



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107029277 A

(43)申请公布日 2017.08.11

---

(21)申请号 201611014752.9 *A61K 31/765*(2006.01)  
(22)申请日 2008.12.01 *A61P 41/00*(2006.01)  
(30)优先权数据 *A61B 17/34*(2006.01)  
60/991049 2007.11.29 US *C08G 65/30*(2006.01)  
(62)分案原申请数据  
200880126231.X 2008.12.01  
(71)申请人 健赞公司  
地址 美国马萨诸塞州  
(72)发明人 J-M.富格尔  
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公  
司 72001  
代理人 林毅斌 罗文锋  
(51)Int.Cl.  
*A61L 24/00*(2006.01)  
*A61L 24/04*(2006.01)

---

权利要求书3页 说明书9页 附图1页

### (54)发明名称

使用纯化的逆向热敏聚合物的内镜粘膜切除

### (57)摘要

本发明的一方面涉及包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物在哺乳动物胃肠粘膜切除的内镜程序中的用途。本发明的另一方面涉及一种胃肠粘膜切除的方法,所述方法包括粘膜下给予哺乳动物胃肠粘膜的区域有效量的包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物;和手术切除胃肠粘膜的所述区域。本发明的又一方面涉及一种用于哺乳动物胃肠内镜粘膜切除的试剂盒,所述试剂盒包括包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物;注射器;及其使用说明。

1. 一种包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物在哺乳动物胃肠粘膜切除的内镜程序中的用途。

2. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为聚氧化烯嵌段共聚物。

3. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

4. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆407、泊洛沙姆338、泊洛沙姆118、泊洛沙姆237、Tetronic<sup>®</sup>1107和Tetronic<sup>®</sup>1307。

5. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆407。

6. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆237。

7. 权利要求1的用途,其中所述组合物的转变温度在约10℃-约40℃之间。

8. 权利要求1的用途,其中所述组合物的转变温度在约15℃-约30℃之间。

9. 权利要求1的用途,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%。

10. 权利要求1的用途,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约10℃-约40℃之间。

11. 权利要求1的用途,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约15℃-约30℃之间。

12. 权利要求1的用途,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约10℃-约40℃之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

13. 权利要求1的用途,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约15℃-约30℃之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

14. 权利要求1的用途,其中所述组合物包含约5%-约35%的所述纯化的逆向热敏聚合物。

15. 权利要求1的用途,其中所述组合物包含约10%-约30%的所述纯化的逆向热敏聚合物。

16. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.5-约1.0的多分散性指数。

17. 权利要求1的用途,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.2-约1.0的多分散性指数。

18. 权利要求1的用途,其中所述组合物还包含对比-增强试剂。

19. 权利要求18的用途,其中所述对比-增强试剂选自不透射线的材料、顺磁性物质、重原子、过渡金属、镧系元素、钪系元素、染料和包含放射性核素的材料。

20. 权利要求1-19中任一项的用途,其中所述哺乳动物为人。

21. 一种胃肠粘膜切除的方法,所述方法包括粘膜下给予哺乳动物胃肠粘膜的区域有效量的包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物;和手术切除胃肠粘膜的所述区域。

22. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为聚氧化烯嵌段共聚物。

23. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

24. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆407、泊洛沙姆

338、泊洛沙姆118、泊洛沙姆237、Tetronic®1107和Tetronic®1307。

25. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆407。

26. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆237。

27. 权利要求21的方法,其中所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间。

28. 权利要求21的方法,其中所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间。

29. 权利要求21的方法,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%。

30. 权利要求21的方法,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间。

31. 权利要求21的方法,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间。

32. 权利要求21的方法,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

33. 权利要求21的方法,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

34. 权利要求21的方法,其中所述组合物包含约5%-约35%的所述纯化的逆向热敏聚合物。

35. 权利要求21的方法,其中所述组合物包含约10%-约30%的所述纯化的逆向热敏聚合物。

36. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.5-约1.0的多分散性指数。

37. 权利要求21的方法,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.2-约1.0的多分散性指数。

38. 权利要求21的方法,其中所述组合物还包含对比-增强试剂。

39. 权利要求38的方法,其中所述对比-增强试剂选自不透射线的材料、顺磁性物质、重原子、过渡金属、镧系元素、钆系元素、染料和包含放射性核素的材料。

40. 权利要21-39中任一项的方法,其中所述哺乳动物为人。

41. 一种用于哺乳动物胃肠内镜粘膜切除的试剂盒,所述试剂盒包括包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物;注射器;及其使用说明。

42. 权利要41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为聚氧化烯嵌段共聚物。

43. 权利要41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。

44. 权利要41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆407、泊洛沙姆338、泊洛沙姆118、泊洛沙姆237、Tetronic®1107和Tetronic®1307。

45. 权利要41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆407。

46. 权利要41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物为泊洛沙姆237。

47. 权利要41的试剂盒,其中所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间。

48. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间。
49. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下体积的约80%-约120%。
50. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间。
51. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;且所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间。
52. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约10°C-约40°C之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。
53. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物在生理学温度下的体积为在低于其转变温度下的体积的约80%-约120%;所述组合物的转变温度在约15°C-约30°C之间;且所述纯化的逆向热敏聚合物选自泊洛沙姆和泊洛沙胺。
54. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物包含约5%-约35%的所述纯化的逆向热敏聚合物。
55. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物包含约10%-约30%的所述纯化的逆向热敏聚合物。
56. 权利要求41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.5-约1.0的多分散性指数。
57. 权利要求41的试剂盒,其中所述纯化的逆向热敏聚合物具有约1.2-约1.0的多分散性指数。
58. 权利要求41的试剂盒,其中所述组合物还包含对比-增强试剂。
59. 权利要求58的试剂盒,其中所述对比-增强试剂选自不透射线的材料、顺磁性物质、重原子、过渡金属、镧系元素、钪系元素、染料和包含放射性核素的材料。
60. 权利要求41-59中任一项的试剂盒,其中所述哺乳动物为人。

