



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105407931 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 16

(21) 申请号 201480041462. 6

代理人 张英 宫传芝

(22) 申请日 2014. 05. 21

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/826, 328 2013. 05. 22 US

A61L 15/26(2006. 01)

A61L 15/28(2006. 01)

A61L 15/44(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 01. 21

A61L 15/64(2006. 01)

A61L 31/04(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/038942 2014. 05. 21

A61L 31/06(2006. 01)

A61L 31/14(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/190038 EN 2014. 11. 27

A61L 31/16(2006. 01)

A61L 15/42(2006. 01)

A61L 31/12(2006. 01)

(71) 申请人 宾州研究基金会

地址 美国宾夕法尼亚州

申请人 德克萨斯大学体系董事会

(72) 发明人 杨健 基泰·T·恩固因 谢志伟

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

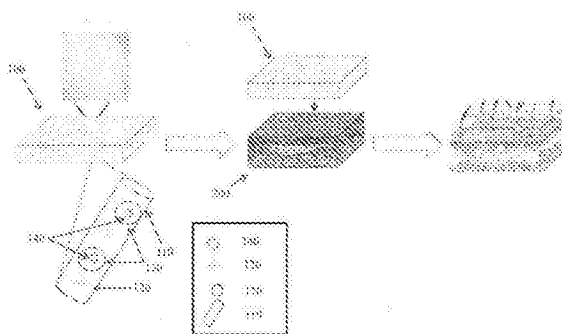
权利要求书2页 说明书20页 附图19页

(54) 发明名称

伤口敷料及其应用

(57) 摘要

在一个方面,在此描述了组合物和伤口敷料。在一些实施例中,在此所述的一种组合物或伤口敷料包含由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格;分散于这些生物可降解聚合物纤维内的一种第一活性剂;设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒;以及分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的一种第二活性剂。这些颗粒可以设置于该网格的这些纤维内部或该网格的这些纤维之间。在另一个方面,在此所述的一种组合物或伤口敷料包含由第一多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第一穿孔网格;以及由第二多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第二穿孔网格,其中该第二穿孔网格以堆叠构型设置于该第一穿孔网格上并且该第一穿孔网格和该第二穿孔网格具有不同的穿孔度。



1. 一种伤口敷料,包含:
由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格;
分散于这些生物可降解聚合物纤维内的一种第一活性剂;
设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒;以及
分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的一种第二活性剂。
2. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些颗粒设置于该网格的这些纤维内。
3. 如权利要求 2 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物颗粒基于这些纤维加上这些颗粒的总重量以多至约 30 重量%的量存在于这些纤维内。
4. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些颗粒设置于该网格的这些纤维之间。
5. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中该第一活性剂的体内或体外释放曲线不同于该第二活性剂的体内或体外释放曲线。
6. 如权利要求 5 所述的伤口敷料,其中该第一活性剂的体内或体外释放曲线和该第二活性剂的体内或体外释放曲线重叠小于约 70%。
7. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物纤维包含一种或多种抗微生物聚合物纤维。
8. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物纤维包含壳聚糖、羧甲基壳聚糖(CMC)以及聚(环氧乙烷)中的一种或多种。
9. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物纤维包含一种或多种含柠檬酸部分的聚合物。
10. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物纤维具有约 50nm 与约 1000nm 之间的平均直径。
11. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中该第一活性剂包括生长因子。
12. 如权利要求 11 所述的伤口敷料,其中该第一活性剂包括用于血管生成的生长因子。
13. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中该网格具有多至约 90%的孔隙度。
14. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物颗粒包含以下各项中的一种或多种:聚酯、聚乙酸、聚乙醇酸、聚乳酸-共-乙醇酸、聚己酸内酯及其共聚物。
15. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中这些生物可降解聚合物颗粒具有约 10nm 与约 200nm 之间的平均大小。
16. 如权利要求 1 所述的伤口敷料,其中该第二活性剂包括生长因子。
17. 如权利要求 16 所述的伤口敷料,其中该第二活性剂包括用于伤口愈合或骨骼生长的生长因子。
18. 一种伤口敷料,包含:
由第一个生物可降解聚合物纤维形成的一个第一穿孔网格;以及
由第二个生物可降解聚合物纤维形成的一个第二穿孔网格,
其中该第二穿孔网格以堆叠构型设置于该第一穿孔网格上并且该第一穿孔网格具有比该第二穿孔网格更高的穿孔度。
19. 如权利要求 18 所述的伤口敷料,进一步包含:
由第三个生物可降解聚合物纤维形成的一个第三穿孔网格,

其中该第三穿孔网格以堆叠构型设置于该第二穿孔网格上并且该第三穿孔网格具有比该第一穿孔网格和该第二穿孔网格更高的穿孔度。

20. 如权利要求 19 所述的伤口敷料,进一步包含:

由第四多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第四网格,

其中该第四网格以堆叠构型设置于该第三穿孔网格上并且该第四网格是未穿孔的或者具有比该第三穿孔网格更低的穿孔度。

21. 如权利要求 18 所述的伤口敷料,其中该第一穿孔网格是亲水性的并且该第二穿孔网格是疏水性的。

22. 如权利要求 18 所述的伤口敷料,其中一种活性剂分散于该第一穿孔网格和 / 或该第二穿孔网格的这些生物可降解聚合物纤维内。

23. 如权利要求 22 所述的伤口敷料,其中多个生物可降解聚合物颗粒设置于该第一穿孔网格和 / 或该第二穿孔网格内。

24. 如权利要求 23 所述的伤口敷料,其中一种第二活性剂分散于这些生物可降解聚合物颗粒内。

25. 如权利要求 24 所述的伤口敷料,其中该第一活性剂的体内或体外释放曲线不同于该第二活性剂的体内或体外释放曲线。

26. 一种治疗伤口的的方法,包括:

将如权利要求 1-17 中任一项所述的伤口敷料应用于该伤口的表面。

27. 如权利要求 26 所述的方法,进一步包括至少部分降解该伤口敷料的这些生物可降解聚合物纤维以使该第一活性剂释放到该伤口。

28. 如权利要求 27 所述的方法,进一步包括至少部分降解该伤口敷料的这些生物可降解聚合物颗粒以使该第二活性剂释放到该伤口。

29. 如权利要求 28 所述的方法,其中该第二活性剂在该第一活性剂释放之后释放。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其中该第一活性剂包括用于血管生成的生长因子。

31. 如权利要求 30 所述的方法,其中该第二活性剂包括用于伤口愈合或骨骼生长的生长因子。

32. 一种治疗伤口的的方法,包括:

将如权利要求 18-25 中任一项所述的伤口敷料应用于该伤口的表面。

33. 如权利要求 32 所述的方法,其中该伤口包括疔。

伤口敷料及其应用

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据 35 U. S. C. § 119 要求 2013 年 5 月 22 日提交的美国临时专利申请序列号 61/826, 328 的优先权, 该申请通过引用整体结合在此。

[0003] 关于联邦政府资助的研究的声明

[0004] 本发明在政府支持下根据国家生物医学成像和生物工程研究所 (NIBIB) (National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering(NIBIB)) 授予的合同 EB012575 和国家科学基金会 (NSF) (National Science Foundation(NSF)) 授予的合同 DMR1313553 来完成。政府在本发明中具有一定权利。

技术领域

[0005] 本发明涉及组合物和伤口敷料, 并且具体地说涉及包含生物可降解聚合物纤维和生物可降解聚合物颗粒的组合物和伤口敷料。

背景技术

[0006] 伤口愈合是一个动态且复杂的过程, 它涉及细胞外基质 (ECM)、细胞因子、血细胞和其他生物物质。另外, 伤口愈合可以包括三个重叠阶段: 炎症、组织再生和组织重构。由于伤口愈合过程的病理和生理学复杂性, 可能难以实现完美组织再生, 特别是对于皮肤伤口和慢性伤口如糖尿病溃疡和疝。在美国疝修补术是最常见手术之一, 多至 27% 的男性和 3% 的女性受到疝影响。不幸的是, 一些现有疝修补手术和装置如非生物可降解疝修补网格本身能够引起慢性疼痛和 / 或疝复发。例如, 一些现有网格显示网格内细胞渗透不佳和 / 或机制性能不佳。

[0007] 另外, 许多现有伤口敷料仅用作保护患者使其免受感染的暂时性止血屏障并且不能另外促进伤口愈合。此外, 一些天然和合成的皮肤移植应用可能很昂贵、需要大量手术后护理、和 / 或不能提供完整皮肤功能。因此, 需要治疗伤口如皮肤伤口、糖尿病溃疡和疝的改进的伤口敷料和方法。

发明内容

[0008] 在一个方面, 在此描述了组合物和伤口敷料, 在一些实施例中, 这些组合物和伤口敷料与一些其他组合物和伤口敷料相比可以提供一种或多种优点。例如, 在一些实施例中, 在此所述的一种组合物或伤口敷料可以通过根据所希望的释放曲线、包括双峰或部分重叠的释放曲线控制释放多种活性剂来促进伤口更快愈合。在此所述的一种组合物或伤口敷料也可以通过向伤口部位提供组分梯度如孔隙梯度或穿孔梯度来促进伤口愈合。另外, 在一些情况下, 在此所述的一种组合物或伤口敷料可以提供用于支持细胞生长、包括再生细胞生长的纤维支架。在一些情况下, 这种纤维支架可以模拟活有机体的细胞外基质 (ECM)。另外, 由在此所述的一种组合物或伤口敷料提供的一个纤维支架也可以展示抗微生物特性。此外, 在此所述的多种组合物或伤口敷料可以同时提供一种或多种以上优点。例如, 在一些

情况下,在此所述的一种组合物或伤口敷料可以用作支持伤口愈合的支架同时还在伤口愈合的不同阶段释放多种活性剂。在一些实施例中,在此所述的一种组合物或伤口敷料可以同时提供生物化学刺激、细胞生长支持和细菌抑制。

[0009] 在一些实施例中,在此所述的一种组合物包含生物可降解聚合物纤维、分散于该纤维内的第一活性剂、分散于该纤维内的多个生物可降解聚合物颗粒和分散于这些聚合物颗粒内的第二活性剂。另外,在一些情况下,在此所述的一种组合物或伤口敷料包含由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格;分散于这些生物可降解聚合物纤维内的一种第一活性剂;设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒;以及分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的一种第二活性剂。在一些实施例中,这些颗粒设置于该网格的这些纤维内部。或者,在其他情况下,这些颗粒设置于该网格的这些纤维之间。另外,在此所述的组合物或伤口敷料的网格可以是非编织网格。

[0010] 如下文进一步描述的,在一些实施例中,当具有在此所述结构的一种组合物或伤口敷料设置于该伤口上或生物隔室内时,该伤口敷料可以提供第一活性剂和第二活性剂到伤口或其他生物隔室的两部分、双峰或时间上分开的递送。

[0011] 在一些情况下,在此所述的一种组合物或伤口敷料的一种或多种活性剂可以包括生长因子,例如用于血管生成、伤口愈合或骨骼生长的生长因子。此外,在一些实施例中,选择鉴别一种或多种生长因子,以实现一种或多种希望的生物效应,包括以希望的时间顺序实现这些效应。在一些情况下,例如,第一活性剂被选择为实现第一生物效应如促进血管生长,并且第二活性剂被选择为实现第二生物效应如伤口愈合或促进骨骼生长,该第二生物效应可以理想地在时间上与该第一生物效应分开。

[0012] 另外,在一些实施例中,在此所述的一种组合物或伤口敷料的这些生物可降解聚合物纤维包括一种或多种抗微生物聚合物纤维。在一些情况下,这些生物可降解聚合物纤维包含壳聚糖、羧甲基壳聚糖(CMC)、聚(环氧乙烷)和胶原蛋白中的一种或多种。在其他实施例中,在此所述的一种组合物或伤口敷料的这些生物可降解聚合物纤维包含一种或多种含有柠檬酸部分的聚合物。另外,在一些情况下,这些生物可降解聚合物纤维是具有约50nm与约1000nm之间的平均直径的纳米纤维。类似地,在一些情况下,在此所述的组合物或伤口敷料的这些生物可降解聚合物颗粒是具有约10nm与约200nm之间的平均大小的纳米颗粒。

[0013] 在另一个方面,在此所述的组合物或伤口敷料包含生物可降解聚合物纤维网格堆叠,这些聚合物纤维网格堆叠可以包含或不包含生物可降解聚合物颗粒和/或活性剂。在一些实施例中,这个网格堆叠被安排为在z-方向上提供特性梯度,如下文进一步描述的。例如,在一些情况下,在此所述的一种组合物或伤口敷料包含由第一多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第一穿孔网格;和由第二多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第二穿孔网格,其中该第二穿孔网格以堆叠构型设置于该第一穿孔网格上并且该第一穿孔网格具有比该第二穿孔网格更高的穿孔度。另外,在一些实施方案中,这种组合物或伤口敷料进一步包含由第三多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第三穿孔网格,其中该第三穿孔网格以堆叠构型设置于该第二穿孔网格上并且该第三穿孔网格具有比该第一穿孔网格和该第二穿孔网格更高的穿孔度。此外,如下文进一步描述的,在此所述的多种组合物或伤口敷料可以进一步包含堆叠构型的其他穿孔网格或未穿孔网格。例如,在一些情况下,在此所述的

一种组合物或伤口敷料进一步包含由第四多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第四网格,其中该第四网格是未穿孔的或者具有比该第三穿孔网格更低的穿孔度。在一些实施例中,具有这种结构的一种伤口敷料可以提供物理屏障,以实现伤口敷料在远离伤口的伤口敷料侧上的组织渗透。

[0014] 另外,需要时,在此所述堆叠的一个或多个网格可以具有上文所述用于包含活性剂的伤口敷料的结构。例如,在一些情况下,一种活性剂分散于该第一穿孔网格和/或该第二穿孔网格的生物可降解聚合物纤维内。在一些情况下,多个生物可降解聚合物颗粒设置于该第一穿孔网格和/或该第二穿孔网格内。另外,在一些情况下,一种第二活性剂分散于这些生物可降解聚合物颗粒内。

[0015] 在另一个方面,在此描述了治疗伤口的方法。在一些实施例中,在此所述的一种治疗伤口的方法包括将上文所述的组合物或伤口敷料应用于伤口表面上,该伤口表面可以是皮肤伤口、糖尿病溃疡或疔。例如,在一些实施例中,伤口敷料包括由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格;分散于这些生物可降解聚合物纤维内的一种第一活性剂;设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒;以及分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的一种第二活性剂。在一些情况下,这种方法可以进一步包括至少部分降解这些生物可降解聚合物纤维,以使一种或多种活性剂释放到该伤口。

[0016] 这些实施例和其他实施例在以下详细说明中进行更详细地描述。

附图说明

[0017] 图 1 示意性示出了根据在此所述的一个实施例的一种治疗伤口的伤口敷料和方法。

[0018] 图 2A 和图 2B 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料网格的扫描电子显微镜 (SEM) 图像。

[0019] 图 2C 示出了根据在此所述的一个实施例的伤口敷料的荧光图像。

[0020] 图 2D 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料的聚合物纤维直径的绘图。

[0021] 图 3 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料的活性剂的释放曲线的绘图。

[0022] 图 4 示出了根据在此所述的一些实施例治疗伤口之后的细胞增殖的绘图。

[0023] 图 5A 和图 5B 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料的抗微生物特性的绘图。

[0024] 图 6A 示出了根据在此所述的一些方法实施例治疗的伤口的照片。

[0025] 图 6B 示出了根据在此所述的一些方法实施例的伤口愈合作为时间函数的绘图。

[0026] 图 7A 示出了根据在此所述的一些方法实施例治疗的伤口的染色图像。

[0027] 图 7B- 图 7D 示出了根据在此所述的一些方法实施例治疗伤口的结果的绘图。

[0028] 图 8A 示出了根据在此所述的一些方法实施例治疗的伤口的染色图像。

[0029] 图 8B 和图 8C 示出了根据在此所述的一些方法实施例治疗伤口的结果的绘图。

[0030] 图 9 示意性示出了根据在此所述的一个实施例的一种制备伤口敷料的方法。

[0031] 图 10A- 图 10D 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料的穿孔网格的 SEM 图像。

[0032] 图 11A- 图 11D 示出了根据在此所述的一些实施例的伤口敷料网格的机制特性的

绘图。

具体实施方式

[0033] 在此所述的实施例参考以下详细说明、实例和附图可能更容易理解。然而，在此所述的元件、装置和方法并不限于详细说明、实例和附图中所呈现的特定实施例。应认识到这些实施例仅说明本发明的原理。在不背离本发明的精神和范围的情况下，许多修改和改编对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0034] 另外，在此披露的所有范围被理解为包括其中含有的任何和所有子范围。例如，“1.0 至 10.0”的规定范围应被认为包括以 1.0 或更大的最小值开始并以 10.0 或更小的最大值结束的任何和所有子范围，例如 1.0 至 5.3、或 4.7 至 10.0、或 3.6 至 7.9。

[0035] 除非另外明确说明，否则在此披露的所有范围也应被认为包括该范围的端点。例如，范围“5 与 10 之间”通常应被认为包括端点 5 和 10。

[0036] 另外，当短语“多至”与数量或量结合使用时，应理解该数量是至少可检测的数量或量。例如，以“多至”指定数量的量存在的材料可以存在可检测数量和多至指定数量且包括指定数量的量。

