



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105209016 B

(45)授权公告日 2020.10.30

(21)申请号 201480027662.6

(22)申请日 2014.03.14

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105209016 A

(43)申请公布日 2015.12.30

(30)优先权数据
61/785,477 2013.03.14 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.11.13

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/028798 2014.03.14

(87)PCT国际申请的公布数据
W02014/153038 EN 2014.09.25

(73)专利权人 梅迪卡斯生物科学有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 赛义德·H·阿斯卡里 乔治·洪

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51)Int.Cl.
A61K 9/06(2006.01)
A61K 47/30(2006.01)
A61K 38/18(2006.01)
A61K 9/70(2006.01)

(56)对比文件
US 2001003126 A1,2001.06.07
WO 2011140519 A2,2011.11.10
CN 101517067 A,2009.08.26
CN 102108119 A,2011.06.29

审查员 李双双

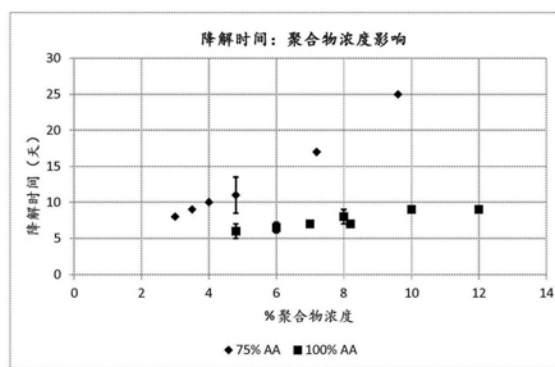
权利要求书4页 说明书64页 附图8页

(54)发明名称

用于细胞递送的生物相容性水凝胶聚合物基体

(57)摘要

本文提供了生物相容性水凝胶聚合物基体, 其由生物相容性预制剂制备。该生物相容性预制剂包含至少一种亲核化合物、至少一种亲电子化合物和至少一种细胞。该生物相容性水凝胶聚合物基体是可生物吸收的并且在目标部位释放细胞, 从而实现控制递送。该生物相容性水凝胶聚合物基体提供了有益于细胞活力和功能性的固体支持体。该细胞可以在该水凝胶聚合物基体内部的水凝胶聚合物表面上生长。



1. 一种完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其包含完全合成的、基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物,该聚合物包含通过至少一个酰胺键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元,其中该聚合物形成基体,该基体封装:

(a) 至少一种细胞或病毒;以及

(b) 支持所述至少一种细胞或病毒的生长的培养基,

其中所述水凝胶聚合物来源于8臂PEG乙酸胺和8臂PEG胺的所述第一单体单元以及4臂PEG琥珀酰亚胺基戊二酰胺的所述第二单体单元;以及

(c) 磷酸盐缓冲液和粘度增强剂,

其中所述完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体当植入动物体中的目标部位时,通过所述生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体的生物降解提供所述至少一种细胞或病毒向该动物体的目标部位的控制释放。

2. 根据权利要求1所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中8臂PEG乙酸胺是MW 20000的8臂PEG乙酸胺(六甘油)HCl盐或者MW 20000的8臂PEG乙酸胺(六甘油)TFA盐。

3. 根据权利要求1-2中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、原生动细胞、细菌细胞或真菌细胞。

4. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述哺乳动物细胞为干细胞。

5. 根据权利要求1-2和4中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述培养基包含生长因子。

6. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述培养基包含生长因子。

7. 根据权利要求1-2、4和6任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中8臂PEG乙酸胺与8臂PEG胺的比率是1:1、70:30或75:25。

8. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中8臂PEG乙酸胺与8臂PEG胺的比率是1:1、70:30或75:25。

9. 根据权利要求5所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中8臂PEG乙酸胺与8臂PEG胺的比率是1:1、70:30或75:25。

10. 根据权利要求1-2、4、6和8-9中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述动物为人。

11. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述动物为人。

12. 根据权利要求5所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述动物为人。

13. 根据权利要求7所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述动物为人。

14. 根据权利要求1-2、4、6、8-9和11-13中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生

物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在14到180天内被生物吸收。

15. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在14到180天内被生物吸收。

16. 根据权利要求5所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在14到180天内被生物吸收。

17. 根据权利要求7所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在14到180天内被生物吸收。

18. 根据权利要求10所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在14到180天内被生物吸收。

19. 根据权利要求1-2、4、6、8-9、11-13和15-18中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

20. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

21. 根据权利要求5所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

22. 根据权利要求7所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

23. 根据权利要求10所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

24. 根据权利要求14所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放包括该至少一种细胞或病毒从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。

25. 根据权利要求1-2、4、6、8-9、11-13和15-18中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

26. 根据权利要求3所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通

过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

27. 根据权利要求5所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

28. 根据权利要求7所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

29. 根据权利要求10所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

30. 根据权利要求14所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述至少一种细胞或病毒向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

31. 根据权利要求1所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,其中所述粘度增强剂是HPMC。

32. 一种完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂,其包含:

(a) 至少一种完全合成的、基于聚二醇的第一组合物,其包含8臂PEG乙酸胺和8臂PEG胺;

(b) 至少一种完全合成的、基于聚二醇的第二组合物,其包含4臂PEG琥珀酰亚胺基戊二酰胺;

(c) 磷酸盐缓冲液;

(d) 粘度增强剂;

(e) 至少一种细胞或病毒;和

(f) 支持所述至少一种细胞或病毒的生长培养基;

其中所述基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂在水的存在下至少部分地聚合和/或胶凝,以形成封装所述细胞或病毒的基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,并且所述基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体能够在受试者中生物降解并释放所述至少一种细胞或病毒。

33. 根据权利要求32所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂,其中所述细胞为干细胞。

34. 根据权利要求32-33中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂,其中所述培养基包含缓冲液。

35. 根据权利要求32-33中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂,其中所述基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂胶凝,以在20秒到10分钟之间形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。

36. 根据权利要求34所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂,其中所述基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂胶凝,以在20秒到10分钟之间形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。

37. 根据权利要求32所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂

剂,其中所述粘度增强剂是HPMC。

38.一种完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体,所述完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体由根据权利要求32-37中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解预制剂形成。

39.完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体在制备用于治疗疾病的药物中的用途,其中所述聚合物基体是根据权利要求1-31中任一项所述的完全合成的、基于聚二醇的生物相容性的可生物降解水凝胶聚合物基体。

用于细胞递送的生物相容性水凝胶聚合物基体

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2013年3月14日提交的美国临时申请号61/785,477的优先权,该临时申请通过引用并入本文。

背景技术

[0003] 基于细胞的疗法是对于包括疾病、组织损伤、神经障碍、血液病症、癌症、发育缺陷、创伤和整形外科障碍在内的临床适应症的治疗的重要选择。许多基于细胞的疗法是目标特异性的,其中将细胞直接施用到目标部位。当细胞在施用后没有适当地保留在目标部位时,会同时存在可用于预期治疗的细胞的损失以及在另外部位处细胞分化的风险增加。当细胞在没有充分保护的情况下施用到目标部位时,该细胞可能经历物理化学变化如过度生长、坏死、凋亡或衰老。当所施用的细胞被物理化学地改变或没有保留在期望的目标部位时,治疗效力减弱。

发明内容

[0004] 在一个方面,本文提供了一种完全合成的、基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体,其包含完全合成的、基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物,该聚合物包含通过至少一个酰胺键、硫酸酯键或硫酸醚键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元,其中该聚合物形成封装至少一种细胞以及支持所述至少一种细胞的生长的培养基的基体。在某些实施方案中,该完全合成的、基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体当植入动物体中的目标部位时,提供所述至少一种细胞向该动物体的目标部位的控制释放。在一些实施方案中,所述至少一个第一单体单元是基于PEG的且完全合成的,并且所述至少一个第二单体是基于PEG的且完全合成的。在某些实施方案中,所述细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、原生动物细胞、细菌细胞、病毒细胞或真菌细胞。在一些实施方案中,该哺乳动物细胞是干细胞。在某些实施方案中,所述培养基包含生长因子。

[0005] 在另一个方面,本文提供了一种基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体,其包含通过至少一个酰胺键、硫酸酯键或硫酸醚键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元;培养基;以及至少一种细胞。在某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体是完全合成的。在某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体基于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)或其共聚物。在一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体是完全合成且基于PEG的。在某些实施方案中,所述至少一个第一单体单元是基于PEG且完全合成的,并且其中所述至少一个第二单体单元是基于PEG且完全合成的。在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物的某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体封装所述细胞。在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物的一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物支持细胞在该聚合物表面上的活力和生长。在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物的某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物支持细胞在该基于聚二醇的生物相容

性水凝胶聚合物基体内的活力和生长。在一些实施方案中,所述细胞是微生物。在某些实施方案中,所述细胞选自哺乳动物细胞、昆虫细胞、原生动物细胞、细菌细胞、病毒细胞或真菌细胞。在一个实施方案中,该哺乳动物细胞是干细胞。

[0006] 在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的一些实施方案中,所述培养基包含生长培养基。在某些实施方案中,该培养基包含生长因子。在一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在人体的目标部位处释放所述细胞。在某些实施方案中,所述至少一种细胞在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中存活至少一个小时。在一些实施方案中,所述至少一种细胞在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中存活5天。在某些实施方案中,所述至少一种细胞在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中增殖并生长。在某些实施方案中,所述至少一种细胞向动物体的目标部位的控制释放包括所述至少一种细胞从基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的扩散。在一些实施方案中,所述至少一种细胞向动物体的目标部位的控制释放至少部分地通过基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解和生物吸收进行。

[0007] 在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的某些实施方案中,所述第一单体单元来源于多臂-(5-50k)-SH、多臂-(5-50k)-NH₂或多臂-(5-50k)-AA单体。在一些实施方案中,所述第一单体单元是二醇、三羟甲基丙烷、甘油、双甘油、季戊四醇、山梨醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。在某些实施方案中,多臂选自2臂、3臂、4臂、6臂以及8臂。在一些实施方案中,所述第一单体单元包含一个或多个聚乙二醇部分。在某些实施方案中,所述第一单元单体来源于4臂-5k-SH、4臂-2k-NH₂、4臂-5k-NH₂、8臂-20k-NH₂、4臂-20k-AA或8臂-20k-AA单体。

[0008] 在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的一些实施方案中,所述第二单体单元来源于多臂-(5-50k)-SG、多臂-(5-50k)-SGA或多臂-(5-50k)-SS单体。在某些实施方案中,所述第二单体单元是二醇、三羟甲基丙烷、甘油、双甘油、季戊四醇、山梨醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。在一些实施方案中,多臂选自2臂、3臂、4臂、6臂以及8臂。在某些实施方案中,所述第二单体单元包含一个或多个聚乙二醇部分。在一些实施方案中,所述第二单体单元来源于4臂-10k-SG、8臂-15k-SG、4臂-20k-SGA或4臂-20k-SS单体。

[0009] 在另一方面,本文提供了一种基于聚二醇的生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞和培养基,其中该基于聚二醇的生物相容性预制剂在水的存在下至少部分地聚合和/或胶凝,以形成封装所述细胞的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,所述生物相容性预制剂是完全合成的。在一些实施方案中,所述培养基支持所述至少一种细胞的生长。在某些实施方案中,所述生物相容性预制剂基于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)或其共聚物。在一些实施方案中,所述生物相容性预制剂是基于PEG的。在某些实施方案中,所述生物相容性预制剂是完全合成且基于PEG的。

[0010] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的某些实施方案中,所述细胞是微生物。在一些实施方案中,所述细胞为哺乳动物细胞、昆虫细胞、原生动物细胞、细菌细胞、病毒细胞或真菌细胞。在某些实施方案中,该哺乳动物细胞是干细胞。

[0011] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的一些实施方案中,所述培养基包含生长培养基。在某些实施方案中,该培养基包含生长因子。

[0012] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的一些实施方案中,所述亲核基团包含巯基或氨基基团。在某些实施方案中,所述亲电子基团包含环氧化物、N-琥珀酰亚胺基琥珀酸酯、N-琥珀酰亚胺基戊二酸酯、N-琥珀酰亚胺基琥珀酰胺或N-琥珀酰亚胺基戊二酰胺。在某些实施方案中,所述第一化合物和第二化合物包含一个或多个聚二醇部分。在一些实施方案中,所述第一化合物选自多臂-(5-50k)-SH、多臂-(5-50k)-NH₂和多臂-(5-50k)-AA,而所述第二化合物选自多臂-(5-50k)-SG、多臂-(5-50k)-SGA和多臂-(5-50k)-SS。在某些实施方案中,所述第一化合物和第二化合物独立地为二醇、三羟甲基丙烷、甘油、双甘油、季戊四醇、山梨醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。在一些实施方案中,所述多臂独立地选自2臂、3臂、4臂、6臂以及8臂。

[0013] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的某些实施方案中,所述第一化合物选自4臂-5k-SH、4臂-2k-NH₂、4臂-5k-NH₂、8臂-20k-NH₂、4臂-20k-AA和8臂-20k-AA,而所述第二化合物选自4臂-10k-SG、8臂-15k-SG、4臂-20k-SGA和4臂-20k-SS。在特定的实施方案中,所述第一化合物为8臂-20k-NH₂和/或8臂-20k-AA,而第二化合物为4臂-20k-SGA。

[0014] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的一些实施方案中,所述至少一种第一化合物是包含一个或多个亲核基团的基于聚二醇的、完全合成的生物相容性化合物,而所述至少一种第二化合物是包含一个或多个亲电子基团的基于聚二醇的、完全合成的生物相容性化合物。在基于聚二醇的生物相容性预制剂的某些实施方案中,所述至少一种第一化合物是包含一个或多个亲核基团的基于PEG的、完全合成的生物相容性化合物,而所述至少一种第二化合物是包含一个或多个亲电子基团的基于PEG的、完全合成的生物相容性化合物。

[0015] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性预制剂胶凝,以在约20秒到10分钟之间形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在预定的时间胶凝。

[0016] 在基于聚二醇的生物相容性预制剂的某些实施方案中,所述第一化合物和第二化合物在该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体形成期间不与细胞反应。在一些实施方案中,该细胞在该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体形成后保持不变。在某些实施方案中,该细胞的活力不受该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的形成影响。在一些实施方案中,该细胞的活力不受该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体影响。在某些实施方案中,该细胞的壁的物理化学性质不受该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的形成影响。

[0017] 在某些实施方案中,所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体是可生物吸收的。在一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在大约1到70天内生物吸收。在其他实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体在大约14到180天内生物吸收。在某些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体是基本上不可生物吸收的。

[0018] 在一些实施方案中,所述细胞通过扩散、基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解或其任意组合从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在某些实施方案中,该细胞最初通过扩散从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放,随后通过该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解而释放。在一些实施方案中,该细胞在180天内基本上从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在某些实

实施方案中,该细胞在14天内基本上从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在一些实施方案中,该细胞在24小时内基本上从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在其他实施方案中,该细胞在一小时内基本上从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在某些实施方案中,该细胞的释放基本上受到抑制,直到该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体开始降解的时间为止。在一些实施方案中,该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体具有一定的孔径,其中该孔径小到足以基本上抑制所述细胞在该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体开始降解的时间之前的释放。在某些实施方案中,所述细胞的至少一部分在该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体开始降解的时间之前得到释放。在其他实施方案中,所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体具有一定的孔径,其中该孔径大到足以允许所述细胞在该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体开始降解的时间之前至少部分的释放。

[0019] 在某些实施方案中,所述基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体使细胞的降解或变性最小化。在一些实施方案中,该细胞得到保护以免受胃肠道的酶和pH条件。在某些实施方案中,该细胞在从该基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体释放后保持存活。

[0020] 在进一步的方面,本文提供了通过施用基于聚二醇的生物相容性预制剂治疗疾病或病况的方法,其中该预制剂包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞和培养基,其中该基于聚二醇的生物相容性预制剂在水的存在下至少部分地聚合和/或胶凝,以形成封装所述细胞的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。在另一个方面,本文提供了通过施用基于聚二醇的生物相容性聚合物基体治疗疾病或病况的方法,其中该聚合物基体包含通过至少一个酰胺键、硫酯键或硫醚键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元;培养基;以及至少一种细胞。

[0021] 在另一个方面,本文提供了一种基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体,其包含通过至少一个酰胺键、硫酯键或硫醚键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元以及培养基。在进一步的方面,本文提供了基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体,其包含通过至少一个酰胺键、硫酯键或硫醚键与至少一个第二单体单元结合的至少一个第一单体单元以及至少一种细胞。

[0022] 在进一步的方面,本文提供了基于聚二醇的生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物以及至少一种细胞,其中该基于聚二醇的生物相容性预制剂在水的存在下至少部分地聚合和/或胶凝,以形成封装所述细胞的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。在另一方面,本文提供了基于聚二醇的生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物以及培养基,其中该基于聚二醇的生物相容性预制剂在水的存在下至少部分地聚合和/或胶凝,以形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。

附图说明

[0023] 本发明的新颖特征在所附的权利要求书中具体阐述。通过参考以下对利用了本发明原理的说明性实施方案加以阐述的发明详述以及附图,将会获得对本发明的特征和优点

的更好的理解,附图中:

[0024] 图1示出了可降解的乙酸胺 (acetate amine) 8臂-20k-AA或4臂-20k-AA的添加对降解时间的影响。降解在37°C下在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中发生。

[0025] 图2示出了针对75%乙酸胺制剂和100%乙酸胺制剂,聚合物浓度对降解时间的影响。

[0026] 图3示出了作为随时间推移的水重量损失百分比,聚合物搁置在空气中的影响。

[0027] 图4示出了由运行硬度测试的Texture Analyzer Exponent软件生成的样品曲线图。记录峰值力作为聚合物硬度,其表示当探头已达到4mm的目标穿透深度时的点。

[0028] 图5示出了由运行压缩下的弹性模量测试的Texture Analyzer Exponent软件生成的样品曲线图。根据曲线直至最大压缩应力的10%处的初始斜率计算模量。

[0029] 图6示出了由运行粘附测试的Texture Analyzer Exponent软件生成的示例性的曲线图。施加100.0g的接触力10秒。将粘着力测量为在将探头从样品中提起后的峰值力。将粘附能或粘附功计算为代表粘着力(点1至2)的曲线下面积。将延性(stringiness)定义为在影响到粘着力(点1和2)时探头所行进的距离。

[0030] 图7示出了对于以下聚合物制剂,作为百分比绘制的硬度-降解时间图:含有0.3% HPMC的8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30) 和4臂-20k-SGA的4.8%溶液。误差条代表3个样品的标准偏差。聚合物的降解时间是18天。

[0031] 图8示出了氯己定累积%洗脱。

[0032] 图9示出了对于聚合物,60、90和240天聚合物的曲安西龙累积%洗脱。

[0033] 图10示出了针对负载Depo-Medrol的水凝胶聚合物的短降解时间版本,甲泼尼龙累积%洗脱。

[0034] 图11示出了针对负载Depo-Medrol的聚合物的长降解时间版本,甲泼尼龙累积%洗脱。

[0035] 图12示出了固体磷酸盐粉末浓度对聚合物胶凝时间(A)和溶液pH(B)的影响。

[0036] 图13示出了灭菌对不同浓度(A)和(B)的聚合物的胶凝时间的影响。

[0037] 图14示出了试剂盒在5°C、20°C和37°C下的储存稳定性。

具体实施方式

[0038] 细胞疗法在多个目标部位并通过若干细胞递送模式用于许多临床适应症。细胞通过局部或全身施用而被引导至目标部位。细胞疗法的重要实例包括干细胞移植、细胞分化和受损组织替换的步骤,由此目标组织具有改善的功能。可将基于细胞的疗法在诸如心肌梗死、感染或癌症治疗的事件后施用于受损组织。在向目标部位施用基于细胞的疗法期间及之后,治疗细胞可能没有得到充分保护。没有得到保护的细胞可能经历凋亡、坏死、过度生长或衰老;因此降低治疗的功效。在合适环境中递送的基于细胞的疗法使得细胞能够存活。在一些情况下,在合适环境中递送的细胞增殖、分化并与目标组织整合。在合适环境中保留在目标部位处的基于细胞的疗法使得在目标部位有适当的细胞功能性。

[0039] 全身施用的基于细胞的治疗除了目标部位外,还将身体中的许多区域暴露于所施用的细胞。干细胞远离目标部位的扩散增加不希望的细胞分化和随后的并发症的风险。重要地,在目标部位处细胞保留的损失增加治疗功效所需的施用细胞的量。直接向目标部位

的局部细胞递送限制所施用细胞向目标部位周围区域的暴露。局部细胞递送和细胞保留使得能够进行受控治疗剂量的施用。在一些情况下,通过细胞的延长释放控制治疗剂量。在一些情况下,因为可以增加剂量,同时对不利的副作用的顾虑更少,局部细胞递送治疗更有效。在进一步的情况下,细胞的延长释放也减少了治疗过程中所需的剂量数。

[0040] 用于形成生物相容性水凝胶聚合物基体的生物相容性预制剂使得能够将细胞直接施用并保留在目标部位。生物相容性预制剂至少部分地聚合和/或胶凝,以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。生物相容性水凝胶聚合物基体包含至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶基体包含生物相容性水凝胶支架。将聚合物基体或预制剂施用于目标部位后,生物相容性水凝胶聚合物基体为细胞提供结构和营养的支持。在一些实施方案中,将聚合物基体或预制剂施用于目标部位后,生物相容性水凝胶支架为细胞提供结构和营养的支持。在某些实施方案中,将聚合物基体或预制剂施用于目标部位后,生物相容性水凝胶聚合物基体为细胞提供结构和营养的支持。生物相容性水凝胶聚合物基体使得细胞能够在目标部位保留预定的时间量。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体提供适合于细胞存活、生长或增殖的保护性和富含营养物的环境。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体提供适合于细胞存活、增殖、分化以及组织整合的保护性和富含营养物的环境。用于形成生物相容性水凝胶聚合物基体的生物相容性预制剂还使得能够进行细胞在目标部位的控制释放。在某些实施方案中,细胞在目标部位的控制释放是通过扩散、生物相容性水凝胶聚合物基体的降解或其任意组合进行的。在一些情况下,水凝胶聚合物基体是可生物降解的。在某些情况下,使用生物相容性水凝胶聚合物基体的细胞递送、保留和控制释放最大限度减少细胞过度生长、衰老、凋亡和坏死。在一些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体保护细胞免受胃肠道的酶和pH条件。在一些情况下,聚合物基体被配置为在施用、保留、生物相容性水凝胶聚合物基体降解或细胞向目标部位的释放期间保持细胞的物理化学性质。在一些情况下,细胞在生物相容性水凝胶聚合物基体的聚合期间及之后保持存活。在一些情况下,细胞在添加到已经聚合和/或凝胶的生物相容性水凝胶聚合物基体时保持存活。在一些情况下,细胞在施用时保持存活。在一些情况下,细胞在递送至目标部位后保持存活。在一些情况下,细胞在从生物相容性水凝胶聚合物基体释放期间保持存活。在一些情况下,细胞在生物相容性水凝胶聚合物基体的降解期间保持存活。

[0041] 生物相容性水凝胶聚合物基体使得能够进行细胞向目标部位的递送,在目标部位处,细胞将通过扩散、聚合物基体降解或其任意组合最终从聚合物基体释放。在一些情况下,通过改变允许生物相容性水凝胶聚合物基体的适当应用和放置的生物相容性预制剂组分的组成来控制聚合物基体降解时间。在一些情况下,通过改变允许生物相容性水凝胶聚合物基体的适当应用和放置的预制剂的pH来控制聚合物基体降解时间。在一些情况下,通过改变允许生物相容性水凝胶聚合物基体的适当应用和放置的生物相容性预制剂组分的浓度来控制聚合物基体降解时间。在一些实施方案中,细胞以精确且一致的方式从生物相容性水凝胶聚合物基体释放。在某些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体经过确定的一段时间被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位提供细胞的持续释放。在某些实施方案中,持续和控制的释放减少对该细胞的全身性暴露。在某些实施方案中,控制释放使得细胞在目标部位保留。在一些情况下,细胞经延长的一段时间从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体中细

胞的递送提供了细胞的贮库 (depot) (例如,在皮肤下),其中该贮库经延长的一段时间(例如,1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、3周、4周)释放细胞。在一些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体作为延迟的爆发 (delayed burst) 在延迟后释放细胞。

[0042] 包含至少一种细胞的生物相容性水凝胶聚合物基体可以作为液体生物相容性预制剂开始,其使用微创技术递送至目标部位。初始的液体状态使得该制剂能够通过由内窥镜或其他图像引导技术指导的小导管递送至目标部位(例如,对于肺为支气管镜、对于胸腔为胸腔镜、对于腹腔为腹腔镜、对于膀胱为膀胱镜、对于关节空隙为关节镜,等等)。一旦进入体内,液体制剂即聚合成生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体粘附至组织,并且至少一种细胞保持在目标部位。在一些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体在聚合后被递送至目标部位。在一些情况下,通过改变允许生物相容性水凝胶聚合物基体的适当应用和放置的生物相容性预制剂组分的组成来控制聚合时间。控制的胶凝允许使用生物相容性水凝胶聚合物基体以直接将至少一种细胞递送至受影响的目标组织,由此最小化全身性暴露。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体可以在体外聚合。在某些实施方案中,向该细胞的暴露被限制在目标部位周围的组织。在一些实施方案中,患者没有全身性地暴露于该细胞疗法。在某些实施方案中,生物相容性预制剂允许细胞在聚合期间及之后保持存活。在一些实施方案中,在聚合和/或凝胶形成后,细胞与生物相容性水凝胶聚合物基体组合。在一些实施方案中,在递送至目标部位后,生物相容性水凝胶聚合物基体进一步聚合和/或胶凝。

[0043] 细胞也可通过生物相容性水凝胶聚合物基体直接施用在伤口或手术部位上。生物相容性预制剂可以形成容易应用在伤口或手术部位以及周围皮肤上的生物相容性水凝胶聚合物基体。生物相容性水凝胶聚合物基体使得能够将细胞直接施用至伤口或手术部位。生物相容性预制剂可以在应用于伤口或手术部位之前或之后聚合和/或胶凝。在一些情况下,一旦应用了生物相容性预制剂,例如,以液体形式喷在伤口或手术部位上,该生物相容性预制剂就迅速胶凝并在伤口或手术部位上形成固体生物相容性水凝胶聚合物基体层。该生物相容性水凝胶聚合物基体密封伤口或手术部位,并且它还粘在周围的皮肤上。伤口或手术部位上的生物相容性水凝胶聚合物基体层起到屏障的作用以防止伤口或手术部位受到感染。在一些情况下,与皮肤接触的生物相容性水凝胶聚合物基体层使得皮肤表面为粘性的,并因此使得绷带更有效地粘在皮肤上。最重要的是,生物相容性水凝胶聚合物基体是非毒性的。已经开始愈合后,生物相容性水凝胶聚合物基体溶解并得到吸收而不产生有毒的副产物。在一些实施方案中,在用生物相容性水凝胶聚合物基体施用干细胞后,伤口或手术部位通过移植物的形成而愈合。在某些实施方案中,生物相容性预制剂应用于伤口或手术部位而细胞没有损失活力。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体保持伤口或手术部位密封24-48小时并保护其免受感染,这避免了重复去医院并因此节约费用。在某些实施方案中,向该细胞的暴露被限制在目标部位周围的组织。在一些实施方案中,患者没有全身性地暴露于该细胞疗法。

[0044] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体还负载有一种或多种额外的组分,诸如缓冲液或治疗剂。生物相容性水凝胶聚合物基体的物理和化学性质为使得多种细胞类型和额外组分可以与形成生物相容性水凝胶聚合物基体的生物相容性预制剂一起使用。在一些实施方案中,额外组分增强细胞的活力和功能性。在一些实施方案中,额外组分

