图 4 用图表显示了产生结合至 SeCA 表面的 Chelex 颗粒的一种可能的反应机理;

图 5 显示 SNAP 通过 SeCA-固定化 Chelex 颗粒分解;

图 6 描述了硒胱胺在滤纸上的固定化;

图 7 显示 NO 从固定在 0.5 cm^2 滤纸上的 SeCA 的产生;

图 8 显示由 Se-固定化滤纸产生 NO;

图 9A 显示 Se-基 RSNO 传感器对各种 RSNO 类物质响应的响应曲线;

图 9B 显示 Se-基 RSNO 传感器的示意图，其中该传感器通过在电流表式 NO 传感器上装配 Se-固定化滤纸来构造;

图 10 描述了由 Se-FP 还原氧产生的 NO 电流变化;

图 11 显示制备二有机碲化物化合物的反应流程图;

图 12A 描述了 RSNO 和碲醇化合物之间的假设的催化循环;

图 12B 描述了二芳族二碲化物化合物的假设的催化循环;

图 13 显示了当在室温(RT)下，在 1.0 μmol EDTA 的存在下将 0.025μmol 的二有机二碲化物(RTeTeR)加入到 0.2μmol S-亚硝基谷胱甘肽(GSNO)和 1.0μmol 谷胱甘肽(GSH)/2ml PBS 缓冲液(pH 7.4)中时，由 NOA 监测的 NO 产生曲线；

图 14A 描述了形成硒衍生化热解法颗粒的合成路线；

图 14B 显示了 PBS 缓冲液中的硒衍生化颗粒与 S-亚硝基-N-乙酰基-青霉胺的标准注射液的 NO 产生曲线；

图 15A 是 Se-固定化聚乙烯亚胺(RSePEI)的聚合物结构的示意图；

图 15B 描绘了基于催化的 RSe-水凝胶层的 RSNO 传感器的电流表监测流程图；

图 16 描述了通过室温下，在含 0.5 mM EDTA、100 μM GSNO 和 50μM GSH 的 PBS (pH 7.3)溶液中，由一片固定在透析膜(DM)的 RSePEI (RSePEI-DM)(0.5 cm^2)催化的 NO 产生，(注意给出的 DM 在所示的各箭头点处插入(↓)或从溶液取出(↑))；

图 17 描述了用两个电流表式 NO 传感器监测内源性的 RSNO，一个是具有对照 DM 的对照 NO 传感器，另一个是具有 RSePEI-DM 的 RSNO 传感器，测定在 25℃、在具有 PBS (pH 7.3)的水浴中进行；

图 18 描绘了 5,5'-二碲基-2,2'-二噻吩羧酸(DTDTCA)及其碲硫化物聚合物 7 的反应流程图；

图 19A、19 B 和 19C 各自描述了由二碲化物化合物催化的 NO 产生的测定，其中箭头表示向混合物中加入给定各类物质，19A 和 19B 分别描述了通过 2.5 μM 5,5'-二碲基-2,2'-二噻吩羧酸(DTDTCA) 2 在(A) 25μM GSNO 和 100μM GSH 及(B) 50μM GSNO 和 100μM GSH/PBS 缓冲液，pH 7.4 (0.5 mM EDTA)的溶液中催化，经过化学发光 NO 分析仪(NOA)测定的 NO 产生，19C 描述了碲硫化物聚合物 7-介导催化的 100μM GSNO 和 25μM GSH/PBS 缓冲液的 NO 产生；

图 20 描述了水凝胶 3 (Te 连接的聚合物 A)和 4 (空白聚合物 B)互穿网络的合成；及

图21描述了在室温下，在浸渍到/从含0.5 mM EDTA的100 μM GSH和100 μM GSNO/脱氧的2 ml 10 mM PBS缓冲液(pH=7.4)溶液中取出时，由(A)水凝胶3和(B)水凝胶4诱导的并由化学发光一氧化氮分析仪(NOA)测定的一氧化氮流出。

详细描述

本发明公开至少部分地涉及可能适用于与例如医疗装置一起使用的生物相容性组合物。提供了组合物，该组合物包括硫属化物化合物例如有机硒化合物、有机硫化合物、有机碲化合物或其组合；和/或含掺入到另一种材料或基质(其一个非限制性的实例是聚合物)中和/或在其表面上的酶的硫属化物。在其他实施方案中，组合物包括至少一种与有机硒、有机碲和/或有机硫部分；和/或与包括硫属化物元素的酶共价结合的材料/基质(例如聚合物)残基。

本发明公开也部分提供了用于一氧化氮形成的组合物，该组合物包括硫属化物化合物，其中该硫属化物化合物包括选自有机硒部分、有机碲部分、有机硫部分及其组合的部分；和/或包括硒、碲或硫中至少一种的酶。示范性的化合物包括二硒化合物和二碲化合物。

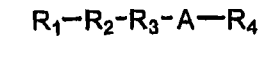
该组合物可还包括生物相容性和/或可生物降解的基质，例如生物相容性和/或可生物降解的聚合物。此类聚合物可以是亲水性的或疏水性的。在某些实施方案中，基质包括具有羧基部分、醛基部分、胺部分或卤化物部分中一种或多种的聚合物。在其他实施方案中，基质或聚合物包括超过约0.6 mmol/g的羧基部分。或者，基质可包括多孔膜结构。

本发明公开的组合物包括包括羧基部分和/或胺部分的硫属化物化合物。在某些实施方案中，硫属化物化合物被固定在聚合物和/或基质中，或者固定在聚合物和/或基质的表面上。在其他实施方案中，硫属化物化合物与聚合物和/或基质共价结合。硫属化物部分或化合物可包括有机硒部分、有机硫部分或有机碲部分的一种或多种。在某些实

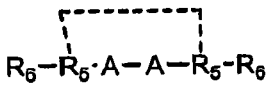
施方案中，有机硒部分选自硒代胱胺、硒代胱氨酸、3,3'-二硒基二丙酸、硒代半胱氨酸、依布硒、丙基-硒代胱氨酸、烯丙基-硒代胱氨酸、甲基-硒代胱氨酸、硒代蛋氨酸、硒胆碱(selenium choline)及其组合。在其他实施方案中，组合物可包括硒酶，例如谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白(thiredoxin)还原酶。

也提供了包括直接地或通过化学部分与硫属化物部分共价结合的基质的组合物，其中该硫属化物部分选自有机硒部分、有机碲部分、有机硫部分或其组合；和/或包括硒、碲、硫中至少一种和/或其组合的酶。

在某些实施方案中，硫属化物部分可包括选自结构 I 或 II 的部分：



I



II

其中 R_1 代表 H、烷基、芳基或键；R_2 代表烷基、酰氨基、羧基、氨基或键；R_3 代表烷基或键；每次出现时 A 独立代表 S、Se 或 Te；R_4 代表 H 或烷基；如果结构 II 是环状结构，虚线代表任选包括的键；每次出现时 R_5 独立代表烷基、芳基、酰氨基、羧基、氨基或键；及每次出现时 R_6 独立代表 H、羧基、氨基、芳基或键。

基质包括例如聚氨酯、聚酯、聚乙烯亚胺、聚甲基丙烯酸酯、聚四氟乙烯和聚二甲基硅氧烷。基质可包括与其连接的固定化部分。此类固定化部分可包括但不限于颗粒、纤维性基质例如纤维素或包括纤维素的纳米颗粒或微颗粒及热解法二氧化硅。用硫属化物衍生化的热解法二氧化硅可用作聚合物填充剂，例如可形成包括填充的聚合物，例如填充的聚氨酯的组合物的一部分。

本文考虑了用于产生一氧化氮的医疗装置的涂层。此类涂层可包括聚合物和硫属化物化合物的组合物。此类涂层可以是分层的，例如可包括其中具有硫属化物化合物的第一聚合物层，及第二聚合物层。第二聚合物层可具有亲水性质和/或可以是可生物降解的。在某些实施

方案中，第二聚合物层也可包括另一种治疗剂。

例如涂层可包括与硒部分共价结合的聚乙烯亚胺的第一层。该第一层可以是例如水凝胶的形式。涂层然后可还包括具有治疗剂，例如抗感染药的聚四氟乙烯的第二层。

本文也提供了分析物传感器，该传感器包括电极表面；及如本文中所公开的生物相容性分析物-可渗透的组合物或涂层。涂层可置于分析物传感器的电极表面。据信，掺入硫属化物化合物可以改善例如可植入的传感器的生物相容性。

本文所公开的组合物可以局部给予，例如在装置植入的部位直接释放一氧化氮。该组合物的局部给予可以通过缝合、血管植入物、支架、心脏瓣膜、药物泵、药物释放导管、输入导管、药物释放导线或可植入的医疗装置。例如通过植入涂覆有本文所公开的组合物和/或涂层的医疗装置，一氧化氮可直接释放到局部部位。

在该公开的一个方面中，提供了直接将一氧化氮释放到有此需要的患者的目标部位的方法，该方法包括直接向患者的目标部位给予本发明公开的组合物。

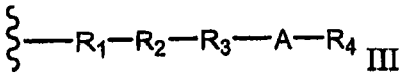
在本发明公开的另一方面中，公开了包括本文所公开的组合物的实施方案的医疗装置。该医疗装置包括但不限于血管内的或血管外的医疗装置、球囊、导管尖、修复性心脏瓣膜、缝合线、手术钩环、合成的血管移植物、支架、支架移植物、血管或非血管移植物、分流器、动脉瘤填料、管腔内的铺设系统、引导丝、栓塞剂、过滤器、药物泵、动静脉分流器、人造心脏瓣膜、人造植入物、手术引入血管的或在血管或非血管部位的异物、导线、起搏器、可植入的脉冲产生器、可植入的心脏除纤颤器、心脏复律除颤器、除纤颤器、脊髓刺激器、脑刺激器、骶骨神经刺激器、化学传感器、乳房植入物、介入心脏病学装置、导管、塑料管或透析袋或膜。

也提供了抑制由血液暴露于医疗装置而引起的血小板聚集和血小板粘连的方法。该方法包括在将医疗装置暴露于血液之前将至少一

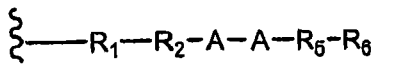
种本文中公开的组合物掺入到该医疗装置中或掺入到其上。在另一个实施方案中，治疗有此需要的患者的损伤组织的方法包括向患者的损伤组织部位给予至少一种本文所公开的组合物。也提供了促进患有动脉粥样硬化的受试者血管生成的方法，其中该方法包括为组织部位经历或有血液灌注不足危险的受试者植入本文所公开的组合物。

也提供了检测流体中亚硝基硫醇的方法，其中该方法包括将该流体与本文所公开的组合物接触。

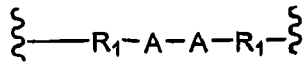
在某些实施方案中，提供了包括由式 III、IV 或 V 代表的化合物的组合物：



III



IV



V

其中  代表聚合物残基或纤维性基质；其中 R_1 代表烷基、芳基、羧基或键；R_2 代表烷基、芳基、酰氨基、羧基、氨基或键；R_3 代表烷基或键；每次出现时 A 独立代表 S、Se 或 Te；R_4 代表 H、芳基或烷基；R_5 代表芳基或烷基，且 R_6 代表 H、羧基或氨基。

硫属化物化合物和部分

各种硫属化物化合物和部分认为是在本发明公开的范围内。在某些实施方案中，当与体液，例如血液接触时此类化合物可以产生一氧化氮。本领域的从业者将容易地认识到各种硫属化物化合物适合用于本文所公开的各种组合物和装置的情况。

“硫属元素化合物”指包括在元素周期表的第 6A 列内的原子的化合物和部分。第 6A 族或硫属元素化合物也可称为第 16 族化合物。第 6A 族原子包括下列元素的至少一种：氧、硫、硒、碲和钋。“硫属化物化合物”指包括较重的第 6A 族原子，并包括下列元素的至少一种的

化合物和部分：硫、硒、碲和钋。未取代的硫属元素和硫属化物化合物及取代的硫属元素和硫属化物化合物均认为在术语“硫属化物化合物”和“硫属元素化合物”的范围内。取代的硫属化物化合物指具有置换一个或多个烃主链碳上的氢的取代基的化合物和部分。此类取代基可包括例如卤素、羟基、羰基(例如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(例如硫代酸酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。

不受任何理论的限制，据信硫属化物化合物(例如取代的或未取代的有机硒、有机碲、有机硫化合物及其组合)；和/或包括硒、硫、碲及其组合的酶，当暴露于内源性或外源性的硝酸盐(酯)、亚硝酸盐(酯)或亚硝基硫醇(任选在还原剂的存在下)的来源时，产生在组合物内和/或在其表面上产生 NO 的一氧化氮和/或活性类物质。应理解，硝酸盐(酯)、亚硝酸盐(酯)、亚硝基硫醇和还原剂源可来自于该组合物内，装置内的体液例如血液，和/或可静脉内注射或者加入到目的体液中或向其给予。此类还原剂可包括生物化学或有机还原剂例如抗坏血酸、NADH、NADPH、硫醇化合物例如谷胱甘肽、半胱氨酸、二苏糖醇(dithreitol)、2-巯基乙醇、2-巯基乙胺、三[2-碳基乙基]膦盐酸盐等。如本文中使用，术语“一氧化氮”或“NO”包括不带电荷的一氧化氮和带电荷的一氧化氮类物质，包括例如亚硝基鎓离子和硝酰基离子。

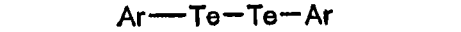
此类硫属化物化合物可包括烷硫基化合物和部分、硫代羰基部分和硒基烷基化合物。示范性的有机硒化合物包括硒代胱胺、硒代胱氨酸、3,3'-二硒基二丙酸、硒代半胱氨酸、依布硒、丙基-硒代胱氨酸、烯丙基-硒代胱氨酸、甲基-硒代胱氨酸、硒代蛋氨酸和硒胆碱。在某些实施方案中，有机硒和/或有机碲化合物可以是二硒或二碲化合物，例如包含-Se-Se-部分和/或-Te-Te-部分。

硒化合物也包含包括硒的酶。示范性的酶包括谷胱甘肽过氧化物

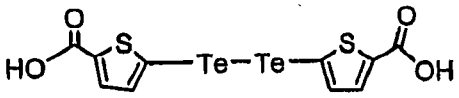
酶和硫氧还蛋白还原酶。

硫化合物包括有机硫化合物，例如2-巯基乙醇、二硫苏糖醇、2-巯基乙胺·HCl、塞斯塔明、2-氨基乙基-2-氨基乙硫醇磺酸酯、3-巯基丙酸、2-(三甲基甲硅烷基)乙硫醇、(3-巯基丙基)三甲氧基硅烷和含硫氨基酸、肽及其衍生物，例如半胱氨酸和胱氨酸、葡萄糖-半胱氨酸、N-异丁酰基半胱氨酸、2,3-二巯基琥珀酸-半胱氨酸(1-2)混合二硫化物，及含半胱氨酸残基的肽、酶、蛋白质或其被修饰或合成为具有S-部分的衍生物，例如白蛋白和白蛋白-Cys，及在其主链或侧链中含上面提及的含S-分子的聚合物。

碲化合物可包括有机碲化合物。碲化合物可还包括硫和/或硒。示范性的碲化合物包括可由下式代表的那些二碲化合物：



其中 Ar 是取代的或未取代的芳基部分，例如杂环。本文所考虑的特殊的示范性碲化合物可由下式代表：



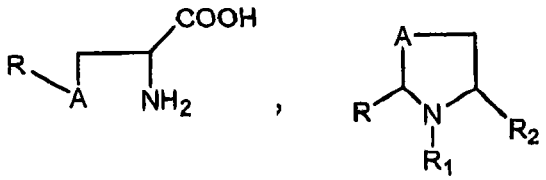
本发明公开也考虑了混合的碲-硒、混合的硒-硫醇或混合的碲-硫醇类物质。例如提供了化合物例如R-Se-Te-R、R-Se-S-R、R-Te-S-R，其中各R独立代表有机部分。在某些实施方案中，在还原后，此类物质将产生一种或多种催化性的硒醇、硫醇或碲醇类物质。

有机硒化合物可还包括硫。例如有机硒化合物例如分子、酶、蛋白质或聚合物或其组合物可以包括巯基、二硫化物和硒基硫化物官能团部分，以及硒醇/硒醇酯和联硒化物部分。在某些实施方案中，含硫部分可通过形成例如硒基硫化物桥来稳定催化部位。该桥可以可逆性断开以在有机硒化合物上产生催化部位。

如果S-部分在接近Se-部位处存在，例如通过将上面提及的物质偶联到 Se-固定化聚合物基质中，硒硫键可以在氧化还原反应期间以

中间体状态形成。本发明公开考虑了包括此类键的化合物。此类化合物包括谷胱甘肽-戊硒砜(glutaselenone) (GS-SeG)、Cys-Sec (硒基硫化物、Cys-半胱氨酸、Sec-硒代半胱氨酸)、谷胱甘肽过氧化物酶-Se-SG (或含-Cys、硒硫键的化合物)，及包括该键的聚合物，例如聚合物----Se-S----聚合物。