## 使用纯化的逆向热敏聚合物的内镜粘膜切除

[0001] 本申请是以下申请的分案申请：申请日：2008年12月1日；申请号：200880126231.X (PCT/US2008/085114)；发明名称：“使用纯化的逆向热敏聚合物的内镜粘膜切除”。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2007年11月29日提交的美国临时专利申请序列号60/991,049的优先权。

[0004] 发明背景

[0005] 内镜粘膜切除 (EMR) 在治疗早期胃肠癌中公认为是一种有疗效的治疗方式。迄今为止，与盐水一起粘膜下注射用于在EMR过程中使并发症程度最低。但是，在盐水注射后组织隆凸的持续时间较短，且需要以较大的损害重复注射以进行EMR。虽然在EMR中使用了具有高粘度的溶液，例如羟丙基甲基纤维素 (HPMC)，但是解决该问题的适当方案仍难以确定。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明的一方面涉及包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物在胃肠粘膜切除的内镜程序中的用途。本发明的另一方面涉及一种胃肠粘膜切除的方法，所述方法包括粘膜下给予哺乳动物胃肠粘膜的区域有效量的包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物；和手术切除胃肠粘膜的所述区域。本发明的又一方面涉及一种用于胃肠内镜粘膜切除的试剂盒，所述试剂盒包括包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物；注射器；及其使用说明。

[0008] 附图简述

[0009] 图1图示作为温度的函数的LeGoo Endo (纯化的泊洛沙姆237的20-25%含水溶液) 和未经纯化的泊洛沙姆407的20%含水溶液的粘度。

[0010] 图2图示作为温度的函数的LeGoo Endo (纯化的泊洛沙姆237的20-25%含水溶液) 和未经纯化的泊洛沙姆407的20%含水溶液的粘度。

[0011] 发明详述

[0012] 内镜粘膜切除术 (EMR) 代表在胃肠道的微创手术中的主要进步。EMR基于内镜检查法提供目测和接近粘膜的构思，粘膜是胃肠道的最内面的衬膜，是从食道癌至直肠癌的大多数胃肠癌起源的位点。该方法将内镜手术的治疗功能与切除的组织的病理学检查的诊断功能相结合。

[0013] EMR首先在日本流行，日本的内镜检查者面临着非常高发病率的胃癌。这点区别于大多数西方国家，包括美国，这些国家中结肠癌为更常见的疾病。大多数结肠癌由粘膜息肉引起，粘膜息肉突出至结肠腔中，使得在使用金属环来抓住息肉底部的内镜检查法中较容易被除去。随后用电流切除息肉，同时产生切割作用和烧灼。

[0014] 与此相反，在胃中大多数癌症不是起源于息肉，而是起源于仅轻微提高、持平、或轻微降低的粘膜发育异常损害。使用简单的金属丝勒除器非常难以抓住这种损害。日本内镜检查者致力于开发多种方法来使发病的粘膜区域隆起，使得勒除可能进行。这些技术的大多数使用流体注射入粘膜下层——紧紧位于粘膜之下的胃肠道层，以隆起粘膜并使其能被勒除器抓住。遗憾的是，迄今为止使用的流体对于EMR不是最优化的，例如，因为这些流体通常不够粘稠以提供足够持久、隆凸的区域。如果可得到能提供最优化的持久的、隆凸的粘

膜表面的流体,EMR也可有效用于食道,食道的早期癌症和恶变前的发育异常也往往是非息肉状的和扁平的,且EMR也可有效用于结肠,EMR在结肠中可用于帮助除去小的和大的扁平或固着的息肉。

[0015] 因为上述启示可考虑未经纯化的逆向热敏聚合物,但是,遗憾的是,这些聚合物在体温下凝胶化,由于导管在结肠或胃内展开后很快升温至体温,因此这些聚合物在用于注射的导管中凝胶化。

[0016] 值得注意的,显示快速可逆的液体至凝胶的转变的纯化的逆向热敏聚合物(LeGoo-endo™)已显示在人内镜胃肠粘膜切除(EMR)的体外和体内猪模式(porcine model)中用作粘膜下注射溶液是有效的。LeGoo-endo™纯化的性质导致快速可逆液体至凝胶的转变,使其在室温下为液体,且仅在EMR位点从导管涌出时凝胶化。用LeGoo-endo™得到的粘膜隆凸比用其它常用物质得到的粘膜隆凸更持久。此外,用LeGoo-endo™得到的粘膜隆凸的大小和稠度没有显著的变化。LeGoo-endo™在体内结肠EMR中表现良好。这些结果表明,使用LeGoo-endo™或其它纯化的逆向热敏聚合物可提高人EMR程序的安全性和效力。

[0017] 在某些实施方案中,由纯化的逆向热敏聚合物体内形成的疱(bleb)(即,提供粘膜隆凸的凝胶)保持约30-180分钟、约45-150分钟、约60-120分钟、约75-100分钟、约90分钟、约80分钟、约70分钟、约60分钟、约50分钟、约40分钟或约30分钟。