包含活化因子。在一些实施方案中,该活化因子包括用于细胞生长刺激和增殖的生长因子。

[0045] 示例性的生物相容性水凝胶组分

[0046] 本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞以及任选的额外组分。示例性的额外组分为培养基。在某些实施方案中,该培养基为缓冲液。在某些实施方案中,该培养基含有用于至少一种细胞的营养物。在某些实施方案中,至少一种细胞是干细胞。在某些实施方案中,至少一种第一化合物被配制在缓冲液中。在某些实施方案中,至少一种第二化合物被配制在缓冲液中。在某些实施方案中,至少一种细胞被配制在缓冲液中。在某些实施方案中,至少一种生物相容性预制剂组分为固体。在某些实施方案中,生物相容性预制剂的所有组分均为固体。在某些实施方案中,至少一种生物相容性预制剂组分为液体。在某些实施方案中,所有生物相容性预制剂组分均为液体。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物、至少一种细胞以及任选的额外组分在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂组分在目标部位形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及至少一种细胞在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在目标部位形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,任选的额外组分,例如,缓冲液,在制剂组合后添加。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物、至少一种细胞以及任选的额外组分在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在应用于目标部位前至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在应用于目标部位前形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及至少一种细胞在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在应用于目标部位前至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在应用于目标部位前形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,任选的额外组分,例如,缓冲液,在制剂组合后添加。在某些实施方案中,生物相容性预制剂是可生物降解的。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含该至少一种第一化合物和至少一种第二化合物。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及缓冲液。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架是完全合成的。

[0047] 本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、缓冲液以及任选的额外组分。示例性的额外组分为至少一种细胞。在某些实施方案中,该细胞是干细胞。在某些实施方案中,缓冲液是培养基。在某些实施方案中,该培养基为细胞提供营养物。在某些实施方案中,至少一种第一化合物配制在缓冲液中。在某些实施方案中,至少一种第二化合物配制在缓冲液中。在某些实施方案中,至少一种生物相容性预制剂组分为固体。在某些实施方案中,所有生物相容性预制剂均为固体。在某些实施方案中,至少一种生物相容性预制剂组分为液体。在某些实施方案中,所有生物相容性预制剂组分均为液体。在某些实施方案中,通过使

至少一种第一化合物、至少一种第二化合物、缓冲液以及任选的额外组分在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在目标部位形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及缓冲液在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在目标部位形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,任选的额外组分,例如,细胞,在制剂组合后添加。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物、缓冲液以及任选的额外组分在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在应用于目标部位前至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在应用于目标部位前形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,通过使至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及缓冲液在水的存在下混合并将该混合物递送至目标部位而使得生物相容性水凝胶聚合物基体在应用于目标部位前至少部分地聚合和/或胶凝,生物相容性预制剂在应用于目标部位前形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,任选的额外组分,例如,细胞,在制剂组合后添加。在某些实施方案中,生物相容性预制剂是可生物降解的。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及缓冲液。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架是完全合成的。

[0048] 在一些实施方案中,生物相容性预制剂化合物包含聚合成聚合物的单体。在一些实施方案中,生物相容性预制剂单体聚合以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,聚合物是生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,聚合物是生物相容性水凝胶支架。在一些实施方案中,生物相容性预制剂化合物胶凝以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,生物相容性预制剂化合物胶凝以形成生物相容性水凝胶支架。在一些实施方案中,生物相容性预制剂化合物聚合并胶凝以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,生物相容性预制剂化合物聚合并胶凝以形成生物相容性水凝胶聚合物支架。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在水凝胶聚合物基体形成后进一步聚合。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在水凝胶聚合物基体形成后胶凝。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在水凝胶聚合物基体形成后进一步聚合并胶凝。

[0049] 在一些实施方案中,包含多于一个亲核或亲电子基团的第一或第二化合物是基于二醇的。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括乙二醇、丙二醇、丁二醇、各种链长的烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物是基于聚二醇的化合物。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)和聚二醇共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括聚乙二醇、聚丙二醇、聚丁二醇、各种链长的聚烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物是完全合成的。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物是完全合成的。

[0050] 在一些实施方案中,包含多于一个亲核或亲电子基团的第一或第二化合物是多元醇衍生物。在某些实施方案中,第一或第二化合物是树枝状的多元醇衍生物。在一些实施方

案中,第一或第二化合物是二醇、三羟甲基丙烷、甘油、二甘油、季戊四醇(pentaerythritol)、山梨糖醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。在某些实施方案中,第一或第二化合物是二醇、三羟甲基丙烷、季戊四醇、六甘油或三季戊四醇衍生物。在一些实施方案中,第一或第二化合物是三羟甲基丙烷、甘油、二甘油、季戊四醇、山梨糖醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。在一些实施方案中,第一或第二化合物是季戊四醇、二季戊四醇或三季戊四醇衍生物。在某些实施方案中,第一或第二化合物是六甘油(2-乙基-2-(羟甲基)-1,3-丙二醇,三羟甲基丙烷)衍生物。在一些实施方案中,第一或第二化合物是山梨糖醇衍生物。在某些实施方案中,第一或第二化合物是二醇、丙二醇、甘油、二甘油或聚甘油衍生物。

[0051] 在一些实施方案中,第一和/或第二化合物包含含有1至200个乙二醇亚单位的聚乙二醇(PEG)链。在某些实施方案中,第一和/或第二化合物可进一步包含含有1至200个丙二醇亚单位的聚丙二醇(PPG)链。自多元醇延伸出的PEG或PPG链是将多元醇核心连接至亲核或亲电子基团的“臂(arm)”。

[0052] 示例性的亲核单体

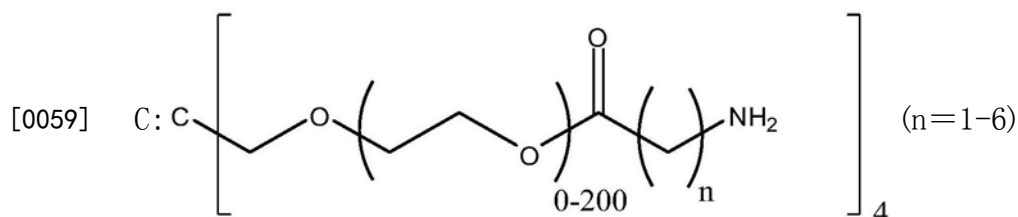
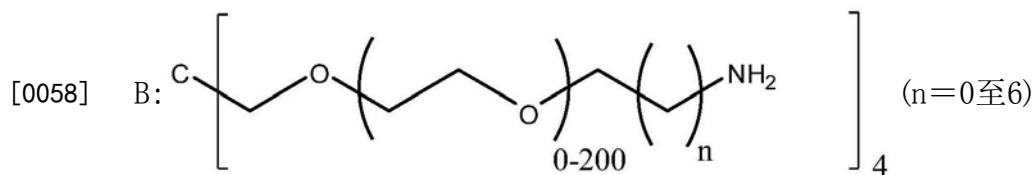
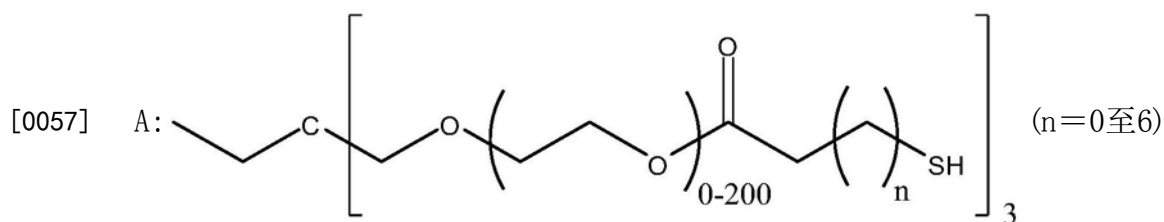
[0053] 生物相容性预制剂包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物。在一些实施方案中,第一化合物是配置为通过第一化合物中的亲核基团与第二化合物中的亲电子基团的反应而形成聚合物基体的单体。在一些实施方案中,第一化合物单体是完全合成的。在一些实施方案中,该亲核基团是羟基、巯基或氨基基团。在优选的实施方案中,该亲核基团是巯基或氨基。在一些实施方案中,至少一种第一化合物是基于二醇的。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括乙二醇、丙二醇、丁二醇、各种链长的烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇化合物是基于聚二醇的化合物。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)和聚二醇共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括聚乙二醇、聚丙二醇、聚丁二醇、各种链长的聚烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物是完全合成的。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物是完全合成的。

[0054] 在某些实施方案中,亲核基团通过合适的连接体连接到多元醇衍生物上。合适的连接体包括但不限于酯(例如,乙酸酯)或醚。在一些情况下,包含酯连接体的单体对生物降解更敏感。含有亲核基团的连接体的实例包括但不限于巯基乙酸酯、氨基乙酸酯(甘氨酸)和其他氨基酸酯(例如,丙氨酸、 β -丙氨酸、赖氨酸、鸟氨酸)、3-巯基丙酸酯、乙胺醚或丙胺醚。在一些实施方案中,多元醇核心衍生物结合至聚乙二醇或聚丙二醇亚单位,该亚单位连接至包含亲核基团的连接体。第一化合物(亲核单体)的分子量为约500至40000。在某些实施方案中,第一化合物(亲核单体)的分子量为约100、约500、约1000、约2000、约3000、约4000、约5000、约6000、约7000、约8000、约9000、约10000、约12000、约15000、约20000、约25000、约30000、约35000、约40000、约50000、约60000、约70000、约80000、约90000或约100000。在一些实施方案中,第一化合物的分子量为约500至2000。在某些实施方案中,第一化合物的分子量为约15000至约40000。在一些实施方案中,第一化合物是水溶性的。

[0055] 在一些实施方案中,第一化合物是多臂-(5k-50k)-多元醇衍生物,其包含聚二醇亚单位和多于两个亲核基团。多臂是指连接至多元醇核的聚二醇亚单位的数目,并且这些聚二醇亚单位将亲核基团连接至多元醇核。在一些实施方案中,多臂是3臂、4臂、6臂、8臂、

10臂、12臂。在一些实施方案中,多臂是4臂或8臂。在一些实施方案中,第一化合物是多臂-(5k-50k)-NH₂、多臂-(5k-50k)-AA或其组合。在某些实施方案中,第一化合物是4臂-(5k-50k)-NH₂、4臂-(5k-50k)-AA、8臂-(5k-50k)-NH₂和8臂-(5k-50k)-AA或其组合。在一些实施方案中,该多元醇衍生物为二醇、三羟甲基丙烷、甘油、双甘油、季戊四醇、山梨醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。

[0056] 带有三羟甲基丙烷或季戊四醇核心多元醇、包含多于一个亲核基团的单体的结构实例如下所示。所示的化合物具有硫醇或胺亲电子基团,该硫醇或胺亲电子基团通过乙酸酯、丙酸酯或乙醚连接体连接至长度不等的PEG亚单位(例如,以下的结构:ETTMP(A;n=1)、4臂-PEG-NH₂(B;n=1)和4臂-PEG-AA(C;n=1))。使用其他多元醇核心的单体以类似的方式构建。



[0060] (在胺-酯化学中使用的) 包含亲核基团的合适的第一化合物包括但不限于季戊四醇聚乙二醇胺(4臂-PEG-NH₂) (分子量选自约5000至约40000,例如,5000、10000或20000)、季戊四醇聚乙二醇氨基乙酸酯(4臂-PEG-AA) (分子量选自约5000至约40000,例如,5000、10000或20000)、六甘油聚乙二醇胺(8臂-PEG-NH₂) (分子量选自约5000至约40000,例如,10000、20000或40000) 或三季戊四醇乙二醇胺(8臂(TP)-PEG-NH₂) (分子量选自约5000至约40000,例如,10000、20000或40000)。在此类化合物中,4(或8)臂-PEG-AA包含酯(或乙酸酯)基团,而4(或8)臂-PEG-NH₂单体不包含酯(或乙酸酯)基团。

[0061] (在硫醇-酯化学中使用的) 包含亲核基团的其他合适的第一化合物包括但不限于二巯基乙酸乙二醇酯(THIOCURE®GDMA)、三羟甲基丙烷三巯基乙酸酯(THIOCURE®TMPMA)、季戊四醇四巯基乙酸酯(THIOCURE®PETMA)、二-3-巯基丙酸乙二醇酯(THIOCURE®GDMP)、三羟甲基丙烷三-3-巯基丙酸酯(THIOCURE®TMPMP)、四-3-巯基丙酸季戊四醇酯(THIOCURE®PETMP)、多元醇-3-巯基丙酸酯、聚酯-3-巯基丙酸酯、3-巯基丙酸丙二醇酯

(THIOCURE®PPGMP 800)、3-巯基丙酸丙二醇酯(THIOCURE®PPGMP 2200)、乙氧基化三羟甲基丙烷三-3-巯基丙酸酯(THIOCURE®ETTMP-700)和乙氧基化三羟甲基丙烷三-3-巯基丙酸酯(THIOCURE®ETTMP-1300)。

[0062] 示例性的亲电子单体

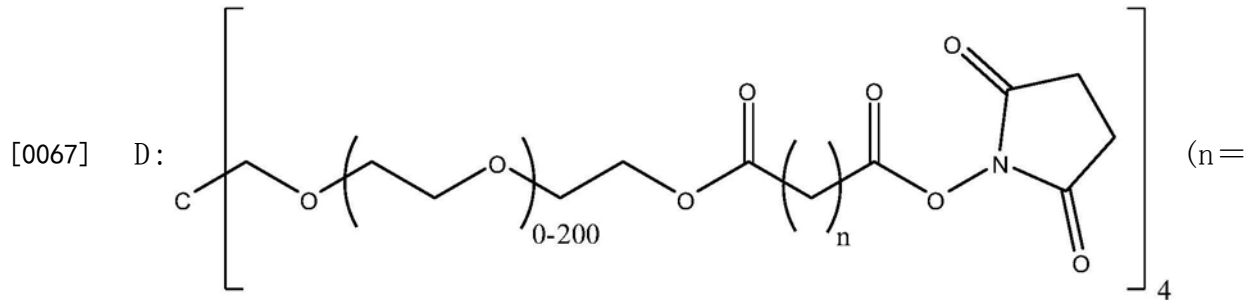
[0063] 生物相容性预制剂包含至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物。在一些实施方案中,第二化合物是配置为通过第二化合物中的亲电子基团与第一化合物中的亲核基团反应而形成聚合物基体的单体。在一些实施方案中,第二化合物单体是完全合成的。在一些实施方案中,该亲电子基团是环氧化物、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺基或 α - β 不饱和酯。在优选的实施方案中,该亲电子基团是环氧化物或琥珀酰亚胺基。在一些实施方案中,至少一种第二化合物是基于二醇的。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括乙二醇、丙二醇、丁二醇、各种链长的烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇化合物是基于聚二醇的化合物。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)、聚丁二醇(PBG)和聚二醇共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物包括聚乙二醇、聚丙二醇、聚丁二醇、各种链长的聚烷基二醇及其任意组合或共聚物。在一些实施方案中,基于二醇的化合物是完全合成的。在一些实施方案中,基于聚二醇的化合物是完全合成的。

[0064] 在某些实施方案中,亲电子基团通过合适的连接体连接至多元醇衍生物。合适的连接体包括但不限于酯、酰胺或醚。在一些情况下,包含酯连接体的单体对生物降解更敏感。包含亲电子基团的连接体的实例包括但不限于琥珀酰亚胺基琥珀酸酯、琥珀酰亚胺基戊二酸酯、琥珀酰亚胺基琥珀酰胺、琥珀酰亚胺基戊二酰胺或缩水甘油醚。在一些实施方案中,多元醇核心衍生物结合至聚乙二醇或聚丙二醇亚单位,该亚单位连接至包含亲电子基团的连接体。第二化合物(亲电子单体)的分子量为约500至40000。在某些实施方案中,第二化合物(亲电子单体)的分子量为约100、约500、约1000、约2000、约3000、约4000、约5000、约6000、约7000、约8000、约9000、约10000、约12000、约15000、约20000、约25000、约30000、约35000、约40000、约50000、约60000、约70000、约80000、约90000或约100000。在一些实施方案中,第二化合物的分子量为约500至2000。在某些实施方案中,第二化合物的分子量为约15000至约40000。在一些实施方案中,第二化合物是水溶性的。

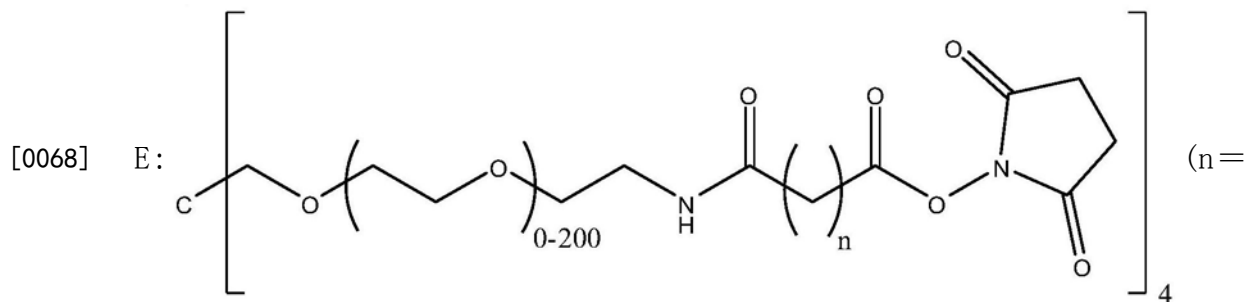
[0065] 在一些实施方案中,第二化合物是多臂-(5k-50k)-多元醇衍生物,其包含聚二醇亚单位和多于两个亲电子基团。多臂是指连接至多元醇核的聚二醇亚单位的数目,并且这些聚二醇亚单位将亲核基团连接至多元醇核。在一些实施方案中,多臂是3臂、4臂、6臂、8臂、10臂、12臂或其任意组合。在一些实施方案中,多臂是4臂或8臂。在某些实施方案中,第二化合物是多臂-(5k-50k)-SG、多臂-(5k-50k)-SGA、多臂-(5-50k)-SS、多臂-(5-50k)-SSA及其组合。在某些实施方案中,第二化合物选自4臂-(5-50k)-SG、4臂-(5-50k)-SGA、4臂-(5-50k)-SS、8臂-(5-50k)-SG、8臂-(5-50k)-SGA和8臂-(5-50k)-SS及其组合。在一些实施方案中,该多元醇衍生物为二醇、三羟甲基丙烷、甘油、双甘油、季戊四醇、山梨醇、六甘油、三季戊四醇或聚甘油衍生物。

[0066] 带有季戊四醇核心多元醇、包含多于一个亲电子基团的单体的结构实例如下所示。所示的化合物具有琥珀酰亚胺基亲电子基团、戊二酸酯或戊二酰胺连接体以及长度不

等的PEG亚单位(例如,以下的结构:4臂-PEG-SG(D;n=3)和4臂-PEG-SGA(E;n=3))。使用其他多元醇核心或不同的连接体(例如,琥珀酸酯(SS)或琥珀酰胺(SSA))的单体以类似的方式构建。



1至6)



1至6)

[0069] 包含亲电子基团的合适的第二化合物包括但不限于季戊四醇聚乙二醇马来酰亚胺(4臂-PEG-MAL)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(4臂-PEG-SS)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酸酯(4臂-PEG-SG)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酰胺(4臂-PEG-SGA)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、六甘油聚乙二醇琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(8臂-PEG-SS)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、六甘油聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酸酯(8臂-PEG-SG)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000、15000、20000或40000)、六甘油聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酰胺(8臂-PEG-SGA)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000,15000,20000或40000)、三季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(8臂(TP)-PEG-SS)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000或20000)、三季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酸酯(8臂(TP)-PEG-SG)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000、15000、20000或40000)或三季戊四醇聚乙二醇琥珀酰亚胺基戊二酰胺(8臂(TP)-PEG-SGA)(分子量选自约5000至约40000,例如,10000、15000、20000或40000)。4(或8)臂-PEG-SG单体包含酯基团,而4(或8)臂-PEG-SGA单体不包含酯基团。

[0070] 包含亲电子基团的其他合适的第二化合物是山梨糖醇聚缩水甘油醚,包括但不限于山梨糖醇聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-611)、山梨糖醇聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-612)、山梨糖醇聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-614)、山梨糖醇聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-614 B)、聚甘油聚缩水甘油醚

(DENACOL®EX-512)、聚甘油聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-521)、二甘油聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-421)、甘油聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-313)、甘油聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-313)、三羟甲基丙烷聚缩水甘油醚(DENACOL®EX-321)、山梨糖醇聚缩水甘油醚(DENACOL®EJ-190)。

[0071] 生物相容性水凝胶聚合物基体的形成

[0072] 本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞和任选的额外组分。示例性的额外组分为培养基。在某些实施方案中,该培养基为缓冲液。在某些实施方案中,该培养基为富含营养物的培养基。在某些实施方案中,该细胞是干细胞。生物相容性预制剂经历聚合和/或胶凝,以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体是可生物降解的。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。

[0073] 本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、培养基以及任选的额外组分。示例性的额外组分为至少一种细胞。在某些实施方案中,该细胞是干细胞。在某些实施方案中,该培养基为缓冲液。在某些实施方案中,该培养基为富含营养物的培养基。生物相容性预制剂经历聚合和/或胶凝,以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体是可生物降解的。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。

[0074] 在某些实施方案中,预制剂在哺乳动物体内或身体上的目标部位,例如,在伤口部位、手术部位或关节中安全地经历聚合。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体形成伤口贴片、缝合线或关节间隔物(joint spacer)。在一些实施方案中,第一化合物和第二化合物是通过第一化合物中的亲核基团与第二化合物中的亲电子基团反应而形成聚合物基体的单体。在某些实施方案中,单体在预定的时间聚合。在一些实施方案中,单体在温和且接近中性的pH条件下聚合。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在胶凝后不改变体积。

[0075] 在一些实施方案中,第一化合物与第二化合物反应以形成酰胺、硫酯或硫醚键。当硫醇亲核体与琥珀酰亚胺基亲电子体反应时,形成硫酯。当氨基亲核体与琥珀酰亚胺基亲电子体反应时,形成酰胺。

[0076] 在一些实施方案中,一种或多种包含氨基基团的第一化合物与一种或多种包含琥珀酰亚胺基酯基团的第二化合物反应,以形成酰胺键连接的第一和第二单体单元。在某些实施方案中,一种或多种包含硫醇基团的第一化合物与一种或多种包含琥珀酰亚胺基酯基团的第二化合物反应,以形成硫酯键连接的第一和第二单体单元。在一些实施方案中,一种或多种包含氨基基团的第一化合物与一种或多种包含环氧化物基团的第二化合物反应,以形成胺键连接的第一和第二单体单元。在某些实施方案中,一种或多种包含硫醇基团的第一化合物与一种或多种包含环氧化物基团的第二化合物反应,以形成硫醚键连接的第一和第二单体单元。

[0077] 在一些实施方案中,将第一化合物在加入到一种或多种第二化合物之前与不同的

第一化合物混合。在其他实施方案中,将第二化合物在加入到一种或多种第一化合物之前与不同的第二化合物混合。在某些实施方案中,通过至少一种第一单体混合物和至少一种第二单体混合物的性质来控制生物相容性预制剂和生物相容性水凝胶聚合物基体的性质。

[0078] 在一些实施方案中,在生物相容性水凝胶聚合物基体中使用一种第一化合物。在某些实施方案中,将两种不同的第一化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。在一些实施方案中,将三种不同的第一化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。在某些实施方案中,将四种或更多种不同的第一化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。

[0079] 在一些实施方案中,在生物相容性水凝胶聚合物基体中使用一种第二化合物。在某些实施方案中,将两种不同的第二化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。在一些实施方案中,将三种不同的第二化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。在某些实施方案中,将四种或更多种不同的第二化合物混合,并用于生物相容性水凝胶聚合物基体中。

[0080] 在一些实施方案中,将包含连接至亲核基团的醚键的第一化合物与包含连接至亲核基团的酯键的不同的第一化合物混合。这使得能够对得到的生物相容性水凝胶聚合物基体中的酯基团的浓度进行控制。在某些实施方案中,将包含连接至亲电子基团的醚键的第二化合物与包含连接至亲电子基团的酯键的不同的第二化合物混合。在一些实施方案中,将包含连接至亲电子基团的酯键的第二化合物与包含连接至亲电子基团的酰胺键的不同的第二化合物混合。在某些实施方案中,将包含连接至亲电子基团的酰胺键的第二化合物与包含连接至亲电子基团的醚键的不同的第二化合物混合。

[0081] 在一些实施方案中,将包含氨基乙酸酯(例如,甘氨酸衍生的)亲核体的第一化合物与包含胺亲核体(例如,乙胺醚)的不同的第一化合物以指定的摩尔比(x/y)混合。在某些实施方案中,该摩尔比(x/y)为5/95、10/90、15/85、20/80、25/75、30/70、35/65、40/60、45/55、50/50、55/45、60/40、65/35、70/30、75/25、80/20、85/15、90/10或95/5。在某些实施方案中,将包含氨基乙酸酯(例如,甘氨酸衍生的)亲核体的第一化合物与包含胺亲核体(例如,乙胺醚)的不同的第一化合物以指定的重量比(x/y)混合。在某些实施方案中,该重量比(x/y)为5/95、10/90、15/85、20/80、25/75、30/70、35/65、40/60、45/55、50/50、55/45、60/40、65/35、70/30、75/25、80/20、85/15、90/10或95/5。在某些实施方案中,将两种第一化合物的混合物与一种或多种第二化合物以等于x和y之和的摩尔量混合。

[0082] 在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物与至少一种细胞在水的存在下预混合。在某些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物与细胞在不存在水的情况下预混合。一旦完成预混合,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物在水的存在下添加至预混合物,以形成生物相容性水凝胶聚合物基体。最终混合后不久,将生物相容性水凝胶聚合物基体递送至目标部位。在某些实施方案中,将在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位之前,将任选的额外组分添加至预混合物、第二化合物或混合物中。在某些实施方案中,在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位后,将任选的额外组分添加至预混合物、第二化合物或混合物中。在一些实施方案中,额外组分为缓冲液。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在递送至目标部位前聚合和/或胶凝。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位聚合和/或

胶凝。

[0083] 在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物与缓冲液在水的存在下预混合。在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物与缓冲液在不存在水的情况下预混合。一旦完成预混合,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物在水的存在下添加至预混合物,形成生物相容性水凝胶聚合物基体。最终混合后不久,将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位。在某些实施方案中,临在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位之前,将任选的额外组分添加至预混合物、第二化合物或混合物中。在某些实施方案中,在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位后,将任选的额外组分添加至预混合物、第二化合物或混合物中。在一些实施方案中,额外组分为至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在递送至目标部位前聚合和/或胶凝。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位处聚合和/或胶凝。

[0084] 在其他实施方案中,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物与至少一种细胞在水的存在下预混合。在其他实施方案中,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物与细胞在不存在水的情况下预混合。一旦完成预混合,将包含多于一个亲核基团的第一化合物添加至预混合物,形成生物相容性水凝胶聚合物基体。最终混合后不久,将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位。在某些实施方案中,临在生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位之前,将任选的组分添加至预混合物、第一化合物或混合物中。在某些实施方案中,在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位后,将任选的额外组分添加至预混合物、第一化合物或混合物中。在一些实施方案中,额外组分为缓冲液。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在递送至目标部位前聚合和/或胶凝。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位聚合和/或胶凝。

[0085] 在其他实施方案中,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物与缓冲液在水的存在下预混合。在其他实施方案中,将包含多于一个亲电子基团的第二化合物与缓冲液在不存在水的情况下预混合。一旦完成预混合,将包含多于一个亲核基团的第一化合物添加至预混合物,形成生物相容性水凝胶聚合物基体。最终混合后不久,将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位。在某些实施方案中,临在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位之前,将任选的组分添加至预混合物、第一化合物或混合物中。在某些实施方案中,在将生物相容性水凝胶聚合物基体混合物递送至目标部位后,将任选的额外组分添加至预混合物、第一化合物或混合物中。在一些实施方案中,额外组分为至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在递送至目标部位前聚合和/或胶凝。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位聚合和/或胶凝。