其他的硫属化物化合物和部分包括具有下列结构的那些：



其中 R 是任何有机部分，例如药物、糖或其他部分；R_1选自：烷基、氨基、酰氨基、羧基或氢；R_2选自羧基、烷氧基、烷基、氨基或 H；A 为硒、硫或碲。

在某些实施方案中，硫属化物化合物或部分被还原剂例如硼氢化物(其非限制性实例包括硼氢化钠、氰基硼氢化钠、硼氢化锌)或其他氢化物例如氢化锂铝和氢化丁基锡和二酰亚胺还原。通过参考特定的硫属化物部分考虑了此类还原的部分。在其他实施方案中，硫属化物化合物或部分包括两种或多种硫属化物化合物。

聚合物和基质

各种聚合物可用于本文所公开的实施方案中。用于该用途的聚合物可以是生物相容性的。应理解，非可生物降解的和/或可生物降解的聚合物均可用于本发明公开中。如下所讨论，聚合物的选择将部分取决于该聚合物的各种物理和化学特性及该聚合物可具有的用途。

代表性的天然聚合物和基质包括蛋白质，例如玉米蛋白、改性的玉米蛋白、酪蛋白、明胶、谷蛋白、血清白蛋白或胶原和多糖，例如纤维素、葡聚糖、透明质酸、藻酸的聚合物及天然纤维性基质，例如滤纸。

本发明公开考虑的纤维性基质包括纤维素和纤维素基基质、纤维素衍生物包括纤维素乙酸酯和纤维素邻苯二甲酸酯、纤维素复合膜、

纤维素颗粒包括微颗粒和纳米颗粒、织物例如亚麻制品、棉花、人造丝、尼龙和聚酯基织物。其他基质包括二氧化硅颗粒，例如热解法二氧化硅。在其他实施方案中，本发明公开考虑的生物相容性基质包括含硅聚合物、水凝胶等。

代表性的合成聚合物包括聚膦嗪、聚(乙烯醇)、聚酰胺、聚碳酸酯、聚亚烷基、聚丙烯酰胺、聚酐、聚(磷酸酯)、聚烷二醇、聚环氧烷、聚对苯二甲酸亚烷基酯、聚乙烯醚、聚乙烯酯、聚卤乙烯、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚磷酸酯、聚酯和聚氨酯。例如聚合物可包括聚二甲基硅氧烷、乙烯乙酸乙烯酯、尼龙、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸甲酯、聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚(氯乙烯)(PVC)和聚四氟乙烯(PTFE)。硅橡胶也可用作聚合物。

合成修饰的天然聚合物包括烷基纤维素、羟烷基纤维素、纤维素醚、纤维素酯和硝基纤维素。其他类似的目的聚合物包括但不限于甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丁基甲基纤维素、乙酸纤维素、丙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、邻苯二甲酸乙酸纤维素、羧甲基纤维素、三乙酸纤维素和硫酸纤维素钠盐。

在某些实施方案中，本发明公开的组合物包括生物相容性聚合物。生物相容性聚合物的实例包括聚(羟基戊酸酯)、聚(L-乳酸)、聚己内酯、丙交酯-乙交酯共聚物、聚(羟基丁酸酯)、羟基丁酸酯-戊酸酯共聚物、聚二氧杂环己酮、聚原酸酯、聚酐、聚(乙醇酸)、聚(D,L-乳酸)、乙醇酸-碳酸 1,3-丙二醇酯共聚物、聚磷酸酯、聚磷酸酯氨酯、聚(氨基酸)、氰基丙烯酸酯、聚碳酸 1,3-丙二醇酯、聚(亚氨基碳酸酯)、醚-酯共聚物(例如 PEO/PLA)、聚草酸亚烷基酯、聚磷腈及生物分子例如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原和透明质酸。可使用聚氨酯、聚硅氧烷和聚酯，以及聚烯烃、聚异丁烯和乙烯-α 烯烃共聚物；丙烯酸聚合物和共聚物、乙烯卤聚合物和共聚物例如聚氯乙烯；聚乙烯醚，例如聚乙烯基甲基醚；聚偏二卤乙烯，例如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯；聚丙烯腈；聚乙烯基酮；聚乙烯基芳族化合物例如聚苯

乙烯；聚乙烯酯，例如聚乙酸乙烯酯；乙烯基单体彼此和烯烃的共聚物，例如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯腈-苯乙烯共聚物、ABS树脂和乙烯-乙酸乙烯酯共聚物；聚酰胺，例如尼龙66和聚己内酰胺；醇酸树脂；聚碳酸酯；聚甲醛；聚酰亚胺；聚醚；环氧树脂；人造丝；人造丝-三乙酸酯；纤维素、乙酸纤维素、丁酸纤维素；乙酸丁酸纤维素；玻璃纸；硝酸纤维素；丙酸纤维素；纤维素醚；及羧甲基纤维素。本文所考虑的特殊的聚合物包括聚乙烯亚胺、聚甲基丙烯酸酯、聚四氟乙烯和聚二甲基硅氧烷。

抗蛋白质吸附的聚合物也可用于本发明公开所考虑的组合物中。此类聚合物包括聚乙二醇、聚氨酯和聚硅氧烷弹性体、含二氧化硅聚合物及聚氯乙烯。

可采用的其他聚合物包括 tecophilic 聚氨酯、PDMS 共聚物、氨基甲酸酯等。在某些实施方案中，调节水摄取的聚合物可用于所公开的组合物的实施方案中。本发明公开所考虑的聚合物也可包括控制硒化合物扩散的那些聚合物，和/或控制 S-亚硝基硫醇扩散的聚合物。

所有主题聚合物可以共聚物或三元共聚物提供。这些聚合物可以从化学品供应商处获得，或者采用标准技术由单体合成。

涂层和装置

本文所考虑的组合物和涂层包括基质，例如一种或多种上面描述的聚合物，及硫属化物化合物例如有机硒、有机硫和/或有机碲化合物；和/或包括硒、硫和/或碲的酶。在某些实施方案中，当例如与体液如血液接触时该组合物可产生一氧化氮。

此类组合物可适合用作层或膜，或用于层或膜中，该层或膜至少部分置于传感层上，或在分析物传感器的电极表面上，或在医疗装置上。在某种程度上，可对用于分析物的检测有用的本发明公开的生物相容性分析物-可渗透的组合物包括：(a)硒、碲和/或硫化合物；含硒、碲和/或硫的酶；其残基或部分；和/或其组合，及(b)至少部分地对目的分析物是可渗透的生物相容性聚合物。

在某些实施方案中，将硫属化物化合物掺入到聚合物中。该硫属化物化合物可与该聚合物共价连接，在整个聚合物中分散和/或沉积在聚合物层或基质的表面上。可采用各种硫属化物化合物或部分共价连接的方法。例如硒代胱胺中固有的胺基(-NH_2)可与通常在官能化的聚合物主链中存在的各种反应部位反应，例如羧基(-COOH)或醛基(-CHO)和卤化物(-Cl、Br、I、F)。含硒和/或硫的酶可采用任何酶上可用的反应性基团通过类似方法固定化。在另一个实施方案中，反应性硫属化物试剂可首先与另一个小分子、蛋白质、酶、聚合物或聚合物材料偶联、结合或缔合形成缀合物，然后在所期望的基体表面例如医疗装置的金属表面内或其上进一步固定化。在再一个实施方案中，S-亚硝基硫醇分解的催化部分可通过所期望的材料例如聚合物膜、玻璃表面和/或类似材料的表面上的官能团的共价偶合反应实现。

在一个备用实施方案中，可选择疏水性的有机硒、有机硫或有机碲化合物并掺入到在其内部结构中具有疏水区域的材料中，例如聚(氯乙烯)、聚氨酯等。对该组合物而言，硫属化物化合物可加入到聚合物或包括聚合物的组合物中。将物质包封到聚合物中的各种方法在本领域中是已知的。例如可将该试剂或物质溶解在该聚合物组合物中形成适度恒定浓度的均匀溶液，或者可将它分散在该聚合物组合物内以所期望的“装载”水平(生物活性物质的克数/包括该活性剂的总组合物的克数，通常以百分比表示)形成悬浮液或分散体。例如包含硫属化物化合物的组合物可具有 0.01%、1%、3%或甚至 5%(重量)或更多的硫属化物化合物。

当根据硫属化物化合物(或其他材料)和聚合物组合物，例如本发明公开的组合物使用时，术语“掺入”和“包封”是技术公认的。这些术语可考虑硫属化物化合物或其他材料通过它掺入到聚合物基质中的任何方式，这些方式包括例如：与该聚合物的单体连接(通过共价或其他结合的相互反应)并使该单体成为聚合反应的一部分得到聚合物制剂，分布在整个聚合物基质上，附接到该聚合物基质的表面上(通过共

价或其他结合的相互反应)，包封在该聚合物基质内，掺混，混合，膨胀等。术语“共掺入”或“共包封”指硫属化物化合物或其他材料及至少一种其他试剂或其他材料在主题组合物中的掺入。当治疗剂掺入到例如基质中时，应理解，该治疗剂可以从该基质中以所考虑的方式释放，例如该基质可以释放治疗有效量的治疗剂。

在实施方案中，其中任何硫属化物化合物或其他材料包封到聚合物中的物理形式可随特定的实施方案变化。例如硒化合物、碲化合物、硫化合物或其他材料可以首先包封在微球中，然后以至少维持一部分该微球结构这样的方式与聚合物混合。或者，硫属化物化合物或其他材料可以是在聚合物中足够不互溶的，因此，在该聚合物中分散成小滴，而不是被溶解。本发明公开考虑任何形式的包封或掺入，甚至于任何被包封的硒化合物或其他材料随时间的有效性决定包封的形式对任何特定的用途而言是否足够可接受。例如硫属化物化合物可以掺入到基质的多孔层中或掺入到为天然或合成基质的一部分的孔中。在实施方案中，用硫属化物化合物衍生化的聚合物然后可以交联形成水凝胶。

合适的组合物也可包括广泛的其他材料。例如可以将改变物理和化学性质的材料掺入到组合物中，这些性质包括例如防止所得组合物生物污染的能力和/或该组合物的分析物渗透性。不限于此，此类材料可包括稀释剂、粘合剂和胶粘剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、膨胀剂、调味剂、甜味剂及其他材料例如缓冲剂和吸附剂，以制备特定的含药组合物。应理解，选择这些另外的材料使得这些另外的材料无一会显著干扰本发明组合物的预计目的。

本发明的组合物和涂层可包括药学上可接受的载体。术语“药学上可接受的载体”是技术公认的，并包括例如药学上可接受的材料、组合物或溶媒，例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料，涉及将任何本发明的组合物从机体的一个器官或部分运载或传送到机体的另一器官或部分。各载体在可与本发明组合物的其他成分

相容并且对患者无害的意义上必须是“可接受的”。在某些实施方案中，药学上可接受的载体是非致热的。可起药学上可接受的载体作用的材料的某些实例包括：(1)糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；(2)淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；(3)纤维素及其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；(4)二醇，例如丙二醇；(5)多元醇，例如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；(6)酯，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；(7)缓冲剂；(8)乙醇；(9)应用于医疗装置涂层制剂中的其他无毒相容性物质。

除了硫属化物化合物外，本发明组合物和涂层可含有治疗剂。本发明组合物中的治疗剂可以随该组合物的目的而广泛地变化。术语“治疗剂”非限定性包括药物；维生素；矿物质补充剂；用于治疗、预防、诊断、治愈或减轻疾病或病情的物质；影响机体结构或功能的物质；或前药，该前药在它们被置于预定的生理环境中后变成生物活性的或更有活性。应理解，本发明公开考虑的组合物可包括单独的或者与一种或多种一氧化氮产生剂或硫属化物化合物组合的一种或多种一氧化氮释放剂或产生剂，并且可包括一种或多种其他治疗剂。

可用于本发明公开的合适的“治疗剂”包括但不限于抗血栓形成药物(例如肝素、共价肝素(covalent heparin)、水蛭素、比伐卢定、香豆定结晶、精蛋白、阿加曲班、D-苯丙氨酰基-L-聚-L-精氨酰基氯甲基酮等)；溶血栓药(例如尿激酶、链激酶、组织纤溶酶原活化剂等)；溶纤维蛋白药；血管痉挛抑制剂；钾通道激活剂(例如尼可地尔、吡那地尔、色满卡林、米诺地尔、阿普卡林、氯普唑仑等)；钙通道阻断剂；抗高血压药；抗感染药，包括抗病毒药、抗菌药和抗真菌药、抗菌药或抗生素(例如阿霉素等)；抗血小板药(例如阿司匹林、噻氯匹定、糖蛋白 IIb/IIIa 抑制剂、表面糖蛋白受体等)；抗有丝分裂药、抗增殖药或微管抑制剂(例如紫杉烷类、秋水仙碱、甲氨蝶呤、硫唑嘌呤、长春新碱、长春碱、细胞松弛素、氟尿嘧啶、阿霉素、丝裂霉素 C、杀结核菌素、埃博霉素(epothilone) A 或 B、前浙皮海绵内酯(discodermolide)

等)；抑制分泌剂(例如类维生素 A 等)；重构抑制剂；反义核苷酸(例如脱氧核糖核酸等)；抗癌药(例如柠檬酸他莫昔芬、阿西维辛、比折来新、柔红霉素、表柔比星、米托蒽醌等)；类固醇(例如地塞米松、地塞米松磷酸酯钠、乙酸地塞米松、β-雌二醇等)；非甾体抗炎药(NSAID)；COX-2 抑制剂；5-脂氧合酶(5-LO)抑制剂；白三烯 A4 (LTA4)水解酶抑制剂；5-HT 激动剂；HMG-CoA 抑制剂；抗肿瘤药、血栓烷抑制剂；减充血剂；利尿剂；镇静的或非镇静的抗组胺药；可诱导的一氧化氮合成酶抑制剂；阿片类药物、镇痛药；幽门螺杆菌抑制剂；质子泵抑制剂；艾索普斯坦(isoprostane)抑制剂；血管活性剂；β-激动剂；抗胆碱能药；肥大细胞稳定剂；免疫抑制剂(例如环孢菌素、雷帕霉素、依维莫司、放线菌素 D 等)；生长因子拮抗剂或抗体(例如 trapidal (PDGF 拮抗剂)、angiopeptin (生长激素拮抗剂)、血管生成素等)；多巴胺激动剂(例如阿扑吗啡、溴隐亭、睾酮、可卡因、士的宁等)；放疗剂；起不透射线试剂作用的重金属(例如含碘化合物、含钡化合物、金、钽、铂、钨等)；生物制剂(例如肽、蛋白质、酶、细胞外基质成分、细胞成分等)；血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂；血管紧张素 II 受体拮抗剂；肾素抑制剂；自由基清除剂、铁螯合剂或抗氧化剂(例如抗坏血酸、α-生育酚、过氧化物歧化酶、去铁胺、21-氨基类固醇等)；性激素(例如雌激素等)；抗聚合酶药(例如 AZT 等)；抗病毒药；光动力治疗剂(例如 5-氨基乙酰丙酸、间-四羟基苯基二氢卟酚、十六氟锌酞菁、四甲基血卟啉、碱性蕊香红 123 等)；抗体靶向治疗剂(例如抗铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)外毒素 A 和与 A431 表皮样癌细胞反应的 IgG2 κ 抗体、与皂草素(saporin)缀合的抗去甲肾上腺素能酶多巴胺 β-羟基化酶的单克隆抗体等)；及基因治疗剂。

本发明公开的化合物和组合物也可以与其他用于治疗疾病或病症的药物组合给予。

短语“药学上可接受的”是技术公认的。在某些实施方案中，该术语包括组合物、聚合物及其他材料和/或剂型，在合理的医学判断范围

内，它们适合用于与人和动物的组织接触而无过量的毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

在实施方案中，组合物可在其基质内包括亚硝酸盐(酯)/硝酸盐(酯)或亚硝基硫醇的亲脂性盐，以产生例如可以连续泄漏到表面的亚硝酸盐(酯)/硝酸盐(酯)或亚硝基硫醇的贮库。

本发明公开的组合物也可包括帮助预防生物污染或微生物干扰的其他试剂。此类试剂包括抗真菌药和抗生素。例如庆大霉素和/或青霉素，和/或其他广谱抗生素和抗真菌药(例如酮康唑(ketaconazole))可掺入到酶混合物或聚合物基质中以防止微生物生长。

本领域已知的增塑剂和稳定剂可掺入到本发明公开的聚合物中。在某些实施方案中，根据它们的生物相容性选择添加剂例如增塑剂和稳定剂。

本发明公开的组合物的实施方案可还含有一种或多种辅助物质，例如填充剂、增稠剂等。在其他实施方案中，起助剂作用的材料可与聚合物基质联合。此类另外的材料可影响所形成的聚合物基质的特性。例如填充剂，例如牛血清白蛋白(BSA)、小鼠血清白蛋白(MSA)或二氧化硅颗粒可以与聚合物基质缔合或分散在其中。例如填充剂可包括固定于热解法二氧化硅颗粒的硫属化物化合物。在某些实施方案中，填充剂量的范围可为聚合物基质重量的约 0.1%-约 50%或更多。在其他实施方案中，填充剂可以任一下列量存在：约 2.5%、5%、10%、25%或 40%。本领域技术人员已知的其他填充剂，例如碳水化合物、糖、淀粉、糖类、纤维素和多糖包括甘露糖和蔗糖可用于本发明公开的某些实施方案中。缓冲剂、酸和碱也可掺入到本发明的组合物中以调节 pH。