[0018] 为了得到前述结果,需要开发一种将在体温下转变为凝胶的纯化的逆向热敏聚合物溶液通过导管注射至结肠或胃的方法。在所克服的困难中的情况是由于导管停留在体内时快速达到体温,纯化的逆向热敏聚合物在达到EMR所需位点之前在导管内凝胶化。例如,由于在导管中形成凝胶,通过推与导管连接的注射器的柱塞的手动注射不可行,在低于1200psi的压力下使用机械注射器辅助的注射也不可行;此外,排除高于1200psi的压力,这是由于这样的高压足以破裂任何常规导管。换言之,如果纯化的逆向热敏聚合物在导管中凝胶化(即,在达到EMR位点之前凝胶化),且常规导管可承受的压力不足以将流体形式的纯化的逆向热敏聚合物递送至EMR位点,则该方法不可行。

[0019] 值得注意的,使用包含连接至填充有纯化的逆向热敏聚合物的注射器的高压针导管的系统可解决递送问题,其中,所述高压针导管包含在通过手动(例如,螺杆)、电气或加压气体机构在注射器的柱塞上产生压力的给药装置(例如,注射器泵)中。使用所述系统可使用和承受的较高压力具有两种功能:(a)将粘稠的流体推送过导管;和(b)允许足够快速的注射,其使得从室温注射器进入导管的纯化的逆向热敏聚合物持续调节导管的温度,使得聚合物在停留时间期间在导管中不凝胶化,且仅在从导管中出来以后凝胶化,并导致与EMR位点直接接触。

[0020] 总之,LeGoo-Endo(在图中表示为“PS 137-25”)为纯化的泊洛沙姆237的含水溶液,其在体温下的粘度为未经纯化的20%泊洛沙姆407的3.9倍,使得形成能经受得住弹性粘膜所施加压力的持久的疱;此外,LeGoo-Endo于25℃和室温下的粘度分别低于未经纯化的20%泊洛沙姆407在这些温度下的粘度的十分之一,从而防止在LeGoo-Endo给予的过程中在导管内形成凝胶,这是部分地由于当新的LeGoo-Endo在加压下进入导管时连续冷却导管。

[0021] 逆向热敏聚合物

[0022] 通常,可将用于本发明方法的、在体温下或大致体温下变为凝胶的逆向热敏聚合

物以液体或软凝胶形式注射到患者体内。一旦注射材料达到体温,其经历从液体或软凝胶到硬凝胶的转变。用于本发明方法的逆向热敏聚合物可包括具有逆热凝胶化特性的嵌段共聚物。通常,根据本发明,也可使用于体温下以凝胶形式存在且在低于体温下以液体形式存在的生物相容的、生物可降解的嵌段共聚物。同样,所述逆向热敏聚合物可包括治疗剂,例如抗血管生成剂、激素、麻醉剂、抗微生物剂(抗菌剂、抗真菌剂、抗病毒剂)、抗炎剂、诊断试剂或伤口愈合试剂。类似地,可将低浓度的染料(例如亚甲基蓝)或填料加入到逆向热敏聚合物中。

[0023] 逆向热敏聚合物的分子量可在1,000-50,000之间,或在5,000-35,000之间。通常所述聚合物在含水溶液中。例如,典型的含水溶液包含约5%-约30%聚合物,或约10%-约25%聚合物。合适的逆向热敏聚合物(例如泊洛沙姆或泊洛沙胺)的分子量可例如在5,000-25,000之间,或在7,000-20,000之间。

[0024] 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,该pH为用于注射进入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节pH水平。

[0025] 泊洛沙姆(Pluronic)

[0026] 值得注意的,Pluronic®聚合物具有独特的表面活性剂性能和极低的毒性和免疫原性应答。这些产品具有低的急性口腔和表皮毒性,以及导致刺激或致敏的低潜能,且全身性慢性和亚慢性毒性低。实际上,Pluronic®聚合物为经FDA批准可直接用于医学应用和作为食品添加剂的少量表面活性剂之一(BASF(1990) Pluronic®&Tetronic® Surfactants, BASF Co., Mount Olive, N.J.)。最近,已发现几种Pluronic®聚合物增强药物的治疗效果和由腺病毒介导的基因转移效力。(March K L, Madison J E, Trapnell B C. "Pharmacokinetics of adenoviral vector-mediated gene delivery to vascular smooth muscle cells: modulation by poloxamer 407 and implication for cardiovascular gene therapy (腺病毒媒介介导的向脉管平滑肌细胞的基因递送的药代动力学:泊洛沙姆407的调节和心血管基因治疗的影响)" Hum Gene Therapy 1995,6,41-53)。

[0027] 泊洛沙姆(或Pluronic),作为非离子表面活性剂,广泛用于各种工业应用。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 (编辑), 纽约,1996,第280页。其表面活性剂特性已经用于去垢、分散、稳定、起泡和乳化作用。Cabana A, Abdellatif AK, Juhasz J. "Study of the gelation process of polyethylene oxide, polypropylene oxide-polyethylene oxide copolymer (poloxamer 407) aqueous solutions (聚氧化乙烯、聚氧化丙烯-聚氧化乙烯共聚物(泊洛沙姆407)含水溶液的凝胶化过程的研究)" 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)也显示逆向的感温性。