[0086] 在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物、包含多于一个亲电子基团的第二化合物以及至少一种细胞在水的存在下混合在一起,由此形成了生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物、包含多于一个亲电子基团的第二化合物以及缓冲液在水的存在下混合在一起,由此形成了生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的第一化合物、包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞以及缓冲液在水的存在下混合在一起,由此形成了生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,将包含多于一个亲核基团的

第一化合物、包含多于一个亲电子基团的第二化合物和/或细胞在pH范围为约5.0到约9.5的水性缓冲液中各自稀释,其中将单个稀释液或纯单体混合并形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,该水性缓冲液在约6.0到约8.5的pH范围中。在某些实施方案中,该水性缓冲液在约为8的pH范围中。在某些实施方案中,该水性缓冲液是培养基。在某些实施方案中,该培养基为富含营养物的培养基。

[0087] 在某些实施方案中,水性缓冲液中的单体的浓度为约1%至约100%。在一些实施方案中,采用稀释来调节单体稀释液的粘度。在某些实施方案中,水性缓冲液中的单体的浓度为约1%、约2%、约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0088] 在一些实施方案中,将亲电子和亲核单体以这样的比例混合,即在混合物中存在亲电子基团的轻微过量。在某些实施方案中,该过量为约10%、约5%、约2%、约1%、约0.9%、约0.8%、约0.7%、约0.6%、约0.5%、约0.4%、约0.3%、约0.2%、约0.1%或小于0.1%。

[0089] 在某些实施方案中,通过选择第一和第二化合物来控制生物相容性水凝胶聚合物基体的胶凝时间或固化时间。在一些实施方案中,第一或第二化合物中的亲核或亲电子基团的浓度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在某些实施方案中,温度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在一些实施方案中,水性缓冲液的类型影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在某些实施方案中,水性缓冲液为培养基。在某些实施方案中,水性缓冲液的浓度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在一些实施方案中,单体的亲核和亲电子基团的亲核性和/或亲电子性影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在某些实施方案中,细胞类型影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在某些实施方案中,细胞浓度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。

[0090] 在一些实施方案中,通过水性缓冲液的pH来控制生物相容性水凝胶聚合物基体的胶凝时间或固化时间。在某些实施方案中,胶凝时间为约20秒至10分钟。在某些实施方案中,胶凝时间少于30分钟、少于20分钟、少于10分钟、少于5分钟、少于4.8分钟、少于4.6分钟、少于4.4分钟、少于4.2分钟、少于4.0分钟、少于3.8分钟、少于3.6分钟、少于3.4分钟、少于3.2分钟、少于3.0分钟、少于2.8分钟、少于2.6分钟、少于2.4分钟、少于2.2分钟、少于2.0分钟、少于1.8分钟、少于1.6分钟、少于1.4分钟、少于1.2分钟、少于1.0分钟、少于0.8分钟、少于0.6分钟或少于0.4分钟。在某些实施方案中,水性缓冲液的pH为约5至约9.5。在某些实施方案中,水性缓冲液的pH为约7.0至约9.5。在具体的实施方案中,水性缓冲液的pH为约8。在某些实施方案中,水性缓冲液的pH为约5、约5.5、约6.0、约6.5、约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约7.6、约7.8、约7.9、约8.0、约8.1、约8.2、约8.3、约8.4、约8.5、约9.0或约9.5。

[0091] 在某些实施方案中,通过水性缓冲液的类型来控制生物相容性预制剂的胶凝时间或固化时间。在某些实施方案中,水性缓冲液是生理上可接受的缓冲液。在某些实施方案中,水性缓冲液包括但不限于,水性盐溶液、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、各组分溶解于各自的缓冲液中的硼酸盐和磷酸盐缓冲液的组合、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-羟基丙磺酸(HEPES)、3-(N-吗啉基)丙磺酸(MOPS)、2-([2-羟基-1,1-双(羟甲基)乙基]氨基)乙磺酸(TES)、3-[N-三(羟甲基)乙基氨基]-2-羟乙基]-1-哌嗪丙磺酸(EPPS)、三[羟甲基]-氨基

甲烷 (THAM) 和三[羟甲基]甲基氨基甲烷 (TRIS)。在一些实施方案中, 硫醇-酯化学反应 (例如, ETTMP 亲核体与 SGA 或 SG 亲电子体) 在硼酸盐缓冲液中进行。在某些实施方案中, 胺-酯化学反应 (NH₂ 或 AA 亲核体与 SGA 或 SG 亲电子体) 在磷酸盐缓冲液中进行。在一些实施方案中, 水性缓冲液为培养基。在某些实施方案中, 培养基包括但不限于 DMEM、IMDM、OptiMEM[®]、AlgiMatrix[™]、胎牛血清、GS1-R[®]、GS2-M[®]、iSTEM[®]、NDiff[®] N2、NDiff[®] N2-AF、RHB-A[®]、RHB-Basal[®]、RPMI、SensiCell[™]、GlutaMAX[™]、FluoroBrite[™]、Gibco[®] TAP、Gibco[®] BG-11、LB、M9 Minimal、Terrific Broth、2YXT、MagicMedia[™]、ImMedia[™]、SOC、YPD、CSM、YNB、Grace 昆虫培养基 (Grace's Insect Media)、199/109 和 HamF10/HamF12。在某些实施方案中, 细胞培养基可以是无血清的。在某些实施方案中, 培养基可以包括添加剂。在一些实施方案中, 培养基添加剂包括但不限于抗生素、维生素、蛋白质、抑制剂、小分子、矿物质、无机盐、氮、生长因子、氨基酸、血清、碳水化合物、脂质、激素和葡萄糖。在一些实施方案中, 生长因子包括但不限于 EGF、bFGF、FGF、ECGF、IGF-1、PDGF、NGF、TGF- α 和 TGF- β 。在某些实施方案中, 培养基可以不是水性的。在某些实施方案中, 非水性培养基包括但不限于冷冻的细胞贮存物、冻干的培养基和琼脂。

[0092] 在某些实施方案中, 生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。在某些实施方案中, 该生物相容性水凝胶支架包含预制剂至少一种第一化合物和预制剂至少一种第二化合物。在某些实施方案中, 该生物相容性水凝胶支架包含缓冲液。在某些实施方案中, 该生物相容性水凝胶支架是完全合成的。在某些实施方案中, 该生物相容性水凝胶支架提供适合于持续的细胞活力和/或生长的环境。

[0093] 在某些实施方案中, 在生物相容性水凝胶聚合物基体形成期间, 第一化合物和第二化合物不与细胞反应。在一些实施方案中, 在第一和第二化合物 (即单体) 聚合后细胞保持不变。在某些实施方案中, 细胞不改变生物相容性水凝胶聚合物基体的性质。在一些实施方案中, 细胞和生物相容性水凝胶聚合物基体制剂的物理化学性质不受单体聚合影响。在某些实施方案中, 使用生物相容性水凝胶聚合物基体递送细胞最大程度地减少细胞的降解或变性。在一些情况下, 细胞的物理化学性质不受细胞向目标部位的递送或释放影响。

[0094] 在一些实施方案中, 生物相容性水凝胶聚合物基体制剂还包含用于使生物相容性水凝胶聚合物基体制剂可视化并使用例如 X 射线、荧光镜检查或计算机断层扫描 (CT) 成像定位肿瘤的造影剂。在某些实施方案中, 该造影剂使得生物相容性水凝胶聚合物基体的生物吸收能够可视化。在一些实施方案中, 该造影剂是不透射线的材料。在某些实施方案中, 该不透射线的材料选自, 但不限于, 碘化钠、碘化钾和硫酸钡、VISIPAQUE[®]、OMNIPAQUE[®] 或 HYPAQUE[®]、钽和类似可商购的化合物或其组合。在其他实施方案中, 生物相容性水凝胶聚合物基体还包含药学上可接受的染料。

[0095] 在一些实施方案中, 生物相容性水凝胶聚合物基体制剂还包含粘度增强剂。粘度增强剂的实例包括但不限于羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮。

[0096] 治疗的区域-目标部位

[0097] 在某些实施方案中, 目标部位在哺乳动物内部。在一些实施方案中, 目标部位在人

内部。在某些实施方案中，目标部位在人体上。在一些实施方案中，目标部位可通过手术接近。在某些实施方案中，目标部位可通过微创手术接近。在一些实施方案中，目标部位可通过内窥镜装置接近。在某些实施方案中，目标部位为哺乳动物皮肤上的伤口。在其他实施方案中，目标部位在哺乳动物的关节中或骨骼上。在一些实施方案中，目标部位为哺乳动物中的手术部位。

[0098] 在一些实施方案中，生物相容性预制剂或生物相容性水凝胶聚合物基体用作密封剂或粘合剂。在某些实施方案中，生物相容性预制剂或生物相容性水凝胶聚合物基体用于密封哺乳动物上的伤口。在其他实施方案中，生物相容性预制剂或生物相容性水凝胶聚合物基体用于填充体腔，例如，在关节间隙中，以形成凝胶垫。在其他实施方案中，生物相容性预制剂或生物相容性水凝胶聚合物基体用作向目标部位递送细胞的载体。

[0099] 在一些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体制剂离体聚合。在某些实施方案中，通过传统施用途径（例如，口服、植入或直肠）递送离体聚合的生物相容性水凝胶聚合物基体制剂。在其他实施方案中，离体聚合的生物相容性水凝胶聚合物基体制剂在手术期间向目标部位递送。

[0100] 生物相容性水凝胶制剂向目标部位的递送

[0101] 在一些实施方案中，通过导管或针将生物相容性预制剂作为生物相容性预制剂递送至目标部位以在目标部位形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在其他实施方案中，使用注射器和针将生物相容性预制剂递送至哺乳动物之中或之上的目标部位。在一些实施方案中，采用递送装置将生物相容性预制剂递送至目标部位。在一些实施方案中，将生物相容性预制剂递送至目标部位，使得生物相容性预制剂几乎覆盖目标部位。在某些实施方案中，生物相容性预制剂基本上覆盖病变组织的暴露部分。在一些实施方案中，生物相容性预制剂不会有意扩散到任何其他位置。在一些实施方案中，生物相容性预制剂基本上覆盖病变组织并且不会显著覆盖健康组织。在某些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体不会显著覆盖健康组织。在一些实施方案中，生物相容性预制剂在目标部位上胶凝并完全覆盖病变组织。在一些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体粘附至组织。在一些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体混合物在递送后在目标部位胶凝，从而覆盖目标部位。在一些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体混合物在递送前在目标部位胶凝。

[0102] 在一些实施方案中，根据医生将生物相容性预制剂混合物递送至目标部位的偏好设置生物相容性预制剂的胶凝时间。在多数情况下，医生在15到30秒内将生物相容性预制剂混合物递送至目标。在某些实施方案中，胶凝时间为约20秒到10分钟。在一些实施方案中，通过水性缓冲液的pH来控制生物相容性预制剂的胶凝时间或固化时间。在某些实施方案中，通过选择第一和第二化合物来控制生物相容性预制剂的胶凝时间或固化时间。在一些实施方案中，第一或第二化合物中的亲核或亲电子基团的浓度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在一些实施方案中，细胞浓度影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在一些实施方案中，细胞类型影响生物相容性预制剂的胶凝时间。在一些实施方案中，任选的额外组分影响生物相容性预制剂的胶凝时间。

[0103] 在一些实施方案中，在施用后验证生物相容性水凝胶聚合物基体的固化。在某些实施方案中，在递送部位进行体内验证。在其他实施方案中，进行离体验证。在一些实施方案中，通过内窥镜装置的光纤视觉验证生物相容性水凝胶聚合物基体的固化。在某些实施

方案中,包含不透射线的材料的生物相容性水凝胶聚合物基体的固化使用X射线、荧光镜检查或计算机断层扫描(CT)成像来验证。生物相容性水凝胶聚合物基体缺乏流动表明生物相容性水凝胶聚合物基体已胶凝并且生物相容性水凝胶已充分固化。在进一步的实施方案中,通过评估递送装置中的残余物(例如支气管镜或其他内窥镜装置的导管中的残留物,或者在用于递送生物相容性水凝胶聚合物基体的注射器中的残留物)来验证生物相容性水凝胶聚合物基体的固化。在其他实施方案中,通过将小样品(例如,约1mL)沉积在一张纸上或小容器中且随后在超过胶凝时间后评估流动特性来验证生物相容性水凝胶聚合物基体的固化。

[0104] 在一些实施方案中,生物相容性预制剂将至少一种细胞递送至目标部位。在一些实施方案中,生物相容性预制剂将营养物递送至位于目标部位的至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性预制剂为位于目标部位的至少一种细胞提供结构支持。在一些实施方案中,生物相容性预制剂将至少一种细胞和至少一种缓冲液递送至目标部位。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体将至少一种细胞递送至目标部位。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体将营养物递送至位于目标部位的至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体为位于目标部位的至少一种细胞提供结构支持。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体将至少一种细胞递送至目标部位。

[0105] 生物相容性水凝胶聚合物基体的生物吸收

[0106] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体为生物可吸收的聚合物。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在约5至30天内被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在约30至180天内被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物在约1至70天内被生物吸收。在优选的实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在约14至180天内被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在约365天、180天、约150天、约120天、约90天、约80天、约70天、约60天、约50天、约40天、约35天、约30天、约28天、约21天、约14天、约10天、约7天、约6天、约5天、约4天、约3天、约2天或约1天内被生物吸收。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在少于365天、180天、少于150天、少于120天、少于90天、少于80天、少于70天、少于60天、少于50天、少于40天、少于35天、少于30天、少于28天、少于21天、少于14天、少于10天、少于7天、少于6天、少于5天、少于4天、少于3天、少于2天或少于1天内被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体在多于365天、180天、多于150天、多于120天、多于90天、多于80天、多于70天、多于60天、多于50天、多于40天、多于35天、多于30天、多于28天、多于21天、多于14天、多于10天、多于7天、多于6天、多于5天、多于4天、多于3天、多于2天或多于1天内被生物吸收。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体是基本上不可生物吸收的。

[0107] 生物相容性水凝胶聚合物基体被缓慢地生物吸收、溶解和或排泄。在一些情况下,通过生物相容的和/或可生物降解的水凝胶聚合物基体中的酯基团的数目来控制生物吸收的速率。在其他情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体中酯单元的浓度越高,其在体内的寿命越长。在进一步的情况下,酯单元的羰基处的电子密度控制生物相容性水凝胶聚合物基体在体内的寿命。在某些情况下,没有酯基团的生物相容性水凝胶聚合物基体基本上不可生物降解。在另外的情况下,第一和第二化合物的分子量控制生物相容性水凝胶聚合物基体在体内的寿命。在进一步的情况下,每克聚合物基体中酯基团的数目控制生物相容性水

凝胶聚合物基体在体内的寿命。

[0108] 在一些情况下,可使用模型来估算生物相容性水凝胶聚合物基体的寿命,该模型在将生物相容性水凝胶聚合物基体暴露于缓冲溶液的同时将温度和pH控制在生理水平。在某些情况下,生物相容性水凝胶聚合物基体的生物降解基本为非酶促降解。

[0109] 在一些实施方案中,反应条件的选择决定了生物相容性水凝胶聚合物基体的降解时间。在某些实施方案中,第一化合物和第二化合物的单体的浓度决定了所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解时间。在一些情况下,较高的单体浓度导致所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体中较高的交联度。在某些情况下,越多的交联导致生物相容性水凝胶聚合物基体越迟降解。在某些实施方案中,温度决定了所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解时间。在一些情况下,较高的单体浓度导致所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体中较高的交联度。

[0110] 在某些实施方案中,第一和/或第二化合物中的连接体的组成影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在一些实施方案中,越多酯基团存在于生物相容性水凝胶聚合物基体中,生物相容性水凝胶聚合物基体降解越快。在某些实施方案中,巯基丙酸酯(ETTTP)、乙酸胺(AA)、戊二酸酯或琥珀酸酯(SG或SS)单体的浓度越高,降解的速率越快。

[0111] 在某些实施方案中,细胞的组成影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在某些实施方案中,细胞的浓度影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在某些实施方案中,缓冲液的组成影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在某些实施方案中,缓冲液的浓度影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在某些实施方案中,缓冲液的pH影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。在某些实施方案中,任选的额外组分的组成影响所获得的生物相容性水凝胶聚合物基体的降解速度。

[0112] 在疾病治疗中用于细胞递送的预制剂和水凝胶基体

[0113] 通过干细胞治疗肌腱损伤需要目标区域处细胞的受控递送和释放。例如,骨髓间充质干细胞(MSC)对马肌腱损伤的愈合具有有益影响。现有方法大量(1000-2000万个细胞)注射自体骨髓抽吸物中的MSC,然而由于全身性清除,在24小时后少于25%的MSC保留在受损区域中。细胞在递送部位的保留可以促使细胞植入到组织中,从而导致增加量的可用MSC以有助于组织愈合。本文所述的生物相容性预制剂和水凝胶聚合物基体被配置用于递送细胞,诸如临床上耐受且与细胞存活和生长相容的柔韧、可注射并可吸收的凝胶内的MSC。在一些实施方案中,与没有使用生物相容性预制剂而注射的细胞相比,本文所述的生物相容性预制剂和水凝胶聚合物基体提供了提高的细胞活力。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体作为支持负载在水凝胶聚合物基体之上或之内的细胞的生长的支架而起作用。

[0114] 在一些实施方案中,将本文所述的生物相容性预制剂或水凝胶聚合物基体递送至哺乳动物之上或之中的目标部位。在某些实施方案中,将生物相容性预制剂或水凝胶聚合物基体递送至关节中的目标部位。在一些实施方案中,生物相容性预制剂在关节内形成生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,生物相容性预制剂形成粘性的生物相容性水凝胶聚合物基体以密封动物之上或之中的伤口。在一些实施方案中,生物相容性预制

剂形成缝合线。在某些实施方案中，伤口贴片、关节间隔物或缝合线至少部分地在哺乳动物之中或之上的目标部位处胶凝。在一些实施方案中，伤口贴片、关节间隔物或缝合线至少部分地在目标部位处聚合。在一些实施方案中，伤口贴片、关节间隔物或缝合线至少部分地粘附于目标部位。

[0115] 在某些实施方案中，生物相容性预制剂用作“液体缝合线”或药物递送平台以将药物直接运送到哺乳动物之中或之上的目标部位。在一些实施方案中，目标部位为关节、伤口或手术部位。在一些实施方案中，对生物相容性预制剂或水凝胶聚合物基体的铺展性、粘度、光学透明度和粘合性能进行优化以产生作为用于疾病治疗的液体缝合线的理想材料。在某些实施方案中，将胶凝时间控制在从50秒到15分钟。

[0116] 在一些实施方案中，将包含至少一种细胞的生物相容性预制剂或水凝胶聚合物基体递送至哺乳动物中的目标部位。在一些实施方案中，生物相容性预制剂或水凝胶聚合物基体被配置用于将细胞递送至受损组织中，以便治疗疾病或损伤。在一些实施方案中，该疾病包括但不限于癌症、糖尿病、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病和乳糜泻。在一些实施方案中，该损伤由心力衰竭、肌肉损伤、脑损伤或神经障碍引起。在一些实施方案中，该损伤为脊髓损伤。在一些实施方案中，递送的细胞被配置用于治疗矫形外科疾病或损伤。在一些实施方案中，递送的细胞被配置用于修复肌腱、关节、骨缺损、肌肉或神经。

[0117] 细胞的释放速率的控制

[0118] 在一些实施方案中，生物相容性水凝胶聚合物基体经数小时至数天的时间通过扩散和/或渗透将至少一种细胞缓慢地递送至目标部位。在某些实施方案中，将细胞直接递送至目标部位。在一些实施方案中，如有需要，将包含细胞的生物相容性水凝胶聚合物基体递送至目标部位的程序重复数次。在其他实施方案中，细胞通过生物相容性水凝胶聚合物基体的生物降解而从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在一些实施方案中，细胞通过扩散、渗透和/或生物相容性水凝胶降解机制的组合而被释放。在某些实施方案中，细胞从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放的释放曲线是单峰的。在一些实施方案中，细胞从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放的释放曲线是双峰的。在某些实施方案中，细胞从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放的释放曲线是多峰的。

[0119] 在一些实施方案中，细胞通过扩散或渗透而从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些实施方案中，细胞在180天内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在一些实施方案中，细胞在14天内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些实施方案中，细胞在24小时内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在一些实施方案中，细胞在一小时内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些实施方案中，细胞在约180天、约150天、约120天、约90天、约80天、约70天、约60天、约50天、约40天、约35天、约30天、约28天、约21天、约14天、约10天、约7天、约6天、约5天、约4天、约3天、约2天、约1天、约0.5天、约6小时、约4小时、约2小时或约1小时内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在一些实施方案中，细胞在多于180天、多于150天、多于120天、多于90天、多于80天、多于70天、多于60天、多于50天、多于40天、多于35天、多于30天、多于28天、多于21天、多于14天、多于10天、多于7天、多于6天、多于5天、多于4天、多于3天、多于2天、多于1天、多于0.5天、多于6小时、多于4小时、多于2小时或多于1小时内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些实施方案中，细胞在少于180天、少于150天、少于120天、少于90天、少于80

天、少于70天、少于60天、少于50天、少于40天、少于35天、少于30天、少于28天、少于21天、少于14天、少于10天、少于7天、少于6天、少于5天、少于4天、少于3天、少于2天、少于1天、少于0.5天、少于6小时、少于4小时、少于2小时或少于1小时内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在一些实施方案中,细胞在约一天至约十四天内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。在某些实施方案中,细胞在约一天至约70天内基本从生物相容性水凝胶聚合物基体中释放。

[0120] 在一些实施方案中,通过生物相容性水凝胶聚合物基体的组成来控制细胞从生物相容性水凝胶聚合物基体中的释放。在某些实施方案中,细胞在生物相容性水凝胶聚合物基体开始降解时被释放。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体的孔径足够小,足以防止细胞的早期释放(即,在生物相容性水凝胶聚合物基体降解之前释放)。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体的孔径足够大,足以允许细胞的早期释放。

[0121] 在一些实施方案中,单体中大PEG基团导致所得生物相容性水凝胶聚合物基体中的大孔径,从而允许大细胞的洗脱。在某些实施方案中,大分子量的单体导致具有大孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,约10kDa的大单体分子量导致具有大孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,约20kDa的大单体分子量导致具有大孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。

[0122] 在一些实施方案中,单体中的小PEG基团导致所得生物相容性水凝胶聚合物基体中的小孔径,从而限制小(和大)细胞的洗脱。在某些实施方案中,小分子量的单体导致具有小孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,约5kDa的小单体分子量导致具有小孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。在某些实施方案中,8臂单体中约10kDa的小单体分子量导致具有小孔径的生物相容性水凝胶聚合物基体。在一些实施方案中,小孔径限制细胞的洗脱。

[0123] 示例性的细胞

[0124] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含至少一种细胞。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体与细胞一起递送。细胞的实例包括但不限于哺乳动物、昆虫、原生动物、细菌、病毒或真菌细胞。在一些实施方案中,可以将细胞遗传工程化。在一些实施方案中,该细胞可以是疫苗。

[0125] 在某些实施方案中,该细胞是哺乳动物细胞。哺乳动物细胞的实例包括但不限于人、小鼠、仓鼠、大鼠、犬和灵长类动物细胞。人类细胞的实例包括但不限于胚胎、成体、骨髓基质、胚胎种系、胎儿、寡能祖细胞(oligopotent progenitor)、体细胞和诱导的多能细胞。哺乳动物细胞包括但不限于已建立或开发的细胞系。细胞系的实例包括但不限于HEK-293、CHO、293-T、A2780、BHK-21、BCP-1、DU145、H1299、HeLa、High-Five、HUVEC、MCF-7和RBL。哺乳动物细胞包括但不限于干细胞。干细胞的实例包括但不限于成体、胚胎、造血、胚胎、间充质、多能、神经、多潜能、全能、脐带和单能细胞。

[0126] 在某些实施方案中,该细胞是昆虫细胞。在某些实施方案中,该昆虫细胞是遗传工程化的。在某些实施方案中,该昆虫细胞是非传染性的。昆虫细胞的实例包括但不限于草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)、果蝇(*Drosophila*)和粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)细胞。

[0127] 在某些实施方案中,该细胞是原生动物细胞。在某些实施方案中,该原生动物细胞

是遗传工程化的。在某些实施方案中,该原生动物细胞为疫苗。在某些实施方案中,该原生动物细胞是非传染性的。原生动物细胞的实例包括但不限于兰伯贾第虫 (*Giardia lamblia*)、溶组织内阿米巴 (*Entamoeba histolytica*)、诺尔斯氏疟原虫 (*Plasmodium knowlesi*) 和结肠小袋纤毛虫 (*Balantidium coli*) 细胞。

[0128] 在某些实施方案中,该细胞是细菌细胞。在某些实施方案中,该细菌细胞是遗传工程化的。在某些实施方案中,该细菌细胞为疫苗。在某些实施方案中,该细菌细胞是非传染性的。细菌细胞的实例包括但不限于金黄弗拉特氏菌 (*Acetobacter aurantius*)、放射形土壤杆菌 (*Agrobacterium radiobacter*)、嗜吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*)、茎瘤固氮根瘤菌 (*Azorhizobium caulinodans*)、炭疽芽孢杆菌 (*Bacillus anthracis*)、短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Bacteroides gingivalis*)、产黑素普雷沃氏菌 (*Bacteroides melaninogenicus*)、五日热巴尔通氏体 (*Bartonella quintana*)、支气管炎博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*)、百日咳博德特氏菌 (*Bordetella pertussis*)、布氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、流产布鲁氏菌 (*Brucella abortus*)、马尔他布鲁氏菌 (*Brucella melitensis*)、猪布鲁氏菌 (*Brucella suis*)、鼻疽伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia mallei*)、类鼻疽伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia pseudomallei*)、洋葱伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia cepacia*)、肉芽肿鞘杆菌 (*Calymmatobacterium granulomatis*)、大肠弯曲杆菌 (*Campylobacter coli*)、胚胎弯曲杆菌 (*Campylobacter fetus*)、空肠弯曲杆菌 (*Campylobacter jejuni*)、幽门螺杆菌 (*Campylobacter pylori*)、砂眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*)、肺炎衣原体 (*Chlamydophila pneumoniae*)、鸚鵡热衣原体 (*Chlamydophila psittac*)、肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、白喉棒杆菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、梭形棒杆菌 (*Corynebacterium fusiforme*)、伯氏考克斯氏体 (*Coxiella burnetii*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、尿肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、鹌鸡肠球菌 (*Enterococcus gallinarum*)、病臭肠球菌 (*Enterococcus maloratus*)、大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*)、土拉热弗朗西丝氏菌 (*Francisella tularensis*)、具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*)、阴道加德纳氏菌 (*Gardnerella vaginalis*)、流感嗜血菌 (*Haemophilus influenzae*)、副流感嗜血菌 (*Haemophilus parainfluenzae*)、百日咳嗜血菌 (*Haemophilus pertussis*)、阴道嗜血菌 (*Haemophilus vaginalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*)、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)、侵肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)、单核细胞增生利斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*)、*Methanobacterium extroquens*、多形微杆菌 (*Microbacterium multifforme*)、藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*)、粘膜炎莫拉氏菌 (*Moraxella catarrhalis*)、草分枝杆菌 (*Mycobacterium phlei*)、耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、生殖道支原体 (*Mycoplasma genitalium*)、人型支原体 (*Mycoplasma hominis*)、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*)、淋病奈瑟氏球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、脑膜炎奈瑟氏球菌 (*Neisseria*

meningitidis)、多杀巴斯德氏菌(*Pasteurella multocida*)、土拉热巴斯德氏菌(*Pasteurella tularensis*)、消化链球菌属(*Peptostreptococcus*)、牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、产黑素普雷沃氏菌(*Prevotella melaninogenica*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、放射根瘤菌(*Rhizobium radiobacter*)、立氏立克次氏体(*Rickettsia rickettsii*)、龋齿罗氏菌(*Rothia dentocariosa*)、猪霍乱沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、痢疾志贺氏菌(*Shigella dysenteriae*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、嗜麦芽糖寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、苍白密螺旋体(*Treponema pallidum*)、齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)、逗号弧菌(*Vibrio comma*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)、小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)和假结核耶尔森氏菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)。

