

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101336315 B

(45) 授权公告日 2012. 12. 19

(21) 申请号 200680052327. 7

(22) 申请日 2006. 12. 07

(30) 优先权数据

60/742, 869 2005. 12. 07 US

60/831, 200 2006. 07. 17 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 08. 05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IL2006/001411 2006. 12. 07

(87) PCT申请的公布数据

W02007/066339 EN 2007. 06. 14

(73) 专利权人 特拉维夫大学拉莫特有限公司

地址 以色列特拉维夫

(72) 发明人 M·兹尔伯曼

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 李进 韦欣华

(51) Int. Cl.

D01D 11/06 (2006. 01)

D01F 8/04 (2006. 01)

A61L 31/16 (2006. 01)

A61M 31/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 4525340 , 1985. 06. 25,

WO 2004/112746 A1, 2004. 12. 29,

CN 1378445 A, 2002. 11. 06,

CN 1378445 A, 2002. 11. 06,

CN 1586623 A, 2005. 03. 02,

CN 1635861 A, 2005. 07. 06,

WO 02/053664 A2, 2002. 07. 11,

WO 2004/098503 A2, 2004. 11. 18,

EP 1518517 A2, 2005. 03. 30,

审查员 韩艳梅

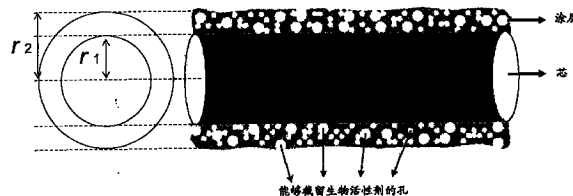
权利要求书 3 页 说明书 54 页 附图 26 页

(54) 发明名称

药物递送复合结构

(57) 摘要

公开的是由原纤维芯和聚合物涂层组成的复合结构,设计的复合结构既能够包裹疏水生物活性剂也能够包裹亲水生物活性剂,同时保留这些活性剂的活性。还公开制备此类复合结构的工艺,和用其制备的医疗器械和一次性物品。



1. 一种包含原纤维芯和涂布至少部分所述原纤维芯的聚合物多孔涂层的复合结构,所述涂层特征在于多孔的外表面并包含至少一种包裹其中和 / 或用于其上的生物活性剂。

2. 权利要求 1 的复合结构,其中至少部分地保留所述至少一种生物活性剂的活性。

3. 权利要求 1 的复合结构,其中所述涂层能够以预定释放速率释放所述生物活性剂。

4. 权利要求 1 的复合结构,其中所述至少一种生物活性剂选自疏水生物活性剂和亲水生物活性剂。

5. 权利要求 1 的复合结构,其中所述至少一种生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

6. 一种包含原纤维芯和涂布至少部分所述原纤维芯的多孔聚合物涂层的复合结构,设计该结构以便所述涂层特征在于多孔的外表面并能够包裹至少一种生物活性剂,同时保留所述生物活性剂的活性和 / 或能够以预定释放速率释放包裹在所述涂层中的生物活性剂。

7. 权利要求 6 的复合结构,其中所述涂层包含至少一种包裹其中和 / 或用于其上的生物活性剂。

8. 权利要求 7 的复合结构,其中所述至少一种生物活性剂选自亲水剂和疏水剂。

9. 权利要求 7 的复合结构,其中所述至少一种生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

10. 权利要求 1 至 9 中任一项的复合结构,其中所述聚合物涂层的特征在于平均孔径在 1nm-1mm 范围。

11. 权利要求 10 的复合结构,其中所述平均孔径在 1nm-50 μm 范围。

12. 权利要求 10 的复合结构,其中所述平均孔径在 100nm-200 μm 范围。

13. 权利要求 1 至 9 中任一项的复合结构,其中所述聚合物涂层的特征在于孔密度在每涂层体积 70%空隙体积 - 每涂层体积 95%空隙体积范围。

14. 权利要求 1 至 9 中任一项的复合结构,其中所述聚合物涂层的厚度在 1 μm -2000 μm 范围。

15. 权利要求 1 的复合结构,其中所述原纤维芯的特征在于抗拉强度为至少 100Mpa。

16. 权利要求 1 的复合结构,其中所述原纤维芯的直径在 1 μm -1cm 范围。

17. 权利要求 1 的复合结构,其中所述聚合物涂层可以生物降解。

18. 权利要求 1-9 中任一项的复合结构,其中所述芯包含至少一种包裹于其中的生物活性剂。

19. 权利要求 1-5 和 7-9 中任一项的复合结构,其中所述涂层还包含至少一种添加剂。

20. 一种包含权利要求 1-19 中任一项复合结构的纤维状组合物。

21. 权利要求 20 的纤维状组合物,其采用片的形式。

22. 权利要求 20 的纤维状组合物,其采用网的形式。

23. 一种制备权利要求 1 所述的复合结构的方法,该方法包括:

使纤维接触含水溶液和有机溶液的乳液,所述有机溶液包含至少一种第二聚合物,所述乳液还在所述水溶液内或所述有机溶液内包含所述至少一种生物活性剂,从而得到其上至少部分涂有所述乳液层的所述纤维;和

将其上涂有所述层的所述纤维冷冻干燥,从而得到复合结构。

24. 权利要求 23 的方法,其中所述至少一种生物活性剂选自疏水生物活性剂和亲水生

物活性剂。

25. 权利要求 23 的方法,其中所述至少一种生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

26. 权利要求 23 的方法,其中所述纤维是用至少一种第一聚合物制备的聚合物纤维。

27. 权利要求 26 的方法,在所述接触之前还包括:

用所述至少一种第一聚合物纺丝,从而得到粗纤维;和

拉伸所述粗纤维,从而得到所述纤维。

28. 权利要求 27 的方法,其中所述拉伸以 2 : 1-10 : 1 范围的拉伸比实施。

29. 权利要求 23 的方法,其中所述乳液如下制备:

使所述至少一种第二聚合物溶于有机溶剂中从而得到所述有机溶液;

使所述有机溶液接触所述水溶液从而得到混合物;和

将所述混合物乳化以得到所述乳液。

30. 权利要求 29 的方法,其中所述第二聚合物在所述有机溶剂中的浓度在 1 重量: 体积百分数-50 重量: 体积百分数范围。

31. 权利要求 29 的方法,其中所述水溶液与所述有机溶液在所述混合物中的比率在 1 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液-20 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液范围。

32. 权利要求 29 的方法,其中所述水溶液包含所述生物活性剂。

33. 权利要求 32 的方法,其中所述生物活性剂是亲水生物活性剂。

34. 权利要求 33 的方法,其中所述生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

35. 权利要求 32 的方法,其中所述水溶液与所述有机溶液在所述混合物中的比率在 3 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液-20 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液范围。

36. 权利要求 32 的方法,其中所述生物活性剂在所述水溶液中的浓度在 1 重量百分数-20 重量百分数范围。

37. 权利要求 29 的方法,其中所述有机溶液包含所述生物活性剂。

38. 权利要求 37 的方法,其中所述生物活性剂是疏水生物活性剂。

39. 权利要求 38 的方法,其中所述生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

40. 权利要求 37 的方法,其中所述水溶液与所述有机溶液在所述混合物中的比率在 1 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液-8 份所述有机溶液: 1 份所述水溶液范围。

41. 权利要求 37 的方法,其中所述生物活性剂在所述有机溶液中的浓度在 0.1 重量百分数-10 重量百分数范围。

42. 一种包含权利要求 1-19 中任一项复合结构的医疗器械。

43. 一种包含权利要求 20 的纤维状组合物的医疗器械。

44. 一种包含权利要求 1-19 中任一项复合结构的制品。

45. 一种预测权利要求 1 所述的复合结构的生物活性剂释放速率的方法,其中所述聚合物多孔涂层最初加有初始浓度的生物活性剂,该方法包括:

解扩散方程,以便得到生物活性剂在所述聚合物多孔涂层中的作为时间函数的浓度分布;

积分所述聚合物多孔涂层体积的所述浓度分布,以便得到作为时间函数的积分的生物活性剂质量;和

用所述积分的生物活性剂质量预测生物活性剂的释放速率。

46. 权利要求 45 的方法,其中所述扩散方程包含时间依赖性扩散系数。

47. 权利要求 46 的方法,其中所述时间依赖性扩散系数包含与表征所述聚合物多孔涂层的多孔性成比例的常数。

48. 权利要求 47 的方法,其中所述常数与比率成比例,该比率是所述多孔性和表征所述聚合物多孔涂层的曲折度的比率。

49. 权利要求 46 的方法,其中所述聚合物多孔涂层是生物可降解聚合物多孔涂层且所述时间依赖性扩散系数包含表征所述生物可降解聚合物多孔涂层的降解曲线。

药物递送复合结构

[0001] 发明领域和背景

[0002] 本发明涉及材料科学领域,更具体来讲,涉及可用于递送治疗剂的新的复合结构。

[0003] 器官和组织衰竭或损耗是最常见和破坏性的问题,仍然危险着人类健康。组织再生是一门新学科,其中在活体损伤、疾病或先天缺陷的情况下,用活细胞(如自体、同种异体或异体细胞)代替损失的细胞。

[0004] 组织再生通常涉及制备用于包含生物活性分子和/或细胞的生物可降解框架(scaffold)的精细的聚合物结构。此类生物可降解框架通常还用于组织、细胞、生物活性剂及其之间相互作用的体外研究。

[0005] 组织再生的有效框架通常由生物可降解结构元件、优选纤维组成,其中可包含生物学活性分子并随时间流逝可控制地释放。

[0006] 当需要纤细、精巧的结构如用于神经再生时,纤维状生物可降解框架特别适合。它们还可用于建立植入物及其它兼具药物释放和其它功能的医疗器械,如再生组织的力学支持或作为支架。

