

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810014140.9

[51] Int. Cl.

A61K 31/727 (2006.01)

A61K 31/436 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61P 9/14 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 8 月 5 日

[11] 公开号 CN 101496813A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

A61F 2/82 (2006.01)

[22] 申请日 2008.2.3

[21] 申请号 200810014140.9

[71] 申请人 吴 昊

地址 276826 山东省日照市山海天旅游度假区太公岛二路 1 号

[72] 发明人 吴 昊

[74] 专利代理机构 济南舜源专利事务所有限公司

代理人 辛向东

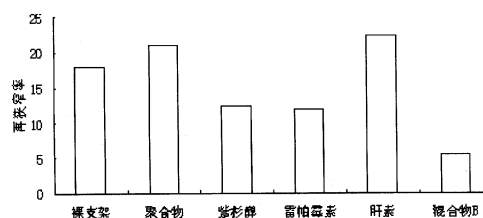
权利要求书 1 页 说明书 15 页 附图 4 页

[54] 发明名称

抗组织增生(血管再狭窄)组合物及应用方法

[57] 摘要

本发明属于医药领域,尤其涉及治疗血管再狭窄或其他组织增生的组合物及其应用方法。组合物中包括雷帕霉素(Rapamycine)和紫杉醇(Paclitaxol)和肝素(Heparin),组合物的应用不仅包括系统给药,也包括局部的药物缓慢释放到病变的组织中。该组合物能够以预混和/或者多层喷涂的方法涂抹于支架或平台上。本发明中的实验数据首次证实雷帕霉素+紫杉醇混合物,雷帕霉素+紫杉醇+肝素混合物比任何单一用药时对支架植入后的血管内皮增生均具有更显著的抑制效果。



- 1.用于抑制细胞增生的组合物，其特征是：所述组合物主要包括微管稳定剂和免疫抑制剂。
- 2.根据权利要求 1 所述的组合物，其特征是：所述组合物包括微管稳定剂和免疫抑制剂和抗凝血剂。
- 3.根据权利要求 2 所述的组合物，其特征是：所述微管稳定剂是紫杉醇，所述免疫抑制剂是雷帕霉素，所述抗凝血剂是肝素。
- 4.根据权利要求 1~3 中任意一项所述的组合物的使用方法，其特征是：组合物是全身系统给药的。
- 5.根据权利要求 1~3 中任意一项所述的组合物的使用方法，其特征是：组合物是通过药物输送导管，导丝或支架输送到局部。
- 6.根据权利要求 5 所述的组合物的使用方法，其特征是：所述支架喷涂有组合物的有效成分。
7. 根据权利要求 5 所述的组合物的使用方法，其特征是：所述组合物药物支架涂层过程是多层逐级喷涂的，其中肝素在最外层。
8. 根据权利要求 5 所述的组合物的使用方法，其特征是：所述组合物药物支架涂层方法是涂上一层预混合的组合物。
- 9 根据权利要求 1 或 2 所述的组合物,其中,雷帕霉素与紫杉醇的比例范围为从 50% : 50%到 30% : 70%， 肝素在组合物中的总比例从 1%-30%。

抗组织增生（血管再狭窄）组合物及应用方法

技术领域

本发明属于医药领域,尤其涉及治疗血管再狭窄或其他组织增生的组合物及其应用方法。

背景技术

冠状动脉疾病

冠状动脉粥样硬化疾病是一种由血管内膜组织增生导致的慢性的冠状动脉堵塞或变窄。从 1900 年起它已成为危害西方社会的头号疾病, 近年代, 尽管现代医学有着显著的进步,该病不仅在西方国家, 在中国也成为患者死亡的最常见原因。在美国有接近 1400 万的美国人患有冠心病,其中约 50 万人死于急性的心肌梗塞; 每年用在治疗该疾病的费用超过 1120 亿。目前广泛存在的冠心病危险因素如肥胖, 糖尿病和吸烟均表明在今后相当长的一段时间内, 该疾病将继续严重的危害到人类的健康。

冠状动脉搭桥手术是治疗冠心病的常用方法, 然而其较高死亡率和术后并发症,以及昂贵的手术费用限制了该方法的广泛应用。经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA) 和冠状动脉支架植入(Stenting)术这两种治疗方法, 是近 20 年里才发展起来的治疗冠心病有效的方法, 近几年内得到了长足的发展。

冠状动脉腔内成形术是将带有可扩张球囊的导管插入到原发性冠状动脉粥样斑块或继发性的血管再狭窄内, 从而提高阻塞血管的通畅性和增加心肌血流量。冠状动脉腔内成形术后的主要问题是术后冠脉突发性闭合。为了解决这一问题, 临床心脏病医生于 1986 年引进了支架植入术, 即在球囊扩张后的血管内植入金属支架, 以保持血管的永久通畅。支架植入术的引入是介入心脏病学的一次革命。在冠状动脉支架植入术中, 支架(细小金属支架)的作用是支撑

血管壁和减少血管成形手术后再狭窄的风险。经皮冠状动脉内成形术及/或支架术的通常适应症为直径大于 2.5mm 的血管内（发生）阻塞而引起的心绞痛或急性心肌梗塞。

根据美国心脏医学会的调查,在 1997 年约有 130 万的病人做了冠状动脉腔内成形术,其中一半患者需要放置支架。这种支架植入术和冠状动脉腔内成形术的结合已成为一种趋势,尤其随着药物释放支架的出现,这种趋势以每年 20% 的速率增长。每年花费在这方面的直接医疗费用超过 20 亿美元。