[0129] 在某些实施方案中,该细胞是病毒细胞。在某些实施方案中,该病毒细胞是遗传工程化的。在某些实施方案中,该细胞为疫苗。在某些实施方案中,该细胞是非传染性的。在某些实施方案中,该病毒细胞是噬菌体。病毒细胞的实例包括但不限于腺病毒、疱疹病毒、痘病毒、细小病毒、呼肠孤病毒、小RNA病毒、披膜病毒、正粘病毒、弹状病毒、逆转录病毒和嗜肝DNA病毒。

[0130] 在某些实施方案中,该细胞是真菌细胞。在某些实施方案中,该真菌细胞是遗传工程化的。在某些实施方案中,该真菌细胞是非传染性的。真菌细胞的实例包括但不限于新型隐球酵母(*Cryptococcus neoformans*)、格特隐球酵母(*Cryptococcus gattii*)、白假丝酵母(*Candida albicans*)、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)、星形假丝酵母(*Candida stellatoidea*)、光滑假丝酵母(*Candida glabrata*)、克鲁斯假丝酵母(*Candida krusei*)、近平滑假丝酵母(*Candida parapsilosis*)、季也蒙假丝酵母(*Candida guilliermondii*)、维斯假丝酵母(*Candida viswanathii*)、葡萄牙假丝酵母(*Candida lusitaniae*)、胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、布鲁塞尔酒香酵母(*Brettanomyces bruxellensis*)、*Candida stellata*、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、戴尔有孢圆酵母(*Torulasporea delbrueckii*)、拜氏接合酵母(*Zygosaccharomyces bailii*)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、少孢酵母(*Saccharomyces exiguus*)和巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)。

[0131] 示例性的培养基

[0132] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含缓冲液或培养基。在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含缓冲液和至少一种细胞。在一些实施方案中,该培养基为缓冲液。在一些实施方案中,该培养基包含生长培养基。在一些实施方案中,该培养基是富含营养物的。在某些实施方案中,该培养基提供足以支持细胞活力、生长和/或增殖的营养物。在某些实施方案中,培养基包括但不限于DMEM、IMDM、OptiMEM®、AlgiMatrix™、胎牛血清、GS1-R®、GS2-M®、

iSTEM®、NDiff® N2、NDiff® N2-AF、RHB-A®、RHB-Basal®、RPMI、SensiCell™、GlutaMAX™、FluoroBrite™、Gibco® TAP、Gibco® BG-11、LB、M9Minimal、Terrific Broth、2YXT、MagicMedia™、ImMedia™、SOC、YPD、CSM、YNB、Grace昆虫培养基(Grace's Insect Media)、199/109和HamF10/HamF12。在某些实施方案中,该细胞培养基可以是无血清的。在某些实施方案中,该培养基包括添加剂。在一些实施方案中,培养基添加剂包括但不限于抗生素、维生素、蛋白质、抑制剂、小分子、矿物质、无机盐、氮、生长因子、氨基酸、血清、碳水化合物、脂质、激素和葡萄糖。在一些实施方案中,生长因子包括但不限于EGF、bFGF、FGF、ECGF、IGF-1、PDGF、NGF、TGF- α 和TGF- β 。在某些实施方案中,该培养基可以不是水性的。在某些实施方案中,非水性培养基包括但不限于冷冻的细胞贮存物、冻干的培养基和琼脂。

[0133] 示例性的组合

[0134] 在一些实施方案中,一种或多种任选的组分可以引入到生物相容性水凝胶聚合物基体制剂中。本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、至少一种细胞和任选的额外组分。示例性的额外组分为缓冲液。在某些实施方案中,该细胞是干细胞。在某些实施方案中,该额外组分是培养基。在某些实施方案中,该培养基是富含营养物的。生物相容性水凝胶聚合物基体在将第一化合物、第二化合物和至少一种细胞在水的存在下混合后形成;其中生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位胶凝。在一些实施方案中,可以在生物相容性水凝胶聚合物基体形成之前或之后将缓冲液或其他额外组分添加到预制剂混合物中。在一些实施方案中,第一化合物和第二化合物在生物相容性水凝胶聚合物基体的形成期间不与该至少一种细胞反应。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含该至少一种第一化合物和至少一种第二化合物。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含缓冲液。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架是完全合成的。

[0135] 本文提供了生物相容性预制剂,其包含至少一种包含多于一个亲核基团的第一化合物、至少一种包含多于一个亲电子基团的第二化合物、缓冲液以及任选的额外组分。示例性的额外组分为至少一种细胞。在某些实施方案中,该细胞是干细胞。在某些实施方案中,该缓冲液是培养基。在某些实施方案中,该培养基是富含营养物的。生物相容性水凝胶聚合物基体在将第一化合物、第二化合物和缓冲液在水的存在下混合后形成;其中生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位胶凝。在一些实施方案中,可以在生物相容性水凝胶聚合物基体形成之前或之后将至少一种细胞或其他额外组分添加到混合物中。在一些实施方案中,第一化合物和第二化合物在生物相容性水凝胶聚合物基体的形成期间不与该至少一种细胞反应。在某些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体包含生物相容性水凝胶支架。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架包含该至少一种第一化合物、至少一种第二化合物以及缓冲液。在某些实施方案中,该生物相容性水凝胶支架是完全合成的。

[0136] 在某些实施方案中,生物相容性预制剂或生物相容性水凝胶聚合物基体包含至少一种额外组分。额外组分包括但不限于蛋白质、生物分子、生长因子、麻醉剂、抗菌剂、抗病毒剂、免疫抑制剂、抗炎剂、抗增殖剂、抗血管生成剂和激素。

[0137] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体或生物相容性预制剂还包含用于使生物相容性水凝胶聚合物基体在目标部位的放置可视化的可视化试剂。该可视化试剂帮助使采用微创递送,例如,采用内窥镜装置的放置可视化。在某些实施方案中,该可视化试剂为染料。在特定的实施方案中,该可视化试剂为着色剂。

[0138] 在一些实施方案中,生物相容性水凝胶聚合物基体制剂还包含用于使生物相容性水凝胶制剂可视化并使用例如X射线、荧光镜检查或计算机断层扫描(CT)成像定位肿瘤的造影剂。在某些实施方案中,该造影剂是不透射线的。在一些实施方案中,不透射线的材料选自碘化钠、碘化钾、硫酸钡、VISIPAQUE[®]、OMNIPAQUE[®]或HYPAQUE[®]、钼和类似可商购的化合物或其组合。

[0139] 实施例

[0140] 以下具体的实施例应理解为仅是说明性的,并不以任何方式限制本文公开内容的其余部分。

[0141] 以下为符合生物相容性的生物相容性预制剂和生物相容性水凝胶聚合物基体的一般特性。

	预制剂性质	特性
	1 体内可聚合	可在哺乳动物腔内或皮肤上聚合
	2 反应混合物 pH	生理 pH 至 8.0 的 pH 范围
	3 反应温度	环境温度至体温
	4 制剂物理形态	两种或三种组分的体系; 临使用前混合, 可以包含不透射线的试剂如硫酸钡或含有碘的有机化合物或其他已知的不透射线试剂
[0142]	5 启动反应的混合时间	数秒(约 10 秒)
	6 凝胶形成时间	凝胶形成时间范围为 10 秒至 120 秒, 或根据应用可以长达 30 分钟
	7 溶液粘度	溶液粘度范围为 1 至 800 cps
	8 灭菌能力	ETO 至电子束(E-beam)可灭菌的
	9 局部递送	对于小分子、大分子和细胞的局部递送是理想的
	10 制剂混合物中药物的稳定性	已发现迄今研究的所有小分子药物和蛋白质是稳定的

[0143] 以下为粘性生物相容性水凝胶聚合物基体的一些特性。

	水凝胶性质	特性
[0144]	1 组织粘附	粘性制剂, 对于粘接到皮肤、骨骼或其他哺乳动物组织理想的物理化学特性
	2 聚合物硬度	可以控制, 从软组织到更硬的软骨样材料
	3 生物吸收时间	约 2 周到最多 10 年, 或完全不可生物吸收
	4 生物相容性	高度生物相容; 通过了所有进行的 ISO10993 测试
	5 聚合物细胞毒性	非细胞毒性制剂
[0145]	6 小分子洗脱	可控制小药物分子的洗脱, 因此在需要时也可使用制剂递送药品
	7 与蛋白质和细胞的相容性	由于聚合物的生理 pH 而高度相容

[0146] 用于形成生物相容性水凝胶聚合物基体的生物相容性预制剂化学组分在表1中列出。生物相容性预制剂组分将以其缩写而被提及。若干USP级粘度增强剂购自Sigma-Aldrich, 并储存在25℃下。它们包括缩写为MC的甲基纤维素 (**Methocel® MC**, 10-25MPA.S); 缩写为HPMC的羟丙甲纤维素 (羟丙基甲基纤维素2910); 和缩写为PVP的聚维酮K-30 (聚乙烯吡咯烷酮)。

[0147] 将生物相容性预制剂组分储存于5℃下, 并在使用前使其升温至室温, 这通常需要30分钟。使用后将内容物在用石蜡膜密封并返回至5℃之前用N₂吹扫约30秒。或者, 将生物相容性预制剂组分储存于-20℃, 并在使用前使其在惰性气体气流下升温至室温, 这通常需要30分钟。将生物相容性预制剂组分在返回至-20℃之前用惰性气体吹扫至少30秒。

[0148] 通过在25℃和磁力搅拌下将9.00g (0.075mol) NaH₂PO₄溶解于500mL蒸馏水中来制备0.15M磷酸盐缓冲液。然后通过逐滴加入50%的NaOH水溶液将pH调至7.99。以类似的方式制备其他几种磷酸盐缓冲液: pH 9的0.10M磷酸盐缓冲液、pH 7.80的0.10M磷酸盐缓冲液、pH 7.72的0.10M磷酸盐缓冲液、pH 7.46的0.10M磷酸盐缓冲液、pH7.94的0.15M磷酸盐缓冲液、pH 7.90的0.15M磷酸盐缓冲液、pH 9的0.4M磷酸盐缓冲液和pH 7.40的0.05M磷酸盐缓冲液。

[0149] 制备含0.30%HPMC的pH 7.58的无菌0.10M磷酸盐缓冲液以用于试剂盒。首先, 通过剧烈摇动将1.417g HPMC溶解于471mL pH 7.58的0.10M磷酸盐缓冲液中。使粘稠溶液澄清过夜。通过施加轻度真空将溶液通过0.22μm过滤器 (Corning#431097) 过滤。在20℃测得所得溶液的粘度为8.48cSt+/-0.06。

[0150] 制备了含0.3%HPMC的pH 7.58的无菌0.10M磷酸盐缓冲液。首先, 通过将5.999g (0.05mol) 的NaH₂PO₄在20℃和磁力搅拌下溶解于500mL蒸馏水中制备0.10M磷酸盐缓冲液。然后, 逐滴加入50%NaOH水溶液将pH调节至7.58。然后, 通过剧烈摇动将1.5g HPMC溶解于500mL的上述缓冲液中。使粘稠溶液澄清过夜。通过施加轻度真空将溶液通过0.22μm过滤器

(Corning#431097) 过滤。所得溶液的粘度通过粘度测量部分中所述的程序测量,并且在20℃测得为8.48cSt+/-0.06。

[0151] 通过在25℃和剧烈摇动下将两片PBS片(Sigma Chemical,P4417)溶解于400mL蒸馏水中来制备磷酸盐缓冲盐水(PBS)。该溶液具有以下组成和pH:0.01M磷酸盐、0.0027M氯化钾、0.137M氯化钠,pH7.46。

[0152] 通过在25℃和磁力搅拌下将3.45g(0.029mol)的 NaH_2PO_4 溶解于500mL蒸馏水中来制备0.058M磷酸盐缓冲液。然后逐滴加入50%NaOH水溶液将pH调节至7.97。

[0153] 通过在25℃和磁力搅拌下将9.53g(0.025mol)的 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 溶解于500mL蒸馏水中来制备0.05M硼酸盐缓冲液。然后逐滴加入6.0N HCl将pH调节至7.93或8.35。

[0154] 防腐剂液体组分用商品2%氯己定溶液以相似的方式制备。向100mL 2%氯己定溶液中溶解0.3g的HPMC。使粘稠溶液在5℃澄清过夜。所得的澄清蓝色溶液具有以下组成:2%氯己定、0.3%HPMC和未知量的无毒性蓝色染料以及去污剂。

[0155] 其他液体组分通过简单地将适量的所需添加剂溶解至溶液中,以相似的方式制备。例如,含有1%苯甲酸地那铵(一种苦味剂)的防腐剂液体组分通过将2g苯甲酸地那铵溶解在200mL的2%氯己定溶液中来制备。

[0156] 或者,将可商购的药物溶液用作液体组分。例如,使用盐水溶液、Kenalog-10(10mg/mL的曲安奈德溶液)和Depo-Medrol(40mg/mL的醋酸甲泼尼龙)。

[0157] 将胺或硫醇组分(通常在0.1mmol臂当量的范围内)加入到50mL离心管中。通过移液管将一定体积的反应缓冲液加入到该管中,使得溶液中固体的最终浓度约为5%。在加入适量的酯或环氧化物前使混合物轻微地涡旋以溶解固体。加入酯或环氧化物后,立即将整个溶液摇动10秒,随后使其静置。

[0158] 表1.生物相容性预制剂中使用的组分。

预制剂组分	技术名称
ETTMP-1300	乙氧基化三羟甲基丙烷三(3-巯基丙酸酯)
4臂-5k-SH	4臂 PEG 硫醇(季戊四醇)
4臂-2k-NH ₂	4臂 PEG 胺(季戊四醇), HCl 盐, MW 2000
4臂-5k-NH ₂	4臂 PEG 胺(季戊四醇), HCl 盐, MW 5000
8臂-20k-NH ₂	8臂 PEG 胺(六甘油), HCl 盐, MW 20000
4臂-20k-AA	4臂 PEG 乙酸胺 HCl 盐, MW 20000
8臂-20k-AA	8臂 PEG 乙酸胺(六甘油) HCl 盐, MW 20000
[0159] 8臂-20k-AA	8臂 PEG 乙酸胺(六甘油) TFA 盐, MW 20000
4臂-10k-SG	4臂 PEG 琥珀酰亚胺基戊二酸酯(季戊四醇), MW 10000
8臂-15k-SG	8臂 PEG 琥珀酰亚胺基戊二酸酯(六甘油), MW 15000
4臂-20k-SGA	4臂 PEG 琥珀酰亚胺基戊二酰胺(季戊四醇), MW 20000
4臂-10k-SS	4臂 PEG 琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(季戊四醇), MW 10000
EJ-190	山梨糖醇聚缩水甘油醚
MC	甲基纤维素 (Methocel® MC)
HPMC	羟丙甲纤维素 (羟丙基甲基纤维素)
PVP	聚维酮 (聚乙烯吡咯烷酮)

[0160] 测量所有情况下从加入酯或环氧化物开始直到溶液胶凝的胶凝时间。通过移取 1mL 反应混合液并观察逐滴的粘度增加来记录胶凝点。通过将 5 至 10mL 磷酸盐缓冲盐水加入至在 50mL 离心管中的约 5g 材料中并在 37°C 下孵育该混合物来进行聚合物的降解。测量从加入磷酸盐缓冲液之日开始到聚合物完全溶解到溶液中的降解时间。

[0161] 实施例1:生物相容性水凝胶聚合物基体的制备(胺-酯化学)

[0162] 通过将约 0.13g 固体单体溶解于约 2.5mL 磷酸钠缓冲液(缓冲液 pH 7.36)中而在 Falcon 管中制备 8臂-20K-NH₂ 溶液。将混合物在环境温度下摇动约 10 秒,直至达到完全溶解。使 Falcon 管在环境温度下静置。在另一 Falcon 管中,将 0.10g 的 8臂-15K-SG 溶解于与上述相同的磷酸盐缓冲液中。将混合物摇动约 10 秒,此时所有粉末均溶解。将 8臂-15K-SG 溶液立即倾倒至 8臂-20K-NH₂ 溶液中并启动计时器。摇动混合物,混合约 10 秒,并用机械高精度移液管吸出 1mL 混合物溶液。采集 1mL 液体的胶凝时间,然后对于剩余液体验证是否无法流动。记录制剂的胶凝时间数据且该胶凝时间数据为约 90 秒。

[0163] 实施例2:生物相容性水凝胶聚合物基体的制备(胺-酯化学)

[0164] 通过将约 0.4g 固体 4臂-20k-AA 和约 0.2g 固体 8臂-20k-NH₂ 溶解于约 18mL 磷酸钠缓冲液(缓冲液 pH 7.36)中而在 Falcon 管中制备胺溶液。将混合物在环境温度下摇动约 10 秒,直至达到完全溶解。使 Falcon 管在环境温度下静置。向该溶液中加入 0.3g 的 8臂-15K-SG。将混合物摇动混合约 10 秒,直到所有粉末均溶解。使用机械高精度移液管吸出 1mL 混合物。采

用上述方法采集制剂的胶凝时间。胶凝时间为约90秒。

[0165] 实施例3:生物相容性水凝胶聚合物基体的制备(硫醇-酯化学)

[0166] 通过将约0.04g单体溶解于约5mL硼酸钠缓冲液(缓冲液pH 8.35)中而在Falcon管中制备ETTMP-1300溶液。将混合物在环境温度下摇动约10秒,直至达到完全溶解。使Falcon管在环境温度下静置。向该溶液中加入0.20g的8臂-15K-SG。将混合物摇动约10秒,直至粉末溶解。使用机械高精度移液管吸出1mL混合物。发现胶凝时间为约70秒。

[0167] 实施例4:生物相容性水凝胶聚合物基体的制备(硫醇-环氧化物化学)

[0168] 通过将约0.04g单体溶解于约5mL硼酸钠缓冲液(缓冲液pH 8.35)中而在Falcon管中制备ETTMP-1300溶液。将混合物在环境温度下摇动约10秒,直至达到完全溶解。使Falcon管在环境温度下静置。向该溶液中加入0.10g的EJ-190。将混合物摇动约10秒,直至达到完全溶解。使用机械高精度移液管吸出1mL混合物。发现胶凝时间为约6分钟。

[0169] 实施例5:体外生物吸收测试

[0170] 用去离子水制备pH 7.40的0.10摩尔的缓冲溶液。将该溶液的一部分(50mL)转移至Falcon管中。在20cc注射器中制备样品聚合物。固化后,从聚合物块中切下2-4mm厚的切片并置于Falcon管中。准备循环水浴并保持在37°C。将带有聚合物的Falcon管置于水浴内且开始计时。对聚合物的溶解进行监测并记录。根据样品聚合物的类型,溶解时间范围为1-90天。

[0171] 实施例6:胺-酯聚合物的胶凝和降解时间

[0172] 所研究的胺是8臂-20k-NH₂和4臂-5k-NH₂。该制剂的细节和材料性质示于表2中。对于8臂-20k-NH₂,发现含有0.058M磷酸盐且pH为7.97的磷酸盐缓冲液对于获得约100秒的可接受的胶凝时间是必要的。使用pH 7.41的0.05M磷酸盐缓冲液导致胶凝时间增加超过2倍(270秒)。

[0173] 对于8臂-20k-NH₂,使4臂-10k-SS与4臂-20k-SGA的比例在50:50至90:10之间变化。胶凝时间保持一致,但降解时间在80:20的比例左右有明显变化。对于比例为75:25和50:50的制剂,降解时间飙升至一个月及更长。使用较少量的4臂-20k-SGA(80:20、85:15、90:10)导致降解时间少于7天。

[0174] 作为比较,将4臂-5k-NH₂用于4臂-10k-SS与4臂-20k-SGA的比例为80:20的制剂中。正如所预期的,降解时间保持一致,这表明降解机制不受胺的变化的影响。然而,胶凝时间增加了60秒,这可能反映出高分子量8臂胺和低分子量4臂胺中的反应性基团的相对可及性。

[0175] 表2. 使用8臂-15k-SG酯,对于不同的4臂-10k-SS/4臂-20k-SGA比的胶凝和降解时间

预制剂组分	4臂-10k-SS / 4臂-20k-SGA 比	磷酸盐反应缓冲液的浓度和 pH	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	50/50	0.05 M pH 7.41	270	N/A
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	50/50	0.058 M pH 7.97	100	>41
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	75/25	0.058 M pH 7.97	90	29
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	80/20	0.058 M pH 7.97	100	7
4臂-5k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	80/20	0.058 M pH 7.97	160	6
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	85/15	0.058 M pH 7.97	100	5
8臂-20k-NH ₂ 4臂-10k-SS, 4臂-20k-SGA	90/10	0.058 M pH 7.97	90	6

[0176] 实施例7: 硫醇-酯聚合物的胶凝和降解时间

[0178] 所研究的硫醇是4臂-5k-SH和ETTMP-1300。该制剂的细节和材料性质示于表3中。发现pH 7.93的0.05M硼酸盐缓冲液产生约120秒的胶凝时间。增加制剂中4臂-20k-SGA的量使胶凝时间增加至190秒(25:75的4臂-10k-SS与4臂-20k-SGA之比), 最高至390秒(0:100的4臂-10k-SS与4臂-20k-SGA之比)。使用pH 8.35的0.05M硼酸盐缓冲液导致65秒的胶凝时间, 胶凝时间降低约两倍。因此, 可通过简单地调节反应缓冲液的pH来调整胶凝时间。

[0179] 使4臂-10k-SS与4臂-20k-SGA的比例在0:100至100:0之间变化。在所有情况下, 降解时间没有显著变化, 通常为3至5天。很可能降解经由替代途径发生。

[0180] 表3. 使用4臂-5k-SH和ETTMP-1300硫醇, 对于不同的4臂-10k-SS/4臂-20k-SGA比的胶凝和降解时间

预制剂组分	4 臂-10k-SS /4 臂-20k-SGA 比	磷酸盐反应缓冲液的浓度和 pH	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	50/50	0.05 M pH 8.35	65	N/A
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	50/50	0.05 M pH 7.93	120	4
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	75/25	0.05 M pH 7.93	125	4
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	90/10	0.05 M pH 7.93	115	4
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	25/75	0.05 M pH 7.93	190	4
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS, 4 臂-20k-SGA	10/90	0.05 M pH 7.93	200	4
ETTMP-1300 4 臂-20k-SGA	0/100	0.05 M	390	3
4 臂-5k-SH 4 臂-10k-SS	100/0	0.05 M pH 7.93	120	4

[0182] 实施例8:胺-酯和硫醇-酯聚合物的胶凝和降解时间

[0183] 使用酯4臂-10k-SG对胺(4臂-5k-NH₂)和硫醇(4臂-5k-SH)进行研究。该制剂的细节和材料性质示于表4中。使用胺时,pH 7.97的0.058M磷酸盐缓冲液产生150秒的胶凝时间。使用硫醇时,pH 8.35的0.05M硼酸盐缓冲液产生75秒的胶凝时间。

[0184] 正如根据缺乏可降解基团所预期的,基于胺的聚合物似乎未显示出降解的迹象。然而,基于硫醇的聚合物在5天内降解。这表明降解通过替代途径发生,正如在含有4臂-10k-SS和4臂-20k-SGA的硫醇制剂中所观察到的(如上所述)。

[0185] 表4. 含有4臂-10k-SG的胺和硫醇生物相容性预制剂的胶凝和降解时间

预制剂组分	反应缓冲液的类型、浓度和 pH	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
4 臂-5k-NH ₂ 和 4 臂-10k-SG	磷酸盐 (0.058 M, pH 7.97)	150	不确定
4 臂-5k-SH 和 4 臂-10k-SG	硼酸盐 (0.05 M, pH 8.35)	75	5

[0187] 实施例9:硫醇-山梨糖醇聚缩水甘油醚聚合物的胶凝和降解时间

[0188] 对于ETTMP-1300,诸如高pH(10)、高溶液浓度(50%)或高硼酸盐浓度(0.16M)的条件是使混合物胶凝所必需的。胶凝时间范围为约30分钟至多个小时。所考察的条件包括:pH为7至12;溶液浓度为5%至50%;硼酸盐浓度为0.05M至0.16M;硫醇与环氧化物之比为1:2至2:1。

[0189] 反应发生所需的高pH可能导致硫醇的降解。因此,制备含有EJ-190和4臂-5k-SH的聚合物。13%的溶液制剂在pH 9至10下显示出230秒的胶凝时间。降解时间为32天。在约8的较低pH下,混合物表现出在1至2小时范围内的胶凝时间。

[0190] 实施例10:用于制备可聚合生物相容性预制剂的通用程序

[0191] 若干代表性的粘性制剂连同制备可聚合生物相容性预制剂的具体反应细节列于

表5中。通过首先将胺组分溶解于磷酸盐缓冲液中或将硫醇组分溶解于硼酸盐缓冲液中来制备生物相容性水凝胶聚合物。然后加入适量的酯组分,并将整个溶液剧烈混合10到20秒。测量从添加酯开始直至溶液胶凝的胶凝时间。

[0192] 表5. (A) 不含粘度增强剂的几种代表性粘性制剂的反应细节的汇总; (B) 包括摩尔数在内的反应细节选择的更详细列表 (降解时间在37°C下在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中测量)。

[0193] (A)

[0194]

预制剂组分	胺或硫醇 / 酯的摩尔比	缓冲液	%溶液	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
8 臂-20k-NH2 4 臂-20K-SGA	3	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	3	130	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20K-SGA	1/3	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	3	300	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-10K-SS	3	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	8	50	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-10K-SS	1/3	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	8	80	N/A
4 臂-20K-AA/ 8 臂 -20k-NH2 (75/25)	3	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	5	210	1 至 3

[0195]

预制剂组分	胺或硫醇 / 酯的摩尔比	缓冲液	%溶液	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
4 臂-20K-SGA					
4 臂-20K-AA/8 臂 -20k-NH2 (75/25) 4 臂-20K-SGA	5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	10	180	1 至 3
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SG	5	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	10	160	7
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SS	5	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	20	160	1 至 3
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SG	3	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	5	160	13
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SG	5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	20	80	7
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SG	5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	30	70	10
4 臂-5K-NH2 4 臂-20K-SGA	5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	19	60	53
4 臂-5K-NH2 4 臂-20K-SGA	5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	12	70	53
4 臂-5K-NH2 4 臂-10K-SG	1/5	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	19	160	15
4 臂-SH-5K 4 臂-10K-SG	5	0.05 M 硼酸盐, pH 7.93	20	120	2 至 4
4 臂-NH2-2K 8 臂-15K-SG	5	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	10	120	15
4 臂-NH2-2K 4 臂-20K-SGA	7	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	30	150	N/A

[0196]

(B)

预制剂组分	分子 量	Mmol	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	聚合物% 溶液 (w/v)
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.075	8	0.00375	0.03	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.05	4	0.0025	0.01	
缓冲液体积 (磷酸盐)			4.1				3.0
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.025	8	0.00125	0.01	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.15	4	0.0075	0.03	
缓冲液体积 (磷酸盐)			5.8				3.0
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.3	8	0.015	0.12	
4 臂-10k-SS	10000	1000	0.1	4	0.01	0.04	
缓冲液体积 (磷酸盐)			5				8.0

