

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 9/50 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580028812.6

[43] 公开日 2007 年 8 月 1 日

[11] 公开号 CN 101010073A

[22] 申请日 2005.4.20

[21] 申请号 200580028812.6

[30] 优先权

[32] 2004.7.21 [33] US [31] 10/896,376

[86] 国际申请 PCT/US2005/013380 2005.4.20

[87] 国际公布 WO2006/022887 英 2006.3.2

[85] 进入国家阶段日期 2007.2.26

[71] 申请人 得克萨斯大学体系董事会

地址 美国得克萨斯州

[72] 发明人 唐力平

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 顾晋伟 刘晓东

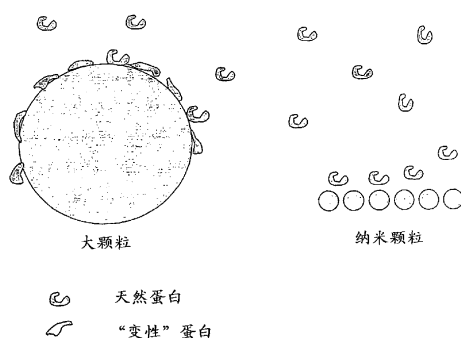
权利要求书 6 页 说明书 12 页 附图 8 页

[54] 发明名称

用于改善医用植入物生物相容性的纳米涂层

[57] 摘要

一种用于植入物表面的涂层，包含一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒和能够接受纳米颗粒的植入物表面，所述植入物选自金属、碳、石墨、聚合物、蛋白质、核酸、微生物、水凝胶、液体、多孔体及聚合物共混物颗粒和它们的组合。涂层促进植入物表面上的特性，诸如减少蛋白质解折叠、预防炎症和纤维化细胞积聚、减少此类细胞附着位点的数目和防止其它不利的生物反应。涂层可以经由物理和/或化学结合涂覆在任何材料上。涂层可进一步包含表面活性剂并且可以包括吸附、吸收或结合在纳米颗粒上的标记物。植入物表面上的涂层可用于美容、治疗、预防、重建、监测和替换的目的。涂层也可以用于活体外目的。



- 1、一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制备物，包括：一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒；和能够接受纳米颗粒的植入物表面。
- 2、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，其中所述纳米颗粒选自金属、碳、石墨、聚合物、水凝胶、蛋白质、肽、核酸、细菌、病毒、液体、多孔体及聚合物共混物颗粒和它们的组合。
- 3、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，其中所述纳米颗粒在植入物植入至需要其的有机体后促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。
- 4、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，还包括所述纳米颗粒表面上的表面活性剂。
- 5、权利要求 4 的纳米颗粒制备物，其中所述表面活性剂选自甘油、山梨糖醇、多官能醇、单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨酸酯、泊洛沙姆、泊洛沙米、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯酯的脂肪酸酯、乙氧基化甘油三酸酯、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂基硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐和它们的组合。
- 6、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，还包含与纳米颗粒接触的标记物，其中所述接触选自吸附、吸收、结合和它们的组合。
- 7、权利要求 6 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物识别以下材料，所述材料选自细胞、蛋白质、肽、DNA、RNA、微生物、病毒、细菌、分子配体、器官、组织和它们的组合。
- 8、权利要求 6 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物选自药物、分子配体、抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸、碳水化合物部分、化学品和它们的组合。
- 9、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，其中所述植入物具有选自美容、治疗、预防、重建、监测和它们的组合的用途。

10、权利要求 1 的纳米颗粒制备物，其中所述纳米颗粒选自 N-异丙基丙烯酰胺、羟丙基纤维素、聚-L-乳酸和它们的组合。

11、一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制备物，包含：小于或等于 500 纳米的纳米颗粒，其中所述纳米颗粒在植入物植入至需要其的有机体后促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。

12、权利要求 11 的纳米颗粒制备物，其中所述纳米颗粒选自金属、碳、石墨、聚合物、水凝胶、液体、蛋白质、肽、核酸、微生物、细菌、病毒、多孔体及聚合物共混物颗粒和它们的组合。

13、权利要求 11 的纳米颗粒制备物，还包含所述纳米颗粒表面上的表面活性剂。

14、权利要求 13 的纳米颗粒制备物，其中所述表面活性剂选自甘油、山梨糖醇、多官能醇、单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨酸酯、泊洛沙姆、泊洛沙米、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯醚的脂肪酸酯、乙氧基化甘油三酸脂、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂基硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐和它们的组合。

15、权利要求 11 的纳米颗粒制备物，还包含与纳米颗粒接触的标记物，其中所述接触选自吸附、吸收、结合和它们的组合。

16、权利要求 15 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物识别以下材料，所述材料选自细胞、微生物、蛋白质、分子配体、器官、组织和它们的组合。

17、权利要求 15 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物选自药物、分子配体、抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸、碳水化合物部分、化学品和它们的组合。

18、权利要求 11 的纳米颗粒制备物，其中所述植入物具有选自美容、治疗、预防、重建、监测和它们的组合的用途。

19、权利要求 11 的纳米颗粒制备物，其中所述纳米颗粒选自 N-异丙基丙烯酰胺、羟丙基纤维素、聚-L-乳酸和它们的组合。

20、一种制备用于涂覆植入物表面的纳米颗粒的方法，包括以下步骤：

选择小于或等于 500 纳米的纳米颗粒和使用纳米颗粒涂覆植入物表面，

其中纳米颗粒促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。

21、权利要求 20 的方法，还包括从金属、碳、石墨、聚合物、水凝胶、液体、多孔体或聚合物共混物颗粒和它们的组合中选择纳米颗粒的步骤。

22、权利要求 20 的方法，还包括添加表面活性剂至所述纳米颗粒表面的步骤。

23、权利要求 22 的方法，其中所述表面活性剂选自甘油、山梨糖醇、多官能醇、单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨酸酯、泊洛沙姆、泊洛沙米、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯酯的脂肪酸酯、乙氧基化甘油三酸酯、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂基硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐和它们的组合。

24、权利要求 20 的方法，还包括包含与纳米颗粒接触的标记物的步骤，其中所述接触选自吸附、吸收、结合和它们的组合。

25、权利要求 24 的方法，其中所述标记物识别以下材料，所述材料选自细胞、蛋白质、核酸、微生物、细菌、病毒、肽、分子配体、器官、组织和它们的组合。

26、权利要求 24 的方法，其中所述标记物选自药物、分子配体、抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸、碳水化合物部分、化学品和它们的组合。

27、权利要求 20 的方法，其中所述植入物具有选自美容、治疗、预防、

重建、监测和它们的组合的用途。

28、权利要求 20 的方法，其中所述纳米颗粒选自 N-异丙基丙烯酰胺、羟丙基纤维素、聚-L-乳酸和它们的组合。

29、一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制备物，包含：一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒；和包含能够接受纳米颗粒的聚-L-乳酸纤维的植入物表面，其中所述纳米颗粒在植入物植入至需要其的有机体后促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。

30、权利要求 29 的纳米颗粒制备物，还包含所述纳米颗粒表面上的表面活性剂。

31、权利要求 30 的纳米颗粒制备物，其中所述表面活性剂选自甘油、山梨糖醇、多官能醇、单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨酸酯、泊洛沙姆、泊洛沙米、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯酯的脂肪酸酯、乙氧基化甘油三酸酯、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂基硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐和它们的组合。

