



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102065849 B

(45) 授权公告日 2015. 04. 29

(21) 申请号 200980118461. 6

A61K 31/718(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 04. 23

A61K 31/722(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/047, 590 2008. 04. 24 US

(56) 对比文件

US 2008075657 A1, 2008. 03. 27,

WO 2004026200 A3, 2004. 09. 02,

WO 2008067655 A1, 2008. 06. 12,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 11. 18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/041591 2009. 04. 23

审查员 黄嘉

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/132227 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

E·M·坦布鲁克 N·沙夫豪森

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 杨昀

(51) Int. Cl.

A61K 9/70(2006. 01)

A61K 31/717(2006. 01)

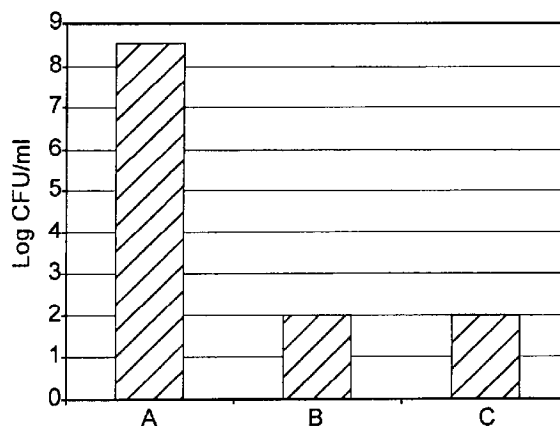
权利要求书1页 说明书11页 附图4页

(54) 发明名称

基于壳聚糖和氧化多糖的保护性凝胶

(57) 摘要

身体组织和结构可以利用含有壳聚糖和氧化多糖的混合物的流体层进行保护。该混合物经由原位交联形成保护性凝胶层。相比利用低分子量醛如戊二醛或京尼平的交联,氧化多糖似乎可以提供更快的胶凝,同时可以避免使用可能较小生物可接受的较小的低分子量醛。



1. 一种在耳、鼻或喉中的粘膜组织顶上的流体层,所述层暴露于空气或其他附近的气体,包括足够在原位形成保护性凝胶层的量的壳聚糖和氧化多糖,其中,所述壳聚糖和所述氧化多糖是以 10 : 1 ~ 1 : 20 的重量比组合。

2. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述组织包含鼻组织。

3. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述组织包含喉组织。

4. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述壳聚糖是未修饰的壳聚糖或壳聚糖盐。

5. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述壳聚糖是壳聚糖衍生物。

6. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述氧化多糖包括淀粉。

7. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述氧化多糖包括纤维素。

8. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述氧化多糖包括甲壳素、壳聚糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原或透明质酸。

9. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述壳聚糖和所述氧化多糖是以 5 : 1 ~ 1 : 10 的重量比组合。

10. 根据权利要求 1 所述的流体层,其中所述壳聚糖和所述氧化多糖是以 3 : 1 ~ 1 : 5 的重量比组合。

11. 根据权利要求 1 所述的流体层,进一步包括磷酸根离子。

12. 含有壳聚糖和氧化多糖的混合物的流体层在制备治疗耳、鼻或喉中的粘膜组织用的药剂中的用途,其中,所述壳聚糖和氧化多糖的量足以在原位形成保护性凝胶层,且其中,所述壳聚糖和所述氧化多糖是以 10 : 1 ~ 1 : 20 的重量比组合。

13. 根据权利要求 12 所述的用途,包括将所述流体层施加到鼻腔或鼻窦。

14. 根据权利要求 12 所述的用途,包括将所述流体层施加到中耳或内耳。

15. 根据权利要求 12 所述的用途,包括将所述流体层施加到喉部。

16. 根据权利要求 12 所述的用途,包括从多筒式注射器施加所述流体层。

17. 根据权利要求 12 所述的用途,包括通过喷雾施加所述流体层。

18. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述壳聚糖是未修饰的壳聚糖或壳聚糖盐。

19. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述壳聚糖是壳聚糖衍生物。

20. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述氧化多糖包括淀粉。

21. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述氧化多糖包括纤维素。

22. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述氧化多糖包括甲壳素、壳聚糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原或透明质酸。

23. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述壳聚糖和所述氧化多糖以 5 : 1 ~ 1 : 10 的重量比组合。

