[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61B 17/135 (2006.01)
A61L 15/22 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780051223.9

[43] 公开日 2010 年 3 月 24 日

[11] 公开号 CN 101677822A

[22] 申请日 2007.12.11
[21] 申请号 200780051223.9
[30] 优先权
[32] 2006.12.11 [33] US [31] 60/874,062
[32] 2007. 3. 9 [33] US [31] 60/893,993
[86] 国际申请 PCT/US2007/087079 2007.12.11
[87] 国际公布 WO2008/073938 英 2008.6.19
[85] 进入国家阶段日期 2009.8.11
[71] 申请人 普拉罗美德公司
地址 美国马萨诸塞州
共同申请人 莱希诊疗公司
[72] 发明人 J·-M·富格尔 J·A·威尔基
P·N·马德拉斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 梁 谋 付 磊

权利要求书 5 页 说明书 46 页 附图 5 页

[54] 发明名称

灌注器官止血法

[57] 摘要

本发明公开了通过使用基于聚合物溶液的内部封堵物来控制出血的组合物、方法和药盒，包括逆向热敏聚合物在保留肾单位手术中的用途，其产生了完全无血的手术区，使得可进行快速切除术。 在某些实施方案中，在某一段时间后，血流逐渐恢复，且对肾没有明显不利的结果。 在某些实施方案中，可通过使肾冷却来加速血流返回。 用于灌注器官止血的组合物、方法和药盒也可用于使其它器官手术或介入程序简化或使其成为可能，这些手术包括肝脏手术、前列腺手术、脑手术、子宫手术、脾脏手术和任何高度血管化器官的任何手术。

1. 在受治疗者中灌注器官止血的方法，该方法包括将呈流体的一定体积的组合物引入与器官相通的动脉血管内的步骤，其中所述体积足以充分灌注所述器官；所述组合物在所述器官中形成瞬时凝胶。

2. 权利要求 1 的方法，其中所述组合物的体积为约 1-25 mL 或约 1-10 mL。

3. 权利要求 1 的方法，其中经约 1-30 秒或约 2-20 秒引入所述组合物。

4. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在哺乳动物生理温度时为凝胶。

5. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物。

6. 权利要求 5 的方法，其中所述瞬时凝胶包含约 5%至约 35%的所述逆向热敏聚合物。

7. 权利要求 5 的方法，其中所述瞬时凝胶包含约 10%至约 30%的所述逆向热敏聚合物。

8. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.5 至约 1.0。

9. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.2 至约 1.0。

10. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自嵌段共聚物、无规共聚物、接枝共聚物和支化共聚物。

11. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是聚氧化烯嵌段共聚物。

12. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

13. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏

聚合物选自泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 288、泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 338、泊洛沙姆 118、Tetronic® 1107 和 Tetronic® 1307。

14. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是泊洛沙姆 407。

15. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆类和纯化的泊洛沙胺类。

16. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆 407、纯化的泊洛沙姆 288、纯化的泊洛沙姆 188、纯化的泊洛沙姆 338、纯化的泊洛沙姆 118、纯化的 Tetronic® 1107 和纯化的 Tetronic® 1307。

17. 权利要求 5 的方法，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是纯化的泊洛沙姆 407。

18. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含赋形剂。

19. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含药用脂肪酸赋形剂。

20. 权利要求 19 的方法，其中所述药用脂肪酸赋形剂为油酸钠、月桂酸钠或癸酸钠。

21. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含治疗剂。

22. 权利要求 21 的方法，其中所述治疗剂选自抗炎药、抗生素、抗菌药、化疗药、抗病毒药、镇痛药和抗增殖药。

23. 权利要求 21 的方法，其中所述治疗剂是抗生素。

24. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含对比增强剂。

25. 权利要求 24 的方法，其中所述对比增强剂选自造影剂、顺磁材料、重原子、过渡金属、镧系元素、锕系元素、染料和含放射性核素的材料。

26. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

27. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约

30℃至约 40℃之间。

28. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%。

29. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

30. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间。

31. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

32. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

33. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含阴离子型、阳离子型或非离子型可交联聚合物。

34. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含聚合物，其选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠、胶酸钾、羧甲基纤维素、透明质酸和聚乙烯醇。

35. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、己二酸盐、草酸盐、钙、镁、钡、锶或其组合。

36. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠和胶酸钾的聚合物；和钙、镁或钡。

37. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸

钠或藻酸钾的聚合物；并且还包含含钙组合物。

38. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含选自胶酸钠和胶酸钾的聚合物；并且还包含镁。

39. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸和钙。

40. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含聚乙烯醇和硼酸盐。

41. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含蛋白质，其选自胶原蛋白、明胶、弹性蛋白、白蛋白、鱼精蛋白、血纤蛋白、血纤蛋白原、角蛋白、颤蛋白和酪蛋白。

42. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸或壳聚糖。

43. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含藻酸盐、果胶、甲基纤维素或羧甲基纤维素。

44. 权利要求 1 的方法，其中所述瞬时凝胶包含可交联聚合物。

45. 权利要求 1-44 中任一项的方法，其中所述器官是高度血管化器官。

46. 权利要求 45 的方法，其中所述器官是肾脏、肝脏、前列腺、脑、子宫或脾脏。

47. 权利要求 45 的方法，其中所述器官是肾脏、肝脏或前列腺。

48. 权利要求 45 的方法，其中所述器官是肾脏。

49. 权利要求 1-48 中任一项的方法，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 20 分钟。

50. 权利要求 1-48 中任一项的方法，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 30 分钟。

51. 权利要求 1-48 中任一项的方法，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 40 分钟。

52. 权利要求 1-51 中任一项的方法，其中所述受治疗者是哺乳动物。

53. 权利要求 1-51 中任一项的方法，其中所述受治疗者是人。

54. 权利要求 1-53 中任一项的方法，其中用注射器、套管、导管或经皮进入装置引入所述组合物。

55. 权利要求 1-53 中任一项的方法，其中用双腔导管或三腔导管引入所述组合物。

56. 权利要求 55 的方法，其中所述导管尺寸为 3-10 French 或 3-6 French。

57. 权利要求 1-53 中任一项的方法，其中用注射器引入所述组合物。

58. 权利要求 57 的方法，其中所述注射器为 1-100 cc 注射器、1-50 cc 注射器或 1-5 cc 注射器。

59. 权利要求 1-58 中任一项的方法，其中所述组合物在引入之前冷却到约 15℃。

60. 权利要求 1-58 中任一项的方法，其中所述组合物在引入之前冷却到约 10℃。

61. 权利要求 1-58 中任一项的方法，其中所述组合物在引入之前冷却到约 5℃。

62. 权利要求 1-58 中任一项的方法，其中所述组合物在引入之前冷却到约 0℃。

63. 权利要求 1-58 中任一项的方法，其中所述组合物在引入之前用冰、水或冷袋进行冷却。

64. 权利要求 1-63 中任一项的方法，其还包括引入盐水以帮助所述瞬时凝胶的溶解。

65. 权利要求 1-64 中任一项的方法，其还包括使所述器官冷却的步骤。

灌注器官止血法

相关申请

本申请要求保护于 2006 年 12 月 11 日申请的美国临时专利申请顺序号 60/874,062 和于 2007 年 3 月 9 日申请的美国临时专利申请顺序号 60/893,993 的优先权的权益；二者都以其整体在此引作参考。

发明背景

医学上经常需要在某些目标解剖部位限制逆向血流。例如，在众多手术中，经常需要使血管暂时闭合。常规止血钳(例如 Fogarty 钳、DeBakey "Atraugrip"、Bulldog 钳或 Pott 和 Satinsky 外周血管钳)广泛用于使血管闭合。尽管这些常规夹钳在大部分需要使血管闭合的情况下令人相当满意，但它们在需要止血的其它应用(例如象在部分肾切除术中一样切除大的实体器官时)中受到使用限制。用部分肾切除术治疗肾细胞癌患者的百分率已经从 3.7% (525 个病例；1988 年～1990 年)增加到 12.3% (4000 个病例；2000 年～2002 年)超过三倍。W. C. Huang 等，"Chronic kidney disease after nephrectomy in patients with renal cortical tumors: a retrospective cohort study (肾皮质肿瘤患者在肾切除术后的慢性肾病回顾性群组研究)," *The Lancet Oncology* **2006**, *7(9)*, 735-740。通过暂时性血流阻断也将促进各种其它手术，例如肝切除术。

保留肾单位手术－部分肾切除术：保留肾单位手术(NSS)本身可证明在多种情况下合适。例如，肾细胞癌(RCC)的治疗控制仍是手术。手术前疾病分期的新技术进步、特别是现代成像技术和外科技术的改进，在所选择的患者中业已使部分肾切除术成为根治性肾切除术的有吸引力的备选方案。对于其中根治性肾切除术将使得患者无肾并且随后立即需要透析的病例而言，明显更适合 NSS。同时发生的双侧肿瘤

(Synchronous bilateral tumor)、孤立肾中的肿瘤或存在对侧肾单位功能不全，通常完全适合 NSS。后一种情况可能因伴随存在单侧 RCC 和伴有疾病过程(例如慢性肾盂肾炎、肾动脉病、结石病)的对侧肾或存在全身性疾病(例如糖尿病)而产生。对于肾的某些良性病症和局部化病理，也可考虑将部分肾切除术选作治疗选择。A. C. Novick, "The role of nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma in patients with a normal contralateral kidney (在具有正常对侧肾的患者中保留肾单位手术对肾细胞癌的作用)," *Advan Urol* **1996**, *9*, 1。当有可能并必需时，它提供最佳手术治疗，同时避免过度治疗和肾单位损失。潜在的更加良性的适应症实例包括对肾局部的创伤性不可逆损伤和切除良性肾肿瘤(例如嗜酸细胞瘤、血管平滑肌脂肪瘤或多房性囊肿)。其它适应症包括双肾的阻塞性萎缩段、肾段结石病伴有排泄受损和少见的肾血管高压伴有可鉴别的不恰当分枝的肾动脉病。R.G. Uzzo 和 A.C. Novick, "Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes (肾肿瘤的保留肾单位手术: 适应症、技术和效果)," *J. of Urol.* **2001**, *166*, 6-18。

揭示了当考虑到若干因素时对于 RCC 的 NSS 临床效用。首先，RCC 通常在其病程晚期前不表现症状。附带检测到的伤害往往评分级别较小较轻，因此更有责任进行保守手术。当人们考虑到当前区别肾的恶性和良性肿瘤的成像研究不可靠时，更进一步认识到 NSS 的价值。同样，小 RCC 的自然史和恶性可能性还不很清楚。尽管在高共病老年患者中进行观察是可行的选择，但NSS提供可治愈的手术，并消除具有可接受的预期寿命的一般患者的不确定性。保守切除 RCC 的目的是完全局部手术切除恶性肿瘤并保留足够的肾功能。进行肾保留手术是一种微妙的平衡，有时既有挑战性又充满争议。R.G. Uzzo 和 A.C. Novick, "Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes (肾肿瘤的保留肾单位手术: 适应症、技术和效果)," *J. of Urol.* **2001**, *166*, 6-18。

若干外科技术可用于在肾肿瘤患者中实施保留肾单位手术。5 种主要的手术方法包括组织剜出、顶段肾切除术(polar segmental nephrectomy)、楔形切除术、主要横向切除术(major transverse resection)和体外部分肾切除术接着进行肾自体移植。

所有这些技术都需要稳定的血管控制和完全止血、避免肾缺血、完全切除具有游离缘的肿瘤和有效闭合肾内集合系统。最后，必须保留足够的手术后肾功能，因为为了避免终末肾衰竭，需要一个肾的至少百分之二十(20%)的残留肾起作用。然而，重要的是不要在损害不完全切除术的情况下让手术程序危及到保留肾功能的程度。手术后肾功能不全通常由手术中缺血和功能性肾实质损失联合产生。肾功能不全的程度不定，其轻重由保留参数(例如肌苷酸酐、血尿和血钾)的增加来反映。严重肾功能不全可能需要暂时透析。如果残留肾组织的代偿性肥大不能补偿肾功能损失，可能导致需要持久透析的永久性功能不全。常规部分肾切除术的主要步骤包括在手术进行时用静脉内甘露醇和袢利尿药(例如呋塞米(furosemid))开始利尿，且在肾循环任何中断之前进行大量水合作用。在预期肾闭塞之前输注甘露醇。该药物不仅诱导渗透性利尿，而且是一种自由基清除剂，它可使来自夹住动脉的缺血损伤和最终手术后急性肾小管坏死风险最小化。