32、权利要求 29 的纳米颗粒制备物，还包含与所述纳米颗粒接触的标记物，其中所述接触选自吸附、吸收、结合和它们的组合。

33、权利要求 32 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物识别以下材料，所述材料选自细胞、蛋白质、分子配体、器官、组织和它们的组合。

34、权利要求 32 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物选自药物、分子配体、抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸、碳水化合物部分、化学品和它们的组合。

35、一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制备物，包含：一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒；和包含能够接受纳米颗粒的 PET 膜的植入物表面，其中所述纳米颗粒促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化

细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。

36、权利要求 35 的纳米颗粒制备物，还包含所述纳米颗粒表面上的表面活性剂。

37、权利要求 36 的纳米颗粒制备物，其中所述表面活性剂选自甘油、山梨糖醇、多官能醇、单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨酸酯、泊洛沙姆、泊洛沙米、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯酯的脂肪酸酯、乙氧基化甘油三酸脂、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂基硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐和它们的组合

38、权利要求 35 的纳米颗粒制备物，还包含与所述纳米颗粒接触的标记物，其中所述接触选自吸附、吸收、结合和它们的组合。

39、权利要求 38 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物识别以下材料，所述材料选自细胞、蛋白质、DNA、RNA、肽、微生物、细菌、病毒、分子配体、器官、组织和它们的组合。

40、权利要求 38 的纳米颗粒制备物，其中所述标记物选自药物、分子配体、抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸、碳水化合物部分、化学品和它们的组合。

41、权利要求 35 的纳米颗粒制备物，其中所述植入物表面选自不可降解聚合物、可降解聚合物、金属、水凝胶、碳、蛋白质、有机化学品、无机化学品、药物、生物聚合物、磷脂聚合物、牙齿材料、骨材料、软组织材料和它们的组合。

42、一种用于植入物表面的纳米颗粒制备物，包括：

一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒，其中所述纳米颗粒促进以下特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维化细胞积聚、防止纤维化组织形成、防止血栓形成或装置中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合；和

能够接受纳米颗粒的植入物表面。

43、权利要求 42 的纳米颗粒制备物，其中所述植入物表面通过选自等离子体聚合、点涂和它们的组合的表面改性步骤来改性。

44、权利要求 43 的纳米颗粒制备物，其中对植入物表面的改性产生所述表面上的纳米颗粒。

用于改善医用植入物生物相容性的纳米涂层

关于联邦政府赞助研究或开发的声明

根据国家卫生研究所授予的 EB-00287 条款的规定, 美国政府拥有本发明已付的许可和在有限情况下要求专利所有人在合理的条件下许可其它人的权利。

背景技术

本发明一般性涉及医用植入物领域, 具体涉及提供具有改善的生物相容性的医用植入物。

医用植入物与装置在现代医学实践中起着重要的作用。令人遗憾地, 伴随引入到有机体中, 许多植入物与装置引发一系列的生物反应, 其中许多对身体有害。这些不利的生物反应包括可导致植入物排斥的炎症、纤维变性、血栓形成和感染。

导致这些不利反应的一种成分是植入物介导的蛋白质“变性”, 看起来是经由植入物表面上的蛋白质吸附而发生的一种生物过程。这种吸附是由自发吸附的、部分“变性”的宿主蛋白-包括纤维蛋白原-的无序层导致的。(Tang L and Eaton JW, Fibrin(ogen) mediates acute inflammatory responses to biomaterials. J Exp Med 1993;178:2147-56; Hu et al. Molecular basis of biomaterial-mediated foreign body reactions. Blood 2001;98 : 1231 - 38; 通过引用并入本文)。变性蛋白质如纤维蛋白原因而涉及促进对植入物的不利生物反应, 部分通过在其吸附之后吸引炎症细胞至植入物。令人遗憾的是, 如何防止变性和吸附过程尚需进一步了解。的确, 仍然需要不会促进这些不利生物反应的植入物与装置。这似乎可以通过识别植入物与身体相容(例如, 生物相容)

的表面而不促进植入物表面上的蛋白质变性和/或蛋白质吸附而发生。

迄今为止，生物相容性植入物与装置的生产已经获得被认为具有防止蛋白质（例如，纤维蛋白原）变性的亲水表面的材料。令人失望的是，即使是这些材料中最亲水的，包括聚乙二醇，当将其放置在植入物或装置的表面上时，发现其促进蛋白质的构象变化和不利生物反应。

当前，即使不是全部也是大多数的医用植入物在被引入到有机体时引发一系列的生物反应，在此指的是异物反应。生物反应通常伴随聚集和/或粘附在植入物表面的炎症和纤维变性细胞的积聚。正是这些细胞的积聚、它们的副产物和相关的免疫应答导致了医用植入物或装置的失败。

已经开发了现有涂层技术以改善植入物的生物相容性。然而所设计的这些技术改变材料表面化学性质，以求减少蛋白质变性和蛋白质/细胞积聚。现有技术通常不能显著地减少表面诱导的蛋白质变性和随后的不利反应。因此，仍然需要改善的植入物，所述植入物具有防止蛋白质变性和随后在有机体中的不利反应的表面。

发明内容

本发明解决与引入植入物或装置至有机体时发生的不利反应有关的问题。本发明提供了一种制备物，其防止将所述制备物引入至有机体时的蛋白质变性（例如，解折叠）和随后发生的不利反应。

通常，本发明的一种形式是纳米颗粒制备物，其减少或防止蛋白质解折叠以及随后发生在有机体中的不利反应。不利反应包括生物过程和/或细胞表面相互作用，诸如炎症细胞积聚、蛋白质解折叠、蛋白质变性、纤维变性组织形成、血栓形成和装置-中心感染。纳米颗粒制备物包括直径小于或等于 500 纳米 (nm) 的纳米颗粒和能够接受纳米颗粒的植入物表面。因而，本发明提供一种在植入物上的生物相容性涂层，当引入至有机体时，其能够防止体内的不利反应。

在另一种形式中，本发明是一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制

备物，包括小于或等于 500 纳米的纳米颗粒，其中纳米颗粒在植入物植入至需要其的有机体后，促进植入物表面上的特性，该特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维变性细胞积聚、防止纤维变性组织形成、防止血栓形成或装置 - 中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利生物反应和它们的组合。

在又一个形式中，本发明是一种用于涂覆植入物表面的纳米颗粒制备物，包括一种或多种小于或等于 500 纳米的纳米颗粒，和使用纳米颗粒涂覆植入物表面，其中纳米颗粒促进植入物表面上的特性，所述特性选自减少蛋白质解折叠、减少蛋白质变性、防止炎症细胞积聚、防止纤维变性细胞积聚、防止纤维变性组织形成、防止血栓形成或装置 - 中心感染、减少细胞附着位点的数目、减少不利的生物反应和它们的组合。该方法可以包括使用该纳米颗粒制备物涂覆植入物或装置，从而在引入植入物至有机体时防止蛋白质解折叠或变性。

本发明的优点包括发现经由本发明产生的蛋白质解折叠、不利生物反应、蛋白质吸附和蛋白质变性的减少或防止，看起来与纳米颗粒组成无关或不依赖于纳米颗粒组成。此外，本发明的纳米颗粒制备物对植入物的表面性质或功能没有不利影响。

