



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102883715 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 12

(21) 申请号 200980117827. 8

(22) 申请日 2009. 04. 23

(30) 优先权数据
61/047, 590 2008. 04. 24 US
61/105, 380 2008. 10. 14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2010. 11. 12

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2009/041592 2009. 04. 23

(87) PCT国际申请的公布数据
W02009/132228 EN 2009. 10. 29

(73) 专利权人 麦德托尼克公司
地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 E·J·缇吉斯玛 M·N·冈萨雷斯
M·F·米恩笛 B·J·瓦卡洛

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100
代理人 陈文青

(51) Int. Cl.
A61K 9/70(2006. 01)
A61K 31/717(2006. 01)
A61K 31/718(2006. 01)

A61K 31/722(2006. 01)
A61K 47/36(2006. 01)
A61P 27/00(2006. 01)
A61P 27/16(2006. 01)
A61P 27/02(2006. 01)
A61L 26/00(2006. 01)

(56) 对比文件
US 2005/0002893 A1, 2005. 01. 06,
K. Szxzubialka 等. Novel drug
carrier-chitosan gel microspheres with
covalently attached nicotinic acid. 《Journal
of controlled release》. 2006, 第116卷(第02
期), 第e13-15页.

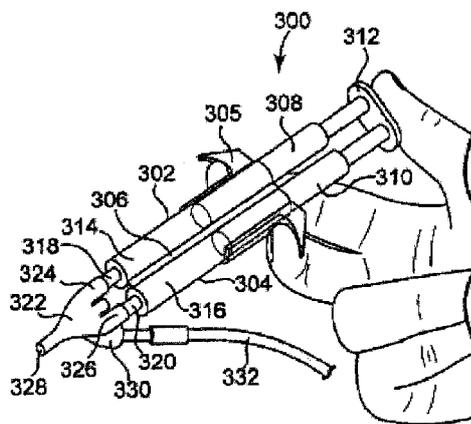
审查员 赵良

权利要求书1页 说明书14页 附图2页

(54) 发明名称
包含壳聚糖的保护性组合物

(57) 摘要

可以使用包含部分交联的多糖和添加的交联剂的混合物的流体保护身体组织和构造。混合物理想地是可喷射的,通过原位进行交联形成流体保护层,理想地不从治疗部位滴下或者流走,并且可以避免在治疗部位使用更快速固化但是潜在地具有较少的生物可接受的交联剂。



1. 一种二组分组合物,第一组分包括部分交联的多糖,第二组分包括用于所述部分交联的多糖的添加的交联剂,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,或者所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐,所述部分交联的多糖和添加的交联剂以 20:1 至 1:20 的摩尔比例结合,并且所述组合物在水合和混合时能够作为流体通过喷射涂布器递送以在体温基本垂直的皮肤表面上提供薄的保形保护层。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐。

3. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐。

4. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,且所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,且所述添加的交联剂包括氧化的多糖。

6. 根据权利要求 5 所述的组合物,其中所述氧化的多糖包括氧化的纤维素。

7. 根据权利要求 5 所述的组合物,其中所述氧化的多糖包括氧化的淀粉。

8. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中所述部分交联的多糖和添加的交联剂以 3:1 至 1:5 的摩尔比例结合。

9. 根据权利要求 1 所述的组合物,还包括磷酸盐离子。

10. 根据权利要求 1 所述的组合物,其包装在注射器中。

11. 根据权利要求 10 所述的组合物,其中所述部分交联的多糖是干的微粒形式。

12. 根据权利要求 1 所述的组合物,其中,所述组合物在水合和混合时能够被喷射施加以在体温基本垂直的皮肤表面上形成薄的保形的最初流体保护层,并且当如此施加时不从所述表面滴下或者流走。

13. 体温表面上的保护层,所述层包括部分交联的多糖和用于所述部分交联的多糖的添加的交联剂的最初流体混合物,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,或者所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐,所述部分交联的多糖和添加的交联剂以 20:1 至 1:20 的摩尔比例结合,并且所述部分交联的多糖在与所述添加的交联剂混合之前被部分交联。

14. 根据权利要求 13 所述的保护层,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐。

15. 根据权利要求 13 所述的保护层,其中所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐。

16. 根据权利要求 13 所述的保护层,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,且所述添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖盐。

17. 根据权利要求 13 所述的保护层,其中所述部分交联的多糖包括部分交联的壳聚糖或部分交联的壳聚糖盐,且所述添加的交联剂包括氧化的多糖。

18. 根据权利要求 17 所述的保护层,其中所述氧化的多糖包括氧化的纤维素。

19. 根据权利要求 17 所述的保护层,其中所述氧化的多糖包括氧化的淀粉。

20. 根据权利要求 13 所述的保护层,其中所述层不从所述表面滴下或流走。

包含壳聚糖的保护性组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及壳聚糖以及在耳、鼻、咽喉、肢体和脊柱中的组织和构造之内或之上使用的材料。

[0002] 发明背景

[0003] 不同的含壳聚糖材料和壳聚糖衍生物已被用于手术修复或者药物递送。关于这些材料或衍生物的文献包括：美国专利号 6, 514, 522 (Domb), 6, 602, 952B1 (Bentley 等人) 和 7, 053, 068B2 (Prinz)、美国专利申请公开号 US2005/0238702A1 (Ishihara 等人)、加拿大专利申请号 2 348 842A1 (Bernkop-Schnürch)、公开 PCT 申请号 W098/31712A2 (B.F. Goodrich Co.)、Aspden 等人, Chitosan as a Nasal Delivery System: The Effect of Chitosan on In Vitro and In Vivo Mucociliary Transport Rates in Human Turbinates and Volunteers, *J Pharm Sci*, 86, 4, 509-513 (1997)、Costain 等人, Prevention of postsurgical adhesions with N,0-carboxymethyl chitosan: Examination of the most efficacious preparation and the effect of N,0-carboxymethyl chitosan on postsurgical healing, *Surgery*, 121, 3, 314-319 (1997)、Mi 等人, Synthesis and Characterization of a Novel Chitosan-Based Network Prepared Using Naturally-Occurring Crosslinker, *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 38, 2804-2814 (2000)、Mi 等人, Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin co-crosslinked chitosan gel beads, *Polymer*, 44, 6521-30 (2003)、Roldo 等人, Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 115 - 121 (2004)、Krauland 等人, Viscoelastic Properties of a New in situ Gelling Thiolated Chitosan Conjugate, *Drug Development And Industrial Pharmacy*, 31, 885-893 (2005)、Bernkop-Schnürch, Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1569-1582 (2005)、Bernkop-Schnürch 等人, Thiomers: Preparation and in vitro evaluation of a mucoadhesive nanoparticulate drug delivery system, *International journal of Pharmaceutics*, 317, 76-81 (2006)、Hong 等人, Covalently crosslinked chitosan hydrogel: Properties of in vitro degradation and chondrocyte encapsulation, *Acta Biomaterialia*, 3, 1, 23-31 (2007) 和 Weng 等人 Rheological Characterization of in Situ Crosslinkable Hydrogels Formulated from Oxidized Dextran and N-Carboxyethyl Chitosan, *Biomacromolecules*, 8, 1109-1115 (2007)。

发明内容

[0004] 壳聚糖及其衍生物可溶解在水溶液中。为喷射施加这种溶液（例如，通过喷嘴或者喷针），低粘度是必需的。一旦喷射施加的溶液到达意图的治疗部位 (treatment site)，