[0007] 目前用于组织再生及其它用途的聚合物框架优选可生物降解,指随时间流逝聚合物可化学、代谢(通过生物学过程如水解或酶消化)和/或机械分解。

[0008] 已知生物可降解结构元件如纤维以许多用途使用了许多年,所述用途如捕鱼材料,如钓丝和渔网;农业材料,如昆虫或鸟网和植物网;日常生活物品的布料纤维和无纺纤维,如一次性妇女卫生用品、口罩、湿纸巾(湿巾)、内衣、毛巾、手帕、厨房毛巾和尿布;和医疗用品,如不取出的手术缝线、手术网和增强缝线的材料。这些元件的生物可降解性使其非常适合用于构成医疗器械和作为不影响环境的产品。关于生物可降解纤维的大量描述可参阅如美国专利号 6,045,908、6,420,027、6,441,267、6,645,622 和 6,596,296。

[0009] 生物可降解纤维通常用常规方法如溶液纺丝、电纺丝和/或熔体纺丝技术生产。这些纤维通常用单种聚合物或共聚物或聚合物混合物制备,所述聚合物如聚(乙醇酸)、聚(L-乳酸)、聚(DL-乳酸)、乙醇酸-乳酸共聚物、聚(3-羟丁酸)、聚己内酯、聚酐、壳多糖、壳聚糖、磺酸壳聚糖、各种天然和衍生的多糖聚合物、天然聚合物或多肽如重组胶原或蜘蛛丝,以及其它各种由二元酸和二醇组成的脂族聚酯。

[0010] 因为无毒性是设计用于临床的生物可降解聚合物的固有必备条件,所以原料、终产物和任选分解产物都必须无毒且性质温和。因此,例如生物可降解聚酯如聚(乳酸)或聚(乙醇酸)的降解涉及水解分裂,产生二氧化碳和水,是无毒和温和的终产物。

[0011] 生物可降解聚合物的总降解时间可从几天至几年不等,主要取决于聚合物链的化学结构和物理特性如密度、表面积和聚合物大小。在降解过程中,可完成附着其上和/或包裹其中的生物剂的控制释放。下文表 A 显示一些常用生物可降解聚合物完全质量损失需要的典型降解时间(时间单位为月)。

[0012] 表 A

[0013]

聚合物	完全质量损失的降解时间。速率还取决于部分几何学(月)
PGA	6-12
PLLA	> 24
PDLLA	12-16
PCL	> 24
PDO	6-12
PGA-TMC	6-12
85/15PDLGA	5-6
75/25PDLGA	4-5
65/35PDLGA	3-4
50/50PDLGA	1-2

[0014] [0014] 聚乙交酯缩写为 PGA ;聚(1- 丙交酯) 缩写为 PLLA ;聚(d1- 丙交酯) 缩写为 PDLLA ;聚(二氧杂环己酮) 缩写为 PDO ;乙交酯- 三亚甲基碳酸酯共聚物缩写为 PGA-TMC 和 d1- 丙交酯- 乙交酯共聚物缩写为 PDLGA。

[0015] 当用于临床时,根据其特性选择构成框架的生物可降解聚合物。因此,例如半晶聚合物如聚(L- 乳酸)(PLLA) 可用于需要良好力学性能的植入物如缝线、整形外科和心血管手术器械以及支架。另一方面,非晶形聚合物如 DL- 丙交酯- 乙交酯共聚物(PDLGA) 在药物释放应用方面有效,其中在单相基体内均匀分散活性物种类很重要。这些聚合物的降解速率取决于初始分子量、暴露表面积、聚合物的结晶度和(在共聚物的情况下)两种共聚单体的数量比。

[0016] 目前已知用于例如组织再生的纤维状框架由形成大块“意大利面样”(spaghetti-like) 结构的生物可降解纤维组成,从而生物学活性剂截留在相邻纤维之间的空隙内。通常先制备框架,然后引入生物学活性剂。因为生物活性剂不加入生物可降解纤维而实际上浸入纤维组成的框架内,所以这些药物递送形式产生相对不受控制的药物释放曲线,这种特征通常与药物递送的目的相反。

[0017] 现在为上述局限性提供部分解决方法的后续措施是使用药物负荷纤维,其中将生物活性剂加入用作药物递送框架和载体的基本构造单元的纤维内。

[0018] 在成功加入生物可降解结构和框架并从中递送时,主要的障碍是制备药物负荷纤维时暴露于高温或苛刻的化学环境导致生物活性分子失活 [Thomson, R. C., 等, " Polymer scaffold processing", in :Lanza RP, Langer R, Vacanti J, 编辑. Principles of Tissue Engineering, New York :Academic Press ;2000. 251-262 页]。

[0019] 但是,迄今为止只研究了少数几种以生物可降解聚合物为基础并加入生物活性分子的控制释放纤维系统。此类药物负荷纤维的两种基本类型是整体纤维和贮库纤维。

[0020] 在用整体纤维的系统中,使药物溶解或分散在聚合物纤维各处。例如,已经将有机(疏水) 药物如姜黄、紫杉醇和地塞米松与聚(L- 乳酸)(PLLA) 熔体纺丝,得到药物负荷纤维 [Su, S. H. 等, Circulation, 2001, 104 :II, 500-507 页],将水溶性(亲水) 药物与 PLLA 溶液纺丝 [Alikacem, N. 等, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000, 41, 1561-1569 页]。各种填充类固醇的纤维系统已经证明预期的一级释放动力学 [Dunn, R. L. 等, " Fibrous polymer for the delivery of contraceptive steroids to the female reproductive track(用于将避孕类固醇递送至女性生殖道的纤维聚合物)", in Lewis DH, 编辑, " Controlled Release of Pesticides and Pharmaceuticals(农药和医药的控制释放)", New York : Plenum Press, 1981, 125-146 页]。最近发表的文献已经证明将有限量的由载体蛋白

牛血清白蛋白 (BSA) 稳定化的部分活性 (释放后) 人 β -神经生长因子 (NGF) 包在由电纺丝产生的 ϵ -己内酯与乙基亚乙基磷酸酯的共聚物 (PCLEEP) 中 [Sing, Y. C. 等, *Biomacromolecules*, 2005, 6(4), 2017-2024 页]。

[0021] 美国专利号 6,485,737、6,596,296 和 6,858,222、公开号为 20050106211 的美国专利申请和 WO 01/10421 指出药物释放生物可降解整体纤维的制备和使用。如下制备纤维,使生物活性剂在聚合物溶液中混合,通过将混合物挤入凝固浴内使其转化成纤维。与用不含生物活性剂的类似聚合物制备的纤维相比,这些纤维最终受限于力学性能,受限于可经历和耐受这种特殊生产工艺的生物活性剂类型。

[0022] 因此在药物递送系统中使用整体纤维存在几个缺点,包括例如药物释放曲线的控制和外来非聚合物物质的加入和 / 或核心结构内孔的形成受限,这对纤维的强度和 / 或灵活性产生不良影响,有时削弱纤维的内在结构。

[0023] 在使用空心贮库纤维的系统中,药物如地塞米松和甲氨蝶呤位于空心纤维的内部 [Eenink, M. D. J. 等, *J. Control. Rel.*, 1987, 6, 225-237 页; Polacco, G. 等, *Polymer International*, 2002, 51(12), 1464-1472 页; 和 Lazzeri, L. 等, *Polymer International*, 2005, 54, 101-107 页]。这些系统也存在缺点,如药物释放曲线的控制受限、纤维的内在结构减弱和复杂的生产工艺。

[0024] 因此,虽然在各种医疗应用如组织再生中使用纤维是有发展前途的学科,但是目前已知用于制备可加入和递送生物活性剂的此类纤维的方法受到所得纤维的力学性能差和 / 或药物负荷少和 / 或药物释放不受控制的限制。而且,许多生物活性剂 (如蛋白质) 不耐受熔化处理、有机溶剂及其它通常用于制备聚合物纤维的条件。

[0025] 因此人们普遍认为需要生物可降解复合结构、优选纤维状结构,并且这非常有利,该结构可装载和可控制地释放生物活性剂,同时维持结构的所需力学性能和保留生物活性剂的活性,消除以上局限性。

[0026] 发明概述

[0027] 根据本发明的一方面提供包含原纤维芯和涂布至少部分原纤维芯的聚合物涂层的复合结构,设计该结构以便该涂层能够包裹至少一种生物活性剂,同时保留生物活性剂活性和 / 或能够以预定释放速率释放包裹在涂层内的生物活性剂。

[0028] 根据本发明的另一方面提供复合结构,该复合结构包括原纤维芯和涂布至少部分原纤维芯的聚合物涂层,其中涂层包括至少一种包裹其中和 / 或用于其上的生物活性剂。

[0029] 根据下文描述的本发明优选实施方案的进一步特点,聚合物涂层是多孔涂层。

[0030] 根据下文描述的本发明优选实施方案的进一步特点,至少部分保留生物活性剂的活性。

[0031] 根据下文描述的本发明优选实施方案的进一步特点,涂层能够以预定释放速率释放包裹在涂层中的生物活性剂。

[0032] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,结构是复合纤维状结构。

[0033] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,原纤维芯是聚合物原纤维芯。

[0034] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,原纤维芯可生物降解。

[0035] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,原纤维芯不可降解。

[0036] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,涂层可生物降解。

[0037] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,原纤维芯的特征在于至少 100MPa 的抗拉强度。

[0038] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,多孔涂层具有约 0.001 μm – 约 1000 μm 范围的孔径。