通过结合附图阅读下述详细说明，本领域技术人员将进一步理解本发明的上述特征和优点及本发明的其它重要方面。

附图说明

为了更全面理解本发明的特征和优点，现结合附图对发明进行详细说明，其中不同附图中的相同附图标记是指相同的部分，其中：

图 1 描述了根据本发明一方面的纳米颗粒的示意图；

图 2A 描述了在与本发明的 100nm NIPA 颗粒接触后，小鼠中缺少异体反应；

图 2B 显示了在与 10 微米 NIPA 颗粒接触后，小鼠中炎症和纤维变性反应的一个实施例；

图 2C 显示了在与本发明的微粒接触后,低纤维蛋白原小鼠中缺少异体反应;

图 2D 显示了与使用纤维蛋白原预培养的 10 微米微粒接触后,高纤维蛋白原(hyperfibrinogenemic)小鼠中的“正常”异体反应;

图 2E 显示了在与各种涂覆的和未涂覆的植入物接触后,小鼠异体反应程度(与颗粒植入物有关的细胞数);

图 3 显示了在皮下植入(图 3A)10 微米微粒或(图 3C)100 nm 纳米颗粒后的未经处理的 Balb/C 小鼠中的纤维蛋白原积聚,和与之作为比较的在皮下植入(图 3B)10 微米微粒或(图 3D)100 nm 纳米颗粒后的安克洛酶-处理的 Balb/C 小鼠中的纤维蛋白原积聚;

图 4 举例说明了在植入 10 微米 NIPA 颗粒后(图 4A)×200 和(图 4B)×600 视图中的炎症应答,与之作为比较,在植入 100 nm NIPA 纳米颗粒后(图 4C)×200 和(图 4D)×600 视图中没有此应答;

图 5A 显示了在植入了共价涂覆本发明的 100 nm 纳米颗粒的聚-L-乳酸纤维 7 天之后,没有不利或异体反应;

图 5B 描述了在植入“未涂覆”的聚-L-乳酸纤维七天之后的不利或异体反应;

图 6 描述了在吸附到(图 6A)人纤维蛋白原预培养的 10 微米微粒的纤维蛋白原上暴露的纤维蛋白原 P2 抗原决定基,与(图 6B)人纤维蛋白原预培养的 100 纳米纳米颗粒、(图 6C)游离纤维蛋白原的 10 微米微粒和(图 6D)游离纤维蛋白原的 100 纳米纳米颗粒的比较;和

图 7 描述了潜在的纳米颗粒涂层示意图。

具体实施方式

虽然以下详述了制造和使用本发明的各种实施方案,但应当理解本发明提供的许多发明构思可以体现在多种范围内。在此讨论的具体方面和实施方案仅仅说明制造和使用本发明的方式,而非限制本发明的范围。

在随后的说明书中，在全部说明书和附图中，使用相同的附图标记来标注类似部分。附图不必按比例绘制，并且为了清楚和简明，可以在比例上或以稍微概括或示意性的形式放大显示某些特征。

本发明提供一种在植入物上的表面，类似于表面“涂层”，其减少和/或防止不利的异物反应，如植入物表面的蛋白质吸附。本发明通过使用纳米颗粒涂层改善植入物的生物相容性和血液相容性，其中每个颗粒的直径通常小于 500 nm。因而，本发明的纳米颗粒减少了蛋白质“变性”以及随后的异物反应。

当蛋白质进行“变性”或解折叠时，蛋白质的吸附并相互作用或附着在材料表面的多个位点上。通过使用颗粒“涂层”材料，减少了相互作用或附着位点的数目或蛋白质表面间相互作用的程度。（参见图 1）。然而，如果颗粒太大，蛋白质仍能解折叠或变性，并因而吸附到颗粒上。因此，如果颗粒尺寸和由此所致的材料相对表面减少至本发明纳米颗粒的尺寸，则蛋白质不再解折叠或变性。因而，植入物表面纳米颗粒的存在，减少了植入物表面的蛋白质变性和吸附过程，也减少了随后的不利或异物反应。因而，根据本发明，植入物的纳米颗粒涂层为植入物和需要这些植入物的有机体提供了改善的生物相容性，和随后提供了改善的植入物治疗效能。

上述改善不依赖于纳米颗粒组成。因而可以使用包含一种或多种可降解聚合物、不可降解聚合物、金属、蛋白质、核酸、微生物（细菌和病毒）和类似组合的纳米颗粒制备物组成来改善引入至有机体的植入物的生物相容性。

在本文中，医用植入物或装置包括具有可以涂敷“涂层”的表面的任何材料。作为实例，包括为美容、重建、监测或替换目的引入的植入物，诸如关节植入物、乳房植入物、牙齿植入物、芯片或离子植入物、脑植入物、视网膜植入物、耳蜗植入物、面部植入物、器官植入物和假体。作为实例，也包括引入至有机体的颗粒、导管及其它装置，如药物释放颗粒，微型传感器和支架。本文中的植入物“材料”可以是任何以

医用植入物或装置方式使用的有机物或无机物。

在本文中，涂覆到材料表面的“涂层”包括“纳米颗粒”、“纳米颗粒状物体”、“微观颗粒”或“官能化颗粒”。作为替代，可以通过进行表面改性步骤诸如等离子聚合、点涂层等，对材料表面进行处理以在表面上产生颗粒状结构。这些颗粒通常是几微米尺寸至几毫米尺寸或亚微观的（小于1微米），并且可以是具有半渗透壳的圆柱形或球形或者类似可渗透纳米球形的固态胶状物体。称为“标记物”的一种或多种药物或其它相关材料（例如，用于标记，如分子配体，用于诊断或治疗，例如用于医疗、核医学或放射治疗），可以包含在本发明的纳米颗粒中。可以经由包埋、包囊、吸收、吸附、共价或其它连接来包含。本发明的纳米颗粒本身可以按照需要进一步涂覆。

本发明的纳米颗粒通常提供为金属颗粒、碳颗粒、无机化学颗粒、有机化学颗粒、陶瓷颗粒、石墨颗粒、聚合物颗粒、蛋白质颗粒、肽颗粒、DNA颗粒、RNA颗粒、细菌/病毒颗粒、水凝胶颗粒、液体颗粒或多孔颗粒。因而，纳米颗粒可以是例如金属、碳、石墨、聚合物、蛋白质、肽、DNA/RNA、微生物（细菌和病毒）和聚电解质，并且可以负载光或颜色吸收染料、同位素、放射性核素、标记物，或可以是具有充气孔的多孔体。本文所用术语“水凝胶”是指聚合物溶液，有时称为溶胶，通过相反电荷的小离子或聚合物或通过化学交联变为凝胶态。

本发明适合的聚合物包括水溶性聚合物的共聚物，包括但不限于，葡聚糖、聚甲基丙烯酸酰胺的衍生物、PEG、马来酸、苹果酸和马来酸酐，可以包括这些聚合物和适合的偶联剂，包括1-乙基-3(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺，也称为碳二亚胺。聚合物可以是可降解的或不可降解的或聚电解质材料。作为实例，可降解聚合物材料包括聚-L-羟基乙酸（PLGA）、聚-DL-羟基乙酸、聚-L-乳酸（PLLA）、PLLA-PLGA共聚物、聚（DL-丙交酯）-嵌段-甲氧基聚乙二醇、聚己内酯、聚（己内酯）-嵌段-甲氧基聚乙二醇（PCL-MePEG）、聚（DL-丙交酯-共-己内酯）-嵌段-甲氧基聚乙二醇（PDLLACL-MePEG）、一些多糖（例如，透明质酸、聚