水合和稀释可以发生,因此进一步降低了粘度。喷射施加的溶液从而可以从期望的治疗部位排出,迅速被期望的治疗部位再吸收或者另外过早从期望的治疗部位消失。壳聚糖可以在递送之前被交联,以减少其过早消失的可能性,但是,对于喷射施加,交联的聚合物可能太粘。壳聚糖也可在递送之后通过将其与交联剂结合而原位交联,但是对实际应用来说,交联反应可能进行得太慢,除非使用潜在有害的交联试剂。

[0005] 一方面,本发明提供二组分组合物 (two-part composition),第一组分包括部分交联的多糖,而第二组分包括用于多糖的添加的交联剂 (further crosslinker),其中多糖或者添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖衍生物,并且组合物在水合和混合时能够作为流体通过喷射涂布器 (spray applicator) 递送,在体温基本垂直的皮肤表面 (body temperature substantially vertical skin surface) 上提供薄的、保形 (conformal) 的保护层。所公开的组合物期望地用干燥 (例如,冻干的) 形式的包含壳聚糖的组分在多组分喷射分配器中进行包装,在使用时或接近使用的时间点进行水合,并且迅速与另外的含交联剂的组分混合,并喷射施加在身体组织或者身体构造上的期望目标区域。当混合物行进通过喷射涂布器时,混合的组分为流体 (即,未凝胶化的),并且最后可以形成凝胶 (例如,到其落在目标区域时或者其后几分钟) 或者可以在目标区域上时保持流体。

[0006] 另一方面,本发明提供在体温表面 (body temperature surface) 上的保护层,该层包括部分交联的多糖和用于多糖的添加的交联剂的最初流体混合物 (initially fluid mixture),其中多糖或者添加交联剂包括壳聚糖或壳聚糖衍生物,并且所述部分交联的多糖在与所述添加的交联剂混合之前被部分交联。该层可以是最初的流体层,或者可以是在层与体温表面彼此接触时形成凝胶的初始流体混合物。

[0007] 另一方面,本发明提供治疗身体组织或者结构的方法,该方法包括:

[0008] a) 混合二组分组合物,第一组分包括部分交联的多糖溶液,而第二组分包括用于多糖的添加的交联剂,其中多糖或者添加的交联剂包括壳聚糖或壳聚糖衍生物;

[0009] b) 将混合的组分作为流体定向施加到身体组织或者结构上,以在其上形成保护层。

[0010] 公开的组合物、保护层和方法对于治疗耳、鼻或者咽喉肿的粘膜组织以及肢体或脊柱中的孔 (opening)、隐窝 (recess)、管道 (passageway) 或者关节尤其有用。在优选的实施方式中,施加的组合物不会从已经被喷射施加的目标区域滴下或者流走。通过使用部分交联的多糖和使其与添加的交联剂混合形成低粘度的或者半粘性 (semi-viscous) 的流体而不是更大粘性的、不可喷射的凝胶,可喷射组合物可以通过喷射设备以流体形式被分配,施加于目标区域以形成流体或者仅仅最近凝胶化的保护层,并且充分地或者完全保持在目标区域上的适当位置。这种方法能够避免在目标区域使用更多快速固化但是有潜在的较少的生物可接受的交联剂。如果需要,较少的生物可接受的交联剂也可以被使用,但是与起始多糖溶液没有被部分交联可能需要的浓度相比,使用浓度显著降低。

[0011] 附图简述

[0012] 图 1 是显示所公开的方法的示意图;

[0013] 图 2 是可以用于公开的方法中的器械的透视图;和

[0014] 图 3 是可以用于公开的方法中的分配器 (dispenser) 的透视图。

[0015] 在附图的各张图中类似的附图标记表示类似的元件。附图中的元件没有按比例绘

制。

[0016] 发明详述

[0017] 下面的详述描述了某些实施方式,并且不能认为具有限制性的意义。本文中的所有重量、量和比率为按重量计,除非另外具体地注明。下面显示的术语具有下列的含义:

[0018] 术语“粘附性”是指将身体结构或假体材料与组织粘在一起,指将组织与组织粘在一起使其紧密地接触持续延长的时间,或指形成将身体构造、假体材料或组织跨越正常开放的空间彼此连接的组织。

[0019] 术语“抗菌”是指在金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*) 或者卡他莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*) 一种或多种的群体中导致大于 90% 的数值减少 (即,至少 1 个对数数量级的减少) 的能力。

[0020] 术语“附着”和“粘附”当用来提及细菌生物膜和表面时是指该生物膜建立在和至少部分地涂敷在或覆盖在该表面上,并且对从该表面上去除具有一些抵抗力。因为此关系的性质是复杂的和理解甚少,因此这种使用并不意在有特殊的附着或粘附机制。

[0021] 术语“细菌生物膜”是指附着在表面上的细菌的群落,在该群体中的生物体包含在由该细菌产生的细胞外多糖 (EPS) 基质中。

[0022] 术语“生物相容的”当用来提及物质时是指该物质表现出对身体的不显著的有害或不良作用。

[0023] 术语“生物可降解的”当用来提及物质时是指该物质在体内将降解或蚀解以形成更小的化学或物理种类。此类降解过程可以是酶促的、化学的或物理的。

[0024] 术语“生物可吸收的”当用来提及物质时是指该物质能够被身体吸收。

[0025] 术语“体温”当用来提及哺乳动物时,表示正常的直肠温度 (例如,对人类大约是 37°C ;对猫、牛、狗或者马大约是 38°C ;和对绵羊大约是 39°C)。

[0026] 术语“粘性的”当用来提及液体或凝胶时是指当置于水平面上时该液体或凝胶将趋于 (但不一定在所有情况下) 粘住其自身并且形成单一团块。

[0027] 术语“粉碎的”当用来提及颗粒物质时是指颗粒已经通过切割、磨碎、粉碎、捣碎或采用外部施加力量的其他颗粒破碎工艺被破碎并且尺寸减小。

[0028] 术语“保形的”当用来提及施用于组织或其他身体构造的组合物时是指该组合物可以在已经施用该组合物的区域上形成基本上连续的层。

[0029] 术语“分离”、“去除”和“破坏”当用于提及附着或粘附在表面上的细菌生物膜时是指至少显著量的最初存在于该表面上的生物膜不再附着或粘附于该表面。这种使用不意在有特殊的分离、去除或破坏机制。

[0030] 术语“流体”当用来提及物质时是指该物质是其损耗模量 (G'') 大于其储能模量 (G') 且损耗角正切值 ($\tan \delta$) 大于 1 的液体。

[0031] 术语“添加的交联剂”是指在所公开的二组分组合物的第二组分中使用的交联剂,以及该交联剂能够交联所公开的部分交联的多糖。

[0032] 术语“凝胶”当用于提及物质时是指该物质是可变形的 (即,不是固体), G'' 小于 G' 且 $\tan \delta$ 小于 1。

[0033] 术语“凝胶化”当用来提及凝胶层的形成时是指 G'' 等于 G' 且 $\tan \delta$ 等于 1 的时

刻。

[0034] 术语“止血器”是指停止血流或促进凝结的装置或材料。

[0035] 术语“水凝胶”当用来提及凝胶时是指该凝胶是亲水的且含有水。

[0036] 术语“水合的”当用来提及装置或物质时是指该装置或物质含有均匀分布的化学键合的水。“完全水合的”装置或物质不能吸收额外的水化作用的水。“部分水合的”装置或物质能够吸收额外的水化作用的水。

[0037] 术语“内耳”是指半规管和耳蜗。

[0038] 术语“中耳”是指由鼓膜、内部结构诸如听骨链、周围衬里和边缘结构诸如乳突限定的区域。

[0039] 术语“粘膜附着剂”当用来提及装置或物质时是指该装置或物质将粘附于粘液被覆上皮。

[0040] 术语“鼻腔或窦腔”是指在鼻和窦内限定正常充气通道和小室的各种组织,包括但不限于鼻孔、鼻甲 (nasal concha) 或鼻甲骨 (turbinate)、额窦、筛窦、蝶窦和上颌窦、窦口 (sinus ostia) 和鼻咽 (nasopharynx)。