24. 根据权利要求 12 所述的用途,其中所述壳聚糖和所述氧化多糖是以 3 : 1 ~ 1 : 5 的重量比组合。

基于壳聚糖和氧化多糖的保护性凝胶

技术领域

[0001] 本发明涉及用在耳、鼻、喉、肢体和脊柱中的组织和结构中或上的多糖和材料。

背景技术

[0002] 某些多糖材料已用于手术修补或药物输送。有关此种材料的文献包括美国专利第 6,514,522 (Domb) 和 7,053,068 B2 (Prinz) 号, 美国专利申请公开第 US 2005/0176620 A1 (Prestwych 等人) 和 US 2005/0238702 A1 (Ishihara 等人) 号, 加拿大专利申请第 2 348 842 A1 号 (Bernkop-Schnürch), 公开的 PCT 申请第 WO 98/31712 A2 (B. F. Goodrich Co.)、WO 01/00246 A2 (Bentley 等人) 和 WO 03/020771 A1 号 (Mucobiomer Biotechnologische Forschungs-und Entwicklungs GmbH), Mi 等人, Synthesis and Characterization of a Novel Chitosan-Based Network Prepared Using Naturally-Occurring Crosslinker (使用自然界天然存在的交联剂制备的新型壳聚糖基网络的合成和表征), 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 (可生物降解的 TPP/京尼平共交联的壳聚糖凝胶珠的合成和表征), Polymer, 44, 6521-30 (2003), Roldo 等人, Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation (粘膜粘着剂硫代壳聚糖作为口服可控药物递送的平台: 合成和体外评估), European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 57, 115-121 (2004), Krauland 等人, Viscoelastic Properties of a New in situ Gelling Thiolated Chitosan Conjugate (新的原位胶凝硫代壳聚糖结合物的粘弹性质), Drug Development And Industrial Pharmacy, 31, 885-893 (2005), Bernkop-Schnürch, Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers (硫柳汞: 粘膜粘着剂聚合物的新的生成), 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 (硫柳汞: 粘膜粘着剂纳米颗粒药物递送系统的制备和体外评估), International journal of Pharmaceutics, 317, 76-81 (2006) and Weng 等人, Rheological Characterization of in Situ Crosslinkable Hydrogels Formulated from Oxidized Dextran and N-Carboxyethyl Chitosan (从氧化葡聚糖和 N-羧乙基壳聚糖制备的原位可交联的水凝胶的流变学表征), Biomacromolecules, 8, 1109-1115 (2007)。

发明内容

[0003] 在一方面, 本发明提供了在身体组织或结构顶上的流体层, 该层包含足够原位形成保护性凝胶层的量的壳聚糖和氧化多糖。该保护性凝胶层可以帮助损伤、发炎或手术修补的组织表面恢复到正常状态, 例如, 通过一种或多种愈合机制, 如炎症反应的调节、吞噬作用、粘膜重塑、纤毛重生 ((reciliation)) 或其它正常功能的全部或部分修复。

[0004] 在另一方面,本发明提供了治疗身体组织或结构的方法,该方法包括:

[0005] a) 将含有壳聚糖和氧化多糖的混合物的流体层施加到此种组织,和

[0006] b) 使该混合物原位形成保护性凝胶层。

[0007] 所公开的流体层期望喷雾施加,并包装在多组件喷雾分配器(spray dispenser)中。所公开的方法和流体层对治疗耳、鼻或喉中的粘膜组织以及肢体或脊柱中的开口((opening)、隐窝(recess)、通道(passageway)或关节特别有用。

附图说明

[0008] 图 1 是显示所公开的方法的示意图;

[0009] 图 2 是可用在所公开的方法中的分配器械的透视图;

[0010] 图 3 是显示两个由壳聚糖和氧化多糖形成的原位交联的凝胶层和胰蛋白胨大豆肉汤对照的抗微生物特性的图;

[0011] 图 4 是显示三个由壳聚糖和氧化多糖形成的原位交联的凝胶层和胰蛋白胨大豆肉汤对照的抗微生物活性作为时间的函数的图;

[0012] 图 5 是显示三个原位交联的凝胶层的药物释放性质的图;和

[0013] 图 6 是显示原位交联的凝胶层降解的图。

[0014] 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。

具体实施方式

[0015] 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:

[0016] 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,或指形成将身体结构、假体材料或组织跨越正常开放的空间彼此连接的组织。

[0017] 术语“抗微生物”是指在金黄色葡萄球菌、铜绿假单孢菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌或粘膜炎莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*)的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。

[0018] 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,并且具有一些对从该表面上去除的抵抗力。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。

[0019] 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。

[0020] 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。

[0021] 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。

[0022] 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。

[0023] 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。

[0024] 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。

[0025] 术语“共形的”当用来提及施用于组织或其他身体结构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。

[0026] 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。

[0027] 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。

[0028] 术语“凝胶”当用来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。

[0029] 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。

[0030] 术语“止血器”是指停止血流的装置或材料。

[0031] 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。

[0032] 术语“水化的”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。“完全水化的”装置或物质不能吸收额外的水化作用的水。“部分水化的”装置或物质能够吸收额外的水化作用的水。

[0033] 术语“内耳”是指半规管和耳蜗。

[0034] 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。

[0035] 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。

[0036] 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)。

[0037] 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。

[0038] 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。

[0039] 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。

[0040] 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。

[0041] 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)。

[0042] 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。

[0043] 参照图 1, 公开的方法可以在患者的鼻腔或窦腔 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炎及鼻窦炎时, 与上颌窦 110a 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栖息在相关的生物膜中的细菌的相关层 (在图 1 中未显示)。治疗部位不需要是自然组织而代替地可以是人工结构 (在图 1 中未显示) 诸如窦填塞材料或支架, 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 US 2007/0264310 A1 中描述的溶剂化系统) 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。公开的包括壳聚糖和氧化多糖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, 公开的组合物 (和如果使用, 溶剂化系统) 可以使用其他方法或装置施用至治疗部位。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, 单管或多管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、肢体或脊柱中或附近的组织 (例如粘膜组织) 或结构。

[0044] 图 2 显示示例性的工具 200, 其可以在公开的治疗方法中。工具 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)。工具 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 中的导轮 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 中的导轮 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 的运动或旋转。手柄 202 通常用作工具 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) 可以用来控制公开的可再水合凝胶 (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 还可以用来控制公开的可再水合凝胶通过灌洗管 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。