[0037] I. 组合物和伤口敷料

[0038] 在一个方面，在此描述了组合物和伤口敷料。在一些实施例中，在此所述的组合物包含生物可降解聚合物纤维、分散于该纤维内的第一活性剂、分散于该纤维内的多个生物可降解聚合物颗粒和分散于这些聚合物颗粒内的第二活性剂。另外，在一些情况下，在此所述的组合物或伤口敷料包含由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格；分散于这些生物可降解聚合物纤维内的一种第一活性剂；设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒；以及分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的一种第二活性剂。在一些情况下，这些颗粒设置于该网格纤维内，以使得这些纤维在纤维内部空间内完全或基本上完全含有这些颗粒。在这些情况下，聚合物颗粒可以与本披露的目的不矛盾的任何量存在于聚合物纤维内。在一些实施例中，例如，生物可降解聚合物基于这些纤维加上这些颗粒的总重量以多至约 30 重量%的量存在于这些纤维内。在其他情况下，生物可降解聚合物颗粒基于这些纤维加上这些颗粒的总重量以多至约 25 重量%、多至约 20 重量%、多至约 15 重量%、多至约 10 重量%或多至约 5 重量%的量存在于这些纤维内。在其他情况下，生物可降解聚合物颗粒基于这些纤维加上这些颗粒的总重量以约 1 重量%与约 30 重量%之间、约 5 重量%与约 25 重量%之间、约 5 重量%与约 20 重量%之间、约 5 重量%与约 15 重量%之间或约 10 重量%与约 20 重量%之间的量存在于这些纤维内。在一些实施例中，含有这些量的颗粒的纤维可以是光滑、均匀且基本上无轮缘的复合纤维。

[0039] 在一些情况下，在此所述的伤口敷料的生物可降解聚合物颗粒设置于网格的这些纤维之间。设置于网格的这些纤维之间的颗粒可以物理地截留在该网格内和 / 或化学结合网格纤维的外表面，而不是结合在纤维内部空间。在这些情况下，生物可降解聚合物颗粒可以与本披露的目的不矛盾的任何量存在于网格内。在一些实施例中，生物可降解聚合物颗粒可以基于该网格加上这些颗粒的总重量以多至约 80 重量%、多至约 70 重量%、多至约 50 重量%、多至约 40 重量%、多至约 30 重量%、多至约 20 重量%、多至约 10 重量%或多至约 5 重量%的量存在于网格内。在一些情况下，生物可降解聚合物颗粒基于该网格加上这些

颗粒的总重量以约 1 重量%与约 80 重量%之间、约 5 重量%与约 70 重量%之间、约 10 重量%与约 50 重量%之间、约 10 重量%与约 40 重量%之间或约 10 重量%与约 20 重量%之间的量存在于该网格内。

[0040] 如下文进一步描述的, 在一些实施例中, 当具有在此所述结构的伤口敷料设置来与伤口上或其他生物隔室接触时, 该伤口敷料可以提供第一活性剂和第二活性剂到伤口或其他生物隔室的两部分、双峰或时间上分开的递送。在一些情况下, 甚至在第一活性剂和第二活性剂在化学上类似时和 / 或在生物可降解聚合物纤维与生物可降解聚合物颗粒在化学上类似时可以实现这种释放曲线。例如, 具有相同或类似疏水性、亲水性、静电荷和 / 或流体动力学大小的第一活性剂和第二活性剂当包含在具有在此所述结构的伤口敷料内时展示不同的体内或体外释放曲线。在此出于参考目的, “体内或体外释放曲线” 描述了当伤口敷料分别设置于体内或体外环境时随着时间 (t) 从伤口敷料中释放的活性剂的量或浓度。活性剂的这种释放可能因为该活性剂从其中分散有该活性剂的生物可降解聚合物纤维或颗粒中扩散出来而发生。活性剂的释放也可能因为生物可降解聚合物纤维或颗粒降解而发生。

[0041] 在一些实施例中, 在此所述伤口敷料的第一活性剂的体内或体外释放曲线不同于第二活性剂的体内或体外释放曲线。例如, 在一些情况下, 第一活性剂的体内或体外释放曲线和第二活性剂的体内或体外释放曲线重叠小于约 70%。在一些实施例中, 这些释放曲线重叠小于约 50%、小于约 40%、小于约 30%、小于约 25%、小于约 20%、小于约 15%、小于约 10%、小于约 5% 或小于约 1%。在一些情况下, 这些释放曲线完全未重叠。

[0042] 活性剂释放曲线的“重叠”百分比可以基于这些活性剂的体内或体外释放曲线的总面积, 如下文进一步描述的。例如, 从伤口敷料放置 3 天开始并在放置 7 天结束, 第一活性剂可以从在此所述的伤口敷料中完全释放。第二活性剂在伤口敷料放置 7 天后开始从中释放。在这种情况下, 第一活性剂的体内或体外释放曲线与第二活性剂的体内或体外释放曲线重叠 0%。或者, 如果第一活性剂在 $t = 6$ 天与 $t = 7$ 天之间释放总量的一半 (其中另一半在 $t = 6$ 天前释放), 并且第二活性剂在 $t = 6$ 天与 $t = 7$ 天之间释放总量的一半 (其中另一半在 $t = 7$ 天后释放), 那么第一活性剂和第二活性剂的体内或体外释放曲线重叠 50%。

[0043] 通常, 希望的在此所述活性剂的体内或体外释放曲线之间的重叠可以基于以下各项中的一种或多种来选择: 每种活性剂的化学组成、生物可降解聚合物纤维的化学组成、生物可降解聚合物颗粒的化学组成、分散于每种生物可降解聚合物纤维和颗粒内的活性剂的量、生物可降解聚合物纤维和颗粒的物理大小、以及生物可降解聚合物纤维和颗粒的生物降解速率。另外, 在一些情况下, 可以独立地使用以上各特征来增大或减小活性剂释放曲线的重叠。例如, 为了实现较高重叠百分比, 可以选择选择相同或类似疏水性、亲水性、静电荷和 / 或流体动力学大小的第一活性剂和第二活性剂的化学组成。较高重叠百分比也可以通过提供具有类似化学组成、类似生物降解速率和 / 或类似大小的生物可降解聚合物纤维和生物可降解聚合物颗粒。相比之下, 为了实现体内或体外释放曲线的较低重叠百分比, 第一活性剂和第二活性剂的以上特性可以不同。通过将疏水性第一活性剂分散于亲水性生物可降解聚合物纤维内并将亲水性第二活性剂分散于亲水性生物可降解聚合物颗粒内也可以实现体内或体外释放曲线的较低重叠百分比。以其他方式也可以实现所希望的释放曲线重

叠。

[0044] 类似地,第一活性剂和第二活性剂的绝对释放曲线也可以基于以上因素中的一种或多种来独立地选择,这些因素包括以下各项中的一种或多种:每种活性剂的化学组成、生物可降解聚合物纤维的化学组成、生物可降解聚合物颗粒的化学组成、分散于每种生物可降解聚合物纤维和颗粒内的活性剂的量、生物可降解聚合物纤维和颗粒的物理大小、以及生物可降解聚合物纤维和颗粒的生物降解速率。在一些情况下,在此所述伤口敷料的第一活性剂具有小于约4天、小于约3天、小于约2天或小于约1天的释放半衰期。在一些情况下,在此所述伤口敷料的第一活性剂具有约0.5天与约5天之间、约0.5天与约4天之间、约1天与约4天之间或约1天与约3天之间的释放半衰期。在一些实施例中,第一活性剂具有小于1天的释放半衰期。另外,在一些情况下,第二活性剂的释放半衰期比第一活性剂的释放半衰期更长。例如,在一些实施例中,在此所述伤口敷料的第二活性剂具有大于约2天、大于约3天、大于约4天、大于约5天、大于约6天、大于约7天或大于约10天的释放半衰期。在一些情况下,第二活性剂具有约1天与约10天之间、约2天与约9天之间、约3天与约8天之间、约3天与约7天之间、约4天与约10天之间、约4天与约7天之间或约4天与约6天之间的释放半衰期。因此,在一些实施例中,在此所述的伤口敷料可以提供第一活性剂的快速释放(例如在第一活性剂的释放半衰期小于约2天或小于约1天时),然后缓慢、持续性释放第二活性剂(例如在第二活性剂的半衰期大于约5天时)。另外,在一些情况下,甚至当第一活性剂和第二活性剂具有相同或类似疏水性、亲水性、流体动力学大小和/或静电荷(包括相对于其中分散有这些活性剂的生物可降解聚合物纤维和颗粒)时,可以获得这些释放速率。在此出于参考目的,活性剂的“释放半衰期”是指在伤口敷料放置于体内或体外环境后活性剂从伤口敷料中释放出总量的一半所需要的时间量。

[0045] 另外,在一些实施例中,在此所述伤口敷料的第一活性剂具有一个释放曲线,其中该活性剂在伤口敷料设置于体内或体外环境内30分钟内释放按重量计至少约30%、至少约50%或至少约60%。在一些情况下,该第一活性剂具有一个释放曲线,其中该活性剂在伤口敷料设置于体内或体外环境内30分钟内释放约30%与约70%之间或约30%与约65%之间。在一些实施例中,该第一活性剂具有一个释放曲线,其中该活性剂在伤口敷料设置于体内或体外环境内3天内释放按重量计至少约90%、至少约95%或至少约99.9%。

[0046] 类似地,在一些情况下,在此所述伤口敷料的第二活性剂具有一个释放曲线,其中该活性剂在伤口敷料设置于体内或体外环境内前24小时释放按重量计小于约30%、小于约20%或小于约15%。在一些情况下,该第二活性剂具有一个释放曲线,其中在伤口敷料设置于体内或体外环境内前24小时释放约1%与约30%之间或约5%与约25%之间的该活性剂。另外,在一些实施例中,该第二活性剂具有体内或体外持续释放曲线。

[0047] 另外,尽管在此描述了具有两种活性剂的伤口敷料,但是应理解伤口敷料也可以包含超过两种活性剂。例如,在一些实施例中,多种不同的第一活性剂设置于伤口敷料的聚合物纤维内,和/或多种不同的第二活性剂设置于在此所述伤口敷料的聚合物颗粒内。

[0048] 现在参照一些伤口敷料的特定组分,在一些实施例中,在此所述的伤口敷料包含由生物可降解聚合物纤维形成的一个网格。可以使用与本披露的目的不矛盾的任何生物可降解聚合物纤维。在一些实施例中,生物可降解聚合物在体内降解成无毒组分,这些无毒组分可以通过普通生物过程从体内清除。在一些实施例中,生物可降解聚合物经过约30天或

更少的时间完全或基本上完全降解,其中降解程度是基于生物可降解聚合物质量减轻百分比,并且其中完全降解对应于 100% 质量减轻。确切地说,质量减轻通过将聚合物初始重量 (W_0) 与预定时间点测量的重量 (W_t) (如 30 天) 比较来计算,如等式 (1) 所示:

[0049]

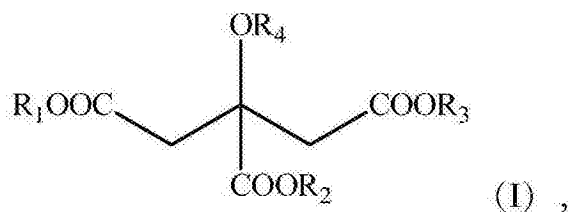
$$\text{质量减轻 (\%)} = \frac{(W_0 - W_t)}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

[0050] 在一些实施例中,在此所述网格的生物可降解聚合物纤维包括一种或多种抗微生物聚合物纤维,例如一种或多种壳聚糖纤维。在其他情况下,生物可降解聚合物纤维可以包含分散于这些纤维表面或与这些表面结合的抗微生物材料。另外,在一些实施例中,在此所述的生物可降解聚合物纤维可以包含包封于这些纤维表面或与这些表面结合的抗微生物肽。

[0051] 在一些情况下,在此所述伤口敷料的生物可降解聚合物纤维包含以下各项中的一种或多种或者由以下各项中的一种或多种形成:壳聚糖、羧甲基壳聚糖 (CMC) 和聚环氧乙烷 (PEO) 或聚乙二醇 (PEG)。在其他情况下,伤口敷料的生物可降解聚合物纤维包含以下各项或者由以下各项形成:海藻酸、琼脂糖、淀粉、多糖、纤维素或纤维素衍生物、糊精、右旋糖酐、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维连接蛋白、胶原、明胶、弹性蛋白、层粘连蛋白、黏多糖、透明质酸、白蛋白、多肽、聚乳酸 (PLA)、聚乙醇酸 (PGA)、聚乳酸-共-乙醇酸 (PLGA)、聚己内酯 (PCL)、聚乙交酯、聚酞类、聚磷腈或聚氨酯。还可以使用以上各项中的一种或多种的混合物、组合或共聚物。例如,在一些实施例中,在此所述的生物可降解聚合物纤维可以包含壳聚糖和 PEO 的共混物。在一些情况下,在此所述的纤维可以由壳聚糖和 PEO 的共混物形成,其壳聚糖与 PEO 的比率是按重量计约 1:3 与约 10:1 之间或者按重量计约 1:1 与约 5:1 之间。在此所述聚合物的其他组合或共混物也可以用于形成在此所述网格的生物可降解聚合物纤维。

[0052] 另外,在一些实施例中,在此所述网格的生物可降解聚合物纤维包含一种或多种含有柠檬酸部分的聚合物或由这种或这些聚合物形成。在此出于参考的目的,“柠檬酸部分”包括具有化学式 (I) 的结构的部分:

[0053]



[0054] 其中 R_1 、 R_2 和 R_3 独立地是 $-H$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 M^+ 或与该聚合物其余部分的连接点;

[0055] R_4 是 $-H$ 或与该聚合物其余部分的连接点;并且

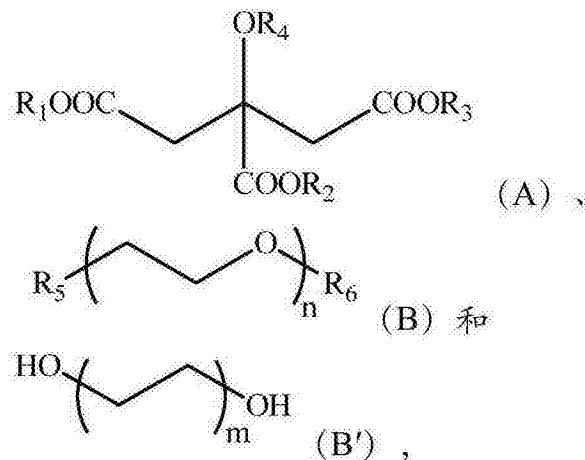
[0056] M^+ 是阳离子如 Na^+ 或 K^+ , 条件是 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中的至少一个是与该聚合物其余部分的连接点。

[0057] 例如,在一些情况下,在此所述组合物或伤口敷料的聚合物包括 (i) 柠檬酸、柠檬酸盐或柠檬酸酯如柠檬酸三乙酯与 (ii) 多元醇如二醇的反应产物。适用于在此所述的一些实施例的多元醇的非限制性实例包括 $C_2-C_{20} \alpha, \omega-n$ -烷烃二醇或 $C_2-C_{20} \alpha, \omega$ -烯炔二醇。在其他情况下,在此所述伤口敷料的聚合物包括 (i) 柠檬酸、柠檬酸盐或柠檬酸酯与

(ii) 多元醇和 (iii) 胺、酰胺或异氰酸酯的反应产物。在一些情况下,胺包括具有两至十个碳原子的一种或多种伯胺。在其他情况下,胺包括具有两至十五个碳原子的一种或多种仲胺或叔胺。在一些实施例中,异氰酸酯包括单异氰酸酯。在其他情况下,异氰酸酯包括二异氰酸酯如二异氰酸烷烃酯。另外,在此所述伤口敷料的聚合物也可以包括 (i) 柠檬酸、柠檬酸盐或柠檬酸酯与 (ii) 多元醇和 (iii) 多元羧酸如二羧酸或多元羧酸的功能等效物如多元羧酸的环酐或氯化酰基的反应产物。此外,多元羧酸或其功能等效物可以是饱和或不饱和的。例如,在一些情况下,多元羧酸或其功能等效物包括马来酸、马来酸酐、富马酸或富马酰氯。在其他实施例中,在此所述的聚合物包括 (i) 柠檬酸、柠檬酸盐或柠檬酸酯与 (ii) 多元醇和 (iii) 氨基酸如 α -氨基酸的反应产物。在一些实施例中, α -氨基酸包括 L-氨基酸、D-氨基酸或 D, L-氨基酸。在一些情况下, α -氨基酸包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、缬氨酸或其组合。另外,在一些情况下, α -氨基酸包括烷基取代的 α -氨基酸,如源自 22 种“标准”氨基酸或蛋白氨基酸中任一种的甲基取代的氨基酸,如甲基丝氨酸。另外,在一些情况下,氨基酸形成在此所述组合物的聚合物或寡聚物的侧基 (pendant group) 或侧基 (side group)。另外,在一些情况下,在此所述单体的反应产物是这些单体的缩合反应产物。在一些情况下,在此所述的聚合物是美国专利 8,530,611;美国专利 8,574,311;或美国专利 8,613,944 所述的聚合物或寡聚物。

[0058] 另外,在一些实施例中,在此所述伤口敷料的聚合物由一个或多个化学式 (A) 单体和一个或多个化学式 (B) 或 (B') 单体形成:

[0059]



[0060] 其中 R_1 、 R_2 和 R_3 独立地是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 M^+ ;

[0061] R_4 是 $-\text{H}$;

[0062] R_5 是 $-\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$;

[0063] R_6 是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$;

