

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-509704

(P2004-509704A)

(43) 公表日 平成16年4月2日(2004.4.2)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 F 2/06	A 6 1 F 2/06	4 C O 7 6
A 6 1 K 9/51	A 6 1 K 9/51	4 C O 8 6
A 6 1 P 5/06	A 6 1 P 5/06	4 C O 9 7
A 6 1 P 7/02	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 36 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-530108 (P2002-530108)	(71) 出願人	502029976
(86) (22) 出願日	平成13年9月28日 (2001.9.28)		アンギオメット ゲゼルシャフト ミット
(85) 翻訳文提出日	平成15年3月28日 (2003.3.28)		ベシュレンクテル ハフツング ウント
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/011267		コムパニー メディツィンテヒニク コ
(87) 国際公開番号	W02002/026279		マンデイトゲゼルシャフト
(87) 国際公開日	平成14年4月4日 (2002.4.4)		ドイツ連邦共和国 デー-7 6 2 2 7 カ
(31) 優先権主張番号	0023807.1		ルルスルーエ ヴァッハハウスシュトラ-
(32) 優先日	平成12年9月28日 (2000.9.28)		セ 6
(33) 優先権主張国	イギリス (GB)	(74) 代理人	100059959
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), JP, US		弁理士 中村 稔
		(74) 代理人	100067013
			弁理士 大塚 文昭
		(74) 代理人	100082005
			弁理士 熊倉 禎男
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カプセル封入された生物活性物質で浸漬された e - P T F E ホイル

(57) 【要約】

本発明は、生物活性物質で浸漬された e - P T F E (発泡ポリテトラフルオロエチレン) ホイル、そのようにホイルを浸漬する方法、及び e - P T F E 浸漬ホイルを含み、それによって遊離性生物活性物質を有する補綴に関する。

【選択図】 図 4



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

カプセル封入された生物活性物質で浸漬された e - P T F E ホイル。

【請求項 2】

生物活性物質が、ナノ粒子中にカプセル封入されている、請求項 1 記載のホイル。

【請求項 3】

ナノ粒子が概して球状である、請求項 2 に記載のホイル。

【請求項 4】

概して球状のナノ粒子が、平均して、 $10\text{ nm} \sim 5\text{ }\mu\text{m}$ の範囲にある直径を有する、請求項 3 に記載のホイル。

10

【請求項 5】

平均直径の範囲が、 $100 \sim 800\text{ nm}$ である、請求項 4 に記載のホイル。

【請求項 6】

生物活性物質が、生分解性物質中にカプセル封入されている、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のホイル。

【請求項 7】

生分解性物質が、ラクチド含有ポリマーからなる請求項 6 に記載のホイル。

【請求項 8】

ラクチド含有ポリマーが、ポリ(D, L - 乳酸 - コ - トリメチレンカーボネート)である、請求項 7 に記載のホイル。

20

【請求項 9】

生物活性物質が、生体適合性で、非生分解性の物質の材料にカプセル封入されている、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のホイル。

【請求項 10】

生体適合性で、非生分解性の物質が、合成ポリマー物質である、請求項 9 に記載のホイル。

【請求項 11】

e - P T F E ホイルを生物活性物質で浸漬する方法であって、以下の工程：

1 . ナノ粒子の生体適合性物質の表面層によってナノ粒子中にカプセル封入した物質を提供する工程；

30

2 . ナノ粒子を流体媒体中に懸濁する工程；

3 . 圧力差をホイルにわたってかけて、ナノ粒子を隙間に運ぶ前記流体媒体の流れをホイルの隙間に押し込む工程、を含む方法。

【請求項 12】

圧力差が、 $10\text{ }\mu\text{m}$ までの範囲にある、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

さらに、ナノ粒子を塊にして、ホイル隙間中に圧力差によって押し込まれるナノ粒子の材料をホイル中にアンカーする工程を含む請求項 11 または 12 に記載の方法。

40

【請求項 14】

塊にする工程が、ホイルを加熱することによって達成される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

さらに、生体適合性物質の表面層を溶解し、圧力差によってホイル隙間に押し込まれたナノ粒子の材料を、液体剤中に溶解する物質を生体適合性物質として選択することによって、ホイルにアンカーする工程；ナノ粒子と液体剤を接触させる工程、及び、熔融構造物を作って e - P T F E ホイルの隙間中に押し込まれる物質をアンカーする工程、を含む、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 16】

液体剤が超臨界 CO_2 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

50

さらに、e - P T F E ホイルを超臨界 C O₂ で処理する工程を含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

ナノ粒子と液体剤を接触させる工程が、3 0 分間、3 0 5 パールの圧力で行われる、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の e - P T F E 浸漬ホイルを含み、遊離性生物活性物質を保有する補綴。

【請求項 2 0】

補綴が、e - P T F E 浸漬ホイルの層を含むステントである、請求項 1 9 に記載の補綴。 10

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生物活性物質で浸漬された e - P T F E (発泡ポリテトラフルオロエチレン) ホイル、そのようにホイルを浸漬する方法、及び e - P T F E 浸漬ホイルを含み、それによって遊離性生物活性物質を有する補綴に関する。

この特許出願は、2 0 0 0 年 9 月 2 8 日に提出された英国特許出願第 0 0 2 3 8 0 7 . 1 号の優先権を主張する。

本発明の分野

ステント移植片のような補綴は、通常、e - P T F E 膜を含み、これは、体内において不活性であり、及び有用なバリア機能を提供し得るものである。近年、ステント、移植片及び他の補綴において生物活性物質を取り込む方法を発明するように、補綴の製造者に対して要求してきた。成長因子は、組み入れるのに有利な生物活性物質の 1 つである。他は、細胞増殖調節剤又は転位調節剤、及び血栓症を抑制する剤を含んでもよい。e - P T F E ホイル (又は、ここで「膜」又は「フィルム」と称する) の数え切れない隙間 (i n t e r s t i c s) は、生物活性物質の配置にとって魅力的な位置を提供するが、方法は、活性物質を有するこの隙間をロードする方法を見いだす必要がある。 20

本発明の目的は、そのようなロードを達成する一つのルートを提供することにある。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

30

技術的背景

U S - A - 5 4 8 0 7 1 1 は、ナノ多孔性 P T F E 及びその生物材料としての使用を開示する。

U A - A - 5 7 1 6 6 6 0 は、固体不溶性生体適合性物質で浸漬した e - P T F E 補綴、具体的に、細胞外マトリックスタンパク質、たとえば、コラーゲン又はゼラチンを開示する。

U S - A - 5 9 7 2 0 2 7 は、多孔性ステントを生物材料、例えば、薬剤でロードすることを提案する。この薬剤は、溶液中で運ばれ、その溶液に圧力勾配をかけることによって隙間にロードしてもよい。ステントは、金属粉末からできていてもよいが、P T F E 粉末から作られるステントの可能性も、言及される。 40

E P - A - 0 7 0 6 3 7 6 は、ステントの製造におけるタキソールの使用を開示する。タキソールは、抗血管形成因子として開示されている。

発明の概要

本発明の目的は、生物活性物質で浸漬した e - P T F E ホイルを提供することにある。

この目的は、独立請求項 1 の主題によって解決される。さらに、態様は従属請求項 2 ~ 1 0 に記載されている。

本発明の他の目的は、e - P T F E ホイルを生物活性物質で浸漬する方法を提供することにある。

この目的は、独立請求項 1 1 によって解決される。さらなる態様は、従属請求項 1 3 ~ 1 8 に記載されている。

50

本発明のさらなる目的は、遊離性生物活性物質を有する浸漬した e - P T F E ホイルを含むステントのような補綴を提供することにある。

この目的は、独立請求項 19 によって解決される。さらなる態様は、従属請求項 20 に記載されている。

本発明の一つの態様において、e - P T F E ホイルを生物活性物質で浸漬する方法が適用される。これは、ホイルにわたって、ホイルの隙間に液体媒体中のナノ粒子の懸濁液を押し込む (u r g e) のに十分な圧力差をかけることを含む。他の態様において、本発明は、そのように浸漬した e - P T F E ホイルを提供する。さらに他の態様において、本発明は、そのように浸漬した e - P T F E ホイルを含む補綴を提供する。