[0039] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物涂层的特征在于约 1nm– 约 1mm 范围的平均孔径。

[0040] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物涂层的特征在于约 1nm– 约 50 μm 范围的平均孔径。

[0041] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物涂层的特征在于约 100nm– 约 200 μm 范围的平均孔径。

[0042] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物涂层的特征在于每涂层体积约 70% 空隙体积 – 每涂层体积约 95% 空隙体积范围的孔密度。

[0043] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物涂层的厚度在约 1 μm – 约 2000 μm 、更优选约 100 μm – 约 500 μm 范围。

[0044] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,原纤维芯直径在约 1 μm – 约 1cm 范围,优选原纤维芯直径在约 50 μm – 约 300 μm 范围。

[0045] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物原纤维芯包含至少一种第一生物可降解聚合物。

[0046] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,聚合物原纤维芯包含非生物可降解聚合物,优选尼龙。

[0047] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第一生物可降解聚合物选自聚(乙醇酸)、聚(乳酸)、聚二氧杂环己酮(PDS)、聚(琥珀酸亚烷基酯)、聚(羟基丁酸酯)、聚(二乙醇酸亚丁基酯)、聚(ϵ -己内酯)及其共聚物、共混物和混合物。

[0048] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第一生物可降解聚合物包含聚(L-乳酸)。

[0049] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,涂层包含至少一种第二生物可降解聚合物。

[0050] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第二生物可降解聚合物选自聚(乙醇酸)、聚(乳酸)、聚二氧杂环己酮(PDS)、聚(琥珀酸亚烷基酯)、聚(羟基丁酸酯)、聚(二乙醇酸亚丁基酯)、聚(ϵ -己内酯)及其共聚物、共混物和混合物。

[0051] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第二生物可降解聚合物包含 DL-乳酸 – 乙醇酸共聚物。

[0052] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,涂层还包含至少一种添加剂。

[0053] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,添加剂选自生物降解促进剂、穿透增强剂 (penetration enhancer)、保湿剂、螯合剂、闭塞剂 (occlusive agent)、软化剂 (emollient)、渗透增强剂 (permeation enhancer)、抗刺激剂和穿透增强剂。

[0054] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,基于涂层总重量计,生物活性剂的量在约 0.00001 重量百分数 – 约 50 重量百分数范围。

[0055] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,生物活性剂选自疏水生物活性剂和亲水

生物活性剂。

[0056] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,生物活性剂选自大生物分子和小有机分子。

[0057] 根据本发明另一方面,提供包含本文描述的任何复合结构的纤维状组合物。

[0058] 纤维状组合物可采用片或网的形式。

[0059] 根据本发明的另一方面提供制备复合结构的工艺,该复合结构包含原纤维芯和涂布至少部分原纤维芯的聚合物涂层,通过使纤维与水溶液和有机溶液的乳液接触完成该工艺,所述有机溶液包含至少一种 第二聚合物,从而得到其上至少部分涂有乳液层的纤维;将其上有涂层的纤维冷冻干燥,从而得到本文提出的复合结构。

[0060] 根据本发明另一方面提供制备复合结构的工艺,该复合结构包含聚合物原纤维芯和涂布至少部分原纤维芯的聚合物涂层,其中涂层包含至少一种包裹其中和 / 或涂在其上的生物活性剂,通过使纤维与含有水溶液和有机溶液的乳液接触完成该工艺,该乳液还包含至少一种生物活性剂在水溶液或有机溶液内,其中有机溶液包含至少一种第二聚合物,从而得到其上至少部分涂有乳液层的纤维;将其上有涂层的纤维冷冻干燥,从而得到本文提出的复合结构。

[0061] 根据下文描述的本发明优选实施方案的其它特点,原纤维芯是用至少一种第一聚合物制备的聚合物原纤维芯。

[0062] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,提供聚合物原纤维芯包含:用至少一种第一聚合物纺丝,从而得到粗纤维;拉伸粗纤维,从而得到聚合物纤维。

[0063] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第一聚合物包含至少一种生物可降解聚合物。

[0064] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第一聚合物包含至少一种不可降解的聚合物。

[0065] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,纺丝选自电纺丝、凝胶纺丝、湿法纺丝、干法纺丝、熔体纺丝和溶液纺丝。

[0066] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,纺丝包括熔体纺丝。

[0067] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,以约 2 : 1- 约 10 : 1 范围的拉伸比完成拉伸。

[0068] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,不可降解的聚合物包含选自丙烯酸、芳族聚酰胺、碳、纤维素、三聚氰胺、尼龙、聚丙烯腈、聚酰胺、聚酯、聚乙烯、聚丙烯、聚四氟乙烯、聚乙酸乙烯酯、聚乙烯醇、粘胶及其任何共聚组合的芯。

[0069] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,提供如下制备的乳液:使至少一种第二聚合物溶于有机溶剂中从而得到有机溶液;使有机溶液接触水溶液从而得到混合物;使混合物乳化从而得到乳液。

[0070] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,有机溶剂选自氯仿、二氯甲烷、四氯化碳、二氯甲烷、二甲苯、苯、甲苯、己烷、环己烷、乙醚和二硫化碳。

[0071] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,至少一种第二聚合物包含至少一种第二生物可降解聚合物。

[0072] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,第二生物可降解聚合物在有机溶剂中的

浓度在约 1 重量 / 体积百分数 - 约 50 重量 / 体积百分数范围。

[0073] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,混合物中水溶液与有机溶液的比值在约 1 份有机溶液 : 1 份水溶液 - 约 20 份有机溶液 : 1 份水溶液范围。

[0074] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,乳液还包含至少一种生物活性剂,在适合保留生物活性剂活性的温度下完成接触和 / 或乳化。

[0075] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,水溶液包含至少一种选自缓冲剂、乳化剂、表面活性剂、防静电剂、螯合剂、防腐剂、增溶剂、粘度调节剂、生物降解促进剂和穿透增强剂的成分。

[0076] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,有机溶液还包含至少一种选自乳化剂、表面活性剂、防静电剂、螯合剂、防腐剂、增溶剂、粘度调节剂、生物降解促进剂和穿透增强剂的成分。

[0077] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,基于至少一种第二聚合物的量计,生物活性剂的量在约 0.00001 重量百分数 - 约 50 重量百分数范围。

[0078] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,基于至少一种第二聚合物的量计,生物活性剂的量在约 0.1 重量百分数 - 约 30 重量百分数范围。

[0079] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,水溶液包含亲水生物活性剂,水溶液与有机溶液在所述混合物中的比值在约 3 份有机溶液 : 1 份水溶液 - 约 20 份有机溶液 : 1 份水溶液范围。

[0080] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,生物活性剂在水溶液中的浓度在约 1 重量百分数 - 约 20 重量百分数范围。

[0081] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,有机溶液包含疏水生物活性剂,水溶液与有机溶液在混合物中的比值在约 1 份有机溶液 : 1 份水溶液 - 约 8 份有机溶液 : 1 份水溶液范围。

[0082] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,生物活性剂在有机溶液中的浓度在约 10 重量百分数 - 约 30 重量百分数范围。

[0083] 根据本发明的其它方面,提供包含上文描述的复合结构或纤维状组合物的医疗器械。

[0084] 根据下文描述的本发明优选实施方案的进一步特点,设计的医疗器械用于经皮应用。

[0085] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,医疗器械选自缝线、橡皮膏和皮肤贴剂。

[0086] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,设计的医疗器械用于局部应用。

[0087] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,医疗器械选自缝线、粘合带、绷带、橡皮膏、伤口敷料和皮肤贴剂。

[0088] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,设计的医疗器械用于植入身体器官。

[0089] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,医疗器械选自板、网、螺钉、针、平头钉、棒、缝合锚、吻合夹或塞、牙科植入物或装置、主动脉瘤移植装置、房室分流器、导管、心脏瓣膜、血透导管、骨折愈合装置、骨置换装置、关节置换装置、组织再生装置、血透移植、留置动脉导管、留置静脉导管、注射针头、起搏器、起搏器导线、卵圆孔未闭中隔闭合装置、血管支架、气管支架、食管支架、尿道支架、直肠支架、支架移植、缝线、合成血管移植、线、

管、血管动脉瘤闭合器 (aneurysm occluder)、血管夹、血管假体滤器、血管鞘和递药孔、静脉瓣和导丝。

[0090] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,器官选自皮肤、头皮、皮层、眼、耳、小肠组织、大肠组织、肾、胰腺、肝、消化道组织或管腔、呼吸道组织或管腔、骨、关节、骨髓组织、脑组织或脑室、粘膜、鼻粘膜、血液系统、血管、肌肉、肺组织或胸腔、腹部组织或腹腔、动脉、静脉、毛细血管、心脏、心腔、男性生殖器官、女性生殖器官和内脏器官。

[0091] 根据本发明另一方面,提供包含本文描述的复合结构的制品。

[0092] 制品可以是例如钓丝、渔网、昆虫网、鸟网、植物网、布料纤维、无纺纤维、一次性妇女卫生用品、口罩、湿纸巾(湿巾)、内衣、手帕、毛巾、尿布、一次性医疗用品、一次性食物容器或盘、一次性衣物或一次性餐具。

[0093] 根据本发明另一方面,提供预测本文所述复合结构中生物活性剂的释放速率的方法,最初聚合物涂层中加有初始浓度的生物活性剂。通过解扩散方程完成该方法,以便得到呈时间函数的生物活性剂的浓度分布,积分(integrate)浓度分布以便得到呈时间函数的聚合物涂层中的累计(integrated)生物活性剂质量。该方法还包括用累计生物活性剂质量预测生物活性剂的释放速率。