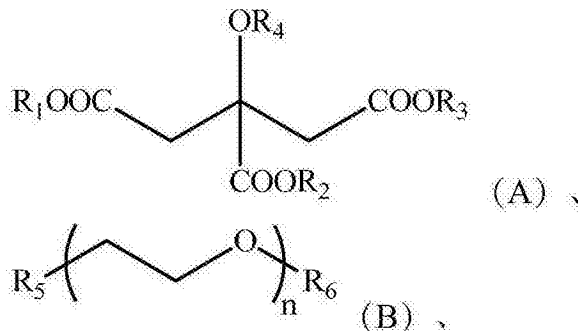
[0064] M^+ 是阳离子如 Na^+ 或 K^+ ; 并且

[0065] n 和 m 独立地是范围为 1 至 20 的整数。

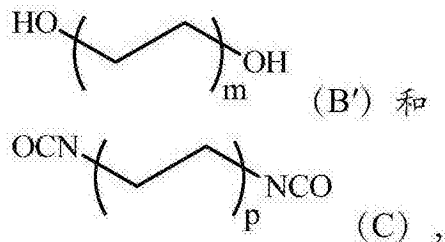
[0066] 在一些情况下,例如 R_1 、 R_2 和 R_3 是 $-\text{H}$, R_5 是 $-\text{OH}$, 并且 R_6 是 $-\text{H}$ 。

[0067] 在一些实施例中,在此所述伤口敷料的聚合物由一个或多个化学式 (A) 单体、一个或多个化学式 (B) 或 (B') 单体和一个或多个化学式 (C) 单体形成:

[0068]



[0069]

[0070] 其中 R_1 、 R_2 以及 R_3 独立地是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 M^+ ;[0071] R_4 是 $-\text{H}$;[0072] R_5 是 $-\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$;[0073] R_6 是 $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$;[0074] M^+ 是阳离子如 Na^+ 或 K^+ ;[0075] n 和 m 独立地是范围为 1 至 20 的整数; 以及[0076] p 是范围为 1 至 10 的整数。[0077] 例如, 在一些情况下, R_1 、 R_2 以及 R_3 是 $-\text{H}$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, R_5 是 $-\text{OH}$, R_6 是 $-\text{H}$, n 是 2 至 6, m 是 2 至 8, 并且 p 是 2 至 6。

[0078] 另外, 在在此所述伤口敷料的一些实施例中, 化学式 (B) 或 (B') 单体可以被不具有化学式 (B) 或 (B') 的化学式的醇置换。例如, 在一些实施例中, 可以使用不饱和醇或不饱和多元醇。另外, 在一些情况下, 化学式 (C) 的单体或寡聚物可以至少部分被在此所述的氨基酸置换。

[0079] 另外, 在此所述的生物可降解聚合物在该聚合物主链内可以具有至少一个酯键。在一些情况下, 聚合物在该聚合物主链内具有多个酯键, 例如至少三个酯键、至少四个酯键或至少五个酯键。在一些实施例中, 在此所述的聚合物在该聚合物主链内具有两个酯键与五十个酯键之间。

[0080] 此外, 在一些情况下, 在此所述伤口敷料的网格可以由生物可降解聚合物纤维的混合物或共混物形成, 这些聚合物纤维由在此所述的不同聚合物形成。

[0081] 另外, 在此所述网格的生物可降解聚合物纤维可以具有与本披露的目的不矛盾的任何大小和形状。在一些实施例中, 例如, 生物可降解聚合物纤维具有约 1000nm 或更小的平均直径。在一些情况下, 在此所述的聚合物纤维具有约 10nm 与约 1000nm 之间或约 50nm 与约 1000nm 之间的平均直径。在一些情况下, 在此所述的聚合物纤维可以具有约 10nm 与约 500nm 之间、约 10nm 与约 100nm 之间、约 50nm 与约 500nm 之间、约 100nm 与约 1000nm 之间或约 500nm 与约 1000nm 之间的平均直径。在其他情况下, 在此所述的聚合物纤维具有

大于约 1000nm 的平均直径。在一些实施例中,在此所述的聚合物纤维具有约 1000nm 与约 100 μm 之间、约 1000nm 与约 10 μm 之间、约 5 μm 与约 100 μm 之间、约 5 μm 与约 50 μm 之间或约 10 μm 与约 100 μm 之间的平均直径。

[0082] 在一些实施例中,在此所述的伤口敷料还包含分散于网格的生物可降解聚合物纤维内的第一活性剂。在此出于参考目的,“活性剂”可以包括当设置于体内时可操作地提供生物效应的任何物质。可以使用与本披露的目的不矛盾的任何活性剂。在一些实施例中,在此所述伤口敷料的第一活性剂包括生长因子。可以使用与本披露的目的不矛盾的任何生长因子。在一些情况下,在此所述的生长因子可以调节一个或多个伤口愈合过程,如止血、细胞迁移、细胞分化、ECM 形成以及血管生成。在一些实施例中,第一活性剂包括表皮生长因子 (EGF); 肝素结合 EGF; 血小板源生长因子 (PDGF) 如 PDGF-BB; 转化生长因子 β (TGF- β) 如 TGF- β -1 或 TGF- β -2; 血管内皮生长因子 (VEGF); 胰岛素样生长因子 (IGF) 如 IGF-I 或 IGF-II; 酸性或碱性纤维母细胞生长因子 (FGF) 如 FGF-1 或 FGF-2; 和 / 或以上各项的一种或多种亚型。也可以使用其他生长因子。

[0083] 另外,在一些实施例中,选择鉴别在此所述伤口敷料的第一活性剂,以提供所希望的第一生物效应,例如促进血管生长或发育。例如,在一些实施例中,第一活性剂包括用于血管生成和 / 或形成肉芽组织的生长因子如 VEGF。在其他情况下,该第一生长因子可以包括 PDGF, 并且因此可以在整个伤口愈合过程中提供组织炎症控制、肉芽化、再上皮化和 / 或重构。

[0084] 第一活性剂可以与本披露的目的不矛盾的任何量存在于在此所述伤口敷料的网格内。例如,在一些情况下,第一活性剂基于网格总重量以多至约 20 重量%、多至约 10 重量%、多至约 5 重量%或多至约 1 重量%的量存在于网格内。

[0085] 在此所述伤口敷料的网格可以具有许多物理和化学特征。在一些实施例中,例如,伤口敷料网格具有高孔隙度。在一些情况下,网格具有多至约 90%、多至约 75%或多至约 50%的孔隙度。在一些实施例中,该网格具有约 10%与约 90%之间、约 10%与约 80%之间、约 30%与约 90%之间或约 30%与约 70%之间的孔隙度。

[0086] 在此所述伤口敷料的网格也可以具有亲水性表面或疏水性表面。在此所述网格的亲水性和 / 或疏水性可以基于一种或多种用于形成网格的生物可降解聚合物纤维的化学组成进行选择。

[0087] 另外,在此所述伤口敷料的网格可以具有与本披露的目的不矛盾的任何厚度。在一些情况下,该网格在 z- 方向上具有约 10nm 与约 10mm 之间、约 100nm 与约 1mm 之间、约 100nm 与约 500 μm 之间、约 1 μm 与约 10mm 之间、约 1 μm 与约 1mm 之间、约 10 μm 与约 10mm 之间、约 10 μm 与约 1mm 之间、约 100 μm 与约 10mm 之间或约 10 μm 与约 1mm 之间的平均厚度。其他厚度也是可能的。

[0088] 在一些实施例中,在此所述的伤口敷料也包含设置于伤口敷料网格内的多个生物可降解聚合物颗粒。这些颗粒可以由与本披露的目的不矛盾的任何生物可降解聚合物形成。在一些情况下,多个生物可降解聚合物颗粒由上文所述用于伤口敷料的生物可降解聚合物纤维的一种或多种聚合物形成。例如,在一些实施例中,生物可降解聚合物颗粒包含以下各项中的一种或多种或由以下各项中的一种或多种形成: 聚酯、聚乙酸、聚乙醇酸、聚乳酸-共-乙醇酸、聚己酸内酯及其共聚物。

[0089] 在此所述伤口敷料的生物可降解聚合物颗粒也可以具有与本披露的目的不矛盾的任何大小和形状。在一些实施例中,例如,聚合物颗粒是在一维、二维或三维中具有约 1000nm 或更小的平均大小的纳米颗粒。在一些情况下,聚合物颗粒在一维、二维或三维中具有约 1nm 与约 1000nm 之间、约 1nm 与约 500nm 之间、约 10nm 与约 1000nm 之间、约 10nm 与约 500nm 之间、约 10nm 与约 200nm 之间、约 50nm 与约 1000nm 之间、约 50nm 与约 500nm 之间、约 100nm 与约 1000nm 之间或约 100nm 与约 500nm 之间的平均大小。在其他情况下,在此所述伤口敷料的生物可降解聚合物颗粒是在一维、二维或三维中具有大于 1000nm 的大小的微粒。在一些实施例中,例如,聚合物颗粒在一维、二维或三维中具有约 1 μm 与约 100 μm 之间、约 5 μm 与约 100 μm 之间、约 5 μm 与约 50 μm 之间、约 10 μm 与约 100 μm 之间、约 10 μm 与约 50 μm 之间或约 50 μm 与约 100 μm 之间的平均大小。另外,在一些情况下,在此所述伤口敷料的聚合物颗粒在一维、二维或三维中具有小于伤口敷料的生物可降解聚合物纤维的平均直径的平均大小。

[0090] 另外,在此所述伤口敷料的聚合物颗粒可以具有球形或基本上球形的形状或多边形的形状。在一些情况下,在此所述的聚合物颗粒也可以是杆形。其他形状也是可能的。

[0091] 在一些实施例中,在此所述的伤口敷料进一步包含分散于伤口敷料的聚合物颗粒内的第二活性剂。该第二活性剂可以包括与本披露的目的不矛盾的任何活性剂。在一些情况下,第二活性剂被选择来实现第二生物效应,包括可能理想地在时间上与第一生物效应相连或至少部分分开的第二生物效应。例如,在一些情况下,第二生物效应可以是在促进血管生长之后促进伤口愈合。在其他情况下,第二生物效应可以是在促进血管生长之后促进骨骼生长和发育。在一些实施例中,在此所述伤口敷料的第二活性剂包括生长因子,包括上文所述用于伤口敷料的第一活性剂的任何生长因子。在一些情况下,例如,第二活性剂包括用于伤口愈合或骨骼生长的生长因子。在其他实施例中,第二活性剂包括骨诱导生长因子,如转化生长因子- β 或骨形态生成蛋白 (BMP)。

[0092] 第二活性剂可以与本披露的目的不矛盾的任何量存在于在此所述伤口敷料的聚合物颗粒内。例如,在一些情况下,第二活性剂基于这些颗粒的总重量以多至约 20 重量%、多至约 10 重量%、多至约 5 重量%或多至约 1 重量%的量存在于这些颗粒内。

[0093] 在另一个方面,在此所述的伤口敷料包括生物可降解聚合物纤维网格堆叠。在一些实施例,网格堆叠被安排为在 z- 方向上提供特性梯度,其中该 z- 方向被定义为堆叠方向或堆叠高度。例如,在一些情况下,网格是多孔网格并且网格堆叠在 z- 方向上显示孔隙梯度。在一些此类实施例中,堆叠的孔隙度从堆叠底部到顶部逐渐减小。或者,在其他情况下,堆叠的孔隙度从堆叠底部到顶部逐渐增加。

[0094] 另外,在一些实施例中,在此所述堆叠的一个或多个网格是穿孔网格并且网格堆叠在 z- 方向上显示穿孔梯度。在一些此类情况下,网格穿孔度从堆叠底部到顶部逐渐减小。在其他情况下,网格穿孔度从堆叠底部到顶部逐渐增加。另外,在一些实施例中,在此所述的网格堆叠的顶部网格是未穿孔的,其中该“顶部”网格是指离被放置成与伤口接触的堆叠侧最远的网格。

[0095] 在此所述网格的“穿孔度”可以是基于每单位面积网格表面的穿孔或小孔数目、穿孔或小孔的平均大小或者穿孔或小孔的总面积或总体积。“穿孔度”也可以是基于穿孔或小孔的形状。在一些实施例中,在此所述穿孔网格的穿孔或小孔具有至少约 10 μm 、至少约

20 μm 、至少约 30 μm 、至少约 50 μm 、至少约 100 μm 或至少约 150 μm 的平均大小或直径。在一些情况下,在此所述穿孔网格的穿孔或小孔具有约 10 μm 与约 10mm 之间、约 10 μm 与约 5mm 之间、约 10 μm 与约 1mm 之间、约 50 μm 与约 10mm 之间、约 50 μm 与约 5mm 之间、约 50 μm 与约 1mm 之间、约 100 μm 与约 10mm 之间、约 100 μm 与约 5mm 之间或约 100 μm 与约 1mm 之间的平均大小或直径。在一些情况下,具有这些大小的穿孔可以在伤口愈合过程中为再生组织生长到网格并穿透网格提供足够的空间。另外,在一些情况下,在此所述穿孔网格的穿孔或小孔在各穿孔或小孔之间具有约 0.1mm 至约 10mm 或约 0.5mm 至约 5mm 的孔距或平均距离,其中各穿孔或小孔之间的平均距离是基于相邻穿孔或小孔之间的中心距离。另外,在一些实施例中,在此所述的穿孔网格具有至少约 10 个穿孔 / cm^2 、至少约 20 个穿孔 / cm^2 、至少约 30 个穿孔 / cm^2 、至少约 50 个穿孔 / cm^2 或至少约 70 个穿孔 / cm^2 的穿孔或小孔密度,其中该面积是基于穿孔网格的穿孔表面总面积并且其中这些穿孔的平均大小可以是在此所述的大小,例如大于约 50 μm 的大小。在一些情况下,在此所述的穿孔网格具有约 10 个穿孔 / cm^2 与约 200 个穿孔 / cm^2 之间、约 20 个穿孔 / cm^2 与约 150 个穿孔 / cm^2 之间或者约 30 个穿孔 / cm^2 与约 100 个穿孔 / cm^2 之间的穿孔或小孔密度,其中这些穿孔的平均大小是上文所述的大小。

[0096] 在一些情况下,具有在此所述孔隙梯度和 / 或穿孔梯度的穿孔网格堆叠可以允许细胞从伤口部位改进地渗透到堆叠内。另外,在一些实施例中,具有在此所述孔隙梯度和 / 或穿孔梯度的网格堆叠可以允许机械负荷在伤口愈合时从网格堆叠逐渐转移到伤口部位组织。确切地说,在一些实施例中,包含在此所述网格堆叠的伤口敷料可以使机械负荷在伤口愈合过程中从其网格逐渐转移到再生生物组织中。并不旨在受到理论约束,在一些情况下认为机械负荷的此类逐渐转移可以通过由穿孔提供的细胞渗透和在此所述的穿孔梯度来实现。另外,在一些实施例中,在此所述穿孔网格在根据 ASTM D412A 进行测量时可以显示以下表 1 所提供的一种或多种机械特性。

[0097] 表 I. 穿孔网格的机械特性。

[0098]

| 断裂延伸率 (%) | 起始模数 (MPa) | 峰值应力 (MPa) |
|--------------|---------------|---------------|
| > 300 | > 2 | > 1 |
| > 400 | > 5 | > 2 |
| > 500 | > 10 | > 3 |
| 50-600 | 2-15 | 1-6 |
| 50-500 | 2-10 | 1-5 |
| 100-500 | 5-15 | 1-4 |
| 200-600 | 5-10 | 2-4 |
| 300-600 | 10-15 | 3-5 |

[0099] 包含在此所述网格堆叠的伤口敷料可以包括与本披露的目的不矛盾的任何数目的网格。在一些情况下,例如,伤口敷料包含堆叠构型的至少两个、至少三个、至少五个、至少 10 个或至少 20 个网格。在一些情况下,伤口敷料在包含堆叠构型的多至 50 个或多至 100 个网格。另外,这种伤口敷料的网格可以独立地具有在此所述的任何网格结构或特性。

[0100] 例如,在一些实施例中,在此所述的伤口敷料包含由第一多个生物可降解聚合物

纤维形成的一个第一穿孔网格；以及由第二多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第二穿孔网格，其中该第二穿孔网格以堆叠构型设置于该第一穿孔网格上并且该第一穿孔网格具有比该第二穿孔网格更高的穿孔度。此外，在一些情况下，伤口敷料进一步包含由第三多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第三穿孔网格，其中该第三穿孔网格以堆叠构型设置于该第二穿孔网格上并且该第三穿孔网格具有比该第一穿孔网格和该第二穿孔网格更高的穿孔度。此外，需要时，在此所述的伤口敷料可以进一步包含堆叠构型的其他穿孔网格或未穿孔网格。

[0101] 例如，在一些实施例中，在此所述伤口敷料的顶部网格是未穿孔网格。因此，在一些情况下，在此所述的伤口敷料进一步包含由第四多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第四网格，其中该第四网格以堆叠构型设置于该第三穿孔网格上并且该第四网格是未穿孔的或者具有比该第三穿孔网格更低的穿孔度。在一些情况下，具有这种结构的伤口敷料可以提供物理屏障，以实现伤口敷料在远离伤口的伤口敷料侧上的组织渗透。

[0102] 如上文所述，通常应理解在此所述伤口敷料中的堆叠网格数目并未特别限制。相反，可以使用任何希望的数目的网格来提供在 z- 方向上具有希望的厚度和 / 或希望的特性梯度的伤口敷料。在此所述的堆叠网格也可以被安排来提供在 z- 方向上具有规则或不规则重复特性的伤口敷料。在一些情况下，例如，在此所述的堆叠网格具有交替的疏水性和亲水性。因此，在一些实施例中，在此所述的伤口敷料包含堆叠构型的第一穿孔网格和第二穿孔网格，其中该第一穿孔网格是亲水性的并且该第二穿孔网格是疏水性的。其他网格安排也是可能的。