【 0 0 0 3 】

10

e - P T F E ホイルの隙間の典型的な寸法を考えると、そのような浸漬に役に立つナノ粒子の大きさの範囲は、概して、典型的な球状ナノ粒子 (ナノ球体) の平均寸法として、10 nm ~ 5 μ m の範囲にある。好ましい寸法範囲は、100 ~ 800 nm である。

都合よく、ナノ粒子は、興味のある生物活性物質をカプセル封入する表面層を有し、この表面層は、都合よく生物吸収性 (b i o a b s o r b a b l e) であり、ラクチド含有ポリマー、例えば、ポリ (D , L - 乳酸)、ポリ (D , L - 乳酸 - コ - グリコリド)、及びポリ (D , L - 乳酸 - コ - トリメチレンカーボネート) であり得、後者は、以下、ポリ (D , L - 乳酸 - コ - T M C) と略す。

【 0 0 0 4 】

ひとたび、ナノ粒子がホイル隙間に押し込まれると、ナノ粒子によって届けられた生物活性物質は、そこにアンカーされるべきである。本発明者がナノ粒子ロードをアンカーすることを見いだした一つの方法は、浸漬したホイルの熱処理を行ってナノ粒子を塊にすることである。他は、Walter Michaeli の「Microporous, resorbable implants produced by the CESP process」と題する Advanced Engineering Materials 1999 年、vol. 1、No. 3 - 4、206 ~ 208 頁、及び Oliver Pfannschmidt の「Institut für Kunststoffverarbeitung, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule, D - 52062 Aachen, Germany」に記載された CESP 法に従う CO₂ 手法を行うことである。その内容は、本明細書に参照として取り入れられる。そのコピーは、優先権証明書、つまり GB 0023807.1 に添付されている。

20

30

調製技術の議論及びあらかじめ形成されたポリマーから生分解性ナノ粒子を形成するメカニズムに対し、読み手は Quintanar - Guerrero, Alleman, Fessi 及び Doelker による論文「Drug Development and Industrial Pharmacy」24 (12) , 1113 ~ 1128 頁 (1998 年) に言及してもよい。この内容も、本明細書に参照として取り入れられる。コピーは、優先権証明書、つまり GB 0023807.1 に添付されている。

【 0 0 0 5 】

要するに、ここにおいて好ましい方法は、ナノ粒子生産工程、その後の e - P T F E ホイルを圧力セル中で、ナノ粒子の懸濁液で浸漬するためのロード工程、その後のナノ粒子によってホイル中に運ばれる生物活性物質をホイルに固定するためのアンカー工程を含む。都合よく、ポリマーのナノ粒子は、溶媒蒸発又は溶媒置換技術によって生産される。ナノ粒子を薬品又は他の生物活性物質でロードすることは、ナノ粒子生産工程中に行われる。より特別に、ポリ (D , L - 乳酸)、ポリ (D , L - 乳酸 - コ - グリコリド)、又はポリ (D , L - 乳酸 - コ - トリメチレンカーボネート) であり得るベースポリマーは、溶媒中に溶解される。この溶媒は、この方法が溶媒置換方法であるときは、アセトンのような水混和性溶媒であり得る。

40

これとは別に、溶媒は、この技術が溶媒蒸発技術であるときは、CH₂Cl₂ のような水非混和性溶媒であり得る。

50

【0006】

第2の工程において、生物活性物質、例えば、薬又は薬品は、ポリマー溶液中に溶解又は費やされ、その後、溶液は、連続的に攪拌しながら水相中に注がれる。水相は、界面活性剤又は安定化剤を含んでいるだろう。その後、溶媒は、水相から真空蒸留される。

得られるナノ粒子の懸濁液は、連続的に攪拌しながら圧力チャンバーに移動される。攪拌を続けながら、都合よく10バールまでの範囲の圧力差を、圧力セル内でホイルワークピースにわたってかけ、圧力差が懸濁液をホイルで形成されたe-P T F Eの隙間に押し込む。この手法を必要な回数だけ繰り返し、ホイルワークピースを特定量のナノ粒子材料でロードする。

ナノ粒子材料をホイルの隙間にアンカーすることにつき、浸漬したホイルを、ナノ粒子の凝集又は溶融を隙間の中で引き起こすための上昇した温度で処理し得る。これとは別に、超臨界CO₂で処理することを利用し得る。この超臨界CO₂は、ナノ粒子に溶解し、それによって流動するようになり、ナノ粒子が個々の形を失ってe-P T F Eホイル中に溶融構造物を形成する。この溶融構造物を得る一つの方法は、上述したC E S P法におけるR W T H - A a c h e nによって提唱された手法に従うことである。

【0007】

e-P T F Eホイルのナノ粒子によるロードは、ホイル材料で達成され得、その後医療デバイス中に取り入れられ、又はすでに医療デバイスに取り入れられているホイル中に取り入れられてもよい。医療デバイスは、補綴、例えば、血管の補綴であり得る。発明者にとって特別な興味のある血管の補綴は、血管ステントである。本発明は、血管ステントでないス
20
テント、例えば、胆管、尿管、尿道(u r e t h e r a l)、食道、気管-気管支、結腸直腸、前立腺、肝のステントに対する適用を見いだすだろう。

圧力セル中のホイルにかけた圧力差は、ナノ粒子懸濁液の正の加圧をホイルの上流側にかけることによって、あるいは、十分に低い真空をホイルワークピースの下流側にかけることによって達成され得る。

ナノ粒子がロード工程において圧力セル中に懸濁されているときの流体媒体は、ナノ粒子が作られる流体媒体と同じである必要はない。

生物活性物質、例えば、薬又は薬品のナノ粒子内へのカプセル封入は、生分解性合成ポリマー物質、例えば、ポリラクチド及びそのコポリマー、ポリエステル、ポリエーテル、ポリシアノアクリレート、ポリヒドロキシカルボン酸、ポリ無水物、ポリアミノ酸、ポリヒ
30
ドロキシアルカノエートで行う必要はないが、その代わりに生体適合性で非生分解性の物質で行い、例えば、薬が患者の体に拡散することを介してもよい。この課題に対して考えられることは、例えば、生体適合性の合成ポリマー物質である。これらは、シリコーン、ポリアルカン(p o l y a l c a n e)、ポリテトラフルオロエチレン(P T F E、e - P T F E)、ポリエチレン、例えば、超純粋ポリエチレン(H O S T A L O N^{T M}(G U R)、L U P U L E N^{T M}(U H M))、ポリプロピレン、ポリエステル(例えば、ポリエチレンテレフタレート又はD A C R O N^{T M}、T E R Y L E N E^{T M})、ポリウレタン、並びに、ポリアミド、例えば、N Y L O N^{T M}、脂肪族及び芳香族ポリアミド(N O M E X、K E V L A R)を含む。

本発明は、例示目的で、添付の図面を参照することによって説明される。
40

【0008】

様式の概要 / 好ましい態様

(o/w)エマルション溶媒蒸発技術による生分解性球体ナノ粒子の生成を以下に示す。

粒子製造:

ポリ(D, L-乳酸-コ-トリメチレンカーボネート)(90:10)で作られた球体ナノ粒子を、(o/w)エマルション溶媒蒸発技術によって調製した。ポリマー200mg、5mlメチレンクロライド中モデル物質デキサメサゾン40mgを混合し、0に冷却した。水性4%(w/v)ポリビニルアルコール溶液(M=61,000)50mlを添加した。この混合物を、30秒間ボルテックス(I k a U l t r a T u r r a x 2 5 T ベーシック、S t a u f e n i m B r e i s g a u, ドイツ)によって、150,
50

0 0 0 r p m、0 で分散させ、その後、超音波発生装置 (B r a n s o n S o n i f i e r 4 5 0、D a n b u r y, C T, U S A) を使用して120秒間超音波処理し、水中油エマルションを生成した。この溶液は、500ml フラスコに注がれ、有機相を30分間圧力の段階的減少の下 (大気圧から > 60 ミリバールまで低い) で除去した。

【0009】

粒子ロード：

次に、ナノ球体懸濁液を直接使用して、この球体を e - P T F E 層に、e - P T F E 被覆ステントを通した圧力下で加圧することによってナノ球体懸濁液を取り入れ、ホイルをナノ粒子でロードしたものを得た。このステントをフリーズドライして、R E M で分析した。図1Aおよび1Bは、未処理で未ロードの e - P T F E ホイルを2500倍 (図1A) 及び5000倍 (図1B) で拡大した R E M 写真を示す。図2A及び2Bは、それぞれ2500倍 (図2A) 及び5000倍 (図2B) の拡大レベルでの、ナノ球体でロードした e - P T F E 層を示す。

10

残りの懸濁液及び濾液の粒子サイズ分布を、粒子サイザー (M a l v e r n i n s t r u m e n t s、分散ユニット H y d r o 2000 付き M a s t e r s i z e r 2000, W o r c e s t e r s h i r e, 英国) を使用して測定した (以下の表1 参照)。表1は、粒子分布のメジアン粒子 ($n = 0.5$) の算出した直径を示す。

表1：残りの懸濁液及び濾液の $d (n = 0.5)$ 値と、初期の $d (n = 0.5)$ 値との対比

初期懸濁液	残りの懸濁液	濾液
$d(n=0.5)$ nm	$d(n=0.5)$ nm	$d(n=0.5)$ nm
542	991	256

20

残りの懸濁液は、新しく生産された初期の懸濁液と比べて、より高い $d (n, 0.5)$ 値を示した。小さな球体の量は、懸濁液中においてロードプロセスの間に減少する。濾液は、直径約300nmを超える球体を残す e - P T F E 層のフィルター効果のため、256nmの低い媒体 $d (n, 0.5)$ 値を示す。

30

【0010】

アンカー：

e - P T F E マトリックス中のポリ (D, L - 乳酸 - コ - T M C) (90 : 10) ナノ球体によって保有されるデキサメサゾンアンカーするために、ナノ球体ロード e - P T F E ホイルを、引き続いて超臨界の CO_2 で30分間、305バールの圧力下で処理した。R E M 写真を撮り、ここに、それぞれ2500倍 (図3A及び4A) 及び5000倍 (図3B及び4B) の2つの異なる拡大レベルで示し、図3A及び3Bは、ナノ球体ロード e - P T F E を有さず、図4A及び4Bは、ナノ球体ロード e - P T F E を有する。ナノ球体は、これらの超臨界 CO_2 への溶解性のためにその球形を失う。

40

残りの e - P T F E マトリックスは、超臨界 CO_2 に不溶であり、溶解したポリ (D, L - 乳酸 - コ - T M C) によって囲まれている。

加えて、疎水性モデル物質デキサメサゾンのポリ (D, L - 乳酸 - コ - T M C) (90 : 10) からの遊離実験を行った。ここで、(90 : 10) の比は、ラクチド対 T M C の質量比である。デキサメサゾンでロードされたナノ球体を遊離実験に使用した。ナノ球体の媒体 $d (n = 0.5)$ は、216nmだった。

ナノ球体を、ポリマーの初期量に対して20% (w / v) のデキサメサゾン含量を有する o / w 溶媒蒸発技術によって製造した。図5は、遊離パターンを示す。直線の実線はベストフィットの線、実験的データポイントの少なくとも平方分析 (s q u a r e a n a l

50

y s i s) の結果を示す。 $R^2 = 0.9927$ の分散も示す。分散が 1.0 に非常に近いこと、及び実験データポイントと直線との非常に良好な一致は、デキサメサゾンがナノ球体から遊離する割合が時間によって変化しないことを示唆している。従って、定常的な量のデキサメサゾンが、ナノ球体のカプセル封入を通して移動する。

【0011】

次に、ナノ球体に取り入れられたデキサメサゾンの量を測定し、効果的な薬ロードを算出した。ロードは、11.39%と決定された。

エマルション溶媒蒸発プロセスに従って、薬をナノ粒子に取り入れる間、大量の薬が水性 PVA - 溶液中に移動する。また、続く溶媒洗浄の間、水相への移動が起こる。デキサメサゾンの PVA 溶液中及び洗浄水中の量は、UV 分光法を使用して測定した。図 6 は、デキサメサゾンを含むナノ球体の生産に使用される PVA 溶液の UV スペクトル (実線) を示す。 10

4% (w/v) PVA 溶液 (M = 61,000) を標準として測定した。純粋な PVA 溶液の測定は、著しい吸光を生ずる。このため、溶液を 2 - 8 の割合 (PVA 溶液を含むデキサメサゾン 2 部に対して 4% PVA 溶液 8 部) で希釈した。図 6 (PVA - 2 - 10 曲線) 参照のこと。デキサメサゾンの λ_{max} 値を 242.3 nm として測定した。

【0012】

図 7 は、4% PVA 溶液 (M = 61,000) 中のデキサメサゾンに対する検量線を示す。 λ_{max} におけるそれぞれの吸光度を異なるデキサメサゾン濃度に対して測定した。直線は、実験的データポイントのベストフィットの少なくとも平方分析線を示す。直線回帰の方程式も示した。実験値の良好な一致が直線回帰フィットで得られた。 20

続いて、デキサメサゾンの洗浄水溶液中の量を測定した。

図 8 は、洗浄水溶液中のデキサメサゾンの UV スペクトルを示す。試料は、水を標準として測定した。溶液中のデキサメサゾンの量は、また、著しい吸収を生ずる。試料を 2 - 8 の割合 (洗浄水 2 部に対して蒸留水 8 部) で希釈した。

図 9 は、蒸留水中のデキサメサゾンに対する検量線を示す。 $\lambda_{max} = 242 \text{ nm}$ でのそれぞれの吸光度を異なるデキサメサゾン濃度に対して測定した。直線は、実験的データポイントのベストフィットの少なくとも平方分析線を示す。直線回帰の方程式も示した。さらに、直線回帰フィットを有する実験値の良好な一致が得られた。

PVA - 2 - 10 試料中のデキサメサゾンの濃度を測定した ($c = 29.53 \times 10^{-3} \text{ g/l}$)。それゆえ、希釈 PVA - 2 - 10 試料 (= 10 ml) 中のデキサメサゾンの量は、 $2.963 \times 10^{-4} \text{ g}$ に達した。結果、同一の量が 2 ml 未希釈 PVA 溶液中に存在する。PVA 溶液 50 ml を生産プロセス中に使用し、及びデキサメサゾンの量を算出し得る (表 2 で言及)。洗浄溶液中のデキサメサゾンの量は、同様の方法で算出した。 30

【0013】

表 2 : PVA 溶液中及び洗浄溶液中のデキサメサゾンの量の算出

	生産プロセスにおける使用体積	UV分光法に対する使用体積	希釈 (UV分光法)	試料名
PVA溶液	50ml	2ml	2ml + 8ml	PVA-2-10
洗浄溶液	50ml	2ml	2ml + 8ml	洗浄-2-10