[0094] 根据下文所述本发明优选实施方案的进一步特点,扩散方程包含时间依赖性扩散系数。

[0095] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,时间依赖性扩散系数包含与表征聚合物涂层的多孔性成比例的常数。

[0096] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,该常数与表征聚合物涂层的多孔性与曲折度的比率成比例。

[0097] 根据所述优选实施方案的更进一步特点,时间依赖性扩散系数包含表征聚合物涂层的降解曲线。

[0098] 本发明通过提供复合结构成功地解决目前现有构型的缺点,该复合结构利用纤维有利的力学性能,允许将生物活性剂有效地包裹其中,在生理条件下可控制地释放这些生物活性剂。

[0099] 除非另外限定,否则本文使用的全部专业和科学术语都具有本发明所属领域技术人员通常理解的含义。尽管与本文所述类似或等同的方法和材料都可用于实施或测试本发明,但合适的方法和材料如下文描述。如果出现矛盾的情况,将以包括定义在内的专利说明书为准。此外,材料、方法和实施例只用于举例说明,并非限制性。

[0100] 除非另外限定,否则本文使用的全部专业和科学术语都具有本发明所属领域技术人员通常理解的含义。尽管与本文所述类似或等同的方法和材料都可用于实施或测试本发明,但合适的方法和材料如下文描述。如果出现矛盾的情况,将以包括定义在内的专利说明书为准。此外,材料、方法和实施例只用于举例说明,并非限制性。

[0101] 用于本文时,除非上下文明确指出,否则单数指代包括复数。例如,术语“蛋白质”或“至少一种蛋白质”可包括多种蛋白质,包括其混合物。

[0102] 在本公开中,可用范围格式表示本发明各方面。应理解用范围格式描述只是为了方便和简洁,不应视为对本发明范围不可改变的限制。因此,应将范围的描述视为已经具体公开该范围内所有可能的亚范围和个体数值。例如,应将描述的范围如 1-6 视为已经具体

公开亚范围,如 1-3、1-4、1-5、-2-4、2-6、3-6 等,以及该范围内的个体数值,如 1、2、3、4、5 和 6。无论范围的宽度如何,这都适用。

[0103] 当本文标明数字范围时,意欲包括标明的范围内任何引用的数字(分数或整数)。词组“第一个标明的数字至第二个标明的数字的‘范围/在其之间的范围’”与词组“从第一个标明的数字‘至’第二个标明的数字的‘范围’”在本文互换使用,意欲包括第一个和第二个标明的数字及两者之间的全部分数和整数。

[0104] 通用于本文时,术语“包含”指可加入不影响最终结果的其它步骤和成分。该术语包括术语“组成”和“基本组成”。

[0105] 用于本文时,词组“基本保留”和/或“基本维持”指蛋白质的具体活性、溶解度及其生物活性必需的其它生物化学特性,在经过本文描述的化学修饰之后保留和维持在显著水平,实施所述化学修饰是为了在蛋白质上得到金属涂层和为达该目的的中间体。

[0106] 术语“方法”或“工艺”指完成指定任务的方式、工具、技术和操作,包括但不限于化学、药学、生物学、生物化学和医学领域工作者已知或者很容易用已知的方式、工具、技术和操作开发的那些方式、工具、技术和操作。

[0107] 附图简述

[0108] 本文通过参考附图描述本发明,只用于举例。现在详细具体参考各图,注意显示的细节只用于举例说明和用于例示性讨论本发明的优选实施方案,呈现出来是因为我们认为这可以最有助于很容易理解本发明的原理和概念方面的描述。因此,没有尝试显示比根本理解本发明所必需更详细的本发明的结构细节,附图说明使技术人员清楚如何在实践中实施本发明的几种形式。

[0109] 在图中:

[0110] 图 1 是一个本发明实施方案的例示性复合纤维状结构的概略图,显示密集的原纤维芯和其中可包裹生物活性剂的生物可降解多孔涂层;

[0111] 图 2 是本发明实施方案的复合结构的标准彩色照片,显示复合物的纤维状结构;

[0112] 图 3 是说明呈各种拉伸比(3:1-8:1)函数的各种净纤维的应力-应变曲线的比较图,显示全部纤维都具有约 5%应变的弹性极限,和各种纤维不同的最终拉伸性极限和屈服点;

[0113] 图 4a-c 是说明呈拉伸比函数的各种净纤维的屈服强度(图 4a)、极限抗拉强度(图 4a)、最大应变(图 4b)和杨氏模量(图 4c),显示随着拉伸比增加,屈服强度、极限强度和杨氏模量增加,最大应变降低;

[0114] 图 5 是本发明实施方案的例示性复合纤维状结构横截面的扫描电子显微照片,该结构由 PLLA 制备芯纤维和 75/25PDLGA 制备的多孔涂层组成,显示芯与涂层之间的紧密接触,芯的实体密度不同于涂层的多孔微结构;

[0115] 图 6a-i 是本发明实施方案包裹着酶(HRP)的例示性复合纤维状结构横截面的一组 SEM 显微照片,显示聚合物含量和 HRP 负荷对有机相:水相比率(v/v)为 4:1 的涂层微结构的影响,其中涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 1% (w/w) HRP 负荷的乳液制备(图 6a),涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 5% (w/w) HRP 负荷的乳液制备(图 6b),涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 10% (w/w) HRP 负荷的乳液制备(图 6c),涂层用具有 15% (w/w) 聚合物含量和 1% (w/w) HRP 负荷的乳液制备(图 6d),涂层用具有 15% (w/v)

聚合物含量和 5% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 6e),涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 10% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 6f),涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 1% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 6g),涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 5% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 6h),涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 10% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 6i);

[0116] 图 7a-d 是本发明实施方案例示性复合纤维状结构横截面的一组 SEM 显微照片,显示聚合物含量和 HRP 负荷对有机相:水相比率 (v/v) 为 8 : 1 的多孔涂层微结构的影响,其中多孔涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 0% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 7a),多孔涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 5% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 7b),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 7c),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 5% (w/w)HRP 负荷的乳液制备 (图 7d);

[0117] 图 8a-i 是本发明实施方案例示性复合纤维状结构横截面的一组 SEM 显微照片,显示聚合物含量与乳液相比率 (0 : A) 对 5% (w/w)HRP 负荷的多孔涂层微结构的影响,其中多孔涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 4 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8a),多孔涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 8 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8b),多孔涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 16 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8c),多孔涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 4 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8d),多孔涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 8 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8e),多孔涂层用具有 15% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 16 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8f),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 4 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8g),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 8 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8h),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 16 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 8i);

[0118] 图 9a-d 是本发明实施方案例示性复合纤维状结构外表面的一组 SEM 显微照片,显示聚合物含量与乳液相比率 (0 : A) 对 5% (w/w)HR 负荷的多孔涂层微结构的影响,其中多孔涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 8 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 9a),多孔涂层用具有 13% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 16 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 9b),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 8 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 9c),多孔涂层用具有 19% (w/v) 聚合物含量和 0 : A 为 16 : 1 (v/v) 的乳液制备 (图 9d);

[0119] 图 10 是证明本发明实施方案例示性复合纤维状结构累积体外释放 HRP 的比较图,作为不同 HRP 含量 (白色符号代表 1% w/w,黑色符号代表 5% w/w,灰色符号代表 10% w/w) 的函数和作为不同聚合物含量 (方形代表 13% w/v,圆形代表 15% w/v,三角形代表 19% w/v) 的函数,有机相:水相比率恒定为 4 : 1;

[0120] 图 11 是证明在 90 天实验中前 30 天的本发明实施方案例示性复合纤维状结构中 HRP 释放速率的条形图,复合结构由具有 15% w/v 聚合物含量的乳液制备,作为各种 HRP 负荷 (白色条代表 1% w/v,灰色条代表 5% w/v,黑色条代表 10%) 的函数;

[0121] 图 12a-c 是证明具有 13% w/v (图 12a)、15% w/v (图 12b) 和 19% w/v (图 12c) 聚合物含量的本发明实施方案例示性复合纤维状结构中 HRP 的累积体外释放曲线的比较图,作为有机相:水相比率 (黑色三角形代表 4 : 1 比率,白色方形代表 8 : 1 比率,灰色圆形代表 16 : 1 比率) 的函数,HRP 负荷恒定为 5% w/w。

[0122] 图 13 是比较图,显示涂有标准参考乳液的预处理尼龙原纤维芯的拉伸应力-应变曲线,标准参考乳液含 17.5% w/v 聚合物(在有机溶液中)、1.43% w/w 紫杉醇(相对于聚合物负荷),有机相:水相(O:A)比率为 2:1v/v,其中曲线“1”相应于表面预处理的尼龙原纤维芯、考虑总直径的曲线“2”相应于涂有所述标准参考乳液的尼龙原纤维芯,考虑有效直径的曲线“3”相应于涂有所述标准参考乳液的尼龙原纤维芯;

[0123] 图 14a-d 是具有尼龙芯和装载紫杉醇的生物可降解多孔涂层的本发明优选实施方案的例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的概略图(图 14a),和纤维状复合结构各种放大倍数的 SEM 断面组织照片(图 14b-d),复合结构包含直径在 170-190 μm 范围的尼龙芯和厚度为 30-60 μm 的多孔涂层,多孔涂层用含 17.5% w/v 聚合物(有机溶液中)、1.43% w/w 紫杉醇(相对于聚合物负荷),有机相:水相(O:A)比率为 2:1v/v 的乳液制备;