[0103] 另外，在此所述堆叠的一个或多个网格可以具有上文所述用于包含活性剂的伤口敷料的结构。例如，在一些情况下，一种或多种活性剂分散于在此所述堆叠的第一穿孔网格和 / 或第二穿孔网格的生物可降解聚合物纤维内。另外，在一些实施例中，多个生物可降解聚合物颗粒设置于在此所述伤口敷料的第一穿孔网格和 / 或第二穿孔网格内。另外，在这些情况下，一种或多种第二活性剂可以分散于这些生物可降解聚合物颗粒内。这种伤口敷料的第一活性剂和第二活性剂可以包括任何第一活性剂、第二活性剂以及上文所述第一活性剂和第二活性剂的组合。在一些实施例中，例如，堆叠的第一活性剂的体内或体外释放曲线不同于堆叠的第二活性剂的体内或体外释放曲线。在这些情况下，这些活性剂的体内或体外释放曲线可以在上文所述的方式方面不同。例如，在一些情况下，在此所述网格堆叠的第一活性剂的体内或体外释放曲线和第二活性剂的体内或体外释放曲线重叠小于约 70%。在其他情况下，这些释放曲线完全未重叠。

[0104] 另外，在一些实施例中，在此所述的伤口敷料还可以包含用于神经和肌肉组织工程应用的一种或多种导电组分。例如，在一些情况下，在此所述伤口敷料的网格进一步包含一种或多种导电聚合物纤维，如由聚吡咯、聚苯胺或聚噻吩如聚(3,4-乙炔二氧代噻吩)(PEDOT) 形成的一种或多种纤维。类似地，在一些情况下，在此所述的伤口敷料可以包含多种导电聚合物颗粒，如聚苯胺颗粒、聚吡咯颗粒或 PEDOT 颗粒。也可以使用其他导电聚合物纤维和颗粒。可以使用这些导电聚合物纤维和颗粒加上在此所述的生物可降解伤口敷料组分或者使用它们替代这些组分。例如，在一些情况下，在此所述的伤口敷料包含由设置于网格内的多个导电聚合物纤维和多个导电聚合物颗粒形成的一个网格。这些颗粒可以设置于网格纤维之间或网格纤维内。另外，在一些情况下，这些导电聚合物纤维和导电聚合物颗粒

二者之一或二者包含活性剂。在一些实施例中,例如,导电聚合物纤维和导电聚合物颗粒包含在此所述的第一活性剂和第二活性剂的组合。

[0105] 在此描述了组合物和伤口敷料的不同组分。应理解根据本披露的组合物或伤口敷料可以包含与本披露的目的不矛盾的组分和特性的任何组合。例如,在一些情况下,在此所述的伤口敷料包含在此所述的任何网格与在此所述的任何聚合物颗粒和在此所述的任何活性剂的组合。

[0106] 具有上文所述结构的伤口敷料可以与本披露的目的不矛盾的任何方式制备。例如,在一些实施例中,在此所述的伤口敷料是通过静电纺丝法制备的。在一些情况下,这种制备伤口敷料的方法包括静电纺丝包含第一生物可降解聚合物、第一溶剂和第一活性剂如第一生长因子的混合物。静电纺丝这种混合物可以提供由第一生物可降解聚合物形成的多个聚合物纤维,其中该第一活性剂分散于这些聚合物纤维内。另外,如下文进一步描述的,静电纺丝法可以使这些聚合物纤维形成非编织网格。另外,在一些实施例中,用于静电纺丝的混合物可以进一步包含在此所述的多个生物可降解聚合物颗粒。静电纺丝这种混合物可以提供在此所述的网格,其中这些聚合物颗粒分散于这些聚合物纤维内。在一些此类情况下,选择混合物的溶剂以使其与这些纤维和/或颗粒的生物可降解聚合物相容并且与第一活性剂和/或第二活性剂相容。例如,在一些实施例中,该第一生物可降解聚合物可溶于该混合物溶剂中但是这些生物可降解聚合物颗粒并不溶于该溶剂中。在一些此类情况下,例如,水溶剂用于水溶性第一生物可降解聚合物中并且用于疏水性聚合物颗粒中。

[0107] 或者,多个生物可降解聚合物颗粒可以通过以上文所述的方式形成聚合物纤维网格、然后用包含这些聚合物颗粒的溶液或混合物处理该网格来设置于网格纤维之间。例如,在一些情况下,颗粒溶液或混合物可以滴镀到网格上。该网格也可以浸入颗粒溶液或混合物。

[0108] 类似地,静电纺丝也可以用于提供包含在此所述的网格堆叠的伤口敷料。在一些实施例中,这种方法包括以上文所述方式形成多个网格并且然后堆叠这些网格。另外,在一些情况下,在一个或多个网格堆叠来提供伤口敷料之前或之后,这些网格是穿孔的。如下文进一步描述的,多个网格可以与本披露的目的不矛盾的任何方式堆叠。在一些情况下,例如,多个网格可以通过以一个在另一个顶部的方式直接静电纺丝不同网格、通过将网格物理按压在一起、通过将生物可降解粘合剂应用于相邻网格之间或者通过将温和溶剂应用表面焊接的相邻网格来堆叠。也可以使用其他堆叠技术。

[0109] II. 治疗伤口的方

[0110] 在另一个方面,在此描述了治疗伤口的方。在一些实施例中,一种治疗伤口的方包括将在此所述的组合物或伤口敷料应用于伤口表面。可以使用上文第 I 部分所述的任何组合物或伤口敷料。在一些情况下,例如,一种伤口敷料包括由多个生物可降解聚合物纤维形成的一个网格;分散于这些生物可降解聚合物纤维内的第一活性剂;设置于该网格内的多个生物可降解聚合物颗粒;以及分散于这些生物可降解聚合物颗粒内的第二活性剂。另外,在一些情况下,这些颗粒设置于网格的这些纤维内。另外,在一些情况下,包括应用这种伤口敷料的一种方可以进一步包括至少部分降解这些生物可降解聚合物纤维,以使第一活性剂释放到该伤口。在一些情况下,降解这些聚合物纤维包括裂解这些聚合物纤维内的一个或多个化学键,如一个或多个酯键。另外,在一些实施例中,降解伤口敷料的聚合物

纤维提供第一活性剂的体内释放曲线,该体内释放曲线对应于上文第 I 部分所述的体内释放曲线。

[0111] 另外,在一些情况下,在此所述的方法进一步包括至少部分降解这些生物可降解聚合物颗粒,以使第二活性剂释放到该伤口。降解这些聚合物颗粒可以包括裂解这些颗粒内的一个或多个化学键,包括一个或多个酯键。另外,以在此所述的一种方式降解伤口敷料的聚合物颗粒可以提供第二活性剂的体内释放曲线,该释放曲线对应于上文第 I 部分所述的体内释放曲线。在一些情况下,例如,在第一活性剂从伤口敷料中释放之后,该第二活性剂从该伤口敷料中释放。因此,如在此进一步描述的,在此所述的一种治疗伤口的方法可以包括使用单个伤口敷料以暂时受控和 / 或分两部分的方式向伤口部位提供多种活性剂。例如,在一些情况下,在此所述方法的第一活性剂包括用于血管生成的生长因子,并且该方法的第二活性剂包括用于伤口愈合或骨骼生长的生长因子。

[0112] 在在此所述方法的其他实施例中,应用于伤口的组合物或伤口敷料包括网格堆叠。这种组合物或伤口敷料可以包含上文第 I 部分所述的任何伤口敷料。例如,在一些情况下,伤口敷料包含由第一多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第一穿孔网格;和由第二多个生物可降解聚合物纤维形成的一个第二穿孔网格,其中该第二穿孔网格以堆叠构型设置于该第一穿孔网格上并且该第一穿孔网格具有比该第二穿孔网格更高的穿孔度。

[0113] 另外,在此所述的一种方法可以用于治疗与本披露的目的不矛盾的任何类型的伤口。在一些实施例中,例如,伤口包括皮肤伤口。在一些情况下,伤口包括糖尿病溃疡或疔。

[0114] 在此所述的一些实施例在以下非限制性实例中进一步说明。

[0115] 实例 1

[0116] 伤口敷料

[0117] 根据在此所述的一些实施例的伤口敷料被提供并用于治疗伤口,如下所示。

[0118] 材料

[0119] 壳聚糖 (CS, 中等分子量, 75 % -85 % 脱乙酰化)、聚环氧乙烷 (PEO, $M_n = 600,000$ 道尔顿)、牛血清白蛋白 (BSA)、乙酸以及氯仿购自西格玛奥德里奇公司 (Sigma Aldrich) (密苏里州圣路易斯市 (St. Louis, Missouri))。聚-乳酸-共-乙醇酸 (PLGA) (50:50) 购自莱克肖尔生物材料公司 (Lakeshore Biomaterials) (阿拉巴马州伯明翰市 (Birmingham, Alabama))。血小板源生长因子-BB (PDGF-BB, 人重组) 和血管内皮生长因子 (VEGF, 大鼠重组) 购自 Prospec 公司 (新泽西州东布朗士维克 (East Brunswick, New Jersey))。HDF (成人真皮成纤维细胞) 细胞购自 ATCC (弗吉尼亚州马纳萨斯 (Manassas, Virginia))。格兰阴性大肠杆菌 (E. coli, 25922™) 和格兰阳性金黄色葡萄球菌 (S. aureus, 25923™) 也从 ATCC 获得。

[0120] 生物可降解聚合物颗粒

[0121] PLGA 纳米颗粒是使用梅农 (Menon) 等人“表面活性剂对 PLGA 纳米颗粒特性的影响 (Effects of surfactants on the properties of PLGA nanoparticles)”, 生物医学材料研究杂志 (Journal of Biomedical Materials Research), A 部分, 2012, 100, 1998-2005 所述的双乳化技术制造的。简言之, 将 200 μ L 5% w/v BSA 或 2% w/v PDGF-BB 水溶液加入 3.33 mL 3% w/v PLGA 水溶液中并以 30 W 超声 2 分钟。然后将该 o/w 溶液逐滴加入 12 mL 2% PVA 溶液中并以 20 W 超声两分钟。然后使用磁搅拌器将该最终 w/o/w 溶液脱溶剂

过夜。然后以 4,000 rpm 进行 5 分钟离心,以去除颗粒聚集物。通过冷冻干燥获得 BSA 或 PDGF-BB 负载的 PLGA 纳米颗粒。另外,也从纳米颗粒形成过程中收集上清液,以确定负载效率。

[0122] 生物可降解聚合物网格

[0123] 聚合物网格是通过静电纺丝制备的。首先,制备聚合物储备溶液。确切地说,以 90% 乙酸制备浓度为 2.5% w/v 的壳聚糖溶液 (CS)。在室温下以去离子 (DI) 水制备浓度为 8% w/v 的 PEO 溶液。然后,通过以 1:1 和 2:1 的壳聚糖与 PEO 体积比混合两种储备溶液来制备两种 CS/PEO 共混物。出于参考目的,由这些混合物形成的聚合物纤维(无纳米颗粒)分别表示为 1:1 CS/PEO 和 2:1CS/PEO。为了提供包含纳米颗粒的聚合物纤维,将按重量计 20% 的 PLGA 纳米颗粒(基于 PEO 的重量)加入 CS/PEO 混合物中并以 20 W 超声 10-15 分钟,以获得纳米颗粒的完全或基本上完全的分散。这些纤维表示为 1:1 CS/PEO-NP 和 2:1 CS/PEO-NP。

[0124] 对于静电纺丝,将以上各共混溶液单独负载到装备有 18 号冲针尖端的 5mL 注射器中。对于每个静电纺丝实验,将该注射器装载到注射器泵中。通过以 1.5 μ L/min 的流速用注射器泵驱动注射器柱塞,将注射器内容物递送进行静电纺丝。将注射器尖端设置于离铝网集电器 15 cm 处并且将 18 kV DC 电压施加于该集电器与该尖端之间。在环境温度(约 25°C)和 15% -20% 的相对湿度下进行所有静电纺丝实验。

[0125] 结果

[0126] 使用扫描电子显微镜 (SEM) (日立公司 (Hitachi), S-3000N) 表征静电纺丝纳米纤维网格的表面形态。首先用银溅涂所有样品。使用 Image-J 软件由 SEM 图像确定纤维直径。对于每个网格,考虑来自三个不同图像的 100 个纤维,以计算平均直径。要查看纳米纤维内的纳米颗粒,需制备吲哚菁绿 (ICG) 负载的 PLGA 纳米颗粒并静电纺丝。使用装备有 TRITC 滤波器的荧光显微镜捕获荧光图像。

[0127] 为了评估活性剂释放动力学,选择 BSA 为模型蛋白。确切地说,BSA 以上文所述的方式结合到生物可降解聚合物纤维和 / 或生物可降解聚合物颗粒内。将含 BSA 并称重 10.0-11.0mg 的网格装载到 100-kDa 透析膜中并将其置于 0.1M 磷酸盐缓冲盐 (PBS) 溶液中。然后将这些样品置于 37°C 的定轨振荡器中。在预定时间点,收集 1mL PBS 溶液并用 1mL 新鲜 PBS 置换。根据制造商说明,使用标准 BSA 蛋白测定分析来自纳米纤维本身或来自这些纳米纤维内的 PLGA 纳米颗粒的 BSA (60kDa) 的释放曲线。对所有样品进行 21 天的累积释放实验。

[0128] 在补充有 10% 牛胎儿血清 (FBS) 和 1% 青霉素 / 链霉素溶液的完全杜尔贝科修改的伊格尔培养基 (Dulbecco's Modified Eagle's medium, DMEM) 中培养成人真皮成纤维细胞。亚培养细胞直到实现约 80% 融合并且将其维持在 95% 空气和 5% CO₂ 的湿润大气下。对于纳米纤维网格上的体外细胞增殖,将网格样品(直径 3mm)真空干燥过夜并且然后 UV 灭菌 1 小时。然后将样品置于 96-孔板内并以 5000 个细胞 / 孔接种。将组织培养板用作对照。在接种后 1、3、5 和 7 天的时间点进行 MTS 测定。测量在 490nm 处的吸光度并且将细胞增殖随着时间变化绘图为相对于第 1 天的对照样品的百分比。

[0129] 为测定这些样品的抗菌活性,使用三种类型的纳米纤维网格。确切地说,使用 1:1CS/PEO、2:1CS/PEO 和 2:1CS/PEO-NP。将所有网格样品真空干燥并 UV 灭菌。使用 20mg

每种类型的网格。基于供应商说明重构大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。选择无壳聚糖的细菌悬浮液和 PEO 纳米纤维作为抗菌活性的阴性对照。使用青霉素 - 链霉素 (Penstrep) 作为阳性对照。对于每种样品,制备在 600nm 处光密度 (OD) 为 0.011 (通过 UV 分光光度计测量) 的细菌悬浮液,将其加入样品并在 37°C 下进行孵育。在孵育后,在预定时间点测量每种样品在 600nm 处的吸光度。从测试样品中减去背景样品平均值并随着时间变化而绘图。在无菌条件下进行所有操作。

[0130] 使用称重约 250g 的斯普拉格 - 杜勒 (Sprague-Dawley) 大鼠进行体内研究。确切地说,进行全厚皮伤口愈合研究。根据德克萨斯大学 (University of Texas) 的阿灵顿动物保健和使用委员会 (Arlington Animal Care and Use Committee, IACUC) 批准的方案处理并使用所有动物。用氯胺酮 (40mg/kg) 和甲苯噻嗪 (5mg/kg) 麻醉动物,然后在其背部去除毛发。使用 5mm 直径的活检穿孔机沿着皮肤背侧创建伤口。在每只大鼠上创建四个伤口,然后将对照样品 (开放性伤口和 Hydrofera Blue®) 和测试样品随机置于伤口部位。在初次受伤和放置伤口敷料后 1 天、7 天、14 天和 28 天使用卡尺测量伤口面积变化。在每个时间点,取出包括伤口面积的周围皮肤和肌肉并通过 10% 中性缓冲福尔马林固定。将组织样品包埋在石蜡中并切片。进行苏木精 - 伊红 (H&E) 和马森氏三色染色 (Masson's Trichrome staining),以评价皮肤组织切片。

[0131] 使用 Image-J 测量表面表皮舌 (tongue) 的物理测量值和 H&E 图像的肉芽组织厚度。通过使用马森氏三色染色测量伤口面积的蓝色面积百分比来进行胶原蛋白量化。

[0132] 在此的所有数据均表示为平均值 ± 标准偏差 (SD)。使用单侧方差分析 (StatView) 进行所有数据的统计分析,其中 p 值 < 0.05 被认为是统计上显著的 (n = 6)。

[0133] 图 1 是在此所述的示例性伤口敷料 (100) 和使用该伤口敷料 (100) 治疗伤口 (200) 的方法的示意图。如图 1 所示,将 PDGF-BB (140) 包封在伤口敷料 (100) 的 PLGA 纳米颗粒 (130) (平均直径 $153 \pm 36\text{nm}$,如通过动态光散射所测量的) 内,并且然后将其分散于 CS/PEO 纳米纤维 (110) 内。另外,将 VEGF (120) 装载于网格的纳米纤维 (110) 中。然后将伤口敷料 (100) 应用于伤口 (200)。在伤口敷料 (100) 应用于伤口 (200) 之后,相对快速释放的 VEGF (120) 和相对缓慢释放或持续释放的 PDGF-BB (140) 释放到伤口 (200) 内,以促进伤口愈合。