血管再狭窄

血管再狭窄是指支架植入术或冠状动脉腔内成形术后的血管再狭窄,是由于血管内膜内由结缔组织和平滑肌细胞组成的一层血管内壁细胞的增生反应所引起的。在血管再狭窄的病人中,血管内膜的增生导致动脉阻塞和心脏供氧不足,并致使心率不齐或心搏停止。在药物涂层支架出现之前,血管成形手术后再狭窄一直是介入治疗中最大的问题。对于经皮冠状动脉内成形术,最初经球囊扩张6个月再狭窄复发率高达50%;支架植入术将这一数字降低到20-30%;而西罗莫司(CYPHER™, Cordis Inc, Miami Lakes, Florida)和紫杉醇(TAXUS™, Boston Scientific Inc, Natick, MA)药物释放支架能够显著降低再狭窄复发率至小于5%。然而,对于患有小血管或糖尿病以及弥漫性血管病变的病人,手术后再狭窄的风险仍然相当高。(金属裸支架是30%-60%,药物涂层支架是6%-18%)支架内再狭窄是一个多方面的,循序渐进的过程。尽管动脉血管组织的结构对于新植入的支架的反应机理仍在研究中,通常认为这个过程包括三个阶段:1)血栓形成阶段(支架置入0-3天后):这个阶段是动脉血管组织对新植入支架的最初反应,其特征为血小板和中性颗粒细胞的快速激活,黏附,凝聚和沉积以在受损害的位置形成血栓。抗血栓治疗贯穿着本阶段,其目的是

预防支架植入后引起的血栓问题。2) 恢复阶段：此阶段是在术后3-8天,其特征是渐进的炎性细胞浸润。本阶段包括粒细胞、单核细胞和巨噬细胞等炎性细胞被激活,并进而浸润到受损害的血管壁。随后,受损血管壁新生成的炎症细胞刺激引发了平滑肌细胞增生、转移。然而该些炎症细胞释放的细胞因子、化学因子及生长因子又进一步促进了损伤部位炎症反应,导致新内膜的增生。3) 增生阶段：这个阶段持续1-3个月,其依赖于剩余血栓的厚度和生长速度。在这一阶段,炎症细胞转移至残余血栓,在附壁血栓上形成一个“帽状结构”。细胞渐进性增殖,吸收残余血栓,并最终被新生组织替代。新内膜生长过程与肿瘤组织的生长过程极为相似。该相似性导致了目前抗肿瘤药物紫杉醇和雷帕霉素药物支架的发明。

药物释放支架包括三个基本的组成部分：金属支架、聚合物和生物活性剂。金属支架是药物释放支架的药物载体。聚合物则是用来储存药物。金属支架、聚合物、药物及血管壁的兼容性是药物释放支架是否成功的关键因素。

金属支架是向病变的动脉输送药物的装置,理想的药物输送装置应该有比较大的表面积,一定的支撑力和柔性。目前所有商业途径可获得的或正在研究中的药物洗脱支架都是用传统的支架作为载体。尽管今天使用的传统的冠状支架比十年前的支架有更强的柔韧度,弯曲性,更易到达分支血管,更小的金属覆盖等优点,但是它作为药物运输的工具还是有局限性的。

聚合物是由很多小的重复单元组成的长链分子。他们形成药物储存槽并且有利于延长药物的输送。通常,用于药物释放支架的聚合体可以分为有机的、无机的、可降解的、不可降解的、合成的、天然的物质。涂层基体包括聚合物和抗再狭窄物质,是药物输送支架的重要组成部分。药物保存于涂层内,药物释放速率通过聚合物调节。药物涂层物质在杀菌后必须保持其物理化学性质不

变，并且在支架扩张后能够伸展而不是脱落，分离。在支架置入后的4周内，药物缓慢释放以阻止平滑肌细胞的增生或移植。药物和支架表面的连接可以是共价键(e.g., C-C bonds, sulfur bridges)或是非共价键(e.g., ionic, hydrogen bonds)。

聚合物材料应为生物惰性物质，植入人体后不应引起组织的炎症反应。目前市场上还没有任何聚合物能满足类似要求。到目前为止，实验最成功的药物释放支架雷帕霉素和紫杉醇药物释放支架，均采用不可降解的生物材料为药物的聚合物：雷帕霉素药物支架是采用聚甲基丙烯酸丁酯和聚乙烯醋酸乙烯（polyethylene-co-vinyl acetate (PEVA)/poly n-butyl methacrylate (PBMA)共聚合物包载西罗莫司，而紫杉醇药物支架系采用(styrene-b-isobutylene-b-styrene)聚合物包载紫杉醇。

生物活性物质。寻找一有效抑制内膜增生的药物是药物洗脱支架成功的关键。理想的抗再狭窄的药物应对组织的再生具有高度的抑制作用，其非但对细胞没有毒害，而且应能允许支架植入后血管再次内皮化。

紫杉醇药物涂层支架

作用机理：紫杉醇，太平洋的红豆杉和短叶红豆杉的树皮中的提取物，是通常用于治疗乳腺癌和卵巢癌的抗肿瘤药物。紫杉醇的抗增生性能体现出浓度依赖性和与微管结合的可选择性，尤其对N末端的微管蛋白的beta组。这种结合通过减少聚合和阻止解聚时所需要的微管蛋白临界浓度来促进微管蛋白的聚合以形成稳定的微管。微管的结构通过捆绑和成倍增加数量来稳定。