[0041] 术语“部分交联剂”是指能够交联多糖形成部分交联的多糖的交联剂。

[0042] 术语“部分交联的”在用于提及多糖时是指两个或更多个多糖分子结合形成低聚部分或者聚合部分,所述低聚部分或聚合部分当被水合时为流体,并且能够在原位进一步交联。

[0043] 术语“多糖”包括多糖的衍生物和改性多糖,以及各多糖种类和改性的各多糖种类的衍生物。例如,术语“羧甲基纤维素”包括羧甲基纤维素衍生物和改性的羧甲基纤维素,术语“壳聚糖”包括壳聚糖衍生物和改性的壳聚糖,术语“淀粉”包括淀粉衍生物和改性淀粉。

[0044] 术语“保护性的”当用来提及在组织或其他身体结构上的组合物层时是指该层有助于使损伤的、发炎的或手术修复的组织表面恢复至正常状态,例如,通过一种或多种愈合机制诸如炎性应答的调节、吞噬作用、粘膜重塑、纤毛再生或其他正常功能的完全或部分恢复。

[0045] 术语“停留时间”当用来提及在组织或其他身体结构上的保护性凝胶层时是指在肉眼观察下凝胶层或其一部分在体内仍然就位所持续的时间期限。

[0046] 术语“溶剂化”是指形成含有溶剂或其他载体的溶液或分散体,溶质溶解或悬浮在所述溶剂或载体内。

[0047] 术语“基本上不含胶原的”是指含有足够低量的胶原使得不会造成传播或感染牛海绵状脑病 (BSE) 或变异性克雅氏病 (variant Creutzfeldt-Jakob disease) (vCJD) 的潜在风险。

[0048] 术语“基本垂直的”在用于提及皮肤表面时是指其定向相对于水平面为 $90 \pm 10^\circ$ 的表面。该措词并非意欲暗示所公开的组合物仅施加于基本垂直的表面或者只施加于皮肤表面。但是申请人已确定基本垂直的皮肤表面可以被用于评价喷射施加期间和喷射施加后即时的所述公开组合物的某些流变学特性,而不需要复杂的仪器或者其它测量设备或者技术。

[0049] 术语“薄的”当用来提及在组织或其他身体结构上的保护层时是指具有小于约 2 毫米的平均厚度。

[0050] 参照图 1, 所公开的治疗方法可以在例如患者的鼻腔或窦腔 100 中进行, 窦腔包括上颌窦 110a、110b 和额窦 112a、112b, 它们都可以通过鼻孔 114a、114b 进入。应当注意, 患者的外部特征, 包括鼻孔 114a、114b 以虚线显示。当患者患有例如慢性鼻窦炎时, 与上颌窦 110a 的表面相关的一个或多个治疗部位诸如治疗部位 116 可以经医疗或如果需要经手术治疗。治疗部位 116 包括上颌窦 110a 的纤毛上皮并且可以包括生物膜 (在图 1 中未显示)。治疗部位不必是自然组织并且可以改为人工结构 (在图 1 中未显示) 诸如窦填充材料或支架, 其也可以至少部分地用细菌生物膜层覆盖。如果存在, 生物膜可以使用溶剂化系统 (例如美国专利申请公开号 US2007/0264310A1 中所述的溶剂化系统) 去除, 该系统可以使用带有含有灌洗管 (隐藏在图 1 中) 的活节式 (articulatable) 输送管 122 的导引器 120 来施用至治疗部位 116, 通过所述输送管 122, 溶剂化系统可以流动至导引器 120 的远端处的喷嘴 124 并且因此流动至治疗部位。溶剂化系统和生物膜的残留物可以从治疗部位经吸引管 (隐藏在图 1 中) 被去除。所公开的包含部分交联的多糖和添加的交联剂的组合物可以同样地使用导引器 120 中的相同或不同的灌洗管在治疗部位处施用。本领域技术人员要理解, 所公开组合物 (和如果使用, 溶剂化系统) 可以使用其他方法或装置施加至治疗部位。示例性的其他方法包括动力喷雾或其他喷涂法、灌洗、喷雾 (misting)、涂抹 (mopping)、芯吸 (wicking)、滴落 (dripping) 和环钻术, 并且示例性的其他装置包括喷雾嘴 (例如, 单个元件或多个元件的喷雾嘴) 和注射器 (例如, 单筒或多筒玻璃或塑料注射器和冲洗球)。治疗方法还可以在其他身体部分中进行。治疗方法特别地用于非血管应用, 包括治疗耳、咽喉、肢体或者脊柱内中或其附近的组织 (例如粘膜组织) 或结构。

[0051] 图 2 显示示例性的器械 200, 其可以用于所公开的治疗方法中。器械 200 包括手柄 202 和导引器 222, 其远端 224 (总体参考) 包括喷嘴、灌洗和吸引管 (在图 2 中未单独编号)。器械 200 可以任选地进一步包括第一致动器组件 226 (总体参考) 和第二致动器组件 228 (总体参考)。第一致动器组件 226 中的控制轮 230 可以由用户操作以实现导引器 222 的弯曲, 并且第二致动器组件 228 中的控制轮 232 可以由用户操作以实现从导引器 222 的远端 224 喷出的液体相对于导引器 222 的移动或旋转。手柄 202 通常用作器械 200 的各种其他元件的外壳并且作为导引器 222 的支撑。手柄 202 可以具有手枪柄样的形状, 限定把手部 234 和机头 236。把手部 234 的大小和形状制成为适于用户的手抓握, 而机头 236 则适于与导引器 222 连接。扳机 238 和相关的传感器和阀门 (图 2 中未显示) 可以用来控制所公开的可再水化凝胶 (和如果使用, 公开的溶剂化系统) 通过灌洗管 240 和然后通过远端 224 的喷嘴并到所需的治疗部位上的流动。扳机 238 可以设置以多向运动范围并且与一个或多个附加的传感器和阀门 (图 2 中未显示) 相关联以控制溶剂化系统、生物膜残留物和其他碎片从治疗部位通过远端 224 的吸引管去除并且从此进入至吸引管 242 中。扳机 238 还可以用来控制所公开的可再水化凝胶通过灌洗管 240 中的独立腔的流动并且从此通过远端 224 的喷嘴流动至所需治疗部位上。

[0052] 图 3 示出了示例性分配器 300, 其可以用于所公开的方法中。分配器 300 包括被夹具 305 围绕的注射器体对 302 和 304, 其在中心脊 (central spine) 306 处连接并且分别地包含活塞式 (piston type) 的柱塞 308 和 310。柱塞 308 和 310 通过共同的推动法兰 312 连接, 推动法兰 312 使得柱塞 308 和 310 能够同时开动。注射器体 302 和 304 分别包含部分交联的多糖 314 和添加的交联剂 316。多糖 314 通常地以干燥形式, 例如冻干的形

式提供用以装载和存储,并且在使用时水合。添加交联剂 316 可以(取决于选择的添加交联剂及其存储能力)以干燥或者水合的形式提供用于装载和存储,并且如果以干燥的形式提供,则在使用时进行水合。当多糖 314 或者添加交联剂 316 将被水合时,例如这可以通过如下步骤完成:撤回柱塞 308 和 310,同时吸引水或者其他适当的水性溶剂(例如,磷酸盐缓冲液,或者“PBS”)进入注射器端口 318 和 320 的一个或者两个,然后允许或者使注射器体 302 和 304 的内容物适当地水合。水或者其他适当的水性溶剂可以在相同的成套注射器(companion syringe)(图 3 中未示出)中被方便地提供,使用适当的管或者其他配件,成套注射器的注射器端口分别连接,与端口 318 和 320 流体连通。分配器 300 和成套注射器的内容物然后通过交替地按压和缩回各自的推动法兰被来回地传送直至完成水合。