	$\lambda_{\max}$ での吸光度	直線回帰からの式(図7 + 9)	濃度	5 0ml中デキサメサゾン質量
PVA溶液	1.043 a. u.	$X=(y-0.0098)/35.664$	29.53×10^{-3} g/l	7.38mg
洗浄溶液	0.867 a. u.	$X=(y-0.0063)/40.729$	21.13×10^{-3} g/l	5.28mg
				Σ 12.66mg

10

【0014】

生産中、ポリマー200mg及びデキサメサゾン40mgを使用した。12.66mgが水相中に移動し、そのため、デキサメサゾン27.34mgが、11.39%に相当する球体中に取り入れられたと思われる。

前記において、以下の略語を使用した：

20

o/w：水中油

w/v：体積あたりの質量

REM：ラスター電子顕微鏡

【0015】

本発明のベストモードは、モデル物質デキサメサゾンに対してのみ上述されている。e-P T F Eマトリックス中に、疎水性デキサメサゾンの代わりにアンカーされる生物学的に活性な物質の例は、親水性物質、例えば、アクリフラビンヒドロクロライド(acryflavine-hydrochloride)；ラパマイシン(シロリマス(sirolimus))；タキソール(パクリタキセル(paclitaxel))；NO供与体又は局所的NO濃度の増加を直接的又は間接的に引き起こす他の剤；内皮化(endothelialisation)を亢進する成長因子(例えば、VEGF)；成長抑制物質；成長受容体拮抗物質；抗血栓剤(例えば、ヘパリン、GP I I b / I I I a受容体拮抗物質、ヒルジン)；マトリックスメタロプロテイナーゼ抑制物質；抗炎症剤；抗増殖剤(例えば、抗腫瘍剤、例えば、ミトマイシンC、5-FU、シスプラチン、ジェムシタビン(gemcitabine)、放射性核種、アドリアマイシン、ミトキサントロン)；アンチセンス剤(オグリゴヌクレオチド(oligonucleotides)又は転写/翻訳プロセスをブロックする関連する化合物)；抗転位薬；抗酸化剤；アポトーシスを促進又は抑制する剤；遺伝子導入に対する遺伝子(ベクター中にむき出し又はパックされて)；ホルモン、ソマトスタチン類似体；抗体；血管形成抑制物質/促進物質である。

30

【0016】

超臨界CO₂は、e P T F Eホイル中の生物活性物質をアンカーするために使用される。しかしながら、臨界窒素のような生物活性物質を害さない他の臨界剤を使用することも考えられる。

40

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1A及び図1Bは、未処理かつ未ロードのe-P T F E試料の2つの倍率のREM写真である(1A：2500倍、1B：5000倍)。

【図2】

図2A及び図2Bは、ナノ球体でロードしたe-P T F E層の2つの倍率のREM写真である(2A：2500倍、2B：5000倍)。

50

【図 3】

図 3 A 及び図 3 B は、 CO_2 処理した後の e - P T F E 層の R E M 写真である (3 A : 2 5 0 0 倍、3 B : 5 0 0 0 倍)。

【図 4】

図 4 A 及び図 4 B は、 CO_2 処理した後のナノ球体でロードした e - P T F E 層の R E M 写真である (4 A : 2 5 0 0 倍、4 B : 5 0 0 0 倍)。

【図 5】

図 5 は、ポリ - (D , L - ラクチド - コ - T M C) (9 0 : 1 0) からのデキサメサゾン
をロードしたナノ球体の遊離パターンをしめすダイアグラムを示す。

【図 6】

図 6 は、デキサメサゾン含有 P V A 溶液の U V スペクトルを示す。

【図 7】

図 7 は、4 % P V A 溶液 (M = 6 1 0 0 0) 中のデキサメサゾンに対する検量線を示す。

【図 8】

図 8 は、デキサメサゾンで汚染された洗浄溶液の U V スペクトルを示す。

【図 9】

図 9 は、水中デキサメサゾンに対する検量線を示す。

10

【図 5】

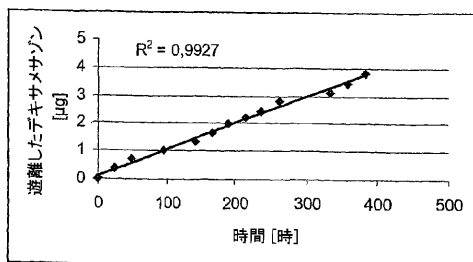


Figure 5

【図 8】

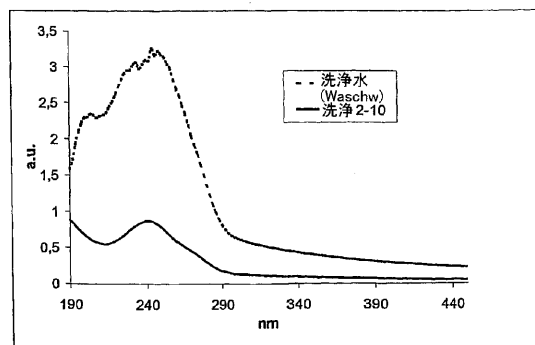


Figure 8

【図 7】

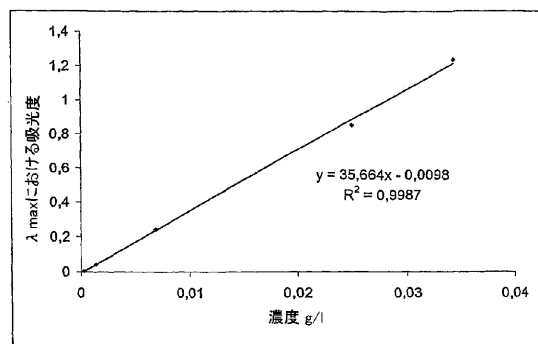


Figure 7

【図 9】

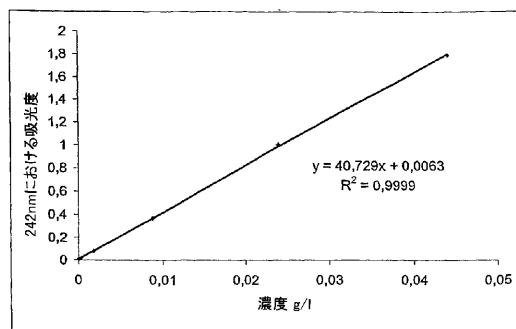


Figure 9

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
4 April 2002 (04.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/26279 A1(51) International Patent Classification: A61L 31/04,
31/16[DE/DE]; Preusweg 64, 52062 Aachen (DE), HILGERS,
Christoph [DE/DE]; Dürrener Strasse 159, 52249 Es-
schweller (DE).

(21) International Application Number: PCT/EP01/11267

(74) Agents: HOFFMANN.EITLLE et al.; Arabellastrasse 4,
81925 München (DE).

(22) International Filing Date:

28 September 2001 (28.09.2001)

(81) Designated States (national): JP, US.