紫杉醇在细胞内体现出明显的剂量依赖效果：低剂量通过诱导P53和P21肿瘤抑制基因使细胞分裂间期停留在G1阶段，从而引起细胞凋亡。高剂量被认为影响细胞周期的G2到M期：从G2期到M期的转变要求微管解聚，而紫杉醇可以稳定微管的结构，导致有丝分裂停止。另一方面，高剂量紫杉醇影响

M 到 G1 期过程，引起有丝分裂后停止甚至有可能是细胞凋亡。除此之外，某些蛋白酶和丝氨酸蛋白磷酸化都跟微观的结局有关，因而这些作用也会被紫杉醇所抑制。

紫杉醇涂层支架的功效：紫杉醇涂层支架是在金属支架上涂上紫杉醇 ($1\mu\text{g}/\text{mm}^2$) 和不可降解聚合物 (styrene-b-isobutylene-b-styrene)。短期内 (<2 年) 紫杉醇涂层支架(TAXUS I, TAXUS II and TAXUS IV) 和裸金属支架相比, 具有明显的抑制血管再狭窄的作用。但其长期效果有待观察。

雷帕霉素药物涂层支架

作用机理。雷帕霉素是一种新型大环内酯类免疫抑制剂, 在1999年作为器官移植后的抗排斥药物获得美国FDA的核准。其应用于心血管药物支架的基础是通过其抑制组织增生的机制从而控制支架植入后的血管再狭窄。雷帕霉素的生物作用机制是：首先进入组织细胞，与组织细胞内的免疫亲和蛋白FK-12结合，形成RAPA-FK 12复合物，这种复合物能阻止信号传导，从而选择性的阻止蛋白质合成。在与免疫亲和蛋白FK-12结合后，雷帕霉素通过抑制哺乳动物的RAPA靶蛋白(mTOR)的活性和细胞周期依赖性激酶 (cdk) 及细胞周期蛋白 (cyclin) 复合物激酶的活性，以及眼癌（有遗传性的）的蛋白质的磷酸化，从而阻止细胞周期从G1期到S期的转化。

雷帕霉素药物释放支架的功效和注意事项：雷帕霉素药物涂层支架的组成包含一个金属支架，雷帕霉素($1.40\ \mu\text{g}/\text{mm}^2$)和50%的聚甲基丙烯酸丁酯和50%的聚乙烯醋酸纤维素的混合物组成的聚合物。药物层表面覆盖一层遮盖层，以控制药物的释放数度。支架植入后，药物在大约30天内通过聚合体慢慢的释放到血液中去。雷帕霉素涂层支架(CYPHER™)是第一个被美国FDA批准上市的药物支架，目前在五十个国家得到广泛应用。与紫杉醇类似，其短期抑制再

狭窄的效果明显，但长期效果有待进一步观察。

在临床上,介入心血管医生在选择药物释放支架时往往很难决定,因为目前仅有的雷帕霉素和紫杉醇药物支架,虽然作用机制不同,但临床效果不分伯仲。在很多的的情况下,医生在同一病人血管内即植入雷帕霉素支架又植入紫杉醇支架.,此可被视为二者联合用药治疗再狭窄的前奏。最新的临床研究也表明,在同一病人的血管内植入不同药物的血管支架(雷帕霉素和紫杉醇)未见有任何副作用。

早期的血栓聚集是导致再狭窄发生的一大诱因,临床上控制早期血栓形成的主要方法是在支架植入后静脉或口服给于大量的抗凝血药物如肝素,阿斯匹林等。但系统给于抗血栓药物的最大问题是用药后引发的出血。

定义

“细胞增生状态”是指与动脉硬化,再狭窄,增生性玻璃体视网膜病变和银屑病相关的病态细胞生长。这个词并不意指和癌状态相关的细胞增生。

“病态细胞增生”是指平滑肌细胞或原纤维细胞之非正常分裂。“病态细胞增生之抑制”则是指抑制此类细胞之病态生长。

“组合物”是指用于抑制再狭窄的所有药物混合物,比如包括紫杉醇和雷帕霉素的组合物。

“给药”在此包括给药途径,它包括能让组合物发挥作用(有效抑制细胞增生)的所有途径. 包括通过系统给药(如: 静脉注射)和局部的或是特殊部位给药,如皮下、非胃肠道、腹膜内等)、口服、透皮,或通过药物运输导管或是植入载药装置。

“有效剂量”是指能对病态细胞增生发挥充分抑制作用的药物剂量。有效剂量视具体情况而改变, 比如细胞生长的类型, 给药方式和部位, 患者的体重,

细胞生长的程度等。

发明内容

本发明的目的是提供一种能有效抑制血管再狭窄或动脉硬化形成的组合物，其中再狭窄是发生在血管，胆管，食道，和气管等管腔类组织。用于抑制细胞增生的组合物主要包括微管稳定剂和免疫抑制剂，还包括抗凝血剂。其中微管稳定剂是紫杉醇或其衍生物，免疫抑制剂是雷帕霉素或其衍生物，抗凝血剂是肝素或其衍生物。组合物的使用方法是全身系统给药的，其通过药物输送导管，导丝或支架输送到局部。一方面，应用方法为局部使用。给药方法，包括一方面采用导管局部给药，另一方面，通过支架缓慢释放。其中所述支架喷涂有组合物的有效成分。支架，是喷涂有组合物的支架—即药物涂层支架，进一步讲，药物涂层的方式包括多层逐级喷涂；或是药物预混后再喷涂于支架表面上。支架的种类包括但不局限于：一方面为可降解药物支架--将本发明组合物加入到可降解聚合物支架上。另一方面，金属支架，即在金属支架表面覆盖着该组合物。