[0053] 分配器 300 也包括气体辅助端 322,该气体辅助端的流体入口 324 和 326 可以分别地与注射器端口 318 和 320 相连并且其流体出口 328 可以用于导引所公开的组合物喷射至期望的治疗部位上或者可以与适当的扩大喷射头配合。气体入口 330 可以经过管 332 供应适当的气体(例如,氮气)已在推动法兰 312 被压下时,帮助形成适当的流体喷射模式。如同在图 3 中所示的多种分配器是商业可得的,包括来自 Micromedics, Inc. 的 FIBRIJET™ SA-3652 和 SA-6105 Gas Assisted Applicator Kits,以及来自 Baxter International Inc 的 DUPLOJECT™ 涂布器和 TISSOMAT™ Pressure Control Device。

[0054] 施加的组合物可以填充治疗部位(例如,鼻腔或者窦腔、或者肢体或脊柱部分中的孔、隐窝、管道或者关节),在此情况下,所公开的保护层可以是非常厚的,在整个层上具有不同的厚度,并且不暴露于空气或其他附近的气体。所公开的组合物也可以作为薄膜或其他保形涂层施用,在此情况下所公开的保护层可以是相对薄的,并且暴露于空气或其他附近的气体,并且在整个层上具有基本上均一的厚度。在喷射施加时保护层是流体而不是凝胶,并且理想地不从治疗部位滴下或者流出。保护层可以稍后形成凝胶,但是并不需要如此。该保护层理想地粘附于治疗部位处的粘膜或其他天然组织(例如,软骨或骨)并且抵抗分离或其他破坏直至凝胶层发生天然的降解或吸收,例如,在 1 天至几天(例如,2、3、或 4 天)、几周或几个月的体内停留时间后。同时细菌再建群(recolonization)或再感染可以显著地减少或避免,并且可以发生改善的愈合和纤毛再生(reciliation)。保护层可以提供多种治疗优势,包括但不限于抵抗细菌粘附、抗感染特性、局部免疫调节、组织保护、减少或消除疼痛或出血、减少炎症、优化纤毛再生环境、减少与重要解剖结构的粘附等等。这些优势可以由多种机制引起,包括 a) 杀死细菌, b) 抑制细菌建群, c) 抑制细菌与组织的粘附, d) 减少组织发病或脓肿形成, e) 减少或防止疾病复发(例如,特别是减少与细菌毒素和 EPS 相关的慢性炎症), f) 在愈合期间涂敷和保护组织,诸如通过保持湿润的伤口,从而促进血小板聚集,或通过闭合干性伤口而不会形成过度粗糙的结构, g) 止血, h) 优化粘膜纤毛再生的环境, i) 加速纤毛的生长或再生和 j) 将一种或多种治疗剂递送至治疗部位。理想地,保护层将粘附于一部分粘膜,而使未粘附部分中的纤毛游离以经历自然的有节律的纤毛运动(即,纤毛摆动),如果需要也将抗菌剂或其他的治疗剂递送至治疗部位,并且理想地将阻碍或阻止细菌粘附于治疗部位。

[0055] 在公开的组合物、保护层和方法中可以使用多种多糖或者其衍生物。示例性多糖包括藻酸盐、角叉藻聚糖、纤维素(例如,羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素)、壳多糖、壳聚糖、硫酸软骨素、葡聚糖、半乳糖甘露聚糖、糖原、透明质酸、淀

粉及其它生物相容的多糖及其混合物。壳聚糖（包括盐和其它壳聚糖衍生物）是特别优选的多糖。示范性壳聚糖及其盐（包括柠檬酸盐、硝酸盐、乳酸盐、磷酸盐、氯化物和谷氨酸盐）可以从多种商业资源获得，所述商业资源包括 KitoZyme S. A.、Fluka Chemie AG、the NovaMatrix unit of FMC BioPolymer AS、Heppe Medical and Sigma-Aldrich Co。壳聚糖也可通过水解作用经过壳多糖（聚-N-乙酰基-D-葡萄糖胺）的脱乙酰作用而消除N-乙酰基基团来合成。所得的低聚物或聚合物具有多个重复单元（例如，大约2至大约10000个重复单元，大约60至大约600个重复单元，或者此类其他量如所选择的最终用途所需要的）。重复单元的一些或者全部包含脱去乙酰基的氨基（例如，全部重复单元的大约30%至大约100%或者大约60%至大约100%），剩余的重复单元（如果存在）包含乙酰化的氨基。壳聚糖是由葡萄糖胺单体组成的阳离子聚合物，并且可以具有多种数均分子量，例如，大约400至大约2000kDa、大约10至大约500kDa或者大约10至大约100kDa。例如，壳聚糖可以是具有低于大约50kDa数均分子量的超低分子量材料、数均分子量是大约50至大约200kDa的低分子量材料、数均分子量是大约200至大约500kDa的中分子量材料或者具有大于大约500kDa的数均分子量的高分子量材料。壳聚糖衍生物也可被使用，例如这样的衍生物，其中一个或者多个羟基或者氨基已经被改性用于改变衍生物的溶解度或者粘膜粘连特性。示范性衍生物包括硫醇化壳聚糖衍生物和非硫醇化壳聚糖衍生物，例如羧甲基、乙酰化、烷基化或磺化壳聚糖（例如，O-烷基醚，O-酰基酯，阳离子化三甲基壳聚糖和用聚乙二醇改性的壳聚糖）。壳聚糖衍生物可从多种来源获得。例如，硫醇化壳聚糖可从 ThioMatrix Forschungs Beratungs 公司和 Mucobiomer Biotechnologische Forschungs-und Entwicklungs 公司获得，或通过壳聚糖与合适的硫醇化试剂反应制备，如在上述公开 PCT 申请号 W003/020771A1 或者在上述的 Roldo 等人，Krauland 等人，Bernkop-Schnürch and Bernkop-Schnürch 等人的论文中所述。另外优选的多聚糖包括纤维素例如上面所列举的那些，壳多糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原、透明质酸和淀粉。

[0056] 多糖在被包装和发送或者另外提供至最终用户之前进行部分交联。可以以多种方式进行部分交联。例如，可以使用脱水热交联工艺 (dehydrothermal crosslinking process) 完成部分交联，在该方法中大量的自由流动的可水合多糖微粒单独地部分交联以形成大量的自由流动的可水合部分交联多糖微粒。脱水热交联实际上是固体状态交联工艺，其中材料暴露于热和减压的一种或者两种从而导致初步脱水，随后通过分子间或者分子内缩合过程损失额外的水和形成交联键。没有必要加入外来的交联剂，并且在所公开的微粒的情况下，这种试剂的存在可能使得更难以保持其自由流动性。脱水热交联理想地包括使待交联的产品脱水至水分含量小于大约1%，并使用充足的额外热量或者真空以达到需要的交联密度。例如，当不存在真空时，可以采用约80°C之上，约90°C之上，约100°C之上或约120°C之上的温度，较高的温度通常提供较快的反应速率。多糖理想地不加热至足以导致褐变的程度，并且相应地优选小于160°C或小于150°C的温度。在环境压力下可能需要相当长的加热时间，例如，在140-150°C下约40小时加上用于加热和冷却的约总计20小时。当使用减压时，可以采用较低的温度，并且优选至少约1mm Hg，和优选至多少约 10^{-3} mm Hg的真空。因此，温度越高，所需的真空越低或达到指定的交联密度所需的加热时间越少，且反之亦然。因此难以规定确切的加热时间或加热时间的范围，尽管可以采用至少约10小时，至少约20小时，至少约30小时或约40-约60小时，以及少于约2周或少于约1周（不