任何聚合物基质的实施方案中的电荷、亲脂性或亲水性可通过以某种方式将适当的化合物连接至或掺入到组合物或膜的表面而调节。例如表面活性剂可用于提高溶解性差或疏水性的组合物的润湿性。合适的表面活性剂的实例包括葡聚糖、聚山梨醇酯和十二烷基硫酸钠。

一般而言，表面活性剂以低浓度使用，通常小于约 5%。

粘合剂是可掺入到聚合物制剂中粘合并维持基质完整性的粘合材料。粘合剂可以干粉末或以溶液加入。糖、天然聚合物和合成聚合物可起粘合剂的作用。作为粘合剂特别添加的材料一般包括在基质制剂的约 0.5%-15% w/w 范围内。某些材料可显示多重性质，例如微晶纤维素，它是滚圆增强剂，也可另外具有粘合性质。

可涂覆各种其他涂层以改变涂层或组合物的性质。三种示范类型的涂层为密封、上光和肠溶包衣。具有各种溶解或腐蚀性质的其他涂层类型可用于进一步改变本发明基质的行为，此类涂层可容易地被本领域普通技术人员知晓。

当包括一氧化氮产生剂例如硫属化物化合物，例如有机硒、有机硫醇或有机碲化合物和/或含硒、碲或硫的酶的组合物与血液接触时，例如它可促进内源性的 S-亚硝基硫醇转化成 NO，如图 1 或图 12 图解所示。在正常止血期间，血液中的 S-亚硝基硫醇可与本文所公开的组合物相互作用，在聚合物或聚合物涂层的表面产生 NO。以该方式，从聚合物表面局部产生的 NO 可以防止血小板的粘连。人血液中发现的内源性 S-亚硝基硫醇的浓度包括 S-亚硝基白蛋白，0.25-7μM; S-亚硝基谷胱甘肽，0.02-0.2μM; S-亚硝基半胱氨酸，0.2-0.3μM; S-亚硝基血红蛋白，0.3-0.003μM。例如图 12 显示大量的 NO 可在采用有机二碲化物的反应的开始产生并可继续以稳定状态产生 NO。该通过例如二有机碲化物催化的 NO 产生可通常在还原剂例如谷胱甘肽或半胱氨酸的存在下发生。

本发明公开也考虑的是在医疗装置上使用的涂层。该涂层可包括聚合物和硫属化物化合物。涂层可包括一层或多层，例如涂层可包括包含硫属化物化合物的第一聚合物层，和任选的第二聚合物层。该第一和/或第二层可还包括一种或多种另外的治疗剂。第二层可置于第一层上，或者第一层可置于第二层上。第一和/或第二层可以是可生物降解的和/或亲水性的。

如前所阐述的那样，本发明公开的组合物和涂层可例如用在医疗装置上或用于其中，在某些实施方案中，用在医疗装置的金属表面上。如本文中使用，“医疗装置”指任何血管内或血管外的医疗装置、医疗仪器、包括植入物的异物等。血管内医疗装置和仪器的实例包括适应于插入的球囊或导管尖、修复性心脏瓣膜、缝合线、手术钩环、合成血管移植物、支架(例如 Palmaz-Schatz、Wiktor、Crown、Mutlilink、GFX 支架)、支架移植物、血管或非血管移植物、分流器、动脉瘤填料(包括 GDC、Guglilmi 可分离线圈)、管腔内的铺设系统、引导丝、栓塞剂(例如聚合物颗粒、球形和液体栓子)、过滤器(例如静脉腔过滤器)、药物泵、动静脉分流器、人造心脏瓣膜、人造植入物、手术引入血管的或在血管或非血管部位的异物、导线、起搏器、可植入的脉冲产生器、可植入的心脏除纤颤器、心脏复律除颤器、除纤颤器、脊髓刺激器、脑刺激器、骶骨神经刺激器、化学传感器、乳房植入物、介入心脏病学装置、导管等。血管外医疗装置和仪器的实例包括其表面与患者的血流进行接触的塑料管、透析袋或膜。

在装置或人造材料至少部分地用本文所公开的组合物或涂层涂覆后，它将基本上适用于其预计的用途，该用途包括例如作为心脏瓣膜植入、作为导管插入、作为支架插入或用于心肺氧合作用或血液透析。

也在本文中公开的是用于治疗心血管疾病和病症的治疗有效量的本文所描述的化合物和组合物的给予方法，这些疾病和病症包括例如再狭窄、血管痉挛、动脉粥样硬化和显示动脉血管舒张的疾病。例如患者可给予治疗有效量的本文所考虑的组合物。治疗有效量可以例如基于提供治疗有效量的一氧化氮所必需的硫属化物化合物的量。

术语“治疗作用”是技术公认的并指由药理活性物质引起的动物(特别是哺乳动物，更特别是人)局部或全身作用。该术语因此指将用于疾病的诊断、治愈、减轻、治疗或预防或用于动物或人的期望的身体或精神发展和/或情况提高的任何物质。短语“治疗有效量”指产生某

些期望的局部或全身作用的，或者例如以可应用于任何治疗的合理的利益/风险比，产生一定量的一氧化氮以产生某些期望的作用的这样的物质的量。该物质的治疗有效量将随受试者和被治疗的疾病情况、受试者的体重和年龄、疾病情况的严重性、给予方式等变化，它可容易地由本领域普通技术人员确定。例如本发明的某些组合物可以足够产生可应用于该治疗的合理的利益/风险比的量给予。

本发明公开的另一个实施方案提供了通过掺入本文所公开的组合物并将所述医疗装置放置在患者上或患者内，抑制由血液(包括血液成分或血液产品)暴露于医疗装置引起的血小板聚集和血小板粘连的方法。

在某些实施方案中，为有此需要的患者提供了一种方法，该方法用于促进血管生成作用，例如提高局部缺血细胞/组织的血管形成/血液流动。作为非限制性实例，当存在或怀疑有冠状动脉疾病，例如缺血性心肌、心肌梗塞、缺血性心肌病或外周动脉疾病例如慢性四肢局部缺血性跛行(骨骼肌肉)、静止痛/局部缺血性溃疡/坏疽时，涂层或组合物可用于促进血管生成。如果例如局部缺血性中风/神经病，例如中风/梗塞时脑/神经组织例如局部缺血性半暗带(pneumbra)发生，可能指示有需要的患者的治疗促进血管生成。

也提供了促进有此需要的患者血管内腔表面的愈合和/或内皮化的方法，例如在冠状动脉/颈动脉中，或在去内皮化的腔表面例如动脉内膜切除术后发现的那些上，例如在颈动脉内，血栓切除术(要么动脉/要么静脉)、血管成形术例如球囊、激光或低温血管成形术、斑块旋切术(atherectomy)或在血栓切除术后，通过给予本文所公开的组合物，例如促进不稳定的/溃疡的动脉粥样硬化性斑块的内皮化。

本文所提供的组合物也可以有助于急性或慢性动脉和/或静脉血栓形成的消散，例如血管再形成和/或新血管形成和/或再穿通。在另一个实施方案中，提供了促进用于基因治疗应用、器官再生应用及用于生物人造杂交器官(例如胰腺、肾脏、肺、肝脏)放置的新毛细管床

发育的组合物。也提供了促进和/或提高伤口愈合和/或用于促进肉芽组织，例如用于慢性创伤例如局部缺血、糖尿病、神经病和以动脉机能不全为基础的创伤的方法。

在一个实施方案中，本文所公开的组合物可用于预防切开后的纤维组织形成，或用于治疗新内膜增生。例如本文提供了通过给予本发明公开的组合物，治疗血管损害部位以缝合刺伤或开口，及治疗、抑制或预防在该部位的组织反应的方法。在实施方案中，该方法可包括给予一氧化氮试剂或包括一氧化氮试剂的组合物，例如本文所公开的实施方案，或者一氧化氮试剂和止血装置或材料，及例如将该组合物施用至该部位。

本文所公开的组合物也可用于防止医疗装置或其表面，例如人造或天然替代表面的结合和/或组织包埋，例如置于体腔例如胸腔、腹腔和/或疝中，装置例如可植入的生物传感器例如血管内、脑、心脏、肠传感器、起搏器/导线、可植入的药物释放系统，及其他生物机械装置/表面例如生物人造器官、关节或心脏瓣膜。与不包括本发明公开的组合物的可植入装置相比，本文所公开的组合物可改善例如可植入装置例如传感器的生物相容性。例如包括本文所公开的组合物的实施方案的装置，例如与无所公开的组合物的装置相比可置于身体内两倍持续时间，对患者基本上很少或无副作用。

本发明公开的另一个实施方案涉及本文所公开的组合物向损伤部位或损伤组织(例如损伤的血管)局部给予，用于治疗损伤的或损害的组织。该损伤可能由在侵入性的手术中使用医疗装置造成。因此，例如在通过例如血管成形术治疗阻塞的脉管系统时，损伤可能在某些情况下产生血管。该损伤可通过使用本文所描述的化合物和组合物治疗。除了修复损伤的组织，该治疗也可用于减轻和/或延缓再闭塞，例如再狭窄。这些化合物和组合物可以采用本领域技术人员已知的任一方法局部释放，这些方法包括但不限于药物释放导管、输注导管、药物释放导线、可植入医疗装置等。在一个实施方案中，所有或大部分

损伤的区域用本文所公开的组合物本身，或在起涂层基质作用(包括本文所描述的基质)的药学上可接受的载体或赋形剂中的组合物覆盖。该涂层基质可以是液体、凝胶、半固体或固体的稠度。该组合物可与一种或多种治疗剂联合施用，例如本文所例举的那些。载体或基质可由提供治疗剂的计量释放或持续释放的试剂组成，或包括此类试剂。

在治疗心血管疾病和病症中，本文所公开的组合物可通过采用适用于将组合物释放到所期望的位置的动脉内或静脉内导管，直接向损伤的血管或非血管表面经静脉内给予。例如所公开的置于医疗装置上的涂层，可用于将硫属化物试剂释放到所期望的位置，以在体内产生一氧化氮。受损动脉表面的位置通过采用日常的和本领域技术人员众所周知的方法进行的常规诊断方法，例如 X-射线血管造影术确定。另外，采用动脉内或静脉内导管的组合物给予采用本领域技术人员众所周知的常规方法进行。典型的是，化合物或组合物通过与用于最初的方法相同的导管释放到血管形成术的部位，通常在血管形成术球囊膨胀的时候导入到颈动脉或冠状动脉。该组合物可在延长的时间范围内、在体温下缓慢分解，以有效治疗心血管疾病和病症包括例如再狭窄的速度释放一氧化氮。

“心血管疾病或病症”指本领域已知的任何心血管疾病或病症，这些心血管疾病或病症包括但不限于再狭窄、冠状动脉疾病、动脉粥样硬化、动脉粥样化形成、脑血管疾病、绞痛、局部缺血性疾病、充血性心脏衰竭或与急性心肌梗塞相关联的肺水肿、血栓形成、高血压中的高的或提高的血压、血管痉挛、血小板聚集、血小板粘连、平滑肌细胞增殖、与使用医疗装置相关联的血管或非血管并发症、与使用医疗装置相关联的创伤、血管或非血管壁损伤、外周血管疾病、经皮冠状动脉腔内造影术后的新内膜增生等。由于血小板沉积的增加、激活、血栓形成或血小板的消耗和凝结蛋白，与使用医疗装置相关联的并发症可发生。在“心血管疾病或病症”的定义内的此类并发症包括例如心肌梗塞、肺部血栓栓塞、小脑血栓栓塞、血栓静脉炎、血小板减少症、

出血性病症和/或由于前述病症直接或间接发生的任何其他并发症。

“再狭窄”是心血管疾病或病症，它指在由损伤例如血管成形术、球囊膨胀、斑块旋切术、激光切除治疗或支架的插入引起的动脉创伤后外周或冠状动脉的闭塞。再狭窄也可在一些侵入性手术技术，例如移植手术、血管移植、冠状动脉旁路手术、动脉内膜切除术、心脏移植术、球囊血管成形术、斑块旋切术、激光切除术、血管内支架移植等后发生。

“动脉粥样硬化”是慢性血管损伤的形式，其中某些动脉壁内的正常血管平滑肌细胞(它们通常控制血管的配合调节血流)，改变其性质并发展“癌样”行为。这些血管平滑肌细胞变得不正常地增殖、分泌物质例如生长因子、组织降解酶及其他蛋白质，这使它们能侵入并在内血管内层散开，阻断血流并使得该血管对被局部血液凝固完全阻塞异常敏感，导致由该动脉供应的组织的死亡。“血液”包括血液产品、血液成分等。

本发明公开也考虑的是用于检测分析物的传感器，例如用于检测血液和/或组织中的 S-亚硝基硫醇。此类分析物包括亚硝基硫醇和葡萄糖。此类传感器可以是可植入的供体内使用或皮下使用，或者可以在外部用于可不经手术或其他侵入性手术进入的体液。或者，所公开的传感器可用于远程分析的流体。此类传感器可用于例如在几天内获得样品或患者中的 S-亚硝基硫醇含量的测定。

本文所公开的涂层、组合物和方法的实施方案可与其他治疗形式组合用于某些实施方案中。作为实例，本发明公开的传感器、装置和方法可与手术和/或与其他传感器联合使用。还进一步，本文所公开的传感器可能能够同时或以逐步方式检测多于一种分析物，或者可以与全身治疗，例如胰岛素给予或这些形式的组合一起使用。例如分析物传感器可与变速的或可编程的可植入胰岛素输注泵组合使用。

本发明公开所考虑的是分析物传感器，例如与患者体液接触的那些、与患者组织间隙接触的那些、或者接触皮下或血管或动脉中血液、

唾液、尿、汗等的那些传感器。用于分析物传感器的电极包括基于电流表发挥功能的那些电极。

已经一般性描述了发明内容，根据下列实施例将更易于理解，包括这些实施例仅为了举例说明本发明公开的某些方面和实施方案的目的，而无意以任何方式限制发明内容。

实施例

实施例 1

将疏水性有机硒催化剂—依布硒掺入到亲水性聚氨酯(Tecophilic, SP-60-A, 20%-水吸收)膜中，该膜可随后安装在电化学 NO 传感器上，以检测 RSNO 类物质。采用了类似于美国专利公布 No.2004/0224868 中所公开的 NO 传感器构型，该专利通过引用整体结合到本文中。将 38 mg 聚氨酯溶解于含 2 mg 依布硒的 2 ml THF 溶液中。掺入了催化性硒试剂的聚合物膜通过将 0.5 ml 该混合物溶液流延到 2.4 cm^2 玻璃片上制备。将所得膜片作为外部催化膜加在电流表式 NO 选择性传感器的远端尖端处产生 RSNO 传感器。图 3 显示在 0.5-25μm 之间的各种 S-亚硝基-N-乙酰基-DL-青霉胺(SNAP)给定浓度下，所得 RSNO 传感器的定量电流响应。

实施例 2: 表面固定化

将金属螯合的树脂颗粒(Chelex, 0.6mmol-羧基/g, 粒度 ~ 0.5mm)上的表面羧基与硒代胱胺上的胺终端偶联。将 1 g 分散在 10 ml MES 缓冲液(25 mM, pH 6.7)中的 Chelex 树脂颗粒与 l-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC 或 EDAC, 400mg)和 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,70 mg)一起温育 10 分钟以激活羧基。然后，将硒代胱胺(SeCA)溶液(SeCA 200 mg/5ml MES 缓冲液)加入到所温育的反应混合物中，随后令其反应 40 分钟。得到淡黄色颗粒，并进一步在 20 ml 0.1 M $NaBH_4$ 溶液中还原，以将固定化的 SeCA 类物质中的未反应的一半分

开，并在颗粒表面上产生硒醇基团(反应流程示意图参见图4)。将10 mg所得透明(无色)颗粒包封在薄尼龙网中(孔大小～50μM)，并当用所产生的 NO 的化学发光监测观察时发现能够催化 S-亚硝基-N-乙酰基青霉胺(SNAP)分解(参见图 5)。

实施例 3：与聚合物主链共价连接的有机硒类物质

通过将 SeCA 与二醛反应将硒代胱胺(SeCA)固定在滤纸上，如图 6 所示，该二醛由 β 葡萄糖单元上的二醇基团氧化产生。首先，将滤纸(Whatman 50，直径55-mm)的表面在0.1M $NaIO_4$溶液中氧化3小时，然后与 SeCA (50 mM/0.1 M Tris 缓冲液，pH 8.2)反应 1 小时。将所得的席夫氏碱键和联硒化物键用 0.1 M $NaBH_4$ 进一步还原 1 小时，形成 C-N 单键和硒醇基团。将所得的纸贮藏在 0.1M 磷酸盐缓冲溶液(pH 4.5)中过夜，并在使用前洗涤。还原反应用 0.1 M HCl 溶液淬灭。从在有/无改性滤纸的存在下，在 RSNO 溶液中 NO 流出变化的结果发现，所得改性滤纸的片使 RSNO 催化分解，如图 7 所示。