在另一方面，本发明包括抑制再狭窄有效剂量。

实验结果表明，局部给药物时，本发明中的药物配方组和比任何单一用药组更能有效的抑制支架植入后血管再狭窄的发生。另外一个发现是本发明的组合物比单一用药在同样剂量情况下对细胞的毒性更低。

本发明的组合物，用于血管，胆管，食道和支气管等人体管腔组织发生的组织增生或再狭窄。

本发明的生物机制及临床基础

血管再狭窄的发生机制与肿瘤生长的机制类似，都是以内膜增生为特征。联合用药在日常肿瘤的临床治疗中，是一种有效的、众所周知的方法。

在本发明的混合物中,雷帕霉素或紫杉醇都是脂溶性,具有相同的释放曲线,而二者又能独立的通过不同的途径有效的抑制内皮细胞的增生,因此,理论上,两种药物在药物涂层支架的联合应用时对防止再狭窄的发生应具有协同效应。同时由于二者的协同效应,其抑制再狭窄的所需的剂量也比单一用药时要低。雷帕霉素和紫杉醇主要作用于再狭窄发生的第二,三期。雷帕霉素和紫杉醇联合用药用于治疗血管再狭窄的作用机制:雷帕霉素是通过作用于细胞周期的 S 期而阻止内皮细胞的增生,而紫杉醇则是通过选择性的阻断细胞生长周期的 M 期而达到同样的抑制效果。本发明中,通过将二者联合,从不同的细胞生长周期多方位的阻断细胞的增生,从而提高治疗效果。

如前所述,早期的血小板的凝聚是诱发再狭窄的一主要因素。临床上控制早期血栓形成的主要方法是在支架植入后静脉或口服给于大量的抗凝血药物如肝素,阿斯匹林等。但系统给于抗血栓药物的最大问题是用药后引发的出血。在本混合物中的肝素,通过局部给药时可解决此一问题。如将混合物与聚合物一起覆膜在血管支架表面,因为肝素易溶于水,可以在支架植入后的数小时到数天内释放出来(再狭窄发生的第一期,从而可以极大地抑制早期血栓的形成。而雷帕霉素与紫杉醇均为脂溶性,在血管内释放较慢(28 天内释放完月 80%)(再狭窄发生的第二,三期)。因而,本发明中的混合物药物释放支架一旦植入人体后可从不同的角度,不同的时期,多方位的阻断再狭窄的发生。

本发明中的实验数据首次证实雷帕霉素+紫杉醇混合物,雷帕霉素+紫杉醇+肝素混合物比任何单一用药时对支架植入后的血管内皮增生均具有更显著的抑制效果,这在后面附图中有充分的数据证明。

使用方法

本发明的（使用）方法，本发明中的药物组合物主要用于有可能或正患有增生性疾病的患者，经一定的给药途径给与有效的剂量。

在发明的组合物中所用到的首选药物是紫杉醇和雷帕霉素和肝素或它们的衍生物。本发明组合物中的所有药物都是市面上可得到的。

在本发明中，上述描述组合物（雷帕霉素+紫杉醇 或雷帕霉素+紫杉醇+肝素）被用来抑制血管再狭窄的形成。“抑制”在此包括降低，延迟或消除病态的细胞增生。“降低”意味着减少血管形成术后的平滑肌细胞增生所导致的血管内膜增厚。“延迟”意思是在血管成形术后，推迟的血管内膜增生发作的时间。“消除”意指完全降低或完全延迟内膜增生以致于血管中有足够的血流量并且不需要外科手术的介入。

本发明之组合物可通过任何有效的途径给予。这些途径包括但又不限于系统给药，如间断地或是持续的静脉注射，皮下组织，肌肉的，腹膜等的肌肉注射。

其中一理想的给药方法是导管给药，导管通常有一个软竿，在竿的顶部有一个气囊。气囊上打有多个微孔，将气囊输送到病变区后，再加压而将药物注入到病变的组织内。也可将药物用于聚合物内，形成水凝胶，然后敷于气囊表面，再将球囊倒入到病变区内。

另一理想的给药方式是使用灌输导管或药物输送导丝。将灌输导管末端插入病变地点，将导管和注射泵相连接，导管的末端通常有通路，通过该通路将药物注入到病变的组织。药物输送导丝，导丝是空的，并且为了药物的灌输，在它的末端有一个口子。

给药方式的另一选择是将药物覆盖于医疗器械内比如血管支架，然后植入病变区内。用于血管球囊成形术的血管内支架已是比较成熟的技术。

用于给药的支架可以是金属支架。通常金属支架应具有良好的生物相容性。常用的支架材料包括镍钛合金和不锈钢。具体使用时,可将药物装载于支架表面的刻槽内或将药物溶于聚合物后再喷涂于支架表面。

金属支架的另一种情况是,将金属支架作为平台,在金属支架表面覆盖一层纤维聚合物或是其他生物材料,将药物溶于聚合物内。在此金属支架充当聚合物输送药物的平台,为血管提供一机械支撑,聚合物则控制药物的释放。

支架作为药物载体的另种情况是可降解支架,可降解支架即可以是生物可降解材料比如聚乳酸 或金属可降解材料比如镁合金支架。在聚乳酸支架中,可以直接将药物加入到支架内,药物随支架的降解而释放出来。在镁合金支架中,药物可以则需要喷涂于支架表面,然后再缓慢释放出来。