计算加热和冷却所需的时间)的时间。在许多情况下,足以用经验来确定加热时间、温度和压力,例如通过水合脱水热交联的微粒(如下面更加详细描述的和并不加入包含添加的交联剂的所公开的第二组分)并且对体温基本垂直的表面喷射所得到的团块(mass),如实施例 1 所示。如果团块太稠以至不可喷射,就应减小部分交联的程度。如果团块可喷射而且不会滴下或者流出,则部分交联的程度就可以保持现状或者如果需要进一步减小。例如,也可以使用器械测量团块的流变性质,以确定是否已经获得这样的流体或者凝胶,其部分交联的程度被减小防止或者阻碍过早形成凝胶。

[0057] 也可使用多种外来的交联剂进行部分交联,当外来的交联剂被如此使用时,可以称为部分交联剂。示例性部分交联剂包括京尼平、氧化的多糖例如氧化的淀粉、或者戊二醛,京尼平是优选的,部分地是由于其良好的生物相容性和尽管其稍微慢的交联速度。部分交联剂的量可以相差大地变化,这取决于所选的多糖和部分交联剂。在多数情况下,足以以经验性地确定部分交联剂的量,例如通过使所选的量的多聚糖和部分交联剂在一起反应,如果需要水合所得产物,并且如上所述对体温充分垂直的表面喷射所得的团块。

[0058] 当氧化的多糖用作部分交联剂时,多糖可以被氧化至刚好足以提供能够促进多糖的部分(但不是不当地全部)交联的醛基的程度。如果需要,多糖可以被氧化至不同的(例如,更大的)程度和调整(例如,增加)多糖的量。优选地,在多糖和部分交联剂已被混合之后,部分交联反应在几天或者几个小时内(例如,少于 2 天、少于 1 天、少于 12 小时或者少于 8 小时)基本上完成。可以使用多种氧化的多糖,包括藻酸盐、角叉藻聚糖、纤维素(例如,羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素和羟丙基甲基纤维素)、壳多糖、硫酸软骨素、葡聚糖、半乳糖甘露聚糖、糖原、透明质酸、淀粉及其它能被氧化的生物相容的多糖。氧化的多糖例如氧化的纤维素(例如,上面提及的那些)、壳多糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原、透明质酸和淀粉是特别优选的。用于制备氧化的多糖的典型氧化试剂或者技术包括使用:a) 高碘酸钠,b) 在二叔烷基硝酰(di-tert-alkylnitroxyl)催化剂存在下的次氯酸盐离子,c) 金属催化的氧化,使用例如钌,d) 利用在例如卤烃中的例如二氧化氮的无水氧化,e) 淀粉、瓜尔胶(guar)和其它多糖的酶促或者化学酶促氧化,f) 使用温和的氧化剂例如二甲基亚砜(DMSO)或者二乙酸碘苯(diacetoxyiodobenzene)的 2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧(TEMPO)的催化氧化,和其它为本领域技术人员技术所知的氧化试剂和技术。取决于所选择的氧化试剂或技术,可以使用多种氧化程度、聚合度和氧化位置。例如,氧化可以被指向伯羟基(例如,葡聚糖的脱水葡萄糖单元中的 6-羟基)生成具有保护环结构的羧基多糖。氧化也可以被指向单糖环中存在的邻近的二醇官能团(例如,脱水葡萄糖单元中的 C2-C3 位),导致单糖单元的断裂和二醛官能团的产生。这种氧化多糖的二醛含量的范围可以从例如 2% 的氧化度至实际上 100%,例如可用氧化位置的多于 30%或者多于 50%。氧化多糖也可以包含其它的官能团,例如羟烷基、阳离子基团、羧基和其它酸性基团。作为归纳,当多聚糖氧化的程度增加时,可以作为部分交联剂使用的氧化多糖的量减少。

[0059] 当使用包含两种或者更多种微粒多糖的混合物的组合物时,可以部分交联多聚糖微粒中的一种或者多于一种。这允许定制性质例如流动性能、喷射特性、最终凝胶时间(如果存在)和安置之后的降解速度。如果需要,一种或者多种部分交联的多糖的混合物可以经受额外的部分交联反应,例如脱水热交联反应。颗粒还可以保持分开的状态,并且以后由终端用户混合,尽管这与在制造场以即用形式或接近即用形式包装混合物相比通常会不太

便利。。

[0060] 理想地,多糖以干的微粒形式被提供,例如,为平均粒径小于大约 1mm、小于大约 10 μm 、大约 1 至大约 80 μm 或者小于 1 μm 的自由流动小粒。这样做能够帮助减少延长的存储期间的降解。

[0061] 多糖通常地仅在与添加的交联剂混合之前被水合并且将所得的流体混合物置于治疗部位内。可以通过在水或者包含任何其他期望成分的水溶液中溶解多糖进行水合。例如,生理盐水和 PBS 是优选的并且是易得的水合溶液。水合溶液中多糖的量可以部分地取决于多糖分子量,并且可以例如是基于溶液重量的大约 1% 至大约 20%、大约 1% 至大约 10% 或者大约 1% 至大约 5%。2008 年 4 月 24 日提交的共同未决美国临时申请序列号 61/047580 描述了优选的用于再水合脱水热交联的多糖颗粒的技术,所述技术通过将颗粒分散在生物相容的水可混溶的极性分散剂中,并且将分散体与对颗粒足够的水性溶剂结合以将其转变为内聚的水凝胶。该技术可以适合在本发明中使用,使用已被部分交联至足够程度的多糖颗粒以便在水合之后形成流体而不是水凝胶。当水合多糖颗粒得到均匀的流体混合物时是困难的,这是由于当与水结合时,一些干粉材料具有形成块的趋势。但是,通过将多糖颗粒分散在生物相容的水可混溶的极性分散剂中可以避免成块,然后将分散体与足够的水性颗粒溶剂(即,微粒的水基溶剂)混合将颗粒转变成为不含块的流体溶液。分散剂对颗粒来说是足够差的溶剂以至颗粒的混合物和分散剂不会形成真溶液。在这种分散体中的颗粒理想地是充分地小以至在颗粒和分散剂已被搅动,例如将其旋转在一起之后分散体是稳定的或者是准稳定的(例如,胶态分散体或者适当持久的悬浮液)。不受理论的限制,相信水性颗粒溶剂的加入允许在每一个悬浮微粒的表面大约同时发生水合作用,其通过周围的分散剂进入水性颗粒溶剂相中的溶解进行,因此允许形成流体溶液而不形成未水合的多糖的可见块。在这种方式中,分散的多糖可以与水或者水溶液结合以形成不含块的流体溶液,即使干粉的多糖通常不如此使用。所公开的混合方法可以用于例如利用如上所述图 3 中的两个注射器之间的通路,温和搅动或者其他简单的混合技术,制备满意的无块流体而不需要使用机械搅拌器。所公开的混合方法也可允许形成非常浓缩的流体溶液,该溶液不能够仅仅通过混合粉状的多糖与水或者酸化的水获得。多糖可以被粉碎但是理想地不被粉碎。