[0045] 施用的包括壳聚糖和氧化多糖的组合物可以填充治疗部位 (例如, 鼻腔或窦腔, 或一部分肢体或脊柱中的开口、隐窝、通道或关节), 在此情况下, 这种组合物的公开层可以

是非常厚的,并且不接触空气或其他附近的气体,并且在整个层上具有不同的厚度。公开的组合物还可以作为薄膜或其他共形涂层施用,在此情况下本发明的凝胶层可以是相对薄的,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。在凝胶化后,保护层可以是粘性的、弹性的或粘弹性的。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)。保护性凝胶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,保护性凝胶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),如果需要也将抗微生物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。

[0046] 各种各样的壳聚糖(包括盐和其它壳聚糖衍生物)可以在公开的流体层和方法中应用。示例性的未修饰壳聚糖及其盐(包括柠檬酸盐、硝酸盐、乳酸盐、磷酸盐、氯化物和谷氨酸盐)可从多个商业来源获得,包括KitoZyme S.A.、Fluka Chemie AG、FMC BioPolymer AS的NovaMatrix部门和Sigma-Aldrich公司。壳聚糖也可以通过水解使几丁质(聚-N-乙酰基-D-葡萄糖胺)脱乙酰化以去除氮原子上的乙酰基来合成。生成的聚合物具有多个重复单位(例如,约30-约3000个重复单位,约60-约600个重复单位,或对于所选择的终端用途可能需要的此类其他量),它们的一些或全部含有脱乙酰化氨基(例如,全部重复单位的约30-约100%或约60-约95%),剩余的重复单位(如果有的话)含有乙酰化氨基。聚合物是阳离子的并且可以被认为由葡萄糖胺单体组成。壳聚糖可以具有多种数均分子量,例如,约5-约2000kDa,约10-约500kDa,或约10-约100kDa。壳聚糖可以是例如,数均分子量小于约50kDa的超低分子量物质,数均分子量为约50-约200kDa的低分子量物质,数均分子量为约200-约500kDa的中分子量物质或数均分子量大于约500kDa的高分子量物质。壳聚糖衍生物还可以采用,例如,其中一个或多个羟基或氨基已经被修饰以改变衍生物的溶解度或粘膜粘附特性。示例性的衍生物包括硫醇化壳聚糖,以及非硫醇化壳聚糖衍生物,例如乙酰化、烷基化或磺化壳聚糖(例如,0-烷基醚,0-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,如上述公开的PCT申请WO 03/020771A1或上述Roldo等人、Krauland等人、Bernkop-Schnitzler和Bernkop-Schnitzler等人的论文中描述。

[0047] 该壳聚糖期望地以干燥颗粒形式获得,例如,以自由流动细粒形式,其平均颗粒直

径小于约 1mm、小于约 100 祊、约 1 ~ 约 80 祊,或小于 1 祊。该壳聚糖优选以此种干燥颗粒形式包装和运送给用户,以便减少该壳聚糖在持续很久的储存期间发生降解。例如,在即将使用之前,可以通过将壳聚糖溶解在水或另外合适的溶剂中形成壳聚糖流体。推荐的壳聚糖量取决于壳聚糖分子量,并且可以为,例如生成溶液的约 1 ~ 约 20%、约 1 ~ 约 10%或约 1 ~ 约 5%。2008 年 4 月 24 日提交的共同待决的美国专利临时申请序列号 61/047,580 描述了使壳聚糖再水合的优选技术,通过将自由流动的壳聚糖颗粒分散在生物相容的水溶性极性分散剂中,并使该分散液与对该颗粒的充足的水溶剂结合从而将它们转化成粘结水凝胶。该壳聚糖可以是研细的但期望是非研细的。

[0048] 在公开的流体层和方法中可以采用各种各样的氧化多糖。示例性多糖包括琼脂、藻酸盐、角叉菜聚糖、纤维素、甲壳素、壳聚糖(因而使壳聚糖能够利用自身的氧化对应物进行交联)、硫酸软骨素、葡聚糖、半乳甘露聚糖、糖原、透明质酸、淀粉和其它能够被氧化的生物相容的多糖。氧化多糖,例如氧化纤维素、甲壳素、壳聚糖、硫酸软骨素、葡聚糖、糖原、透明质酸和淀粉是优选的。该多糖期望被氧化到当壳聚糖和氧化多糖在水溶液中结合时,足够提供能够促使壳聚糖快速交联的醛基的程度。代表性氧化剂或技术包括采用 a) 高碘酸钠, b) 在存在二叔烷基硝酰基催化剂的存在时的次氯酸根离子, c) 金属催化氧化,例如使用钨, d) 无水氧化,例如在氯代烃中使用诸如二氧化氮, e) 淀粉、瓜儿胶(guar)和其它多糖的酶法或化学-酶法氧化,以及所属领域普通技术人员知道的其它氧化剂和技术。根据选择的氧化剂或技术,可采用各种氧化度、聚合程度和氧化位点(oxidation site)。例如,氧化可针对伯羟基进行(例如,葡聚糖的脱水葡萄糖单元中的 6-羟基),产生保留了环结构的羰基多糖。氧化也可以针对存在于单糖环中的邻二醇官能团(例如,脱水葡萄糖单元中的 C2-C3 位),导致单糖单元的断裂和产生二醛或二羧基官能团。此种氧化多糖的二醛含量可以在例如 2%到几乎 100%的氧化度的范围内,例如大于 30%,或大于 50%的可用氧化位点。氧化多糖也可以含有其它官能团,例如羟烷基基团、阳离子基团、羧基基团和其它酸基团。总的来说,当多糖氧化度增大时,所公开的流体层中可以采用减少量的氧化多糖。