为了证实该发明,我们将发明的药物配方组合物喷涂于金属支架表面,然后移植入大鼠颈动脉和兔子的股动脉内。以后将对这些研究状况进行讨论。

研究中所用的金属支架是不锈钢金属支架。

将装载药物配方组合物的支架如实例3所示插入大鼠颈动脉血管内。同时作为对照,将没有药物装载(裸支架),只装有紫杉醇,和只装有雷帕霉素三组支架也一并植入大鼠颈动脉内。

在所有支架植入大鼠颈动脉一个月后,将大鼠处死,用福尔马林高压灌注颈动脉,仔细从组织中分离支架 后再在显微镜下测量再狭窄的程度。计算再狭窄的公式: $(\text{正常的内膜面积} - \text{残留的内膜面积}) / \text{正常的内膜面积} \times 100$ 计算得到的。

本发明之药物配方包裹的支架其狭窄率为 5.8%。金属裸支架的狭窄率为 16%。只载有紫杉醇狭窄率为 12%,只载有雷帕霉素的支架其狭窄率为 11.9%。附图5中是实验的总结。

结果表明：雷帕霉素和紫杉醇联合用药比任何单一用药，在抑制血管再狭窄的发生方面有着更显著的疗效。

在另一研究中，支架表面覆盖有本发明的药物组合物。其中第一层包裹着紫杉醇，第二层包裹着雷帕霉素，最外层涂有肝素。

试验时，将三个金属裸支架，三个聚合物覆膜支架，三个紫杉醇覆膜支架，三个雷帕霉素覆膜支架，三个肝素覆膜支架和三个混合药物包裹支架植入兔子的股动脉内。植入后一个月内，将兔子安乐死后，取出支架 按上述的方法行病理切片观察分析。

组合物 B 包裹的支架其狭窄率为 5.3 %。金属裸支架的狭窄率为 18%。聚合物组为 21%，只载有紫杉醇狭窄率为 12%，只载有雷帕霉素的支架其狭窄率为 11.9%。肝素包裹得支架为 21%。附图 6 中是实验的总结。

结果表明，药物混合物 B (雷帕霉素+紫杉醇+肝素)包裹支架比任何单一用药，在抑制血管再狭窄的发生方面有着更显著的疗效。试验中混合物中未见任何血管内血栓形成。

附图说明

图 1 阐明适用于各实施例的金属网状的金属架。

图 2 阐明多层药物涂层的过程和方法，其中 1 为紫杉醇，2 为雷帕霉素，3 为聚合物。

图 3 阐明预混和涂层药物的过程和方法。

图 4 支架植入后一个月，本发明之药物涂层支架和单一药物涂层支架所引起的血管再狭窄的百分比。

图 5 支架植入后一个月，本发明预混和药物之雷帕霉素、紫杉醇和其组合物涂层支架在兔子股动脉所引起的再狭窄的百分比。

图 6: 组合物与单一药物支架对抑制再狭窄的在体实验研究

图 7: 混合物中,不同比例的雷帕霉素与紫杉醇对血管再狭窄的抑制作用

实施例 1

紫衫醇,雷帕霉素和肝素及其混合物混合物在 **PBMA/PEVA** 聚合物中的预混合涂层试验。

为了确定混合剂型能否涂抹在金属支架上，我们将四十个支架浸润在四种不同的药物共聚物剂型中：单一聚合体，单一雷帕霉素，单一紫衫醇，单一肝素组，雷帕霉素+紫衫醇组合物，雷帕霉素+紫衫醇+肝素组合物，每组有十个支架。高分子涂膜是由 50% 聚甲基丙烯酸丁酯和和 50%聚乙烯醋酸乙烯。表格 1 是药物分组及每组药物的概括。

表一：雷帕霉素，紫衫醇和肝素及其组合物药物在聚乳酸聚合物中的制作概要						
组别	聚合物	雷帕霉素	紫衫醇	肝素	组合物 A	组合物 B
					雷帕霉素+紫衫醇	雷帕霉素+紫衫醇+肝素
配方	2.5 毫克PEVA	1.75毫克PEVA	1.75毫克PEVA	1.75毫克PEVA	1.75毫克PEVA	1.75毫克PEVA
	1.75毫克PBMA	1.75毫克PBMA	1.75毫克PBMA	1.75毫克PBMA	1.75毫克PBMA	1.75毫克PBMA
	1毫升四氢呋喃	5毫克雷帕霉素	5毫克紫衫醇	5毫克肝素	2.5毫克雷帕霉素	2.5毫克雷帕霉素
		1毫升四氢呋喃	1毫升四氢呋喃	1毫升四氢呋喃	2.5毫克紫衫醇	2.5毫克紫衫醇
					1毫升四氢呋喃	2.5毫克肝素
						1毫升四氢呋喃
支架数量 (个)	10	10	10	10	10	10
喷涂重量 (毫克)	10±1.9	21±2.7	24±3.6	21±3.1	21±3.1	23±3.0
药物增量 (毫克)	0	13±1.9	15±2.1	14±1.9	6.5±0.9/6.5±0.9	6.2±0.9/6.5±0.9/5.2±0.8

实施例 2

雷帕霉素,紫衫醇和肝素及其组合物 A 和 B 在 PLA 聚合物中的多层涂膜试验

将 PLA（聚乳酸）按 6.7mg/ml 的浓度溶于氯仿制得聚合物溶液。将溶液平均分为三部分，每一部分 2 ml。加 5mg 雷帕霉素到第一部分聚合物溶液中制得雷帕霉素-共聚体溶液(2.5mg/ml)。加 5mg 紫衫醇到第二部分聚合物溶液中制得紫衫醇-共聚物溶液(2.5mg/ml)。加 5 毫克肝素到第三部分中聚合物溶液中制得肝素-聚合物溶液。首先将裸金属支架浸入第一部分的雷帕霉素涂层溶液 30 秒