实施例 4：由有机硒固定化聚合物长期产生 NO

按实施例 3 中的描述制备的小片(面积 0.125 cm^2) Se-固定化滤纸(Se-FP)可用于监测从含 100μM GSNO、500μM GSH 和 0.5 mM EDTA 的 PBS (pH 7.4)溶液中长期的 NO 产生。NO 产生/生成通过化学发光检测测定。全部给定量的 GSNO 被分解，NO 生成在各批试验中停止，反应在含相同初始浓度的所有上述成分(GSNO、GSH 和 EDTA)的新鲜缓冲溶液中重新开始。如图 8 所示，Se-FP 片可以消耗所有给定量的 RSNO，产生最多到 12 个试验批的 NO，其中总共 2.4 μmol (0.2 μmol × 12) GSNO 分解。在实施例 3 所描述的 Se-固定化过程期间，从 SeCA (λ_{max} = 300 nm)溶液的 UV/VIS 吸光度变化，装载在滤纸上的 Se 分别估计为小于～4.1μmol/cm^2。基于这一计算，很清楚 Se-FP 片可连续消耗 GSNO，并且比在给定 Se-FP 片中的固定化 Se 量(0.125 cm^2 Se-FP

中 ~0.52 μmol)分解更多的 GSNO (2.4 μmol)。

实施例 5: 采用有机硒固定化聚合物修饰的 NO 传感器检测 S-亚硝基硫醇

将按实施例 3 中的描述制备的小片 Se-固定化滤纸(Se-FP)安装在电流表式 NO 传感器上，以检测溶液相中的 RSNO 类物质，如图 9B 所示。由于通过在 Se-FP 上催化 RSNO 分解产生 NO 及随后在铂电极上 NO 的氧化，此类修饰的 NO 传感器可产生电流表电流信号。图 9A 显示当在含 0.5 mM EDTA 和 5μM GSH 的给定 PBS (pH 7.4)溶液中的 RSNO 类物质的浓度变化(0.5μM ~ 8μM)时，传感器的电流响应方式是可再现的并且是定量的。此类 RSNO 传感器的灵敏度可取决于 RSNO 类物质的性质；图 9A (插图，电流对浓度曲线)显示 GSNO 比 SNAP 产生更大的电流水平变化。

实施例 6: 关于用修饰的 NO 传感器进行的电流表式 RSNO 检测的对照试验

在环境条件下，包括硒代胱胺的 Se-化合物显示在 GSH 的消耗下还原氧，作为氧还原的中间体产生 H_2O_2。然而，因为对 NO 传感器的给定构型而言，H_2O_2 是潜在的干扰分子，所以通过在无 GSNO 的存在下增加 GSH 的浓度测试修饰的 NO 传感器的性能。图 10 显示甚至在 GSH 浓度显著增加时发现可忽略不计的电流变化，这意味着在测定期间，在修饰的 NO 传感器上无来自 Se-FP 氧还原的明显贡献，并且显示在代表性的前述实施例中获得的电流水平变化似乎是由于在 Se-FP 表面上催化 RSNO 分解产生的 NO 存在。

实施例 7: 二有机二碲化物的制备

化合物 2 (参见图 11)通过按照图 11 中的反应流程，采用二碲化二钠溶液和 6-溴己酸钠盐在 80℃的水中原位制备。

实施例 8

图 13 显示在还原剂例如谷胱甘肽(GSH)的存在下、在生理 pH 下，二有机二碲化物将 S-亚硝基谷胱甘肽(RSNO)或 S-亚硝基半胱氨酸(CySNO)分解成 NO 的催化活性。在室温下、在 EDTA 的存在下，在 PBS 缓冲液(pH 7.4)中，以 GSNO 和 GSH 为原料，二有机二碲化物(化合物 2)能够产生比二有机二碲化物 2 的量更多的 NO。

实施例 9: 热解法二氧化硅的衍生化

采用含胺硅烷化试剂(例如 3-溴丙基三甲氧基硅烷)，通过如图 14A 所示的两步合成可将硒基固定在热解法二氧化硅表面上。热解法二氧化硅颗粒与 3-溴丙基三甲氧基硅烷反应，提供用于硒代胱胺的连接部位。硅烷化颗粒然后与硒代胱胺反应，在热解法二氧化硅颗粒上引入硒位置。进行这些反应并收集所衍生化的颗粒供分析。

实施例 10

一氧化氮的产生由实施例 9 的颗粒经化学发光法—一种 NO 的直接测定技术测定，该方法通过在 37℃将颗粒浸在 PBS 缓冲液中，然后在间隔时间点加入 S-亚硝基硫醇的等分试样进行。如图 14B 所示，所衍生化的热解法二氧化硅颗粒使 NO 从 S-亚硝基硫醇中产生，直到 S-亚硝基硫醇消耗完，在该点再加入 S-亚硝基硫醇的等分试样，并重复该方法几次。该方法可连续进行，只要有 S-亚硝基硫醇的来源存在。人体含有范围在 0.2μM-7μM 的稳态浓度的 S-亚硝基硫醇；因此从导管表面连续产生 NO 的能力基本上是无穷尽的。单独向缓冲液或单独向热解法二氧化硅中加入 S-亚硝基硫醇不产生 NO，因此从所衍生化的颗粒产生的 NO 是硒修饰的结果。

实施例 11: PEI 用 SeDPA 衍生化

将联硒化物 3,3'-二丙酸联硒化物(SeDPA)与聚乙烯亚胺(PEI)共价连接，通过采用 EDC/NHS 偶联法产生含硒 PEI (RSePEI; 参见图 14)。

SeDPA 的羧酸基团首先用 EDC 和 NHS 活化形成 N-琥珀酰亚胺酯。将 PEI/2-[N-吗啉代]乙磺酸钠盐缓冲液(MES, pH 5.8)的溶液(40 mg/mL; 或者 25k 或者 750k 平均 MW))与活化的 SeDPA (12.5 mM)、EDC 和 NHS 室温反应 2 小时。将 EDC: NHS: RSe-COOH 的摩尔比调节为 6: 4: 1 以实现联硒化物与 PEI 的最大偶联。将所得的 RSePEI 溶液透析(MWCO, 15kD)，先用相同的 MES 缓冲液，然后用 DI 水透析 1 天。对用 SeDPA 衍生的 RSePEI 而言，通过用硼氢化钠(20 mM)还原二硒键除去非共价连接的 SeDPA 类物质，然后将该反应混合物首先彻底地用 50 mM NaCl 透析，然后用 DI 水透析 3 天。除了未向偶联反应中加入联硒化物外，也以相同的方式制备了对照 PEI。所获得的 RSePEI 材料以新鲜溶液使用或冷冻干燥后贮藏。ICP-MS 分析发现干聚合物含有 3.6±0.3 和 3.9±0.3 w/w% (平均 Mw 分别为 25k 和 750k 的 PEI)的 Se。基于假设即仅与伯胺基的偶联反应后的 Se-含量表示实际偶联效率，PEI 中小分数(~6%)的总伯胺基被消耗，而剩余的游离胺可用于进一步固定在滤纸或透析膜上。

实施例 12: 在透析膜(DM)上交联 SePEI 水凝胶的形成

将含有 10 mL 1 wt% RSePEI (由平均 Mw 25k PEI 衍生化)和 0.1 mM EDTA/0.1 M MOPS 缓冲溶液(pH 7.9)的 DM (MWCO, 25kD)管，首先浸在该相同组合物的溶液中至少 2 天。用 MOPS 缓冲液洗涤后，将该 DM 管浸在戊二醛溶液中(1 wt%) 20 分钟，使 RSePEI 类物质在透析膜的孔结构中交联。所得 DM 管用 DI 水洗涤，随后浸在 10mM 硼氢化钠溶液中还原亚胺键 1 小时。所有反应在温和振摇或搅拌下进行。放出所有溶液后，再洗涤修饰的 DM (RSePEI-DM)管的内部/外部并贮藏在 0.1 M 磷酸盐缓冲液(pH 4.3)中直到使用。对照 DM 片用对照 PEI (无 RSe 相连)以类似的方式制备。将管壁的小片按需要切割，并测试 NO 产生。图 16 描述了通过以两个不连续的模式 F (快)和 S (慢)产生 NO，溶液相样表面催化的活性。

实施例 13: 电流表式 NO/RSNO 传感器的制造

密封在玻璃壁管中的镀铂 Pt 工作电极(Pt 盘(具有 250-μm o.d.))和作为参比/反电极的 Ag/AgCl 导线用于气体检测构型中。将两个电极在 PTFE 气体可渗透膜(GPM)后结合。为了形成 RSNO 传感器以展示由新鲜血液中的 RSNO 产生 NO,将一片 RSePEI-DM 用 O-环附接在 NO 传感器的 GPM 上,使 RSePEI-处理的表面面向 GPM。对照 NO 传感器也用上述对照 DM (无 RSe 类物质)制备。所有传感器的极化、校准和随后的电流测定均以标准方式进行。

实施例 14: 血液中的 RSNO 测定

动物血从 Michigan 大学医学院体外膜氧化(ECMO)实验室(Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) laboratory)新鲜获得。血样获得后立即用以 1: 500 的体积比加到血中的浓肝素溶液(2 U/ml)(来自猪肠, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO))肝素化。所得血液样品的 ACT (活化的凝结时间)值的范围在 250~300 秒,于 25℃保存在黑暗中并在 3 小时内使用。为了研究暴露于血浆是否影响 RSePEI-FP 材料的 NO 产生能力,富含血小板的血浆由肝素化的猪血通过以 250 g 离心 15 min 制备。将一片(0.5 cm^2) RSePEI-FP 聚合物贮藏在该血浆中最多到 5 天,样品用 DI 水洗涤后其从 RSNO 类物质催化的 NO 产生间歇地通过 NOA 测定测试。为了采用固定化的 RSePEI 类物质直接检测兔血中产生的 NO,采用了两个电极、对照 NO 传感器和 RSNO 传感器。各传感器首先相对于其对 PBS 缓冲液中的 NO 的固有响应校准。然后,将两个传感器的电流信号于 25℃用置于相同 N_2 饱和的 60 ml PBS (pH 7.4)溶液中的传感器稳定。最后,在 N_2 气氛下将 40 ml 新鲜全血样品加入到 PBS 溶液中,得到 40% (v/v)稀释液,并监测各传感器对该样品的电流响应。

如图 17 所示,当在 25℃下将兔血注射到 PBS (pH 7.4)中时,RSNO

传感器显示出比对照NO传感器所显示的电流表NO响应更大的增加。这两个传感器所检测到的 NO 水平的差，即 ΔR 强烈地提示当固定化的 RSe 催化剂存在时，内源性的 RSNO 的降解显著发生。催化层以位于该装置表面的有效 NO 水平产生了相当于大约 85 nM (ΔR)的变化的响应增加。两个传感器均对其 NO 的直接响应进行了预校准。并且，由于所采用的透析膜的 MWCO (25 kDa)，LMW-RSNO 有可能在该传感器的表面被转化成 NO，而不是 S-亚硝基蛋白例如 AlbSNO。图 17 中所示的响应模式是可重现的，并且已在几个采用新鲜兔血的独立试验中观察到。

实施例 15: 5,5'-二碲基-2,2'-二噻吩羧酸(DTDTCA, 2)的合成

于 0℃向搅拌着的 2-噻吩羧酸(2.0g,15.6mmol)/THF (200mL)的溶液中加入 NaH (95%, 0.66 g, 15.7mmol)。10 分钟后，将 n-BuLi (2.5 M 己烷溶液，6.3mL, 15.7mmol)缓慢滴入上述溶液中并搅拌 10 分钟。将反应混合物升温到室温，然后，搅拌 50 分钟。在强氮气流中将碲(1.9 g，14.9 mmol)快速加入到该反应混合物中。搅拌 2 小时后，将该混合物减压浓缩得到约 20 ml 微红褐色浆状物。于 0℃将该浆状物倾入 DI 水(300 mL)和 CH_2Cl_2 (200 mL)的溶液中，同时用 1.5N HCl 调节溶液的 pH 至约 1。于 0℃将整个混合物通过通入空气剧烈混合。将该混合物过滤以除去未溶解的固体，并将滤饼用 CH_2Cl_2 洗涤。将所分离的水层用 CH_2Cl_2 再萃取 2 次。合并的有机层用无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并用 CH_2Cl_2 洗涤。将滤液减压浓缩，得到深红色固体。

将粗残渣用 CH_2Cl_2(50 mL)研磨，然后过滤并用 CH_2Cl_2 洗涤，得到红棕色固体(0.93 g, 产率 25%)。分解温度 168-172℃;

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d6, 25 °C): δ=13.17 (bs, 2H; 2 COOH), 7.54 (d, J= 4.5 Hz, 2H; 2 CCH), 7.43 (d, J= 4.5 Hz, 2H; 2 TeCCH); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d6, 25 °C): δ=162.28, 142.13, 140.12, 134.53, 106.19.; ^{125}Te NMR (MHz, DMSO-d6, 25 °C): δ=497.60; IR (KBr)= 3426 cm^{-1} (COO-H), 2959, 2554 cm^{-1} (=C-H), 1667 cm-1 (C=O), 1516 cm-1 (C=C), 1422 cm^{-1} (=C-H);

HRMS (EI): m/z: [M]+理论值 $C_{10}H_6O_4S_2Te_2$, 513.7832: 513.7835.; 理论值 $C_{10}H_6O_4S_2Te_2$; C, 23.57; H, 1.19; O, 12.56; S, 12.59: 实测值 C, 23.25; H, 1.23; S, 12.28。

实施例 16: 碲基硫化物聚合物

图 18 描述了碲基硫化物聚合物 7 的合成路线。亲水性的聚氨酯(Tecophilic，SP-93A-100)在使用前通过索氏提取纯化。将干燥的 HPU (2.0 g, 约 4.8 mmol 氨酯基团)溶解于无水 DMAC (40 mL)中。于 40-45℃、在 3 小时内将该溶液滴加到搅拌着的 HMDI (3.89 ml, 24 mmol)和 DBTDL (72μL, 0.12 mmol)/DMAC (4 mL)的溶液中。1.5 天后，将该混合物冷却到室温，然后缓慢加入无水 Et_2O (400 mL)中。将所形成的固体过滤并用无水 Et_2O (600 mL)洗涤。用 N_2 将滤饼吹干接着真空干燥，得到白色聚合物—所期望的产物(2.0 g)。

IR(NaCl 上的膜)= 3323 cm-1 (N-H), 2927, 2858 cm-1 (CH_2), 2264 cm-1 (NCO), 1715 cm-1 (C=O), 1615 cm-1 (HNCONH), 1528 cm-1 (C-N, N-H), 1101 cm-1 (CH_2-OCH_2.

胺化聚合物 5:

将聚合物 4 (1.86 g)溶解在无水 DMAC(30 mL)中，然后于 40℃、在 3 小时内缓慢加到搅拌着的二丙胺-PEO (10.4 g)/DMAC (12 mL)溶液中。将该混合物于 40℃搅拌 1 天，然后缓慢加到 Et_2O(400 mL)中。将所形成的微黄色聚合物过滤并用 Et_2O(600 mL)洗涤。将滤饼用 MeOH 索氏提取 2 天。冷却到室温后，固体滤饼再用 MeOH 洗涤，真空泵干燥 2 天得到聚合物 5 (0.82 g)。胺化聚合物 5/DMAC 溶液采用溴酚蓝和对-甲苯磺酸/异丙醇(0.2 mmol 胺部位/g 聚合物 5)由量热法滴定。

IR(NaCl 上的膜)= 3323 cm-1 (N-H), 2916, 2857 cm-1 (CH_2), 1715 cm-1 (C=O), 1614 cm-1 (HNCONH), 1529 cm-1 (C-N, N-H), 1102 cm-1 (CH_2-O-CH_2)

二碲化物聚合物 6:

将 DTDTCA 2 (17 mg, 33μmol)/THF(5 mL)溶液与 EDC·HCl (15 mg, 78μmol)/DI 水(5 mL)溶液混合。搅拌该浑浊混合物并通过加入 Et_3N (20 mg, 198μmole)使其变得澄清。然后，于室温将 NHS (9 mg, 78μmole)加入到该混合物中。将胺化聚合物 5 (0.34 g, 68μmole 游离胺)/THF (12 mL)溶液然后与上述溶液混合，并室温下搅拌过夜。将该混合物缓慢加入到 Et_2O(900 mL)中，形成微红黄色聚合物。该固体用 Et_2O 和 DI 水洗涤。滤饼于室温下在 MeOH 中搅拌过夜。再将残渣过滤并用 MeOH 洗涤，然后真空泵干燥得到微黄色聚合物 6 (0.2 g)。

IR(NaCl 上的膜)= 3320 cm-1 (N-H), 2915, 2849 cm-1 (CH_2), 1715 cm-1 (C=O), 1616 cm-1 (HNCONH), 1526 cm-1 (C-N, N-H), 1445 cm-1 (=C-H), 1099 cm-1 (CH_2-O-CH_2).