[0197]

预制剂组分	分子量	Mmol	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	聚合物% 溶液 (w/v)
[0198] 8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.1	8	0.005	0.04	
4 臂-10k-SS	10000	1000	0.3	4	0.03	0.12	
缓冲液体积 (磷酸盐)			5				8.0

[0199] 表6. 具有不同缓冲液和浓度、包含HPMC作为粘度增强剂的8臂-20k-NH₂/4臂-20k-SGA (1/1) 粘性聚合物的胶凝时间

预制剂组分	胺/酯的摩尔比	缓冲液	%溶液	胶凝时间 (分钟)
[0200] 8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	1.5
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	3.5
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	4.8	4.5
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	4	5.5
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	3	8.5
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	4.8	6.75
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	3	12
8 臂-20k-NH ₂ 4 臂-20K-SGA 0.3% HPMC	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	2.5	15.5

[0201] 胶凝时间的范围为60至300秒, 并发现其很容易通过调节反应缓冲液的pH、缓冲液的浓度或聚合物的浓度来调节。针对单一制剂的凝胶时间控制的一个实例示于表6中, 其中8臂-20k-NH₂/4臂-20k-SGA (1/1) 聚合物的胶凝时间在1.5至15.5分钟之间变化。

[0202] 在一些情况下, 聚合物的胶粘性源自于组分的摩尔当量的错配。形成使用分子量为2000至20000的4或8臂胺和分子量为10000至20000的4或8臂酯的组合的多种粘性材料。发现与使用8臂酯相比, 4臂酯形成了粘性更大的材料。对于胺组分, 发现较小的分子量导致粘性较大的材料和较高的胺与酯的摩尔比。

[0203] 需要至少3个错配 (胺与酯的摩尔比) 才能定性地感应到胶粘性。更优选地, 约5的比例产生理想水平的胶粘性与聚合物强度的组合。也可形成胺与酯的摩尔比大于5的聚合物, 但可能需要对一些反应条件如聚合物浓度进行调节以获得合理的胶凝时间。此外, 发现使用粘度增强的溶液通过提高聚合物的强度和弹性而改善了该聚合物, 从而允许更高的胺与酯的摩尔比 (实施例11; 表9)。

[0204] 所形成的材料通常是透明且弹性的。通过触摸定性地检测胶粘性。因此,粘性材料粘附于人的手指或其他表面,并保持在原位直至被去除。降解时间从1天到53天不等。在某些情况下,在不失去胶粘性的情况下可对聚合物的性质,例如胶凝和降解时间、孔径大小、溶胀等进行优化以用于不同的应用。

[0205] 实施例11:用于制备具有增强的粘性的溶液的通用程序

[0206] 通过将粘度增强剂加入到反应缓冲液中来制备具有增强的粘性的聚合物溶液。表9B列出了所研究的粘度增强剂,包括对形成的聚合物的性质的观察。用不同浓度的甲基纤维素(MC)、羟丙甲纤维素(HPMC)或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)制备反应缓冲液的储备溶液。作为一个实例,通过将0.2g HPMC加入至9.8mL pH 7.80的0.10M磷酸盐缓冲液中并随后剧烈摇动来制备在缓冲液中的2% (w/w) HPMC溶液。使溶液静置过夜。以类似的方式制备HPMC浓度范围为0.01%至2.0%的缓冲溶液。还通过类似的方法制备了PVP浓度范围为5%至20%的缓冲溶液和MC浓度范围为1.0%至2.0%的缓冲溶液。

[0207] 采用与如上在用于制备粘性材料的通用程序(实施例10)中所述的相同的方法形成聚合物。典型的程序包括首先将胺组分溶解于含有所需浓度的粘度增强剂的磷酸盐缓冲液中。然后加入适量的酯组分并将整个溶液剧烈混合10到20秒。测量从添加酯开始直至溶液胶凝的胶凝时间。

[0208] 几个代表性制剂连同具体的反应细节列于表7和表8中。可降解的乙酸胺组分的摩尔当量百分比由括号中指定的比例来表示。例如,具有75%可降解胺的制剂将写为8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (75/25)。如下制备聚合物:首先将制剂胺组分溶解于磷酸盐缓冲液。然后加入适量的制剂酯组分,并将整个溶液剧烈混合10到20秒。测量从添加酯开始直至溶液胶凝的胶凝时间。

[0209] 胶凝时间取决于几个因素:pH、缓冲液浓度、聚合物浓度、温度和所使用的生物相容性预制剂单体。先前的实验已表明,一旦组分在溶液中(这通常需要最多10秒),则混合的程度对胶凝时间几乎没有影响。测量了添加生物相容性预制剂单体对缓冲液pH的影响。对于8臂-20k-NH₂和4臂-20k-SGA制剂,缓冲液pH在加入生物相容性预制剂单体后从7.42略微降至7.36。对于8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30)和4臂-20k-SGA制剂,缓冲液pH在加入生物相容性预制剂单体后从7.4降至7.29。发现pH的另外的降低源于可降解的乙酸胺中的酸性残基。对于4臂-20k-AA胺,观察到相同的pH下降现象。在某些情况下,可能需要对乙酸胺溶液pH的质量控制规范,以改善可降解的制剂的一致性。

[0210] 测量了反应缓冲液pH对胶凝时间的影响。胶凝时间以近似线性的方式随水合氢离子浓度的增加而增加。更为通常地,胶凝时间随缓冲液pH的增加而减少。另外,确定了反应缓冲液的磷酸盐浓度对胶凝时间的影响。胶凝时间随磷酸盐浓度的增加而减少。此外,研究了聚合物浓度对胶凝时间的影响。胶凝时间随聚合物浓度的增加而显著减少。在胶凝时间大于5分钟的低聚合物浓度下,酯的水解反应开始与聚合物的形成发生竞争。温度对胶凝时间的影响似乎遵循Arrhenius方程。胶凝时间与聚合物溶液的反应程度直接相关,因此该表现并非不寻常的。

[0211] 确定了聚合物在胶凝过程中的流变学作为相对于距离胶凝点的时间的百分比的函数。当100%表示胶凝点而50%表示胶凝点前一半的时间时,该反应溶液的粘度保持相对恒定,直到胶凝点的约80%处。在该点之后,粘度急剧增加,表示固体凝胶形成。

[0212] 测量了使用同一批生物相容性预制剂单体的单一制剂在约一年的过程中的胶凝时间稳定性。根据如上概述的标准流程处理生物相容性预制剂单体。胶凝时间保持相对稳定；反应缓冲液的一些改变可导致胶凝时间上的差异。

[0213] 表7. (A) 几种代表性粘性制剂的反应细节的汇总；(B) 包括摩尔数在内的反应细节的选择的更详细列表(在37°C下在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中测量降解时间)。

[0214] (A)

预制剂组分	缓冲液	% 溶液	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
4 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 4 臂-20k-SGA	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	5	150	21
4 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	5	150	21
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	100	N/A
8 臂-20k-NH2 8 臂-15k-SG 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	70	48
4 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 8 臂-15k-SG 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	110	12
[0215] 4 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	20	160	21
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	90	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 1.0% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	80	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	210	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	4.8	270	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	4	330	N/A

[0216]

预制剂组分	缓冲液	% 溶液	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.42	3	510	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	4.8	405	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	3	720	N/A
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 0.3% HPMC	0.05 M 磷酸盐, pH 7.24	2.5	930	N/A
8 臂-20k-AA 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	90	6
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	100	16
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	95	256 (估计值)
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (50/50) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	120	N/A
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (70/30) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	100	21
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (65/35) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	100	28
8 臂-20k-NH2 4 臂-20k-SGA 1.5% HPMC	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	4.8	90	N/A
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	90	16
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (70/30) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	105	21
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (50/50) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	120	N/A

预制剂组分	缓冲液	% 溶液	胶凝时间 (s)	降解时间 (天)
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (70/30) 8 臂-15k-SG HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	70	7
4 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (70/30) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	260	10
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (60/40) 8 臂-15k-SG HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	70	17
8 臂-20k-AA 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	85	7
[0217] 8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (70/30) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	95	13
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.46	4.8	95	10
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.58	4	110	进行中
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.58	3.5	150	进行中
8 臂-20k-AA/8 臂-20k-NH2 (75/25) 4 臂-20k-SGA HPMC (0.3%)	0.10 M 磷酸盐, pH 7.58	3	190	进行中

[0218] (B)

预制剂组分	分子量	Mmol	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	聚合物% 溶液(w/v)
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
[0219] 粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.08	8	0.004	0.032	
8 臂-15k-SG	15000	1000	0.06	8	0.004	0.032	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.9				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						

[0220]

预制剂组分	分子量	Mmol	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	聚合物% 溶液(w/v)
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
4 臂-20k-AA	20000	1000	0.06	4	0.003	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.1	4	0.005	0.02	
缓冲液体积 (磷酸盐)			3.6				5.0
粘度增强剂	0.3% HPMC						
4 臂-20k-AA	20000	1000	0.12	4	0.006	0.024	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.04	8	0.002	0.016	
8 臂-15k-SG	15000	1000	0.075	4	0.005	0.02	
缓冲液体积 (磷酸盐)			4.9				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.06	8	0.003	0.024	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.16	4	0.008	0.032	
缓冲液体积 (磷酸盐)			5				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.1	4	0.005	0.02	
缓冲液体积 (磷酸盐)			3.1				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.035	8	0.00175	0.014	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.015	8	0.00075	0.006	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.1	4	0.005	0.02	
缓冲液体积 (磷酸盐)			3.1				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						

预制剂组分	分子量	Mmol	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	聚合物% 溶液(w/v)
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.039	8	0.00195	0.0156	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.021	8	0.00105	0.0084	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.12	4	0.006	0.024	
缓冲液体积 (磷酸盐)			3.75				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.09	8	0.0045	0.036	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.24	4	0.012	0.048	
缓冲液体积 (磷酸盐)			9				4.0
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.075	8	0.00375	0.03	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.025	8	0.00125	0.01	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.2	4	0.01	0.04	
缓冲液体积 (磷酸盐)			8.55				3.5
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.06	8	0.003	0.024	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.02	8	0.001	0.008	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.16	4	0.008	0.032	
缓冲液体积 (磷酸盐)			8				3.0
粘度增强剂	0.3% HPMC						

[0221]

[0222] 表8. (A) 几种代表性粘性制剂的反应细节的汇总; (B) 包括摩尔数在内的反应细节的选择的更详细列表 (在37°C下在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中测量降解时间)

[0223] (A)

[0224]

组分 (臂当量 Mol%)		聚合物浓度	缓冲液类型和组分		估计的降解时间	近似胶凝时间
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷酸盐, pH 7.58	2 至 4 周	125 s
8 臂-20k-AA	65%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	35%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷酸盐, pH 7.58	2 周	115 s
8-臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%					

[0225]

组分 (臂当量 Mol%)		聚合 物 浓 度	缓冲液类型和组分		估计的降 解时间	近 似 胶 凝 时间
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	155s
8 臂-20k-AA	70%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	30%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	110 s 至 125 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	122 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	90 s 至 120 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%		1000 ppm 苯甲酸地那 铵			
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	90 s 至 120 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%		500 ppm 苯甲酸地那铵			
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	90 s 至 120s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%		100 ppm 苯甲酸地那铵			
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	130 s
8 臂-20k-AA	70%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	30%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	4%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.46	2 周	205 s 至 230 s
8 臂-20k-AA	60%		2.25 mL			
8-臂-20k-NH2	40%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	6%	固体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.4	30-60 天	90 s
8 臂-20k-AA	65%		冷冻干燥的 (Aldrich)			
8 臂-20k-NH2	35%		建议使用 2 mL 药物溶 液			

[0226]

组分 (臂当量 Mol%)		聚合 物浓 度	缓冲液类型和组分		估计的降 解时间	近 似 胶 凝 时间
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	90 s 至 120 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%		10000 ppm 苯甲酸地那 铵			
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.58	2 周	115 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%					
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.4	2 周	150 s
8 臂-20k-AA	75%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	25%		使用冷冻干燥的磷酸盐 1% 苯甲酸地那铵, 2% 氯己定			
4 臂-20k-SGA	100%	6%	固体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.4	2 周	110 s
8 臂-20k-AA	75%		冷冻干燥的(Aldrich)			
8 臂-20k-NH2	25%		建议使用 2 mL 药物溶 液			
4 臂-20k-SGA	100%	6%	液体	0.01 M 磷 酸盐, 0.137 M NaCl, 0.0027 M KCl, pH 7.2	2 周	27 min 至 31 min
8 臂-20k-AA	70%		2.0 mL			
8 臂-20k-NH2	30%		磷酸盐缓冲盐水 (PBS)			
HPMC	0.3%					
4 臂-20k-SGA	100%	5%	液体	0.10 M 磷 酸盐, pH 7.4	2 周	158 s
8 臂-20k-AA	70%		2.5 mL			
8 臂-20k-NH2	30%		Nolvasan (2% 氯己定)			

[0227]

(B)

[0228]

组分	分子量	Mmole	重量 (g)	臂	mmole	臂 当 量	聚合物 % 溶液 (w/v)
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	

组分	分子量	Mmole	重量 (g)	臂	mmole	臂当 量	聚合物 %溶液 (w/v)
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		1000 ppm					
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		500 ppm					
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		100 ppm					
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		10000 ppm					
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.03	8	0.0015	0.012	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01	8	0.0005	0.004	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
固体磷酸盐			0.043				
Nolvasan 体积 (2% 氯己定)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		10000 ppm					
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 6	8	0.0013	0.010 4	
8 臂-20k-NH2	20000	1000	0.01 4	8	0.0007	0.005 6	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8

[0229]

组分	分子量	Mmole	重量 (g)	臂	mmole	臂当 量	聚合物 %溶液 (w/v)
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 8	8	0.0014	0.011 2	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.01 2	8	0.0006	0.004 8	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.5				4.8
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.01 8	8	0.0009	0.007 2	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.01 2	8	0.0006	0.004 8	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.06	4	0.003	0.012	
缓冲液体积 (磷酸盐)			2.25				4
粘度增强剂	0.3% HPMC						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 6	8	0.0013	0.010 4	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.01 4	8	0.0007	0.005 6	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
固体磷酸盐			0.03 5				6
药物溶液	2.0 mL						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 7	8	0.0013 5	0.010 8	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.00 9	8	0.0004 5	0.003 6	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.07 2	4	0.0036	0.014 4	
固体磷酸盐			0.03 5				5.4
药物溶液	2.0 mL						
8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 8	8	0.0014	0.011 2	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.01 2	8	0.0006	0.004 8	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	

[0230]

组分	分子量	Mmole	重量 (g)	臂	mmole	臂当 量	聚合物 %溶液 (w/v)
缓冲液体积 (磷酸盐)			2				6
粘度增强剂	0.3% HPMC						
[0231] 8 臂-20k-AA	20000	1000	0.02 8	8	0.0014	0.011 2	
8 臂-20k-NH ₂	20000	1000	0.01 2	8	0.0006	0.004 8	
4 臂-20k-SGA	20000	1000	0.08	4	0.004	0.016	
固体磷酸盐			0.04 3				
Nolvasan 体积 (2%氯己定)			2.5				4.8
苯甲酸地那铵		1%					

[0232] 细胞毒性和溶血评估

[0233] 将若干聚合物样品送至NAMSA进行细胞毒性和溶血评估。根据ISO 10993-5指南对细胞毒性效应进行评估。根据基于ASTM F756和ISO10993-4的程序对溶血进行评估。

[0234] 发现含有0.3%HPMC的聚合物8臂-20k-NH₂和4臂-20k-SGA的4.8%溶液是无细胞毒性且非溶血性的。发现含有0.3%HPMC的聚合物8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30) 和4臂-20k-SGA的4.8%溶液是无细胞毒性且非溶血性的。此外,包含4臂-20kAA和8臂-15k-SG的制剂也是无细胞毒性且非溶血性的。

[0235] 胶凝和降解时间测量

[0236] 测量所有情况下从添加酯开始直至溶液胶凝的胶凝时间。通过移取1mL反应混合物并观察逐滴的粘度增加直到混合物停止流动来记录胶凝点。通过向在50mL离心管中的每1g材料中加入1至10mL的磷酸盐缓冲盐水并在37°C下孵育该混合物来进行聚合物的降解。用数字水浴保持温度。测量从加入磷酸盐缓冲液之日开始到聚合物完全溶解于溶液中的降解时间。

[0237] 表征反应缓冲液pH、磷酸盐浓度、聚合物浓度和反应温度对胶凝时间的影响。通过逐滴加入50%NaOH水溶液或6.0N HCl,缓冲液pH在7.2至8.0之间变化。制备浓度为0.01M、0.02M和0.05M的磷酸盐并调节至pH 7.4。对2%至20%溶液的聚合物浓度进行研究。通过将单体、缓冲液和反应混合物保持在适当的温度,对5、20和37°C的反应温度进行测试。5°C的环境由冰箱提供,而37°C的温度通过水浴维持。实测室温为20°C。

[0238] 考察了降解缓冲液pH和可降解胺在聚合物制剂中的比例对降解时间的影响。通过逐滴加入50%的NaOH水溶液或6.0N HCl,降解缓冲液pH在7.2至9.0之间变化。所研究的可降解胺组分是4臂-20k-AA或8臂-20k-AA,且可降解胺相对于不可降解胺的百分比在50%至100%之间变化。

[0239] 降解时间主要依赖于缓冲液pH、温度以及所使用的生物相容性预制剂单体。降解主要通过酯键水解而发生;在生物系统中,酶促途径也可以发挥作用。图1比较了含有不同量的4臂-20k-AA和8臂-20k-AA的制剂的降解时间。通常,提高可降解乙酸胺相对于不可降解胺的量减少了降解时间。另外,在一些情况下,8臂-20k-AA比4臂-20k-AA表现出每摩尔当

量更长的降解时间,当乙酸胺的百分比下降至低于70%时,这变得尤其明显。

[0240] 研究了缓冲液pH值对降解时间的影响。研究了7.2至9.0的pH范围。通常,高pH环境导致大大加速的降解。例如,pH从约7.4增加至7.7使降解时间减少约一半。

[0241] 评估了不同乙酸胺制剂的降解时间。含有70%乙酸胺的制剂具有约14天的降解时间,而含有62.5%乙酸胺的制剂具有约180天的降解时间。

[0242] 图2示出了聚合物浓度对不同乙酸胺制剂的降解时间的影响,其中增加聚合物浓度轻微增加了降解时间(75%乙酸胺制剂)。该影响对于100%乙酸胺制剂较不明显,其中酯水解的速率更为显著。

[0243] 也已发现在制剂中使用的单体在聚合物的降解方式中发挥作用。对于8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30) 和4臂-20k-SGA聚合物,降解在整个材料中均匀地发生,从而导致“平滑”的降解过程。聚合物在最初数天吸收水并且略微溶胀。然后,该聚合物逐渐变得更软但仍维持其形状。最后,该聚合物失去其形状并变为高度粘稠的流体。

[0244] 当可降解胺的量变低时,观察到了破碎降解过程,可能会在聚合物中出现不可降解的区域。例如,4臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30) 和4臂-20k-SGA制剂降解为若干大片段。对于其中聚合物经受巨大的力的用途,当聚合物随着时间的推移而变得更软和更弱时也可发生破碎。

[0245] 聚合物浓度

[0246] 可以采用机械性质变化最小的更稀的聚合物溶液。对于8臂-20k-AA-20k/8臂-20k-NH₂ (75/25) 与4臂-20k-SGA和0.3%HPMC的制剂,对3.0%、3.5%和4.0%的聚合物浓度进行了研究。胶凝时间随着聚合物浓度的降低而稳步增加。硬度随着聚合物浓度的降低而略有降低。聚合物的粘附性质基本上没有变化。弹性模量随着聚合物浓度的降低而略有下降。

[0247] 表9(A) 特定粘性制剂的反应细节;(B) 具有各种粘度增强剂的特定粘性制剂的制剂结果(在大约30°角度的、含有97.5%水的亲水性生物相容性水凝胶表面上进行生物相容性水凝胶表面扩散试验;来自22号针头的一滴聚合物溶液在胶凝前被施加到该表面上);(C) 含有各种粘度增强剂的溶液的澄清度,如根据在650nm处的%透射而测得的。

[0248] (A)

预制剂组分	分子量	重量 (g)	臂	mmol	臂当量	%溶液
8 臂-20k-NH ₂	20000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	0.08	4	0.004	0.016	
磷酸盐缓冲液		2.5 mL 0.10 M, pH 7.80				4.8

[0250] (B)

粘性试剂 % (w/w)	近似粘度 (cP)	胶凝 时间 (s)	水凝胶表面 扩散试验类 别	注释
0 (初始制 剂)	1.1	80	2	刚性,有“弹跳”。略有弹性。
5% PVP	1 至 5	90	2 至 3	除了弹性略有增加外没有变化。

[0251]

粘性试剂 % (w/w)	近似粘度 (cP)	胶凝 时间 (s)	水凝胶表面 扩散试验类 别	注释
10% PVP	3 至 5	90	2 至 3	稍不透明，弹性中度增加。滑。
15% PVP	5 至 10	100	2 至 3	不透明，弹性明确增强。潮湿时滑，干燥时略有粘性。
20% PVP	10	110	2	不透明，弹性明确增强。潮湿时滑，干燥时非常粘。
0.3% HPMC	8.4	80	2	没有变化。
1.0% HPMC	340.6	90	1	没有变化。
1.25% HPMC	1,000	90	1	没有变化。
1.5% HPMC	2,000	100	1	略软，缺乏“弹跳”。
2.0% HPMC	4,000	100	1	略软，缺乏“弹跳”。滑。

[0252]

[0253] 水凝胶表面扩散试验类别: 1) 没有扩散, 紧密的液滴留在原处; 2) 轻度扩散, 液滴慢慢滴下; 3) 严重扩散, 液滴完全湿润表面。水属于第3类。

[0254] (C)

样品	在650nm处的%透射
0.10M磷酸盐缓冲液, pH 7.80	100.0%
10%PVP	99.9%
1.5%HPMC	95.7%
1.0%HPMC	96.8%
0.5%HPMC	99.1%
0.1%HPMC	99.6%

[0255]

[0256] 发现甲基纤维素 (MC) 与羟丙甲纤维素 (HPMC) 的表现类似, 并在0至2% (w/w) 的浓度范围内提供可使用的粘稠溶液。然而, HPMC相比MC更容易溶解, 并且HPMC溶液具有更大的光学澄清度; 因而青睐使用HPMC。聚维酮 (PVP) 在缓冲液中容易溶解, 但即使在20% (w/w) 时也只提供最小的粘度增强。更高分子量等级的PVP可以使用, 但尚未考察。

[0257] 在大多数情况下, 加入低浓度的HPMC或PVP后, 聚合物保持不变。然而, 在约0.3%的HPMC时, 聚合物有明显的变化, 其特征在于弹性增强, 这通过该材料延伸超过通常而没有破损的能力得到证明。在1.5%以上的HPMC时, 聚合物变得稍软, 并表现出较低的弹性。胶凝时间也保持在不含粘性剂的制剂的胶凝时间的10秒以内。在PVP的情况下, 聚合物在10%以上的PVP时发生显著变化。聚合物变得更加不透明, 同时弹性和胶粘性明显增加。在15%至20%的PVP时, 聚合物变得类似于粘性材料, 但具有更好的机械强度。相对于无粘性剂的制剂, 胶凝时间也增加了大约20秒。因此, 将较低浓度的PVP或HPMC添加至聚合物溶液中可能有利于改善聚合物的弹性和润滑性。

[0258] 生物相容性水凝胶表面扩散试验的结果表明,大多数制剂属于第2类。

[0259] 基于这些观察,选择使用0.3%HPMC的制剂以供进一步评估。在1.0%以上的HPMC时,溶液变得明显更难以混合并且单体的溶解成为问题。在0.5%及以上的HPMC时,混合过程中气泡的形成变得明显。此外,该溶液并不容易通过0.5 μ m注射器过滤器进行过滤以去除气泡。然而,0.3%HPMC溶液即使在中度混合后也容易过滤,从而产生无气泡、光学澄清的聚合物。

[0260] 粘度测量

[0261] 用适当大小的来自Ace Glass的Cannon-Fenske粘度计管测量所获得的缓冲溶液的粘度。使用的粘度计尺寸范围为25至300。在20 $^{\circ}$ C和37 $^{\circ}$ C下一式三份对选定的溶液进行测量。结果示于表9B中。为了计算近似动态粘度,假设所有的缓冲溶液均具有与水相同的密度。

[0262] 为了表征聚合物在胶凝过程中的流变学,使用尺寸300的粘度计与设计为在约15分钟后胶凝的制剂。所使用的制剂涉及8臂-20k-NH₂与4臂-20k-SGA酯的2.5%溶液和0.3%HPMC。反应在pH 7.2的0.05M磷酸盐缓冲液中进行。由此,使用尺寸300的粘度计进行的一次粘度测量在约一分钟内获得,并且随后的测量可以快速连续地获得直至达到胶凝点。

[0263] 水凝胶表面扩散试验

[0264] 为了模拟聚合物溶液在亲水性表面上的表现,记录液滴在约30 $^{\circ}$ 倾斜度的高含水量生物相容性水凝胶聚合物基体表面上的扩散和滴落程度。通过在培养皿中将0.10g (0.04mol臂当量)的8臂-20k-NH₂溶解在7mL pH 7.4的0.05M磷酸盐缓冲液中,随后加入0.075g (0.04mol臂当量)的8臂-15k-SG酯,而制备生物相容性水凝胶聚合物基体。用药匙搅拌该溶液10至20秒,并使其胶凝,这通常需要5到10分钟。所获得的聚合物的含水量为97.5%。

[0265] 该试验如下进行:首先以惯常的方式制备聚合物溶液。充分混合后,将聚合物溶液通过22号针头逐滴分配到生物相容性水凝胶聚合物基体表面上。结果示于表9B中,且分为三大类:1)没有扩散,紧密的液滴留在原处;2)轻度扩散,液滴慢慢滴下;3)严重扩散,液滴完全湿润表面。水属于第3类。

[0266] 溶胀和干燥测量

[0267] 根据聚合物的液体吸收对聚合物在降解过程中的溶胀程度进行定量。将已知质量的聚合物置于37 $^{\circ}$ C的PBS中。以指定的时间间隔,将聚合物从缓冲溶液中分离,用纸巾轻轻拍干并称重。根据最初的质量计算质量增加的百分比。

[0268] 根据随时间推移的重量损失对环境条件下在空气中的聚合物的命运进行定量。将约1cm厚的聚合物膜放置在20 $^{\circ}$ C的表面上。质量测量以设定的时间间隔进行。计算相对于初始质量值的百分重量损失。

[0269] 研究了含有0%、0.3%和1.0%HPMC的8臂-20k-NH₂/4臂-20k-SGA聚合物的水吸收百分比。1.0%HPMC聚合物吸收可达其重量的30%的水直到第20天。第20天之后,该聚合物回复到其重量的约10%的水。相比较而言,0%HPMC聚合物最初吸收可达其重量的10%的水,但开始逐渐失水,在其重量的约5%的水附近徘徊。0.3%HPMC聚合物的表现为居于中间的方式。它最初吸收可达其重量的20%的水,但一周后返回至其重量的约10%的水,并继续缓慢失水。

[0270] 含有0.3%HPMC和1.0%HPMC的8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (75/25) 和4臂-20k-SGA 聚合物在环境条件下经过24小时的重量损失百分比在图3中示出。环境条件为大致20℃和30-50%相对湿度。水损失的速率在6小时内相当恒定,为约10%每小时。6小时后,随着聚合物重量接近恒定值,速率显著变慢。预期水损失的速率根据聚合物形状和厚度以及温度和湿度而改变。

[0271] 比重测量

[0272] 通过以惯常的方式制备聚合物溶液并将1.00mL充分混合的溶液移液到分析天平上来获得聚合物的比重。测量在20℃下一式三份进行。通过使用4℃的水的密度作为参考而计算比重。