中制得第一层涂层，自然干燥后，再将其浸入第二部分溶液（紫杉醇涂层溶液）30 秒，室温下干燥后，最后再将支架浸入第三部分肝素涂层溶液 30 秒，完全晾干后,称量支架重量，然后根据药物溶液浓度计算药物/共聚物涂层的总重量。表格 2 是通过此方法每种包裹于支架的药物的总的数量的概要。

表二：雷帕霉素，紫杉醇和肝素及其组合物药物在聚乳酸聚合物中分层涂层制作概要						
组别	聚合物	雷帕霉素	紫杉醇	肝素	组合物 A	组合物 B
					雷帕霉素+紫杉醇	雷帕霉素+紫杉醇+肝素
支架数量 (个)	10	10	10	10	10	10
喷涂重量 (毫克)	10	14	15	15	7.1/7.1	4.9/5.1/5.1

实施例 3

雷帕霉素和紫杉醇药物释放测试。

为了确定雷帕霉素,紫杉醇的稳定性，我们在三个涂有混合物的支架上进一步实施了生物体外药物洗脱研究。实验中将每个支架放置在 2.5ml 生理盐水中，然后在 37℃ 水浴器中以每分钟 200 转的速度不停的摇晃。每天更换生理盐水溶液以保持支架始终处于释放状态。在实验开始后的 1, 2 ,4 周时，分别取出一个支架，将其置于 1 毫升的 100%酒精中，然后用高压液相色谱仪测量酒精中雷帕霉素和紫杉醇的含量。实验结果，雷帕霉素和紫杉醇在三个时间段均可被探测到，表明二种药物在整个支架药物释放过程中是稳定的。

实例施 4

混合物药物支架植入大鼠颈动脉试验

为了确定雷帕霉素/紫杉醇混合涂层(混合物 A)在抑制支架内再狭窄是否比单一雷帕霉素或紫杉醇涂层支架效果更好，我们进一步将实例 1 中描述的 12 个支架植入大鼠颈动脉。其中共聚物涂层支架（3 个支架），雷帕霉素（3 个支架），紫杉醇（3 个支架），雷帕霉素/紫杉醇混合物（3 个支架）。支架置入后 4 周，将所有实验的大鼠安乐致死。然后除去支架进行病理分析。

附图 5 描述了 4 组支架植入后血管内再狭窄率发生率的差别。和聚合物相比，雷帕霉素和紫杉醇涂层支架能够明显的减少支架内再狭窄率(分别是 11.9% 和 12.1% vs. 16.5% , $P<0.05$)。但是在紫杉醇单一涂层和雷帕霉素单一涂层组内，没有明显的区别(11.9% vs. 12.1%, $p>0.05$)，该结果与所有公开发表的有关雷帕霉素和紫杉醇单一涂层支架临床实验数据相同。最显著的发现是：雷帕霉素/紫杉醇混合涂层能够进一步降低血管内再狭窄率到 5.8%，和单一雷帕霉素和单一紫杉醇涂层支架相比，再狭窄率降低了接近 50%。

实例 5: 混合物药物 B 支架植入兔股动脉试验研究

将实例 2 中制得的聚乳酸-药物覆膜支架，其中裸支架(3 个)，共聚物涂层支架 (3 个支架)，雷帕霉素 (3 个支架)，紫杉醇 (3 个支架)，肝素(3 个)，雷帕霉素/紫杉醇/肝素混合物 (3 个支架)。植入兔子股动脉，4 周后，将所有实验的兔子安乐致死。然后取出支架进行病理分析。

附图 6 描述了 6 组支架植入后血管内再狭窄率发生率的差别。和聚合物相比，雷帕霉素和紫杉醇涂层支架能够明显的减少支架内再狭窄率。但是在紫杉醇单一涂层和雷帕霉素单一涂层组内，没有明显的区别。肝素药物涂层支架与裸支架或聚合物支架没有显著的差异,表明肝素药物支架本身没有显著的抗再狭窄的作用，但可以防止血栓的形成.雷帕霉素/紫杉醇/肝素混合涂层能够进一步降低血管内再狭窄率到 5.5%，和单一雷帕霉素和单一紫杉醇涂层支架相比，再狭窄率降低了接近 50%。

实施例 6: 混合物药物 B 中,不同比例的雷帕霉素与紫杉醇对血管再狭窄的影响。

为了确定不同药物在混合物中的最佳比例，我们进一步按上述方法制得不同比例成分的混合物，其中包括雷帕霉素：紫杉醇=50：50, 60：40 和 70:30 三

组。在所有制得混合物中,肝素浓度不变。将制得的不同比例的混合物喷涂于支架表面,干燥后,如上所述植入大鼠颈动脉内,28 天取出支架,进行病理切片分析。结果显示:三种不同比例的组合物对血管再狭窄均有抑制作用,但以在 50:50 的比例成分组效果最好。见图 7。