[0062] 分散剂和水性颗粒溶剂的选择可以取决于所选择的多糖。对多糖例如在纯水中具有相对弱的溶解度但在水被酸化时变成可溶解的壳聚糖,去离子水可以被用作分散剂并且酸化的水可以被用作水形象颗粒溶剂。分散剂和水性溶剂的其它结合也可以被使用。例如,乙醇、异丙醇或者丙酮可以被用作许多多糖(包括壳聚糖和包含壳聚糖的混合物)的分散剂并且去离子水、生理盐水或者 PBS 可以被用作水性颗粒溶剂。

[0063] 多种添加的交联剂可以用在所公开的组合物的第二组分中和公开的保护层和方法中。添加的交联剂理想地相对快速作用以提供二组分组合物,如果两种组分被混合并且喷射至体温垂直表面上,则该二组分组合物不会滴下或者流走。示例性添加的交联剂包括氧化的多糖、壳聚糖和戊二醛,其中氧化的多糖是优选的。氧化的多糖似乎提供特别迅速的交联同时避免了潜在较少的生物可接受的低分子量醛的使用。氧化的多糖中的醛基也可增加粘膜粘连。氧化的多糖可以提供额外的益处,包括改善的或者更好的受控的生物降解能力、生物再吸收能力、药物递送或者止血性能。可以使用多种氧化的多糖,包括上面讨论的

与部分交联剂有关的那些。氧化的多糖例如氧化的纤维素、壳多糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原、透明质酸和淀粉是特别优选的。当氧化的多糖被用作添加的交联剂时，多糖理想地被氧化至这样的程度：当多糖和氧化的多糖在水溶液中结合时，其足以提供能够促进部分交联的多糖的快速进一步交联的醛基。典型的氧化试剂或者技术和典型的氧化度包括上面讨论的与部分交联剂有关的那些。

[0064] 部分交联剂和添加的交联剂可以相同或者不同，例如少量的部分交联剂用于制备部分交联的多糖，接着是在所公开的二组分组合物中使用大量的相同地交联剂作为添加的交联剂。例如，戊二醛或者壳聚糖可以被用作部分交联剂和添加的交联剂。

[0065] 添加的交联剂理想地在使用前溶解在水种或者另一种合适的溶剂中。推荐的添加的交联剂的类型和数量典型地取决于添加的交联剂的分子量、部分交联的多糖的类型和数量以及其中用于交联的剩余位置的可用性。添加的交联剂数量可以例如是所公开的第二组分的大约 1% 至大约 20%、大约 1% 至大约 10% 或者大约 1% 至大约 5%。

[0066] 部分交联的多糖和添加的交联剂的类型和数量的选择理想地考虑可能的最小或者最大时间，所述最小和最大时间对于混合第一和第二组分并且将所得混合物喷射或者另外引导至至身体组织或者构造上可能是必需的。过早的凝胶形成可以通过下述进行评价：将可选地与适当的交联淬灭剂（例如，葡萄糖胺）结合的水（例如，100mL）放置在适当的容器中，制备新的第一和第二组分以及可选的水溶性比色染料（例如，染料诸如在下面列出的）的混合物，并且迅速地将混合物向下喷射经过短的空气距离（例如，几毫米）至水面上，并且观察是否形成凝胶颗粒或者在水中染料痕迹是否变明显。

[0067] 多糖或者添加的交联剂包含壳聚糖或者壳聚糖衍生物。也可制备二组分组合物，其中第一组分包含部分交联的壳聚糖而第二组分包含氧化的壳聚糖。

[0068] 所公开的组合物理想地基本上不含胶原。优选地，组合物是充分地无胶原（例如，完全不包含胶原）以适于在全世界销售应用而不仅限于人类。

[0069] 所公开的组合物典型地在运输至最终用户之前经过灭菌并且被置于适当的密封包装（例如，多部件注射器、玻璃瓶或者多个玻璃瓶或者由适当材料制得的多层袋）中。附加特性的定制可以通过使用灭菌程序如伽马辐射或者电子束（E-Beam）处理以引起控制的链断开来完成。冷电离辐射灭菌（例如，冷电子束灭菌）可以用于限制链断开的程度，如在同日提交的共同未决的 PCT 申请号（代理人申请案号（Attorney Docket Nos.）P0035142.00 和 151-P-35142W001）中所讨论的。是否灭菌，包含部分交联的多糖的第一组分通常与包含添加的交联剂的第二组分保持分开直到使用前。

[0070] 部分交联的多糖和添加的交联剂可以例如以大约 20:1 至大约 1:20、大约 10:1 至大约 1:10、大约 5:1 至大约 1:10、大约 3:1 至大约 1:5 或者大约 20:1 的摩尔比率结合。一旦第一与第二组分被混合，进一步的交联反应优选地在混合开始后的几分之内（例如，少于 5 分钟、少于 3 分钟、少于 2 分钟或者少于 1 分钟）内基本完成，生成最初的流体保护层，该保护层不从体温垂直皮肤表面上的目标区域滴下或者流走。磷酸盐粒子的存在似乎加速交联反应。磷酸盐可以通过使用 PBS 作为部分交联的多糖和添加的交联剂的一种或者两种的溶剂被提供。

[0071] 所公开的组合物和保护层在水合之前或之后可以任选地包括多种其它成分。示例性其它成分包括非水性溶剂、酸、碱、缓冲剂、抗菌剂、治疗剂及其它佐剂。酸、碱或者缓冲剂

可以例如使组合物、保护层或者二者保持在接触人组织的合适的 pH, 例如 pH 大于 4.5、接近中性 pH 或者 pH 小于 8.5。示例性缓冲剂包括巴比妥纳、甘氨酸、甘氨酸、氯化钾、磷酸钾、邻苯二甲酸氢钾、乙酸钠、柠檬酸钠、磷酸钠及其共轭酸。

[0072] 所公开的组合物理想地是内在抗菌的, 而不需要添加单独的抗菌剂。抗菌活性可以被组合物中壳聚糖或者壳聚糖衍生物的比例(更高的比例趋于提供更好的抗菌活性)和可利用的壳聚糖胺基团的数量影响。从而, 使用包含少量可利用的氨基氢原子的壳聚糖衍生物(如上述 Weng 等人的论文中需要的 N- 羧乙基衍生物)可以被禁忌。无论如何, 如果需要, 可以使用单独的抗菌剂。这种抗菌剂的有用列表可以例如在上述的美国专利申请公开号 US2007/0264310A1 中找到。

[0073] 在所公开的组合物中可以使用的示例性治疗剂包括任何适合用在治疗部位的材料, 包括: 止痛剂、抗胆碱能剂、抗真菌剂、抗组胺剂、类固醇或者非类固醇抗炎剂、抗寄生虫剂、抗病毒剂、生物机能结构组合物 (biostatic composition)、化疗剂 / 抗肿瘤剂、细胞因子、解充血药、止血剂(例如, 凝血酶)、免疫抑制剂、黏液溶解剂、核酸、肽、蛋白质、类固醇、血管收缩剂、维生素、其混合物、和其它为本领域技术人员所知的治疗剂材料。这种治疗剂的有用列表可以在例如, 上述的美国专利申请公开号 US2007/0264310A1 中找到。