[0273] 聚合物的比重与单独缓冲液的比重并没有显著不同,都与水的比重基本相同。当聚合物溶液没有被过滤并且气泡嵌入聚合物基质中时,可能会出现例外。

[0274] 硫酸钡悬浮液

[0275] 为了成像,将硫酸钡作为造影剂加入到几种聚合物制剂中。考察了1.0%、2.0%、5.0%和10.0% (w/v) 的硫酸钡浓度。测量了所获得的聚合物溶液的粘度,并且还研究了硫酸钡的加入对聚合物胶凝时间和可注射特性的影响。

[0276] 考察了1.0%、2.0%、5.0%和10.0% (w/v) 的硫酸钡浓度。不透明、乳白色的悬浮液形成了类似地不透明和白色的聚合物。没有观察到胶凝时间的变化。定性地,该聚合物似乎与不含硫酸钡的聚合物具有类似的性质。所有制剂都能够很容易地通过22号针头进行分配。

[0277] 进行了对1.0%、2.0%、5.0%和10.0%的硫酸钡浓度的粘度测量。粘度保持相对稳定直至2.0%;在5.0%时,粘度略微增加至约2.5cP。当浓度接近10.0%时,粘度急剧增加至接近10cP。因此,基于高对比强度和与未改性聚合物制剂的相似性之间的平衡,选择5.0%的硫酸钡浓度。

[0278] 生物相容性水凝胶硬度、弹性模量与粘附

[0279] 聚合物的硬度通过使用Exponent软件6.0.6.0版的TA.XT.plus型Texture Analyzer进行表征。该方法遵循用于测量明胶的硬度的行业标准“Bloom测试”。在该试验中,使用TA-8^{1/4}球探头穿透聚合物样品至规定的深度,然后从样品中返回至原来的位置。测得的峰值力被定义为样品的“硬度”。对于所研究的聚合物,使用0.50mm/sec的测试速度、4mm的穿透深度和5.0g的触发力。以2.5mL的规模直接在5mL大小的小瓶中制备聚合物,以确保一致的样品尺寸。所使用的小瓶为ThermoScientific/Nalgene LDPE样品瓶,产品编号6250-0005 (批号7163281060)。在20℃进行测量。在测量前使聚合物在室温下静置约1小时。对至少三个样品一式三份进行测量。在图4中给出了由运行硬度测试的Exponent软件生成的样品曲线图。曲线图中的峰代表达到4mm的目标穿透深度时的点。

[0280] 聚合物的弹性模量通过使用Exponent软件6.0.6.0版的TA.XT.plus型Texture Analyzer进行表征。在该试验中,使用TA-19Kobe探头压缩已知尺寸的聚合物圆柱体直至该聚合物发生断裂。该探头具有1cm²的确定的表面积。以可达最大压缩应力的10%的初始斜率计算模量。对于所研究的聚合物,使用5.0mm/min的测试速度和5.0g的触发力。样品高度由探头自动检测。以2.5mL的规模直接在5mL大小的小瓶盖中制备聚合物,以确保一致的样品尺寸。所使用的小瓶为ThermoScientific/Nalgene LDPE样品瓶,产品编号6250-0005 (批

号7163281060)。在20℃进行测量。在测量前使聚合物在室温下静置约1小时。对至少三个样品进行测量。在图5中给出了由运行模量测试的Exponent软件生成的样品曲线图。聚合物在初始压缩时通常表现出弹性行为,如近似线性的曲线所证明的。

[0281] 聚合物的粘附性质通过使用Exponent软件6.0.6.0版的TA.XT.plus型Texture Analyzer进行表征。在粘附测试中,使用直径7mm的TA-57R冲击探头以限定的力使聚合物样品接触特定的时间长度,然后从样品中返回至原来的位置。在图6中给出了由运行粘附测试的Exponent软件生成的示例性曲线图。当探头击中聚合物的表面时绘图开始。在规定的单元内在样品上施加目标力,该时间单元由图中的恒定力区域表示。然后,探头从样品中返回至原来的位置,且探头和样品之间的粘合力被测量为“粘着力”,其为从样品上移除探头所需要的峰值力。测量的其他性质包括粘附能或粘附功,以及材料的“延性”。粘附能简单地是代表粘着力的曲线下面积。因此,具有高粘着力和低粘附能的样品将定性地感觉非常粘,但可以通过迅速牵拉而干净地移除;具有高粘着力和高粘附能的样品也会感觉非常粘,但材料的移除会更加困难,并且可能伴随着聚合物的拉伸、纤维丝形成和粘附的残留物。聚合物的弹性与测量的“延性”成比例,延性为聚合物在粘附到探头上时在粘结失败之前其拉伸的距离。对于所研究的聚合物,使用0.50mm/sec的测试速度、2.0g的触发力和100.0g的接触力及10.0秒的接触时间。以1.0至2.5mL的规模直接在5mL大小的小瓶中制备聚合物,以确保一致的样品尺寸。所使用的小瓶为Thermo Scientific/Nalgene LDPE样品瓶。在20℃进行测量。在测量前使聚合物在室温下静置约1小时。作为参照材料,测量标准Post-It Note®和Scotch Tape®的粘附性质。所有的测量一式三份进行。计算平均值和标准偏差。

[0282] 考察了HPMC添加对聚合物的机械性能的影响,以及添加可降解的8臂-20k-AA胺的影响。在所述的硬度测试条件下,发现加入0.3%HPMC使聚合物的硬度降低了约一半。这对应于弹性模量的略微下降。1.0%HPMC聚合物具有与0.3%HPMC聚合物大致相同的硬度,但弹性模量略微下降。硬度和弹性模量测试之间的差异可能是由于实验误差引起的。没有对聚合物溶液进行过滤,所以气泡的存在可能会增大误差。当聚合物处在空气中时,聚合物的含水量也可能发生改变,从而实质上改变材料的物理性质。

[0283] 发现加入可降解的8臂-20k-AA胺基本上不改变硬度或弹性模量的测量值。也包括标准商业Post-It™Note的测量值作为参考。发现聚合物的粘着力大约为40mN,比Post-It™Note的值低大约3倍。没有发现聚合物的粘附性质随可降解胺的加入而改变。

[0284] 图7示出了含有0.3%HPMC的8臂-20k-AA/8臂-20k-NH₂ (70/30) 和4臂-20k-SGA的4.8%溶液的硬度-降解时间图。误差条状代表3个样品的标准偏差。聚合物的降解时间为18天。聚合物的硬度与降解程度强烈相关。溶胀也可能在早期阶段中发挥作用。

[0285] 考察了制剂的不同添加剂对聚合物性能的影响。测量了通过改变1%HPM、2%氯己定和1%苯甲酸地那铵的组合而制备的聚合物的凝胶胶凝时间、降解时间、硬度、粘附和弹性模量。除了含有2%氯己定的制剂展示出硬度和弹性模量降低外,聚合物性质基本未见变化。通过聚合物的目测明显可知,这种改变是由于存在于所使用的No1vasan溶液中的去污剂而不是氯己定;该去污剂在混合过程中导致了重度发泡,胶凝成充气的聚合物。

[0286] 光学澄清度

[0287] 使用Thermo Scientific GENESYS 10S紫外可见分光光度计测量粘稠溶液的光

学澄清度。将1.5mL的样品溶液移至石英比色皿中。使用无添加剂的缓冲液溶液作为参照。记录样品在650nm处的稳定的%透射。

[0288] 为测量聚合物的光透射,胶凝前用5 μ m过滤器将1mL的聚合物溶液过滤到小池中。然后将小池水平放置,使得聚合物在小池的一侧胶凝为膜。发现膜厚度为3mm。使聚合物在室温下固化15分钟,之后以空气为参考,在400、525和650nm处测量%光透射。

[0289] 发现所考虑的所有粘稠溶液在使用的浓度范围下均具有可接受的至优异的光学澄清度(大于97%的透射率)。对于高度粘稠的溶液,在混合过程中观察到气泡的形成,这可通过加入消泡剂或者通过使用注射器过滤器而加以解决(见表9C)。

[0290] 聚合物在可见光谱上展现了优秀的光学澄清度。相对于缓冲液最低的%透射仅为97.2%而最高的为99.7%。在较小波长处的%透射的降低可能是由于接近紫外区时的一些能量吸收。

[0291] 药物洗脱:通用程序

[0292] 采用Thermo Scientific GENESYS 10S紫外可见分光光度计量化不同药物从几种聚合物的释放。首先,将参考药物或药物溶液溶解在合适的溶液中。通常,使用磷酸盐缓冲盐水(PBS)、乙醇或二甲基亚砜(DMSO)作为溶剂。下一步,通过对药物溶液进行200至1000nm之间的扫描确定用于鉴别和量化药物的最佳吸收峰。使用选定的吸收峰,通过对药物的不同浓度测量峰吸光度建立了参考曲线。使用分析移液管通过标准稀释技术制备不同药物浓度溶液。吸光度对药物浓度的线性拟合产生用于将洗脱样品的测得的吸光度转化为药物浓度的通用等式。

[0293] 按照与医生在临床设置中施用聚合物相同的方式,用已知药物剂量制备聚合物。然而,在此情况下,将聚合物模塑成直径约18mm的圆柱体。然后将聚合物圆柱体置于含有设定量的PBS的50mL Falcon管中并置于37 $^{\circ}$ C下。温度通过数控水浴保持。

[0294] 通过从聚合物倾倒PBS溶液每天收集洗脱样品。记录所收集的样品的体积。将聚合物置于与所收集的样品的体积相等的新鲜PBS体积中并返回37 $^{\circ}$ C。通过首先使用分析移液管将样品在合适溶剂中稀释,使得测得的吸光度在通过参考曲线确定的范围内而分析洗脱样品。记录稀释系数。通过参考曲线和稀释系数,从测得的吸光度计算药物浓度。通过将药物浓度乘以样品体积计算药物量。通过用药物量除以所施用药物的总量计算该天的洗脱百分比。

[0295] 药物洗脱:氯己定

[0296] 选择在255到260nm之间发现的峰,并通过测量0、0.5、1、2.5、5、10、20、40和50ppm的氯己定的峰吸光度建立参考曲线。超过50ppm的浓度在峰吸光度上不显示线性行为。

[0297] 用商品No1vasan溶液制备聚合物,其对应于2%氯己定剂量(50mg)。洗脱体积为2mL PBS每1g聚合物。将洗脱样品储存在20 $^{\circ}$ C。通过将样品在石英池中用二甲基亚砜(DMSO)稀释1000倍来分析洗脱样品。

[0298] 氯己定洗脱行为与以前用其他小分子进行的实验相似地进行。几乎一半的氯己定在前三天内释放。然后,接下来三到四天的洗脱速率显著减慢,接着由于聚合物降解,是氯己定的另一个大的释放(图8)。

[0299] 甾族药物、曲安奈德和甲泼尼龙的洗脱行为相似。前几天通常展现出提高的洗脱速率,推测是由于弱结合的表面药物的释放。然后,洗脱在与药物溶解度相关的速率下相对

恒定。最终，聚合物中剩余的药物随降解的开始而释放。控制随形成的洗脱行为的几个实例在图9、图10和图11中给出。药物可以经过短时间(数周)或长时间(数年,规划的)释放。

[0300] 实施例12:用于制备可聚合生物相容性制剂的通用程序

[0301] 表10中列出了粘性和非粘性膜的几个代表性制剂以及特定反应的细节。这些膜具有100至500 μm 的厚度,并且可以在复合膜中与不同的制剂分层。

[0302] 表10.(A)几种代表性薄膜制剂的反应细节的汇总;(B)包括摩尔数的反应细节选择的更详细列表(膜厚度为100至500 μm)。

[0303] (A)

预制剂组分	胺/酯摩尔比	缓冲液	% 溶液
4臂-20k-AA和8臂-15k-SG	1	0.15 M 磷酸盐, pH 7.99	19.6
4臂-5k-NH ₂ 和4臂-10k-SG	4.5/1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.40	39
4臂-5k-NH ₂ 和4臂-10k-SG	1	0.05 M 磷酸盐, pH 7.40	36.4
4臂-5k-NH ₂ 和4臂-10k-SG和HPMC (1.25%)	4.5/1	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	39
4臂-2k-NH ₂ 和4臂-10k-SG和HPMC (1.5%)	8/1	0.10 M 磷酸盐, pH 7.80	30.6
4臂-2k-NH ₂ 和4臂-20k-SGA和MC (2%)	8/1	0.15 M 磷酸盐, pH 7.94	30
4臂-2k-NH ₂ 和4臂-20k-SGA和MC (2%)	10/1	0.15 M 磷酸盐, pH 7.94	30

[0305] (B)

预制剂组分	分子量	Mmol	重量(g)	臂	mmol	臂当量	聚合物 %溶液(w/v)
4臂-20k-AA	20000	1000	0.2	4	0.01	0.04	
8臂-15k-SG	15000	1000	0.075	8	0.01	0.04	
缓冲液体积(磷酸盐)			1.4				19.6
4臂-5k-NH ₂	5000	1000	0.27	4	0.05	0.22	
4臂-10k-SG	10000	1000	0.12	4	0.01	0.05	
缓冲液体积(磷酸盐)			1				39.0
4臂-5k-NH ₂	5000	1000	0.17	4	0.03	0.14	
4臂-10k-SG	10000	1000	0.34	4	0.03	0.14	
缓冲液体积(磷酸盐)			1.4				36.4

[0306]

预制剂组分	分子量	Mmol	重量(g)	臂	mmol	臂当量	聚合物 %溶液(w/v)
4臂-5k-NH ₂	5000	1000	0.27	4	0.05	0.22	
4臂-10k-SG	10000	1000	0.12	4	0.01	0.05	
缓冲液体积(磷酸盐)			1				39.0
粘度增强剂		1.25% HPMC					

[0307]

[0308] 实施例13:试剂盒的制备及其应用

[0309] 用先前测试过的聚合物制剂制备若干试剂盒。用来组装试剂盒的材料列于表11中,所用的制剂列于表12中。试剂盒通常由两个注射器组成:一个含有固体组分的注射器和另一个含有液体缓冲液的注射器。注射器经由混合管和单向阀连接。通过打开阀并反复将一个注射器的内容物转移至另一个注射器中10至20秒来混合注射器的内容物。然后取出用过的注射器和混合管并丢弃,并且向使用中的注射器装配分配单元,如针头或套管,并且排出聚合物溶液直至胶凝开始。在其他实施方案中,粘稠溶液阻碍固体组分的溶解,因此使用第三注射器。第三注射器包含浓缩的粘稠缓冲液,一旦所有组分已溶解,该缓冲液即增强溶液的粘度。在一些实施方案中,通过加入注射器过滤器而改善所获得的聚合物的光学澄清度。

[0310] 所有测试的制剂均易于通过22号针头分配。两个注射器之间的混合动作是湍流的,并且明显引入了显著量的气泡。轻柔混合产生无气泡的透明材料。另外,发现使用注射器过滤器能够去除气泡,而聚合物性质没有任何变化。

[0311] 表11. 用于制造试剂盒的材料,包括供应商、部件号和批号。

	描述	供应商
	Vincon 管, 1/8"内径 1/4"外径 1/16"壁, 100 英尺	Ryan Herco Flow Solutions
	12 mL 鲁尔锁注射器	Tyco Healthcare, Kendall Monoject™
[0312]	3 mL 鲁尔锁注射器	Tyco Healthcare, Kendall Monoject™
	单向活塞, 阴鲁尔锁至阳鲁尔锁	QOSINA
	用于 1/8"内径管的阴鲁尔锁齿, RSPC	QOSINA
	无开口鲁尔分配器顶端帽, 白色	QOSINA
	32 mm 亲水性注射器过滤器, 5 微米	PALL® Life Sciences

[0313] 表12. 四种不同试剂盒的详细内容物;固体组分在一个注射器中,而液体组分在另一个注射器中;混合管连接这两个注射器。

预制剂组分	分子量	重量(g)	臂	mmol	臂当量	%溶液
8 臂-20k-NH ₂	20000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	0.08	4	0.004	0.016	
磷酸盐缓冲液		2.5 mL 0.10 M, pH 7.80				4.8
粘度增强剂		无粘度增强剂				
8 臂-20k-NH ₂	20000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	0.08	4	0.004	0.016	
磷酸盐缓冲液		2.5 mL 0.10 M, pH 7.80				4.8
粘度增强剂		0.3% HPMC				
8 臂-20k-NH ₂	20000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	0.08	4	0.004	0.016	
磷酸盐缓冲液		2.5 mL 0.10 M, pH 7.80				4.8
粘度增强剂		7.5% 聚维酮				
8 臂-20k-NH ₂	20000	0.04	8	0.002	0.016	
4 臂-20k-SGA	20000	0.08	4	0.004	0.016	
磷酸盐缓冲液		2.5 mL 0.10 M, pH 7.80				4.8
粘度增强剂		1.0% HPMC				

[0315] 使用在初始试验中表现最好的聚合物制剂制备若干额外的试剂盒。用于组装试剂盒的材料列于表13中。试剂盒通常由两个注射器组成,一个含有固体组分的注射器和另一个含有液体缓冲液的注射器。通过移除活塞、加入组分、用轻柔的氮气流吹扫注射器20秒然后更换活塞而装载注射器。最后,尽可能压下活塞,以减小注射器的内部容积。试剂盒中化学组分的量的规格列于表14A中。描述了所制备的这批试剂盒的总结列于表14B中。

[0316] 将注射器在除掉帽塞后直接连接,阳部件锁定到阴部件内。通过反复将一个注射器的内容物转移至另一个注射器中10至20秒来混合注射器的内容物。然后取出用过的注射器并丢弃,并且向使用中的注射器装配分配单元,如针头或套管,并排出聚合物溶液直至胶凝开始。在其他实施方案中,粘稠溶液阻碍固体组分的溶解,因此使用第三注射器。第三注射器包含浓缩的粘稠缓冲液,一旦所有组分已溶解,该缓冲液即增强溶液的粘度。

[0317] 所有测试的制剂均易于通过22号针头分配。两个注射器之间的混合动作是湍流的,并且明显引入了显著量的气泡。发现使用注射器过滤器能够去除气泡,而聚合物性质没有任何变化。

[0318] 将制备的试剂盒连同每袋一个氧吸收包置于箔袋中。用CHTC-280PROMAX台式腔室密封单元对小袋进行热封。研究了两种不同的密封模式:在氮气下和在真空下。在氮气下密封的设置为:30秒真空、20秒氮气、1.5秒热封,并冷却3.0秒。在真空下密封的设置为:60秒真空、0秒氮气、1.5秒热封,并冷却3.0秒。

[0319] 表13. 用于制造试剂盒的材料,包括供应商、部件号和批号。

描述	供应商
12mL阳鲁尔锁注射器	Tyco Healthcare, Kendall Monoject™
5mL阴鲁尔锁注射器,紫色	QOSINA
阳鲁尔锁帽,无开口	QOSINA
无开口阴鲁尔分配器顶端帽,白色	QOSINA

100cc氧气吸收袋	IMPAK
6.25" x 9" 外径PAKVF4Mylar箔袋	IMPAK

[0321] 表14. 含有60%、65%、70%和75%可降解胺的8臂-20k-AA/8臂-20-NH₂和4臂-20k-SGA制剂的试剂盒组分的规格(A)。批制剂汇总(B)。

[0322] (A)

预制剂组分	规格			
	60/40	65/35	70/30	75/25
8臂-20k-AA	0.024 - 0.026 g	0.026 - 0.027 g	0.028 - 0.029 g	0.030 - 0.031 g
8臂-20k-NH ₂	0.014 - 0.016 g	0.013 - 0.014 g	0.011 - 0.012 g	0.009 - 0.010 g
4臂-20k-SGA	0.080 - 0.082 g	0.080 - 0.082 g	0.080 - 0.082 g	0.080 - 0.082 g
磷酸盐缓冲液	2.50 mL 0.10 M 磷酸盐, pH 7.58, 0.30% HPMC (8.48 cSt +/- 0.06 于 20°C)			

[0324] (B)

制剂	缓冲液pH	密封方法	备注
60/40	7.46	氮气	

制剂	缓冲液pH	密封方法	备注
60/40	7.58	氮气	
60/40	7.72	氮气	
70/30	7.58	真空	
70/30	7.58	真空	注射器无氮气吹扫
65/35	7.58	真空	
75/25	7.58	真空	
75/25	7.58	真空	
75/25	7.58	氮气	
65/35	7.58	真空	
65/35	7.58	氮气	

[0327] 制备了若干试剂盒用于β测试。用于组装试剂盒的材料列于表15中。试剂盒通常由两个注射器组成,一个注射器含有固体组分而另一个注射器含有液体缓冲液。通过移除活塞、加入组分、用轻柔的惰性气体流吹扫注射器10秒然后更换活塞来装载注射器。最后,尽可能压下活塞,以减小注射器的内部容积。

[0328] 或者,可以通过将固体组分连同固体形式的磷酸盐缓冲液一起装载到阴注射器(female syringe)中来制备单注射器试剂盒。然后,该试剂盒以与双注射器试剂盒相似的方式使用,不同之处在于用户可以使用阳注射器(male syringe)中的指定量的多种液体。通常,可以使用在用于注射的液体溶液中提供的任何物质。适合的液体的一些实例为水、盐水、Kenalog-10、Depo-Medrol和Nolvasan。

[0329] 将注射器在除掉帽塞后直接连接,阳部件锁定到阴部件内。通过反复将一个注射器的内容物转移至另一个注射器中10至20秒来混合注射器的内容物。然后取出用过的注射

器并丢弃,并且向使用中的注射器装配分配单元,如针头、喷嘴或刷头,并排出聚合物溶液直至胶凝开始。

[0330] 将制备的试剂盒连同每袋一个氧吸收包以及一个指示硅胶包置于箔袋中。将显示产品和公司名称、联系信息、批次和批号、有效期限以及建议储存条件的标签贴于袋上。还将在暴露于灭菌辐射时从黄色到红色改变颜色的辐射灭菌指示物贴于袋的左上角。用CHTC-280PROMAX台式腔室密封单元对小袋进行热封。用于在真空下密封的设置为:50秒真空、1.5秒热封和5.0秒冷却。

[0331] 详细说明制备的无菌试剂盒批次的示例列于表15中。之前的研究发现,如果装载的注射器没有在试剂盒制备期间更换活塞前用氮气吹扫,相对于注射器已经用氮气冲洗的试剂盒,该无菌试剂盒展现出胶凝时间增加约30秒。已经在真空下密封的试剂盒与已经在氮气下密封的试剂盒之间没有发现显著差异。当真空密封的试剂盒失去其密封时容易观察到,所以决定对所有试剂盒进行真空密封作为标准程序。在试剂盒中包含氧吸收包和硅胶包对长期储存稳定性的影响目前正在研究。

[0332] 表15. 用于制造试剂盒的材料,包括供应商和部件号。

	说明	供应商	部件号
	10 mL 鲁尔锁 (Luer-Lok) 注射器	BD	309604
	无开口阴鲁尔分配器顶端帽, 白色	QOSINA	65119
	5 mL 阴鲁尔锁注射器, 紫色 PP	QOSINA	C3610
[0333]	阳鲁尔锁帽, 无开口, PP	QOSINA	11166
	刷头	Flumatic	BT01225R
	5.25"x8" PAKVF4D Mylar 箔袋	IMPAK	0525MFDFZ08TE
	3.5"x6.5" PAKVF4W Mylar 箔袋	IMPAK	035MFW065Z
	辐射灭菌指示物	QOSINA	13124
	100cc 氧吸收包	IMPAK	OAP100
	指示硅胶	IMPAK	40ISG37

[0334] 表16: 针对含有75%可降解胺的8-臂-AA-20K/8-臂-NH₂-20K和4-臂-SGA-20K制剂的试剂盒组分的示例规格(A)。批制剂汇总(B)。

[0335] (A)

组分	批号和规格			
8 臂-20k-AA	0.029 - 0.031 g			
8 臂-20k-NH ₂	0.009 - 0.011 g			
4 臂-20k-SGA	0.079 - 0.081 g			
[0336] 磷酸盐缓冲液	2.50 mL 的 0.10 M 磷酸盐, pH 7.58, 0.30% HPMC(8.48 cSt +/- 0.06, 于 20°C)			
批量	3	30	34	48
胶凝时间 (s)	110 - 125			
降解时间 (天)	10 - 12			

[0337] (B)

[0338]	组分	批号和规格
	8臂-20k-AA	0.029-0.031g
	8臂-20k-NH2	0.009-0.011g
	4臂-20k-SGA	0.079-0.081g
	磷酸盐缓冲液粉末	0.03-0.06g
	Nolvasan (2%氯己定)	2.50mL, 1%苯甲酸地那铵
	批量	64
	胶凝时间 (s)	150
	降解时间 (天)	11

[0339] 记录了试剂盒制备时间。装载一个缓冲液注射器平均耗时1.5分钟,而一个固体注射器平均耗时4分钟。真空密封一个试剂盒耗时约1.5分钟。因此,制备一个试剂盒的估计时间为7分钟或每小时约8个试剂盒。可以通过以正确比例预混合所有固体以使得仅一个固体质量需要测量,以及通过经由减少真空循环时间优化真空密封程序来改善试剂盒制备时间。

[0340] 所有测试的制剂均易于通过23至34号针头分配。如预期的,较高的规格号显示了较低的流速。两个注射器之间的混合动作是湍流的,并且明显引入了显著量的气泡。发现使用注射器过滤器能够去除气泡,而聚合物性质没有任何变化。

[0341] 对于单注射器系统,研究了磷酸盐粉末使用的影响。图12示出了改变固体磷酸盐的量或浓度对聚合物胶凝时间和溶液pH的影响。发现该系统对磷酸盐的量相对不敏感,容忍多达两倍的差异而没有显著变化。

[0342] 试剂盒灭菌和测试

[0343] 将密封的试剂盒包装到大号的FedEx盒子中。每个盒子在NUTEK Corporation根据开发的标准程序经电子束辐射来灭菌。标准灭菌程序文件的副本包含在此报告中。

[0344] 对于每批灭菌的试剂盒,对随机选择的试剂盒进行胶凝时间和降解时间测试以验证材料的活力。之前的研究包括没有灭菌的试剂盒的运行或对照盒,并且得出以下结论:试剂盒运输期间的环境条件在胶凝时间变化中没有起到显著作用。

[0345] 将灭菌的试剂盒送到NAMSA用于根据USP<71>进行无菌性验证。试剂盒被证实为无菌的。

[0346] 在灭菌后,没有观察到单体和磷酸盐缓冲溶液的物理变化。之前的实验已经表明,灭菌后聚合物胶凝时间一致地增加约30秒。例如,具有90秒胶凝时间的聚合物在灭菌后将展现出120秒的胶凝时间。无菌缓冲液的pH没有变化,因此怀疑在灭菌过程中一些单体发生降解。这通过制备不同浓度的未灭菌的聚合物并与灭菌的聚合物比较胶凝时间、降解时间和机械性能来确定(图13)。现有数据显示,灭菌时单体经历约15至20%的降解。因此,5%聚合物在灭菌后将表现得与4%聚合物相似。计划了另外的实验来建立详细的质量控制校准曲线。

[0347] 储存稳定性

[0348] 将灭菌的试剂盒储存在5℃。将一些试剂盒储存在20℃或37℃以考察温度对储存稳定性的影响。主要通过记录胶凝时间的变化来量化试剂盒的稳定性,胶凝时间与单体降解的程度成正比。通过将试剂盒完全浸入水浴中而保持37℃的温度,因此就湿度而言代表