[0124] 图 15a-d 是本发明优选实施方案各种例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的涂层微结构的一组 SEM 断面组织照片,所述结构各自具有尼龙芯和用含 17.5% w/v 聚合物、1.43% w/w 紫杉醇且 O:A 相比率为 2:1 的乳液制备的涂层(图 15a);用含 15% w/v 聚合物、1.43% w/w 紫杉醇且 O:A 相比率为 2:1 的乳液制备的涂层(图 15b);用含 17.5% w/v 聚合物、2.9% w/w 紫杉醇且 O:A 相比率为 2:1 的乳液制备的涂层(图 15c);用包含 17.5% w/v 聚合物、1.43% w/w 紫杉醇且 O:A 相比率为 4:1 的乳液制备的涂层(图 15d);

[0125] 图 16a-c 是证明例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的涂层微结构的一组 SEM 断面组织照片,所述结构各自具有尼龙芯和用不含表面活性剂的乳液制备的涂层(图 16a)、用含 1% w/w pluronic[®] 的乳液制备的涂层(图 16b)和用含 1% w/v PVA 的乳液制备的涂层(图 16c);

[0126] 图 17 是显示紫杉醇从例示性纤维状复合结构的多孔涂层释放的累积图,复合结构具有尼龙芯和用含有 17.5% w/v 聚合物(有机溶液中)、1.43% w/w 紫杉醇(相对于聚合物负荷)且有机相:水相(O:A)比率为 2:1v/v 的乳液制备的涂层,经过四个月时间的测量,显示释放的紫杉醇量,显示以 mg 为单位的量以及由负荷量中释放的紫杉醇百分数;

[0127] 图 18 是例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构多孔涂层的紫杉醇释放曲线的比较图,所述结构具有尼龙芯和用低速(蓝色菱形标记)、中速(紫红色方形标记)和高速(绿色三角形标记)匀化的乳液制备的多孔涂层,显示乳液匀化速率对药物释放速率的影响;

[0128] 图 19 是显示本发明优选实施方案例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构多孔涂层的紫杉醇释放曲线的比较图,所述结构具有尼龙芯和用含 15% w/v(蓝色方形标记)、17.5% w/v(紫红色圆形标记)和 22.5% w/v(绿色三角形标记)聚合物含量的乳液制备的多孔涂层;

[0129] 图 20 是显示本发明优选实施方案例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构多孔涂层的紫杉醇释放曲线的比较图,所述结构具有尼龙芯和用含有 0.7% w/w(红色菱形标记)、1.4% w/w(紫红色圆形标记)、2.9% w/w(蓝色三角形标记)和 7.1% w/w(青色方形标记)药物含量的乳液制备的多孔涂层;

[0130] 图 21 是显示本发明优选实施方案例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构多孔涂层的紫杉醇释放曲线的比较图,所述结构具有尼龙芯和用具有 4:1v/v(紫红色方形标记)和 2:1v/v(绿色菱形标记)有机相:水相比率(O:A 比)的乳液制备的多孔涂层;

[0131] 图 22 是显示本发明优选实施例示性紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的药物释放曲线的比较图,所述结构具有尼龙芯和用不含表面活性剂的乳液(紫红色方形标记)、含 1% pluronic®的乳液(蓝色三角形标记)和含 1% PVA 的乳液(黑色菱形标记)制备的多孔涂层;

[0132] 图 23a-e 是五组比较图及其平均误,显示乳液组成对纤维状复合结构的预测 HRP 释放曲线(蓝色曲线)与实验释放曲线(红色曲线)比较结果的影响,所述结构具有生物可降解的芯(计算时不考虑)和多孔涂层,多孔涂层用含有 O : A 比为 8 : 1 和 15% w/v 聚合物含量(图 23a)、O : A 比为 8 : 1 和 19% w/v 聚合物含量(图 23b)、O : A 比为 16 : 1 和 13% w/v 聚合物含量(图 23c)、O : A 比为 16 : 1 和 15% w/v 聚合物含量(图 23d)以及 O : A 比为 16 : 1 和 19% w/v 聚合物含量(图 23e)的乳液制备;

[0133] 图 24 是用三种类型 75/25 PDLGA 聚合物(数据采用 Wu 等文献)制备的纤维涂层的标化降解速率的比较图,其中绿色曲线代表具有 160kDa 分子量的聚合物的降解速率、蓝色曲线代表 100kDa 聚合物的降解速率、红色曲线代表 40kDa PDLGA 聚合物的降解速率;

[0134] 图 25a-e 是显示聚合物初始平均分子量对纤维状复合结构的预测 HRP 释放曲线影响的五组比较图,所述结构具有用具有 40kDa 分子量(红色曲线)、100kDa 分子量(蓝色曲线)和 160kDa 分子量(绿色曲线)的三种类型 75/25 PDLGA 聚合物制备的芯,和用 O : A 比为 8 : 1 且聚合物含量为 15% w/v 的乳液(图 25a)、O : A 比为 8 : 1 且聚合物含量为 19% w/v 的乳液(图 25b)、O : A 比为 16 : 1 且聚合物含量为 13% w/v 的乳液(图 25c)、O : A 比为 16 : 1 且聚合物含量为 15% w/v 的乳液(图 25d)以及 O : A 比为 16 : 1 且聚合物含量为 19% w/v 的乳液(图 25e)制备的涂层;

[0135] 图 26a-b 是显示生物活性剂分子量对其预测释放曲线的影响的两组比较图,用纤维状复合结构的涂层释放具有分子量为 22kDa(红色曲线)、44kDa(蓝色曲线)和 160kDa(绿色曲线)的三种模型蛋白,所述结构用 5% w/w 蛋白质含量、19% w/v 聚合物含量并具有 8 : 1 的 O : A 比(图 26a)以及 16 : 1 的 O : A 比(图 26b)的乳液制备。

[0136] 优选实施方案的描述

[0137] 本发明是新的复合结构和制备该结构的工艺,所述结构可用作各种医疗器械及其它制品的基本结构元件。特别是,本发明是设计用于能够包裹生物活性剂同时保留生物活性剂活性和所需结构力学性能的复合纤维状结构。还将复合结构设计用于以所需预定释放速率释放包裹其中的生物活性剂。复合结构可有利地用于构成各种医疗器械如伤口敷料、支架和组织再生装置。

[0138] 参考各图和附加描述可更好地理解本发明的原理和操作。

[0139] 在详细解释至少一个本发明实施方案之前,应理解本发明的应用不限于以下描述或实施例举例说明列出的细节。本发明可以具有其它实施方案或可以各种方法实施或开展。而且,应理解本文所用措辞和术语是为了描述的目的,不应视为限制性。

[0140] 如上所述,组织再生领域,通常是医疗器械特别是植入性医疗器械,需要开发可满足现代医学实践和研究需要的合适材料及其制备的结构元件。通常要求这些结构元件用生物可降解材料制备,在降解过程之前和之后都无毒且性质温和(也就是说具有无毒性温和的分解产物)。通常还要求这些结构元件包含和可控制地释放实现所需影响和具体装置活性必需的生物活性剂,预防外来植入物可能产生的有害作用并辅助愈合过程。这些结构

元件还应优选具有足够力学强度和柔韧性的特征。

[0141] 如上所述,纤维非常适合构成此类元件。然而,目前已知利用结构元件作为药物递送系统的方法因为需要在不利条件下制备这些结构而受到限制,所述条件一方面对加入的活性剂活性和 / 或控制释放具有不利作用,另一方面对结构的力学强度和柔韧性的控制下降。

[0142] 在研究构造可有效用作药物递送系统的结构元件的新技术时,本发明者已经设计和成功地实施一种新方法,该方法可以制备能够包裹和可控制地释放生物活性剂的纤维状复合结构,同时兼具纤维需要的力学性能且不影响生物活性剂的生物活性。

[0143] 通过该方法得到的纤维状结构以芯 / 涂层复合结构为基础,换言之,以亚成分组成的系统为基础,各种亚成分通过不同方法制备,具有不同特性。更具体来讲,本发明者设计的系统由原纤维芯和覆盖芯的涂层组成,原纤维芯可用常规方法制备,提供具有所需力学性能的结构,涂层在能够保留可任选加入其中或其上的生物活性剂活性的温和条件下制备并涂在芯上。本发明者还显示在制备这些结构时通过改变某些参数,可精细控制这些结构的性能,例如力学性能如强度、多孔性、稳定性和柔韧性以及生物活性剂的负荷和释放曲线。

[0144] 如以下实施例部分的证明和举例,本发明者已成功地将用常规制备方法制备可用作复合纤维状结构的芯的生物可降解聚合物纤维,并成功地将用生物可降解聚合物制备并含有生物活性剂(如辣根过氧化物酶,HRP)的多孔聚合物涂层涂在其上。本发明者还成功地将用尼龙制备的缝线作为原纤维芯,其上涂有用生物可降解聚合物制备并含有生物活性剂(如合成药物,紫杉醇)的多孔涂层。

[0145] 复合纤维状结构的原纤维芯具备所需力学性能,而多孔涂层具备包含和可控制地释放生物活性剂的能力。监测各种复合纤维中每种生物活性剂的释放速率,测定涂层制剂的几种参数对释放曲线的作用。

[0146] 因此,根据本发明一方面,提供包含原纤维芯和涂布至少部分原纤维芯的聚合物涂层的复合结构。设计复合结构使其能够将一种或多种生物活性剂包裹在涂层中或涂层上,同时保留这些药物的生物活性。还可设计复合结构使其能够以预定释放速率释放包裹在涂层中或其上的一种或多种生物活性剂。