[0049] 期望在使用之前将氧化多糖溶解在水或另外的合适溶剂中。典型地,推荐的氧化多糖量取决于氧化多糖分子量,并且可以为,例如生成溶液的约 1 ~ 约 20%、约 1 ~ 约 10%或约 1 ~ 约 5%。通常保持氧化多糖溶液与壳聚糖溶液分开直至即将使用之前。

[0050] 相比利用低分子量醛如戊二醛或京尼平(genipin)的交联,氧化多糖似乎提供了更快的凝胶化,同时避免了使用生物可接受性可能较小的低分子量醛。除了它们与壳聚糖中的氨基反应的能力以外,氧化多糖中的醛基也可以增强粘膜粘附。氧化多糖可以提供另外的优势,包括改善或更好的受控的生物可降解性、生物可吸收性、药物输送或止血特性。磷酸根离子的存在似乎加速了交联反应。通过使用磷酸盐缓冲 盐水(PBS)作为壳聚糖和氧化多糖中的一种或两种的溶剂可以提供磷酸盐。

[0051] 期望采用充足的壳聚糖和氧化多糖,以便在该壳聚糖和氧化多糖混合之后保护性凝胶层可在少于 30 分钟的时间内形成,更优选在少于 20 分钟、少于 10 分钟、少于 5 分钟的时间内或混合之后基本立即形成。生成的流体混合物例如可以以含有表示为该组合物的约 1 ~ 约 20%、约 1 ~ 约 10%或约 1 ~ 约 5%的组合的量壳聚糖和氧化多糖。。壳聚糖和氧化多糖可以例如以约 10 : 1 ~ 约 1 : 20、约 5 : 1 ~ 约 1 : 10,或约 3 : 1 ~ 约 1 : 5 的比例组合。这些比例取决于氧化多糖(一种或多种)的氧化度,当采用较高的多糖氧化度时

一般使用较低的氧化多糖量。对于一些应用,该壳聚糖量优选为可以可行的高,以提供良好抗微生物特性,并且在此种情况下,优选使用少量高度氧化的多糖以便获得快速地凝胶形成。

[0052] 所公开的组合物期望基本不含胶原。优选地,该组合物充分不含胶原(例如,根本不含胶原),以便适于全世界范围内销售,不限于人类中使用。

[0053] 所公开的组合物可以可选地包括各种其它成分。在两部分组合物中的第一部分、第二部分或两部分中混合之前,可以处理这些其它成分。示例性其它成分包括水和其它溶剂(例如,醇)、酸、碱、缓冲剂、抗微生物剂、治疗剂和其它助剂。酸、碱或缓冲剂例如可以将该组合物维持在适于接触人组织的 pH,例如大于 5 的 pH、接近中性的 pH 或小于 8.5 的 pH。示例性缓冲剂包括巴比妥钠、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、磷酸钠和它们的共轭酸。

[0054] 所公开的组合物期望地具有内在抗微生物特性,而不需要添加单独的抗微生物剂。抗微生物活性可能受壳聚糖在组合物中的比率影响(壳聚糖比率较高往往提供较高的抗微生物活性)并受可用壳聚糖胺氢原子影响。因此,禁忌使用含有少量可用氨基氢原子的壳聚糖衍生物(例如,上述 Weng 等人论文中期望的 N-羧乙基衍生物)。在任何情况下,需要时可以使用单独的抗微生物剂。例如,在上述美国专利申请公开号 2007/0264310 A1 中可以找到此种微生物剂的有用名单。

[0055] 可用在所公开的组合物中的示例性治疗剂包括适用于预期治疗部位的任何材料,包括镇痛药、抗胆碱能药物、抗真菌剂、抗组胺剂、甾族或非甾族抗炎剂、抗寄生虫药(anti-parasitic agent)、抗病毒剂、生物稳定型(biostatic)组合物、化学治疗剂/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、粘液溶解剂(mucolytics)、核酸、肽、蛋白质、甾体、血管收缩剂、维生素、其混合物,以及所属领域技术人员将知道的其它治疗材料。例如,在上述美国专利申请公开号 2007/0264310A1 中可以找到此种治疗剂的有用名单。

[0056] 可包括在所公开的组合物中的其它助剂包括染料、颜料或其它着色剂(例如,FD & C3 号红、FD & C20 号红、FD & C6 号黄、FD & C2 号蓝、D & C5 号绿、D & C4 号橙、D & C8 号红、焦糖、二氧化钛、水果或蔬菜着色剂诸如甜菜粉或 β -胡萝卜素、姜黄根、红辣椒和本领域技术人员知晓的其他物质);指示剂;调味剂或甜味剂包括但不限于茴香油、樱桃、肉桂油、柠檬油(例如,柠檬油、梨莓油或橙油)、可可、桉树、草药芳香剂(例如丁香油、鼠尾草油或肉桂油)、乳糖、麦芽糖、薄荷醇、薄荷油、糖精、环拉酸钠、留兰香油、山梨醇、蔗糖、香草醛、冬青油、木糖醇和它们的混合物;抗氧化剂;消泡剂;和流变学改性剂包括增稠剂和触变胶。所述公开的组合物理想地不含有可能潜在地损害患者组织或结构例如鼻腔或窦腔中的粘膜组织的成分。