[0028] 已经考虑将一些聚合物用于多种心血管应用以及镰刀形红细胞贫血病应用。Maynard C, Swenson R, Paris JA, Martin JS, Hallstrom AP, Cerqueira MD, Weaver WD. Randomized, controlled trial of RheothRx (poloxamer 188) in patients with

suspected acute myocardial infarction (在怀疑患有急性心肌梗塞的患者中RheothRx (泊洛沙姆188)的受控试验).RheothRx in Myocardial Infarction Study Group.Am Heart J.1998年5月;135(5 Pt 1):797-804;O'Keefe JH,Grines CL,DeWood MA,Schaer GL,Browne K,Magorien RD,Kalbfleisch JM,Fletcher WO Jr,Bateman TM,Gibbons RJ.Poloxamer-188 as an adjunct to primary percutaneous transluminal coronary angioplasty for acute myocardial infarction (泊洛沙姆-188作为急性心肌梗塞的初级经皮穿刺冠状动脉成形术).Am J Cardiol.1996 Oct 1;78(7):747-750;和Orringer EP,Casella JF,Ataga KI,Koshy M,Adams-Graves P,Luchtman-Jones L,Wun T,Watanabe M,Shafer F,Kutlar A,Abboud M,Steinberg M,Adler B,Swerdlow P,Terregino C,Saccante S,Files B,Ballas S,Brown R,Wojtowicz-Praga S,Grindel JM.Purified poloxamer 188 for treatment of acute vasoocclusive crisis of sickle cell disease:A randomized controlled trial (用于治疗镰刀形红细胞疾病的急性血管闭合危象的纯化的泊洛沙姆188:随机受控试验).JAMA.2001年11月7日;286(17):2099-2106。

[0029] 重要的是,这类聚合物的多种成员,例如,泊洛沙姆188、泊洛沙姆407、泊洛沙姆338、泊洛沙胺1107和1307,都在生理学温度范围内显示逆向感温性。Qiu Y,Park K.Environment-sensitive hydrogels for drug delivery (用于药物递送的环境-敏感性水凝胶).Adv Drug Deliv Rev.,2001年12月31日;53(3):321-339;和Ron ES,Bromberg LE Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery (用于蛋白质和肽递送的温度-应答性凝胶和热凝胶化聚合物基质) Adv Drug Deliv Rev.1998年5月4日;31(3):197-221。换言之,这些聚合物为在低温下可溶于含水溶液,但在较高温度下凝胶化的类别的成员。泊洛沙姆407为生物相容的聚氧化丙烯-聚氧化乙烯嵌段共聚物,其平均分子量为约12,500,且聚氧化丙烯部分为约30%;泊洛沙姆188的平均分子量为约8400,且聚氧化丙烯部分为约20%;泊洛沙姆338的平均分子量为约14,600,且聚氧化丙烯部分为约20%;泊洛沙胺1,107的平均分子量为约14,000,泊洛沙胺1307的平均分子量为约18,000。这种类型的聚合物也称为可逆凝胶化的,因为其粘度随着温度的升高和下降而分别增加和降低。这种可逆凝胶化系统可用于以下情况:需要处理处于流体状态、但优选在凝胶化的或更粘稠状态下实施的材料。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特性;它们是市售可得的,例如Pluronic®泊洛沙姆和Tetronic®泊洛沙胺(BASF,Ludwigshafen,德国),且一般分别称为泊洛沙姆和泊洛沙胺。参见美国专利4,188,373、4,478,822和4,474,751(这些专利均通过参考引入本文)。

[0030] 泊洛沙姆的平均分子量在约1,000至大于16,000道尔顿范围内。由于泊洛沙姆为连续的系列反应的产物,单个泊洛沙姆分子的分子量在平均分子量周围形成统计学分布。此外,市售可得的泊洛沙姆包含大量聚(氧乙烯)均聚物和聚(氧化乙烯)/聚(氧化丙烯)二嵌段聚合物。当泊洛沙姆组分嵌段的分子量增加时,这些副产物的相对量也增加。根据制造商,这些副产物可构成聚合物总质量的约15-约50%。

[0031] 逆向热敏聚合物的纯化

[0032] 可利用用于水溶性聚合物的分级分离的方法纯化逆向热敏聚合物,包括下列步骤:在水中溶解已知量的聚合物,向聚合物溶液中加入可溶性萃取盐,保持溶液在恒定的最佳温度下一段时间以足够使两个不同的相显现出来,并物理分离这两相。此外,可将包含优

选分子量的聚合物部分的相用水稀释至初始的体积,可加入萃取盐,以获得初始的浓度,且按需重复分离过程,直至可回收比初始物质具有更窄的分子量分布和最佳物理特性的聚合物。

[0033] 在某些实施方案中,纯化的泊洛沙姆或泊洛沙胺具有约1.5-约1.0的多分散性指数。在某些实施方案中,纯化的泊洛沙姆或泊洛沙胺具有约1.2-约1.0的多分散性指数。

[0034] 上述过程由形成包含在水中的聚合物和适当盐的含水两相系统组成。在这种系统中,可向单相聚合物-水系统中加入可溶性盐以诱导相分离而产生高盐、低聚合物的底层相,和低盐、高聚合物的上层相。较低分子量的聚合物优先分配进入高盐、低聚合物的底层相。可利用该方法分级的聚合物包括聚醚、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、和聚氧化丙烯/聚氧化丁烯共聚物,和其它多元醇,例如聚乙烯醇。这些聚合物的平均分子量可在约800至大于100,000道尔顿范围内。参见美国专利6,761,824(通过参考引入本文)。上述纯化方法固有地利用了泊洛沙姆分子、聚(氧化乙烯)均聚物和聚(氧化乙烯)/聚(氧化丙烯)二嵌段副产物的大小和极性以及溶解度的差异。除去一般包括较低分子量级分和副产物的泊洛沙姆的极性部分,以容许回收泊洛沙姆的较高分子量级分。通过该方法回收的较大分子量的纯化的泊洛沙姆(纯化的逆向热敏聚合物的实例)具有基本上不同于初始物质或市售可得的泊洛沙姆的物理特性,包括较高的平均分子量、较低的多分散性以及在水溶液中较高的粘度。