多糖、壳聚糖)、蛋白质(例如,纤维蛋白原、白蛋白、胶原蛋白、细胞外基质)、肽(例如, RGD、聚组氨酸)、核酸(例如, RNA、DNA、单链或双链的)、病毒、细菌、细胞和细胞片段、有机或含碳材料。不可降解材料包括天然或合成的聚合材料(例如, 聚苯乙烯、聚丙烯、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚醚氨酯、聚氯乙烯、二氧化硅、聚二甲基硅氧烷、丙烯酸酯、丙烯酰胺、聚(乙烯吡啶)、聚丙烯醛、聚戊二醛)、一些多糖(例如, 羟丙基纤维素、纤维素衍生物、葡聚糖[®](dextran[®])、右旋糖、蔗糖、ficoll[®]、percoll[®]、阿拉伯半乳聚糖、淀粉)和水凝胶(例如, 聚乙二醇、乙烯-乙酸乙烯酯、N-异丙基丙烯酰胺、聚胺、聚乙烯亚胺、聚氯化铝)。

本发明的纳米颗粒需要附加层或涂层, 作为实例, 典型适合的层包括, 表面活性剂如包括甘油、山梨醇及其它多官能醇的脂肪酸酯(例如, 单硬脂酸甘油酯、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、脱水山梨糖醇单油酸酯)、聚山梨酸酯、泊洛沙姆(poloxamers)、泊洛沙米(poloxamines)、聚氧乙烯醚和聚氧乙烯酯、乙氧基化甘油三酸酯、乙氧基化苯酚和乙氧基化联苯酚、Genapol TM 和 Bauki 系列表面活性剂、脂肪酸金属盐、脂肪醇硫酸金属盐、月桂醇硫酸钠、磺基琥珀酸金属盐的那些表面活性剂。

本发明的颗粒通过本领域普通技术人员公知的常规方法生产。技术包括连续水相中的乳液聚合、连续有机相中的乳液聚合、界面聚合、溶剂沉积、溶剂蒸发、有机聚合物溶液的溶解、乳液中水溶性聚合物的交联、大分子的溶解和碳水化合物交联。这些制造方法可以使用如上所述的各种聚合物材料进行。根据需要除去任何溶剂或乳化剂可以包括本领域普通技术人员熟知的许多方法。制造纳米颗粒的材料和制造方法的实例已经公开。(参见 Kreuter, J. 1991, Nanoparticles- preparation and applications; In: M. Donbrow (Ed.), Microcapsules and nanoparticles in medicine and pharmacy. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp. 125-148; Hu, Z, Gao J. Optical properties of N-isopropylacrylamide microgel spheres in water. Langmuir 2002;18: 1306-67; Ghezzi E, et al., Hyaluronic acid

derivative microspheres as NGF delivery devices: Preparation methods and in vitro release characterization. Int J Pharm 1992;87:21-29; 通过引用并入本文)。

纳米涂层可以制造成特异性地积聚特定细胞、蛋白质、生长因子、肽、生物物质和化学品。这样的话，纳米颗粒可以“标记”成对特异生物组分具有高亲合力。事实上，由这些细胞/蛋白质亲合颗粒或“标记物”制成的涂层可以增加细胞和蛋白质的特异性积聚。当“标记物”与本发明的纳米颗粒接触时，它可以吸附或吸收至预制的纳米颗粒上，或在制造过程期间结合至纳米颗粒。吸收、吸附和结合的方法对本领域技术人员是公知的。在此使用的单体和/或聚合物、溶剂、乳化剂、标记物及其它辅助物质的选择将受到制造的纳米颗粒的支配，其选择对本领域技术人员是没有限制和困难的。可根据需要改变标记物与纳米颗粒的比率。

本文中，“标记物”包括对纳米颗粒的附加物，其具有改性纳米颗粒的能力。作为实例，这些标记物可包括药物、识别材料的分子配体（例如，分子/化合物）、细胞、器官或所感兴趣的组织，诸如抗体、抗原、蛋白质、肽、核酸序列、脂肪酸或碳水化合物部分、化学品。它们也可以是模仿细胞、器官或组织上识别位点的改性化合物或聚合物。这些标记物可识别一部分材料、细胞、器官或组织，包括却不局限于细胞表面标记、细胞表面受体、免疫复合物、抗体、MHC、细胞外基质蛋白、血浆、细胞膜、细胞外蛋白、多肽、辅因子、生长因子、脂肪酸、脂质、碳水化合物链、基因序列、细胞因子或其它聚合物。

可以通过本领域普通技术人员公知的方法将本发明的纳米颗粒涂覆到植入物表面，包括通过物理吸附或化学结合。根据本发明描述的技术可以在活体内或活体外使用。例如，纳米颗粒可以用于涂覆血液袋和/或血液管。通过以下实施例进一步描述根据本发明的制造颗粒和涂层植入物的技术。

纳米颗粒制备物和生物相容性的实施例

生产尺寸范围为 100 nm 到 20 μm 的 N-异丙基丙烯酰胺 (NIPA) 颗粒和羟丙基纤维素 (HPC) 颗粒。把这些颗粒植入 Balb/C 小鼠的皮下位置。在植入 3 天到 21 天的周期之后, 测定植入较小颗粒时, 不利和异体反应诸如炎症和纤维变性应答消失或明显减少。这些与不利的组织应答相关的尺寸-相关性与材料 (即颗粒) 组成无关。一般而言, 小于 500 nm 尺寸的颗粒显示出最小的不利应答, 如图 2A 和 B 所示。

图 2, 2A 和 2B 是在 200x 下摄取的照片, 显示了在 Balb/C 小鼠皮下位置植入本发明的 NIPA 纳米颗粒 7 天之后, 没有或存在的不利异体反应。在图 2A 中, 发现直径为 100 纳米的 NIPA 颗粒显示最小异体反应 (例如, 炎症), 与之比较的是直径为 10 微米的 NIPA 颗粒, 如图 2B 所示。

纤维蛋白原 (Fibronogen)-耗竭的小鼠也称低纤维蛋白原 (hypofibrinogenemic) 小鼠, 是通过在植入之前 3 天, 对小鼠重复施用安克洛酶 (一种蛇毒) 生成的。因为纤维蛋白原的耗竭, 这些低纤维蛋白原小鼠, 不能表现出对直径 10 微米颗粒的不利或异体反应, 如图 2C 所示。当在植入低纤维蛋白原小鼠之前, 用 3 微克/毫升的纤维蛋白原 (补充的纤维蛋白原) 预处理前述颗粒 4 小时, 再一次观察到了不利的应答。因此, 当纤维蛋白原能够吸附至大颗粒时, 将产生不利的应答 (诸如炎症), 即使在低纤维蛋白原小鼠中也是如此。对于这些微米 (μm) - 纳米 (nm) 尺寸颗粒的组织应答的定量结果概括在图 2E 中。