[0057] 在需要从组织中去除水,例如,以从息肉或水肿组织中去除流体的那些情况下,高渗剂可以在公开的组合物中应用。示例性的高渗剂包括呋塞米、氯化钠凝胶和可以从组织或物质中抽出水的其他盐制剂,它们直接或间接地改变粘膜层的渗透压量(osmolar content)。当需要治疗剂的持续释放或延迟释放时,还可以包括释放剂改性剂。

[0058] 典型地,所公开的组合物在运送给最终用户之前将被灭菌并放置在合适的密封包装(例如,多组件注射器、小瓶或多个小瓶,或由合适材料制成的多室袋(multi-chamber

pouch)) 中。可以通过使用灭菌方法诸如 γ 辐射或电子束 (E-Beam) 加工以导致可控的断链来进行额外的性质定制。冷电离辐射灭菌 (例如, 冷 E-Beam 灭菌) 可以用来限制断链程度, 如在共同待决的以与本申请同一日申请的 PCT 申请 (代理人案卷号 P0035142.00 和 151-P-35142W001) 中所讨论的那样。不论是否灭菌, 含有壳聚糖的第一部分通常与含有氧化多糖的第二部分保持分开直至即将使用之前。

[0059] 所公开的组合物可以期望地用作破坏细菌生物被膜和阻碍其恢复的多步治疗方案中的一部分。例如, 可以进行一系列步骤, 这些步骤大体可分为清洗 / 破坏、杀伤、通气、保护 / 涂覆, 和愈合。清洗 / 破坏步骤可以通过施用如上结合图 1 和图 2 讨论的溶剂化体系进行。杀伤步骤可以通过将合适的抗生物剂施加到治疗部位进行。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包含如上描述的包含壳聚糖和氧化多糖的公开的组合物涂覆由此治疗的组织的至少一部分来进行。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, 在该步骤中包含壳聚糖和氧化多糖的公开组合物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- 约 7 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, 例如通过施加和除去可选溶剂化体系和通过经由正常抽吸 / 吸出技术施加所公开的含壳聚糖和氧化多糖的组合物, 或者通过简单冲洗受影响的组织进行。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在美国专利申请公开号 2007/0264310 A1 中找到。

[0060] 下面非限制性实例进一步说明本发明。

[0061] 实例 1

[0062] 凝胶形成

[0063] 壳聚糖溶液通过在 PBS 中过夜溶解不同量的壳聚糖谷氨酸盐 (来自 FMC BioPolymer AS 的 NovaMatrix unit 的 PROTASAN™ UP G 113 或 PROTASAN UP G 213) 来制备。氧化淀粉 (OXTS) 溶液通过在 PBS 中溶解 P9265 聚合二醛 (来自 Sigma-Aldrich) 并同时在 80°C 下加热 1-2 小时进行制备。氧化甲基纤维素 (MC) 和氧化羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 溶液通过使 MC 或 HPMC 与高碘酸钠反应、冻干所得产品和在 PBS 中溶解冻干产品来制备。将生成的壳聚糖溶液和氧化多糖溶液以不同比例和浓度混合。流变测量确定生成水凝胶的胶凝时间和储能模量 (G')。结果在下表 1 中显示。

[0064] 表 1

[0065] 胶凝时间和储能模量 G'

[0066]

试验 序号	壳聚糖	氧化多糖	壳聚糖:氧化 多糖的比例	总浓度 (%)	胶凝时间 (min)	G'(Pa)
1	G 113	OXST	2:1	5	< 2 ¹	5,200
2	G 113	OXST	1:1	5	< 2 ¹	4,000
3	G 113	OXST	1:2	5	< 2 ¹	
4	G 113	OXST	2:1	3.75	< 2 ¹	800
5	G 113	OXST	1:1	3.33	3.2	400
6	G 113	OXST	1:2	3	6.4	200
7	G 213	OXST	2:1	2.5	< 2 ¹	750
8	G 213	OXST	1:1	2.5	< 2 ¹	450
9	G 113	氧化 MC	1:2	7.5	< 1 天	
10	G 113	氧化 MC	1:10	5	< 2 ¹	
11	G 113	氧化 MC	1:5	5	< 2 ¹	100
12	G 113	氧化 MC	1:1	5	< 1 天	
13	G 113	氧化 MC	5:1	5	未胶凝	
14	G 113	氧化 HPMC	1:4	12.5	< 60	
15	G 113	氧化 HPMC	1:2	7.5	< 1 天	
16	G 113	氧化 HPMC	1:1	5	未胶凝	

[0067] ¹ 流变测量开始之前胶凝

[0068] 表 1 给出的每个壳聚糖 / 氧化多糖配方都具有 500cP 以下的粘度, 并且在粘膜组织治疗部位使用例如像在图 2 显示的设备或本领域技术人员将知道的各种其它设备应该是可注射的。。表 1 显示的配方也应当可以可以喷雾到粘膜治疗部位之上。由于一些配方的胶凝发生迅速, 所以喷雾施加在许多情况下都是优选的施加方式。试验序号 2 配方 (总浓度为 5% 的 G 113 壳聚糖 / OXST 1 : 1) 利用气体辅助涂布器 (gas-assisted applicator) (来自 Micromedics 公司的 FibriJet™ SA-6030 调节器, 控制装配有一对 3cc 注射器的 FibriJet SA-3652 喷雾组 (spray set)) 进行喷雾施加。OXST 溶液利用甲苯胺蓝染色从而使施加的流体层更易于看见。获得薄、快速形成的强凝胶。