在部分肾切除术中，切口为上腹人字形切口或胸腹联合切口类型。在剖开腹部后，移开结肠露出肾。暂时夹住肾动脉以减少出血。通常用无创伤血管 Bulldog 钳使肾动脉闭合。可让肾静脉保持在非闭合状态，因为肾的逆行灌注可能使手术后急性肾小管坏死的可能性减至最低。从外部肾筋膜将肾与周围组织剥离开。从正常组织边缘切除肿瘤。用缝线仔细缝合已经被切开的肾盏和肾盂。肾的切口端覆盖有脂肪、筋膜或腹膜。撤走肾动脉上的夹钳，并在缝合切口之前控制好所有出血。

关于目前止血方法的问题：与常规部分肾切除法有关的主要缺点之一是夹住肾动脉会导致整个肾缺血。尽管缺血通常是暂时的，但如

果夹住动脉的时间较长，其可能导致肾功能不全。注意手术时降低该并发症的可能性的措施(例如手术前水化、矫正电解质异常、使用甘露醇和潜在地使用体表降温法)，在某些不幸的情况下可能证明这些还不够。某些不幸的患者可能因此需要肾替代治疗，例如血液透析。

技术文献反映了医学研究团体倾注在发展对再灌注缺血组织中观察到的损伤的认识方面的明显努力。事实上，研究者业已发现在组织缺血一段时间后接着再灌注而发生的明显组织损伤，它们不仅发生在循环骤停期间，而且发生在再灌注期间。甚至在循环骤停的 5 到 60 分钟后所观察到的相当大部分的总损伤可能实际上是在再灌注阶段发展的。这样的组织损伤被认为是再灌注损伤。

因此，夹住并随后释放肾动脉可能不仅潜在导致缺血损伤，而且会导致再灌注损伤。某些权威人士认为，当由夹住肾动脉产生的总肾缺血超过 20 分钟时，会出现不可逆肾病变。

常规部分肾切除法的另一棘手的并且更加常见的手术时并发症是出血过多。当过多出血使得没有清晰的手术区和合适的视景时，通过早期辨认和隔离肾动脉使得容易接近肾门，提供另外的迅速闭合动脉的安全性。然而，在某些情况下，可能证明这还不够，其在难处理的严重出血情况下潜在地导致需要栓塞或重新探测。

在试图规避所提及的常规保留肾单位或部分肾切除术期间与夹住肾动脉有关的缺点时，某些外科医生一直在尝试夹住待切除的实体周围的组织段。目的是为了使缺血局限在将被切除的组织及其紧邻外围而使用肾止血带。尽管减少残留肾缺血在理论上很吸引人，但因为手术期间不可靠的止血法，已经证明在部分肾切除术期间用夹住肿瘤邻近肾组织代替夹住肾动脉的尝试不成功。

与夹住肾组织代替夹住肾动脉的尝试有关的问题可能至少部分归因于使用常规血管钳实施夹住组织的操作。众所周知，常规血管钳通常包括一对枢轴臂，且钳口严格地连接在每一枢轴臂的远端。夹住处理在夹住部位产生的高压远超过血管本身的压力。常规夹钳(例如

Fogarty 钳、DeBakey “Atraugrip”、Bulldog 钳或 Pott 和 Satinsky 外周血管钳)施加相当高的压力，在某些病例中，在夹住的血管上有高达 9 巴(bar)。当用来夹住组织时，与常规血管钳有关的缺点之一是所施加的压力以非均一的方式分布在钳口和组织之间的界面。常规钳口(通常为剪刀型)甚至沿着钳口造成所施加的压力梯度，位于靠近枢纽的近端压力较大。这在差不多钙化或变狭窄的肾动脉病患者中尤其是个问题。R. D. Safian, S. C. Textor, “Renal-Artery Stenosis (肾动脉狭窄),” *N Engl J Med* **2001**, *344(6)*, 431-442。

这在某些区域产生过高压力，潜在地导致邻近组织的不适当损伤，并在末梢位置因压力不足而导致止血不够。由于系统血压比常规夹钳施加在组织上的压力低至少一个数量级，很明显以比临近钳口近端所施加的压力低很多的压力就可达到合适的止血。此外，已经进一步证明最常规血管钳的构造不适合，因为其防止各种尺寸的构造插入体组织。

微创技术：在泌尿学中存在朝着遥控设备和腹腔镜检查微创技术发展的明显趋势。适当止住肾表面出血对于腹腔镜保留肾单位手术是基本的，因为不受控制的出血可能引起显著并发症，甚至转化为剖腹手术。一般而言，腹腔镜手术期间止血起着关键作用，目标主要是防止出血或至少提供早期血管控制和出血控制。因为由于邻近组织的深色血液污染产生的显著光吸收，藉此危及由腹腔镜提供的放大视野的优点，即使微量出血也可能导致视觉削弱，所以已经施用或开发了多种组织密封剂用于腹腔镜手术，尤其是计划用于保留肾单位手术。

密封剂：在部分肾切除术中使用组织密封剂提供软组织、血管和集合系统的快速修复，不仅缩短了总的手术时间，而且特别是缩短了热缺血时间。因此，可减轻暂时性血管夹住对肾功能的负面影响，尤其是在孤独肾患者或肾功能减退患者中具有十分重大的意义。

在能得到的所有止血工具中，“胶”即组织密封剂是用于切开肾表面的出血控制的唯一合适的选择，在有小的外围病灶的情况下其作

为独特的止血剂使用是合适的。可将密封剂分为两类：非生物性和生物性的。在非生物性胶中，最著名的可能是氰基丙烯酸2-辛酯黏合剂。它主要用于皮肤闭合，2-3 分钟内在切开的肾实质上形成固定的防水衬里。为了起作用，它需要无血环境，这使得用门箝住法预防性止血必不可少。必须特别小心以避免在其置放期间与周围组织意外接触，这样避免胶合到其它结构，例如肾蒂或输尿管。所有生物密封剂都包括凝血酶或血纤蛋白原或二者。它们是凝血过程的末端产物，它们的使用决定添附部位的血纤维基质。大概最有名的生物密封剂是血纤蛋白胶(Tissuecol, Crosseal, Tisseel)。它们在两个单独注射器中同时注射到作用部位，人凝血酶和血纤蛋白原结合，形成密封小血管病变的遮蔽物并促进止血过程。明胶基质止血密封剂(FloSeal)是最近广泛用作止血密封剂的一种溶液。它是基于牛明胶的基质与来自牛的浓缩凝血酶组分的组合。这种粘性胶原蛋白基质需要主动出血来激活和发挥作用，其在出血部位促进凝血和止血；在其添附后需要在软组织切缘巧妙按压 1-2 分钟。

发明简述

本文提供的本发明组合物、方法和药盒通过使用基于聚合物溶液的内部封堵物来发挥控制出血的作用。例如，本文公开了逆向热敏聚合物在保留肾单位手术中的用途。在该方法的一个实施方案中，给通向患病肾的肾动脉内灌输瞬时逆向热敏凝胶。已经证明这会导致肾实质内的血流停止。看来是聚合物以合适的注入速率向下游流动阻塞了循环动脉和静脉两侧的肾内小血管。这显著地产生了完全无血的手术区，使得可进行快速切除术。在某些实施方案中，在某一段时间后，血流逐渐恢复，且对肾没有明显不利的结果。在某些实施方案中，可通过使肾冷却来加速血流返回。

在其它实施方案中，刚才所述的本发明灌注器官止血法可用于使其它器官手术或介入程序简化或使其成为可能。在其它实施方案中，

刚才所述的本发明灌注器官止血法可用于使肝脏手术、前列腺手术、脑手术、子宫手术、脾脏手术和任何高度血管化器官的任何手术简化或使其成为可能。在某些实施方案中，所述用于灌注器官止血法的组合物、方法和药盒可用于对硬化动脉的介入、对钙化血管的介入以及很多其它手术和介入用途。

附图简述

图 1 表示在猪的部分肾切除术期间用内部血管封堵物(internal vessel occluder)在 15 分钟(a)、30 分钟(b)和 50 分钟(c)时的闭塞情况。在注入后 15 分钟，肾脏完全无血管，从切缘观察不到出血。在注入后 30 分钟，肾灌注正在返回，未观察到一滴血。在注入后 50 分钟，肾脏已经恢复正常；这可通过病理报告加以核实。

图 2 表示显示在冠状动脉吻合术期间的 15 分钟内在用止血带或止血带与本发明聚合物组合物(即含 20%泊洛沙姆 407 (poloxamer 407)的盐水溶液)联合处理的 4 只猪中收集的血液量的图表。

图 3 表示本发明聚合物(例如 20%泊洛沙姆 407 溶液)在旁路手术中的用途。聚合材料易于注入(a)，形成未受损的无血手术区(b)，使得容易缝合(c)，用后消失了(d)。

图 4 表示作为温度函数的纯化的泊洛沙姆 407 的不同溶液的粘度图表。

图 5 表示显示泊洛沙姆 407 的纯化一览表(表 1)；和显示精选的逆向热敏聚合物在盐水中的胶凝温度一览表(表 2)。在表 1 中，“*”表示用锥形和平板粘度计在 30℃测量的 25%溶液的粘度。

发明详述

手术仅切除患病肾的病态部分而不是切除整个肾对于长期肾功能总体而言十分有益。采用该方法的技术障碍是手术期间控制出血的能力和对缩短热缺血时间的要求。无血区对于腹腔镜微创技术的成功

而言也是至关重要的。本文提供一种技术方案——灌注器官止血法来控制手术期间的出血，即通过用生物相容性凝胶填入肾，从而完全防止出血，使得手术更容易，进而潜在地缩短了手术时间。在其它实施方案中，所述的本发明灌注器官止血法可用于使其它器官手术或介入程序简化或使其成为可能。在某些实施方案中，所述的本发明灌注器官止血法可用于使肝脏手术、前列腺手术、脑手术、子宫手术、脾脏手术以及任何高度血管化器官的任何手术简化或使其成为可能。在某些实施方案中，所述用于灌注器官止血法的组合物、方法和药盒可用于对硬化动脉的介入、对钙化血管的介入以及很多其它手术和介入用途。

本发明一个方面涉及通过使用基于聚合物溶液的内部封堵物来控制出血的组合物、方法和药盒。在某些实施方案中，这些溶液为逆向热敏聚合物溶液。逆向热敏聚合物溶液在低温时为液态，随着温度增加到体温，其粘度增加若干数量级，成为坚固的硬凝胶，导致血管闭塞。冷却闭塞部位可让粘度降回液态，凝胶溶解在血液中，重新建立血流。通过应用血管内部闭塞，钙化的动脉可以慢慢闭塞，停止为器官供应动脉和静脉血液。显然这种闭塞将防止出血，为外科医生提供无血手术区。无血手术区进而又应该缩短手术所需的操作时间。在某些手术中，操作时间能缩短到热缺血时间急剧缩短的程度。

如上所述，业已开发了其中将生物相容性凝胶用于填充并闭塞血管的方法。在某些实施方案中，所述凝胶的工作原理基于聚合物的逆向热敏性质。聚合物溶液在低温时为液态。随着温度增加到体温，溶液粘度快速增加若干数量级，成为坚固的硬凝胶。简单地用冰冷却闭塞部位可让粘度降回液态，凝胶溶解在血液中，重新建立血流。已经开发了在吻合术例如非体外循环冠状动脉旁路手术(OPCAB)、血液透析通路和胫骨吻合术中应用的凝胶。参见图 3。已经表明所起作用非常温和，既不危害也不改变动脉壁的生化组成，其由填入和打通血管后的微血管反应性测量来证明。M. Boodwhani, W. E. Cohn, J. Feng, B.