[0035] 其它纯化方法可用于达到所需的结果。例如,WO 92/16484(该专利通过参考引入本文)公开了使用凝胶渗透色谱法分离显示有益生物效应而不产生潜在有害副作用的泊洛沙姆188的级分。这样得到的共聚物具有1.07或更低的多分散性指数,且基本上是饱和的。已显示潜在有害副作用与聚合物的低分子量、不饱和部分相关,而医药上有益的效果存在于均一的较高分子量物质中。通过纯化在合成共聚物期间的聚氧化丙烯中心嵌段或共聚物产物本身来获得其它类似的改良的共聚物(例如,美国专利5,523,492和美国专利5,696,298,这些专利均通过参考引入本文)。

[0036] 进一步地,如在美国专利5,567,859(该专利通过参考引入本文)中所公开的,超临界流体萃取技术已被用于分级分离聚氧化烯嵌段共聚物。获得由具有低于1.17的多分散性的相当均一的聚氧化烯嵌段共聚物组成的纯化的馏分。根据该方法,在压力保持在2200磅/平方英寸(psi)且温度为40°C下的二氧化碳流中除去较低分子量馏分。

[0037] 此外,美国专利5,800,711(该专利通过参考引入本文)公开了一种通过利用盐萃取和液相分离技术分批除去低分子量种类而用于分级分离聚氧化烯嵌段共聚物的方法。通过该方法分级分离泊洛沙姆407和泊洛沙姆188。在每一种情况下,获得与初始物质相比具有较高平均分子量和较低多分散性指数的共聚物馏分。但是,多分散性指数的变化并不大,且通过凝胶渗透色谱法分析表明仍保留了一些低分子量物质。在10°C-37°C的温度下,分级的聚合物的含水溶液的粘度显著大于市售可得的聚合物的粘度,该特性对于一些医学和药物递送应用很重要。尽管如此,当用于机体内部时,认为这些聚合物的一些低分子量污染物产生有害的副作用,而使得在分级分离方法中将所述低分子量污染物除去变得特别重要。因此,通过该方法分级分离的聚氧化烯嵌段共聚物不适用于所有的医学用途。

[0038] 如上所述,在人体中使用较大浓度的这些聚合物需要除去存在于商品制剂中的较低分子量污染物。如美国专利5,567,859(该专利通过参考引入本文;实施例8和9)所说明

的,较低分子量污染物最可能引起可见的毒性效果。在利用未经纯化的泊洛沙姆188的临床试验中,发现不可接受水平的暂时性肾功能障碍,Maynard C,Swenson R,Paris JA,Martin JS,Hallstrom AP,Cerqueira MD,Weaver WD.Randomized,controlled trial of RheothRx (poloxamer 188) in patients with suspected acute myocardial infarction (在疑似患有急性心肌梗塞的患者中RheothRx (泊洛沙姆188)的随机、受控试验),RheothRx in Myocardial Infarction Study Group.Am Heart J.1998年5月;135(5 Pt 1):797-804;而利用纯化的泊洛沙姆188的另一临床试验特别提到未发现肾功能障碍,Orringer EP,Casella JF,Ataga KI,Koshy M,Adams-Graves P,Luchtman-Jones L,Wun T,Watanabe M,Shafer F,Kutlar A,Abboud M,Steinberg M,Adler B,Swerdlow P,Terregino C,Saccante S,Files B,Ballas S,Brown R,Wojtowicz-Praga S,Grindel JM.Purified poloxamer 188 for treatment of acute vasoocclusive crisis of sickle cell disease:A randomized controlled trial(用于治疗镰刀形红细胞疾病的急性血管闭合危象的纯化的泊洛沙姆188:随机受控试验)。JAMA.2001年11月7日;286(17):2099-2106。因此,看起来在EMR应用中急需仅利用经分级的泊洛沙姆和泊洛沙胺,正如本文所预期的。此外,这些热敏聚合物的分级分离产生具有较强耐机械性的改进的凝胶,且由于改进的感温性,需要较少的聚合物以实现凝胶化(例如参见美国专利6,761,824(该专利通过参考引入本文),关于纯化机理和所得到的粘度)。

[0039] 利用纯化的逆向热敏聚合物,在与EMR关联中的药物递送

[0040] 仅仅由于不能获得实现将治疗有效量的生物学活性分子递送至治疗将提供治疗益处的患者的特定细胞中的方法,因此尚未实现许多类型的生物学活性分子的治疗有效应用。在适当的时候以受控的方式、以最小副作用和每剂量的更大效果递送药物的新方法是药物递送和制药行业所寻找的。

[0041] 用于本发明的EMR方法的可逆凝胶化聚合物具有使其成为常规小分子药物以及新的大分子(例如,肽)药物或其它治疗产品的合适递送载体的物理化学特性。因此,包含纯化的逆向热敏聚合物的组合物可进一步包含所选择的药物试剂来提供预选择的药用效果。药用效果为寻求治疗疾病或身体紊乱的来源或症状的效果。药物包括受到FDA药物准则管理的产品以及消费品。重要的是,用于本发明的EMR方法的组合物能增溶和释放生理活性物质。预期增溶作用作为在大量水相中的溶解的结果而发生,或通过泊洛沙姆的疏水性结构域产生的胶束中的溶质掺入而发生。可通过扩散或网络侵蚀机理发生药物的释放。