[0134] 图 2 示出了在此所述具有图 1 所示结构的不同网格的 SEM 图像。图 2A 对应于 2:1CS/PEO-NP。图 2B 对应于 1:1CS/PEO-NP。SEM 图像示出光滑、均匀且无轮缘的纤维非编织结构。1:1CS/PEO-NP 网格具有较小平均纤维直径 $116 \pm 39\text{nm}$,而 2:1CS/PEO-NP 网格具有平均纤维直径 $132 \pm 39\text{nm}$ 。为查看纤维内的纳米颗粒,用吖啶菁绿 (ICG) 装载 PLGA 纳米颗粒并通过荧光显微镜检查进行成像。图 2C 是 CS/PEO 纤维内 ICG 装载的 NP 的荧光图像。如图 2C 所示,纳米颗粒位于纤维内并均匀地分布。图 2D 示出了这些样品的静电纺丝纤维的直径分布。

[0135] 图 3 示出了纤维内的纳米纤维和纳米颗粒的 BSA 释放动力学。出于参考目的,术语“纤维”和“NP”用于指示装载有 BSA 的网格部分。例如,2:1CS/PEO- 纤维释放曲线对应于仅装载到纳米纤维内的 BSA,并且 1:1CS/PEO-NP 和 2:1CS/PEO-NP 释放曲线对应于装载到 PLGA 纳米颗粒 (这些纳米颗粒包封在纳米纤维内) 内的 BSA,并且其中无 BSA 分散于纳米纤维本身内。如图 3 所示,BSA 从纳米纤维内快速释放。例如,2:1CS/PEO- 纤维释放曲线包

括在前 30 分钟内 64% 的初期爆释。至第 3 天释放 2:1CS/PEO 网格内负载的所有 BSA。相比之下,从 2:1CS/PEO-NP 内的 PLGA 纳米颗粒内释放的 BSA 仅在第 1 天显示 16% 的少量初期爆释。另外,BSA 从两种网格的 PLGA 纳米颗粒内的释放展示持续释放模式。

[0136] 图 4 示出了对于以下样品网格的细胞增殖实验结果:1:1CS/PEO、2:1CS/PEO 和 2:1CS/PEO-NP (负载有 PDGF-BB 的 PLGA 纳米颗粒)。用 HDF 接种网格并使用 MTS 测定量化细胞活性 (* $p < 0.01$)。所有 PEO/CS 网格在整个实验期间均是细胞相容的并且显示比对照更多的细胞生长。与对照相比,在所有网格上细胞增殖在第 5 天和第 7 天均显著增加。在第 5 天在 1:1CS/PEO 上观察到 $116.9\% \pm 2.9\%$ 的生长,并且在 2:1CS/PEO 网格上观察到 $115.2\% \pm 2.8\%$ 的生长。在第 7 天,1:1CS/PEO 生长是 $132.6\% \pm 1.8\%$,并且对于 2:1CS/PEO 观察到 $132.5\% \pm 2.9\%$ 的增殖。与组织培养板对照相比,具有 PDGF-BB 负载的纳米颗粒的 CS/PEO-NP 样品在第 5 天 ($140.9\% \pm 0.8\%$) 和第 7 天 ($156.8\% \pm 6.6\%$) 出现显著更快的细胞生长。

[0137] 图 5 示出了不同 CS/PEO-NP 网格与阴性对照 (细胞悬浮液和 PEO 网格) 和阳性对照 (青霉素-链霉素溶液) 相比的抗菌特性。基于上文所述细菌光密度测定抗菌活性。使用两种类型的细菌,大肠杆菌 (图 5A) 和金黄色葡萄球菌 (图 5B)。如图 5 所示,阴性对照显示大肠杆菌和金黄色葡萄球菌持续扩大。相比之下,1:1CS/PEO-NP 和 2:1CS/PEO-NP 网格与阴性对照相比显示针对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌活性 (* $p < 0.05$)。

[0138] 图 6 示出在此所述的不同网格的伤口愈合特性。确切地说,图 6A 示出了在皮肤伤口治疗 0、1、2 和 4 周后伤口闭合的代表性宏观外观。将无生长因子的静电纺丝 2:1CS/PEO-NP (在图 6-图 8 中表示为 2:1CS/PEO) 和在纤维内有 VEGF 且在 PLGA 纳米颗粒内有 PDGF-BB 的 2:1CS/PEO-NP (在图 6-图 8 中表示为 2:1CS/PEO-NP) 无痛苦地放置于伤口部位并且粘合在该伤口部位。另外,与需要用生物粘合剂固定在伤口部位上的商用 Hydrofera Blue 相比,这些网格更容易粘附至伤口。另外,在放置约 4 小时后,网格变成眼睛看不见。在治疗 1 周后,所有样品均未观察到感染。对于 2:1CS/PEO-NP 网格观察到较高肉芽化和再生上皮,如随后通过组织学分析确认的。在治疗 2 周后,对于所有样品,痂从皮肤伤口上脱落。而且,2:1CS/PEO-NP 样品显示更快愈合和更多再生皮肤以及更多毛发生长。在 4 周后,所有伤口似乎均闭合。仅在 Hydrofera Blue 样品上观察到痂。

[0139] 图 6B 示出了伤口大小减小或伤口闭合作为时间函数的定量测量值 (* $p < 0.01$)。如图 6B 所示,2:1CS/PEO-NP 网格的伤口面积显著小于其他样品在第 1 周和第 2 周的伤口面积 ($p < 0.05$)。还观察到,在第 1 周 Hydrofera Blue 由于形成大量疤痕而出现伤口大小稍微增大。在治疗 4 周后,所有伤口均闭合。2:1CS/PEO-NP 显示形成最小疤痕面积和最大毛发覆盖。

[0140] 图 7 示出了通过 CS/PEO-NP 网格和 Hydrofera Blue 伤口敷料治疗的伤口的组织评价结果。图 7A 示出了在治疗 1 周和 2 周后对照 (开放式伤口)、2:1CS/PEO、2:1CS/PEO-NP 和 Hydrofera Blue 样品的皮肤伤口样品的 H&E 染色。图 7B 示出了在治疗 1 周后舌上皮长度。图 7C 示出了在治疗 1 周和 2 周后伤口部位的毛细血管密度。图 7D 示出了在治疗 1 周和 2 周后肉芽组织厚度。(*, ** $p < 0.05$)。对于 2:1CS/PEO-NP 样品,观察到较长舌上皮 (图 7B)。在一周和两周,与开放式伤口相比,对于 2:1CS/PEO-NP 观察到伤口部位显著最新形成的毛细血管 ($p < 0.01$) (图 7C)。在治疗 2 周后,对于除 Hydrofera Blue 样品之外的所有样

品鉴别新上皮细胞的完全覆盖。另外,在上皮完全闭合、PEO 快速清除和 PDGF-BB 持续释放的情况下,对于 2:1CS/PEO-NP 在第 2 周的肉芽组织厚度与第 1 周的厚度和开放式伤口对照相比显著减小 ($p < 0.01$),这表明愈合过程从第 I 阶段(炎症)过渡到第 II 阶段(增殖)(图 7D)。对样品和 Hydrofera Blue 样品显示较厚肉芽层。

[0141] 进行马森氏三色染色,评估伤口部位的胶原沉积(蓝色)。图 8 示出了通过 CS/PEO-NP 网格和 Hydrofera Blue 伤口敷料治疗的伤口的胶原染色图像和量化。确切地说,图 8A 示出了在治疗后 2 周和 4 周对样品、2:1CS/PEO、2:1CS/PEO-NP 和 Hydrofera Blue 样品的马森氏三色染色。图 8B 示出了在治疗 2 周后每个伤口面积的胶原量化,并且图 8C 示出了治疗 4 周后每个伤口面积的胶原量化 ($*p < 0.05$)。2:1CS/PEO 在治疗 2 周后显示显著 ($p < 0.05$) 大量的胶原沉积。与开放式伤口相比,在 2:1CS/PEO-NP 样品中也辨别了伤口部位较大量的成肌纤维细胞形成。与开放式伤口对照和无生长因子的纳米纤维相比,对于 2:1CS/PEO-NP 样品观察到更多成熟胶原纤维同时存在较低炎性细胞。更多胶原组织可以帮助重构 ECM 并进一步支持皮肤组织生长。在治疗 4 周后,生长因子释放网格在伤口面积内显示最低胶原含量。不旨在受到理论约束,认为该观察结果可能是因为形成更多成熟胶原细胞并且毛囊再生增加。另外,这些形态可以指示对于 2:1CS/PEO-NP 在 4 周后已经到达重塑期,而其他样品仍保持在组织再生期。

[0142] 实例 2

[0143] 包含网格堆叠的伤口敷料

[0144] 如下制备包含根据在此所述的一些实施例的网格堆叠的伤口敷料。首先,通过上文所述的一种方法进行静电纺丝来获得包含聚合物如 PLA、PLGA、PCL、胶原、透明质酸(HA)、明胶、聚环氧乙烷(PEO)、壳聚糖和羧甲基壳聚糖(CMC)的生物可降解网格。另外,使用具有不同针大小和密度的微针阵列钻孔或穿孔个别静电纺丝网格,提供通过个别静电纺丝网格的微孔或穿孔。不同大小和密度的小孔或穿孔可以在疏水性和亲水性网格上形成图案。在制造个别穿孔网格后,由相同或不同材料制成的多个网格堆叠在一起形成从一侧到另一侧具有逐渐减小的穿孔大小和/或密度的一个网格组件。这种结构允许细胞从网格组件一侧逐渐渗透到另一侧。每个堆叠的顶层(在该实例中是伤口相反侧)由一个未穿孔网格形成。因此该顶层形成组织渗透的物理屏障。如在此所述,这些伤口敷料可以用于疝修补应用的疝网格。

[0145] 图 9 示出了上述制造和组装的步骤。确切地说,在图 9 的实施例中,网格(310、320、330、340、350)堆叠(300)是通过单独地静电纺丝并穿孔这些网格(310、320、330、340、350)来形成的。对于穿孔,使用微图案穿孔或钻孔装置(400),在三个网格(310、320、330)内提供穿孔或小孔(311、321、331)。其他两个网格(340、350)是未穿孔的。该穿孔或钻孔装置(400)包括针密度和/或针大小可以改变的针阵列(410)。如图 9 所示,仅示出顶部网格(310)的穿孔。另外,在图 9 的实施例中,这些网格(310、320、330、340、350)在 z-方向上形成穿孔梯度,其中穿孔度从顶部网格(310)向底部网格(350)逐渐减小。此外,在图 9 的实施例中,这些网格(310、320、330、340、350)以一种交替亲水性和疏水性方式安排在堆叠(300)内。具体地说,在堆叠(300)中亲水性网格(320、340)与疏水性网格(310、330、350)交替出现。

[0146] 图 10 中示出了示例性穿孔网格。确切地说,图 10 示出了穿孔静电纺丝聚己酸内

酯 (PCL) 网络的 SEM 图像。图 10A 和图 10B 是低分辨率图像。图 10C 是穿孔 PCL 网络的单个穿孔的高分辨率图像。如图 10A- 图 10C 所示, 微针阵列钻孔轮廓清楚的穿孔, 其直径是 $150\ \mu\text{m}$ 并且小孔之间的孔距是 1mm 。这些穿孔可以为组织向内生长提供充足空间, 与孔对于细胞 / 组织渗透太小的一些其他静电纺丝网格不同。图 10D 是包含设置于两个 PEO/CMC 网格之间的 PCL 网络的 3 层网格堆叠的横截面图像。PEO/CMC 网格可能易于水合并紧密连接至夹层 PCL 网格。

[0147] 通过拉力试验评价穿孔和未穿孔网络的机械性能。确切地说, 测试切成宽度为 5mm 且长度为 30mm 的长条的网格样品。长条之间的规格是 10mm 。十字头伸长速度是 $100\text{mm}/\text{min}$ 。图 11 中示出了具有不同穿孔度的 PCL 网格的一些结果 (*, $p < 0.01$)。具有 1mm 直径穿孔和 0.15mm 直径穿孔的网格的穿孔密度分别是 36 和 64 个穿孔 / cm^2 。图 11A 示出了网格的峰值应力。图 11B 示出了网格的初始模量 (杨氏模量)。图 11C 示出了网格的断裂伸长率。图 11D 示出了每种样品的代表性应力 - 应变曲线。如图 11 所示, 峰值应力和断裂伸长率在网格穿孔后显著减小。然而, 这些穿孔网格也显示适用于疝修补应用。另外, 在一些情况下, 在此所述网络的机械特性可以通过改变材料组成、静电纺丝条件和 / 或穿孔度来调整。

[0148] 本发明的不同实施例已被描述来实现本发明的不同目的。应认识到这些实施例仅说明本发明的原理。在不背离本发明的精神和范围的情况下, 许多修改及其改编对于本领域技术人员将是显而易见的。