Ramlavi, S. Mieno, A. Schwarz 和 F. W. Sellke, "Safety and Efficacy of a Novel Gel for Vascular Occlusion in Off-Pump Surgery (在非体外循环冠状动脉旁路手术中用于血管闭塞的新型凝胶的安全性和功效)," *Ann Thorac Surg* **2005**, *80*, 2333-7。

如本文所提出，本发明瞬时凝胶(transient gel)提供用于手术时止血的重大优势，其通过将溶液灌注进入器官循环的动脉和静脉两侧并凝固，藉此完全或基本上停止给器官供应血液。例如，本文公开了逆向热敏聚合物在保留肾单位手术中的用途。在某些实施方案中，给通向患病肾的肾动脉灌输逆向热敏凝胶。已经证明这会导致肾实质内的血流停止。看来是聚合物以合适的注入速率向下游流动阻塞了循环动脉和静脉两侧的肾内小血管。这显著地产生了完全无血的手术区，使得可进行快速切除术。在某些情况下，约 20 分钟后血流逐渐恢复，且对肾没有明显不利的结果。在某些实施方案中，如果需要那么可通过使肾冷却来加速血流返回。

如下文所详述，最初的短期体内实验指出这种方法的可行性。然而，在某些实施例中使用的聚合物具有比实体器官中的最佳转换温度更低的转换温度。在实体器官例如肾中，手术期间的温度可能比裸露的动脉更高，在该温度团队具有更多的实验经验。对于实体器官应用而言，具有较高转换温度的聚合物溶液可能优于现有制剂。本文公开了几种这样的较高转换温度的聚合物溶液(参见图 5，表 2)。在某些实施方案中，注入速率/体积可用于控制所预期的下游缺血时间。

另外，本文要求保护注入系统，该系统不会不恰当地增加长时间切开动脉所需要的手术时间或需要另外的手术来修复注入部位的动脉的手术时间。在某些实施方案中，为了在部分肾切除术中使肾充分地闭合，例如，聚合物凝胶应该流入肾动脉，然后流入肾的血管组织。可将凝胶注入肾动脉或紧邻肾动脉的主动脉。注入后外科医生必须关闭注入部位以防止手术后出血。然而，具有患病肾的患者通常有钙化动脉，因此需要较小的穿刺部位。如果选择主动脉作为注入部位，那

么注射器针头必须进入肾动脉以指导凝胶流向肾。当选择注入部位时，外科医生必须衡量某些选择：1)获得到达肾动脉路径的难度；2)成功地将导管插入钙化血管并随后闭合穿刺部位的难度；和3)在该事件中优选主动脉，在此处注射器针头可能容易指向肾动脉。人们在注入前还必须探寻以使花费在切开血管上的任何时间或努力最小化。另外，如果在需要额外剂量的凝胶情况下，和如果需要在凝胶较早溶解时作为注入盐水溶液的导管的情况下，在部分肾切除术期间让注入系统处于适当位置可能有利。

定义：为了方便起见，在进一步说明本发明之前，此处收集了本说明书、实施例和所附权利要求书中采用的某些术语。这些定义应该根据本公开内容的其余部分来阅读，并由本领域技术人员来理解。

除非明确指出与此相反，否则在本说明书(包括附图和摘要)和权利要求书中所用的术语前未加数词修饰时，应该理解为意指“至少一个(种)”。

在本说明书(包括附图和摘要)和权利要求书中所用短语“和/或”应该理解为意即所连在一起的要素中“任一个(种)或二者”，即在某些情况下同时出现的要素，在其它情况下也可分开出现。用“和/或”列出的多个要素应该理解为以同样的方式，即“一个或多个”要素都如此连接。除了由“和/或”条款明确确定的要素外，可任选存在其它要素，而不论是否与所明确确定的那些要素相关或不相关。因此，作为非限制性实例，当与开放式语言例如“包含”一起使用时，提及“A和/或B”可指以下情况：在一个实施方案中，仅指A (任选包括除B以外的要素)；在另一个实施方案中，仅指B (任选包括除A以外的要素)；而在又一个实施方案中，指A和B二者(任选包括其它要素)；等等。

在本说明书(包括附图和摘要)和权利要求书中所用短语“至少一个(种)”关于一个或多个要素名单而言，应该理解为意即选自在要素名单中的任一个或多个要素的至少一个要素，但不必包括要素名单里

明确列出的每个要素，并且不排除要素名单中任何要素组合。本定义同样允许任选存在除短语“至少一个”所指要素名单里明确确定的要素外的要素，而不论是否与所明确确定的那些要素相关或不相关。因此，作为非限制性实例，“至少 A 和 B 中的一个”(或同等内容的“至少 A 或 B 中的一个”或同等内容的“至少 A 和/或 B 中的一个”)可指以下情况：在一个实施方案中，是指至少一个(任选包括不止一个) A，且没有 B 存在(任选包括除 B 以外的要素)；在另一个实施方案中，指至少一个(任选包括不止一个) B，且没有 A 存在(任选包括除 A 以外的要素 A)；在又一个实施方案中，是指至少一个(任选包括不止一个) A 和至少一个(任选包括不止一个) B (任选包括其它要素)；等等。

还应该理解的是，除非明确指出与此相反，否则在本文要求保护的包括超过一个步骤或动作的任何方法中，方法的步骤或动作次序不一定限于本文中所记载的方法的步骤或动作次序。

在权利要求书和本说明书(包括附图和摘要)中，所有过渡短语例如“包含”、“包括”、“带有”、“具有”、“含有”、“涉及”、“拥有”、“涵盖”等应该理解为开放式的，即意味着包括但不限于。只有过渡短语“由.....组成”和“基本上由.....组成”应该分别是封闭式或半封闭式的过渡短语，参见美国专利局专利审查程序手册(Manual of Patent Examining Procedures)第 2111.03 节。

当使用关于治疗剂或其它物质时，术语“持续释放”为本领域所认可。例如，与弹丸型给药形成对比(其中整个物质的量一次性为生物所利用)，随时间释放物质的主题组合物可表现出持续释放的特性。

术语“泊洛沙姆(poloxamer)”是指由其两个末端羟基都聚氧乙基化的 PPG 核心组成，即其符合可交换通式$(PEG)_X$-$(PPG)_Y$-$(PEG)_X$ 和$(PEO)_X$-$(PPO)_Y$-$(PEO)_X$ 的对称嵌段共聚物。每种泊洛沙姆名称都以任意数字编号结尾，该数字与由 X 和 Y 表示的相应单体单位的平均数值有关。

术语“泊洛沙胺(poloxamine)”是指符合通式

$[(PEG)_X\text{-}(PPG)_Y]_2\text{-}NCH_2CH_2N\text{-}[(PPG)_Y\text{-}(PEG)_X]_2$ 的乙二胺的聚烷氧基化对称嵌段共聚物。每种泊洛沙胺名称后面跟着任意数字编号，该数字与由 X 和 Y 表示的相应单体单位的平均数值有关。

本文所用术语“逆向热敏聚合物(reverse thermosensitive polymer)”是指在环境温度下可溶于水、但在生理温度下至少部分从水相分离出来的聚合物。逆向热敏聚合物包括例如泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 188、Pluronic® F127、Pluronic® F68、聚(N-异丙基丙烯酰胺)、聚(甲基乙烯基醚)、聚(N-乙烯基己内酰胺)；和某些聚(有机膦腈)。参见 B.H. Lee 等“(Synthesis and Characterization of Thermosensitive Poly(organophosphazenes) with Methoxy-Poly(ethylene glycol) and Alkylamines as Side Groups (热敏聚(有机膦腈)与作为侧基的甲氧基-聚(乙二醇)和烷基胺的合成及表征),” *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, *23*, 549-554。

术语“逆向胶凝”和“逆向热敏”是指聚合物的性质，其中当温度上升而不是下降时发生胶凝化。

术语“转变温度”是指逆向热敏聚合物发生胶凝化的温度或温度范围。

本文所用术语“可降解”是指具有在某些条件下分解或降解(例如溶解)的性质。

短语“多分散指数”是指特定聚合物的“重均分子量”与“数均分子量”之比值；它反映聚合物样品中个体分子量的分布。

短语“重均分子量”是指聚合物分子量的特殊量度标准。重均分子量如下计算：测量多个聚合物分子的分子量；求出这些重量的平方和；再除以分子的总重量。

短语“数均分子量”是指聚合物分子量的特殊量度标准。数均分子量是各个聚合物分子的分子量的简单平均值。通过测量 n 个聚合物分子的分子量，把这些重量相加后的和除以 n 来确定。

本文所用术语“生物相容性”是指在活组织中不产生有毒、有害

反应或免疫学反应而具有生物学上相容的性质。

本文所用“冷袋(cold-packs)”是含有由易碎密封物分开的化学药品的两个容器。当密封物破裂时，来自分开容器中的内容物开始反应，从周围环境吸收能量，形成冷却效果。可在冷袋中混合的化学药品的实例有硝酸铵和水。在某些实施方案中，冷袋具有两层密封袋，一层在另一层的里面。外面的袋子由厚而结实的塑料制成。它装有硝酸铵和第二个塑料袋。第二个(里面的)袋子由薄而不结实的塑料制成并装有水。当袋子受到挤压时，里面的袋子破裂，水与粉末混合形成冷却效果。

术语“止血”指中断通过身体血管或器官的血流。止血通常指阻止出血，而不论其是正常血管收缩(血管壁暂时闭合)、异常阻塞(例如斑块)还是凝血或外科手段(例如结扎)。本文所用止血通过使用瞬时凝胶以形成阻塞来达到。

上述聚合物、亚单位和其它组合物涵盖的等同内容物包括这样的材料，它们其它方面与上述材料符合，具有与其相同的一般性质(例如生物相容)，其中可对取代基实施一种或多种简单修饰，这种改变不会负面地影响这样的分子达到其预定目的的功效。一般而言，可通过例如下述方法或通过其修改，用易于得到的原料、试剂和常规合成程序来制备本发明化合物。在这些反应中，还有可能利用其本身已知但在此处没有提及的变体。

所选择的应用：本发明一个方面涉及用于部分肾切除术的组合物、方法和药盒，它们可在手术期间防止肾表面出血并缩短热缺血时间，导致患者结果改进。尽管部分肾切除术由于其肾保留效果而对患者有益处，但当前所有肾切除术中仅有大约 12%为部分肾切除术。这种情况部分是由于手术期间遇到的技术难度。B. A. Kletscher 等，“Nephron-Sparing laparoscopic surgery: techniques to control the renal pedicle and manage parenchymal bleeding (保留肾单位腹腔镜手术：控制肾蒂和处理软组织出血的技术),” *J Endourol* **1995**, *9*, 23；和 W. C.