[0042] 本领域技术人员认识到,用于本发明的EMR方法的组合物可同时用于递送多种药物和个人护理应用。为了制备药物组合物,将赋予期望的药物效果的有效量的药学活性剂掺入到用于本发明的EMR方法的可逆凝胶化组合物中。优选所选的试剂为水溶性的,这将容易地导致其本身在整个可逆凝胶化组合物中的均匀分散。还优选该试剂不与组合物起反应。对于非水溶性的物质,其也处于在整个组合物中分散或悬浮亲脂性物质的本发明的EMR方法的范围内。可利用本发明方法递送许多生理活性物质;所递送的生理活性物质包括麻醉剂、抗微生物剂(抗菌剂、抗真菌剂、抗病毒剂)、抗炎剂、诊断试剂和伤口愈合试剂。

[0043] 因为用于本发明方法的可逆凝胶化组合物适用于在多种生理学条件下的应用,可掺入多种药学活性剂该组合物并通过该组合物施用。装载入纯化的逆向热敏聚合物的聚合物网络中的药物试剂可为任何具有生物活性的物质,包括蛋白质、多肽、多核苷酸、核蛋白、

多糖、糖蛋白、脂蛋白、及其合成的和生物工程化的类似物。

[0044] 可在用于本发明方法的聚合物中掺入多许多治疗剂。通常可通过本发明方法给药的治疗剂包括,但不限于:抗感染药物,例如抗生素和抗病毒剂;镇痛剂和镇痛剂组合;减食欲剂;驱蠕虫药;抗关节炎药;平喘药;抗惊厥剂;抗抑郁剂;抗利尿剂;止泻药;抗组胺剂;抗炎症试剂;抗偏头痛制剂;止恶心药;抗肿瘤药;抗帕金森病药物;止痒药;抗精神病药;退热药、抗痉挛药;抗胆碱能药;拟交感神经药;黄嘌呤衍生物;心血管制剂,包括钙离子通道阻断剂和 $\beta$ -阻断剂,例如心得静和抗心律失常药;抗高血压药;利尿剂;血管扩张剂,包括全身性冠状动脉的、外周的和大脑的;中枢神经系统兴奋剂;咳嗽和风寒制剂,包括减充血剂;激素,例如雌二醇和其它类固醇,包括皮质醇;安眠药;免疫抑制剂;肌肉松弛药;副交感神经阻滞药;精神振奋药;镇静剂;和安定药;以及天然衍生或遗传工程化的蛋白质、多糖、糖蛋白、或脂蛋白。用于胃肠外给药的合适的药品是众所周知的,如在Handbook on Injectable Drugs (可注射药物手册),第6版,Lawrence A.Trissel,American Society of Hospital Pharmacists,Bethesda,Md.,1990中所举例说明的。

[0045] 药学活性化合物可为任何具有生物活性的物质,包括蛋白质、多肽、多核苷酸、核蛋白、多糖、糖蛋白、脂蛋白、及其合成的和生物工程化的类似物。术语“蛋白质”为本领域公认的,且就本发明的目的而言,还包括肽。蛋白质或肽可为任何生物学的、天然存在的或合成的蛋白质或肽。

[0046] 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、抑生长素及其类似物、促性腺激素例如促黄体激素和促卵泡激素、肽T、降钙素、甲状旁腺激素、胰高血糖素、加压素、催产素、血管紧张素I和II、缓激肽、胰激肽、粗肾上腺皮质激素、促甲状腺激素、胰岛素、胰高血糖素以及上述分子的许多类似物和同源物。药物试剂可选自胰岛素,选自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-亚基、流感疫苗病毒、博德特氏菌百日咳病毒、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)、肺炎克雷白杆菌、HIV外壳糖蛋白的抗原,和选自牛生长激素(有时称为BST)、雌激素、雄激素、胰岛素生长因子(有时称为IGF)、自细胞介素I、白细胞介素II和细胞因子的细胞因子及其它试剂。三个这种细胞因子为干扰素- $\beta$ 、干扰素- $\gamma$ 和吞噬细胞增强激素。

[0047] 可掺入用于本发明的EMR方法的组合物的细菌类毒素的实例为破伤风、白喉、假单胞菌属A、结核分枝杆菌。可掺入用于本发明的EMR方法的组合物的抗原的实例为HIV外壳糖蛋白,例如,用于AIDS疫苗的gp 120或gp 160。可包括的抗溃疡H2受体拮抗剂的实例为雷尼替丁、西咪替丁和法莫替丁,其它抗溃疡药物为omparazide、cesupride和米索前列醇。低血糖试剂的实例为格列吡嗪。

[0048] 可装载入可掺入用于本发明的EMR方法的组合物的药学活性化合物的种类包括,但不限于,抗AIDS物质、抗癌物质、抗生素、免疫抑制剂(例如,环孢菌素)、抗病毒物质、酶抑制剂、神经毒素、阿片样物质、安眠药、抗组胺药、润滑剂安定药(lubricants tranquilizers)、抗惊厥剂、肌肉松弛剂和抗帕金森病物质、抗痉挛药和肌肉收缩剂、缩瞳剂和抗胆碱能药、抗青光眼化合物、抗寄生虫和/或抗原生动物化合物、抗高血压药、镇痛剂、退热药和抗炎剂例如NSAIDs、局部麻醉剂、眼药、前列腺素、抗抑郁剂、抗精神病物质、抗催吐剂、成像试剂、特异的靶向试剂、神经传递物质、蛋白质、细胞应答修饰剂和疫苗。