碲基硫化物聚合物 7:

将一小块聚合物 6 的膜(3.92 mg; 大小: 0.9 cm × 1.8 cm; 厚度: 2.4μm)浸在含 0.5 mM EDTA 的 GSH/GSNO (谷胱甘肽/s-亚硝基谷胱甘肽)(100 μM/100μM)/10 mL PBS 缓冲液(10mM, pH 7.4)(用相同的 PBS 缓冲液，除非另外说明)溶液中。室温下振摇该混合物过夜后，将膜从该混合物中取出。该膜再在新鲜的 GSH/GSNO (200μM/200μM)/10mL PBS 缓冲液溶液中振摇 6 小时。将膜从该溶液中取出然后放入新鲜的 10 mL PBS 缓冲液中。进行两次相同的洗涤膜过程，刚好在用于 NOA 试验前得到水化状态的所期望的聚合物 7 的膜。

IR(NaCl 上的膜)= 3326 cm-1 (N-H), 2923, 2859 cm-1 (CH_2), 1716 cm-1 (C=O), 1662 cm-1 (C=O from GSH), 1615 cm-1 (HNCONH), 1531 cm-1 (C-N, N-H), 1450 cm-1(=C-H), 1249 cm-1 (CH_2 from GSH), 1108 cm-1 (CH_2-O-CH_2).

实施例 17

如图 19A 所示，当加入催化量的 DTATCA 2 时很快出现相对大的信号。图 19A 也描述了二碲化物化合物催化的 NO 产生的其他测定。(2.5μM)加入到含 GSNO (25μM)和 GSH (100μM)/PBS 缓冲液的溶液中。NO 产生的速度随时间缓慢下降，达到持续到所有 GSNO 消耗完的稳态。DTDTCA 2 甚至在无 RSH 存在下将 RSNO 分解成 NO，参见

图 19B。如图 19C 所示，聚合物 7 显示出由 GSH/GSNO/PBS 缓冲液溶液催化的 NO 产生。

实施例 18: 与聚(甲基丙烯酸 2-羟基乙酯(pHEMA)和聚(乙二醇甲基丙烯酸酯(PEGMA)水凝胶交联的有机碲化物固定的聚(烯丙胺盐酸盐)

PAA-Te 2 的合成(参见流程 1(A)，图 20)。将 DTDTCA 1 (40 mg, 0.079 mmol)和 Et_3N (35 mg, 0.35 mmol)溶解于 THF (2 ml, 用前蒸馏)。向上述溶液中加入 EDC·HCl(0.16 mmol)/DI 水(0.2 ml)溶液后，室温下搅拌该混合物 30 分钟。然后，将 PAA 盐酸盐(Mw 70,000, 300 mg, 4.3 mmol)和 Et_3N (35 mg, 0.35 mmol)/DI 水(2 ml)溶液倾入到该混合物中并搅拌 1 天。蒸发除去 THF 后，将该反应混合物用膜过滤器(Mw 截留 30,000)离心过滤，并用盐水洗涤几次以除去水溶性小分子。将残渣冷冻干燥。所得固体在 THF 中搅拌 5 小时，然后过滤并用 THF 洗涤。滤饼用氮气流干燥得到 PAA-Te 2 的红棕色聚合物固体。1H NMR 分析显示聚合物主链的 1.3 mol%胺基与 DTDTCA (理论值 1.8 mol%)偶联。水凝胶 3 的合成(参见流程 1(图 20A))。将甲基丙烯酸 2-羟基乙酯(HEMA 使用前蒸馏纯化，210 mg, 71.9 wt%)、PEGMA (平均 Mw 526, 54 mg, 18.5 wt%)和乙二醇二甲基丙烯酸酯(dimethac)(EGDM, 15 mg 5.1 wt%)与 PAA-Te 2(10 mg, 3.4wt%)/DI 水(0.2 ml)溶液混合，并通过鼓泡通入氮气脱氧。将 2,2'-偶氮二异丁腈(AIBN, 3 mg, 1.0 wt%)加入到该混合物(ml)中后，将该澄清的溶液转移到用聚四氟乙烯密封的两个玻璃片之间。用 UV 灯(320 nm)进行聚合反应 5 小时。为了防止 PAA-Te 2 从该水凝胶可能的沥滤，将所得水凝胶进一步通过室温下浸在过量的 1,6-二异氰酸基己烷中过夜交联。由于在上述制备过程期间所使用的 Et_3N 的量有限，仅小部分 PAA-Te 2 的游离胺部位(约 10 mol%)可以相互交联。将所得的互穿网状(IPN)水凝胶用 THF 和 DI 水彻底洗涤，以除去低分子量化合物，得到棕色水凝胶膜 3 (厚度:

0.24mm)。

水凝胶 4 的合成(参见流程 1(图 20B))。水凝胶 4 是空白并通过制备水凝胶 3 所采用的相同方法合成。然而,用 PAA 盐酸盐代替 PAA-Te 2,并且在交联过程期间使用相当于 PAA 盐酸盐中胺部位的 10 mol% Et_3N。

实施例 19: 水凝胶催化的 NO 产生

如图 21A 所示,水凝胶 3 能够在 GSH/脱氧 PBS 缓冲液(pH 7.4)溶液的存在下从 GSNO 催化产生 NO。将强铜螯合剂—EDTA 加入到该受试溶液中,以捕获能引起显著 RSNO 分解的任何少量游离铜离子杂质。在引发试验之前,将水凝胶 3 的圆片(厚度: 0.24 mm; 半径: 0.35 mm)浸在含 0.5 mM EDTA 的 PBS 缓冲液(pH 7.4)中。当将该水凝胶 3 膜加入到含 GSNO 和 GSH 以及 EDTA 的分开的反应溶液中时,检测到 NO 的增加,最后达到稳态的 NO 流出(参见图 21A)。当水凝胶 3 从反应室中取出时,NO 流出下降到接近最初的基线。随后的同一片水凝胶 3 的浸渍/取出周期显示几乎相同的可逆稳态 NO 流出。在相同的反应条件下用 CySNO 和 CySH 进行的类似试验显示相同大小水凝胶 3 的新片也能产生 NO,提示两种生物活性小的 RSNO 均对有机碲结合的聚合物催化的分解敏感。

空白水凝胶 4 由 GSNO 和 GSH 的 NO 产生。为了确保 NO 产生仅由有机碲化物引发,而不是聚合物主链本身,研究了空白水凝胶 4 在脱氧 PBS 缓冲液(pH 7.4, 含 0.5 mM EDTA)中由 GSNO 和 GSH 催化的 NO 产生(参见图 21B)。水凝胶 4 的预试验处理与水凝胶 3 的试验相同。如图 21B 所示,在类似大小的水凝胶 4 浸渍/取出时未观察到 NO 产生,表明有机碲化物是 NO 产生的原因。

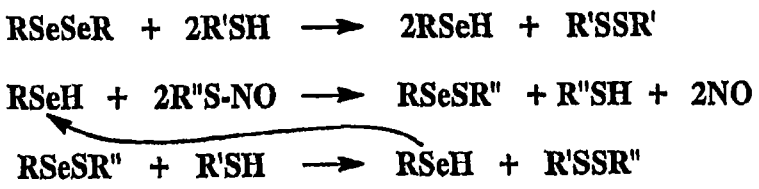
本文提到的所有出版物和专利,包括下面所列举的那些,通过引用整体结合到本文中,好像各单一出版物或专利特别地和分别指明通过引用结合的那样。万一冲突,将以本申请包括任何本文的定义为准。

到本专利申请要求其优先权的任何美国临时专利申请通过引用另一个美国临时专利申请结合的程度，该另一个美国临时专利申请不通过引用结合到本文中，除非该专利申请明确表示通过引用，或者要求该另一个美国临时专利申请的优先权结合本文中。

也通过引用整体结合到本文中的是美国专利公布 No. 2003/0044546。

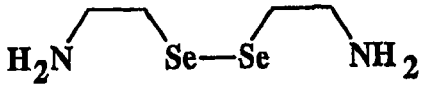
所考虑的上述硫属化物化合物、涂层和组合物的等同物包括否则与其一致的，及具有其相同一般性质(例如生物相容性、一氧化氮产生性质)的这样的材料，其中进行了没有不利影响该分子实现其预定目的的效力的一个或多个简单的取代基变化。一般而言，本发明公开的化合物可通过例如本文所描述的总的反应流程所示方法，或通过采用易获得的起始原料、试剂和常规合成方法对其进行修改制备。在这些反应中，也可能采用它们本身是已知的，但未在此提及的变型。

其中本发明公开提供了涂层、组合物、装置和方法。虽然讨论了本发明公开的具体实施方案，上述说明书仅是举例说明性的而不是限制性的。当阅读本说明书时本发明公开的许多变化对本领域技术人员而言将是显而易见的。本发明公开的全部范围应根据权利要求，以及其等同物的全部范围和说明书，以及这些变型确定。

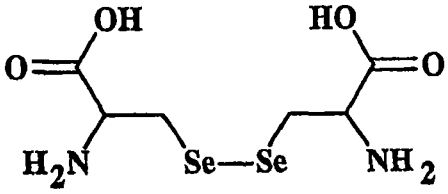


RSeSeR：联硒化物，硒化合物
R'SH：硫醇，还原剂
RSeH：硒醇
R'SSR"：二硫化物
R"SNO：S-亚硝基硫醇
RSeSR"：硒基硫化物
NO：一氧化氮

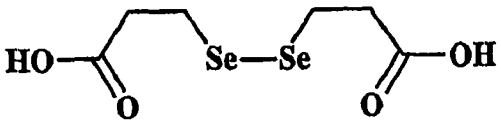
图 1



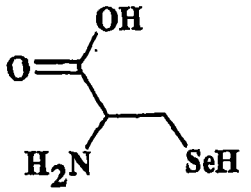
硒代胱胺



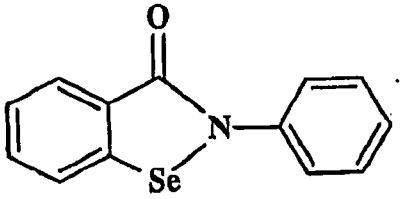
硒代胱氨酸



3,3'-二硒基二丙酸



硒代半胱氨酸



依布硒

图 2

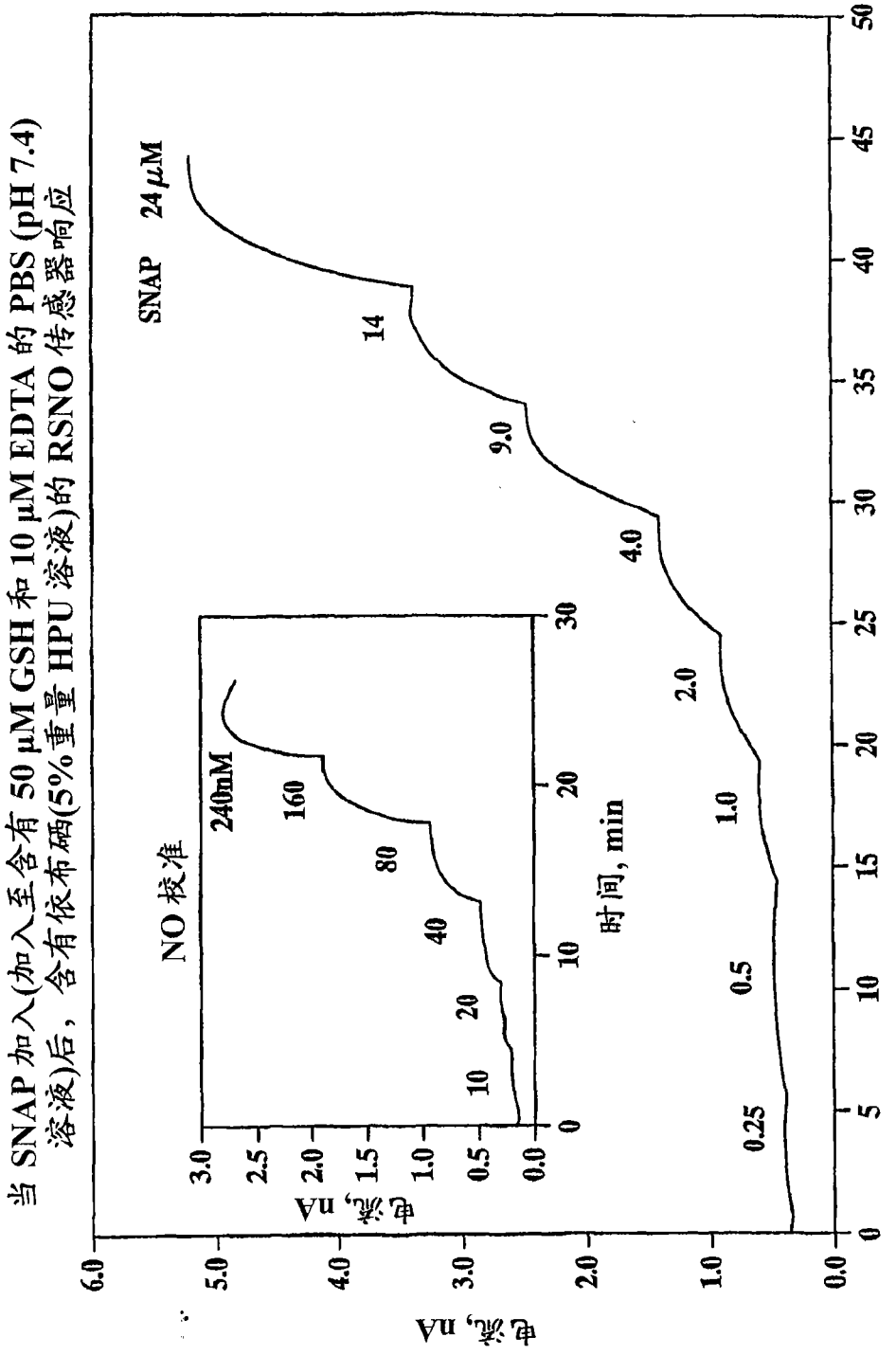
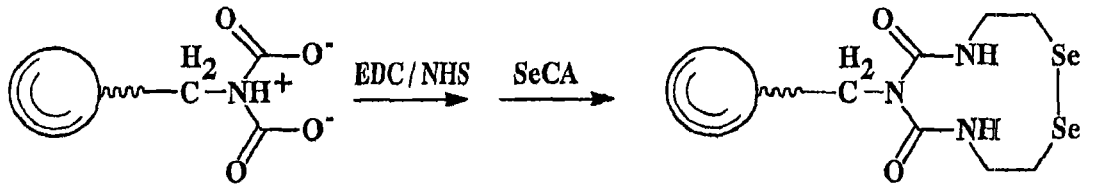
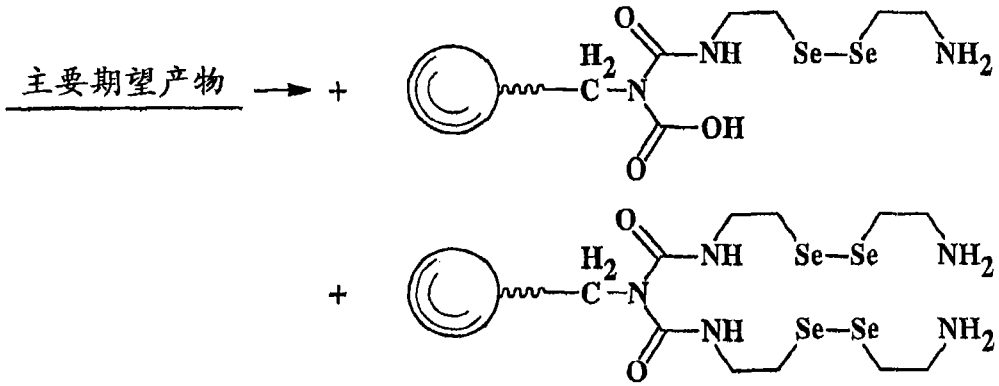

当 SNAP 加入(加入至含有 50 μM GSH 和 10 μM EDTA 的 PBS (pH 7.4)
溶液)后，含有依布硒(5%重量 HPU 溶液)的 RSNO 传感器响应
SNAP 24 μM
NO 校准
240nM
160
80
40
20
10
0.25
0.5
1.0
2.0
4.0
9.0
14
电流, nA
时间, min