Huang 等，“Chronic kidney disease after nephrectomy in patients with renal cortical tumors: a retrospective cohort study (肾皮质肿瘤患者在肾切除术后的慢性肾病回顾性群组研究),” *The Lancet Oncology* **2006**, *7(9)*, 735-740。尽管在已出版的文献中有无数控制肾表面出血的尝试，但所有控制出血的尝试都是在肾表面施用药物或能量，这些保留肾单位手术方法中如果不是所有也是大部分会遭遇到两个已经确定的技术难题中的至少一个：需要缩短热缺血时间到最好少于 20 分钟；需要充分止住肾表面出血。后一方面对于无血区的需求通过泌尿科手术朝着遥控设备和微创技术的趋势而加强了，此时即使少量血液也可严重限制可见度。R.G. Uzzo, A.C. Novick, “Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes (肾肿瘤的保留肾单位手术：适应症、技术和效果),” *J. of Urol.* **2001**, *166*, 6-18。

在某些实施方案中，为了用这些微创技术减少失血和缩短手术时间，本发明方法将瞬时凝胶与使用遥控设备及和腹腔镜技术联用。

在其它实施方案中，本发明灌注器官止血法还可用于使其它器官手术或介入程序简化或成为可能，其它手术例如肝脏手术(例如部分肝切除术)、前列腺手术(例如全部或部分前列腺切除术)、脑手术、子宫手术、脾脏手术和任何高度血管化器官的任何手术。在某些实施方案中，所述用于灌注器官止血法的组合物、方法和药盒可用于对硬化动脉的介入、对钙化血管的介入以及很多其它手术和介入用途。

本发明瞬时凝胶：在某些实施方案中，本发明灌注器官止血法可通过使用在体内形成凝胶然后溶解或被溶解的聚合物来完成，该等聚合物是例如在温度、pH、压力作用下或作为化学反应或生物学反应的结果在体内形成凝胶的其它逆向热敏聚合物和任何聚合物溶液或聚合物组合。在其它实施方案中，用于本发明方法的瞬时凝胶为可交联的聚合物。在某些实施方案中，瞬时凝胶可原位产生。在某些实施方案中，瞬时凝胶可为非组织黏合剂。

在某些实施方案中，将聚合物溶液和交联剂溶液这两种溶液分开

注入(例如通过双腔导管)到生物内腔中，它们在其中胶凝化形成瞬时凝胶。所述聚合物溶液可包含阴离子型聚合物、阳离子型聚合物或非离子型可交联聚合物。这样的聚合物可包括一种或多种以下物质：藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠(sodium gellan)、胶酸钾、羧甲基纤维素、透明质酸和聚乙烯醇。可用阴离子型交联离子、阳离子型交联离子或非离子型交联剂完成聚合物交联以形成聚合物凝胶。交联剂包括但不限于一种或多种以下物质：磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、己二酸盐、草酸盐、钙盐、镁盐、钡盐和锶盐。示例性的成对聚合物和交联剂包括阴离子型聚合物单体与阳离子，例如藻酸盐与钙、钡或镁；胶质酸与钙、镁或钡；或透明质酸与钙。示例性的成对非离子型聚合物与化学交联剂的实例为聚乙烯醇与硼酸盐(在稍微偏碱性的 pH 时)。

一般而言，可以以液态形式给予在体温或体温左右时为凝胶的用于本发明方法的聚合物。在某些实施方案中，本发明聚合物组合物可为能变形的或易流动的物质。“易流动的”意即在体温时随时间呈现含有其的空间形状的能力。例如，这种特征包括适于以下情况的液态组合物：用手动操作的安装有例如针头的注射器注射；或通过导管递送。术语“易流动的”同样涵盖在室温时高度粘性的凝胶样材料，其可通过倒入、从管子挤出或用任何一种市售动力注射装置递送到所需部位，这种动力注射装置提供比单用手动方式施加的压力更大的注入压力。当所用聚合物本身易流动时，本发明聚合物组合物即使有粘性也不必包括易流动的生物相容性溶剂，尽管可能存在痕量或残留量的生物相容性溶剂。

另外，在某些实施方案中，本发明瞬时凝胶可为一种或多种逆向热敏聚合物的水溶液。这些聚合物溶液在低于体温时为液态，在体温左右时为凝胶。在某些实施方案中，在身体外部(即低于体温的温度)制备聚合物溶液。可进一步冷却聚合物溶液以延长当将其引入身体后凝胶处于液态形式的时间。优选温度为比聚合物溶液的胶凝温度低约

10℃。在某些实施方案中，与本发明方法联合使用的瞬时凝胶可包括具有逆向热胶凝性质的嵌段共聚物。该嵌段共聚物可还包括聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物，例如生物可降解、生物相容性的聚环氧乙烷和聚环氧丙烷共聚物。逆向热敏聚合物还可包括一种或多种添加物；例如，可将治疗剂加入到逆向热敏聚合物中。

在某些实施方案中，嵌段共聚物的分子量范围为约 2,000 道尔顿至约 1,000,000 道尔顿，更特别地至少约 10,000 道尔顿，甚至更准确地为至少约 25,000 道尔顿，或者甚至至少约 50,000 道尔顿。在某些实施方案中，嵌段共聚物的分子量介于约 5,000 道尔顿至约 30,000 道尔顿之间。在某些实施方案中，逆向热敏聚合物的分子量可介于约 1,000 道尔顿至约 50,000 道尔顿之间，或介于约 5,000 道尔顿至约 35,000 道尔顿之间。在其它实施方案中，合适的逆向热敏聚合物(例如泊洛沙姆或泊洛沙胺)的分子量可以例如介于约 5,000 道尔顿至约 25,000 道尔顿之间，或介于约 7,000 道尔顿至约 20,000 道尔顿之间。数均分子量(M_n)也可变化，但通常应落在约 1,000 道尔顿至约 400,000 道尔顿范围内，在某些实施方案中，为约 1,000 道尔顿至约 100,000 道尔顿，在其它实施方案中，为约 1,000 道尔顿至约 70,000 道尔顿。在某些实施方案中，M_n 在约 5,000 道尔顿和约 300,000 道尔顿之间变化。

在某些实施方案中，聚合物呈水溶液。例如，典型的水溶液含有约 5%至约 30%的聚合物，优选约 10%至约 25%。给予哺乳动物的逆向热敏聚合物制剂的 pH 通常为约 6.0 至约 7.8，其为用于注射到哺乳动物体内的合适的 pH 水平。可通过任何合适的酸或碱，例如盐酸或氢氧化钠，来调整 pH 水平。

在某些实施方案中，本发明的逆向热敏聚合物是泊洛沙姆类或泊洛沙胺类。Pluronic®聚合物具有独特的表面活性剂能力和极低的毒性及免疫原性反应。这些产品的急性口服毒性和皮肤毒性均很低，引起刺激或过敏的可能性也很低，所以一般慢性和亚慢性毒性很低。实际

上，Pluronic®聚合物是 FDA 已经批准直接用于医药应用和作为食品添加剂的少数表面活性剂之一。参见 BASF (1990) Pluronic® & Tetronic® Surfactants, BASF Co., Mount Olive, N.J.。最近，业已发现几种 Pluronic®聚合物可提高药物的治疗效果和由腺病毒介导的基因转移效率。K. L. March, J. E. Madison 和 B.C. Trapnell, "Pharmacokinetics of adenoviral vector-mediated gene delivery to vascular smooth muscle cells: modulation by poloxamer 407 and implication for cardiovascular gene therapy (腺病毒载体介导基因递送到血管平滑肌细胞的药代动力学: 由泊洛沙姆 407 调节及用于心脏血管基因治疗的意义)," *Hum Gene Therapy* **1995**, *6*, 41-53。

有趣的是，泊洛沙姆(或 Pluronics)作为非离子表面活性剂广泛用于多种工业应用。参见例如 Nonionic Surfactants: polyoxyalkylene block copolymers (非离子表面活性剂: 聚氧化烯嵌段共聚物), 第 60 卷, Nace VM, Dekker M (编著), New York, 1996，第 280 页。它们的表面活性剂性质一直用于去污、分散、稳定、起泡和乳化方面。A. Cabana, A. K. Abdellatif 和 J. Juhasz, "Study of the gelation process of polyethylene oxide. polypropylene oxide-polyethylene oxide copolymer (poloxamer 407) aqueous solutions (聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷共聚物(泊洛沙姆 407)水溶液的胶凝过程研究)." *Journal of Colloid and Interface Science* **1997**, *190*, 307-312。某些泊洛沙胺(例如泊洛沙胺 1307 和 1107)也具有逆向热敏性。

重要的是，这类聚合物的几个成员泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 338、泊洛沙胺 1107 和泊洛沙胺 1307 在生理温度范围内显示逆向热敏性。Y. Qiu 和 K. Park, "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery (用于递药的环境敏感性水凝胶)." *Adv Drug Deliv Rev* **2001**, *53(3)*, 321-339；和 E. S. Ron 和 L. E. Bromberg, "Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery (用于蛋白质和肽递送的温度响应凝胶和热胶凝聚合物基质)," *Adv Drug Deliv Rev* **1998**, *31(3)*, 197-221。换言之，

这些聚合物是在低温时可溶于水溶液但在较高温度时呈凝胶状的一类物质的成员。泊洛沙姆 407 是一种生物相容性聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物，平均分子量约为 12,500，具有约 30%聚氧丙烯部分；泊洛沙姆 188 具有约 8400 的平均分子量和约 20%的聚氧丙烯部分；泊洛沙姆 338 具有约 14,600 的平均分子量和约 20%的聚氧丙烯部分；泊洛沙胺 1107 的平均分子量约为 14,000，泊洛沙胺 1307 的平均分子量约为 18,000。这种类型的聚合物也称为逆向胶凝剂，因为其粘度随温度升高而增加，随温度降低而减小。当无论什么时候需要处理处于流体状态(优选处于胶凝状态或粘性更大的状态)的物质时，这样的逆向胶凝系统很有用。如上所述，某些聚(氧化乙烯)/聚(氧化丙烯)嵌段共聚物具有这些性质；它们可作为 Pluronic®泊洛沙姆和 Tetronic®泊洛沙胺(BASF, Ludwigshafen, Germany)市购，通常分别称为泊洛沙姆和泊洛沙胺。参见美国专利第 4,188,373 号、第 4,478,822 号和第 4,474,751 号；它们都在此引作参考。

市购泊洛沙姆和泊洛沙胺的平均分子量范围为约 1,000 至大于 16,000 道尔顿。因为泊洛沙姆是连续系列反应的产物，所以各个泊洛沙姆分子的分子量形成了平均分子量左右的统计学分布。另外，市购泊洛沙姆含有基本量的聚(氧乙烯)均聚物和聚(氧乙烯)/聚(氧丙烯)二嵌段共聚物。随着泊洛沙姆组成嵌段的分子量的增加，这些副产物的相对量也增加了。这些副产物可视不同制造商构成市售聚合物总质量的约 15%至约 50%。

可用分级分离水溶性聚合物的方法来纯化逆向热敏聚合物，该方法包括以下步骤：将已知量的聚合物溶于水中，将可溶性萃取盐加入到聚合物溶液中，让该溶液在恒定的最佳温度下保持足以发生两个不同相的时间，物理上分离各相。另外，可用水将含有优选分子量的聚合物部分的相稀释到原始体积，可加入萃取盐达到原始浓度，如需要重复该分离过程，直到聚合物的分子量分布比原料窄，因此可获得最佳的物理性质。

在某些实施方案中，纯化的泊洛沙姆或泊洛沙胺的多分散指数为约 1.5 至约 1.0。在某些实施方案中，纯化的泊洛沙姆或泊洛沙胺的多分散指数为约 1.2 至约 1.0。

前述过程由形成含水两相系统组成，该系统包括在水中的聚合物和合适盐。在这样的系统中，可将可溶性盐加入到单相聚合物-水系统中以诱导相分离，得到高盐低聚合物的下层相和低盐高聚合物的上层相。较低分子量的聚合物优先分配到高盐低聚合物相。可用该方法分离的聚合物包括聚醚、二醇类(例如聚(乙二醇)和聚(氧化乙烯))、聚氧化烯嵌段共聚物(例如泊洛沙姆、泊洛沙胺和聚氧丙烯/聚氧丁烯共聚物)和其它多元醇(例如聚乙烯醇)。这些聚合物的平均分子量范围可为约 800 道尔顿至大于 100,000 道尔顿。参见美国专利第 6,761,824 号(在此引作参考)。前述纯化过程内在地利用了泊洛沙姆分子、聚(氧乙烯)均聚物和聚(氧乙烯)/聚(氧丙烯))二嵌段副产物之间大小和极性上的差异并由此利用了其溶解性的差异。泊洛沙姆的极性部分通常包括低分子量部分和副产物，将它们去掉使得可以回收到泊洛沙姆的较高分子量部分。通过这种方法回收的较大分子量的泊洛沙姆具有与原料或市购泊洛沙姆明显不同的物理性质，这些性质包括平均分子量较高、多分散性较低和在水溶液中的粘度较高。

可使用其它纯化方法达到所需结果。例如，WO 92/16484 (在此引作参考)公开了利用凝胶渗透色谱来分离泊洛沙姆 188 部分，该部分表现出有益生物学作用，不引起潜在的毒副作用。由此获得的共聚物的多分散指数为 1.07 或小于 1.07，并基本上饱和。经证明潜在的有害副作用与聚合物的低分子量、不饱和部分有关，同时医学上有益效果在于均一的较高分子量物质。通过纯化在共聚物合成期间的聚氧丙烯中心嵌段物或共聚物产物本身来获得其它同样改进的共聚物(例如美国专利第 5,523,492 号和美国专利第 5,696,298 号；二者都在此引作参考)。

另外，如美国专利第 5,567,859 号(在此引作参考)所公开，已经将超临界流体萃取技术用于分级分离聚氧化烯嵌段共聚物。获得纯化的

部分，其包含多分散性小于 1.17 的相当均一的聚氧化烯嵌段共聚物。按照本方法，在保持压力为每平方英寸 2200 磅(2200 磅/psi)和温度为 40℃的二氧化碳流中除掉了分子量较低的部分。