[0069] 实例 2

[0070] 抗微生物特性

[0071] 评价了表 1 中试验序号 7 和 8 配方（总浓度为 2.5% 的 G 213 壳聚糖 /OXST 2 : 1 和 1 : 1, 分别显示为图 3 中的条 B 和条 C), 以采用检出限为 $\log 2$ 的平板程序确定它们对金黄色葡萄球菌的抗微生物活性。在无菌条件下, 将凝胶配方一式两份直接放到 24 孔聚苯乙烯组织培养板中。每孔用 1mL (25,000 菌落形成单位) 金黄色葡萄球菌的细菌悬浮液 (ATCC 25923) 温育。阳性对照用 1mL 胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB) 温育。在 37°C 下温育 6 小时之后, 将培养基转移到新管中, 并进行连续的十倍稀释。采用稀释跟踪方法 (Jett B. D 等人, Biotechniques, 23, 648-650 (1997)), 来自适当稀释液的 $10 \mu\text{L}$ 等份试样一式三份置于胰蛋白胨大豆肉汤板中。在 37°C 下温育该板 24 小时并计数集落生成单位 (CFU)。如图 3 中所示, 与 TSB 对照组 (见图 3 中条 A) 相比, 两个配方都示出细菌被完全杀伤 (减少 6 个 $\log$ 以上)。

[0072] 利用 140,000CFU/mL 的细菌接种量, 按上面描述的评价了表 1 中试验序号 2、10 和 11 配方 (总浓度为 5% 的 G 113 壳聚糖 /OXST 1 : 1、G 113 壳聚糖 / 氧化 MC 1 : 10 和 G 113 壳聚糖 / 氧化 MC 1 : 5, 分别为图中的曲线 B、C 和 D), 从而确定它们对金黄色葡萄球菌的抗微生物活性与时间的函数, 对照 TSB 对照 (见图 4 中的曲线 A), 在 1、3 和 6 小时记录测量结果。如图 4 所示, 对于由所有三个壳聚糖 / 氧化多糖配方制成的凝胶, 在 6 小时之后观察到彻底杀死, 在 3 小时之后观察到显著地杀死。G213 壳聚糖 /OXST 配方似乎比 G 113 壳聚糖 / 氧化 MC 配方提供了更快的杀死。

[0073] 实例 3

[0074] 药物输送

[0075] 利用表 1 中的试验序号 1、2 和 3 (总浓度为 5% 的 G 113 壳聚糖 /OXST 2 : 1、1 : 1 和 1 : 2, 分别显示为图 5 中的曲线 A、B 和 C), 从而通过将壳聚糖和氧化淀粉溶液与作为待输送药物的磷酸地塞米松混合, 在 PBS 缓冲液中制备载药水凝胶。如图 5 所示, 获得了磷酸地塞米松的相对快但多达 3 天的控释释放, 可能得益于阴离子药物和阳离子壳聚糖聚合物之间的相互作用。

[0076] 实例 4

[0077] 降解

[0078] 各种壳聚糖 / 氧化多糖凝胶配方的降解性质通过将该凝胶置于各种缓冲体系中确定, 该缓冲体系包括含有和不含有溶菌酶 (1mg/mL) 的 PH 为 7.4 的 PBS、含有脂肪酶、2-(N-吗啉基) 乙磺酸 (MES) 的 PH 为 6.0 的 PBS, 和 PH 为 7.4 的三羟甲基氨基甲烷 (TRIS)。重量减轻在多达 28 天的各个时间点确定重量减轻。使用所有缓冲体系均发生了重量减轻, 其中在 28 天之后约 30-60% 的原始 (干燥) 样品重量残留。氧化淀粉含量更高的凝胶表现出更大的重量减轻。在 pH 7.4 和 37°C (不含溶菌酶) 下 PBS 中壳聚糖 / 氧化多糖的重量减轻结果在图 6 中显示。

[0079] 氧化淀粉凝胶似乎降解成“贝壳状 (shell-like)”材料, 而氧化纤维素凝胶似乎在降解期间仍然为凝胶。氧化纤维素凝胶可以止血。

[0080] 实例 1-4 中的结果显示壳聚糖和氧化多糖可以结合从而制备可注射或可喷雾的配方, 该配方可以在原位快速形成具有内在抗微生物活性的强凝胶保护层。该配方在各种情况下均是可喷雾的、抗微生物的、生物可降解的或生物可吸收的, 并且能够充当药物输送的支架。