[0074] 可以包括在所公开的组合物中的其他佐剂包括染料、色素或者其它着色剂(例如, FD&C Red No. 3、FD&C Red No. 20、FD&C Yellow No. 6、FD&C Blue No. 2、D&C Green No. 5、D&C Orange No. 4、D&C Red No. 8、焦糖、二氧化钛、水果或者蔬菜着色剂例如甜菜粉或者 β -胡萝卜素、姜黄、灯笼椒红以及其它为本领域技术人员所知的材料); 指示剂; 香味剂或者甜味剂包括但不限于茴芹油、樱桃、肉桂油、柑橘类油(例如柠檬、酸橙或者桔油)、可可、桉树、芳香的草药(例如, 丁香油、鼠尾草油或者桂皮油)、乳糖、麦芽糖、薄荷醇、薄荷油、糖精、环己氨基磺酸钠、荷兰薄荷油、山梨糖醇、蔗糖、香草醛、鹿蹄草油、木糖醇及其混合物; 抗氧化剂; 防沫剂; 以及流变学改进剂包括增稠剂和触变胶。所公开的组合物理想地不包含可能潜在地伤害黏膜组织或者构造例如, 鼻或者窦腔中的组织的成分。

[0075] 在需要从组织中除去水, 例如, 从息肉或者水肿组织中除去流体的那些情况中, 可以在公开的组合物中使用高渗剂。示例性高渗剂包括呋喃苯胺酸、氯化钠凝胶和其它的盐制剂, 其从组织或者物质吸收水, 这样直接或者间接地改变黏膜层的渗透容量。在期望治疗剂持续释放或者延延迟释放时, 也可以包括释放制剂改性剂。

[0076] 所公开的组合物可以理想地用作多步骤治疗方案的一部分, 其破坏细菌生物膜并且阻碍其复发。例如, 可以进行一系列步骤, 其可以广义地分类为清洁 / 破坏、杀死、充气、保护 / 涂覆和愈合。这些步骤可以以多种顺序进行, 例如, 可以颠倒其中进行杀灭和通气步骤的顺序。清洗 / 破坏步骤可以通过结合图 1 和图 2 施用如上讨论的溶剂化系统来进行。杀死步骤可以通过将适当的抗微生物剂应用于治疗部位来进行。这可以例如通过将抗微生物剂包含在溶剂化系统中作为单独应用的组合物, 或包含在溶剂化系统和单独应用的组合物两者中来实现。抗微生物剂还可以在操作后应用或施用。充气步骤可以通过开放闭塞的或部分闭塞的通道, 例如, 对于鼻部应用的窦或窦口, 从而向被治疗组织提供空气通道或改善空气通道来进行。这可以例如通过手术去除阻塞性组织结构或手工地将所述结构移位来实现。保护 / 涂覆步骤可以通过用所公开的包含部分交联的多糖和添加的交联剂的所公开的保护层涂覆由此治疗的组织的至少一部分进行, 如上所述。愈合步骤可以通过允许清

洗的、保护的和封闭的组织表面经历恢复至正常状态的过程来进行,例如,通过一种或多种愈合机制诸如炎症应答的调节、吞噬作用、粘膜重塑、纤毛再生或正常功能的完全或部分恢复。多步骤治疗方案可以包括或紧接着清除步骤,在该步骤中包含部分交联的多糖和添加的交联剂的所公开的保护层是充分生物可降解的或生物可再吸收的,从而在所需的时间期限内从治疗部位消失,所述时间期限,例如,超过 1 天、超过 3 天,或约 4-7 天,或约 7-28 天,并且理想地不脱落大的固体块。本发明的方法可以有利地在无需手术的条件下实现,例如,通过普通的吸入 / 吸出技术应用和去除任选的溶剂化系统,或应用所公开的保护层,或通过简单地冲洗受感染组织。等同的一系列步骤可以在一部分中耳或内耳中以多步骤治疗方案进行。关于所述治疗方案的更多细节可以参见美国专利申请公开号 2007/0264310A1。

[0077] 本发明进一步在下面的非限制性实施例中进行阐明。

[0078] 实施例 1

[0079] 使用氧化的多糖的部分交联

[0080] 通过在水或者 PBS 中溶解不同量的壳聚糖谷氨酸盐 (来自 FMC BioPolymer AS 的 NovaMatrix 单元的 PROTASAN™ UP G113, 或者“G113”) 制备壳聚糖溶液。通过使部分氧化的甲基纤维素 (来自 SigmaAldrich Company 的 M0387) 与高碘酸钠反应制备氧化的甲基纤维素 (“OXMC”) 溶液。以不同的比例和浓度混合溶液,倾倒入玻璃皮氏培养皿 (Petri dish) 中,并且通过冷冻干燥冻干以提供白色泡沫状产品。冻干的产品被浸入水中并观察以确定吸水的定性速率。结果如下面的表 1 中所示。

[0081] 表 1

[0082]

序列号	壳聚糖溶液	氧化的多糖溶液	壳聚糖:氧化的多糖比例	吸水速率
1	在 PBS 中 5% G 113	在 PBS 中 5% OXMC	1:10	慢吸收
2	在水中 5% G 113	在水中 2.5% OXMC	1:10	快吸收
3	在 PBS 中 5% G 113	在水中 2.5% OXMC	1:5	溶解
4	在 PBS 中 5% G 113	在 PBS 中 5% OXMC	1:2	慢吸收

[0083] 使用氧化的羟丙基甲基纤维素 (由来自 Sigma Aldrich Company 的 442755 部分氧化的羟丙基甲基纤维素制得) 而不是氧化的甲基纤维素类似地制备另外的制剂。这些制剂表现出更快的吸水。

[0084] 在表 1 中所示的冻干的产品表现出不同的交联度,序列号 1 制剂具有最高的交联度而序列号 4 制剂具有最低的交联度。所得的水合产品能够与添加的交联剂如京尼平结合并被喷射或者注射至治疗部位上或者治疗部位中。

[0085] 实施例 2

[0086] 使用戊二醛的部分交联

[0087] G113 壳聚糖谷氨酸盐在 PBS 中的 5% 溶液的 1.5mL 部分和 0.015% 戊二醛溶液在 PBS 中的 1.5mL 部分各自被置于 3mL 的单筒注射器中。注射器末端使用套管连接并且内容物通过交替地挤压和抽出两个注射器活塞被混合直至均相。使混合物静置过夜。所得的部分交联的多糖包含 2.5% 壳聚糖谷氨酸盐溶液与 75ppm 戊二醛的反应产物。

[0088] 实施例 3

[0089] 喷射施加

[0090] 二醛淀粉的 (来自 Monomer-Polymer&Dajac Labs, Inc. 的 No. 9056, >80 % 氧化的淀粉) PBS 溶液被冻干, 并且然后通过足够的去离子水中溶解冻干的产品进行水合以提供包含 5% 氧化的淀粉的添加的交联剂溶液。使用气体辅助涂布器 (来自 Micromedics, Inc. 的 FIBRIJET SA-6030 调整器, 控制安装有一对 3cc 注射器的 FIBRIJET SA-3652 喷射装置), 来自实施例 2 的部分交联的多糖溶液和 5% 氧化的淀粉溶液以 1:1 的比例被喷射施加至垂直定向的人手上, 以观察对体温基本垂直的组织表面的凝固时间和粘附力。大约 3-4mL 的混合物被喷射以形成流体保护层。组合物表现出良好的喷射特性, 似乎对着陆点具有良好的粘着并以薄的保形膜覆盖着陆点, 并且不滴下、下垂或者流走。所得保护层当暴露于水时是粘性的、柔软的、良好粘着和变得光滑。需要擦洗以去除保护层。

[0091] 在一个对比实验中, 部分交联的多糖溶液被未部分交联的 2.5% 的壳聚糖谷氨酸盐溶液代替。喷射施加的涂层在落下之后很快开始流出和滴下。涂层最初薄并且含水, 并且在喷射后大约 16 秒钟达到粘的、不流动的状态。与使用部分交联的多糖制备的涂层相比, 该涂层似乎不太坚硬并且较不坚固。