图 3

● 在与硼氢化钠偶合后 CHELEX 颗粒的期望表面结构:
CHELEX-SeCA



pH 7.4 下的 CHELEX 颗粒



● 在用硼氢化钠还原后 CHELEX 颗粒的期望表面结构:
还原的 CHELEX-SeCA

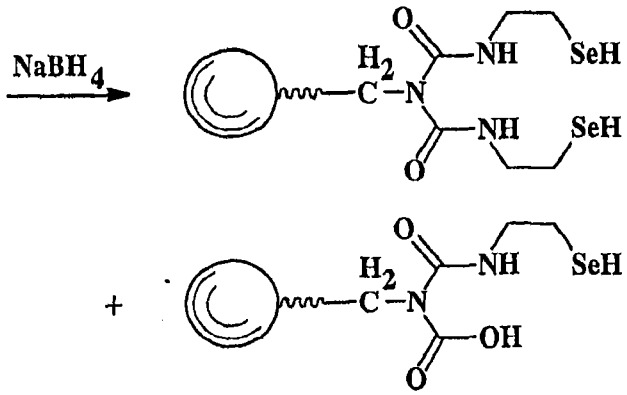


图 4

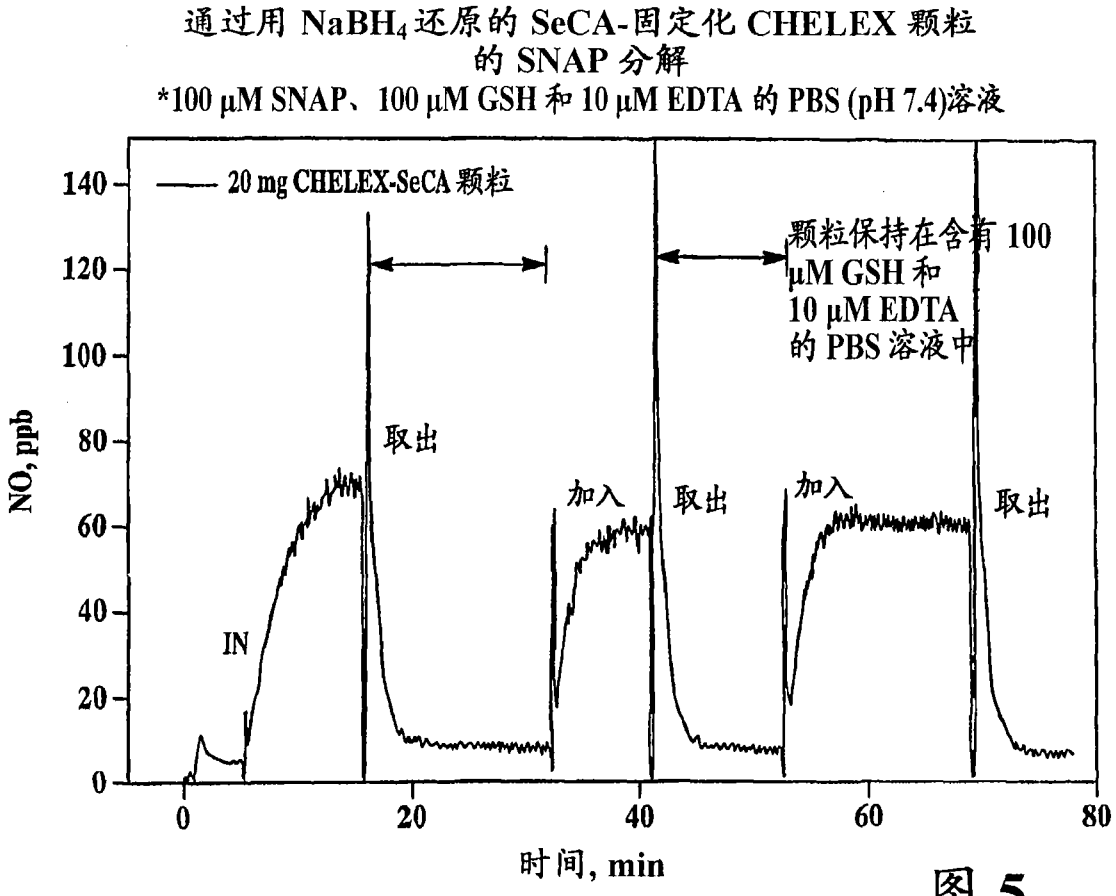

通过用 NaBH4 还原的 SeCA-固定化 CHELEX 颗粒
的 SNAP 分解
*100 μM SNAP、100 μM GSH 和 10 μM EDTA 的 PBS (pH 7.4)溶液
20 mg CHELEX-SeCA 颗粒
颗粒保持在含有 100 μM GSH 和 10 μM EDTA 的 PBS 溶液中
NO, ppb
时间, min
IN
取出
加入
取出
加入
取出
0
20
40
60
80
100
120
140

图 5

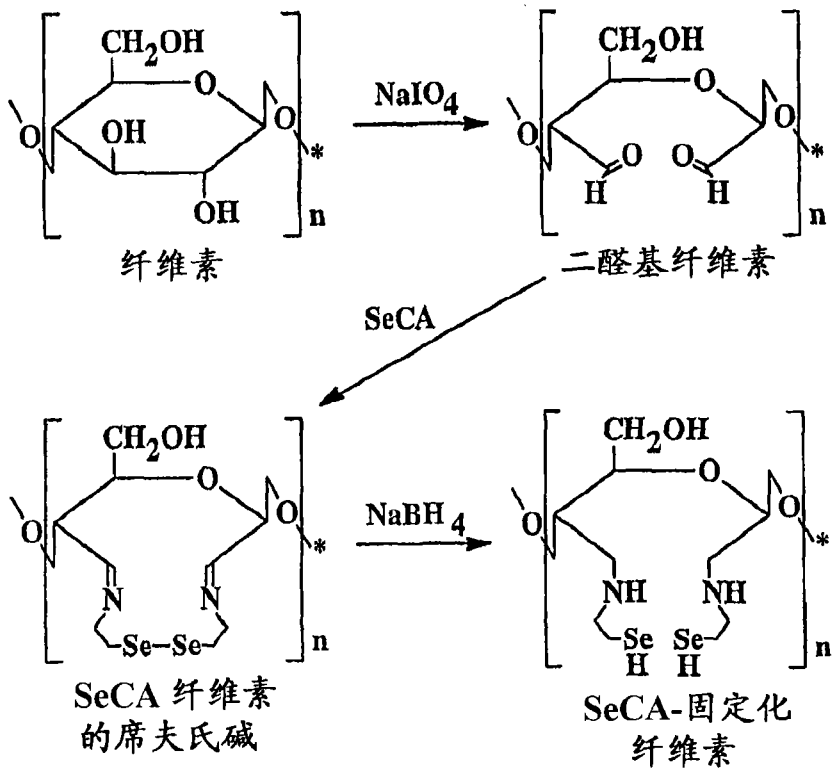

NaIO4
纤维素
二醛基纤维素
SeCA
NaBH4
SeCA 纤维素
的席夫氏碱
SeCA-固定化
纤维素

图 6

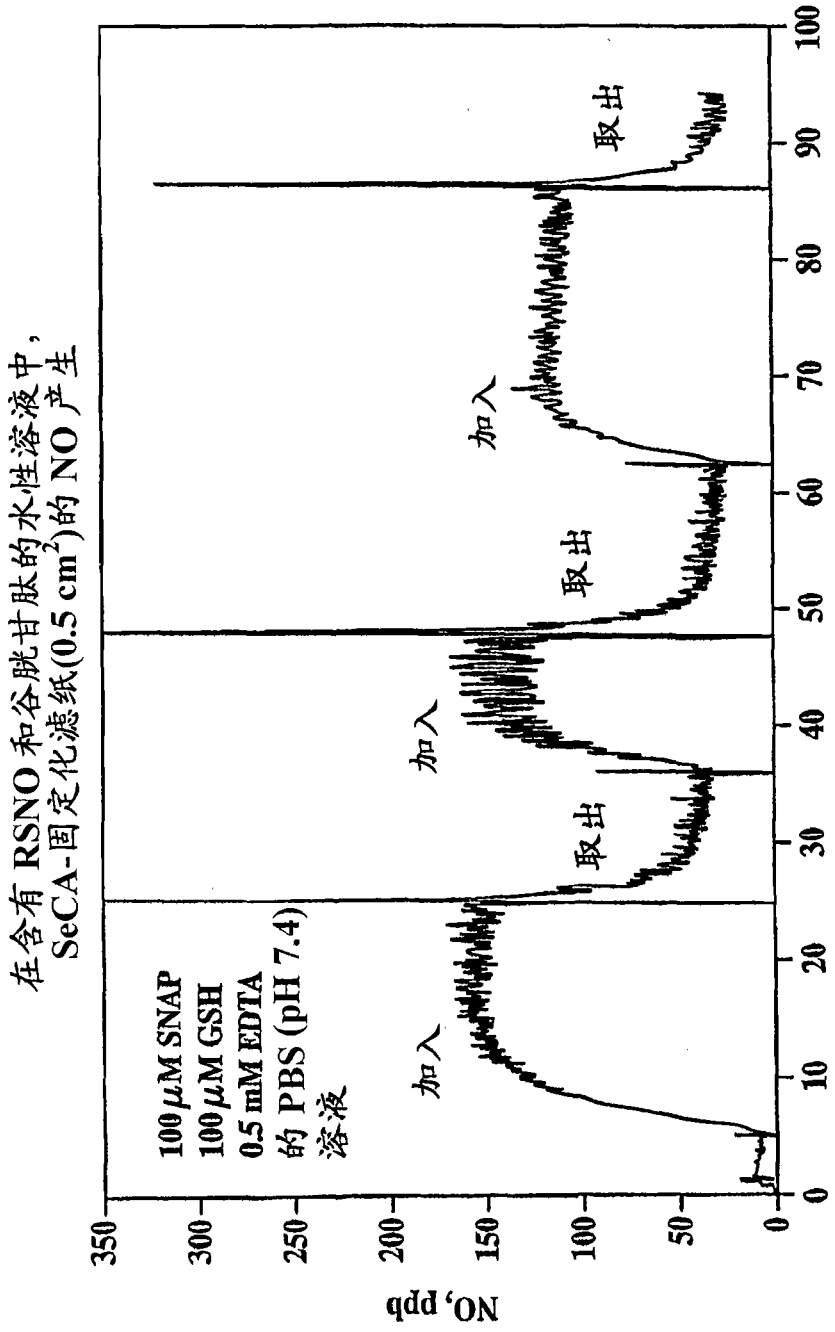

在含有 RSNO 和谷胱甘肽的水性溶液中，
SeCA-固定化滤纸(0.5 cm²)的 NO 产生
100μM SNAP
100μM GSH
0.5 mM EDTA
的 PBS (pH 7.4)
溶液
加入
取出
加入
取出
加入
取出
NO, ppb
时间, min
0
50
100
150
200
250
300
350
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

图 7

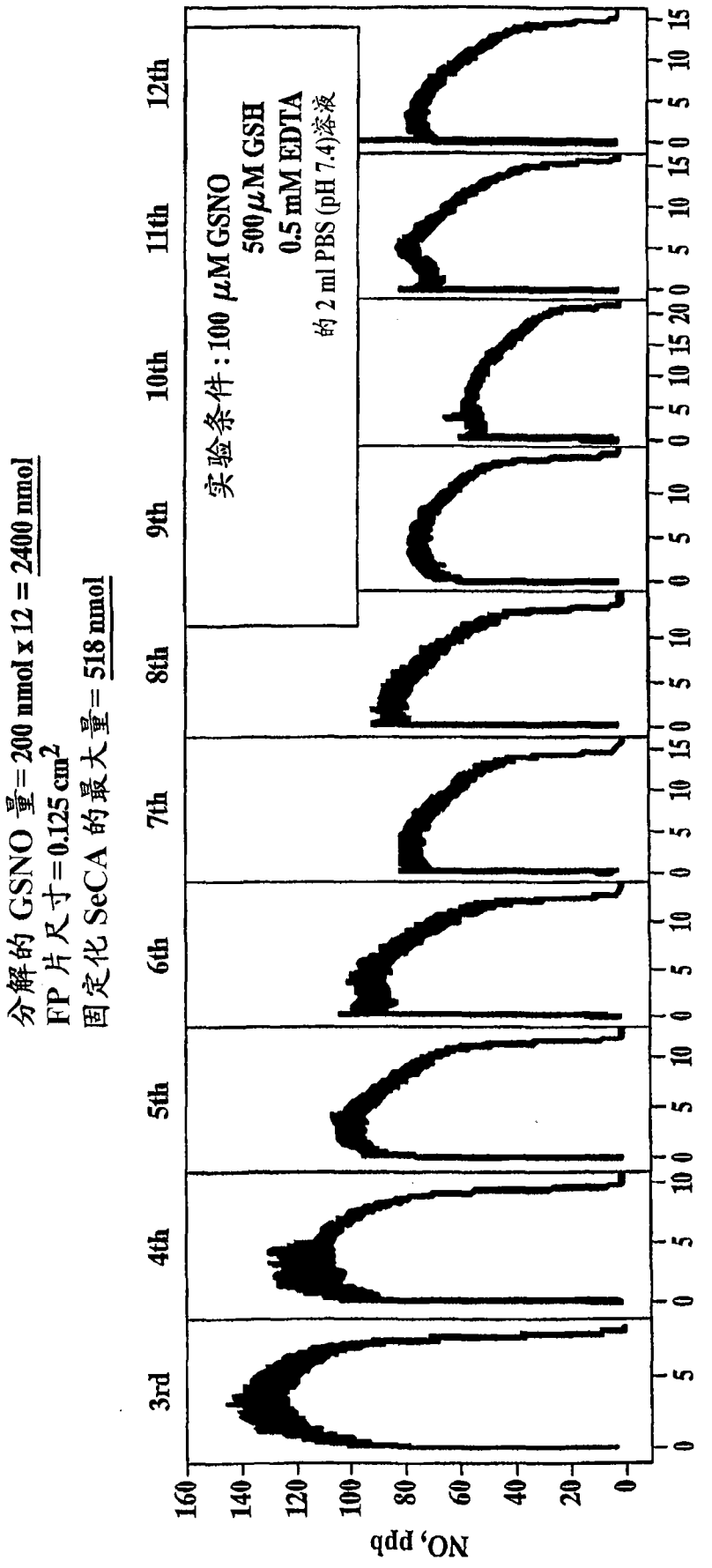

分解的 GSNO 量= 200 nmol x 12 = 2400 nmol
FP 片尺寸= 0.125 cm²
固定化 SeCA 的最大量= 518 nmol
实验条件：100 μM GSNO
500 μM GSH
0.5 mM EDTA
的 2 ml PBS (pH 7.4)溶液
3rd
4th
5th
6th
7th
8th
9th
10th
11th
12th
NO, ppb
时间, h

图 8

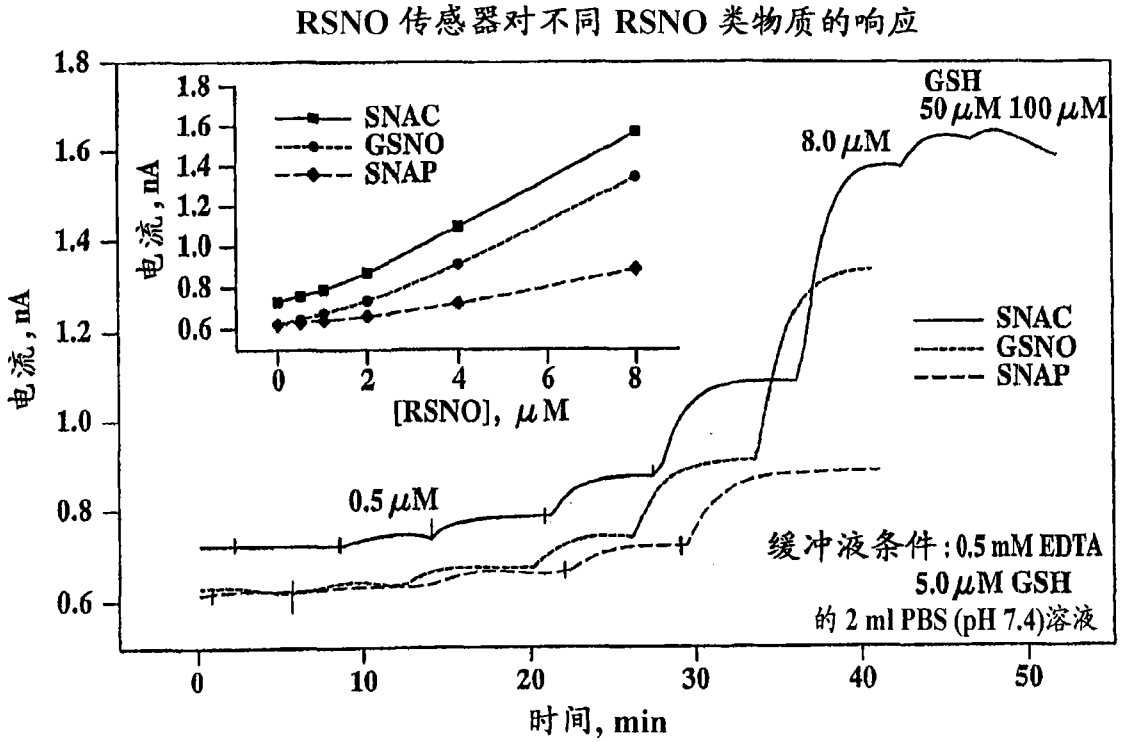

RSNO 传感器对不同 RSNO 类物质的响应
电流，nA
时间，min
[RSNO]，μM
SNAC
GSNO
SNAP
GSH
50 μM 100 μM
8.0 μM
0.5 μM
缓冲液条件：0.5 mM EDTA
5.0 μM GSH
的 2 ml PBS (pH 7.4)溶液