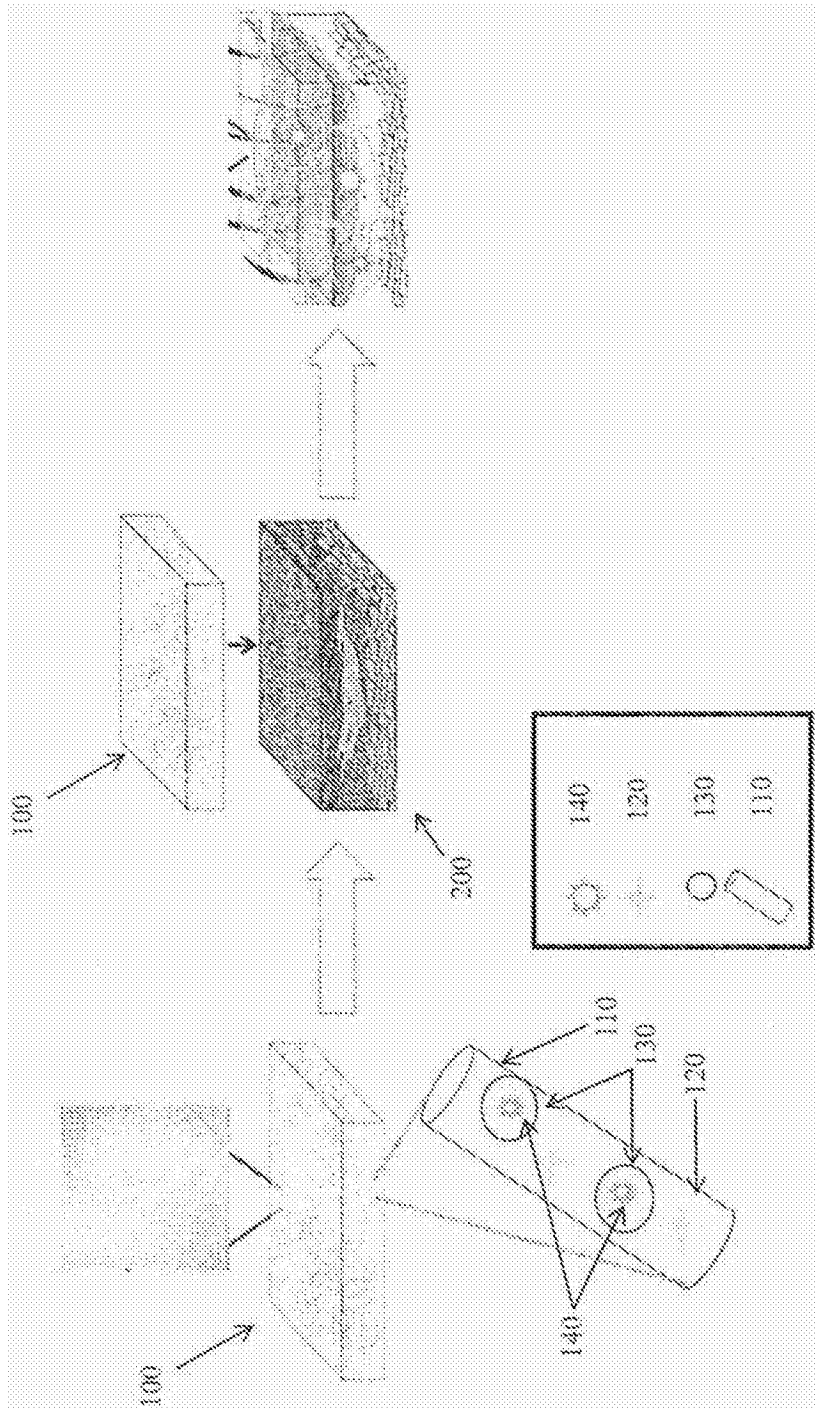


图 1

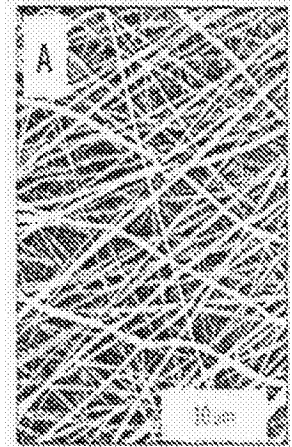


图 2A

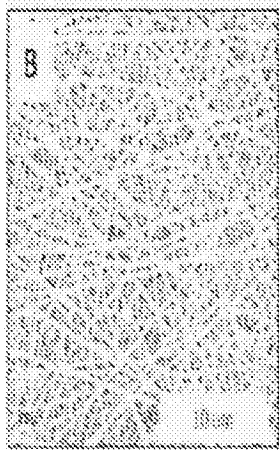


图 2B

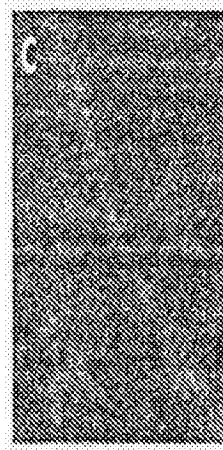


图 2C

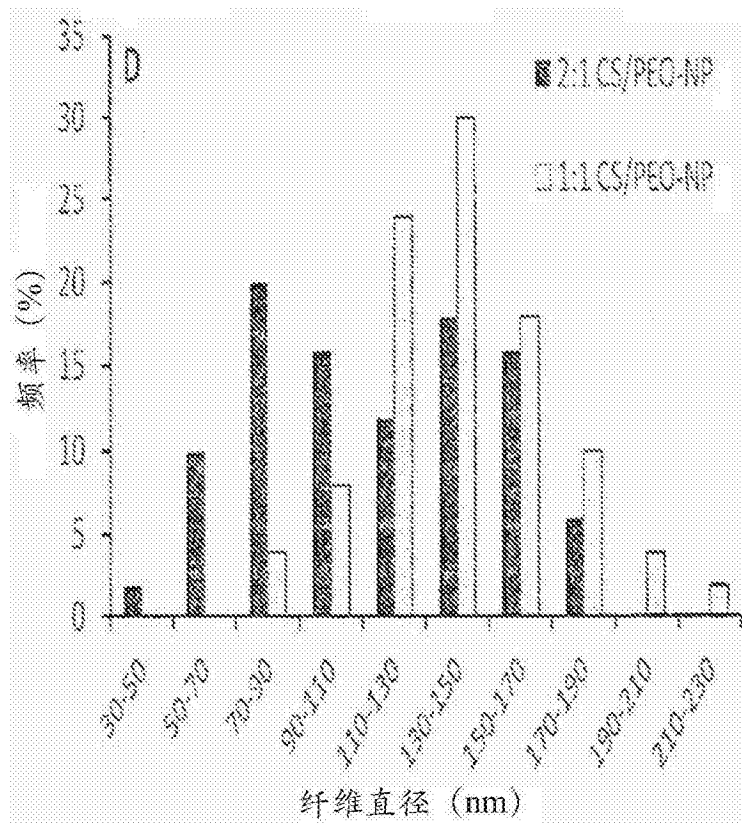


图 2D

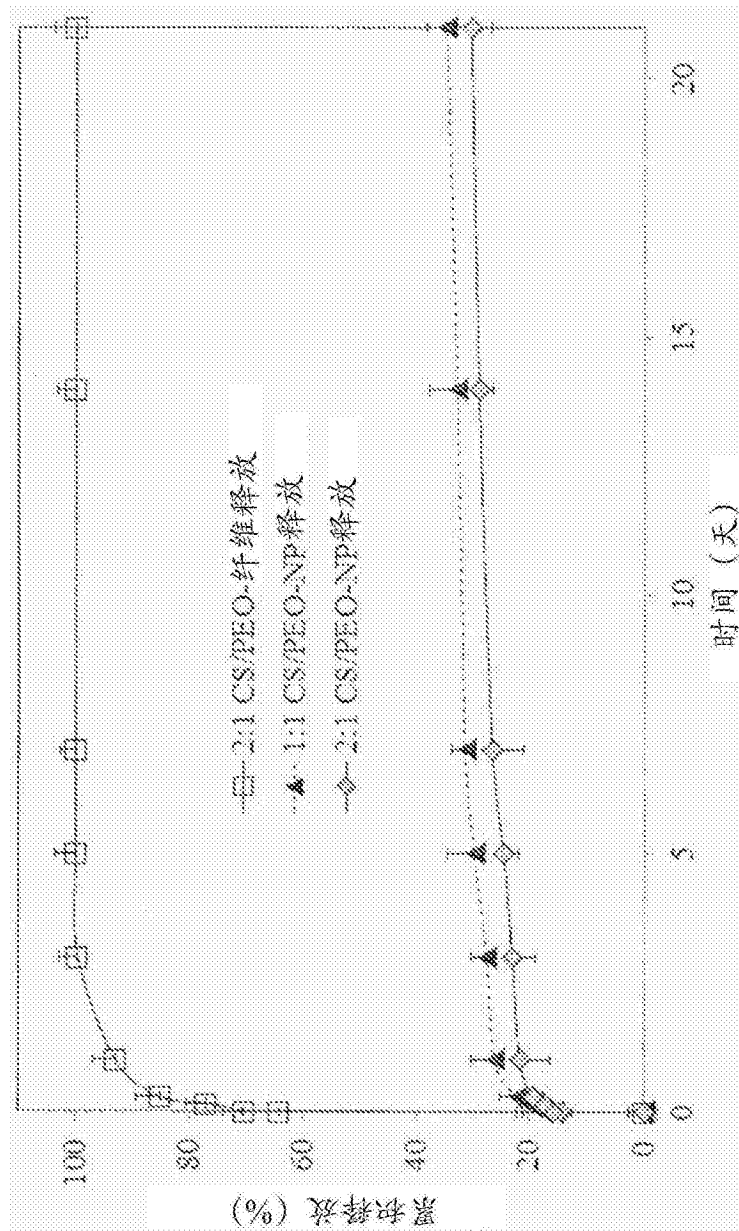


图 3

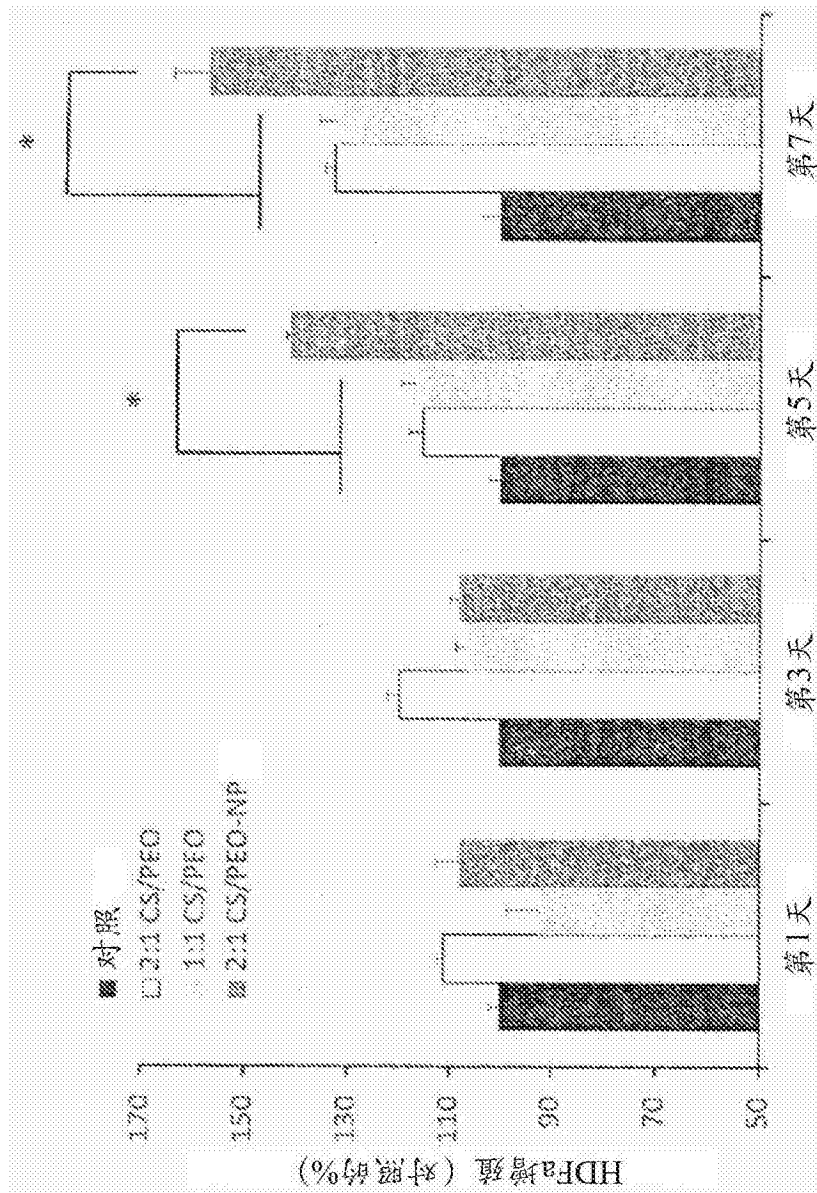


图 4

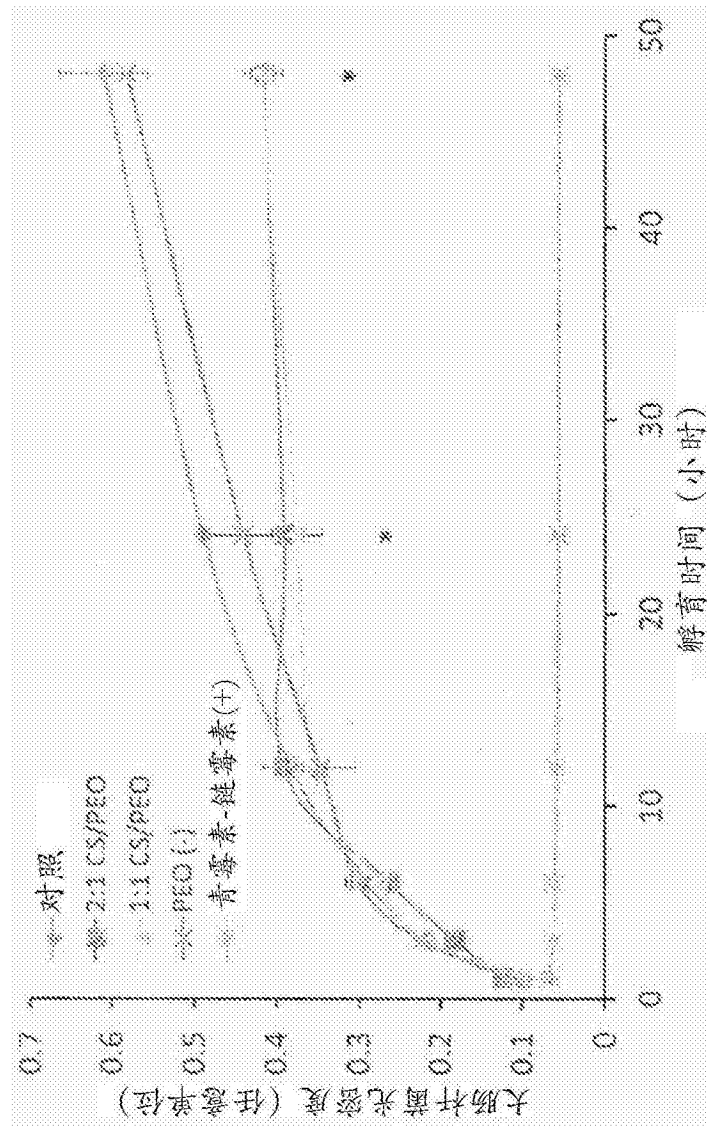


图 5A

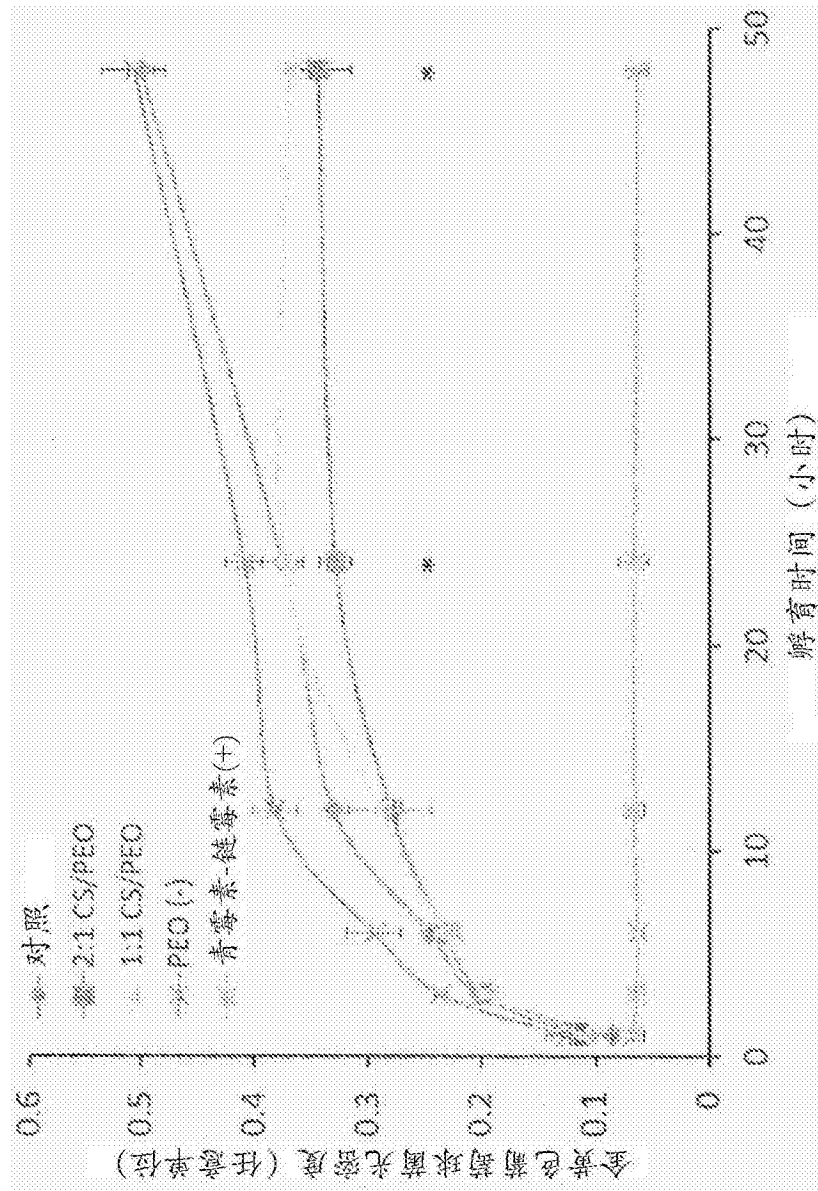


图 5B