实施例 7: 混合物 B 中,不同比例的肝素对血管内血栓形成的影响。

为了确定混合物中不同肝素浓度对血栓形成的影响,我们进一步按上述方法制得不同肝素比例的混合物,其中雷帕霉素:紫杉醇=50:50 固定不变,肝素在总组合物中的比例分为 10%, 20%, 和 30% 三组。将制得的不同比例的混合物喷涂于支架表面,干燥后,如上所述植入大鼠颈动脉内,28 天取出支架,进行病理切片分析。结果显示:肝素浓度在组合物中占 30%时,血管内几乎没有血栓的形成。

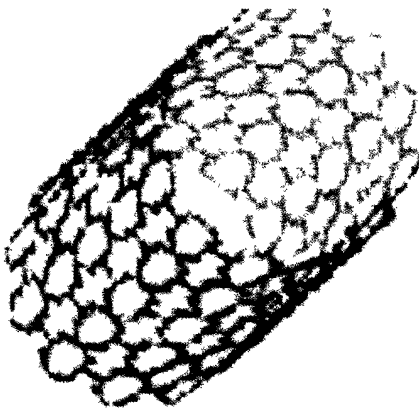


图 1

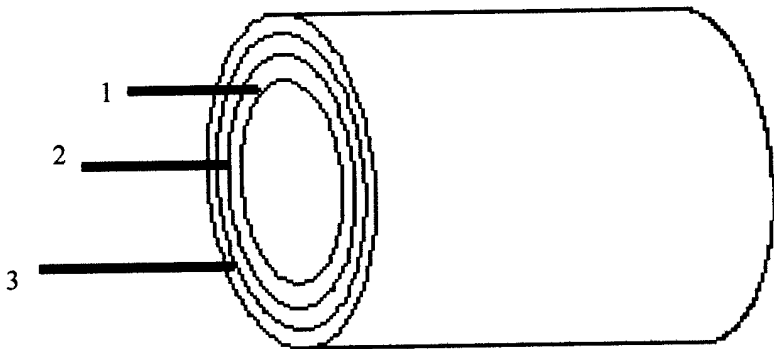


图 2

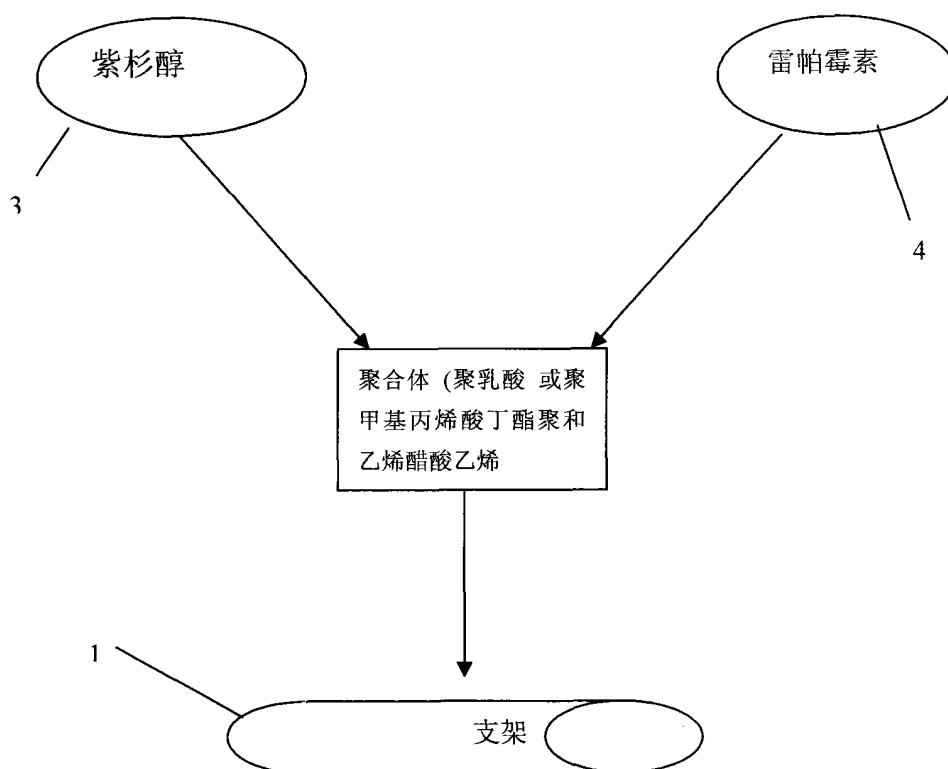


图3

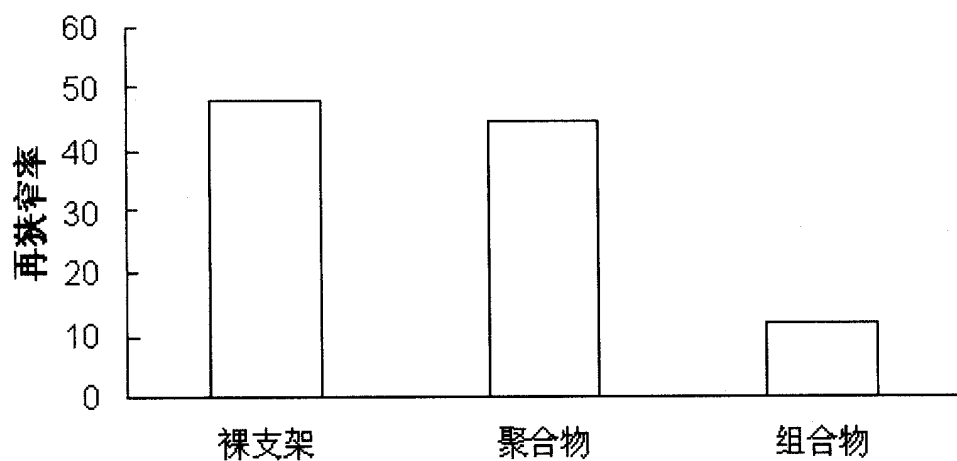


图 4

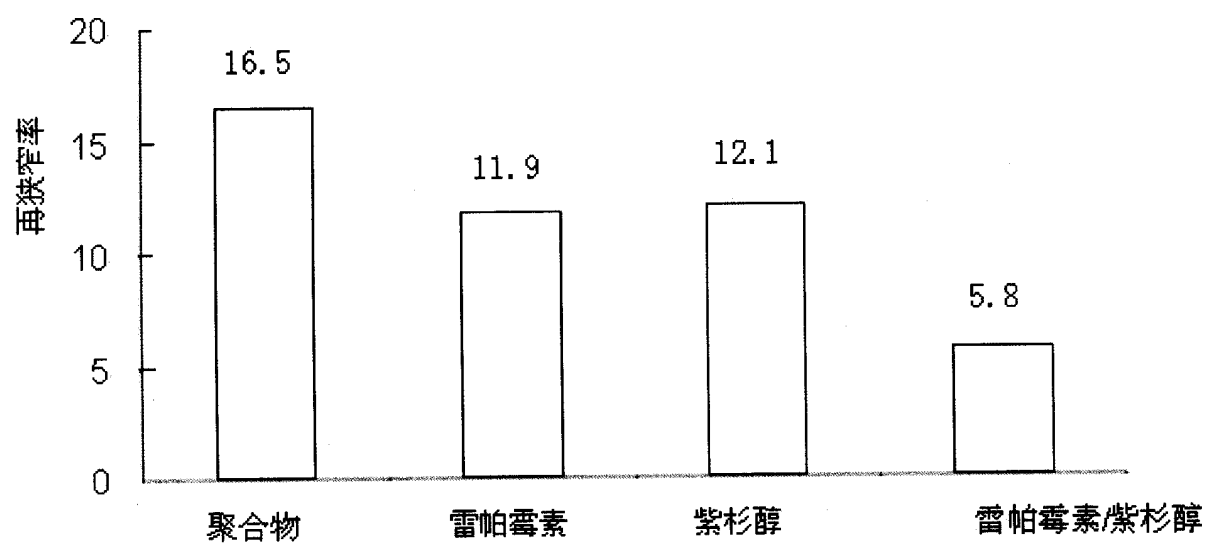


图 5

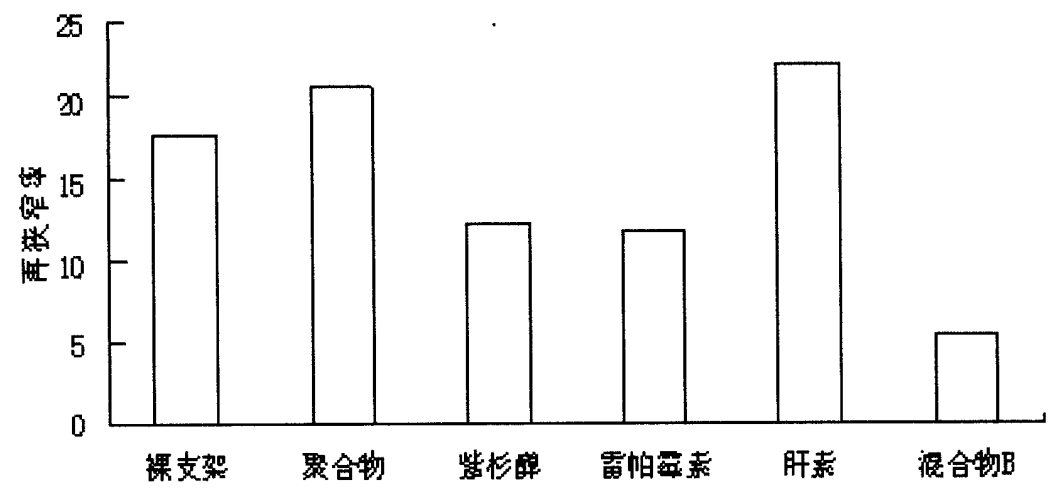


图 6

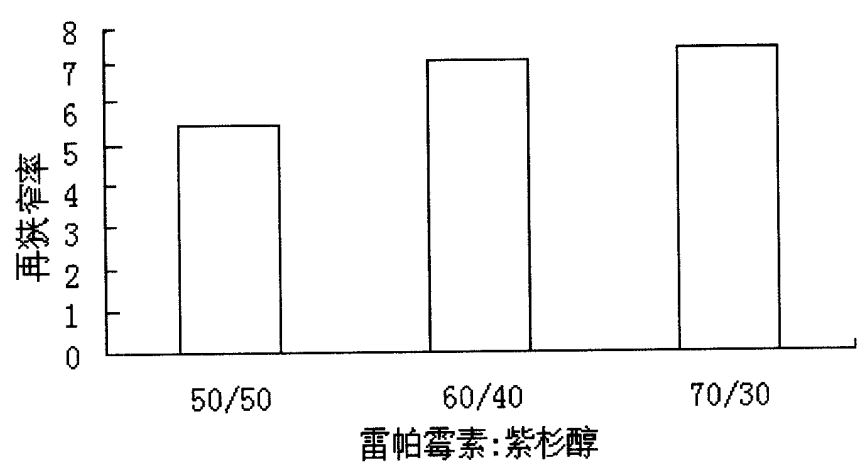


图 7