[0049] 认为特别适用于掺入用于本发明的EMR方法的组合物的例证性药物试剂包括但不限于咪唑类,例如咪康唑、益康唑、特康唑、沙康唑、伊曲康唑、甲硝唑、氟康唑、酮康唑、克霉唑、促黄体激素释放激素(LHRH)及其类似物、壬苯醇醚-9、GnRH激动剂或拮抗剂;天然或合成的黄体酮,例如选择的黄体酮、17-羟基黄体酮衍生物,例如乙酸甲羟孕酮,和19-去甲睾酮类似物,例如炔诺酮、天然或合成的雌激素、缀合的雌激素、雌二醇、哌嗪雌酮硫酸酯、和乙炔雌二醇;二膦酸盐,包括1-羟基-亚乙基-1,1-二膦酸、阿伦膦酸盐、替鲁膦酸盐、利塞膦酸、氯膦酸盐和帕米膦酸盐、降血钙素、甲状旁腺激素、碳酸酐酶抑制剂,例如非尔氨酯和多佐胺;肥大细胞稳定剂,例如xesterbergsterol-A、lodoxamine、和色甘酸钠;前列腺素抑制剂,例如双氯芬酸和酮咯酸;类固醇,例如泼尼松龙、地塞米松、fluromethylone、利美索龙、和氯替泼诺;抗组胺剂,例如安他唑啉、非尼拉敏、和组胺酶、硝酸毛果芸香碱; $\beta$ -阻断剂,例如佐布诺洛尔和马来酸噻吗洛尔。本领域技术人员将理解,可组合两种或更多种药物试剂达到特殊效果。可通过简单的试验测定活性成分的必需数量。

[0050] 仅以举例的方式,可将任何数目的抗生素和抗微生物剂包括在用于本发明方法的纯化的逆向热敏聚合物中。优选包括在用于本发明的EMR方法的组合物中的抗微生物药物包括内酰胺药物的盐、喹诺酮药物、环丙沙星、诺氟沙星、四环素、红霉素、阿米卡星、三氯生、多西环素、卷曲霉素、氯己定、金霉素、土霉素、克林霉素、乙胺丁醇、己脒定、羟乙基磺酸盐、甲硝唑、喷他脒、庆大霉素、卡那霉素、lineomycin、甲烯土霉素、乌洛托品、二甲胺四环素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、链霉素、托普霉素、咪康唑和金刚烷胺,等等。

[0051] 例如仅仅就抗炎症来说,可将非类固醇的抗炎药试剂(NSAIDS)掺入用于本发明的EMR方法的组合物,例如丙酸衍生物、乙酸、灭酸衍生物、联苯羧酸衍生物、苯并噻嗪类,包括但不限于阿司匹林、对乙酰氨基酚、布洛芬、萘普生、苯噻洛芬、氟比洛芬、芬布芬、酮洛芬、吲哚洛芬、吡洛芬、卡洛芬和布氯酸,等等。

## 实施例

[0052] 现在大略地描述本发明,可通过参考以下实施例更容易地理解本发明,包括这些实施例只是为了例证性地说明本发明的某些方面和实施方案,而不是为了限制本发明。

### [0053] 体外

[0054] 利用三种不同的溶液在新鲜的体外猪胃中进行胃内镜粘膜切除术(120):标准盐溶液( $n=40$ );HPMC( $n=40$ );和LeGoo-endo™( $n=40$ )。通过使用含有25-量规针(gauge needle)的10-mL注射器注射5mL溶液进行各粘膜下注射。产生视觉上足够粘膜下隆凸后,将针在该位置中保持较短的时间,以阻塞穿刺位点以及防止溶液过早溢出。将胃放置在热垫上以确保恒定的温度(35-37°C)。在所有情况下,测量疤的高度和大小以及粘膜下隆凸的持续时间。当隆凸在原位持续120分钟看得见时,完成试验。

[0055] 比起盐水( $8.3 \pm 2.6\text{mm}$ ,  $p < 0.01$ )和HPMC( $9.05 \pm 2.3\text{mm}$ ,  $p = \text{ns}$ ),使用LeGoo-endo™( $10.3 \pm 2.2\text{mm}$ )的初始粘膜隆凸的高度较高。在隆凸的大直径方面,未在LeGoo-endo™( $34.7 \pm 4.4\text{mm}$ )和盐水( $36.7 \pm 4\text{mm}$ )或HPMC( $33.7 \pm 4\text{mm}$ )之间观察到显著的差异。使用LeGoo-endo™的所有粘膜下隆凸持续超过120分钟,且持续时间比使用盐水( $20.9 \pm 11$ 分钟,  $p < 0.01$ )和HPMC( $89 \pm 32$ 分钟,  $p < 0.01$ )的长。原位120分钟后,使用LeGoo-endo™进行的隆凸在大小、形状和稠度方面没有显示差异。

[0056] 体内

[0057] 使用含有5-mL注射器和气球膨胀枪的23-量规硬化疗法 (sclerotherapy) 针, 使用 LeGoo-endo™ 在2头猪的结肠中进行5次EMR。在介入期间将LeGoo-endo™ 保持在冰上。将装有盐水的注射器也保持在冰上, 以在临注射泊洛沙姆前冷却导管。产生视觉上足够粘膜下隆凸后, 评价“小”、“中等”或“大”。接着, 利用针刀或息肉切除术勒除器进行损害的“全体”切除术。记录所有程序, 并拍照。在所有情况下, 测量切除的样品的大小, 并通过组织学评价来估计表面。