[0081] 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。

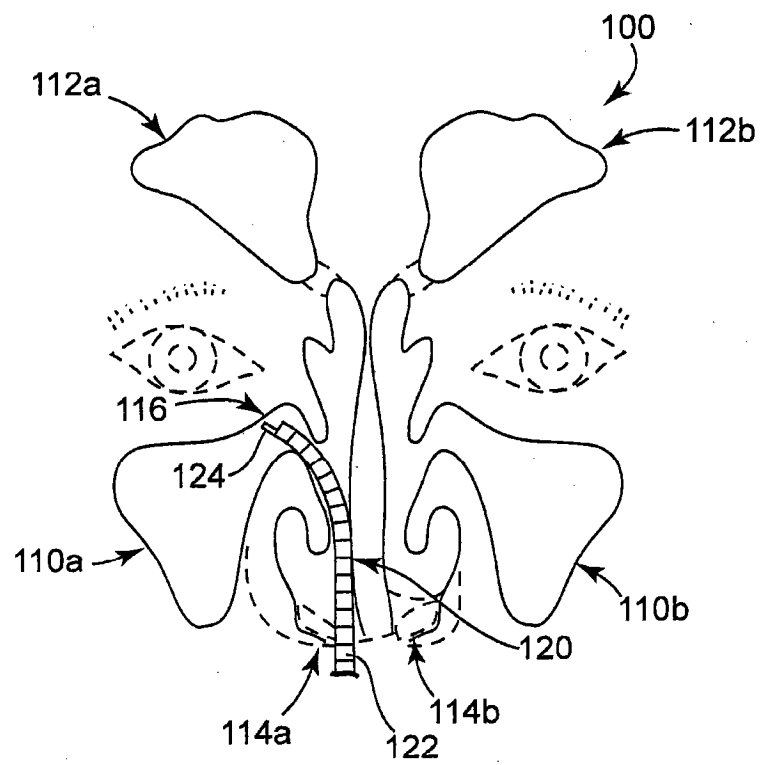


图 1

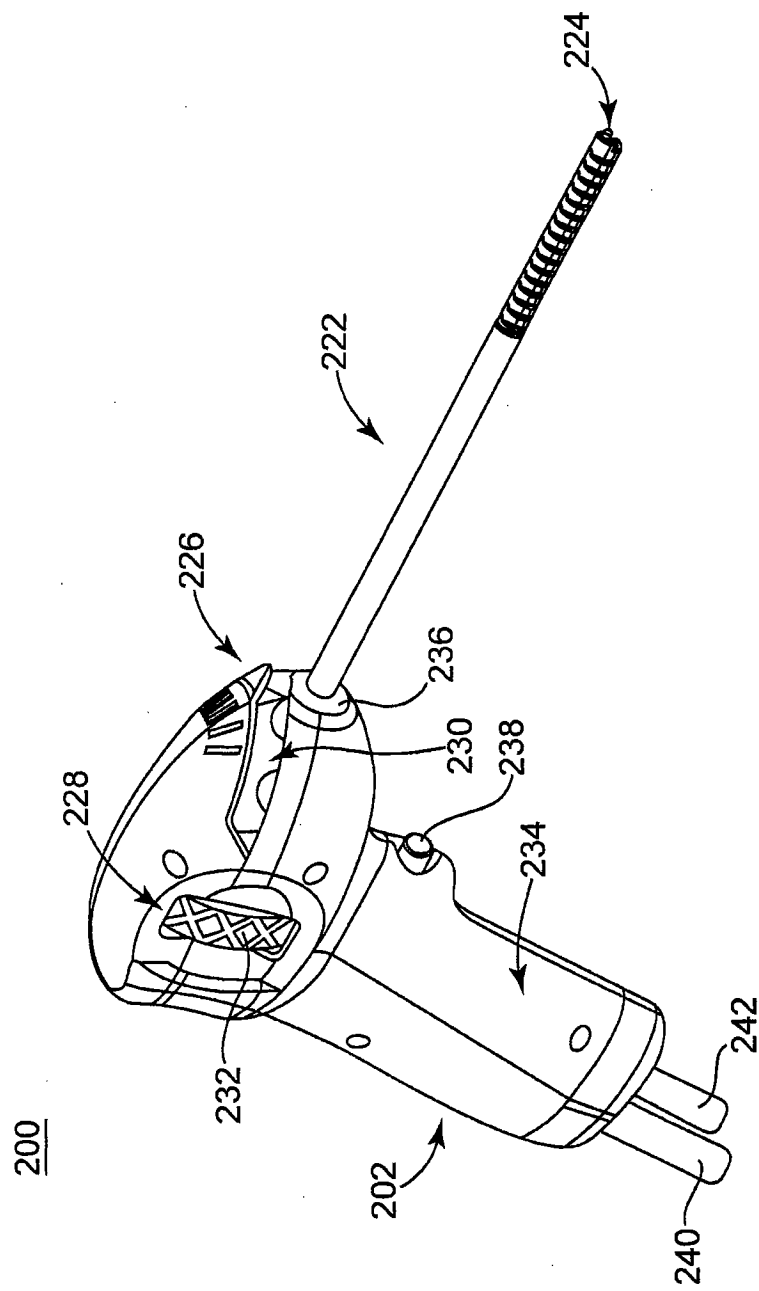


图 2