[0147] 根据本发明的优选实施方案,复合结构呈纤维状。

[0148] 用于本文的术语“纤维”描述一类与线相似的结构元件,由连续的细丝和 / 或分离的延长的片段组成。

[0149] 纤维通常用于制备其它结构,纺成较厚纤维、线或条索(rope)或者编成片(sheet)或网(mesh)和更庞大的结构。纤维可从天然来源如植物、动物和矿物来源获得,或者可用天然存在和 / 或合成的物质人造成。天然纤维的实例包括棉花、亚麻布、黄麻、亚麻、苧麻、剑麻和大麻、蜘蛛丝、肌腱、毛发、羊毛和石棉(唯一天然存在的矿物纤维)。人造成纤维的实例包括纤维玻璃、人造丝、乙酸酯、纱线(modal)、铜铵(cupro)、溶解性纤维(lyocell)、尼龙、聚酯、丙烯酸聚合物纤维、聚丙烯腈纤维和碳纤维。

[0150] 术语“原纤维”描述小的、细长和精细的纤维或细丝,通常具有微米等级的微尺寸。

[0151] 术语“纤维状”用于本文描述材料或结构的纤维样形状和结构。

[0152] 因此本文提出的纤维状复合结构包括两种结构元件:原纤维芯和涂层,整个结构

采用原纤维芯的形状。

[0153] 图 1 是本发明优选实施方案例示性复合结构的概略图。如图 1 显示,纤维状结构由原纤维芯和多孔涂层组成;其中多孔涂层可包裹或以其他方式截留生物活性剂。原纤维芯可以是例如上文描述的任何天然或合成纤维。

[0154] 因此原纤维芯可用天然或合成聚合物材料、元素材料、金属物质及其任何组合制备。因此,例如原纤维芯可以是金属原纤维芯,用例如不锈钢、铂等的金属制备;用碳、硅等制备的元素原纤维芯;或者用有机和/或无机聚合物制备的聚合物原纤维芯。

[0155] 用例如不锈钢制备的金属原纤维芯可用于需要高力学强度和耐用性的用途。具有不锈钢原纤维芯的本文所述复合结构的例示性应用是支架。

[0156] 根据本发明的优选实施方案,原纤维芯是用聚合物材料制备的聚合物原纤维芯。聚合物原纤维芯可以被降解或不可降解,如下文详细描述。

[0157] 因此,根据本发明的优选实施方案,复合结构包括用生物可降解或不可降解聚合物和/或生物可降解或不可生物降解共聚物制备的聚合物原纤维芯。

[0158] 原纤维芯是承载复合物大部分力学性能的部分,已经通过用于得到具有所需力学性能的纤维的确定完善的技术制备。这些力学性能通常用抗拉强度和弹性模量(也称为杨氏模量)表示,如下文定义的这些词组。

[0159] 原纤维芯的强度和柔韧性主要取决于如原纤维芯构成纤维的厚度、其化学组成(即聚合物或用于形成纤维的其它材料)及其制备条件等参数。通过控制这些参数,可得到原纤维芯的所需特性。

[0160] 因此,例如因为芯的厚度直接影响复合结构的强度和柔韧性,所以可以选择适合复合结构特殊用途的构成本文所述结构的芯的厚度。例如,某些整形外科植入物是大块单元,需要具备高强度和耐用性,以便承受体重和运动,而用于眼部手术、某些纳米大小整形外科植入物和用于神经细胞再生装置的缝线通常需要具备最精巧和纤细的形式。

[0161] 因此,原纤维芯的直径可在约 $1\text{ }\mu\text{m}$ –约 $1000\text{ }\mu\text{m}$ 范围,有时还可更高,达到 1cm 。在设计结构用于构成如大块整形外科植入物的情况下,优选约 $500\text{ }\mu\text{m}$ –约 $1000\text{ }\mu\text{m}$ 或更大直径的厚纤维。在需要精巧和纤细结构的情况下,原纤维芯直径优选 $1\text{ }\mu\text{m}$ – $100\text{ }\mu\text{m}$ 。

[0162] 多数情况下,优选包含具有约 $50\text{ }\mu\text{m}$ –约 $300\text{ }\mu\text{m}$ 范围、优选约 $200\text{ }\mu\text{m}$ 直径的原纤维芯的结构。

[0163] 用于本文的术语“约”指 $\pm 10\%$ 。

[0164] 杨氏模量(也称为弹性的模量或弹性模量)是确定指定物质的纤维的刚度的数值。根据胡克定律,纤维的应变与施加其上的应力成比例,因此两者的比率是常用于表示物质弹性的常数。杨氏模量是张力或拉伸应力的弹性模量,是材料每单位横截面的力除以纤维伸展引起的长度增加分数。通过在纤维样品上进行张力试验得到的应力–应变曲线的斜率可从实验中确定杨氏模量,以每单位面积的力单位即帕斯卡(Pa)、兆帕斯卡(MPa)或千兆帕斯卡(GPa)(牛顿/平方米(N/m^2)或达因/平方厘米)表示。

[0165] 词组“抗拉强度”用于本文描述指定材料的纤维在断裂之前可经受的拉伸应力的最大量。在杨氏模量的情况下,可通过应力–应变曲线从实验中确定抗拉强度,以每单位面积的力单位(牛顿/平方米(N/m^2))或帕斯卡(Pa)表示。

[0166] 因此,根据本发明的优选实施方案,原纤维芯的特征在于至少 100MPa 的抗拉强

度。根据本发明的其它优选实施方案,原纤维芯的特征在于更高抗拉强度,如高于 200Mpa、高于 300Mpa、高于 400Mpa、高于 500Mpa,甚至高于 750Mpa 或高于 1Gpa。

[0167] 还可控制原纤维芯的柔韧性以便提供具有所需延展性的所得结构。在一些情况下需要结构具有高柔韧性和柔顺度(如支架、缝线等),而在其它情况下需要更坚硬的结构(如骨和关节植入物等)。

[0168] 因此,根据本发明的优选实施方案,原纤维芯的特征在于 3Gpa 和高于 3Gpa 的弹性(杨氏)模量,因此可具有如弹性(杨氏)模量高于 4Gpa,甚至高于或等于 5Gpa 的特征。可以例如在拉伸纤维时确定所需弹性,如下文详细描述。

[0169] 总之,本文提出的复合结构中原纤维芯的特征在于力学强度、弹性及典型纤维的其它特性。在制备构成结构芯的纤维的工艺中,通过调节化学组成(选择组成原纤维芯的聚合物或任何其它物质)和制备方法(纺丝和拉丝法)可以精细地控制这些特征,因此可赋予纤维几乎任何特定特征以适合任何特殊用途。

[0170] 因此可定制用作复合结构原纤维芯的纤维,以便提供具有所需特性的复合物,根据其预期用途选择。所以可在制备纤维的同时控制其特征。或者,可用市售获得或其它方式获得的纤维作为本文所述复合结构的原纤维芯。可直接利用此类纤维或在使用前进行表面处理。

[0171] 此类市售获得的纤维实例之一是缝线。缝线可用作其中需要高力学强度的本发明实施方案的原纤维芯。

[0172] 将原纤维芯加入本文所述复合结构内不削弱原纤维芯的特性或对原纤维芯的特性产生不利影响。

[0173] 如上所述,在本发明优选实施方案中,原纤维芯是聚合物原纤维芯。如上文的其它描述,涂布原纤维芯的涂层还是聚合物涂层。

[0174] 术语“聚合物”用于本文包括有机和无机聚合物,还包括一种或多种聚合物、共聚物或其混合物(共混物)。

[0175] 虽然任何聚合物、共聚物或者聚合物和/或共聚物的混合物都可用于制备本文所述结构的芯和涂层,但根据本发明的优选实施方案,涂层由生物可降解聚合物组成。

[0176] 术语“生物可降解的”用于本发明正文,描述可在生理和/或环境条件下分解成分解产物的材料。此类生理和/或环境条件包括例如水解(通过水解裂开分解)、酶催化(酶降解)和力学相互作用。该术语通常指在这些条件下分解的物质,以致在短于 1 年的时间内有 50%重量的物质分解。

[0177] 术语“生物可降解的”用于本发明正文还包括术语“生物可再吸收”,描述在生理条件下分解的物质分解成经过生物再吸收后进入宿主有机体的产物,即成为宿主有机体生化系统的代谢物。

[0178] 将生物可降解涂层加入本文所述复合结构中,例如,当涂层暴露于生理条件下时,释放可能包裹在涂层内的生物活性剂。

[0179] 还根据本发明的优选实施方案,芯可以生物降解或不可降解。

[0180] 用于本文时,术语“不可降解的”描述在生理和/或环境条件下不发生降解的物质。该术语通常指在这些条件下分解的物质,在至少 1 年、优选 2 年、3 年、4 年、至多 10 年和甚至 20 或 50 年内超过 50%物质不分解。

[0181] 含有不可降解的芯的结构可用于例如需要可维持至少部分框架的用途。

[0182] 适合用作本发明正文的原纤维芯的例示性不可降解聚合物是尼龙。如以下实施例部分提出,用预处理的尼龙缝线纤维制备不可生物降解的芯,成功地用多孔涂层涂布,同时维持其物理、化学和力学性能。

[0183] 在需要整个结构随时间降解的情况下需要含生物可降解芯的结构。

[0184] 在芯和涂层都可生物降解的实施方案中,各自分别由第一和第二生物可降解聚合物组成。

[0185] 本发明实施方案的优选生物可降解聚合物是无毒和温和的聚合物。更优选生物可降解聚合物是生物可再吸收聚合物,分解成无毒和温和的分解产物,吸收在主体的生化系统中。