本发明人先前的工作表明变性纤维蛋白原将结合到生物材料或较大尺寸的颗粒上, 并导致前炎症过程。因而, 使用皮下植入模型在 Balb/C 小鼠皮下植入较大尺寸的颗粒 (例如, 直径为 10 微米)。发现纤维蛋白原 (使用抗纤维蛋白原的过氧化物酶-结合抗体检测) 积聚在这些较大颗粒周围, 如图 3A 所示。使用具有相同尺寸颗粒的相同小鼠模型, 但最初使用安克洛酶处理小鼠, 导致积聚在颗粒植入物 (参见图 3B) 周围的纤维蛋白原的数量大大减少。把这些结果与植入纳米颗粒植入物 (大

约 100 nm 的直径)(图 3C)的小鼠中观察到的和纳米颗粒植入(图 3D)后使用安克洛酶预处理的相比较。在接受纳米颗粒植入物的小鼠中,观察到极少的纤维蛋白原变性或积聚在植入位置周围(图 3C 和 3D)。使用免疫组织化学染色法染色小鼠纤维蛋白原和在设置为 400X 的显微镜下观察组织标本来测定纤维蛋白原的积聚。

因为在有机体中插入植入物之后,不利的生物应答也包括炎症细胞的积聚和纤维变性囊的形成,在植入较大颗粒和纳米颗粒后观察到了这些反应。如图 4A (100X)所示,使用皮下植入模型,发现 10 微米直径的较大颗粒植入物显示小鼠中的 CD11b-阳性炎症细胞的募集。使用安克洛酶预处理这些小鼠,减少了纤维蛋白原积聚(可能变性)和炎症细胞在植入位置周围的聚集,如图 4B 所示(100X)。另一方面,使用除了 100 nm 直径的植入纳米颗粒外相同的植入模型,导致在植入物位置周围最小炎症细胞积聚,如通过使用安克洛酶预处理耗尽了纤维蛋白原水平(图 4D)或纤维蛋白原水平没有影响(图 4C)的小鼠所示。图 4C 和 4D 分别是图 4A 和 4B 虚线框的放大图(400X)。使用染色 CD11b-阳性炎症细胞的免疫组织化学染色剂评价对颗粒植入物的炎症应答程度。

具有纳米颗粒的涂层及其生物相容性的实施例

使用 100nm 直径的纳米颗粒涂覆聚-L-乳酸(PLLA)纤维。使用皮下植入方式将 NIPA 纳米颗粒涂层纤维引入至小鼠中,然后在植入 7 天之后检验组织标本。图 5A 表明这些涂覆纳米颗粒的纤维没有产生不利生物应答如炎症和炎症细胞积聚或蛋白质粘附。与不涂覆或较大颗粒(直径为微米)的纤维相对照。使用无涂层或较大颗粒涂层的纤维,引起了不利应答和异物反应(图 5B)。

类似地,当使用皮下植入模型,植入使用 100 nm 直径纳米颗粒涂层的 PET 膜时,不利反应并不明显,而植入涂覆较大颗粒(直径为微米)的 PET 膜时,反应明显(数据未显示)。在此,直径小于 500 nm 的纳米颗粒涂层显著减少 70%以上的吞噬细胞积聚,并且减少 50%以上的纤

维变性组织形成。使用羧丙基纤维素 (HPC) 颗粒作为涂层材料的类似研究产生类似的结果。

纳米颗粒可以以物理方式或化学方式结合至多种材料上, 包括不可降解聚合物、可降解聚合物、金属、水凝胶、碳、蛋白质、有机/无机化学品、药物、生物聚合物、磷脂聚合物、牙齿材料、骨材料和软组织材料。

防止蛋白质变性的纳米颗粒实施例

使用活体外模型, 已经发现较大颗粒 (例如, 直径为微米的那些) 能够使纤维蛋白原变性 (图 6A), 而较小纳米颗粒 (直径至少为大约 100 nm 或小于 500 nm) 防止蛋白质变性 (图 6C)。使用酶联免疫吸收测定 (ELISA) 和纤维蛋白原 P2 抗原决定基评价颗粒介导纤维蛋白原变性的程度。在此, 使用 1 mg/L 的人纤维蛋白原在 37°C 培养直径为 10 微米直径的较大颗粒和大约 100 纳米直径的纳米颗粒 4 小时。然后使用 P2 抗原决定基, 按照标准程序使 NIPA 颗粒接受 ELISA 试验。图 6A 表明较大颗粒 (A) 引起的 P2 暴露比纳米颗粒 (C) 引起的 P2 暴露增加得更多。无纤维蛋白原的微粒 (C) 和纳米颗粒 (D) 对 P2 抗体具有非常低的亲合力。从使用 HPC 颗粒的研究中也获得类似的结果 (未显示)。

本发明的纳米颗粒提供一种在植入物表面上的涂层, 所述植入物将植入到需要它的有机体中。经由物理和/或化学结合, 包括诸如等离子聚合或点涂覆技术, 所述涂层可以涂覆至任何材料上。一般而言, 当涂覆至植入物表面时, 本发明的涂层用于以下目的, 所述目的可以是美容、治疗、预防、重建、监测和替换。此外, 本发明的涂层可以用于活体外目的。图 7 显示了这些涂层通常至少有一层厚, 可包括颗粒状结构 (例如, 使用等离子聚合、点涂覆、激光沉积和相关技术), 也可以使用在诸如小 2mm 的竿或微粒植入物的表面上,。