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(84) Designated States (regional): European patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

(30) Priority Data:

0023807.1 28 September 2000 (28.09.2000) GB

Published:

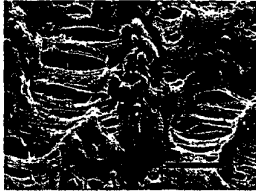
--- with international search report

--- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments(71) Applicant (for all designated States except US): AN-
GIOMED GMBH & CO. MEDIZINTECHNIK KG
[DE/DE]; Wachhausstrasse 6, 76227 Karlsruhe (DE).For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): KLEE, Doris

(54) Title: E-PTFE FOIL IMPREGNATED WITH AN ENCAPSULATED BIOACTIVE SUBSTANCE



WO 02/26279 A1

(57) Abstract: The present invention relates to an e-PTFE (expanded polytetrafluoroethylene) foil impregnated with a biologically-active substance, to a method of so impregnating a foil and to a prosthesis comprising an e-PTFE impregnated foil, thereby carrying a releasable biologically-active substance.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

E-PTFE FOIL IMPREGNATED WITH AN ENCAPSULATED BIOACTIVE SUBSTANCE

This invention relates to an e-PTFE (expanded polytetrafluoroethylene) foil impregnated with a biologically-active substance, to a method of so impregnating a foil and to a prosthesis comprising an e-PTFE impregnated foil, thereby carrying a releasable biologically-active substance.

This patent application declares priority of UK Patent Application No. 0023807.1 filed September 28, 2000.

Field of the invention

Prostheses, such as stent grafts, can usefully include an e-PTFE membrane, this being inert in the body and capable of providing a useful barrier function. In recent years it has been a challenge to manufacturers of prostheses to invent ways of incorporating biologically active substances in stents, grafts and other prostheses. Growth factors are one such biologically-active substance which would be advantageous to incorporate. Others may include cellular proliferation-controlling or migration-controlling agents, and agents to inhibit thrombosis. The innumerable interstices in an e-PTFE foil (otherwise called herein „membrane“ or „film“) provide an attractive location for the placement of biologically active substances, but a method has to be found how to load the interstices with the active substance.

The present invention aims to provide one route to achieve such loading.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

2

Technological Background

US-A-5480711 discloses nano-porous PTFE and its use as a biomaterial.

UA-A-5716660 discloses e-PTFE prostheses impregnated with a solid insoluble biocompatible material, specifically an extracellular matrix protein, such as collagen or gelatin.

US-A-5972027 proposes to load a porous stent with a biomaterial, such as a drug. The drug may be carried in solution and loaded into the pores by imposing a pressure gradient on the solution. The stent is to be made from a metal powder, but the possibility of a stent made from PTFE powder is also mentioned.

EP-A-0706376 discloses use of taxol in the manufacture of a stent. Taxol is disclosed as an anti-angiogenic factor.

Summary of the invention

It is an object of the present invention to provide e-PTFE foil impregnated with a biologically-active substance.

This object is solved by the subject matter of independent claim 1. Further embodiments are described in dependent claims 2 to 10.

It is another object of the present invention to provide a method of impregnating an e-PTFE foil with a biologically-active substance.

This object is solved by independent claim 11. Further embodiments are described in dependent claims 13 to 18.

It is yet another object of the present invention to provide a prosthesis, such as a stent, comprising an impregnated

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

3

e-PTFE foil carrying a releasable biologically-active substance.

This object is solved by independent claim 19. A further embodiment is described in dependent claim 20.

In accordance with one aspect of the present invention, there is provided a method of impregnating an e-PTFE foil with a biologically-active substance which involves imposing across the foil a pressure differential sufficient to urge into the interstices of the foil a suspension of nanoparticles in a fluid medium, the nanoparticles containing a desired biologically-active substance. In another aspect, the present invention provides an e-PTFE foil so impregnated. In yet another aspect, the present invention provides a prosthesis comprising an e-PTFE foil so impregnated.

Taking account of typical dimensions of interstices in e-PTFE foils, the range of sizes of nanoparticles which lend themselves to such impregnation will generally lie in a range of from 10 nm to 5 μ m for average diameters of typically spherical nanoparticles (nanospheres). A preferred range of diameters is from 100 to 800 nm.

Conveniently, the nanoparticles have a surface layer which encapsulates the active substance of interest, and the surface layer is conveniently bioabsorbable and can be of a lactide-containing polymer, such as poly(D,L-lactic-acid), poly(D,L-lactic-acid-co-glycolide) and poly(D,L-lactic-acid-co-trimethylenecarbonate), the latter hereinafter abbreviated to poly(D,L-lactide-co-TMC).

Once the nanoparticles have been urged into the foil interstices, the biologically-active substance delivered by the nanoparticles should be anchored there. One way which the present inventors have found to anchor the nanoparticle load is to perform a heat treatment of the impregnated foil to agglomerate the nanoparticles. Another is to perform a

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

4

CO₂ procedure in accordance with the CESP process described in *Advanced Engineering Materials* 1999, Vol 1, No. 3-4, pages 206 to 208 in the paper entitled „*Microporous, resorbable implants produced by the CESP process*“ by Walter Michaeli and Oliver Pfannschmidt of the „Institut für Kunststoffverarbeitung, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule, D-52062 Aachen, Germany“, the content of which paper being incorporated in this specification by this reference. A copy is annexed to the priority document, that is, GB 0023807.1.

For a discussion of preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers, the reader may refer to a paper by Quintanar-Guerrero, Alleman, Fessi and Doelker which appears in „*Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24(12), 1113-1128 (1998)“. The content of this paper is also incorporated in this specification by this reference. A copy is annexed to the priority document, that is, GB 0023807.1.

In a nutshell, the method preferred herein involves a nanoparticle production step followed by a loading step to impregnate an e-PTFE foil in a pressure cell with a suspension of nanoparticles, followed by an anchoring step to fix in the foil the biologically-active substance carried into the foil by the nanoparticles.

Conveniently, polymeric nanoparticles are manufactured by a solvent evaporation or solvent displacement technique. Loading of the nanoparticles with a medicament or other biologically-active substance is carried out during the nanoparticle manufacturing step.

With more specificity, a base polymer which can be a poly(D,L-lactide), poly(D,L-lactide-co-glycolide) or a poly(D,L-lactide-co-trimethylenecarbonate) is dissolved in a solvent. The solvent can be a water-miscible solvent, such as acetone, when the method is a solvent displacement method.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

5

Alternatively, the solvent can be a water-non-miscible solvent, such as CH_2Cl_2 , when the technique is a solvent evaporation technique.

In a second step, the biologically-active substance, such as a drug or medicament, is dissolved in or disbursed in the polymer solution and then the solution is poured into an aqueous phase with continuous stirring. The aqueous phase will likely contain a surfactant or a stabiliser. Afterwards, the solvent is vacuum-evaporated from the aqueous phase.

The resulting suspension of nanoparticles is transferred into a pressure chamber with continuous stirring. Continuing the stirring, a pressure differential conveniently in the range up to 10 bar is imposed within the pressure cell across a foil workpiece in order that the pressure differential shall drive the suspension into the interstices of the e-PTFE which forms the foil. The procedure is repeated, as many times as is necessary, in order to load the foil workpiece with the specified quantity of nanoparticle material.

For anchoring the nanoparticle material within the interstices of the foil, the impregnated foil can be treated at an elevated temperature to bring about agglomeration or melting of the nanoparticles within the interstices. Alternatively, a treatment with supercritical CO_2 can be utilised. The supercritical CO_2 dissolves the nanoparticles, thereby causing it to flow so that the nanoparticles lose their discrete shape to form a molten structure within the e-PTFE foil. One way of obtaining this molten structure is to follow the procedures advocated by RWTH-Aachen in its CESP process, mentioned above.

It will be appreciated that the loading of the e-PTFE foil with nanoparticles can be accomplished with foil material to be later incorporated into a medical device, or can be incorporated into foil which has already been incorporated in

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

6

a medical device. The medical device can be a prosthesis, such as a vascular prosthesis. A vascular prosthesis of special interest for the inventors is a vascular stent. The invention will likely find applications for stents which are not vascular stents, such as biliary, ureteral, urethral, oesophageal, tracheo-bronchial, colorectal, prostatic, hepatic stents.