另外，美国专利第 5,800,711 号(在此引作参考)公开了用于分级分离聚氧化烯嵌段共聚物的方法，该方法用盐萃取和液相分离技术逐批除去低分子量物质。用该方法分离泊洛沙姆 407 和泊洛沙姆 188。在每一种情况下，都获得具有比原料平均分子量更高和多分散指数更低的共聚物部分。然而，多分散指数的变化是适度的，凝胶渗透色谱分析指出保留了少许低分子量物质。在 10℃和 37℃温度之间，分级分离的聚合物的水溶液的粘度明显超过市购聚合物的粘度，这是要用于某些医学和递药应用的重要性质。然而，认为这些聚合物的少许低分子量污染物用于体内时会引起毒副作用，这使得在分级分离过程中将它们除去变得特别重要。因而，用这种方法分离的聚氧化烯嵌段共聚物并不是对所有医学应用都合适。

先前的工作已经证明，在 19℃形成固态胶的 22%泊洛沙姆 407 溶液可使肾内血流停止。J. Raymond, A. Metcalfe, I. Salazkin 和 A. Schwarz, "Temporary vascular occlusion with poloxamer 407 (泊洛沙姆 407 的暂时性血管闭塞)," *Biomaterials* **2004**, *25*, 3983。如上所述，逆向热敏聚合物泊洛沙姆 407 是泊洛沙姆聚合物家族的成员，该家族是众所周知的水溶性聚合物表面活性剂，广泛用于多种工业及医学应用。然而，本发明聚合物开发用于不同的目的，即用在较小较凉的表面暴露动脉进行止血，对于某些实施方案，注入实体器官的压力可能太低了，因为在初始动物实验期间所需要的注射压力相当大(结果未显示)。因此，对于某些实施方案，例如在正常体温时用于软组织内暂时止血与施用于肾时相比，可能有不同的理想的逆向热敏聚合物。在某些实施方案中，可优选转变温度较高的聚合物。在某些实施方案中，优选转变温度约 30℃的聚合物。

可以用多种方法改变逆向热敏聚合物的转变温度。例如，可通过

加入改变转变温度的添加物或通过开发改性聚合物来改变转变温度。转变温度可受多种添加物影响，例如加入的药用脂肪酸赋形剂，例如油酸钠、月桂酸钠或癸酸钠。其它可能的药用赋形剂可为溶剂，例如：水；醇类，尤其是 C_1-C_5 醇，例如乙醇、正丙醇、2-丙醇、异丙醇、叔丁醇；醚类，例如 MTBE；酮类，例如丙酮、甲基乙基酮；保湿剂，例如丙三醇；二醇类，例如乙二醇、丙二醇；乳化剂，例如任选与长链(C_{12}-C_{24})脂肪酸部分地酯化的低级多羟基 C_1-C_5 醇(例如单硬脂酸甘油酯、肉豆蔻酸异丙酯)、糖醇的脂肪酸酯(例如山梨坦单脂肪酸酯、这样的化合物的聚乙氧基化衍生物)、聚乙氧基乙烯脂肪酸酯和脂肪醇醚、胆固醇、十六烷基硬脂醇、羊毛蜡醇和具有低 HLB 值的人工合成表面活性剂；增溶剂，例如卡波普(carbopol)；低粘度石蜡、甘油三酯；亲脂性物质，例如肉豆蔻酸异丙酯；pH 调节剂，例如 TEA、碳酸盐和磷酸盐；螯合剂，例如 EDTA 及其盐；和防腐剂。此外，已知加入其它泊洛沙姆以形成泊洛沙姆混合物可影响转变温度。

达到较高转变温度的另一方法是使用其它泊洛沙姆例如 288 和 188。除了它们为逆向热敏性外，关于这些这些泊洛沙姆的转变温度没有文献报道。图 5 中的表 2 列出了多种逆向热敏聚合物溶液及其胶凝温度。

可通过测定各种浓度的聚合物和赋形剂的含水聚合物溶液的粘度对温度的曲线来研究提高转变温度的方法。对于某些实施方案，将在体外评价时具有转变温度提高的聚合物溶液所需的注入压力，然后将在体内用部分肾切除术猪模型开始评价聚合物溶液的最低注入压力。

在某些实施方案中，为了有助于看得清，可将对比增强剂加入到瞬时凝胶中。示例性对比增强剂有造影剂(radiopaque materials)、顺磁材料、重原子、过渡金属、镧系元素、锕系元素、染料和含放射性核素的材料。

精选的治疗剂：用于本发明方法的逆向胶凝聚合物具有使得它们

成为适于递送常规小分子药物以及大分子(例如肽)药物或其它治疗剂的媒介物的理化性质。因此，包含热敏聚合物的组合物可还包含提供预先选择的药物效果的所选药物。药物效果是寻求预防或治疗疾病源或症状或身体不适的效果。药物包括那些符合 FDA 药物指南规则的产品。重要的是，本发明方法所用的组合物能够使生物活性材料溶解并释放。作为在大量水相中溶解的结果，或通过将溶质掺入到由泊洛沙姆的疏水域形成的胶束中，预期出现增溶。药物可通过扩散或网状侵蚀机理发生释放。

本领域技术人员应该理解，本发明方法中使用的组合物可用于将多种药物同时递送到创伤部位。为了制备药物组合物，可将给予所需药物效果的有效量的药物活性剂掺入到用于本发明方法的逆向胶凝组合物中。所选药物优选为水溶性的，这将有助于使其本身在逆向胶凝组合物中作为均一分散体。还优选该药物和组合物在一起不会起反应。对于非水溶性的材料，将亲脂性的物质分散或悬浮于整个组合物中也在本发明方法范围内。用本发明方法可递送众多生物活性材料；所递送的生物活性材料包括麻醉剂、抗微生物药物(抗细菌、抗真菌、抗病毒)、抗炎药、诊断用药和创伤修复剂。

因为用于本发明方法的逆向胶凝组合物适于在多种环境条件下施用，因而可将多种药物活性剂掺入其中并经由该组合物给予。载入热敏聚合物的聚合物网络的药物可为具有生物学活性的任何物质，包括蛋白质、多肽、多核苷酸、核蛋白、多糖、糖蛋白、脂蛋白及其人工合成和生物工程改造的类似物。

大量治疗剂可掺入到用于本发明方法的聚合物中。一般而言，可经由本发明方法给予的治疗剂包括但不限于：抗感染药，例如抗生素和抗病毒药；镇痛药和镇痛药组合；食欲抑制药；抗寄生虫药；抗关节炎药；平喘药；抗惊厥药；抗抑郁药；抗利尿药；止泻药；抗组胺药；抗炎药；抗偏头痛药；止恶心药；抗肿瘤药；抗帕金森氏症药；止痒药；抗精神病药；退热药、解痉药；抗胆碱能药；拟交感神经药；

黄嘌呤衍生物；心血管药(包括钙通道阻滞药和β受体阻滞药，例如吲哚洛尔(pindolol))和抗心律失常药；抗高血压药；利尿药；扩血管药，血管包括主冠状动脉、外周血管和脑血管；中枢神经系统兴奋剂；咳嗽及感冒用药，包括减充血药；激素类药，例如雌二醇和其它类固醇类，包括皮质类固醇类；催眠药；免疫抑制药；肌肉松弛药；抗副交感神经阻滞药；精神振奋药；镇静药；安定药；和来自天然或遗传工程改造的蛋白质、多糖、糖蛋白或脂蛋白。适于胃肠外给药的药物众所周知，参见 Handbook on Injectable Drugs (注射药物手册), 第 6 版, Lawrence A. Trissel 主编, 美国医院药剂师学会, Bethesda, Md., 1990 (在此引作参考)。

药物活性化合物可为具有生物学活性的任何物质，包括蛋白质、多肽、多核苷酸、核蛋白、多糖、糖蛋白、脂蛋白及其人工合成和生物工程改造的类似物。术语“蛋白质”为本领域所认可，为本发明目的还涵盖肽。蛋白质或肽可为天然存在的或人工合成的任何生物活性蛋白质或肽。

蛋白质的实例包括抗体、酶、生长激素和生长激素-释放激素、促性腺激素-释放激素及其激动剂和拮抗剂类似物、生长激素抑制素及其类似物、促性腺激素例如促黄体生成激素和促卵泡激素、肽 T、降钙素、甲状旁腺激素、胰高血糖素、血管加压素、催产素、血管紧张素 I 和 II、缓激肽、胰激肽、促肾上腺皮质激素、促甲状腺激素、胰岛素、胰高血糖素和前述分子的众多类似物及同类分子。药物可选自胰岛素，选自以下的抗原：MMR (腮腺炎、麻疹和风疹)疫苗、伤寒疫苗、甲型肝炎疫苗、乙型肝炎疫苗、单纯疱疹病毒、细菌类毒素、霍乱毒素 B 亚单位、流感疫苗病毒、百日咳病毒、痘苗病毒、腺病毒、金丝雀痘、脊髓灰质炎疫苗病毒、恶性疟原虫、卡介苗(BCG)、肺炎克氏杆菌、HIV 外膜糖蛋白和细胞因子(cytokins)；和选自以下的其它药物：牛生长激素(有时称为 BST)、雌激素、雄激素、胰岛素生长因子(有时称为 IGF)、白介素 I、白介素 II 和细胞因子。三种这样的细胞因子为

干扰素-β、干扰素-γ和促吞噬肽(tuftsin)。

可掺入到用于本发明方法的组合物中的细菌类毒素实例为破伤风、白喉、假单胞菌 A、结核分枝杆菌等的类毒素。可掺入到用于本发明闭塞方法的组合物中的实例为用于 AIDS 疫苗的 HIV 包膜糖蛋白，例如 gp 120 或 gp 160。可包括的抗溃疡 H2 受体拮抗剂实例为雷尼替丁(ranitidine)、西咪替丁(cimetidine)和法莫替丁(famotidine)，其它抗溃疡药为奥美拉唑(omparazide)、cesupride 和米索前列醇(misoprostol)。降血糖药的实例为格列吡嗪(glizipide)。

可掺入到用于本发明闭塞方法的组合物中的可被载入的药物活性化合物类别包括但不限于：抗 AIDS 药、抗癌药、抗生素、免疫抑制药(例如环孢菌素(cyclosporine))、抗病毒药、酶抑制剂、神经毒素、阿片类药、催眠药、抗组胺药、润滑剂、安定剂、抗惊厥药、肌肉松弛药和抗帕金森氏症药、解痉药和肌肉收缩药(muscle contractant)、缩瞳药和抗胆碱能药、抗青光眼化合物、抗寄生虫化合物和/或抗原生动物化合物、抗高血压药、镇痛药、退热药和抗炎药例如 NSAID、局部麻醉剂、眼科用药、前列腺素、抗抑郁药、抗精神病物质、止吐药、成像剂、特定靶向的药物、神经递质、蛋白质、细胞反应修饰剂(cell response modifier)和疫苗。

认为特别适于掺入到用于本发明方法的组合物中的示例性药物包括但不限于：咪唑类，例如咪康唑(miconazole)、益康唑(econazole)、特康唑(terconazole)、沙康唑(saperconazole)、伊曲康唑(itraconazole)、甲硝唑(metronidazole)、氟康唑(fluconazole)、酮康唑(ketoconazole)和克霉唑(clotrimazole)；促黄体生成-激素-释放激素(LHRH)及其类似物、壬苯醇醚-9、GnRH 激动剂或拮抗剂；天然或人工合成的孕激素类药(progestrin)，例如精选黄体酮、17-羟基黄体酮衍生物，例如醋酸甲羟孕酮和 19-去甲睾酮类似物，例如炔诺酮；天然或人工合成的雌激素、结合雌激素、雌二醇、硫酸哌嗪雌酮(estropipate)和炔雌醇；双膦酸盐类，包括依替膦酸盐(etidronate)、阿仑膦酸盐(alendronate)、替鲁膦酸