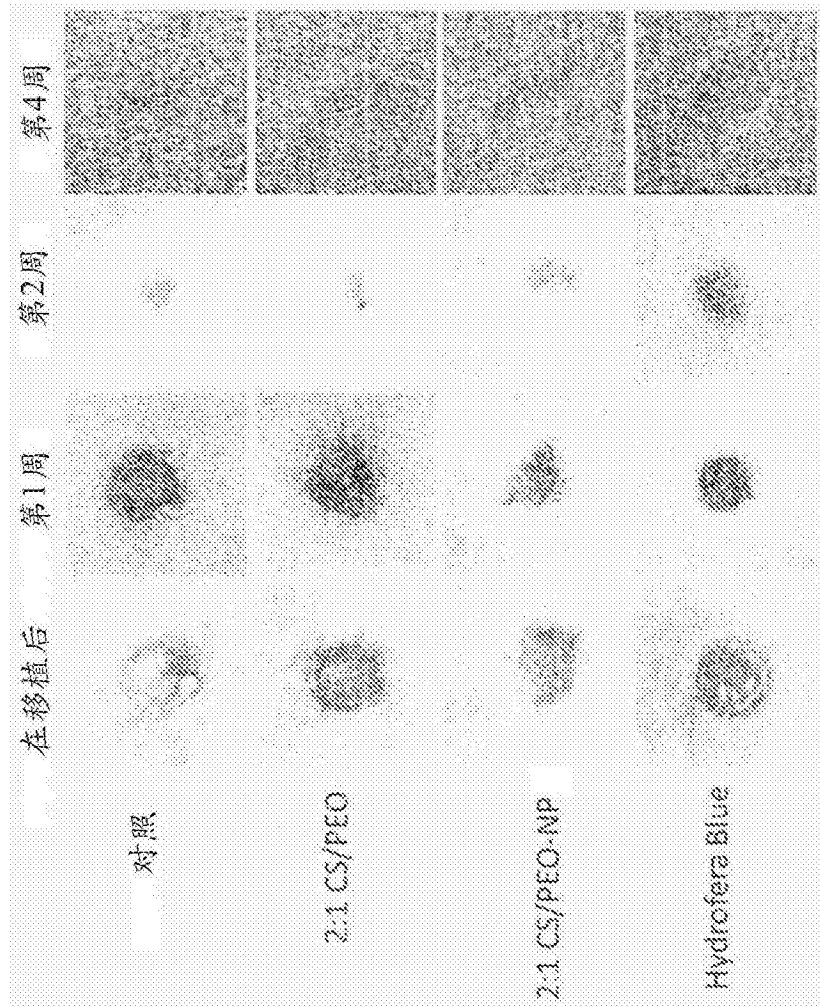


图 6A

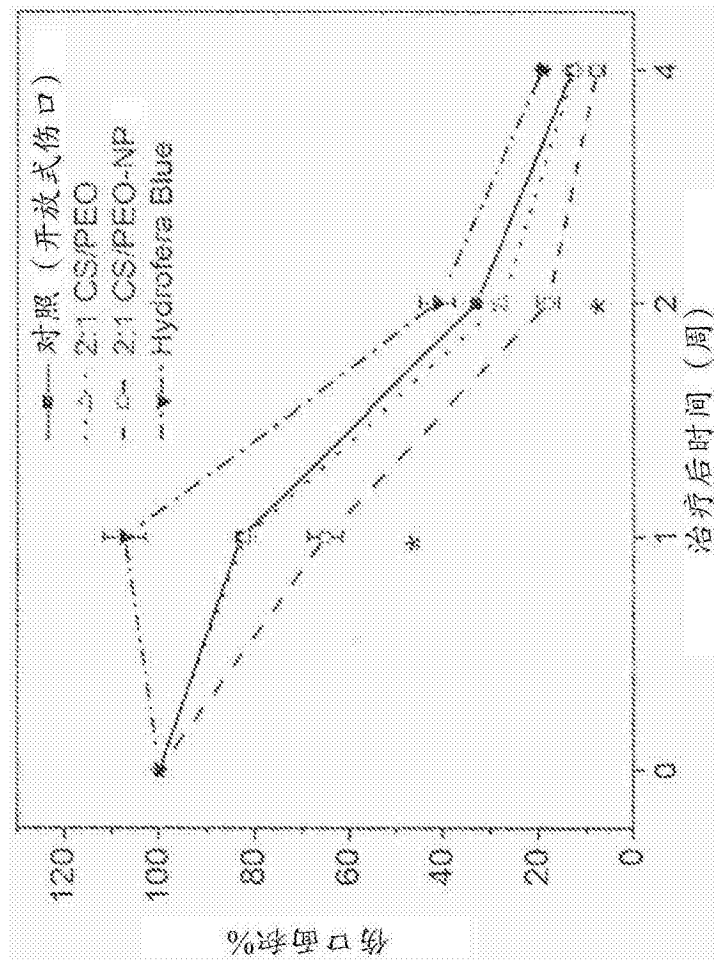


图 6B

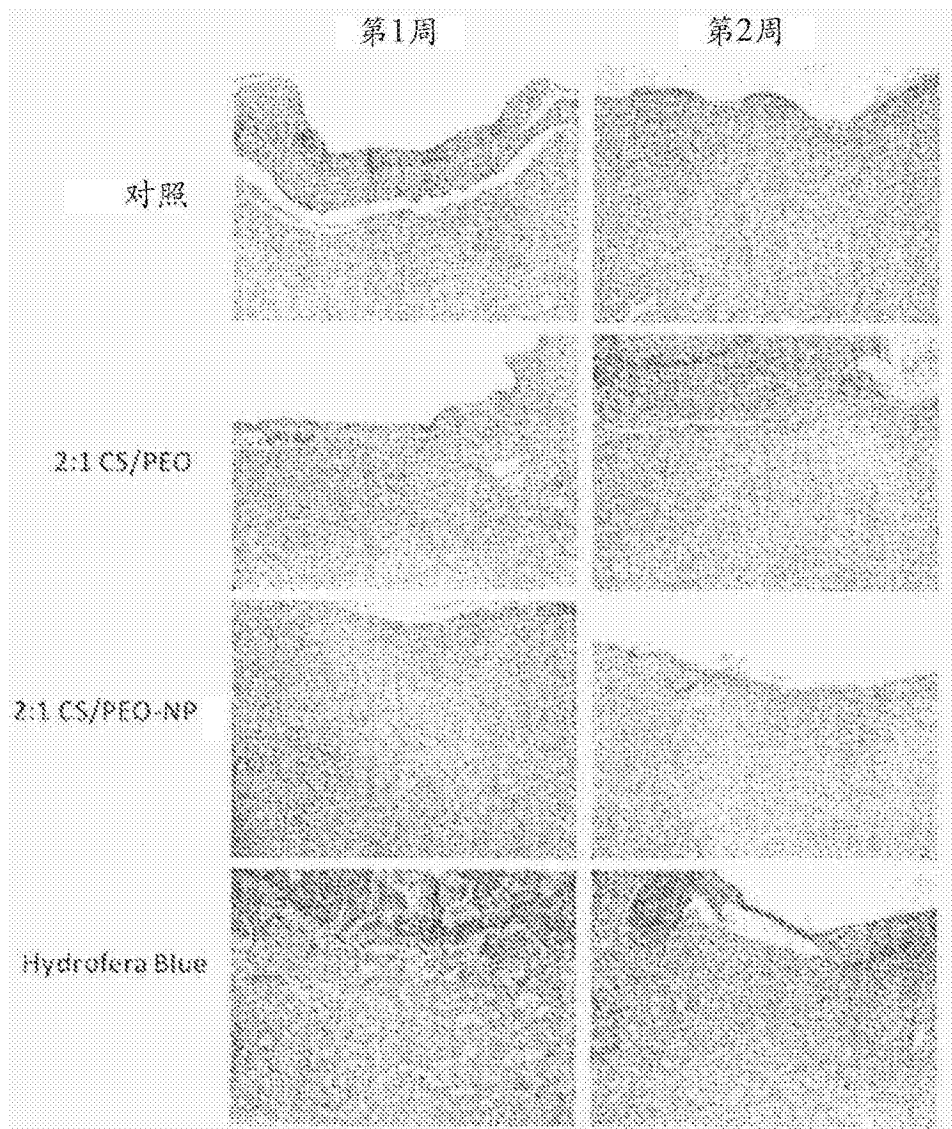


图 7A

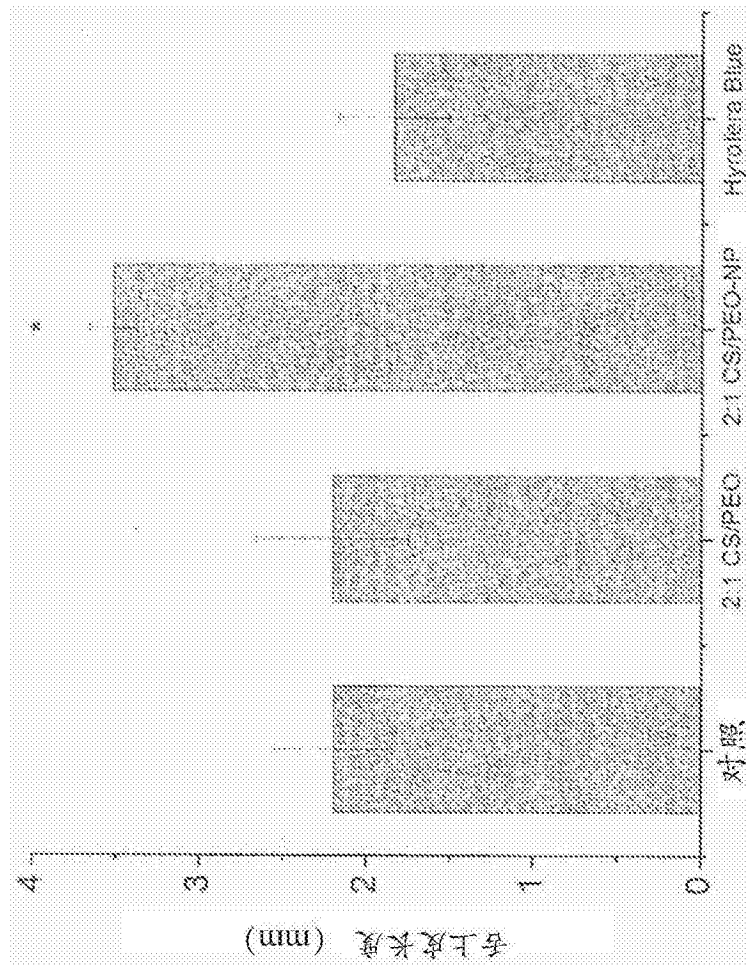


图 7B

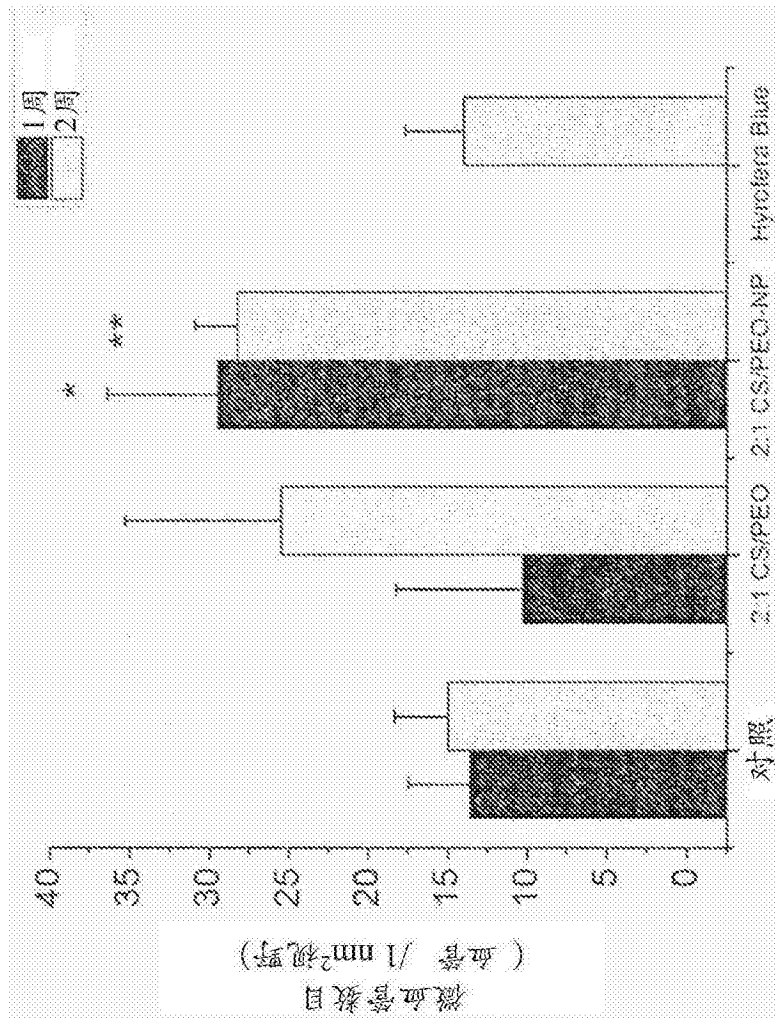


图 7C

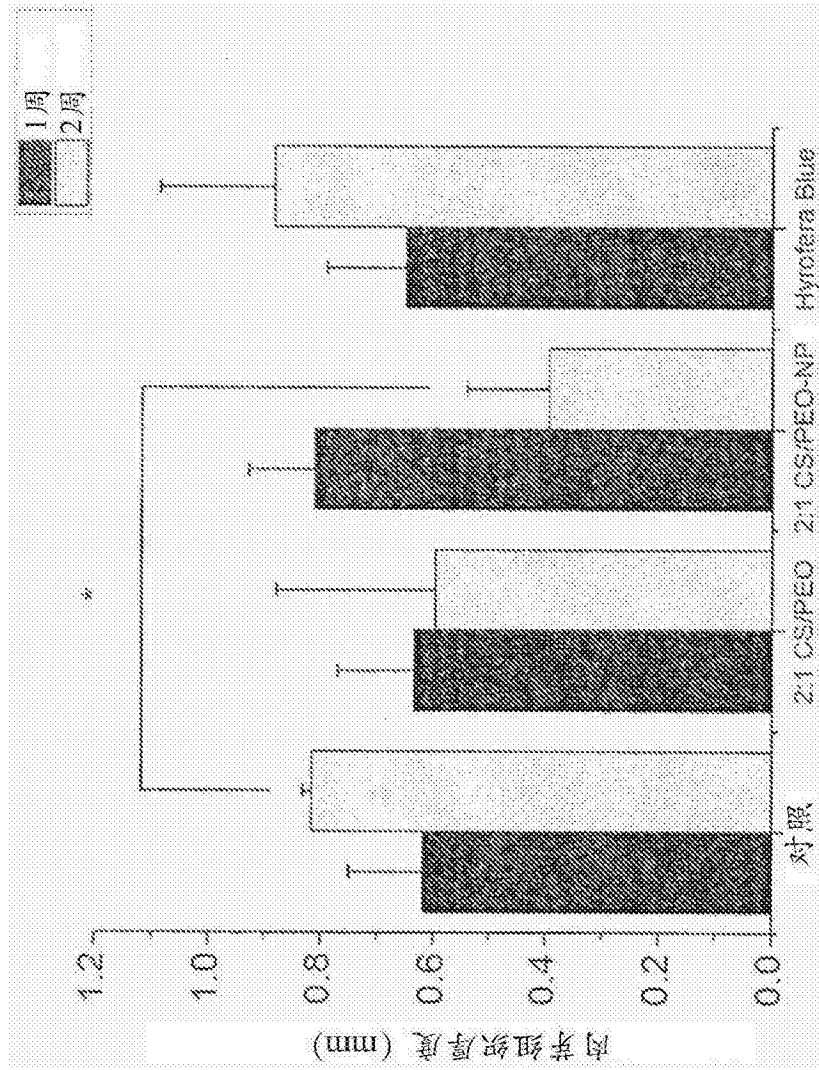


图 7D

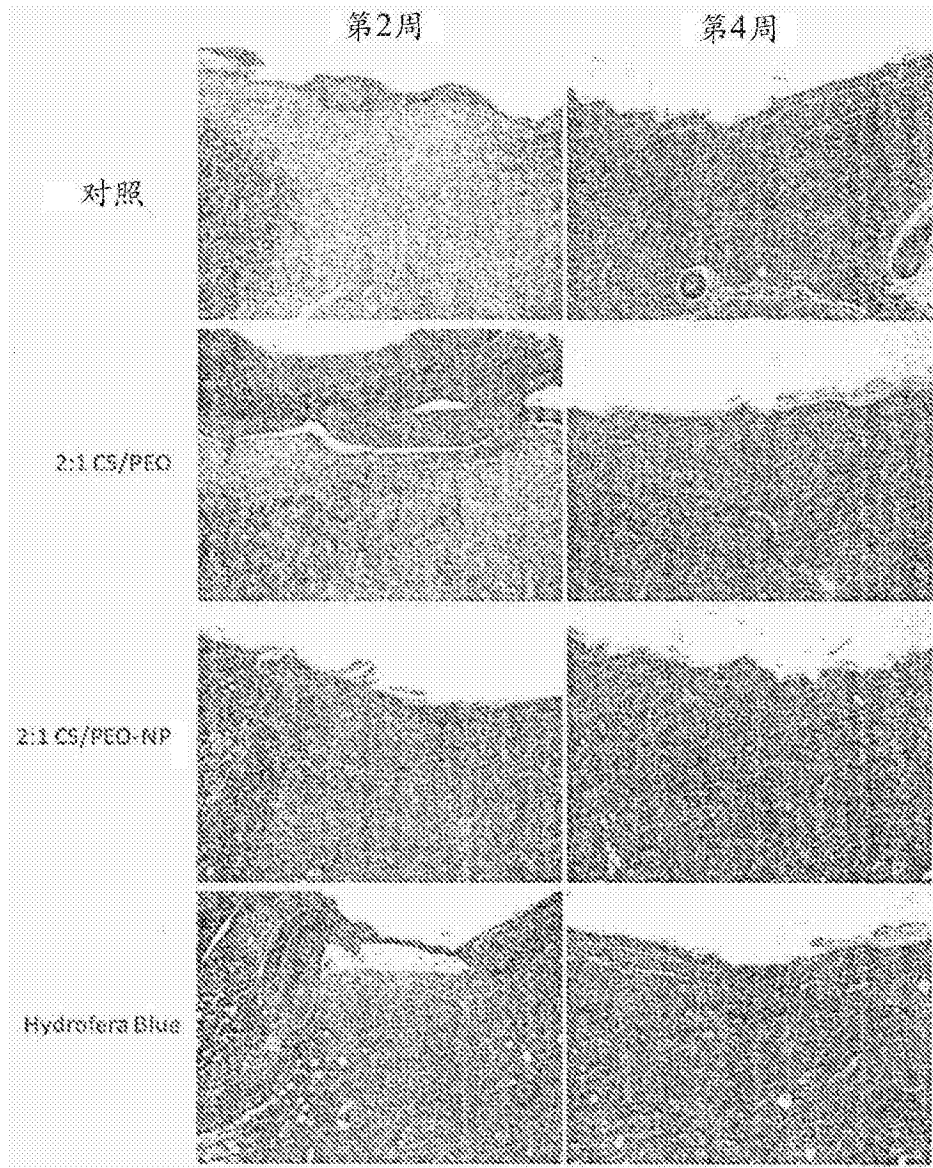


图 8A

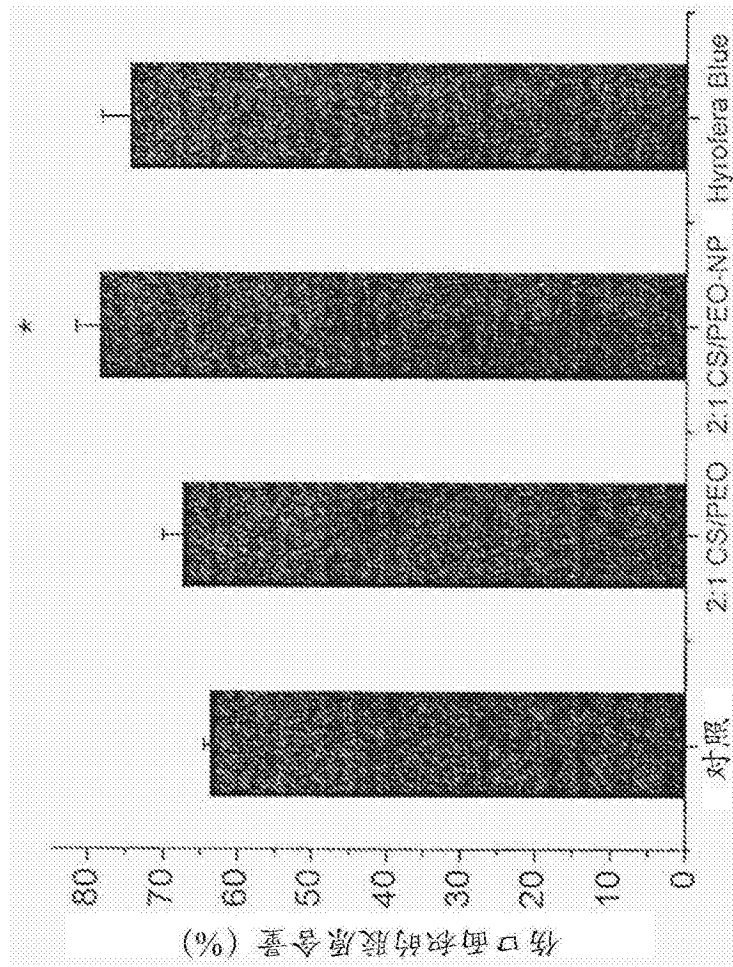


图 8B

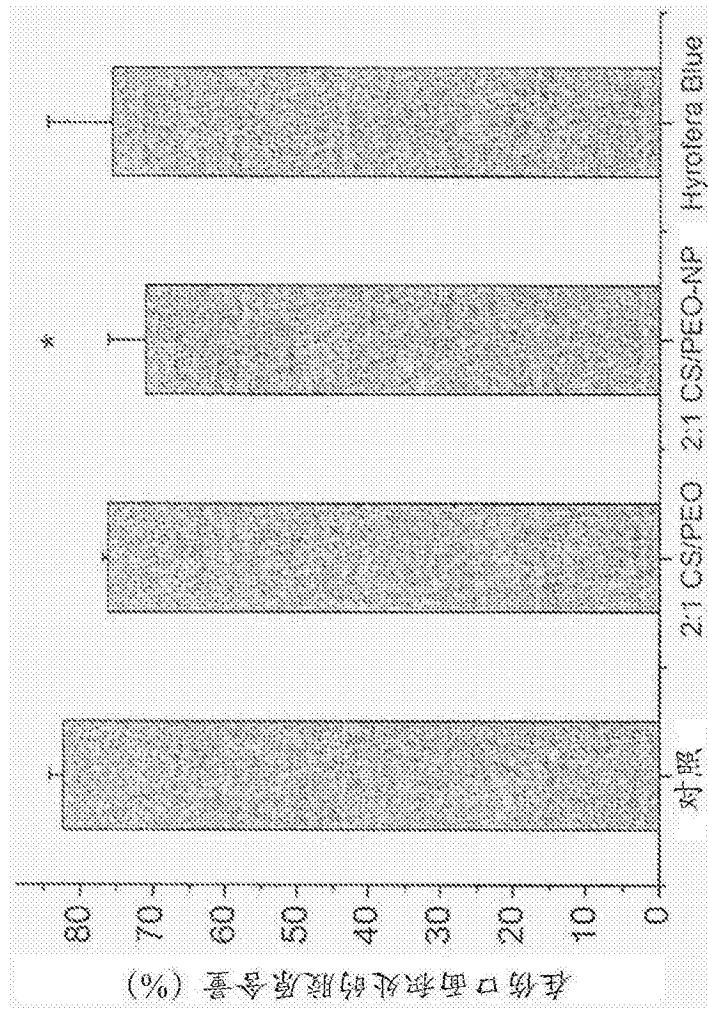


图 8C