The pressure differential imposed on the foil in the pressure cell can be achieved by positive pressurisation of the nanoparticle suspension on the upstream side of the foil, or by imposing a sufficiently low enough vacuum on the downstream side of the foil workpiece.

The fluid medium within which the nanoparticles are suspended for the loading step in the pressure cell need not be the same fluid medium in which the nanoparticles are created.

The encapsulation of the biologically-active substance, such as a drug or medication, within the nanoparticles need not be with biodegradable synthetic polymeric materials, such as poly-lactide and its co-polymers, polyester, polyether, polycyanoacrylate, polyhydroxycarboxylic acid, polyanhydride, polyaminoacids, polyhydroxyalkanoate, but could instead be with bio-compatible, non-biodegradable materials through which, for example, the drug diffuses into the body of the patient. To be considered for this task are, for example, biologically-compatible synthetic polymeric substances. These include silicone, polyalcane, polytetrafluorethylene (PTFE, e-PTFE), polyethylene, such as ultra-pure polyethylene (HOSTALON™ (GUR), LUPULEN™ (UHM)), polypropylene, polyester (such as polyethylene terephthalate or DACRON™, TERYLENE™), polyurethane, as well as polyamides, such as NYLON™, aliphatic and aromatic polyamides (NOMEX, KEVLAR).

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

7

Brief description of the Figures

The present invention will be described, by way of example, with reference to the accompanying figures, of which

- Fig. 1A and 1B show REM pictures of an untreated and unloaded e-PTFE sample at two magnifications (1A: 2500 fold; 1B: 5000 fold);
- Fig. 2A and 2B show REM pictures of an e-PTFE layer loaded with nanospheres at two magnifications (2A: 2500 fold; 2B: 5000 fold);
- Fig. 3A and 3B show REM pictures of an e-PTFE layer after CO₂ treatment (3A: 2500 fold; 3B: 5000 fold);
- Fig. 4A and 4B show REM pictures of an e-PTFE layer loaded with nanospheres after CO₂ treatment (4A: 2500 fold; 4B: 5000 fold);
- Fig. 5 shows a diagram depicting a release pattern of dexamethasone-loaded nanospheres out of poly-(D,L-lactide-co-TMC) (90:10);
- Fig. 6 shows UV-spectra of dexamethasone-containing PVA-solution;
- Fig. 7 shows a calibration line for dexamethasone in a 4% PVA-solution (M=61000);
- Fig. 8 shows UV-spectra of wash solution contaminated with dexamethasone;

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

8

Fig. 9 shows a calibration line for dexamethasone in water.

Brief mode/Preferred embodiments

The production of biodegradable spherical nanoparticles by an (o/w)-emulsion-solvent evaporation technique is described below.

Particle production:

Spherical nanoparticles made of poly(D,L-lactic-acid-co-trimethylenecarbonate) (90:10) were prepared by an (o/w)-emulsion-solvent evaporation technique. 200 mg of the polymer, 40 mg of the model substance dexamethasone in 5 ml of methylenechloride were mixed and cooled down to 0°C. 50 ml of an aqueous 4% (w/v) polyvinylalcohol solution (M=61.000) were added. This mixture was dispersed for 30 s by vortex (Ika Ultra Turrax 25 T basic, Staufen im Breisgau, Germany) at 150.000 rpm at 0°C and then sonicated using an ultrasound generator (Branson Sonifier 450, Danbury, CT, USA) for 120 s to produce the oil in water emulsion. The solution was poured into an 500 ml flask and the organic phase was removed for 30 min under stepwise reduction of the pressure (room pressure down to >60 mbar).

Particle loading:

Next, the nanosphere suspension was directly used to incorporate the spheres into the e-PTFE layer by pressing the nanosphere suspension under pressure through an e-PTFE covered stent to obtain a loading of the foil with nanoparticles. The stent was freeze-dried and analysed with REM. Figure 1A and 1B show REM pictures of the untreated and unloaded e-PTFE foil in 2500 fold (Figure 1A) and 5000 fold magnification (Figure 1B). Figure 2A and 2B show the e-PTFE

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

9

layer loaded with nanospheres at magnification levels of 2500 fold (Figure 2A) and 5000 fold (Figure 2B), respectively.

The particle size distribution of the remaining suspension and the filtrate were measured (refer to Table 1 below) using a particle sizer (Malvern instruments, Mastersizer 2000 with dispersing unit Hydro 2000, Worcestershire, Great Britain). Table 1 shows the computed diameter d of the median particle ($n=0.5$) of the particle distribution.

Initial Suspension $d(n=0.5)$ in nm	Remaining Suspension $d(n=0.5)$ in nm	Filtrate $d(n=0.5)$ in nm
542	991	256

Table 1: $d(n=0.5)$ values of the remaining suspension and filtrate compared with the initial $d(n=0.5)$ value.

The remaining suspension shows a higher $d(n,0.5)$ value compared with the freshly produced initial suspension. The amount of small spheres decreases in the suspension during the loading process. The filtrate shows a lower median $d(n,0.5)$ value of 256 nm due to the filter effect of the e-PTFE layer which restrains spheres over approximately 300 nm in diameter.

Anchoring:

For anchoring the dexamethasone carried by the poly(D,L-lactide-co-TMC) (90:10)-nanospheres in an e-PTFE-matrix, the nanosphere-loaded e-PTFE foil was subsequently treated with supercritical CO_2 for 30 minutes under a pressure of 305 bar. REM pictures were taken, and are presented herein at two different magnification levels of 2500 fold (Figures 3A and 4A) and 5000 fold (Figures 3B and 4B), respectively, in Figures 3A, 3B without nanosphere-loaded e-PTFE and 4A, 4B with nanosphere-loaded e-PTFE. The nanospheres lose their spherical shape due to their solubility in supercritical CO_2 .

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

10

The remaining e-PTFE matrix is insoluble in supercritical CO₂ and is surrounded by the dissolved poly(D,L-lactide-co-TMC).

Additionally, a release experiment of the hydrophobic model substance dexamethasone from poly(D,L-lactide-co-TMC) (90:10) was performed. Here, the ratio (90:10) refers to the weight ratio of lactide to TMC. Dexamethasone-loaded nanospheres were used for the release experiments. The median $d(n=0.5)$ of the nanospheres was 216 nm.

The nanospheres were made by the o/w solvent evaporation technique with a content of 20 % (w/v) dexamethasone with respect to the initial amount of polymer. Figure 5 shows the release pattern. The straight solid line indicates a line of best fit, the result of a least square analysis of the experimental data points. The variance of $R^2=0.9927$ is also shown. The variance being very close to 1.0 and the very good agreement of the experimental data points with the straight line suggest that the rate at which dexamethasone is released from the nanospheres does not change with time. Therefore, a constant amount of dexamethasone migrates through the encapsulation of the nanospheres.

Next, the amount of dexamethasone incorporated into the nanospheres was determined, so that the effective drug loading could be calculated. The loading was determined to be 11.39 %.

During the incorporation of drugs into nanoparticles according to the emulsion solvent evaporation process, a large quantity of the drug migrates into the aqueous PVA-solution. Also during the subsequent solvent washing, migration into the aqueous phase occurs. The content of dexamethasone in the PVA-solution and in the wash-water was determined using UV-spectroscopy. Figure 6 depicts the UV-spectrum of the PVA-solution (solid line) used for the production of the nanospheres containing dexamethasone.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

11

A 4% (w/v) PVA-solution ($M=61.000$) as a standard was measured. The measurement of the pure PVA-solution yielded pronounced extinctions. For this reason, the solution was diluted in a ratio of 2 to 8 (2 parts of dexamethasone containing PVA-solution to 8 parts of a 4% PVA-solution). Reference is made to Figure 6 (curve PVA-2-10). The λ_{max} -value of dexamethasone was determined to be 242.3 nm.