[0186] 适合用作分别构成本文所述复合结构的芯和涂层的第一和第二生物可降解聚合物的生物可降解聚合物的非限制性实例包括同聚物和共聚物,如由乙交酯(乙醇酸)、丙交酯(乳酸)、己内酯、对二氧杂环己酮、三亚甲基碳酸酯、羟基丁酸酯、羟基戊酸酯组成的脂族聚酯,由天然和改性氨基酸组成的多肽,由天然和改性糖组成的聚醚,聚酯肽(polydepsipeptide)、生物可降解尼龙-聚酰胺共聚物、聚二氢吡喃、聚磷腈、聚(原酸酯)、聚(丙烯酸氰基酯)、聚酞及其任何组合。

[0187] 根据本发明的优选实施方案,生物可降解聚合物是脂族聚酯,如聚(乙醇酸)、聚(乳酸)、聚二氧杂环己酮(PDS)、聚(琥珀酸亚烷基酯)、聚(羟基丁酸酯)、聚(二乙醇酸亚丁基酯)、聚(ϵ -己内酯)及其共聚物、共混物和混合物。

[0188] 发现适合用于本发明正文的例示性脂族聚酯包括聚(L-乳酸)、聚(乙醇酸)和/或其共聚物如DL-乳酸-乙醇酸共聚物。

[0189] 根据本发明的优选实施方案,聚合物原纤维芯由聚(L-乳酸)组成。

[0190] 根据本发明的另一个优选实施方案,聚合物涂层由DL-乳酸-乙醇酸共聚物组成。适合用于本发明正文的例示性DL-乳酸-乙醇酸共聚物具有分别为75重量百分数:25重量百分数的DL-乳酸:乙醇酸比率。然而,调整共聚物中乳酸:乙醇酸比率可影响涂层的化学和物理特性。因此,例如用乙醇酸含量较高(如50:50乳酸:乙醇酸比率)的聚合物产生孔径较小的聚合物多孔涂层,而用乳酸含量较高(如聚(乳酸))的聚合物则产生孔径较大的聚合物多孔涂层。

[0191] 根据本发明实施方案,聚合物涂层可通过在原纤维芯表面上形成层而部分或优选完全覆盖原纤维芯。该层可以是沿着芯原纤维一侧分布的连续层、多个分离片段和/或其组合,或者形成完全沿原纤维芯长轴并完全包绕其圆周包围原纤维芯的完整涂层。

[0192] 可定制涂层厚度以适合复合结构所用的任何具体用途。例如,对于长时间药物递送,需要大的药物贮库,因此优选相对厚的涂层。还需要相对厚的涂层包裹大的生物活性剂如病毒外壳和细胞,而截留局部分布的需要量小的较小药物分子可使用相对薄的涂层。因此,涂在本发明实施方案原纤维芯上的涂层厚度可在约10 μ m-约2000微米范围,有时甚至可高至1cm。

[0193] 还根据芯厚度、结构的芯-涂层比率和整个结构的所需厚度选择涂层的厚度。

[0194] 根据本发明的优选实施方案,涂层具有多孔微结构。用于本文时,术语“多孔”指实体材料的连贯性,所述材料如泡沫、海绵状实体材料或者埋入和随机分散在实体物内的

多泡的泡囊块。

[0195] 多孔聚合物涂层非常有益,因为它允许控制地释放包裹其中的药物。在本发明正文中,可将多孔性或孔隙度(涂层微结构)视为三个标准的组合,即孔的密度、平均孔径(直径)和曲折度(说明多少孔互相连接以便在涂层实体部分内形成连续空隙)。曲折度与孔密度和平均孔径相关,因为孔的相互连接或分离取决于其大小和密度。

[0196] 如上文的详细描述,指定用于医疗目的(如构成用于组织再生过程的医疗器械)的适当设计的结构元件,需要具备某些力学性能(如抗拉强度和弹性)和化学特性(如生物可降解性和非毒性)。在许多情况下,需要结构元件具有包含并可控制地将生物学和药理学活性剂(本文总称为生物活性剂)释放至其生理环境的能力,从而充当药物递送系统。

[0197] 设计的本发明复合结构的涂层能够将一种或多种生物活性剂包裹、截留或包围其中。

[0198] 特别是,设计的本发明实施方案的复合结构能够将一种或多种生物活性剂包裹在涂层(空隙或孔)内。或者/此外,可将生物活性剂附着于涂层内表面、涂在涂层外表面和/或包裹在聚合物涂层本身内部。

[0199] 而且,在本发明一些实施方案中,可用本领域已知的方法将生物活性剂加入生物可降解原纤维芯中或其上,尽管清楚与此类加入方法有关的局限性,如上文描述。将生物活性剂包裹在本文所述复合结构原纤维芯内允许延迟释放生物活性剂。

[0200] 因此,本发明实施方案的各复合结构还可包含一种或多种生物活性剂。可将生物活性剂包裹在本文所述聚合物涂层内部或者附着于聚合物涂层或其上,和/或可包裹在本文所述原纤维芯中。

[0201] 而且,设计本发明实施方案的复合结构以便包裹生物活性剂的同时保留生物活性剂至少部分或优选大部分或全部活性。因此,一旦涂层、芯和/或用于连接芯与涂层的结合物生物降解,使得生物活性剂释放至生理环境,这些药物即可发挥其生物活性和/或治疗作用。

[0202] 释放过程依赖于降解过程并受其控制,降解过程又是通过酶降解、化学降解或者通过生理环境中的其它代谢反应在体内和体外进行。首先降解的是复合纤维外表面,在大多数情况下,当涂层形成完整包膜时,暴露于生理环境时涂层将首先降解。随着涂层降解和消耗并且孔逐渐暴露于生理环境,包裹在涂层内的生物活性剂被释放。

[0203] 因此在复合结构的制备工艺中,通过调节构成涂层的生物可降解聚合物的组成,复合结构的大小、长度和直径,涂层厚度,孔的大小和密度,以及包裹在涂层内或涂在其上的生物活性剂的量,可控制涂层释放生物活性剂的释放过程。测试这些属性对两种例示性生物活性剂即活性酶(HRP)和小分子药物(紫杉醇)由例示性复合结构中的释放曲线的影响,如以下实施例部分证明和举例,在下文进一步详细描述。

[0204] 还可通过加入可控制和改变构成芯和/或涂层的聚合物的生物降解速率的物质控制涂层和/或芯的生物降解。因此,根据本发明实施方案,生物可降解涂层和/或生物可降解原纤维芯还包括生物降解促进剂。

[0205] 生物降解促进剂通过提供所需化学条件如 pH、离子强度、高活性和很容易活化的物质种类和酶辅因子加速化学和/或生物化学降解过程。生物降解促进剂的非限制性实例包括磷酸纤维素、磷酸淀粉、磷酸氢钙、磷酸三钙和磷酸钙氢氧化物。

[0206] 用于本文时,词组“生物活性剂”描述发挥一种或多种生物学和 / 或药理学活性的分子、化合物、络合物、加合物和 / 或复合物。因此,可将生物活性剂用于例如促进伤口愈合、组织再生、肿瘤根治和 / 或预防、缓解或治疗各种疾病。

[0207] “生物活性剂”、“药理学活性剂”、“药理学活性材料”、“治疗活性剂”、“生物学活性剂”、“治疗剂”、“药物”及其它相关术语在本文互换使用,包括如基因治疗剂、非基因治疗剂和细胞。用于本发明的生物活性剂可单独或联合使用。术语“生物活性剂”在本发明正文中还包括可用于放疗的放射性物质,其中用此类物质破坏有害组织如局部区域的肿瘤,或者抑制健康组织的生长,如当前的支架应用;或者作为生物标记用于核医学和放射成像。

[0208] 生物活性剂可以是亲水生物活性剂或疏水生物活性剂。

[0209] 术语“亲水”用于本文描述使分子至少部分地可溶于水、水溶液和 / 或其它极性溶剂中的分子或分子部分的性质。词组“至少部分”指该物质可完全溶于此类溶剂中,或者在水、水溶液和 / 或其它极性溶剂中达到其最大饱和度,同时物质的剩余部分在溶剂中处于小固体颗粒的混悬液形式。因此亲水剂通常是水溶性剂,其中分子在水、水溶液和极性溶剂中的溶解度高于其在油、有机溶剂及其它非极性溶剂中的溶解度。术语“亲水”在本文使用和定义,还包括两亲性 (amphiphilic) 或双亲性 (amphiphatic) 试剂,其特征分子至少一部分亲水,从而使分子可以 (至少一定程度) 溶解于水和水溶液中。

[0210] 术语“两亲性”或“双亲性”用于本文指分子既具有亲水又具有疏水性能的性质,即具有离子或非离子的极性区也具有非极性区。

[0211] 例示性亲水物质包括但不限于具有一个或多个带电荷的或极性的基团的化合物,所述带电荷的或极性的基团如一个或多个羧基 (如有机酸)、一个或多个羟基 (如醇)、一个或多个氨基 (如伯胺、仲胺、叔胺和季胺) 及其任何组合。此类基团存在于例如肽和糖中,存在于许多其它天然存在和合成物质中。

[0212] 与带电荷的或极性的基团一起,两亲物质还包含非极性部分如疏水物质中的那些部分,如下文限定。两亲分子的例示类型包括但不限于阴离子分子 (如十二烷基硫酸钠)、阳离子分子 (如苯扎氯铵)、两性离子分子 (如椰油酰胺丙基甜菜碱) 和非离子分子 (如辛醇)。