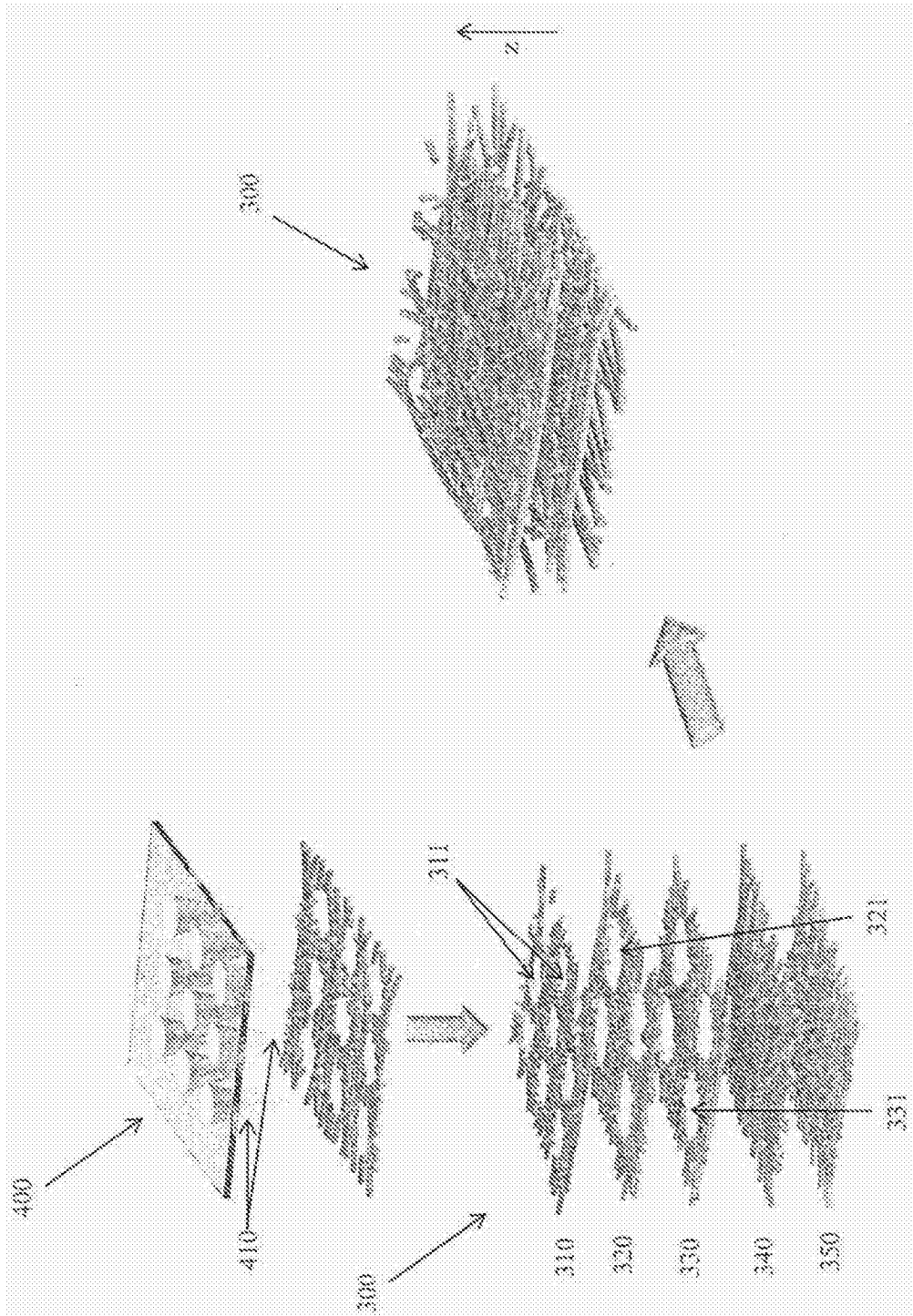


图 9

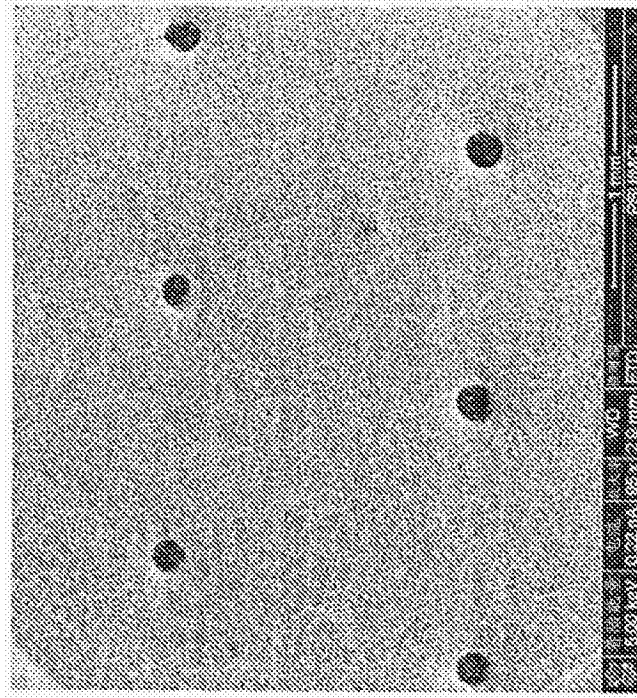


图 10A

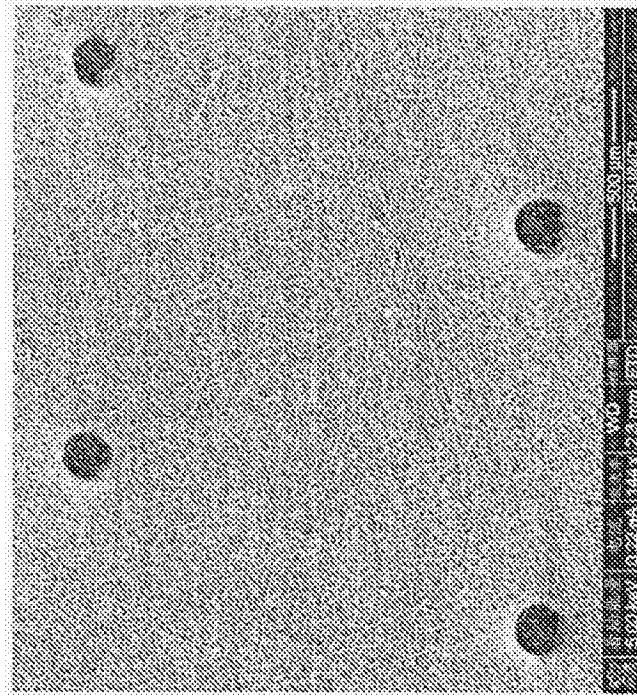


图 10B

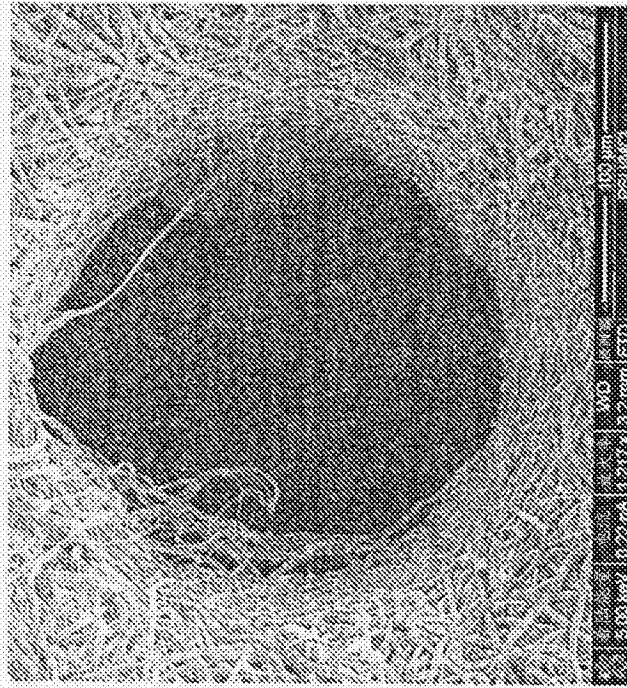


图 10C

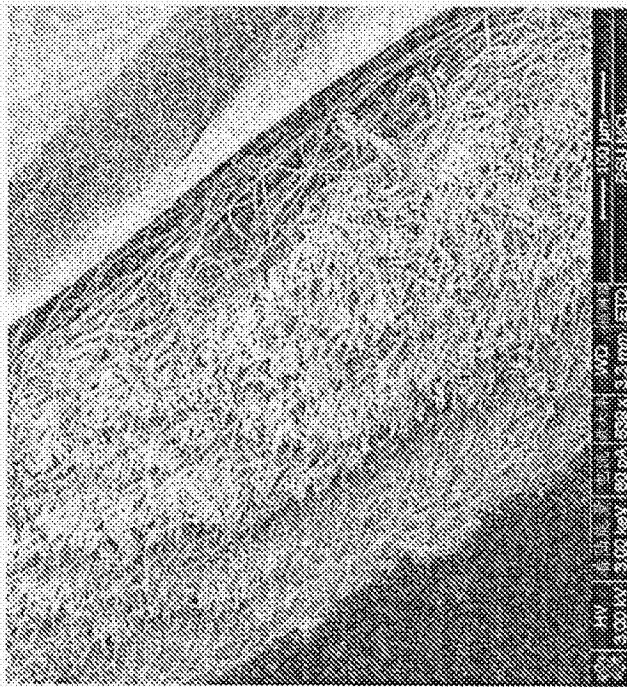


图 10D

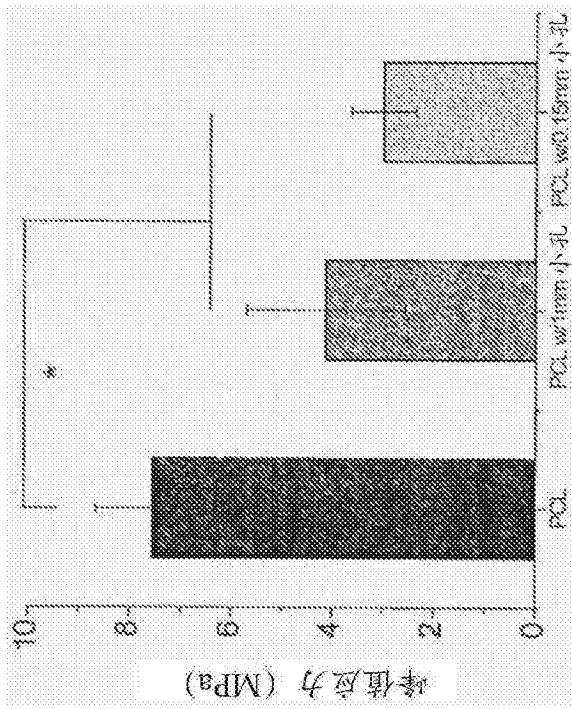


图 11A

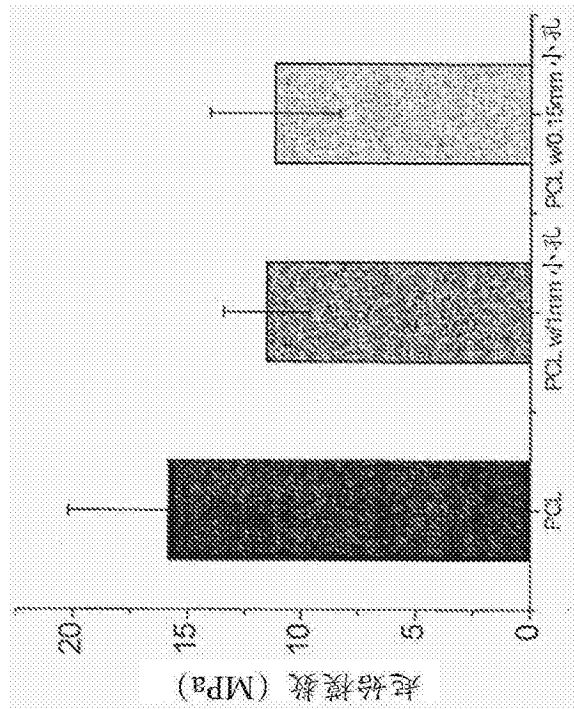


图 11B

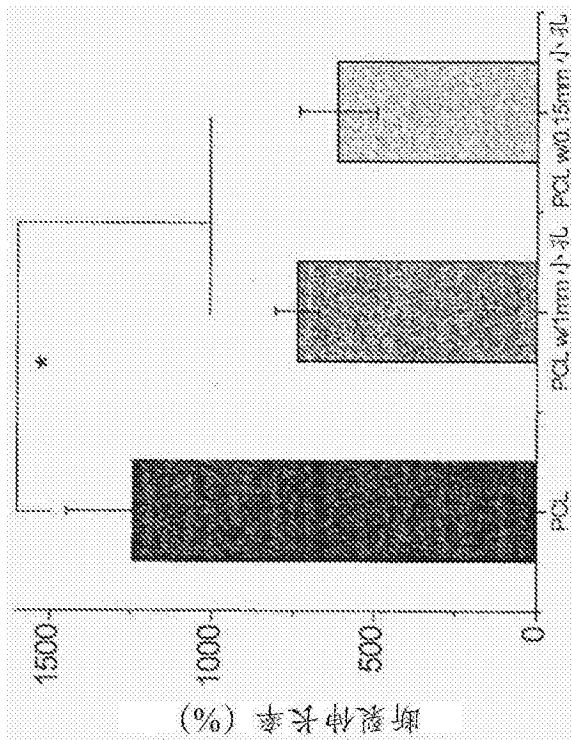


图 11C

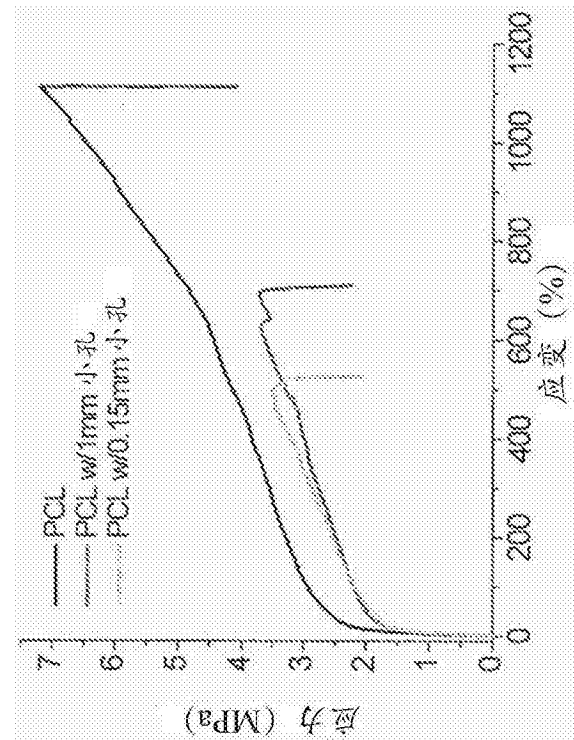


图 11D