如说明书所列的本发明的其他目的、优点和新特征, 本领域的普通技术人员在阅读上述详细说明之后将对其显而易见, 或可以通过本发明

的实践获知。本发明的目的和优点可以通过本文具体指出的装置和组合来实现和获得。

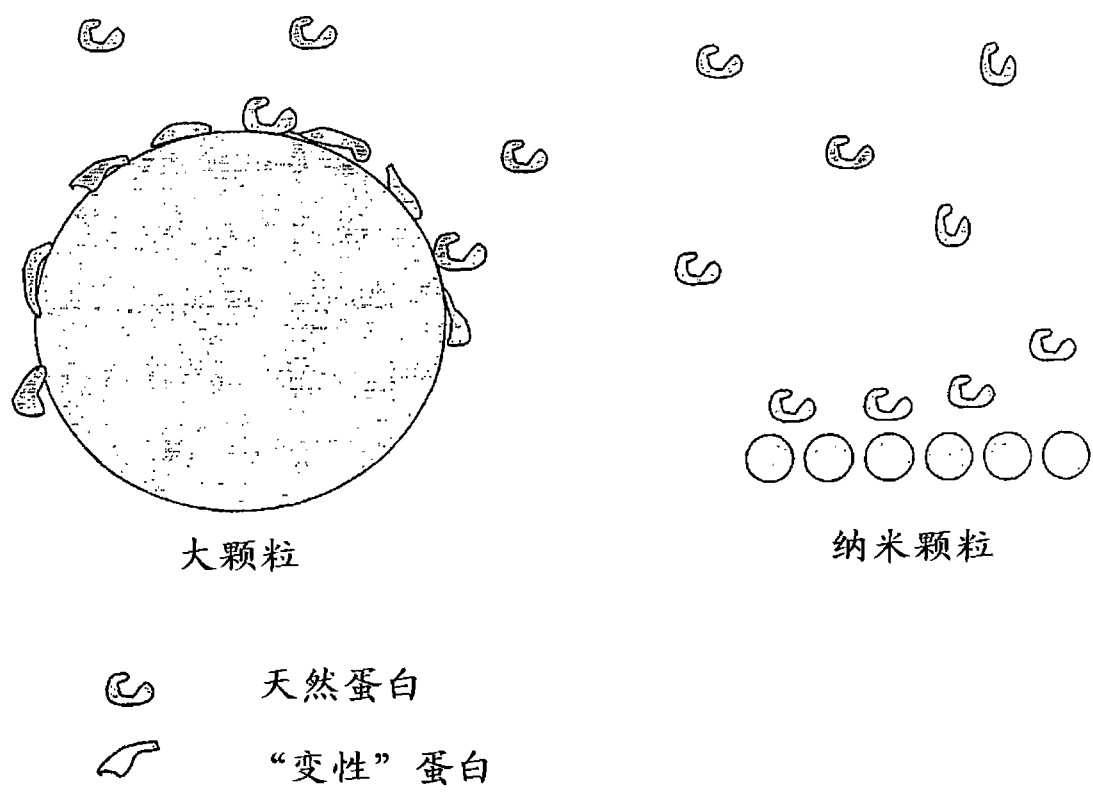


图1