图 9A

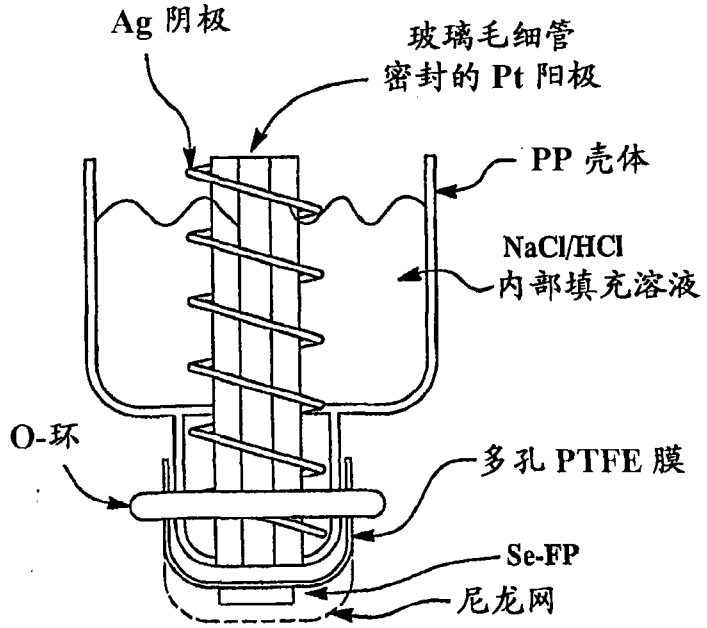

Ag 阴极
玻璃毛细管
密封的 Pt 阳极
PP 壳体
NaCl/HCl
内部填充溶液
O-环
多孔 PTFE 膜
Se-FP
尼龙网

图 9B

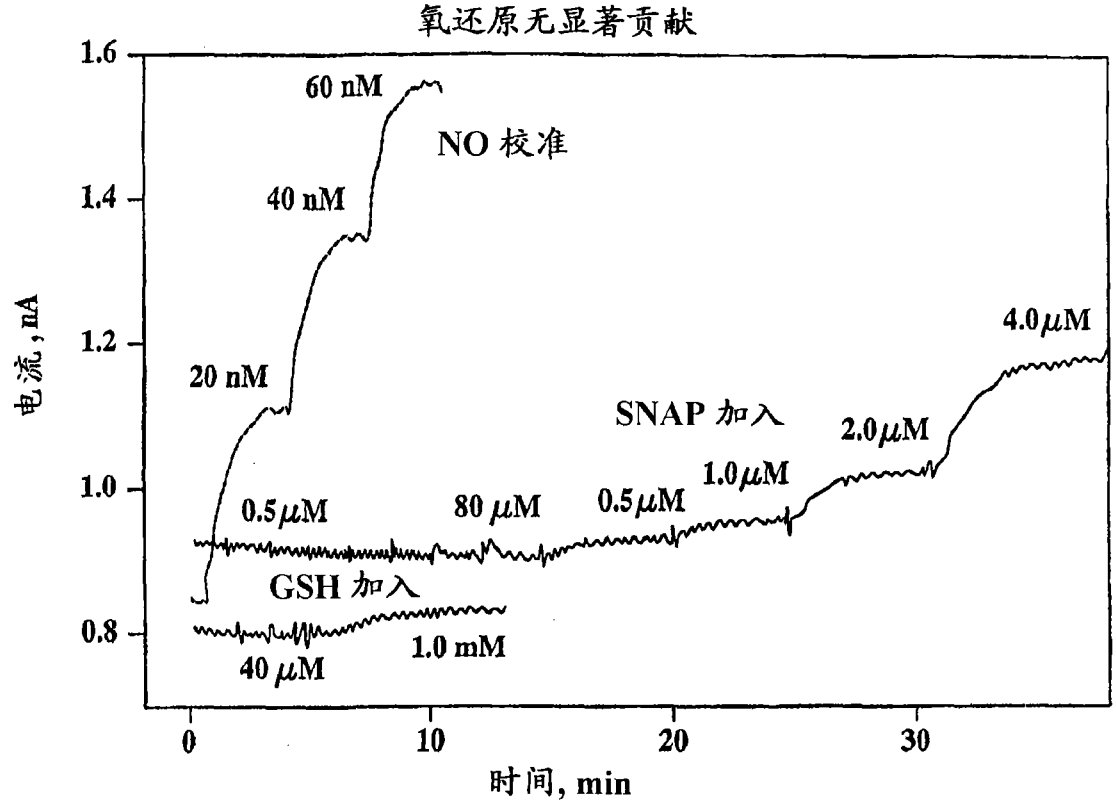

氧还原无显著贡献
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
电流，nA
60 nM
NO 校准
40 nM
20 nM
4.0μM
SNAP 加入
2.0μM
1.0μM
0.5μM
80 μM
0.5μM
GSH 加入
40 μM
1.0 mM
0
10
20
30
时间, min

图 10

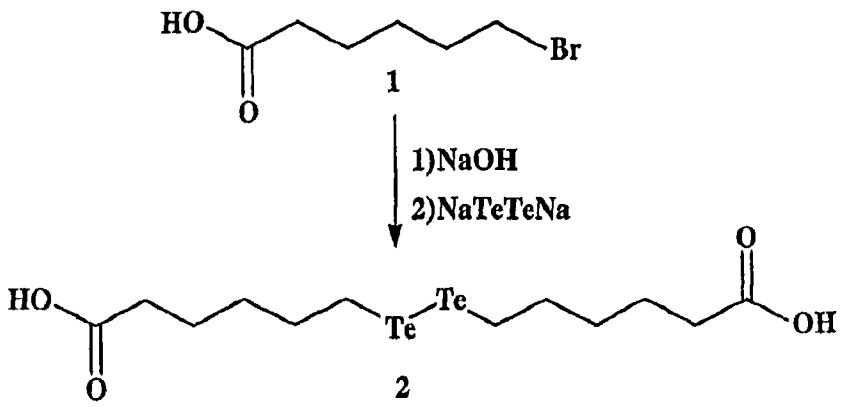

HO
O
Br
1
1)NaOH
2)NaTeTeNa
HO
O
Te
Te
O
OH
2

图 11

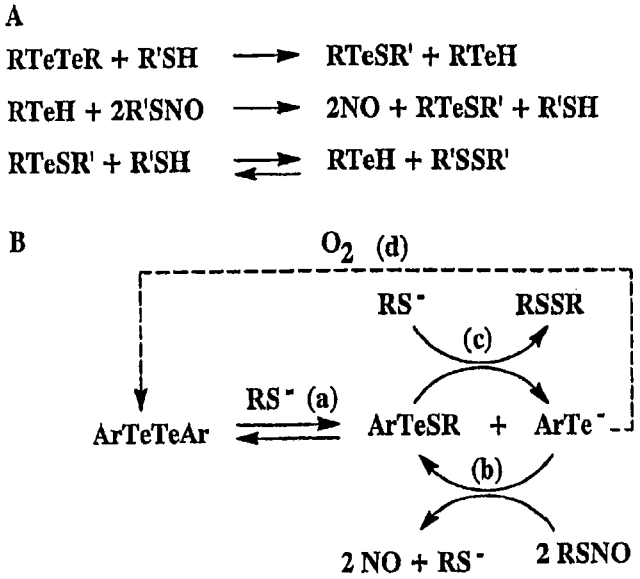

A
RTeTeR + R'SH → RTeSR' + RTeH
RTeH + 2R'SNO → 2NO + RTeSR' + R'SH
RTeSR' + R'SH ⇄ RTeH + R'SSR'
B
O2 (d)
RS⁻
RSSR
(c)
RS⁻ (a)
ArTeTeAr
ArTeSR + ArTe⁻
(b)
2 NO + RS⁻
2 RSNO

图 12

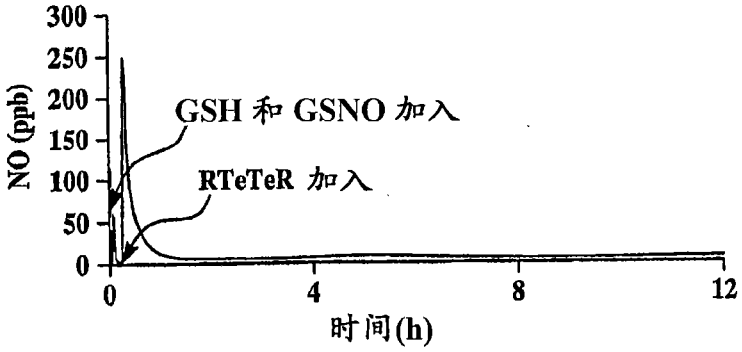

300
250
200
150
100
50
0
NO (ppb)
GSH 和 GSNO 加入
RTeTeR 加入
0
4
8
12
时间(h)

图 13

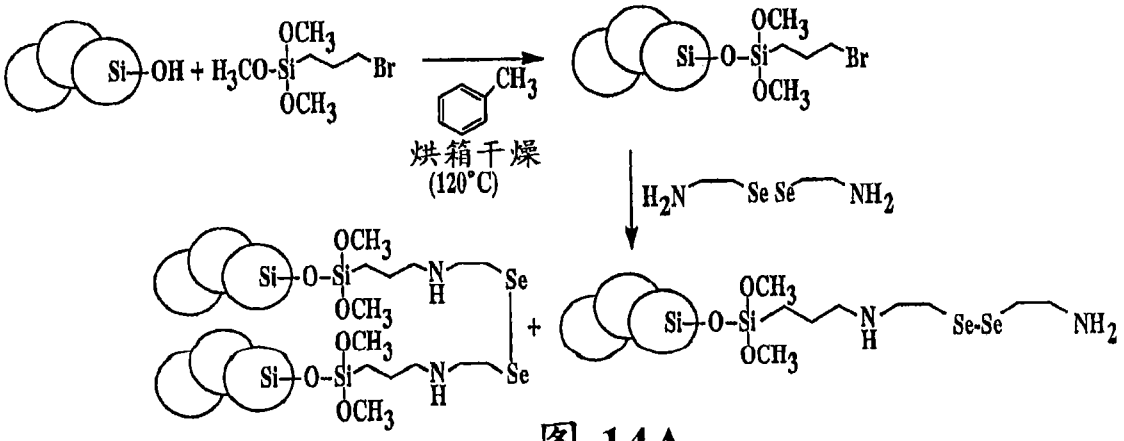

Si—OH + H3CO-Si(OCH3)(OCH3)—Br
CH3
烘箱干燥
(120°C)
Si—O-Si(OCH3)(OCH3)—Br
H2N—Se Se—NH2
Si—O-Si(OCH3)(OCH3)—NH—Se
Si—O-Si(OCH3)(OCH3)—NH—Se
+
Si—O-Si(OCH3)(OCH3)—NH—Se-Se—NH2

图 14A

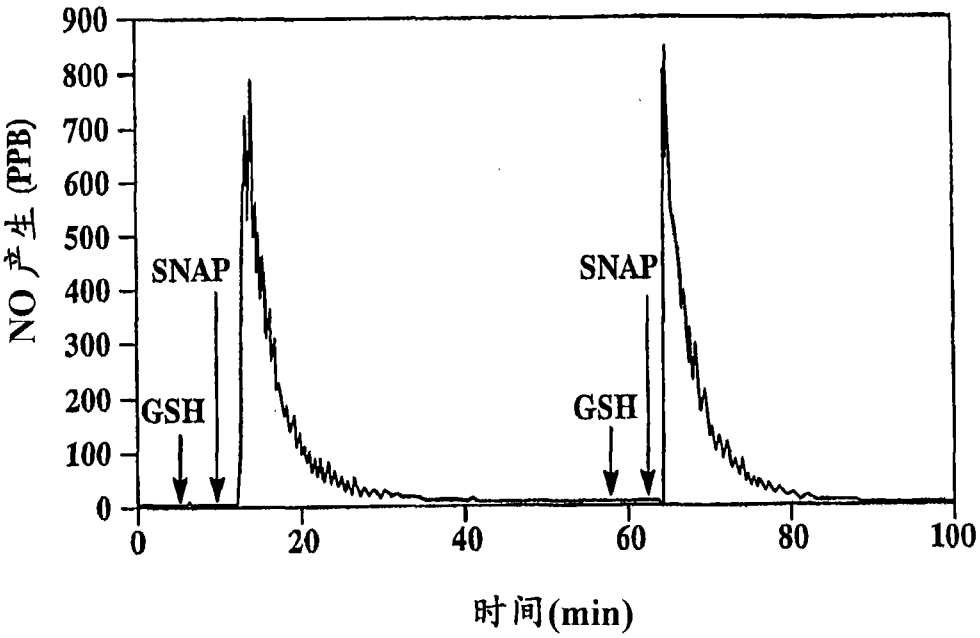
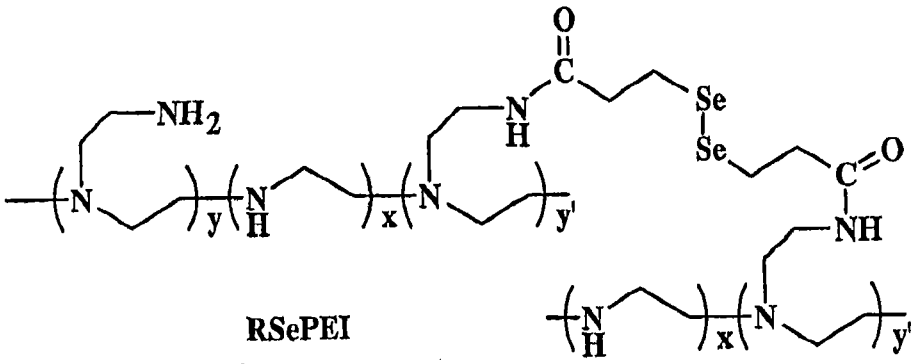