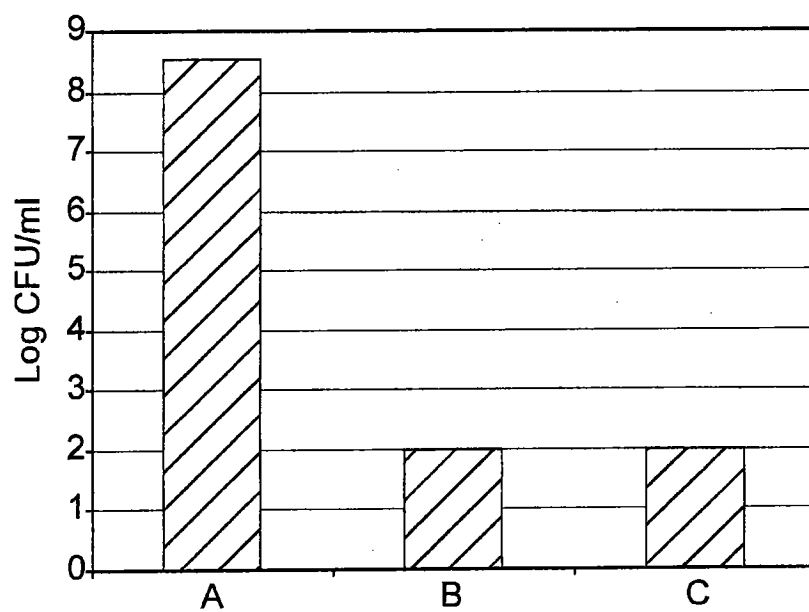


图 3

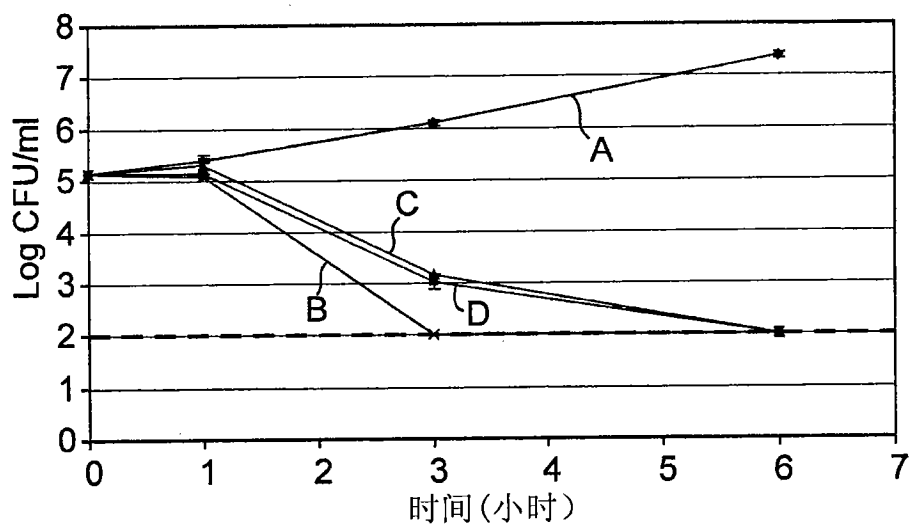


图 4

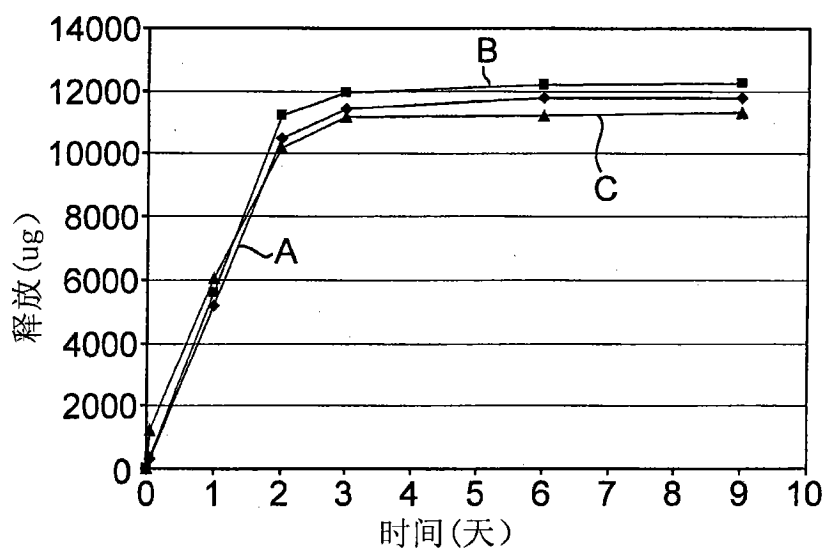


图 5

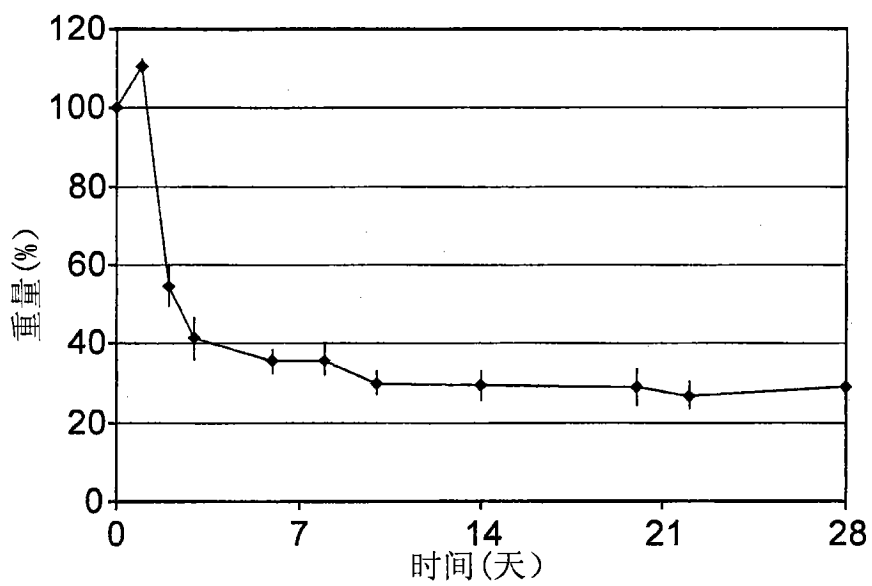


图 6