Figure 7 shows the calibration line for dexamethasone in a 4% PVA-solution ($M=61.000$). The respective extinctions at λ_{max} were measured for different dexamethasone concentrations. The straight line indicates a least square analysis line of best fit of the experimental data points. The equation of the linear regression is also shown. Good agreement of the experimental values was obtained with the linear regression fit.

Subsequently, the content of dexamethasone in the wash water solution was measured.

Figure 8 shows the UV-spectra of dexamethasone in the wash-water solution. The samples were measured with respect to water as a standard. The content of dexamethasone in the solution again yielded pronounced extinctions. The sample was diluted in a ratio of 2 to 8 (2 parts of wash water to 8 parts of distilled water).

Figure 9 shows the calibration line for dexamethasone in distilled water. The respective extinctions at $\lambda_{\text{max}} = 242$ nm were measured for different dexamethasone concentrations. The straight line indicates a least square fit of the experimental data points. The equation of the linear regression is also shown. Again, good agreement of the experimental values with the linear regression fit was obtained.

The concentration of dexamethasone in the PVA-2-10 sample was determined ($c=29.53 \cdot 10^{-3}$ g/l). Hence, the amount of

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

12

dexamethasone in the diluted PVA-2-10 sample (=10 ml) amounts to $2.953 \cdot 10^{-4}$ g. Consequently, the same amount exists in the 2 ml undiluted PVA-solution. 50 ml of the PVA solution were used during the production process and the amount of dexamethasone can be calculated (refer to Table 2). The amount of dexamethasone in the wash solution was calculated in the same manner.

	Volume used in the production process	Volume used for UV-spectroscopy	Dilution (UV-spectroscopy)	Sample name
PVA-solution	50 ml	2 ml	2 ml + 8 ml	PVA-2-10
Wash-solution	50 ml	2 ml	2 ml + 8 ml	wash-2-10

	Extinction at λ max	Formula from linear regression (Fig. 7+9)	Concentration	Mass of dexamethasone in 50 ml
PVA-solution	1.043 a.u.	$X = (y - 0,0098) / 35.664$	$29.53 \cdot 10^{-3}$ g/l	7.38 mg
wash-solution	0.867 a.u.	$X = (y - 0,0063) / 40.729$	$21.13 \cdot 10^{-3}$ g/l	5.28 mg
				Σ 12.66 mg

Table 2: Calculation of the amount of dexamethasone in the PVA-solution and in the wash-solution

During production, 200 mg of the polymer and 40 mg of dexamethasone were used. 12.66 mg migrated into the aqueous

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

13

phases, so it can be assumed that 27.34 mg of dexamethasone was incorporated into the spheres corresponding to 11.39 %.

In the foregoing, the following abbreviations have been used:

o/w: oil in water

w/v: weight per volume

REM: Raster Electron Microscopy

The best mode of the invention has been described above only for the model substance dexamethasone. Examples of biologically-active substances to be anchored in an e-PTFE matrix instead of hydrophobic dexamethasone are: hydrophilic substances, such as acryflavine-hydrochloride; rapamycin (sirolimus); taxol (paclitaxel); NO donors or other agents directly or indirectly causing an increase of local NO concentration; growth factors to enhance endothelialisation (e.g. VEGF); growth inhibitors; growth receptor antagonists; antithrombotic agents (e.g. heparin, GPIIb/IIIa receptor antagonists, hirudin); matrix metalloproteinase inhibitors; anti-inflammatory agents; antiproliferative agents (e.g. anti-tumor drugs, e.g. mitomycin C, 5-FU, cisplatin, gemcitabine, radioactive nuclides, adriamycine, mitoxantrone); antisense agents (oligonucleotides or related compounds blocking transcription/translation process); antimigratory drugs; antioxidants; agents promoting or inhibiting apoptosis; genes for genettransfer (naked or packaged in vectors); hormones, somatostatin analogs; antibodies; angiogenesis inhibitors/promoters.

A supercritical CO₂ has been used for anchoring the biological active substance in the ePTFE foil. However, it is conceivable to use other supercritical agents, such as supercritical nitrogen, which do not harm the biologically active substance.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

14

C L A I M S

1. e-PTFE foil impregnated with an encapsulated biologically-active substance.
2. Foil as claimed in claim 1, wherein the biologically-active substance is encapsulated in nanoparticles.
3. Foil as claimed in claim 2, wherein the nanoparticles are generally spherical.
4. Foil as claimed in claim 3, wherein the generally spherical nanoparticles have a diameter which, on average, is in a range of from 10 nm to 5 μ m.
5. Foil as claimed in claim 4, wherein the range of average diameters extends from 100 to 800 nm.
6. Foil as claimed in any one of the preceding claims, wherein the biologically-active substance is encapsulated in a biodegradable substance.
7. Foil as claimed in claim 6, wherein the biodegradable substance is composed of a lactide-containing polymer.
8. Foil as claimed in claim 7, wherein the lactide-containing polymer is poly(D,L-lactic-acid-co-trimethylenecarbonate).
9. Foil as claimed in any one of claims 1 to 5, wherein the biologically-active substance is encapsulated in a material of biologically-compatible, non-biodegradable substance.
10. Foil as claimed in claim 9, wherein the bio-compatible, non-biodegradable substance is a synthetic polymeric substance.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

15

11. Method of impregnating an e-PTFE foil with a biologically-active substance, comprising the steps of:
 1. providing the substance encapsulated in nanoparticles by a surface layer of biologically-compatible substance of the nanoparticles;
 2. suspending the nanoparticles in a fluid medium;
 3. imposing a pressure differential across the foil to urge into the interstices of the foil a flow of said fluid medium which carries the nanoparticles into the interstices.
12. Method according to claim 11, wherein the pressure differential is in a range up to 10 bar.
13. Method according to claim 11 or 12, and including the further step of agglomerating the nanoparticles to anchor in the foil the material of the nanoparticles which have been urged by the pressure differential into the foil interstices.
14. Method as claimed in claim 13, wherein the agglomerating step is achieved by heating the foil.
15. Method as claimed in any one of claims 11 to 12, and including the further step of dissolving the surface layer of bio-compatible substance to anchor in the foil the material of the nanoparticles which have been urged by the pressure differential into the foil interstices by selecting as the biologically-compatible material a substance which is soluble in a liquid agent, contacting the nanoparticles with the liquid agent, and creating a molten structure so that the material urged into the interstices of the e-PTFE foil is anchored.
16. Method as claimed in claim 15, wherein the liquid agent is supercritical CO₂.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

16

17. Method as claimed in claim 16, and further including the step of treating the e-PTFE foil with supercritical CO₂.
18. Method as claimed in any one of claims 15 to 17, wherein the step of contacting the nanoparticles with the liquid agent runs for 30 minutes at a pressure of 305 bar.
19. Prosthesis comprising an e-PTFE impregnated foil as claimed in any one of claims 1 to 10 and carrying a releasable biologically-active substance.
20. Prosthesis as claimed in claim 19, wherein the prosthesis is a stent comprising a layer of e-PTFE impregnated foil.