盐(tiludronate)、利塞膦酸盐(resedronate)、氯膦酸盐(clodronate)和帕米膦酸盐(pamidronate)；降钙素、甲状旁腺激素；碳酸酐酶抑制剂，例如非尔氨酯(felbamate)和多佐酰胺(dorzolamide)；肥大细胞稳定剂，例如 xesterbergsterol-A、lodoxamine 和色甘酸；前列腺素抑制剂，例如双氯芬酸(diclofenac)和酮咯酸(ketorolac)；类固醇，例如泼尼松龙(prednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、氟甲松龙(fluromethylone)、利美索龙(rimexolone)和氯替泼诺(lotepednol)；抗组胺药，例如安他唑啉(antazoline)、非尼拉敏(pheniramine)和组胺酶(histiminase)、硝酸毛果芸香碱(pilocarpine nitrate)；β 受体阻滞药，例如左旋布诺洛尔(levobunolol)和马来酸噻吗洛尔(timolol maleate)。如本领域技术人员所理解，两种或更多种药物可联合用于特定效果。可通过简单的实验来确定活性成分的必需量。

仅为了举例，许多抗生素和抗菌药中的任何一种都可包括在本发明方法所用的热敏聚合物中。优选包含在用于本发明闭塞方法的组合物中的抗微生物药物包括以下药物的盐类：内酰胺类药、喹诺酮类药、环丙沙星(ciprofloxacin)、诺氟沙星(norfloxacin)、四环素(tetracycline)、红霉素(erythromycin)、阿米卡星(amikacin)、三氯生(triclosan)、多西环素(doxycycline)、卷曲霉素(capreomycin)、氯己定(chlorhexidine)、金霉素(chlortetracycline)、土霉素(oxytetracycline)、克林霉素(clindamycin)、乙胺丁醇(ethambutol)、羟乙磺酸己脒定(hexamidine isethionate)、甲硝唑、喷他脒(pentamidine)、庆大霉素(gentamicin)、卡那霉素(kanamycin)、林可霉素(lineomycin)、甲烯土霉素(methacycline)、乌洛托品(methenamine)、米诺环素(minocycline)、新霉素(neomycin)、奈替米星(netilmicin)、巴龙霉素(paromomycin)、链霉素(streptomycin)、妥布霉素(tobramycin)、咪康唑和金刚烷胺(amanfadine)等等。

仅为了举例，在抗炎情况下，非类固醇抗炎药(NSAIDS)可掺入到用于本发明闭塞方法的组合物中，例如丙酸衍生物、乙酸、芬那酸(fenamic acid)衍生物、联苯甲酸衍生物、昔康类(oxicams)，包括但不

限于：阿司匹林(aspirin)、对乙酰氨基酚(acetaminophen)、布洛芬(ibuprofen)、萘普生(naproxen)、苯噁洛芬(benoxaprofen)、氟比洛芬(flurbiprofen)、芬布芬(fenbufen)、酮洛芬(ketoprofen)、吲哚洛芬(indoprofen)、吡洛芬(pirprofen)、卡洛芬(carporfen)和布氯酸(bucloxic acid)等等。

注入系统：递送系统可以用于促进和控制逆向热敏聚合物组合物的注入。理想情况是，注入系统使在注入前切开动脉的需要最小化。另外，在建立最佳注入系统过程中，确定用于通过各种直径的针注入液态形式的聚合物同时保持每秒 0.5 mL 的流速所需的拇指压力可能有帮助。弹性测试仪器(例如 Instron®)可用于测量按压活塞所需压力和得到的压缩速率。

在某些实施方案中，使用可在手术室中用标准非侵入系统于脉管中检测的套管(例如便携式超声)将帮助核实该套管是否正确置于肾动脉中。导管可为扩张性导管。在一个实施方案中，导管尺寸为 3-10 French，更优选 3-6 French。在另一个实施方案中，导管可用于分配不同于聚合物溶液(或除聚合物溶液之外)的一种或多种流体。在所述实施方案中，导管可为多腔导管，其中一腔用于递送聚合物溶液，其它腔用于递送其它流体，例如对比剂溶液。

在另一个实施方案中，可用于将聚合物溶液注入体内的注射器或其它机械装置可为例如 1-100 cc 注射器、1-50 cc 注射器或 1-5 cc。施加给注射器的压力可由手或由自动注射器推进器来施加。在某些实施方案中，可使用为注射器提供用于注射粘性物质的辅助动力系统(例如装载弹簧锁销的辅助装置)。

药盒：本发明还提供用于方便有效地实施本发明方法的药盒。这样的药盒包括任何本发明聚合物或其组合和促进其适于本发明方法使用的工具(means)。这样的药盒还可包括冰、冷袋或其它冷却工具。这样的药盒提供用于确保以有效方式方便有效地实施本方法的工具。这样的药盒的顺应式工具包括促进本发明方法实施的任何工具。这样

的顺应式工具包括使用说明书、包装和分配工具及其组合。可包装药盒组件用于手动或部分或全部自动实施前述方法。在其它实施方案中，本发明涵盖包括本发明嵌段共聚物和任选其使用说明书的药盒。在某些实施方案中，本发明这样的药盒的逆向热敏共聚物包含在一个或多个注射器中。

本发明瞬时凝胶：本发明一个方面涉及瞬时凝胶。

在某些实施方案中，本发明涉及前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶是在哺乳动物生理温度时的凝胶。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含约 5%至约 35%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含约 10%至约 30%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.5 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.2 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自嵌段共聚物、无规共聚物、接枝共聚物和支化共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是聚氧化烯嵌

段共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆407、泊洛沙姆 288、泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 338、泊洛沙姆 118、Tetronic® 1107 或 Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是泊洛沙姆407。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆类和纯化的泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆407、纯化的泊洛沙姆288、纯化的泊洛沙姆188、纯化的泊洛沙姆 338、纯化的泊洛沙姆 118、纯化的 Tetronic® 1107 或纯化的 Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是纯化的泊洛沙姆407。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含药用脂肪酸赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述药用脂肪酸赋形剂为油酸钠、月桂酸钠或癸酸钠。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含治疗剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述治疗剂选自抗炎药、抗生素、抗菌药、化疗药、抗病毒药、镇痛药和抗增殖药。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述治疗剂是抗生素。

在某些实施方案中，本发明涉及前述方法，其中所述瞬时凝胶包含对比增强剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述方法，其中所述对比增强剂选自造影剂、顺磁材料、重原子、过渡金属、镧系元素、锕系元素、染料和含放射性核素的材料。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附

带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含阴离子型、阳离子型或非离子型可交联聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含聚合物，其选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠、胶酸钾、羧甲基纤维素、透明质酸和聚乙烯醇。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、己二酸盐、草酸盐、钙、镁、钡、锶或其组合。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠和胶酸钾的聚合物；并且还包含钙、镁或钡。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸钠或藻酸钾的聚合物；并且还包含含钙组合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自胶酸钠和胶酸钾的聚合物；并且还包含镁。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附

带限制，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸；并且还包含钙。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含聚乙烯醇；并且还包含硼酸盐。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含蛋白质，其选自胶原蛋白、明胶、弹性蛋白、白蛋白、鱼精蛋白、血纤蛋白、血纤蛋白原、角蛋白、颤蛋白(reelin)、酪蛋白及其混合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸、壳聚糖或其混合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含合成材料，其选自藻酸盐、果胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素及其混合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述瞬时凝胶和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含可交联聚合物。

本发明方法：本发明一个方面涉及在受治疗者中灌注器官止血的方法，该方法包括将呈流体的一定体积的组合物引入到与器官相通的动脉血管内的步骤，其中所述体积足以充分灌注所述器官；所述组合物在所述器官中形成瞬时凝胶。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物的体积为约 1-25 mL 或约 1-10 mL。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中经约 1-30 秒或约 2-20 秒引入所述组合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在哺乳动物生理温度时为凝胶。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含约 5%至约 35%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含约 10%至约 30%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.5 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.2 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自嵌段共聚物、无规共聚物、接枝共聚物和支化共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是聚氧化烯嵌段共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 288、泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 338、泊洛沙姆 118、Tetronic® 1107 和 Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是泊洛沙姆 407。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆类和纯化的泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙

姆407、纯化的泊洛沙姆288、纯化的泊洛沙姆188、纯化的泊洛沙姆338、纯化的泊洛沙姆118、纯化的Tetronic® 1107和纯化的Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是纯化的泊洛沙姆407。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含药用脂肪酸赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述药用脂肪酸赋形剂为油酸钠、月桂酸钠或癸酸钠。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含治疗剂。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述治疗剂选自抗炎药、抗生素、抗菌药、化疗药、抗病毒药、镇痛药和抗增殖药。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述治疗剂是抗生素。

在某些实施方案中，本发明涉及前述方法，其中所述瞬时凝胶包含对比增强剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述方法，其中所述对比增强剂选自造影剂、顺磁材料、重原子、过渡金属、镧系元素、锕系元素、染料和含放射性核素的材料。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约20℃至约50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的转变温度介于约30℃至约40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%；所述瞬时凝胶的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间；所述瞬时凝胶包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含阴离子型、阳离子型或非离子型可交联聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含聚合物，其选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠、胶酸钾、羧甲基纤维素、透明质酸和聚乙烯醇。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限

制，其中所述瞬时凝胶包含磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、己二酸盐、草酸盐、钙、镁、钡或锶。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠和胶酸钾的聚合物；和钙、镁或钡。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自藻酸、藻酸钠和藻酸钾的聚合物；和钙。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含选自胶酸钠和胶酸钾的聚合物；和镁。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸和钙。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含聚乙烯醇和硼酸盐。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含蛋白质，其选自胶原蛋白、明胶、弹性蛋白、白蛋白、鱼精蛋白、血纤蛋白、血纤蛋白原、角蛋白、颤蛋白和酪蛋白。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含透明质酸或壳聚糖。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含藻酸盐、果胶、甲基纤维素或羧甲基纤维素。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶包含可交联聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述器官是高度血管化器官。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限

制，其中所述器官是肾脏、肝脏、前列腺、脑、子宫或脾脏。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述器官是肾脏、肝脏或前列腺。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述器官是肾脏。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 20 分钟。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 30 分钟。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述瞬时凝胶的寿命为约 40 分钟。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述受治疗者是哺乳动物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述受治疗者是人。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中用注射器、套管、导管或经皮进入装置引入所述组合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中用双腔导管或三腔导管引入所述组合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述导管尺寸为 3-10 French 或 3-6 French。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述导管可用于分配不同于所述聚合物溶液(或除其以外)的一种或多种流体。例如，该导管可为多腔导管，其中一腔用于递送所述聚合物溶液，其它腔用于递送其它流体，例如对比剂溶液。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中用注射器引入所述组合物。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限

制，其中用于将聚合物溶液注入体内的注射器可为 1-100 cc 注射器、1-50 cc 注射器或 1-5 cc 注射器。施加给注射器的压力可通过手动或通过自动注射器推进器来施加。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物在引入之前冷却到约 15℃。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物在引入之前冷却到约 10℃。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物在引入之前冷却到约 5℃。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物在引入之前冷却到约 0℃。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其中所述组合物在引入之前用冰、水或冷袋进行冷却。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其还包括引入盐水以帮助所述瞬时凝胶的溶解。

在某些实施方案中，本发明涉及任何一种前述方法和任何附带限制，其还包括冷却所述器官的步骤。

本发明药盒：在某些实施方案中，本发明涉及用于灌注器官止血法的药盒，其包括使用说明书和第一容器，第一容器内装有一定体积的组合物，其中所述组合物在哺乳动物生理温度时形成瞬时凝胶。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其还包括冷袋。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其还包括注射器或套管。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含约 5%至约 35%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含约 10%至约 30%的所述逆向热敏聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.5 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物的多分散指数为约 1.2 至约 1.0。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自嵌段共聚物、无规共聚物、接枝共聚物和支化共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是聚氧化烯嵌段共聚物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 288、泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 338、泊洛沙姆 118、Tetronic® 1107 和 Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是泊洛沙姆 407。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆类和纯化的泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物选自纯化的泊洛沙姆 407、纯化的泊洛沙姆 288、纯化的泊洛沙姆 188、纯化的泊洛沙姆 338、纯