[0058] 5个EMR位于距肛门边缘18-25cm之间的sigma中。初始粘膜隆凸的高度在两种情况下大, 在两种情况下中等, 在一种情况下小。注射聚合物后, 无需再复位。注射的平均体积为  $6 \pm 2.5$  mL (范围, 3-10mL), 切除的样品的平均大小为  $2.6 \pm 1.1$  cm (范围, 0.9-4cm)。切除术的平均时间为  $5 \pm 2$  分钟 (范围, 2-8分钟)。在切除术期间, 在粘膜下层与粘膜之间观察到大量的凝胶。在浆膜表面未观察到热伤害, 且未记录穿孔。在电烙术 (electrocautery) 设定中无需变化。在一种情况下, 观察到从粘膜下脉管临时性出血。组织学检查表明, 在所有样品中存在粘膜下层。

[0059] 等价物

[0060] 本领域技术人员将认识到或能够确定仅仅使用常规实验方法就可以获得在此所描述的本发明的具体实施方案的许多等价物。这种等价物也包括在所提交的权利要求中。

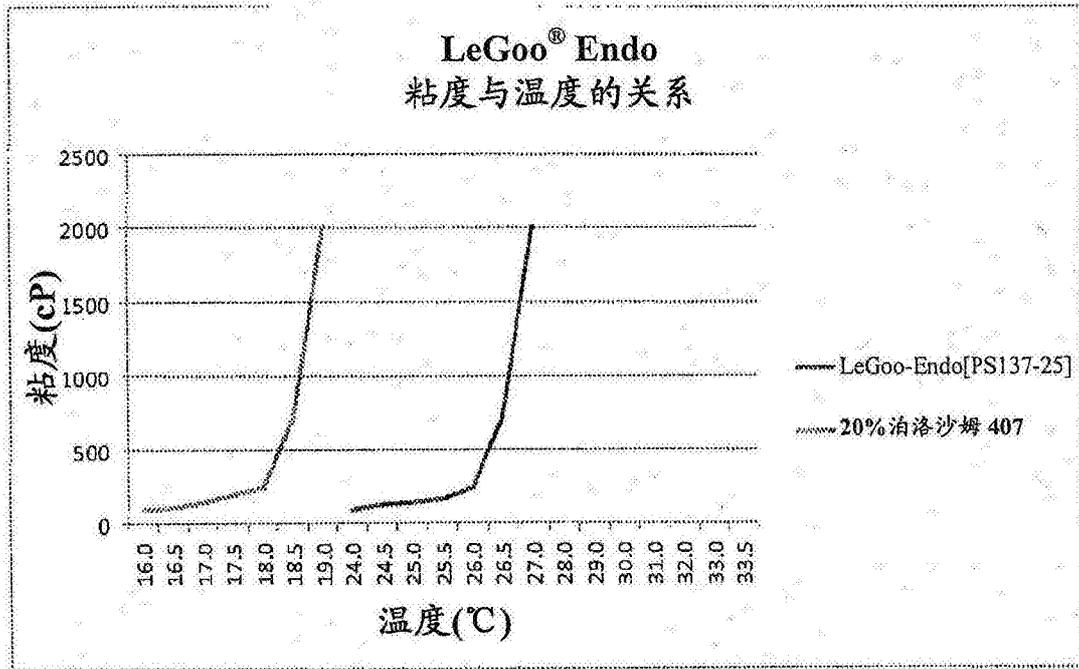


图1

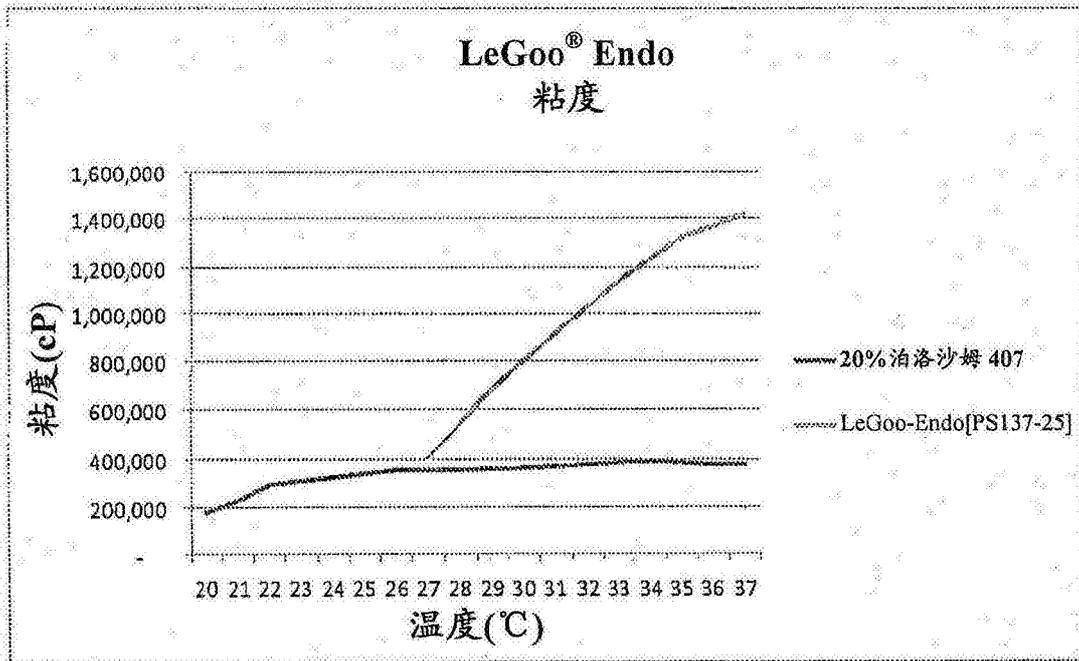


图2