图 14B



RSePEI

图 15A

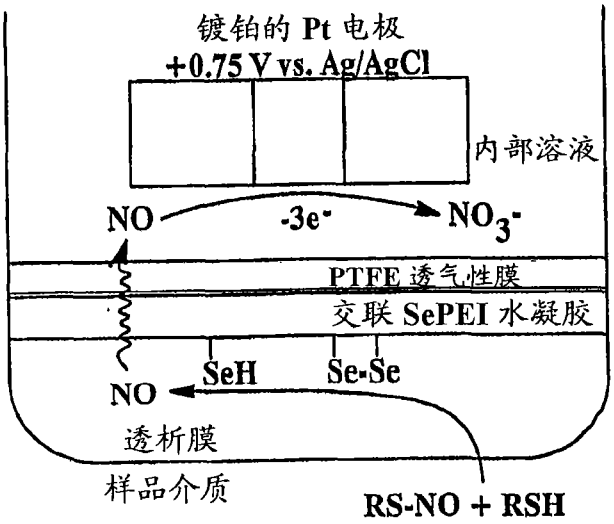


图 15B

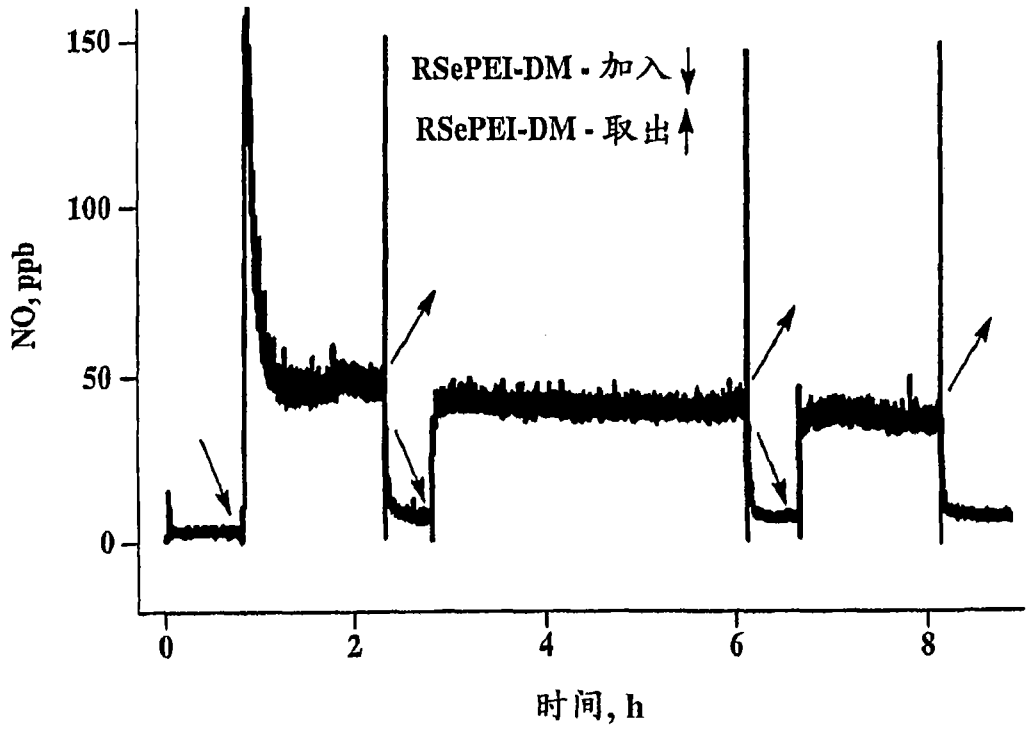

150
100
50
0
NO, ppb
RSePEI-DM - 加入
RSePEI-DM - 取出
0
2
4
6
8
时间, h

图 16

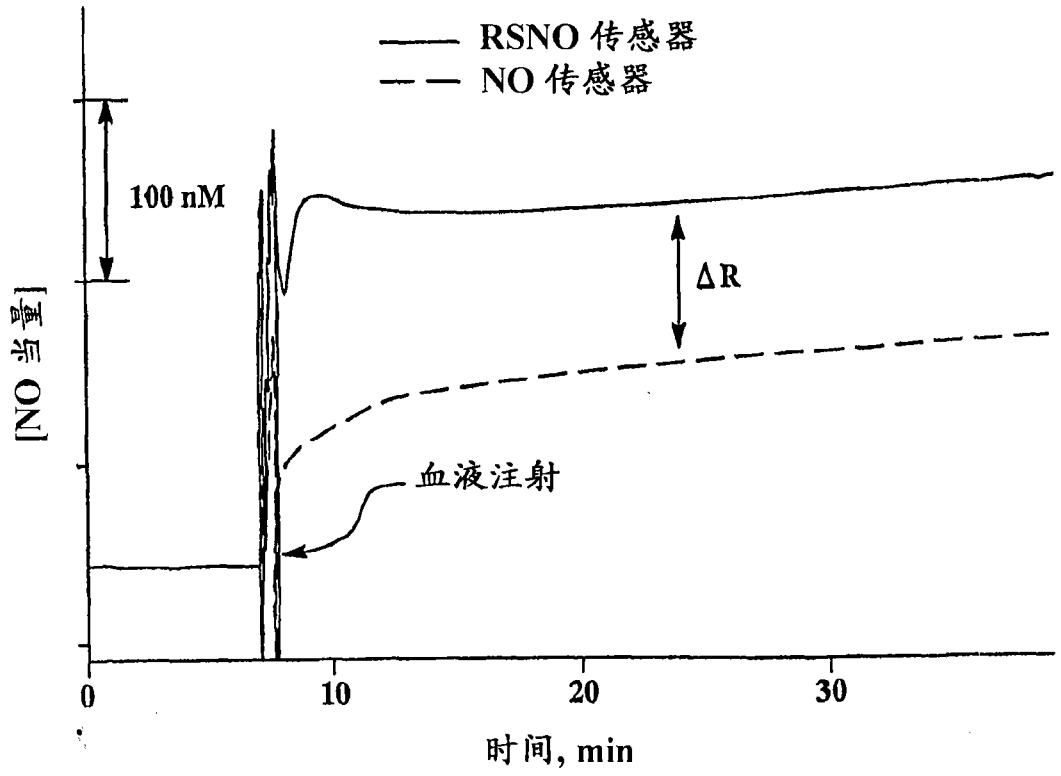

RSNO 传感器
NO 传感器
100 nM
ΔR
[NO 浓度]
血液注射
0
10
20
30
时间, min

图 17

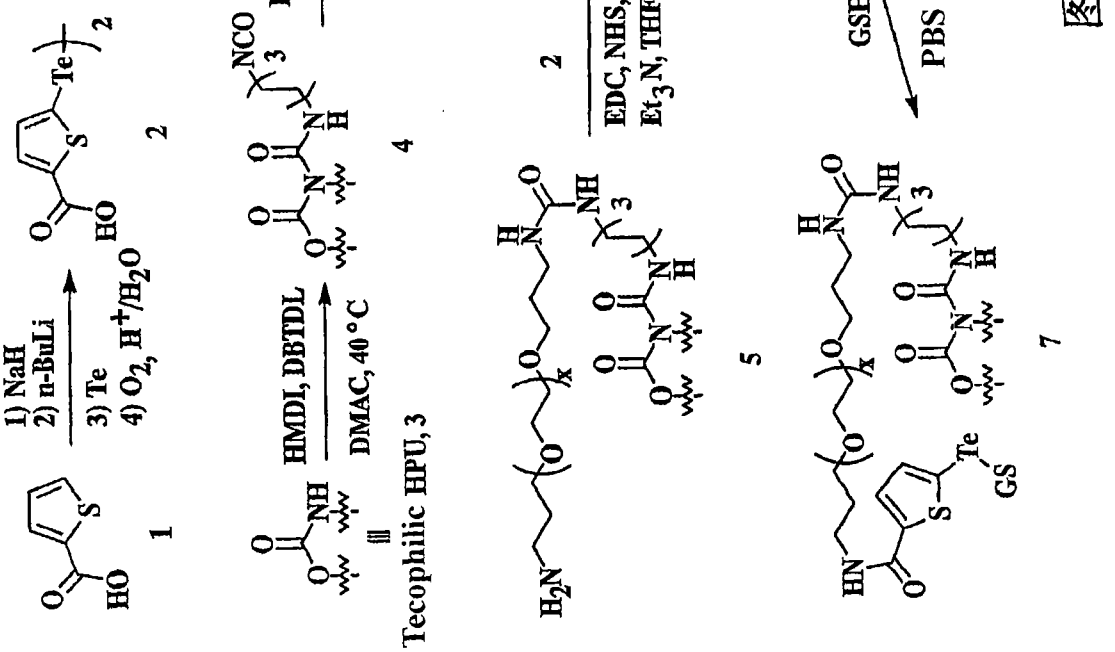

1) NaH
2) n-BuLi
3) Te
4) O_2, H^+/H_2O
HMDI, DBTDL
DMAC, 40 °C
Tecophilic HPU, 3
DMAC, 40 °C
EDC, NHS,
Et_3N, THF/H_2O
GSH
PBS 缓冲液, pH 7.4

图 18

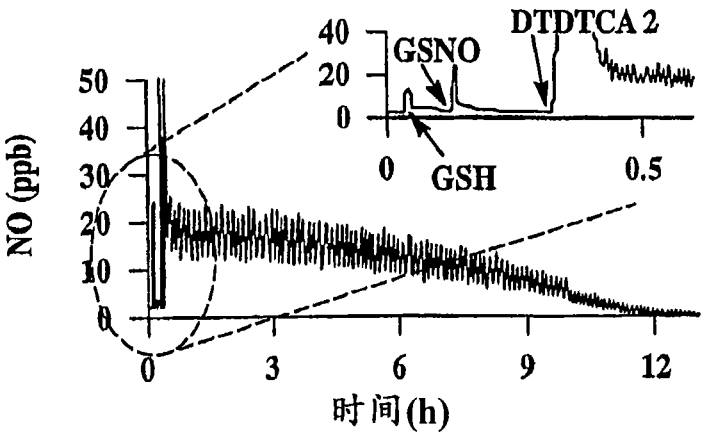


图 19A

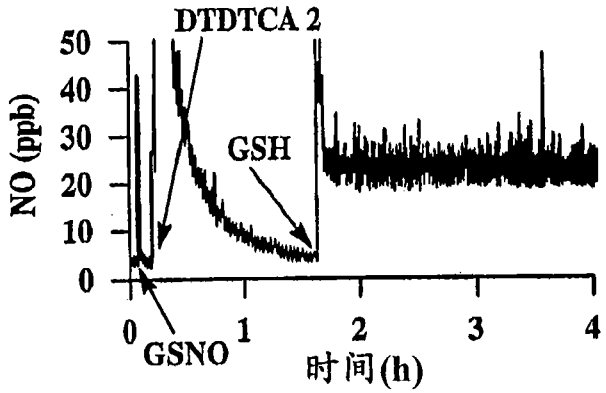


图 19B

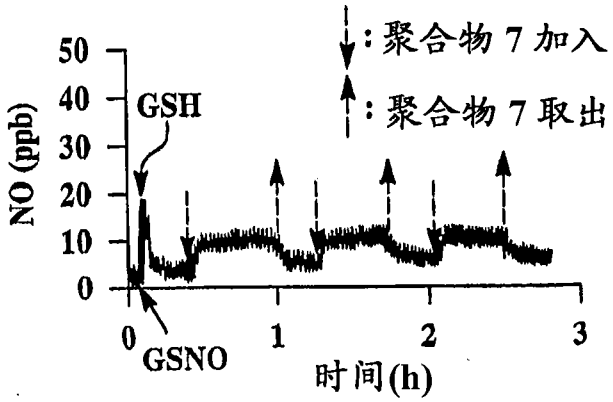


图 19C

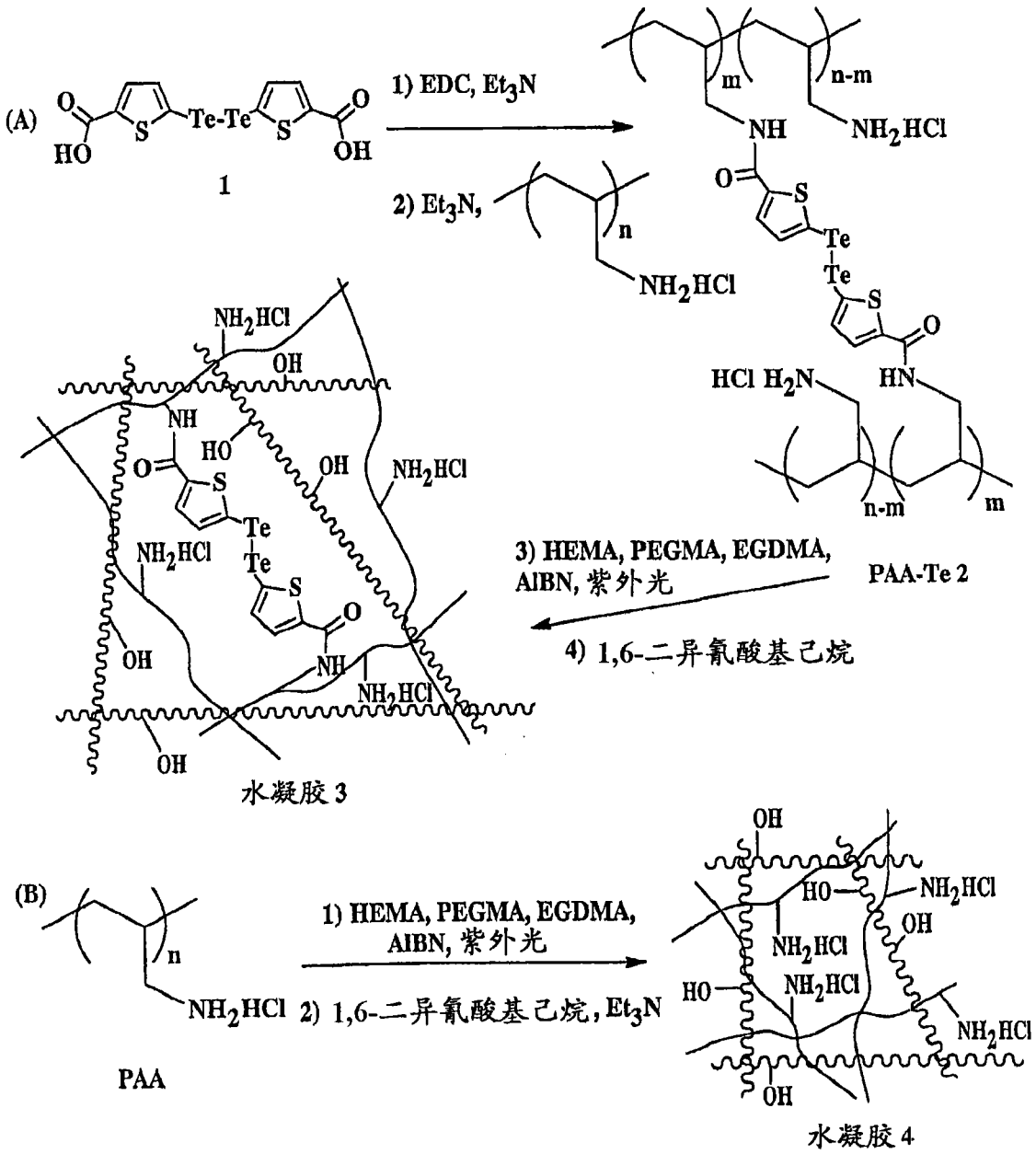

(A)
1
1) EDC, Et3N
2) Et3N,
PAA-Te 2
3) HEMA, PEGMA, EGDMA, AIBN, 紫外光
4) 1,6-二异氰酸基己烷
水凝胶 3
(B)
PAA
1) HEMA, PEGMA, EGDMA, AIBN, 紫外光
2) 1,6-二异氰酸基己烷, Et3N
水凝胶 4

图 20

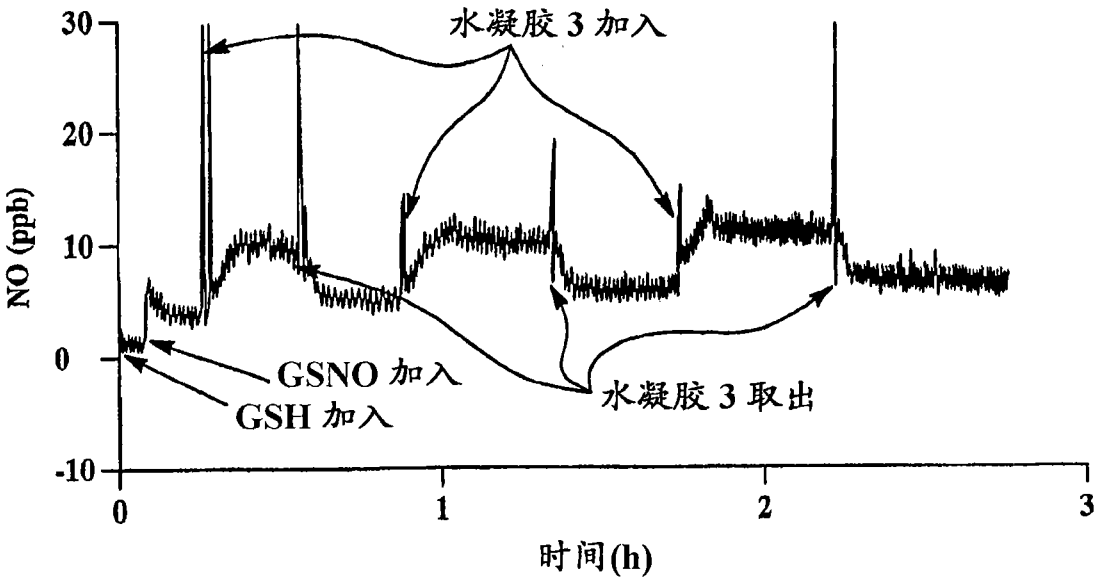

水凝胶 3 加入
30
20
10
0
-10
NO (ppb)
GSNO 加入
GSH 加入
水凝胶 3 取出
0
1
2
3
时间(h)

图 21A

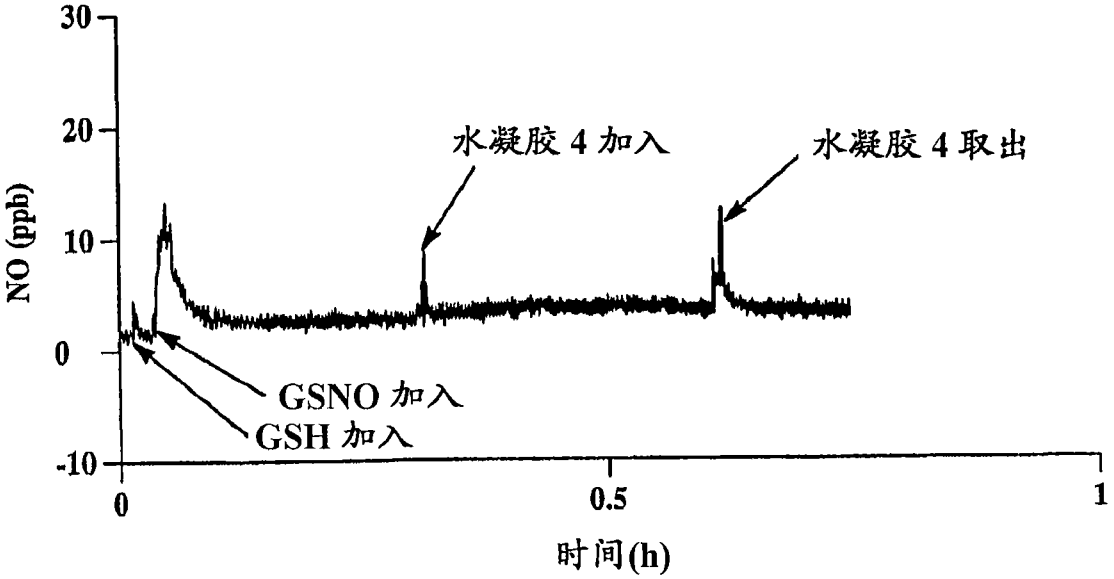

30
20
10
0
-10
NO (ppb)
水凝胶 4 加入
水凝胶 4 取出
GSNO 加入
GSH 加入
0
0.5
1
时间(h)

图 21B