化的泊洛沙姆 118、纯化的 Tetronic® 1107 和纯化的 Tetronic® 1307。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物是纯化的泊洛沙姆 407。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含药用脂肪酸赋形剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述药用脂肪酸赋形剂为油酸钠、月桂酸钠或癸酸钠。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含治疗剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述治疗剂选自抗炎药、抗生素、抗菌药、化疗药、抗病毒药、镇痛药和抗增殖药。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述治疗剂是抗生素。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含对比增强剂。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述对比增强剂选自造影剂、顺磁材料、重原子、过渡金属、镧系元素、锕系元素、染料和含放射性核素的材料。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物的转变温度介于约 20℃至约 50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物的转变温度介于约 30℃至约 40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约 80%至约 120%。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约80%至约120%；所述组合物的转变温度介于约20℃至约50℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约80%至约120%；所述组合物的转变温度介于约30℃至约40℃之间。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约80%至约120%；所述组合物的转变温度介于约20℃至约50℃之间；所述组合物包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物在生理温度时的体积是它在其转变温度以下的体积的约80%至约120%；所述组合物的转变温度介于约30℃至约40℃之间；所述组合物包含至少一种任选纯化的逆向热敏聚合物，其选自泊洛沙姆类和泊洛沙胺类。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含阴离子型、阳离子型或非离子型可交联聚合物。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含聚合物，其选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠、胶酸钾、羧甲基纤维素、透明质酸和聚乙烯醇。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含磷酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、己二酸盐、草酸盐、钙、镁、钡或锶。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含选自藻酸、藻酸钠、藻酸钾、胶酸钠和胶酸钾的聚合物；和钙、镁或钡。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中

所述组合物包含选自藻酸、藻酸钠或藻酸钾的聚合物；和钙。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含选自胶酸钠和胶酸钾的聚合物；和镁。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含透明质酸和钙。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含聚乙烯醇和硼酸盐。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含蛋白质，其选自胶原蛋白、明胶、弹性蛋白、白蛋白、鱼精蛋白、血纤蛋白、血纤蛋白原、角蛋白、颤蛋白和酪蛋白。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含透明质酸或壳聚糖。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含藻酸盐、果胶、甲基纤维素或羧甲基纤维素。

在某些实施方案中，本发明涉及前述药盒和任何附带限制，其中所述组合物包含可交联聚合物。

实施例

参考以下实施例将更易于理解现在已一般性阐述的本发明，包括这些实施例仅为了阐明本发明某些方面和实施方案的目的，而并非意欲限制本发明。

实施例 1 -- 部分肾切除术：在 2 头猪中尝试了用逆向热敏聚合物溶液对部分肾切除术施以内部肾血管闭塞。在对猪插管并使其服用镇静剂后，从耻骨联合正上方的胸腔切开右侧腹。使右肾完全暴露，经腹膜后方法得到肾静脉、肾动脉、主动脉和腔静脉。从右髂动脉为主动脉倒插上套管，导管顶端处于最接近右肾动脉起源端的约 15 mm。将 12 ml 瞬时凝胶(20%泊洛沙姆 407)注入主动脉，该用量不足以闭塞主动脉或肾动脉，但导致肾本身的血流完全停止。15 分钟后，肾仍无

血液循环，不带血痕将肾下端切除。然后缝合肾切除端，从外面使肾冷却。

其后血流重现，肾脏恢复其正常外貌，包括右肾动脉的正常脉搏。两头猪中的肾切除术部位都没有出血，肾表面保持无血。部分肾切除术的总时间少于 10 分钟，因为手术期间不必关心出血问题。参见图 1。

实施例 2 -- 肾暴露：肾暴露的研究与以上程序相似。将导管直接插入到肾动脉。慢慢注入 1.5 ml 的聚合物产生与上述同样的缺血。在此情况下实施半肾切除术。手术再次很大程度上不流血，但在横切肾盂的主肾动脉支后，有少量聚合物凝胶渗出，接着出血了。这很容易缝合，使得易于完成半肾切除术，如上所述缝合保留下的肾。在瞬时冷却使得聚合物重新液化后，保留下的半个肾也恢复正常外貌和正常组织结构。在此情况下进行了显微镜检查，在切除的半个肾或保留下的半个肾中都没有观察到病理情况。

实施例 3 -- 样品纯化：将泊洛沙姆 407 (486.0 g，批号 WPHT-543B) (购自 BASF Corporation, Mount Olive, N.J.)溶于去离子水(15,733 g)中。将溶液保持在 0.1℃，加入 2335.1 g 的$(NH_4)_2SO_4$。在 2℃平衡溶液，形成完全不同的两相后，弃掉下层相，收集上层相并称重(2060 g)。加入去离子水(14159 g)，让溶液平衡到 2℃。接下来边搅拌边加入 2171.6 g 的$(NH_4)_2SO_4$。在该盐溶解后，让溶液保持在大约 2℃，直到形成两相。分离上层相(3340 g)并用 12879 g 去离子水稀释。让溶液冷却到约 2.2℃，加入 2062 g 的$(NH_4)_2SO_4$。如上分开各相。分离出上层相并用 4 升二氯甲烷萃取。过夜以形成两相。分离出有机(下层)相，将大约 2 kg 硫酸钠(Na_2SO_4)加入其中以除去残留的水。通过 PTFE 过滤器(0.45μm 孔径)过滤二氯甲烷相以除去未溶解的盐。在大约 30℃时真空下除去二氯甲烷。通过在约 30℃时于烤箱中过夜干燥除去最后痕量的二氯甲烷。总共收获了 297.6 g 分级分离的泊洛沙姆 407 (批号 00115001)。在图 5 的表 1 中对分级分离的泊洛沙姆 407 及其原料的化学及物理性质进行了比较。

实施例 4 -- 样品粘度的体外测定：可用带温度控制的 Brookfield 锥杯式粘度计测量粘度变化。例如，泊洛沙姆 407 的粘度变化图(图 4)清楚地表明，聚合物浓度从大约 12.5 w%直到至少 20 w%将显示溶液粘度随温度急剧增加。胶凝化的开始依赖温度，聚合物浓度越高，导致胶凝化开始得越早。此外，实验证明聚合物浓度低于大约 12.5 w%时，溶液粘度不随温度升高而增加，即使在体温时也保持液态。

这两个发现证明了纯化的逆向热敏聚合物的可能的工作原理。在特定温度(例如典型的手术室温度)时可将聚合物溶液作为软凝胶注入切开动脉中，温度升高导致形成硬凝胶。凝胶在血液中将开始溶解，并且当聚合物浓度降低时，在生理温度下没有重新固化为凝胶的任何可能性。或者，用冰或冷盐水使凝胶冷却，当温度降到低于胶凝点时，凝胶将液化。作为液态，它很快稀释到血液中，再次在生理温度时它没有重新回到凝胶的可能性。

实施例 5 – 精选的 Pluronic®和 Tetronic®聚合物溶液的胶凝温度：将聚合物称重后加到塑料管中。为了达到所需浓度，将重量乘以 4 为 25%重量(w%)，乘以 5 为 20%重量(w%)，通过加入盐水得到所需的最终重量。将溶液置于 4℃冰箱中，通常在 24 小时内准备好。用 Brookfield 粘度计测量胶凝点，将超过板/锥范围的粘度(大于约 102,000 cP)点称为胶凝温度。参见图 5 中的表 2。

实施例 6a -- 对脊椎动物的研究：动物研究可进一步支持在部分肾切除术期间用逆向热敏聚合物达到有效止血的可行性。这涉及肾的动脉系统和静脉系统以及骨髓的解剖学和生理学细节等所有方面，这些是无法在体外模型中复制的。杂食动物猪的解剖结构与人相似，藉此形成了人手术条件的最好模拟，猪肾是典型的人肾模型。M. M. Swindle 等，“Swine as models in experimental surgery (猪在实验性手术中作为模型),” *J Invest Surg.* **1988**, *l(l),* 65-79。

急性实验用农场养的普通猪进行。猪重约 30-40 kg，比人体型稍小一点，但足以评估我们的止血剂的可行性。每头猪都将实施部分肾

切除术。将评估应用本发明瞬时凝胶获得暂时性止血作用。

猪用含有乙酰丙嗪(acepromazine) (1.1 mg/kg)和阿托品(atropine) (0.05 mg/kg)的混合物作为预麻醉剂通过肌内注射来进行诱导。给予预麻醉剂 5-15 分钟后，猪用氯胺酮(ketamine) (20 mg/kg)和噻拉嗪(xylazine) (2.0 mg/kg)通过肌内(IM)注射来进行诱导。在猪达到允许气管内插管的麻醉水平后，插入管子。插管后，动物在整个准备和手术期间都将维持吸入麻醉状态(依靠半封闭的途径吸入异氟烷(isoflurane)来实现)。如果需要，将用通风设备实现辅助性通风换气。将静脉内导管在无菌条件下置于耳静脉或其它合适的血管内。

诱导麻醉后，将猪准备好，剃掉猪毛后推入手术室。如上所述为该动物通风换气。通过划分其直肌止端(rectus insertion)侧面约 1 英寸处的斜腹肌，从腹股沟韧带正上方的前缘右正中切口打开腹膜。从肾部位摺叠腹膜，露出腔静脉和主动脉。清洁肾、肾动脉和肾静脉并使其裸露。将热敏电阻置于正好最接近肾动脉的主动脉中用于监测注入时候的血液温度。

为了诱导肾暂时缺血，通过穿刺将 25 号导管引入肾动脉并往里进 1.5 cm。在实验期间一直让其留在适当位置。将注入大约 1-2 cc 聚合物。在手术前，部分基于粘度测量和聚合温度资料确定注入体积和注入速率。关于每次注入的数据包括：注入时间、注入速率、注入体积、血液温度、停止血流的时间、血流停止的完全程度、实施部分肾切除术的时间(包括切开肾表面折叠)和恢复血流的时间。这些数据将与聚合物的物理性质有关。

保持动物不动直到完全恢复血流和肾的正常外貌。然后在稳定条件下再保持一个小时，以确保保留的肾实质完全再灌注。用过量戊巴比妥和苯妥英对动物实施安乐死。将切除的肾部分和再灌注的肾部分送到显微镜下分析。处理掉剩下的猪尸体。按下述方案静脉内注入戊巴比妥钠和苯妥英将实现安乐死：药物：戊巴比妥钠和苯妥英钠；剂量：1 cc/10 磅；途径：快速静脉内注射。如果动物处于深度麻醉状态，

可静脉内给予饱和KCl溶液实现安乐死。在给予药物后，检查动物以确保呼吸功能已经停止并且没有可触知的心功能。

实施例 6b -- 用于猪麻醉的部分实验程序：下面是在实施了实施例 6a 的方法后可接着进行的部分实验方案。

动物识别：通过耳廓上的刺纹或耳牌来识别每只动物。

麻醉；#1 号选项：猪用含有泰拉瑞(Telazol) (4.4 mg/kg)、噻拉嗪(2.2 mg/kg)和阿托品(0.05 mg/kg)的混合物通过肌内注射来诱导到允许气管内插管的麻醉水平。插管后，动物在整个准备和手术期间都将维持吸入麻醉状态(依靠半封闭的途径吸入异氟烷来实现)。如果需要，将用通风设备实现辅助性通风换气。将静脉内导管在无菌条件下置于耳静脉或其它合适的血管内。

麻醉；#2 号选项：猪用含有乙酰丙嗪(1.1 mg/kg)和阿托品(0.05 mg/kg)的混合物作为预麻醉剂通过肌肉注射来进行诱导。给予预麻醉剂 5-15 分钟后，猪用氯胺酮(20 mg/kg)和噻拉嗪(2.0 mg/kg)通过肌内注射来进行诱导。在猪达到允许气管内插管的麻醉水平后，插入管子。插管后，动物在整个准备和手术期间都将维持吸入麻醉状态(依靠半封闭的途径吸入异氟烷来实现)。如果需要，将用通风设备实现辅助性通风换气。将静脉内导管在无菌条件下置于耳静脉或其它合适的血管内。

手术准备：如果是生存手术，就要实施无菌方法。用配有外科刮胡刀片的动物电动剪毛机来完成手术部位的脱毛。用真空吸尘器除去该区域剪下的所有东西和碎片，然后以交替顺序用含1%有效碘和70%异丙醇的碘伏水溶液擦洗并消毒最少 3 次。风干后用含 0.7%有效碘和74%异丙醇的溶液涂遍整个区域。将已麻醉并作好手术准备的动物送到手术台，放置在所需要的斜躺位置。用无菌手术罩将整个动物和手术台罩上。以 4-6 ml/kg/小时的维持速率给予静脉内流体治疗。