了最坏的情况。

[0349] 通过将一些试剂盒放置在5℃、20℃或37℃下并以确定的间隔测量胶凝时间的变化来考察试剂盒的储存稳定性。根据先前部分中详述的程序制备并密封试剂盒。结果在图14中显示。经16周,对于储存在5℃和20℃的试剂盒,没有观察到胶凝时间的显著变化。在37℃下,胶凝时间在约1周后开始以恒定的速率增加。箔袋被证明是有效的水分屏障。指示硅胶包仅显示了轻微的水分吸收的迹象,这由颜色来证明。长期数据仍在采集过程中。

[0350] 注射器试剂盒制备的实例

[0351] 开发了一种注射器试剂盒,其中组分储存在两个注射器:阳和阴注射器中。阴注射器含有白色粉末的混合物。阳注射器含有缓冲液。将两个注射器连接并将内容物混合,以产生液体聚合物。然后,将液体聚合物喷射或涂敷在缝合伤口上,在此处它覆盖整个缝合线。此过程中,聚合物进入缝合留下的空隙并防止伤口感染。在伤口部位,液体聚合物变成固体凝胶并停留在该部位超过两周。在这段时间中,伤口得到愈合且无感染。

[0352] 制备该试剂盒所需的组分在表17和表18中公开。为制备该试剂盒的粉末组分以填充到阴注射器中,移除5mL阴鲁尔锁注射器的活塞,并将注射器用合适的帽盖上。将8臂-20k-AA (0.028g,可接受的重量范围为0.0270g至0.0300g)、8臂-20k-NH₂ (0.012g,可接受的重量范围为0.0100g至0.0130g)、4臂-20k-SGA (0.080g,可接受的重量范围为0.0790g至0.0820g)和0.043g的冷冻干燥的磷酸盐缓冲液粉末 (0.043g,可接受的重量范围为0.035g至0.052g)各自仔细地称取并倒入注射器中。然后用氮气/氩气以5至10L/min的速率冲洗注射器约10秒并更换活塞以密封内容物。然后将注射器翻转,使得帽朝向顶部。然后将注射器帽松开,并通过从注射器排出尽可能多的空气使注射器中的气隙最小化。通常压缩的粉末体积为0.2mL。然后,使注射器帽变紧,直到帽被手指拧紧。

[0353] 以500mL批量大小制备了液体组分,其中将50mL的商品2%氯己定溶液、450mL蒸馏水和1.5g的HPMC倒入无菌容器中。然后盖住该无菌容器并剧烈摇动10秒。让溶液在环境条件下静置16小时,由此使得泡沫消散且任何剩余的HPMC溶解。

[0354] 通过移除阳鲁尔锁注射器的活塞随后用合适的帽盖住注射器来制备液体/缓冲液注射器。通过移液管将2.5mL的缓冲液/液体溶液转移到注射器中。然后,用氮气/氩气以5至10L/min的速率冲洗注射器约5秒。然后更换注射器的活塞以密封内容物。然后将注射器翻转使得帽朝向顶部,并松开注射器帽,并通过从注射器排出尽可能多的气体使气隙最小化。然后,使注射器帽变紧,直到帽被手指拧紧。

[0355] 表17. 用来制造用于阴注射器的固体组分的组分

组分	技术名称
8臂-20k-AA	8臂PEG乙酸胺, HCl盐, MW 20k
8臂-20k-NH ₂	8臂PEG胺(六甘油), HCl盐, MW 20k
4臂-20k-SGA	4-臂PEG琥珀酰亚胺基戊二酰胺(季戊四醇), MW 20k
	商品2%氯己定溶液
	冷冻干燥的磷酸盐缓冲液粉末

[0357] 表18. 用来制造试剂盒的材料,包括供应商、部件号和批号。

说明	供应商	部件号	供应商目录号
10mL鲁尔锁注射器	BD	CM-0003	309604

无开口阴鲁尔分配器顶端帽,白色	QOSINA	CM-0004	65119
5mL阴鲁尔锁注射器,紫色PP	QOSINA	CM-0005	C3610
阳鲁尔锁帽,无开口,PP	QOSINA	CM-0006	11166

[0359] 注射器试剂盒制备的实例

[0360] 开发了另一种注射器试剂盒,其中固体组分、白色粉末混合物储存在一个阴注射器中。标准的阳注射器用于吸取药物溶液,诸如含有Kenalog的药物溶液。将两个注射器连接并将内容物混合,以产生液体聚合物。然后将该液体聚合物递送至目标部位。

[0361] 制备该试剂盒所需的组分在表17和表18中公开。为制备该试剂盒的粉末组分以填充到阴注射器中,移除5mL阴鲁尔锁注射器的活塞,并将注射器用合适的帽盖上。将8臂-20k-AA (0.0125g,可接受的重量范围为0.012g至0.013g)、8臂-20k-NH2 (0.075g,可接受的重量范围为0.007g至0.008g)、4臂-20k-SGA (0.040g,可接受的重量范围为0.040g至0.042g)和0.018g的冷冻干燥的磷酸盐缓冲液粉末 (0.043g,可接受的重量范围为0.017g至0.022g)各自仔细地称取并倒入注射器中。然后用氮气/氩气以5至10L/min的速率冲洗注射器约10秒并更换活塞以密封内容物。然后将注射器翻转,使得帽朝向顶部。然后将帽松开,并通过从注射器排出尽可能多的空气使注射器中的气隙最小化。然后,使注射器帽变紧,直到帽被手指拧紧。

[0362] 实施例14:制备基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的通用程序

[0363] 通过将0.028g的8臂-AA-20k、0.012g的8臂-NH2-20K和0.080g的4臂-SGA-20K混合来制备基于聚二醇的生物相容性预制剂。将2.50mL的培养基添加至该制剂。将该制剂混合约10秒,并使用机械高精度移液管吸出1mL混合物溶液。基于聚二醇的生物相容性预制剂组分聚合以形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。收集1mL液体的聚合时间,然后用剩余液体的流动缺乏来验证。

[0364] 实施例15:制备基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体和干细胞的通用程序

[0365] 通过将0.0125g的8臂-AA-20k、0.0075g的8臂-NH2-20K和0.040g的4臂-SGA-20K混合来制备基于聚二醇的生物相容性预制剂。将1.0mL的培养基添加至该制剂。将该制剂混合约10秒,并使用机械高精度移液管吸出1mL混合物溶液。基于聚二醇的生物相容性预制剂组分聚合以形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。收集1mL液体的聚合时间,然后用剩余液体的流动缺乏来验证。将不同大小的已聚合的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体薄片置于24孔板的不同孔中。将0.5mL的成人间充质干细胞以不同密度接种到聚合物基体上。该干细胞扩散并并入基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体内。该干细胞向基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体内的并入通过在干细胞添加后10天移除聚合物基体薄片并使用该薄片在培养中扩展细胞来证明。并入的干细胞保持存活,如通过其在培养中增殖的能力所显示的。

[0366] 实施例16:制备基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体和干细胞的通用程序

[0367] 通过将0.0125g的8臂-AA-20k、0.0075g的8臂-NH2-20K和0.040g的4臂-SGA-20K混合来制备基于聚二醇的生物相容性预制剂。将1.0mL的含有成人间充质干细胞的培养基添加至该制剂。将该制剂混合约10秒,并使用机械高精度移液管吸出1mL混合物溶液。基于聚二醇的生物相容性预制剂组分聚合以形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。收集1mL液体的聚合时间,然后用剩余液体的流动缺乏来验证。

[0368] 可在基于聚二醇的生物相容性预制剂化合物组合期间的任何点,将额外组分添加至该制剂。在额外组分添加时,该制剂可以是固体、液体、聚合的、胶凝的或其任意组合。额外组分可以与该制剂组合或扩散通过该制剂并与该制剂保留确定的一段时间。在一个实例中,形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体,随后添加生长因子。该生长因子并入基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中。额外组分包括但不限于生物分子、抗生素、抗癌剂、麻醉剂、抗病毒剂或免疫抑制剂。

[0369] 实施例17:细胞在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中的活力

[0370] 制备了间充质干细胞在D15 (DMEM,高葡萄糖,15%胎牛血清)中的单细胞悬浮液并对细胞进行计数。将1mL的密度为 2×10^4 /mL的细胞添加至50mL管中。将细胞维持在室温下并在临添加至预制剂前制备。通过将0.0125g的8臂-AA-20k、0.0075g的8臂-NH₂-20K和0.040g的4臂-SGA-20K在阴注射器中混合来制备含有基于聚二醇的生物相容性预制剂的阴注射器。将18G针头附接至阳注射器,并用1mL PBS填充阳注射器。在90-120秒内进行下一步骤。将针头从阳注射器移除,并将阳注射器与含有预制剂的阴注射器连接。将PBS从阳注射器推入阴注射器中,并且该混合过程通过反复将PBS从一个注射器推入另一个中来开始,20次足以混合。最后一次后,将整个内容物推入阳注射器中。将18G针头附接至阳注射器并将液体制剂喷射到含有1mL间充质干细胞的50mL管中。在预制剂喷射入管中时,小心混合细胞。小心确保细胞不被针头的抽吸所混合,因为这可引起细胞应激。

[0371] 含有间充质干细胞的预制剂的等分试样以50、100、200和400 μ L置于4-腔室组织培养载玻片的腔室中。使预制剂胶凝2分钟。将200 μ L的D15添加至每个腔室中。针对三个时间点:0、2和24小时,制备这些载玻片中的三个。用膜透性3',6'-二(0-乙酰基)-2',7'-双[N,N-双(羧甲基)氨基甲基]荧光素、四乙酰氧基甲基酯和膜不通透性乙锭同型二聚体-1、1 μ L/ml碘化丙啶对细胞进行染色。使用亮视野和荧光显微法对细胞进行成像。活细胞发绿色荧光而死细胞发红色荧光。在2小时时间点,在多个视野观察中仅观察到一个死细胞。一个活细胞具有点状细胞质。剩余的细胞是存活的并且在水凝胶聚合物基体中具有典型的椭球体形态。在24小时时间点,超过95%的细胞是存活的。

[0372] 实施例18:确定细胞在基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中的性质的通用程序

[0373] 在与生物相容性水凝胶聚合物基体合并后评估了间充质干细胞的增殖速率、活力和结构特征。

[0374] 为测量间充质干细胞的增殖速率,进行了细胞增殖试验。制备了如实施例14中所述的包含基于聚二醇的化合物和合适缓冲液的生物相容性预制剂。将100 μ L的预制剂涂覆在24孔板上,以产生<5mm厚的涂层。将干细胞以不同细胞密度(1×10^3 、 5×10^3 、 10×10^3 和 20×10^3 个细胞)接种在涂覆的板上。细胞在生长培养基中在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下温育。对于每个样品,在接种后第2、7和10天进行CellTiter 96[®] Aqueous Non-Radioactive (MTS) 试验以确认细胞正在增殖。将生长培养基从每个孔中去除并用500 μ L新鲜培养基替换,且在37 $^{\circ}$ C下5%CO₂中温育至少1小时。将100 μ L的MTS试剂添加至每个孔并在37 $^{\circ}$ C下5%CO₂中温育3小时。使用酶标仪测量并记录490nm处的吸光度。使用含有制剂但没有任何细胞的孔作为空白。类似地,将仅有培养基而没有任何细胞的孔用作空白。通过减去空白获得每个样品的读数。绘制吸光度-时间图。吸光度与细胞数成正比,其中吸光度的显著升高指示细胞活力和增殖。

计算增殖的倍数变化。

[0375] 为证明成人间充质干细胞的活力,在第2、7和10天对如本实施例中先前所述接种在涂覆的24孔板上的细胞进行染色试验。去除培养基并用磷酸盐盐水缓冲液洗涤细胞两次。将0.5ml包含钙黄绿素-am (10 μ g/ml) 和碘化丙啶 (100 μ g/ml) 的染色溶液添加至每个孔中,并将该板在37 $^{\circ}$ C下温育5-10分钟。用磷酸盐盐水缓冲液洗涤细胞并立即成像。活细胞发绿色荧光而死细胞发红色荧光。

[0376] 为证明成人间充质干细胞保持其结构,对如本实施例中先前所述接种在涂覆的24孔板上的细胞进行染色试验。去除培养基并用磷酸盐缓冲液洗涤细胞两次。用4%低聚甲醛将细胞在室温下固定10分钟,随后用磷酸盐缓冲液洗涤两次。向洗涤后的细胞中添加细胞质WGA染色剂(小麦胚凝集素;488绿色荧光)并将细胞在室温下温育10分钟。将染色剂去除并用磷酸盐缓冲液洗涤细胞两次。将核TO-PRO-3碘化物染色剂(红色荧光)添加至细胞,并将细胞在室温下温育10分钟。将染色剂去除并用HBSS缓冲液洗涤细胞两次。将防褪色试剂Pro-long金添加至细胞,并将细胞盖上盖玻片。进行3D共聚焦显微术以对细胞的结构和粘附进行可视化。总体来说,干细胞保持了其物理化学性质。

[0377] 实施例19:细胞从基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的洗脱

[0378] 制备了实施例的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。使用表13的预制剂化合物和细胞制备了额外的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。将聚合物基体称重并置于不同的Falcon管中。将2mL缓冲液/gm聚合物基体加入Falcon管中。将Falcon管置于保持在37 $^{\circ}$ C的水浴中。24小时后,将缓冲液仔细去除并用新鲜的缓冲液替换以保持恒定的体积。重复该提取过程直至每个聚合物基体完全溶解。聚合物基体在两周内溶解。

[0379] 测试了细胞在不同生物相容性预制剂组分下的洗脱行为。细胞洗脱谱随不同生物相容性预制剂组分而变化。细胞可以在聚合物基体保持、经聚合物基体降解而释放或其任何组合的同时扩散。可以选择生物相容性预制剂组分的组成以控制细胞在预定的时间的释放。

[0380] 在一些情况下,本文所述的含有细胞的聚合物基体还包含额外组分,如缓冲液、生长因子、抗生素或抗癌剂。可以改变生物相容性预制剂组分和额外组分的组成以控制细胞和/或该额外组分的释放。

[0381] 在一些情况下,任何如本实施例中描述的含有细胞的聚合物基体的细胞可以以基于聚合物基体孔径的方式从聚合物基体释放。在一些情况下,细胞在从聚合物基体释放后保持存活。

[0382] 实施例20:用于疾病治疗的基于聚二醇的生物相容性预制剂

[0383] 包含0.0125g 8臂-AA-20K、0.0075g 8臂-NH₂-20k、0.040g 4臂-SGA-20K、间充质干细胞和合适的培养基的基于聚二醇的生物相容性预制剂在1.0mL水的存在下组合。通过直接注射到肝脏中的组织损伤部位递送液体制剂。基于聚二醇的生物相容性预制剂混合物在体内在递送部位聚合,以在4分钟内在目标部位形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体培养基组分被配置用于在向目标部位施用期间及之后影响干细胞周围的物理、化学和生物环境。

[0384] 基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体保留在目标部位,其中干细胞经过两周时间得到释放。释放的干细胞需要通过合适的物理和细胞信号的并入与目标组织相互作用

用和整合。因此,基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体培养基包含修饰因子,诸如对于成功组织生成关键的生物活性蛋白质。间充质干细胞在7至14天之间开始在目标部位分化,使得肝功能改善。

[0385] 实施例20:用于疾病治疗的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体

[0386] 通过将1mL水添加至包含0.0125g 8臂-AA-20K、0.0075g 8臂-NH₂-20k、0.040g 4臂-SGA-20K、间充质干细胞和合适培养基的预制剂中制备了基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。胶凝完成后,直接将水凝胶聚合物基体递送至肝脏中的组织损伤部位。基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体培养基组分被配置用于在向肝脏中的目标部位施用期间及之后影响干细胞周围的物理、化学和生物环境。

[0387] 基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体保留在目标部位,其中干细胞经过两周的时间得到释放。释放的干细胞需要通过合适的物理和细胞信号的并入与目标组织相互作用和整合。因此,基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体培养基包含修饰因子,诸如对于成功组织生成关键的生物活性蛋白质。间充质干细胞在7至14天之间开始在目标部位分化,使得肝功能改善。

[0388] 实施例21:用于生长因子递送的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体

[0389] 包含0.028g 8臂-AA-20K、0.012g 8臂-NH₂-20k、0.08g 4臂-SGA-20K、生长因子和缓冲液的基于聚二醇的生物相容性预制剂在2.5mL水的存在下组合。通过直接注射到组织损伤部位递送液体制剂。基于聚二醇的生物相容性预制剂混合物在体内在递送部位聚合,以在目标部位形成基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体。基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体被配置用于在目标部位释放生长因子。生长因子被配置用于将细胞从身体募集至聚合物基体部位,其中所募集的细胞可以在聚合物基体上以及遍布聚合物基体形成组织。

[0390] 生长因子并入基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体中的替代方式是将编码基因和哺乳动物启动子的DNA质粒整合到聚合物基体中。含有DNA的基于聚二醇的生物相容性水凝胶聚合物基体的递送对局部细胞进行编程以产生其自身的生长因子。

[0391] 实施例22:孔径确定

[0392] 从组合组分的每个臂的分子量估计孔直径。基于每个臂上PEG单元的数目和0.252nm的碳-碳-碳键长度及110°键角计算孔直径。在此假设完全伸展的链是键角和所有功能端基用以形成孔隙网络的完全反应性的原因。通过孔径与生物相容性水凝胶溶胀比的倒数的相关性,对孔直径进行进一步修正:

[0393] $\xi \approx L * (V_p/V_s)^{-1/3}$ (等式1)

[0394] 其中V_p是聚合物体积,V_s是溶胀的凝胶的体积,L是计算的孔直径,ξ是溶胀的孔直径。基于平衡溶胀实验,估算V_p与V_s的比例为0.5左右。

[0395] 对于含反应性酯的多组分混合物的情况,使用了每个组分与酯的加权平均值。例如,对于由4臂-20k-AA和8臂-20k-NH₂与4臂-20k-SGA组成的聚合物,将从4臂-20k-AA与4臂-20k-SGA获得的孔径用从8臂-20k-NH₂与4臂-20k-SGA获得的孔径进行平均。