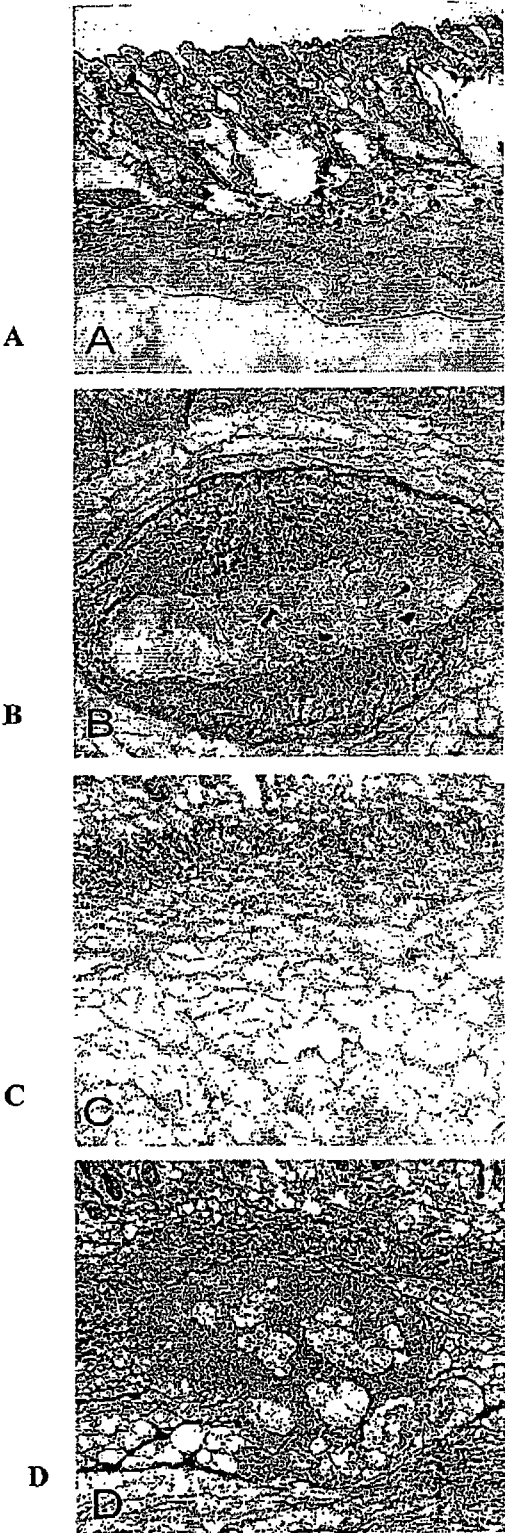


图2

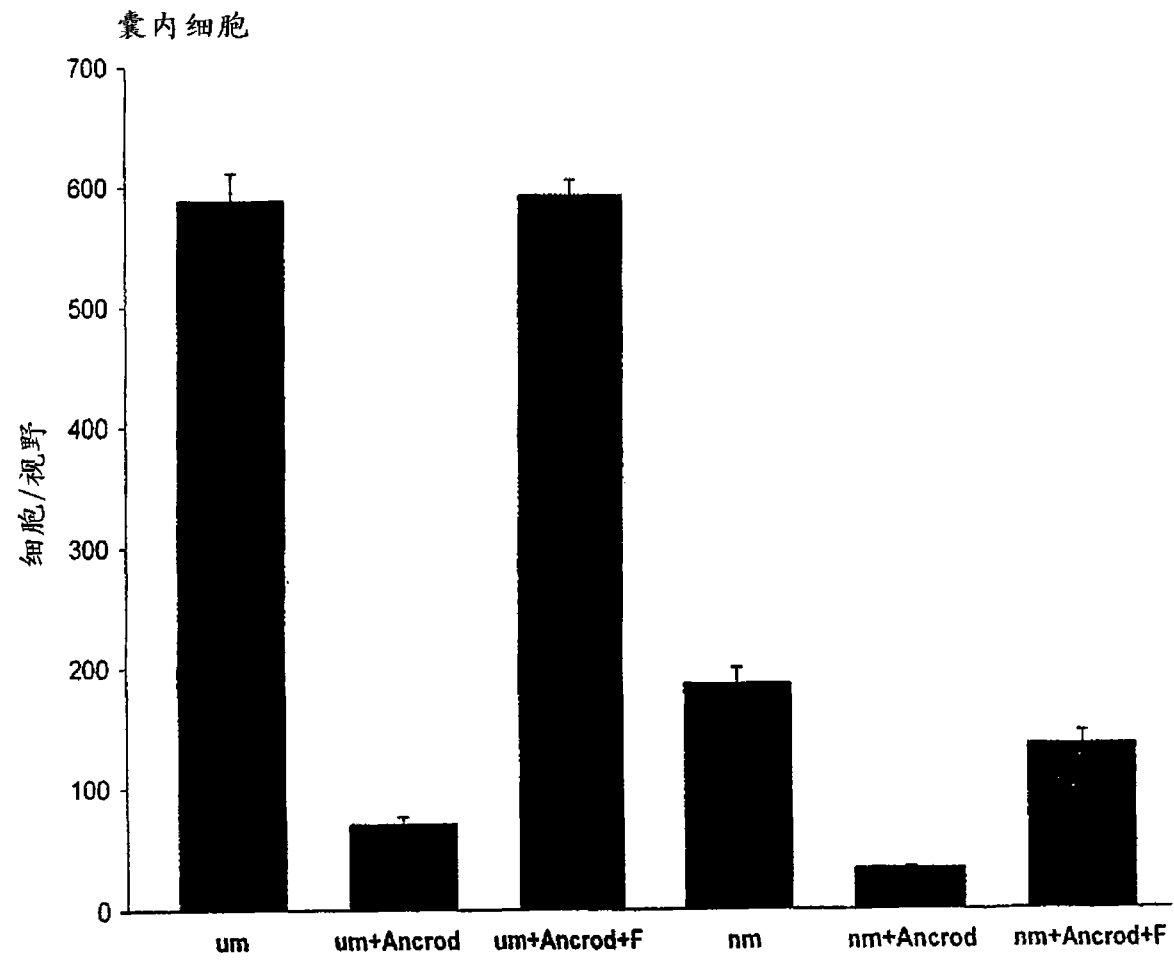


图 2E

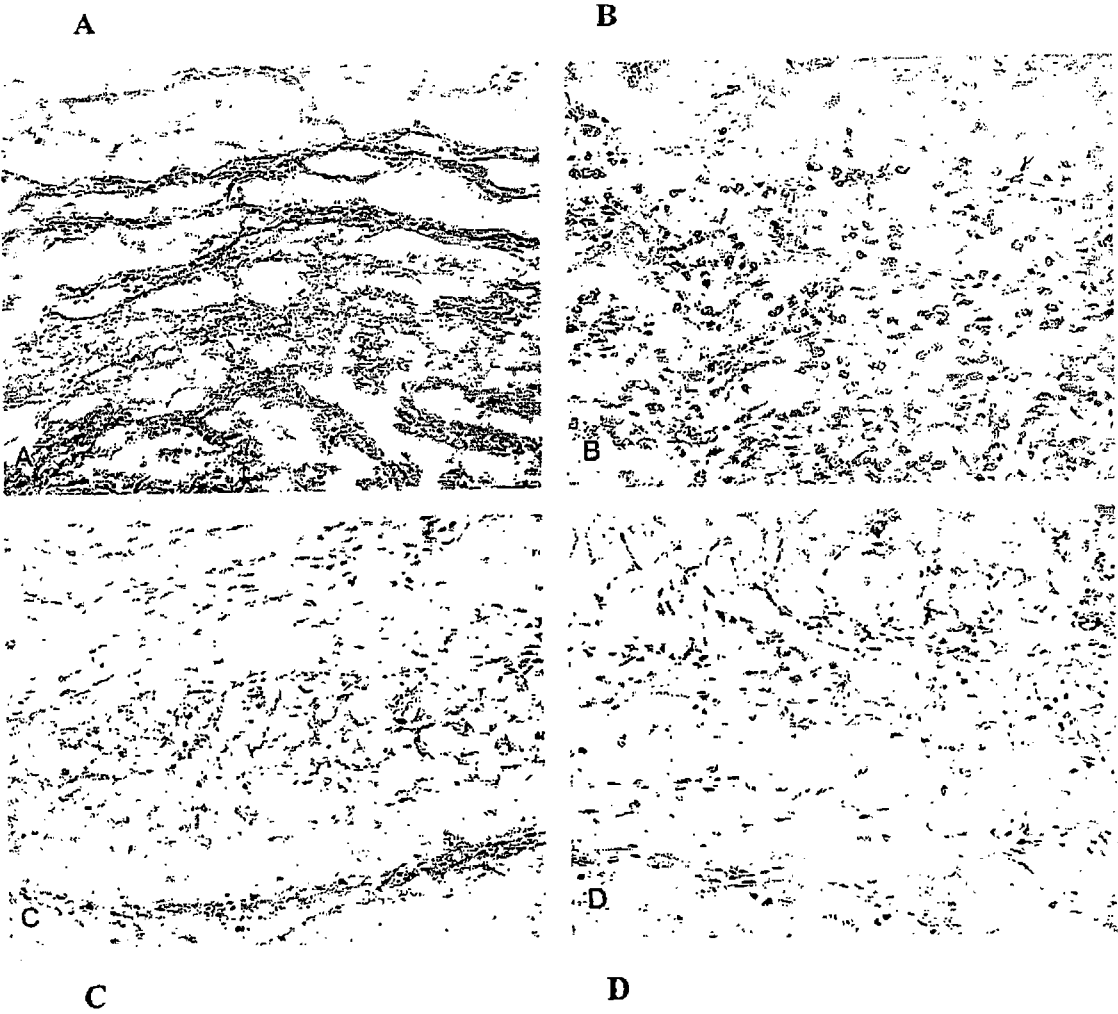


图3

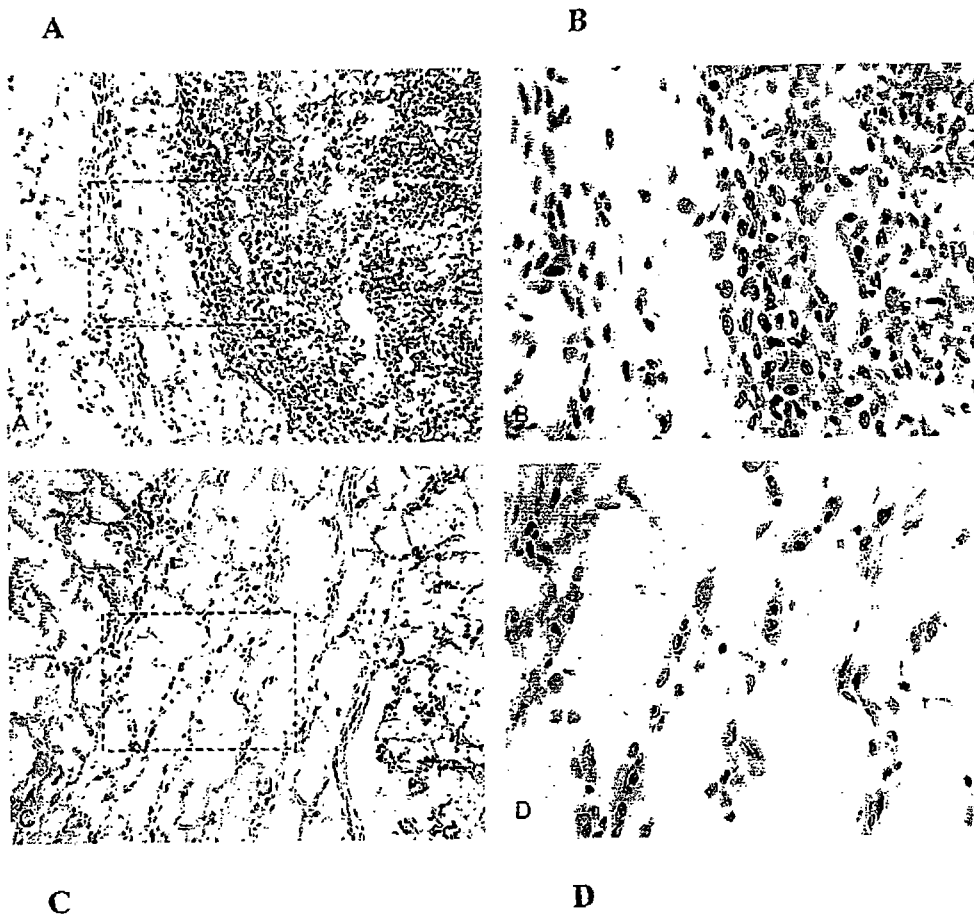