临床观察：手术后，按照兽医人员和/或主要研究者的指导意见监测温度、脉搏和呼吸率。手术后每天观察动物以确定以食物消耗、排

泄和一般姿态为基础的健康状况。每天还要观察所有动物是否存在疼痛和/或不适，需要时就给予镇痛药。

镇痛药：在手术后最初的 48 小时期间，给予丁丙诺非(buprenex)(0.01-0.02 mg/kg/IM Q 12 小时)。过了最初的 48 小时后，需要时才给予镇痛药。

安乐死：按照瓶上标签的说明进行静脉内注射戊巴比妥钠和苯妥英钠来实现安乐死。如果动物处于深度麻醉状态，可静脉内给予饱和氯化钾溶液来实现安乐死。钾离子有心脏毒性，快速静脉内或心脏内给予 1-2 mmol/kg 体重将引起心搏停止。在给予药物后，检查动物以确保呼吸功能已经停止并且没有可触知的心功能。

文献引用

本文引用的所有美国专利和美国公布的专利申请在此都引作参考。

等同实施方案

本领域技术人员只是使用常规实验就能认识到或者能够确定本文所述发明的具体实施方案的很多等同实施方案。这样的等同实施方案也落入了本发明权利要求书的范围之内。

图 1



(a)



(b)



(c)

图 2

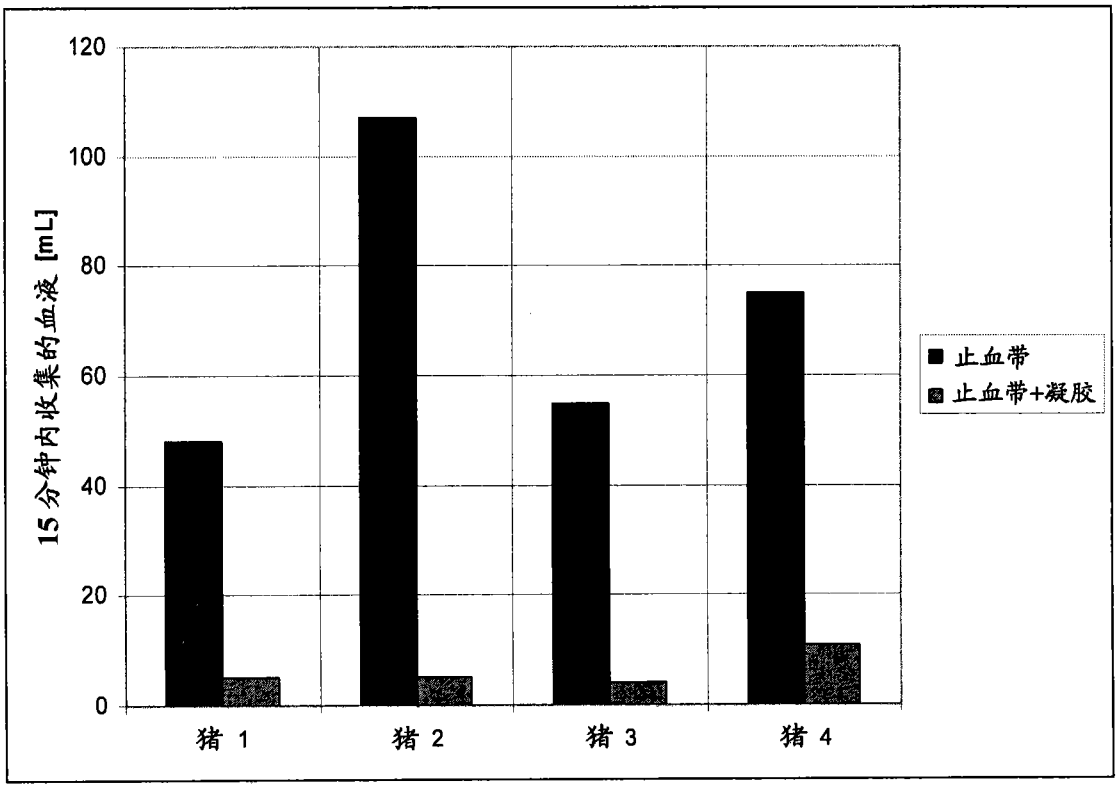


图 3

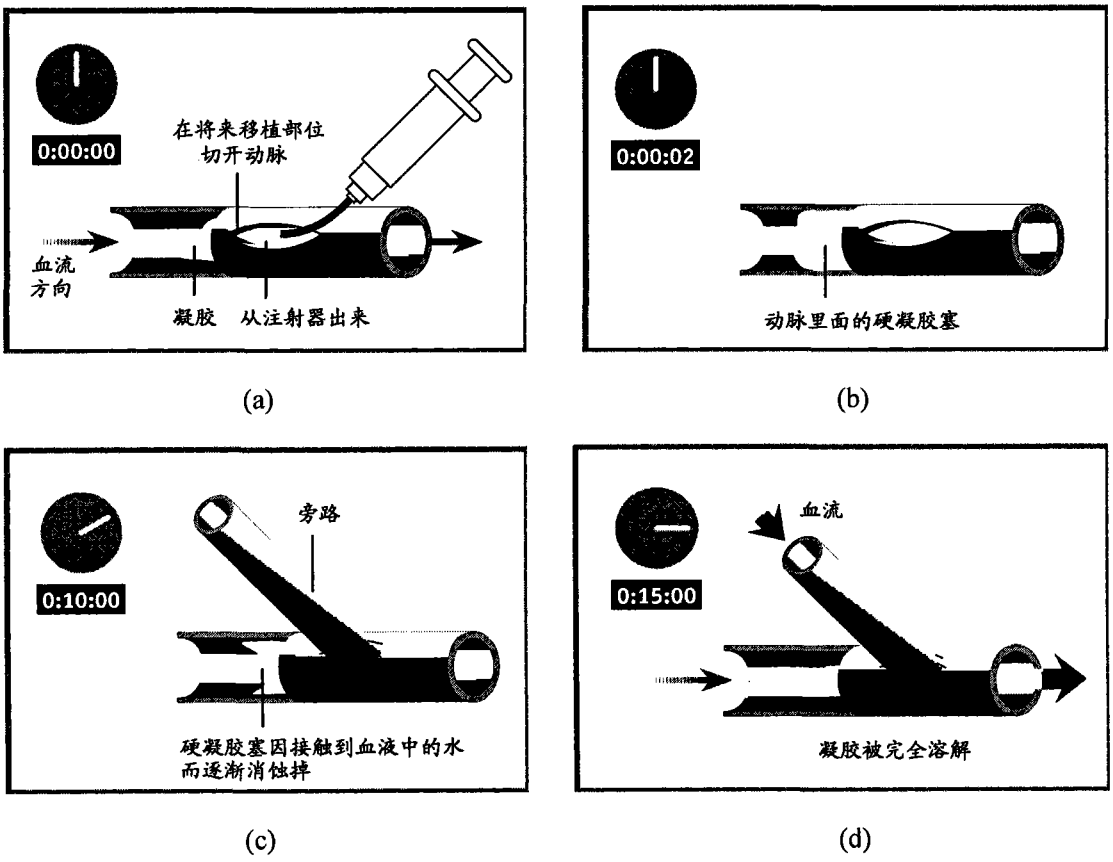

0:00:00
在将来移植部位
切开动脉
血流
方向
凝胶 从注射器出来
(a)
0:00:02
动脉里面的硬凝胶塞
(b)
0:10:00
旁路
硬凝胶塞因接触到血液中的水
而逐渐消蚀掉
(c)
0:15:00
血流
凝胶被完全溶解
(d)

图 4

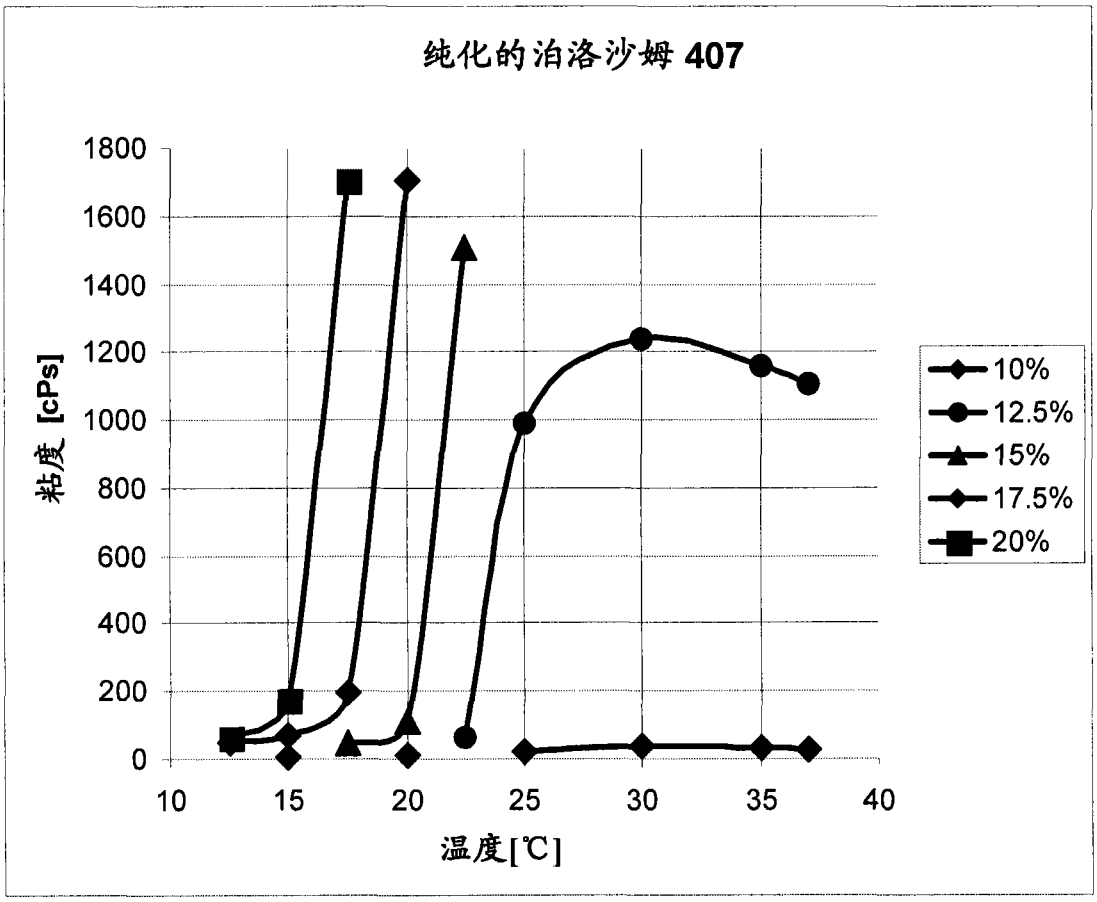

纯化的泊洛沙姆 407
粘度 [cPs]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
10
15
20
25
30
35
40
温度[℃]
10%
12.5%
15%
17.5%
20%

图 5

表 1. 泊洛沙姆 407 的纯化

样品	M_w	M_n	M_w/M_n	不饱和 MEq/g	重量% 氧化乙烯	粘度，厘泊*
泊洛沙姆 407	11,996	9,979	1.20	0.048	73.2	275,000
泊洛沙姆 407，批号 00115001，分级分离	13,551	12,775	1.06	0.005	69.3	> 820,000

表 2. 精选的逆向热敏聚合物在盐水中的胶凝温度

聚合物	盐水中的浓度	胶凝温度
Tetronic 1107	25 w%	27℃
Tetronic 1107	20 w%	34℃
纯化的 Tetronic 1107	25 w%	22℃
纯化的 Tetronic 1107	20 w%	32.5℃
Tetronic 1307	25 w%	24.5℃
Tetronic 1307	20 w%	31℃
纯化的 Tetronic 1307	25 w%	20℃
纯化的 Tetronic 1307	20 w%	26℃
Pluronic F108	25 w%	26℃
Pluronic F108	20 w%	60℃
纯化的 Pluronic F108	25 w%	19℃
纯化的 Pluronic F108	20 w%	26℃