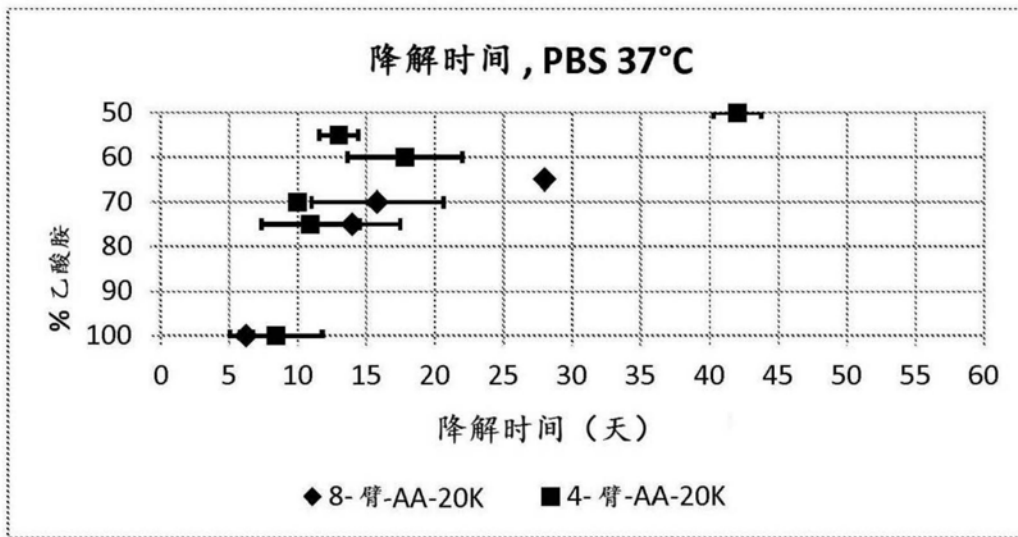


图1

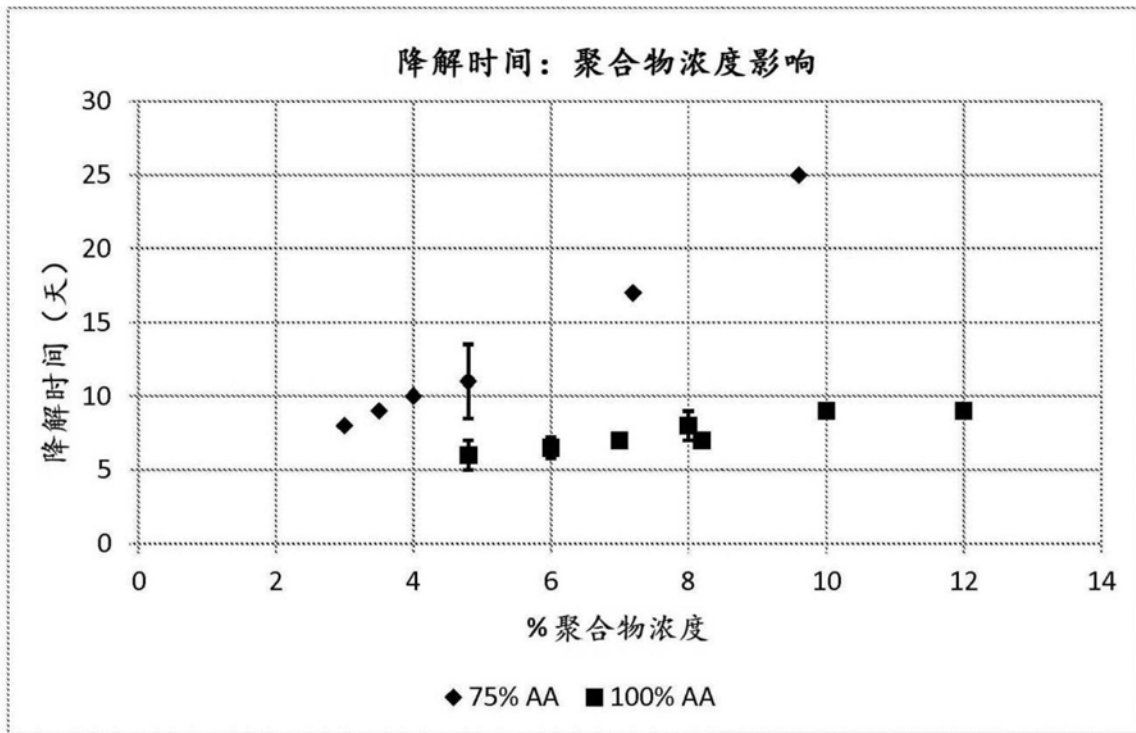


图2

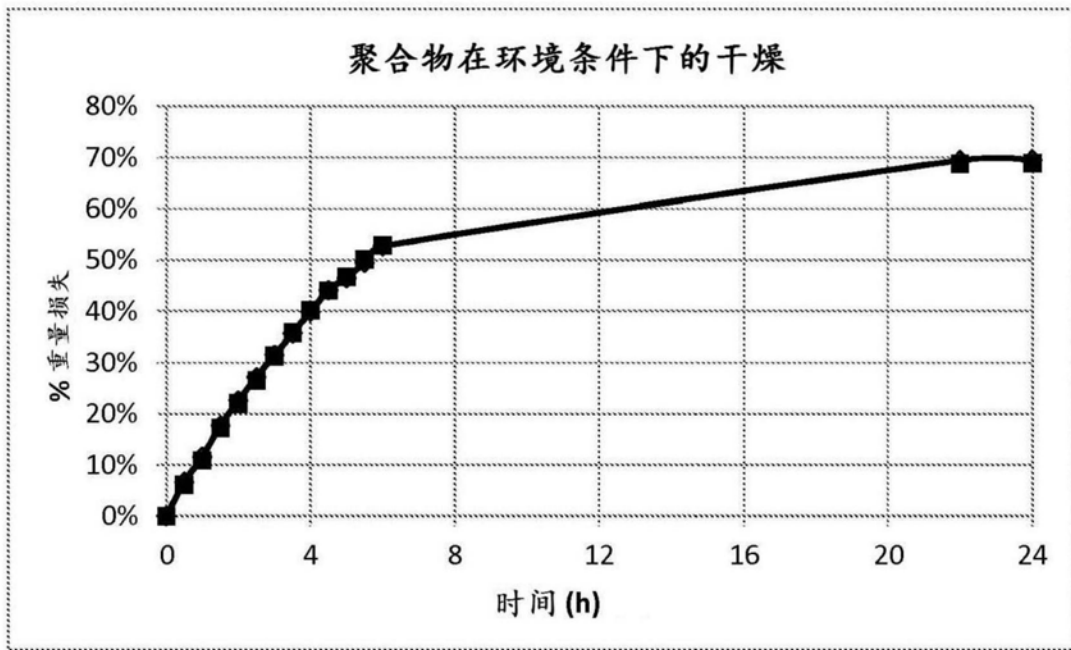


图3

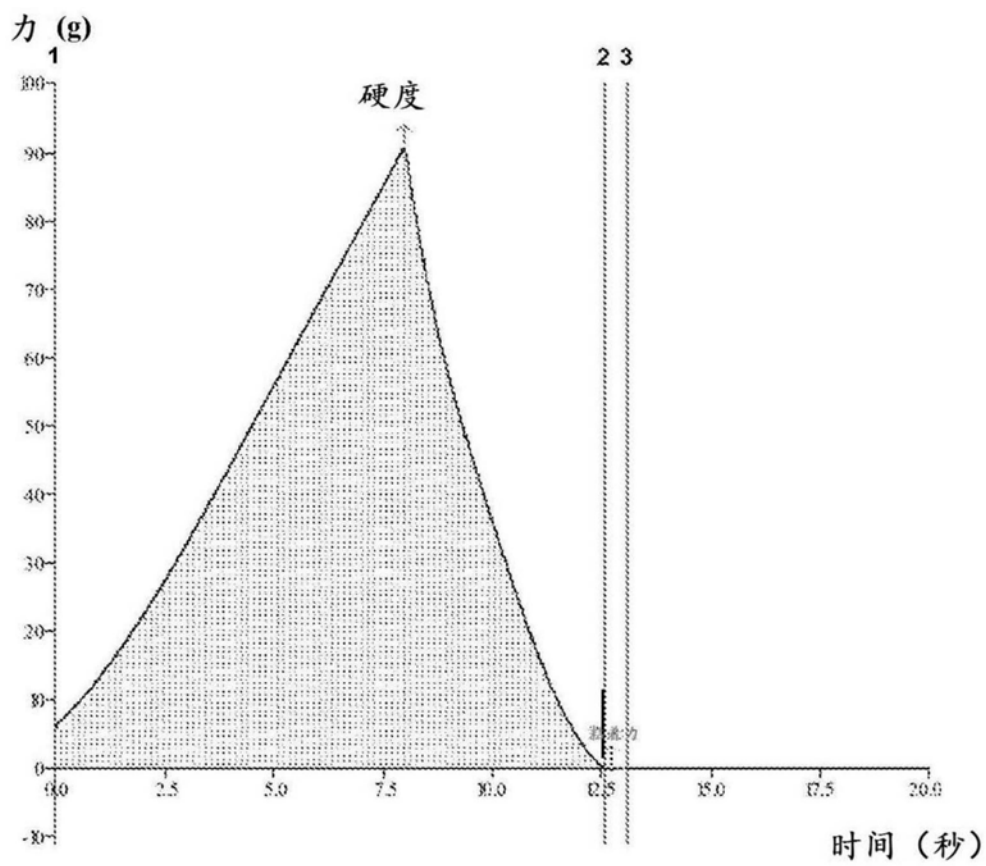


图4

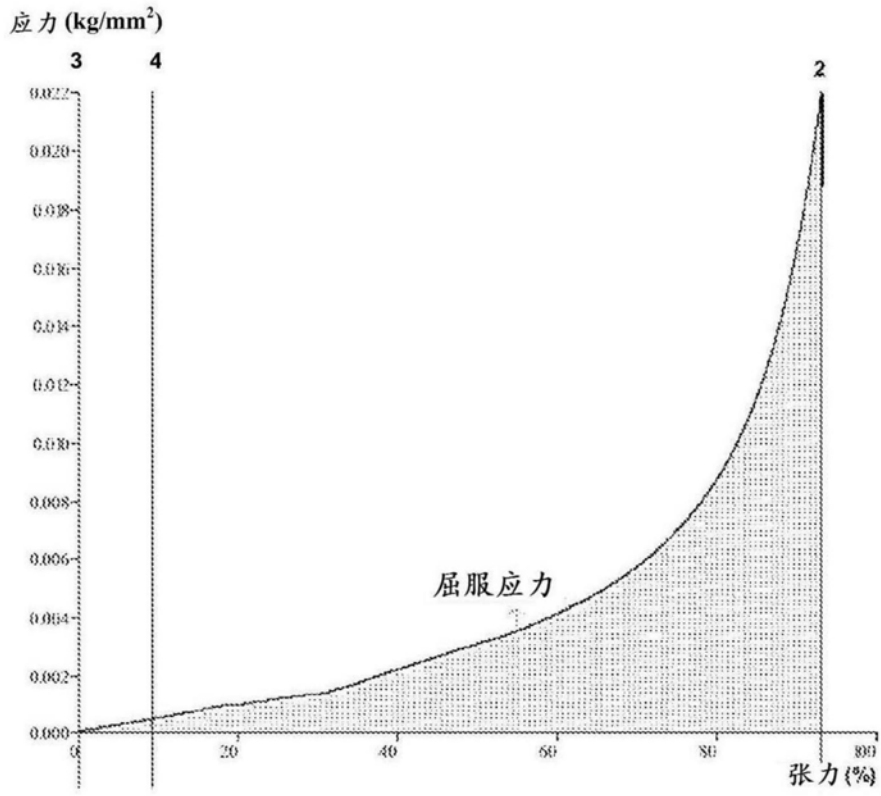


图5

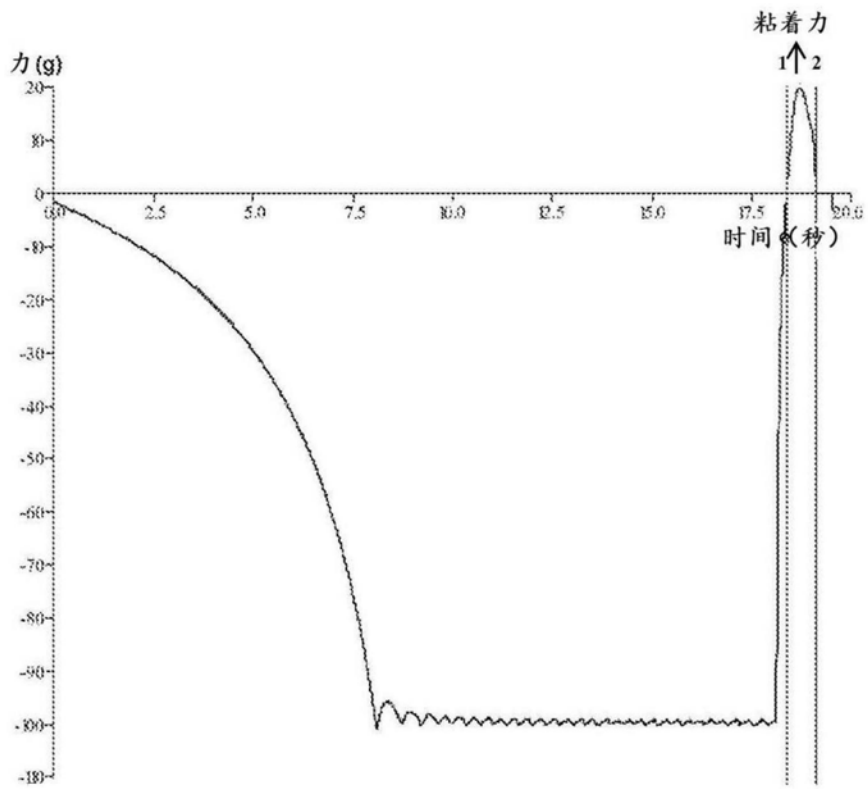


图6

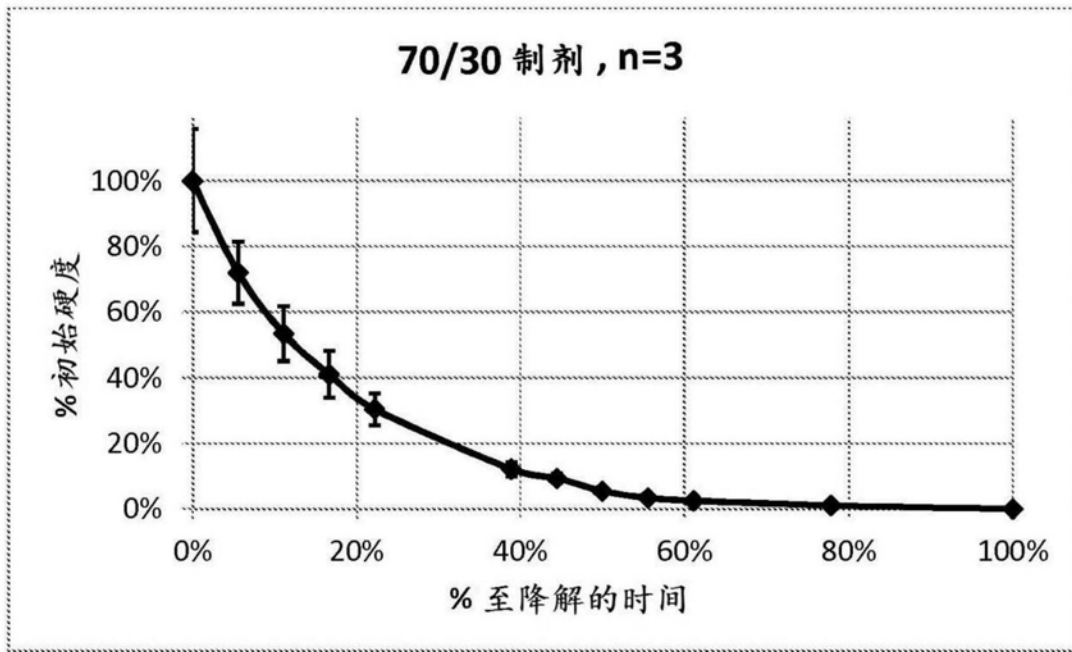


图7

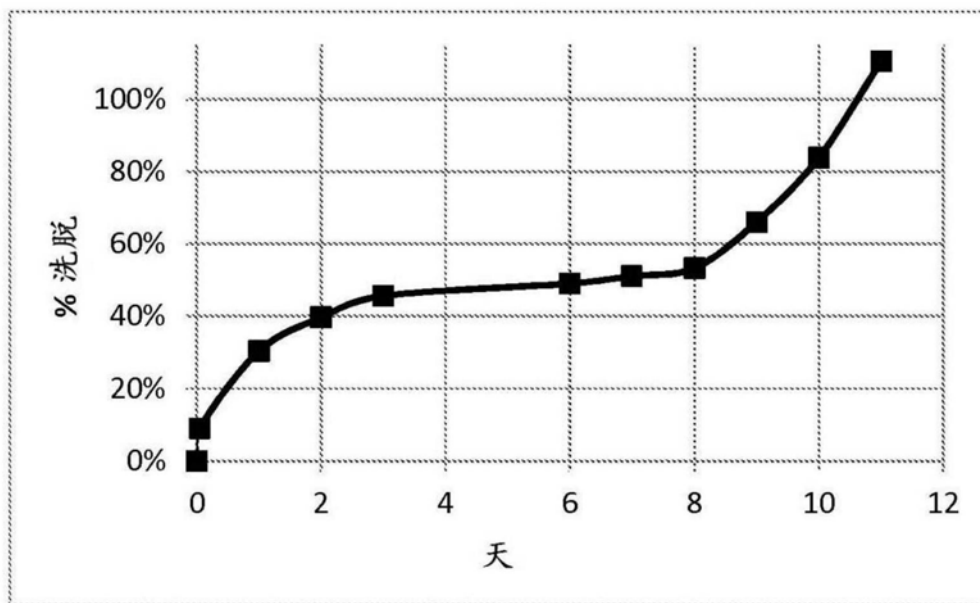


图8

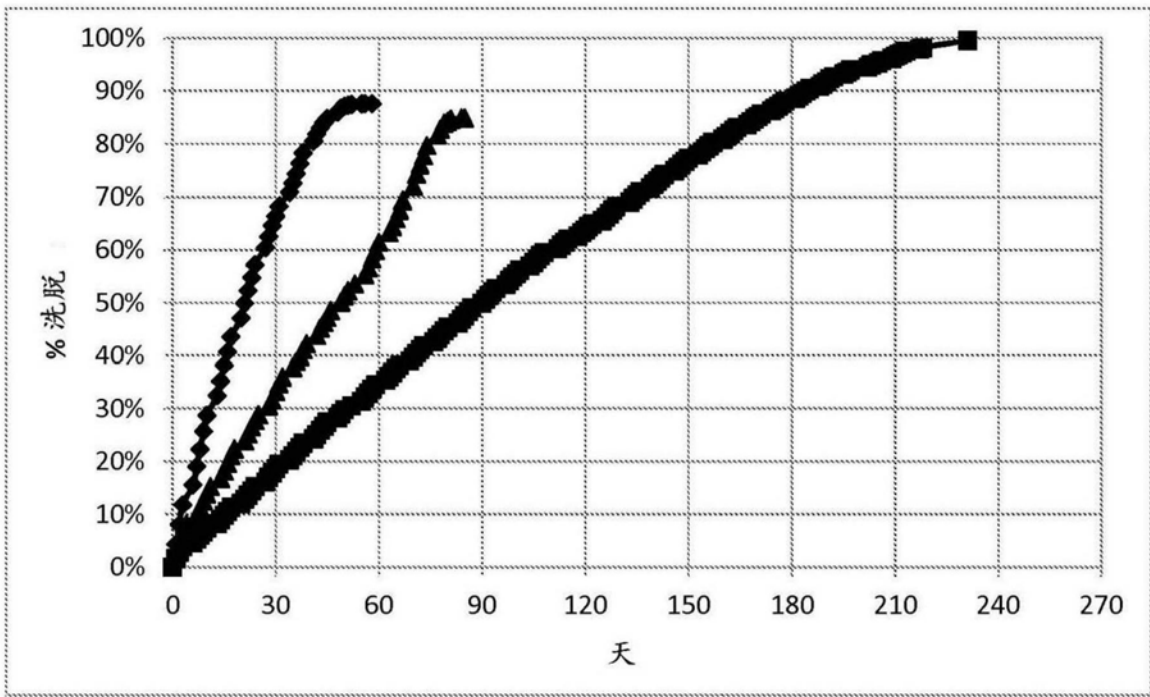


图9

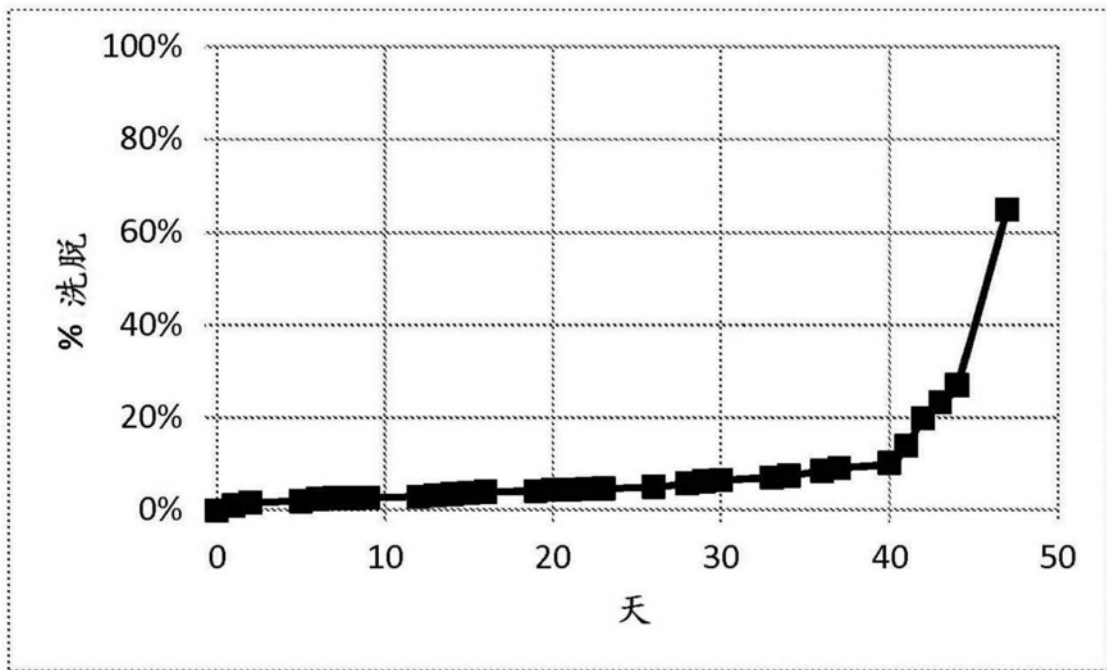


图10

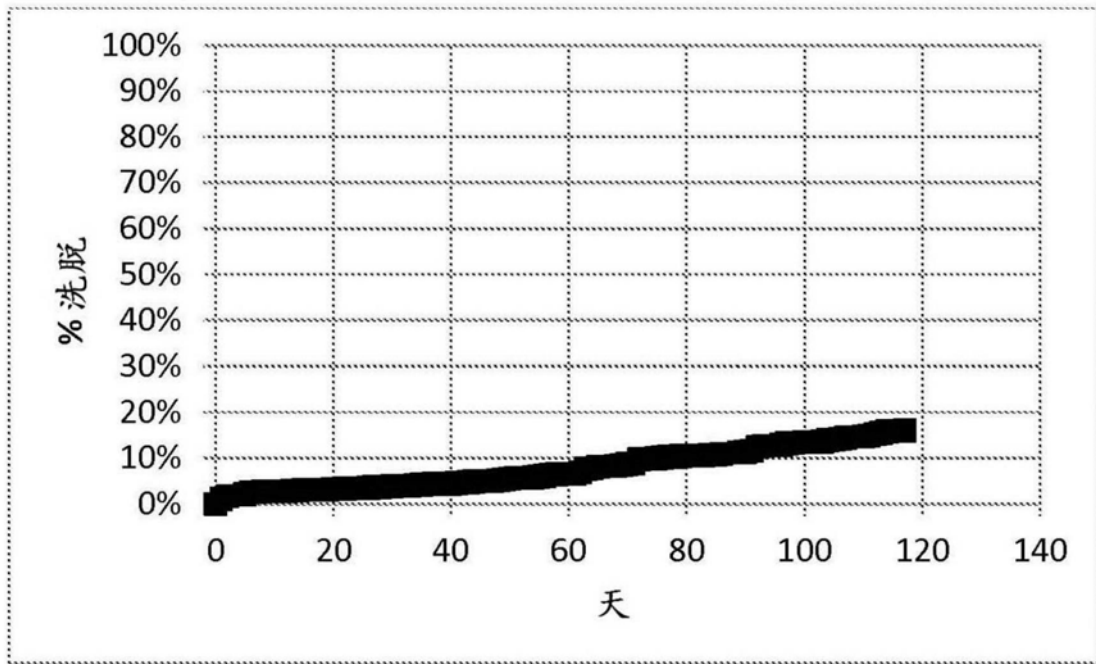


图11

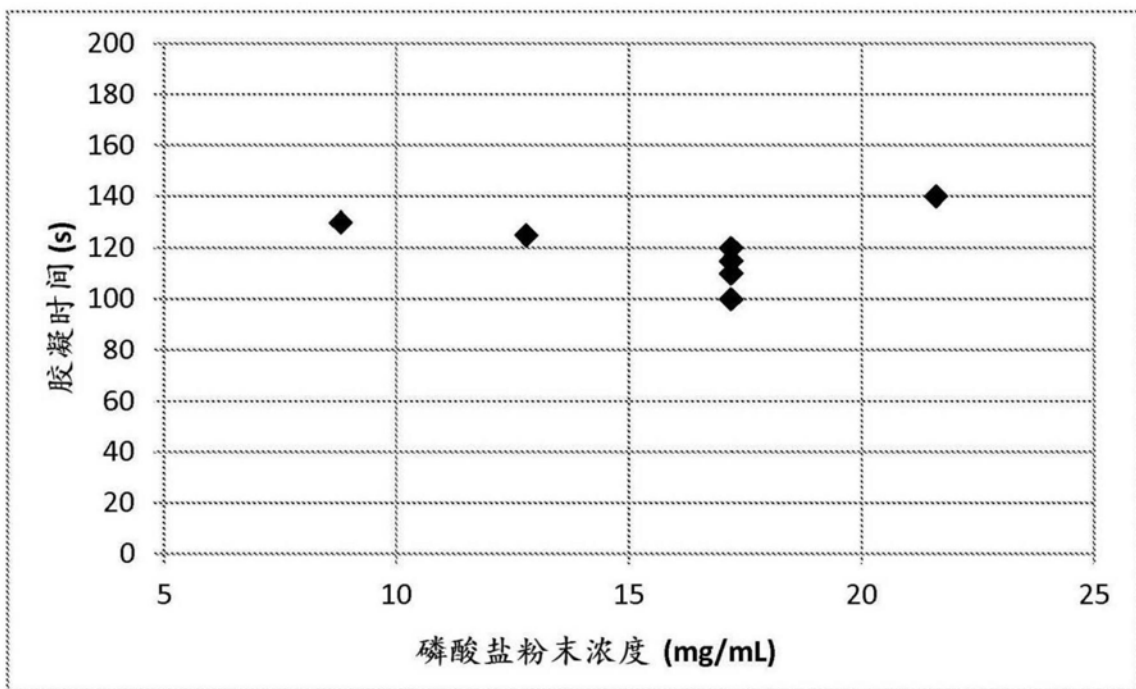


图12A

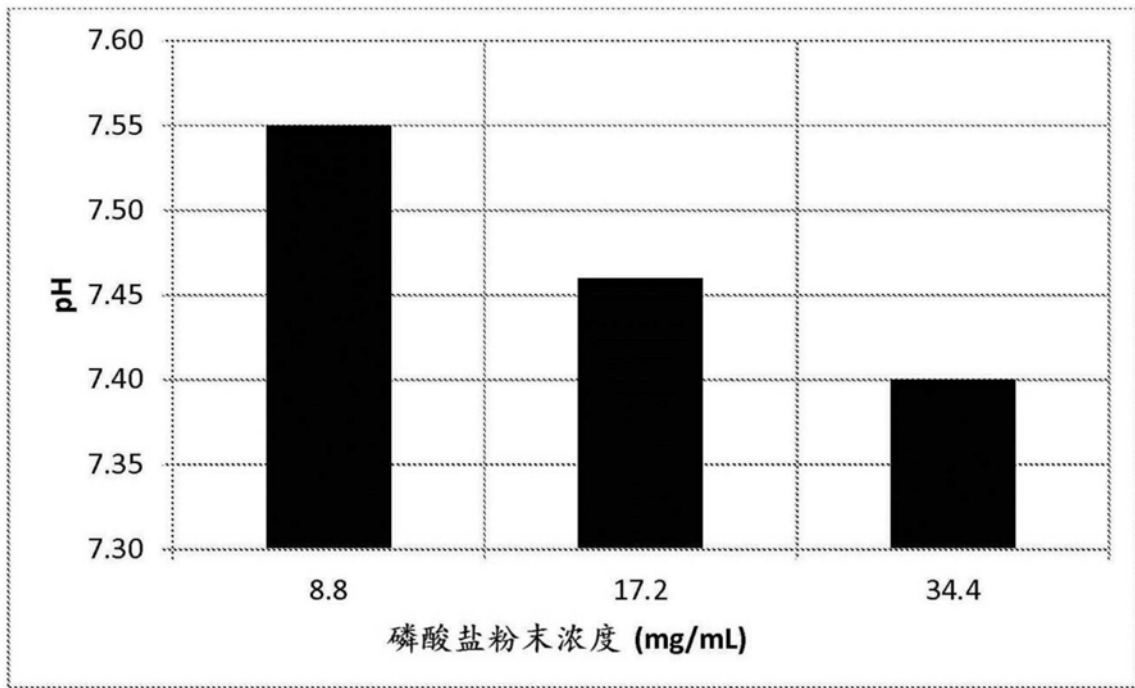


图12B

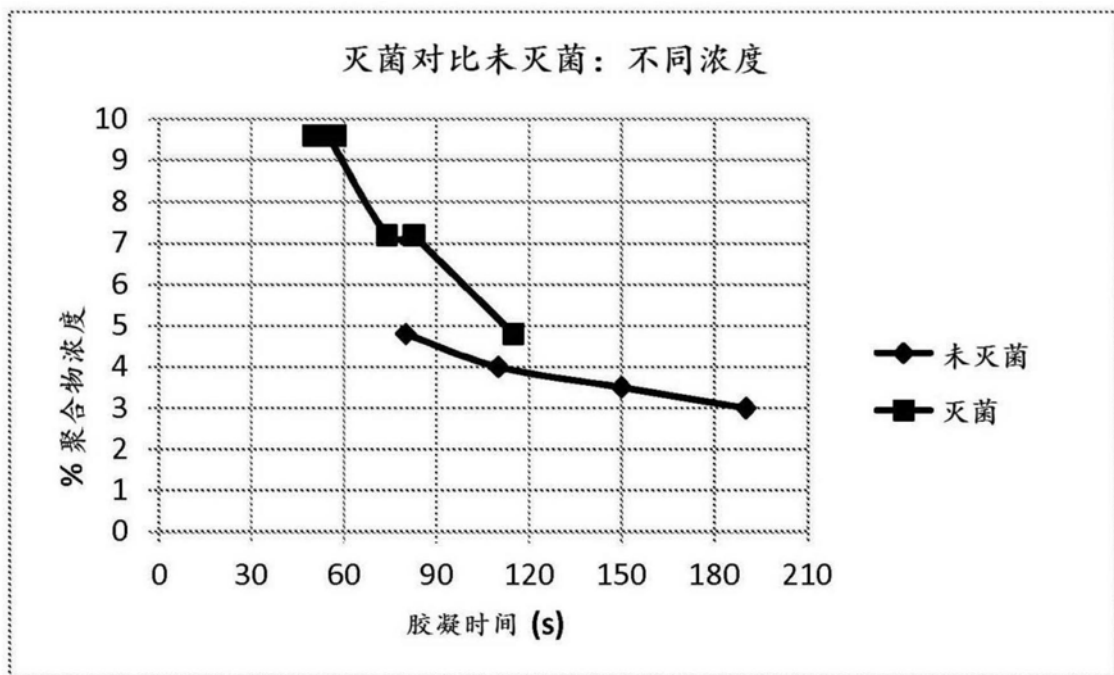


图13A

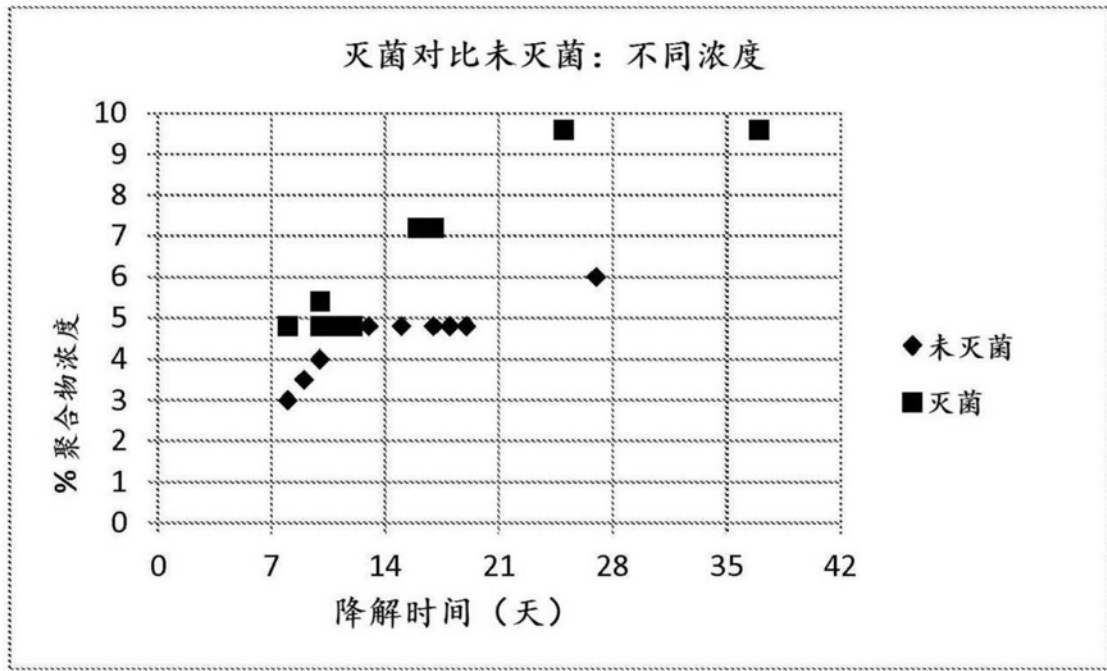


图13B

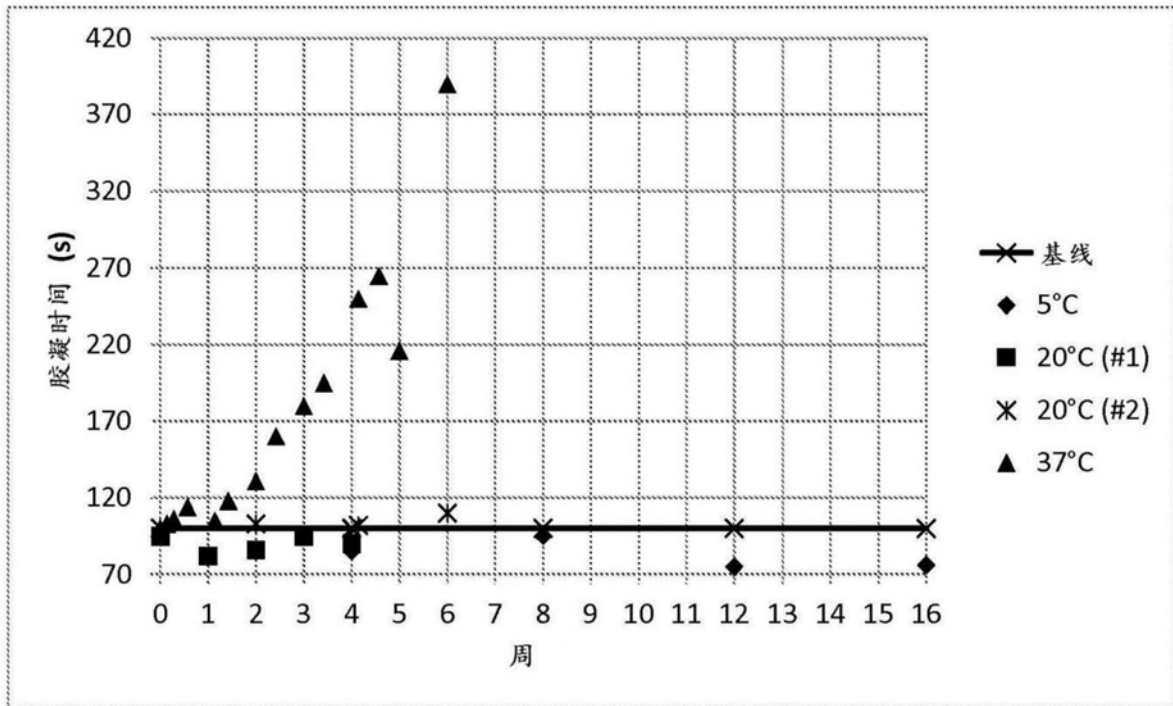


图14