[0092] 实施例 4

[0093] 使用壳聚糖的部分交联

[0094] 使用实施例 2 的方法, 使用不同量的壳聚糖谷氨酸盐作为部分交联剂, 制备以不交联的和部分交联的形式的氧化的甲基纤维素溶液。通过使 M0387 甲基纤维素 (Sigma-Aldrich Co.) 与高碘酸钠在去离子水中反应制得 15% 氧化的甲基纤维素溶液。反应产物被随后冻干并且在 PBS 中水合。此溶液的 0.5mL 部分被置于 3mL 注射器中并且用含有在 PBS 中的 0.3% G113 壳聚糖谷氨酸盐溶液的 0.5mL 部分注射器混合, 除去气泡, 使其静置 24 小时, 从而提供部分交联的多糖, 其包含与 0.15% 壳聚糖反应的 7.5% 氧化的甲基纤维素, (溶液 A)。以相同的方式, 甲基纤维素溶液的 0.5mL 部分用包含在 PBS 中的 0.5% G113 壳聚糖谷氨酸盐溶液的 0.5mL 部分的注射器混合, 因此提供部分交联的多糖, 其包含与 0.25% 壳聚糖反应的 7.5% 氧化的甲基纤维素, (溶液 B)。制备不交联的 7.5% 氧化的甲基纤维素溶液作为对照物 (溶液 C)。

[0095] 使用实施例 3 的方法, 溶液 A、B 和 C 与在 PBS 中 5% G113 壳聚糖谷氨酸盐溶液以 1:1 的比例被喷射施加至垂直定向的人手上。大约 2mL 的每种混合物被喷射以形成流体保护层。使用溶液 A 和 B 制得的组合物表现出好的喷射特性, 似乎对着陆点具有良好的粘着并以薄的、保形的膜覆盖着陆点, 并且不滴下、下垂或者流走。与使用溶液 A 制得的组合物相比, 使用溶液 B 制得的组合物似乎形成稍微更坚固的保护层。两种保护层当暴露于水时是粘性的、柔软的、良好粘着和变得光滑。需要擦洗以除去保护层。

[0096] 使用溶液 C 制得的组合物在施加之后很快开始流出, 并且在喷射之后大约 20-30

秒停止流动并且似乎凝固。

[0097] 上述说明的结果表明部分交联的多糖可以与添加的交联剂结合制备流动的、可喷射的混合物,该混合物在体温基本垂直的组织表面上在原位迅速形成薄的、保形的流体保护层。制剂在每一种情况下是可喷射的、抗菌的、生物可降解的或者生物可再吸收的并且能够作为药物递送的载体(scaffold)。

[0098] 尽管在本文中已经阐明并且描述了具体的实施方式,用于说明优选的实施方式,但本领域普通技术人员要理解的是预期达到相同目的的大量可替代的或等价的实现方式可以代替所示和所述的具体实施方式,而不背离本发明的范围。本申请意在涵盖本文所讨论的优选实施方式的任何改动或变型。因此,显然,本发明旨在仅由权利要求及其等同形式来限制。

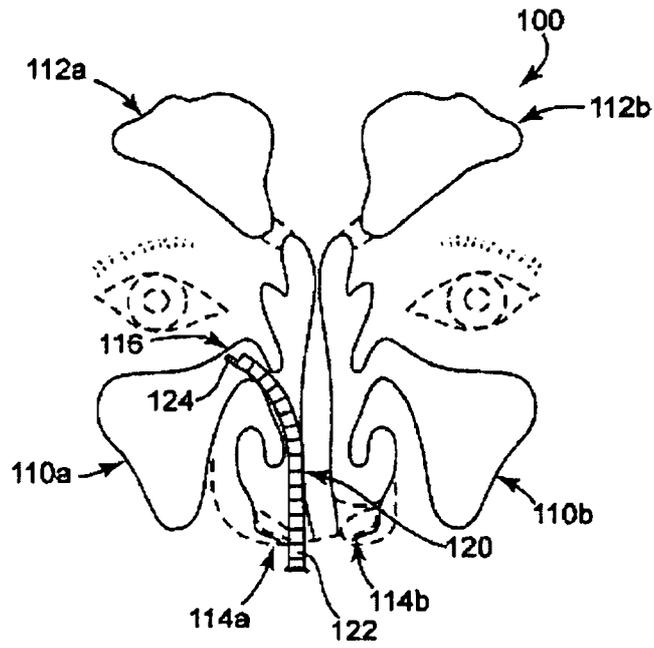


图 1

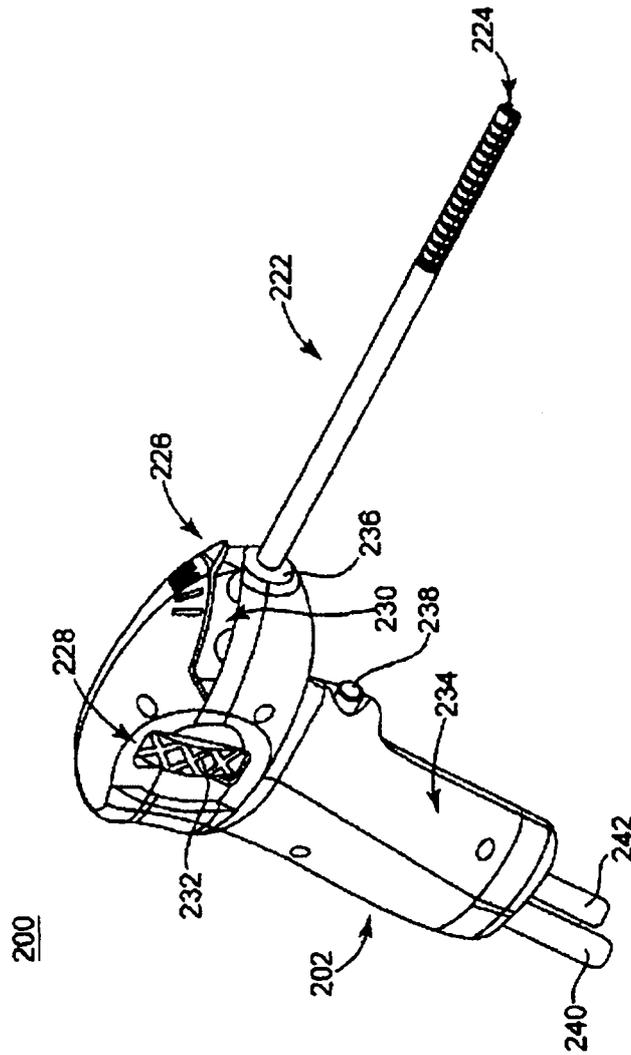


图 2

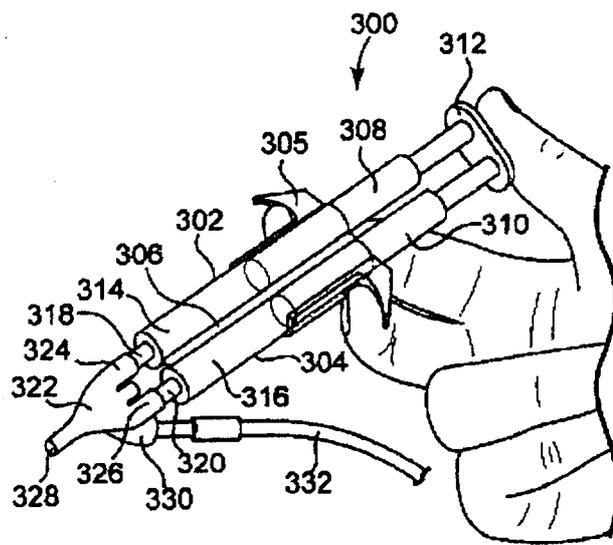


图 3