图4

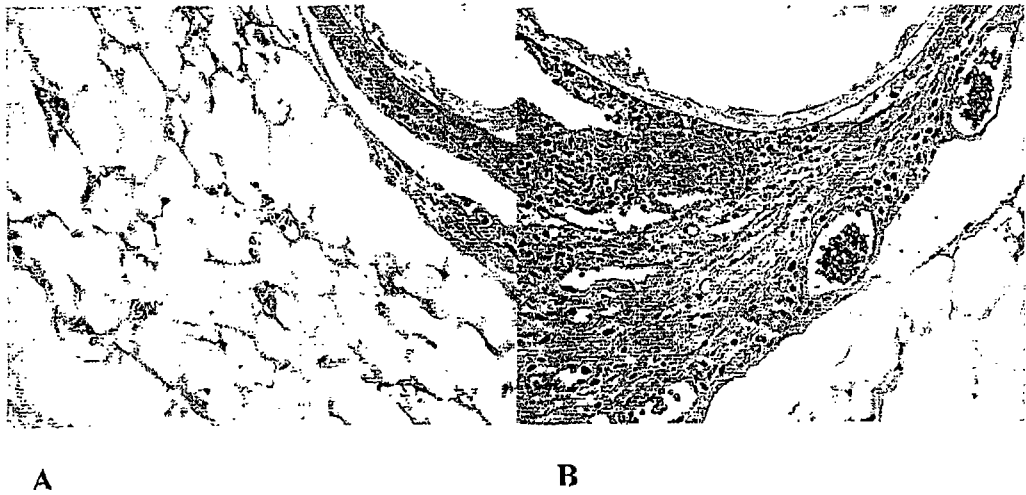


图 5

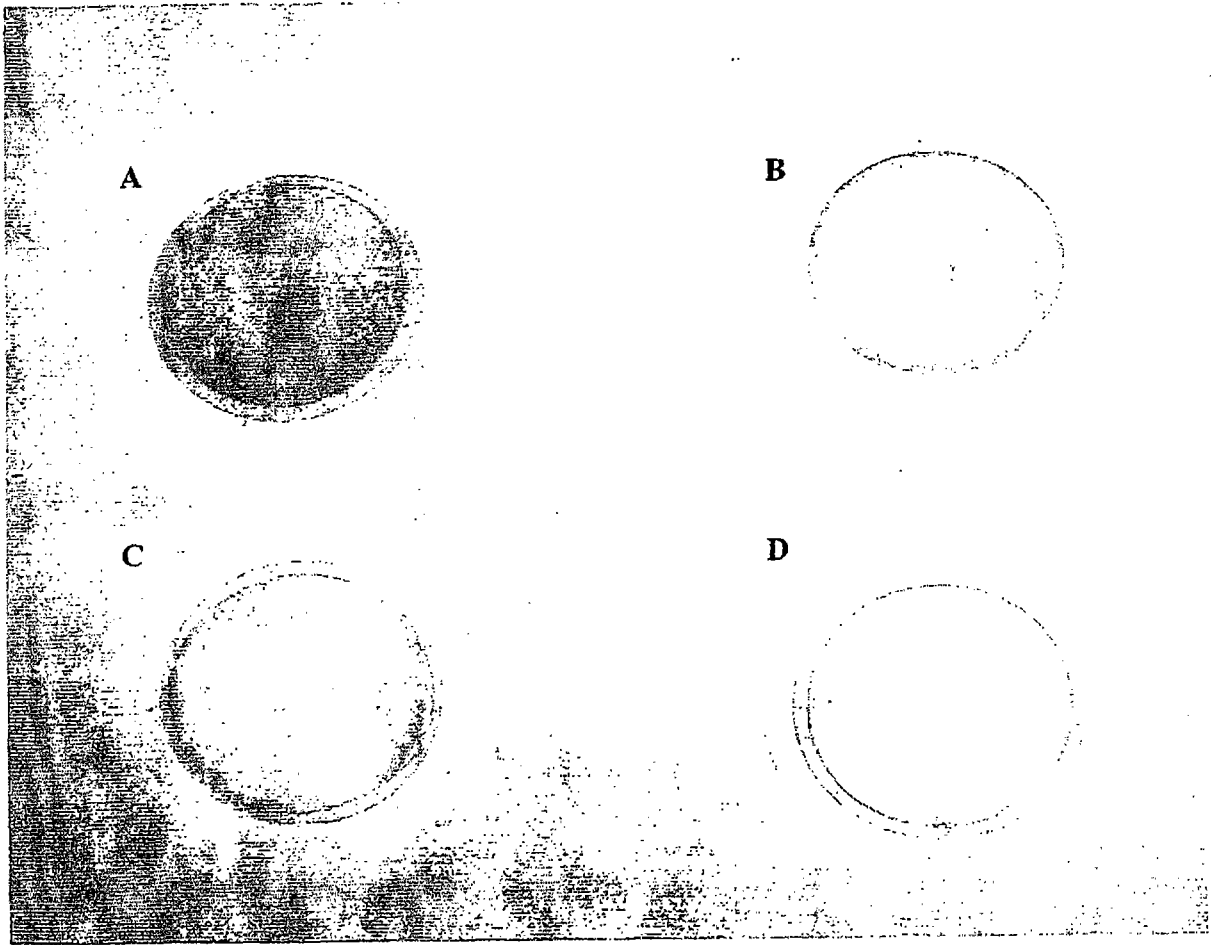


图6

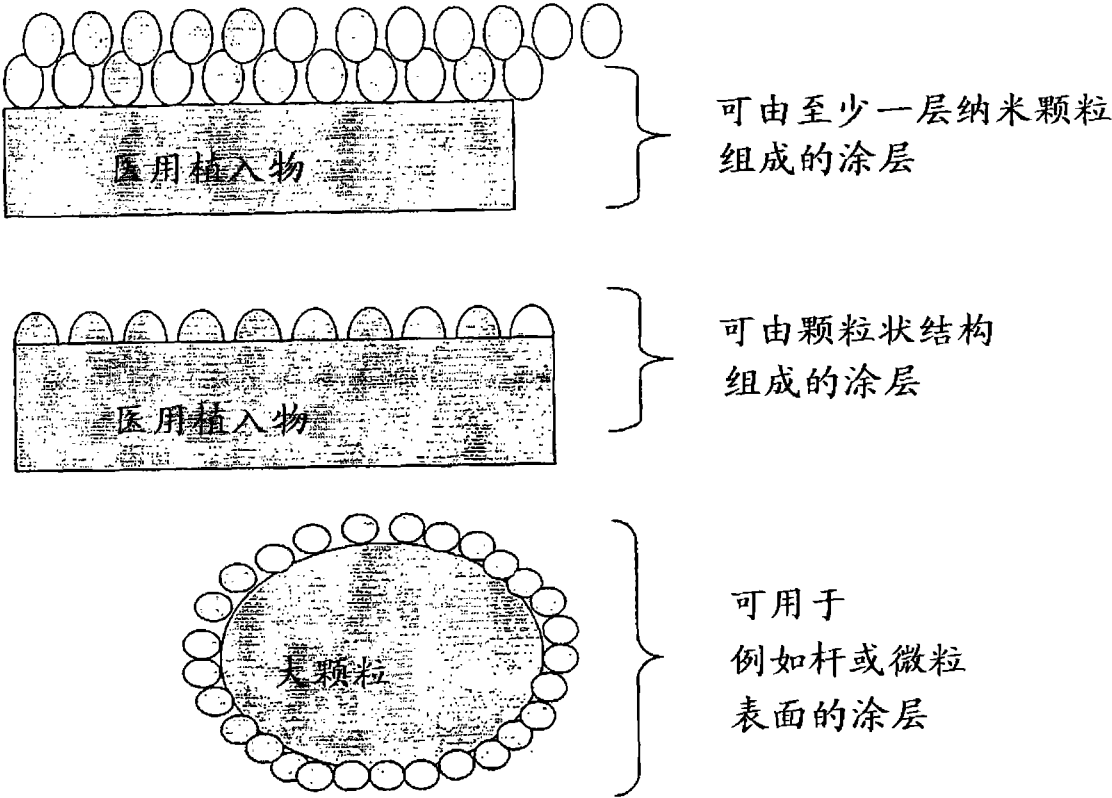


图7