WO 02/26279

PCT/EP01/11267



Fig. 1B

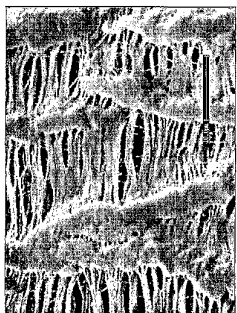


Fig. 1A

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

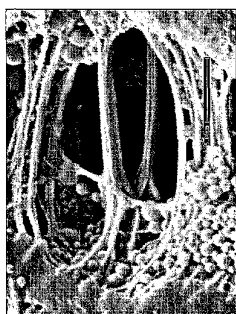


Fig. 2B

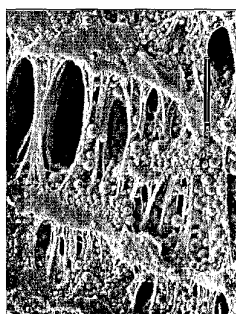


Fig. 2A

WO 02/26279

PCT/EP01/11267



Fig. 3B

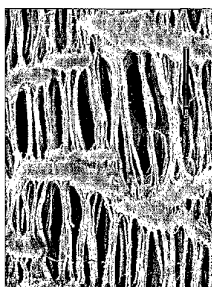


Fig. 3A

WO 02/26279

PCT/EP01/11267



Fig. 4B

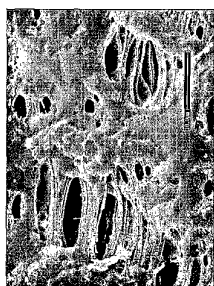


Fig. 4A

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

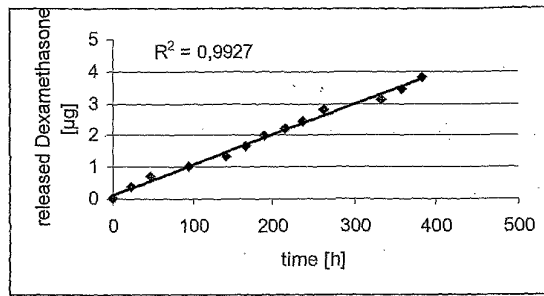


Figure 5

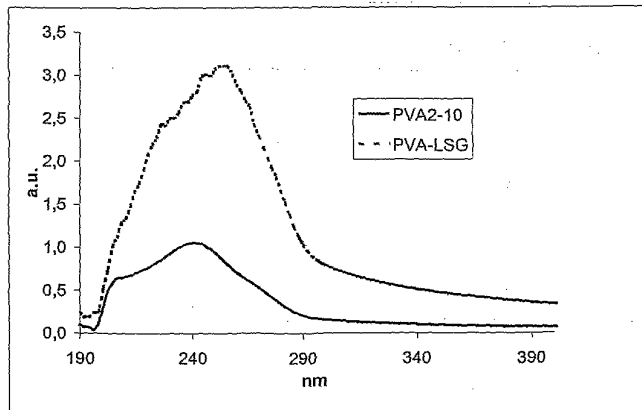


Figure 6

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

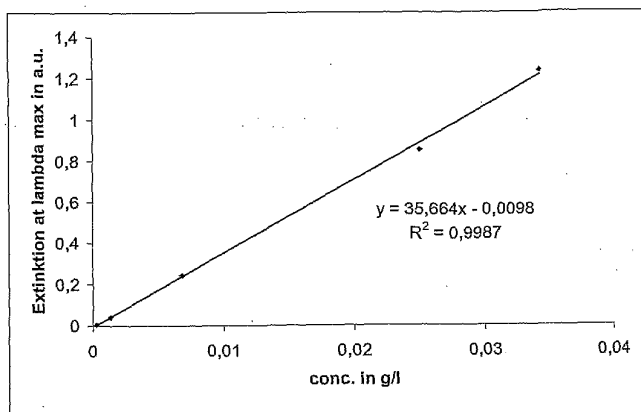


Figure 7

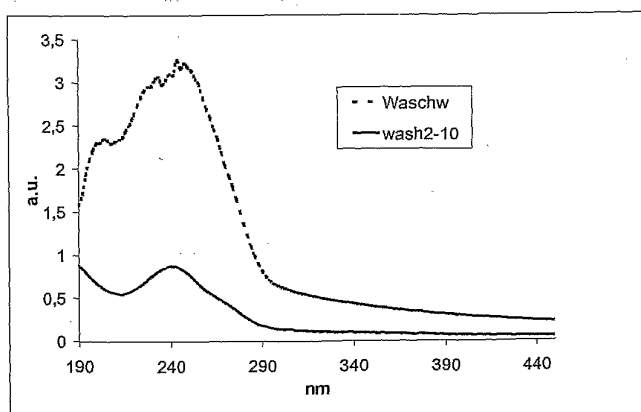


Figure 8

WO 02/26279

PCT/EP01/11267

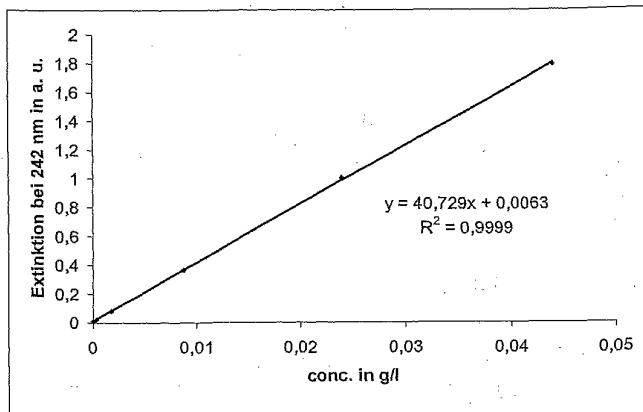


Figure 9

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		h Application No. PCT/EP 01/11267
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61L31/04 A61L31/16		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 197 882 A (JERNBERG GARY R) 30 March 1993 (1993-03-30) column 2, line 15 - line 32 column 4, line 23 - line 40; figure 5A	1-20
X	US 5 201 778 A (BROTZU GIOVANNI ET AL) 13 April 1993 (1993-04-13) the whole document	1-20
☐ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 1 February 2002		Date of mailing of the international search report 08/02/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Heck, G

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In application No
PCT/EP 01/11267

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
US 5197882	A	30-03-1993	CA	2041539 A1	15-11-1991
			DE	69126974 D1	28-08-1997
			DE	69126974 T2	27-11-1997
			DK	528998 T3	02-03-1998
			EP	0528998 A1	03-03-1993
			EP	0788788 A2	13-08-1997
			WO	9117718 A1	28-11-1991
			US	5059123 A	22-10-1991
US 5201778	A	13-04-1993	IT	1230047 B	27-09-1991
			AT	103188 T	15-04-1994
			AU	5864690 A	10-01-1991
			CA	2020438 A1	05-01-1991
			DE	69007558 D1	28-04-1994
			DE	69007558 T2	30-06-1994
			EP	0406665 A1	09-01-1991
			JP	3041948 A	22-02-1991
			US	5104403 A	14-04-1992

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
B 8 1 B 1/00	B 8 1 B 1/00	
// A 6 1 K 31/573	A 6 1 K 31/573	
(74)代理人 100065189		
弁理士 穴戸 嘉一		
(74)代理人 100074228		
弁理士 今城 俊夫		
(74)代理人 100084009		
弁理士 小川 信夫		
(74)代理人 100082821		
弁理士 村社 厚夫		
(74)代理人 100086771		
弁理士 西島 孝喜		
(74)代理人 100084663		
弁理士 箱田 篤		
(72)発明者 クレー ドリス		
ドイツ連邦共和国 5 2 0 6 2	アーヒェン プロイスヴェーク 6 4	
(72)発明者 ヒルゲルス クリストフ		
ドイツ連邦共和国 5 2 2 4 9	エシュヴァイラー デューレナー シュトラッセ 1 5 9	
F ターム(参考) 4C076 AA65 BB12 CC04 CC09 CC27 CC29		
4C086 AA01 DA10 MA38 NA10 ZA54 ZB11 ZB26 ZC02 ZC33		
4C097 AA15 AA17 DD01 EE06 FF03 FF06 FF17		