[0213] 可有益地加入本文所述涂层内的亲水和 / 或两亲生物活性剂的典型实例包括但不限于氨基酸以及基于肽和蛋白质的物质,如细胞因子、趋化因子、化学引诱剂、化学推进剂、激动剂、拮抗剂、抗体、抗原、酶、辅因子、生长因子、半抗原、激素和毒素;核苷酸物质,如 DNA、RNA、寡核苷酸、标记寡核苷酸、核酸构件和反义核苷酸;糖、多糖、磷脂、糖脂、病毒和细胞,以及亲水或双亲性放射性同位素、放射性药物、类固醇、维生素、血管生成促进剂、药物、抗组胺药、抗生素、抗抑郁药、抗高血压药、抗炎剂、抗氧化剂、抗增殖剂、抗病毒剂、化疗剂、辅因子、胆固醇、脂肪酸、胆酸、皂苷、激素、抑制剂和配体及其任何组合。

[0214] 术语“疏水”用于本文指非极性的分子或分子部分的性质,因此与带电荷的和极性的分子不可混溶,在非极性溶剂中具有明显高于其在水及其它极性溶剂中的溶解度的溶解度。词组“溶解”指物质完全溶解在这些溶剂中,或者其中物质在非极性溶剂中达到其最大饱和浓度且物质剩余部分在溶剂中呈小固体颗粒混悬液形式的情况。在水中,疏水分子通常簇拥一起形成块状物、附聚物、聚集物或在水的一个表面 (如底部或顶部) 上形成层状物。例示性疏水物质包括但不限于含一个或多个烷基的物质如油和脂肪,或者含一个或多

个芳族基团的物质如聚芳族化合物。

[0215] 可有益地加入本文所述涂层内的疏水生物活性剂的典型实例包括但不限于下列药物：抗凝剂、他汀类、激素、类固醇、脂质、抗生素、抗原、抗抑郁药、抗高血压剂、抗炎剂、抗氧化剂、抗增殖剂、抗病毒剂、化疗剂、半抗原、抑制剂、配体、放射性同位素、放射性药物、毒素及其任何组合。

[0216] 本文描述的每种亲水和疏水生物活性剂可以是生物大分子或者小的有机分子。

[0217] 术语“大生物分子”用于本文指天然存在于活生物体内的聚合物生物化学物质或者生物聚合物。聚合物大生物分子主要是有机化合物，即它们主要由碳和氢组成，还有氮、氧、磷和硫，虽然可将其它元素加入其中，但出现率低。氨基酸和核酸是聚合物大生物分子最重要的一些构造单元，所以大生物分子通常由一种或多种聚合氨基酸、聚合核酸、聚合糖类、聚合脂质及其组合组成。大分子可包含几种大分子亚单元的络合物，其相互之间可以共价或非共价连接。因此，核糖体、细胞器和甚至完整病毒都可视为大生物分子。

[0218] 用于本文的大生物分子具有高于 1000 道尔顿 (Da) 的分子量，可以高于 3000Da、高于 5000Da、高于 10kDa 且甚至高于 50kDa。

[0219] 可有益地加入本文所述涂层内的大生物分子的典型实例包括但不限于肽、多肽、蛋白质、酶、抗体、寡核苷酸和标记寡核苷酸、核酸构件、DNA、RNA、反义核苷酸、多糖、病毒及其任何组合，以及细胞，包括完整细胞或其它亚细胞成分和细胞碎片。

[0220] 用于本文时，词组“小有机分子”或“小有机化合物”指主要由碳和氢与氮、氧、磷和硫以及少量的其它元素一起组成的小化合物。有机分子构成整个生命世界和全部合成制备的有机化合物，因此它们包括全部天然代谢物和人造药物。在本发明正文中，关于化合物、试剂或分子的术语“小”指分子量低于约 1000 克每摩尔。因此，小有机分子具有低于 1000Da、低于 500Da、低于 300Da 或低于 100Da 的分子量。

[0221] 可有益地加入本文所述涂层内的小有机分子的典型实例包括但不限于血管生成促进剂、细胞因子、趋化因子、化学引诱剂、化学推进剂、药物、激动剂、氨基酸、拮抗剂、抗组胺药、抗生素、抗原、抗抑郁药、抗高血压剂、抗炎剂、抗氧化剂、抗增殖剂、抗病毒剂、化疗剂、辅因子、脂肪酸、生长因子、半抗原、激素、抑制剂、配体、糖、放射性同位素、放射性药物、类固醇、毒素、维生素及其任何组合。

[0222] 可包裹在本发明实施方案复合结构涂层中的一类生物活性剂是促进血管生成的治疗剂种类。新组织的成功再生需要建立血管网。血管生成的诱导由多种因子介导，其中任何一种都可与本发明联合使用 (Folkman 和 Klagsbrun, 1987 以及本文引用的文献，其各自通过引用全部结合到本文中)。

[0223] 血管生成促进剂的非限制性实例包括血管内皮生长因子 (VEGF) 或血管渗透因子 (VPF)；成纤维细胞生长因子家族成员，包括酸性成纤维细胞生长因子 (AFGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)；白介素 -8 (IL-8)；表皮生长因子 (EGF)；血小板衍生生长因子 (PDGF) 或血小板衍生内皮细胞生长因子 (PD-ECGF)；转化生长因子 α 和 β (TGF- α , TGF- β)；肿瘤坏死因子 α (TNF- β)；肝细胞生长因子 (HGF)；粒细胞 - 巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)；胰岛素生长因子 -1 (IGF-1)；血管生成因子；促血管素；以及纤维蛋白和烟酰胺。

[0224] 可加入本发明实施方案（特别是在涉及组织再生、植入性装置和愈合的某些实施

方案中)的复合结构涂层内的另一类重要的生物活性剂是细胞因子、趋化因子和相关因子。当免疫系统发挥主要作用时,控制这些因子即为成功的医疗过程。细胞因子是几种小的非抗体调节蛋白质分子的任何一种,如白介素和淋巴因子,通过接触特异性抗原由免疫系统群的细胞释放,在产生免疫反应时充当细胞间介质。细胞因子是免疫系统细胞之间、这些细胞与属于其它组织类型的细胞之间沟通的核心。有许多已知对淋巴细胞和免疫反应都具有刺激和抑制作用的细胞因子。它们通过与其细胞特异性受体结合发挥作用。这些受体位于细胞膜中,各自允许不同的信号转导级联在细胞内启动,最终将导致靶细胞生物化学和表型的改变。通常,细胞因子的受体也是酪氨酸激酶。

[0225] 细胞因子和趋化因子的非限制性实例包括血管生成因子、降钙素、ECGF、EGF、E-选择素、L-选择素、FGF、碱性 FGF、G-CSF、GM-CSF、GRO、水蛭素、ICAM-1、IFN、IFN- γ 、IGF-I、IGF-II、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、M-CSF、MIF、MIP-1、MIP-1 α 、MIP-1 β 、NGF 链、NT-3、PDGF- α 、PDGF- β 、PECAM、RANTES、TGF- α 、TGF- β 、TNF- α 、TNF- β 、TNF- κ 和 VCAM-1。

[0226] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的生物活性剂还包括聚合物(大生物分子,如蛋白质、酶)和非聚合物(小分子治疗剂)活性剂,包括 Ca²⁺通道阻滞剂、5-羟色胺途径调节剂、环核苷酸途径剂、儿茶酚胺调节剂、内皮素受体拮抗剂、氧化亚氮供体/释放分子、麻醉剂、ACE 抑制剂、ATII-受体拮抗剂、血小板粘附抑制剂、血小板聚集抑制剂、凝血途径调节剂、环氧合酶途径抑制剂、天然和合成皮质类固醇、脂氧合酶途径抑制剂、白三烯受体拮抗剂、E-和 P-选择素拮抗剂、VCAM-1 与 ICAM-1 相互作用抑制剂、前列腺素及其类似物、巨噬细胞活化预防剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、鱼油和 ω -3-脂肪酸、游离基清除剂/抗氧化剂、影响各种生长因子的药物(包括 FGF 途径剂、PDGF 受体拮抗剂、IGF 途径剂、TGF- β 途径剂、EGF 途径剂、TNF- α 途径剂、血栓烷 A2[TXA2] 途径调节剂和蛋白质酪氨酸激酶抑制剂)、MMP 途径抑制剂、细胞运动抑制剂、抗炎剂、抗增殖/抗肿瘤剂、基质沉积/组成途径抑制剂、内皮化加速剂、血液流变学调节剂,以及整合素、趋化因子、细胞因子和生长因子。

[0227] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括细胞毒性因子或细胞周期抑制剂,包括 CD 抑制剂,如 p53、胸苷激酶(“TK”)及其它有助于妨碍细胞增殖的药物。

[0228] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括基因治疗剂和蛋白质,如核酶、反义多核苷酸和编码特殊产物(包括重组核酸)的多核苷酸如基因组 DNA、cDNA 或 RNA。可提供“裸”式多核苷酸,或者联合增强多核苷酸的吸收和表达的载体系统提供多核苷酸。这些可包括 DNA 压缩剂(如组蛋白)、非感染性载体(如质粒、脂质、脂质体、阳离子聚合物和阳离子脂质)和病毒载体如病毒和病毒样颗粒(即产生病毒样作用的合成颗粒)。载体还可具有连接的肽靶向序列、反义核酸(DNA 和 RNA)和 DNA 嵌合体,其包括编码渡口蛋白的基因序列如膜转移序列(“MTS”)、代替缺陷或不足的内源性分子的 tRNA 或 rRNA 以及单纯疱疹病毒-1(“VP22”)。

[0229] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括基因递送剂,可以内源或外源控制。内源控制的实例包括对生理信号如缺氧或血糖升高敏感的促进剂。外源控制系统包括通过给予小分子药物控制的基因表达。实例包括四环素、多西环素、

蜕皮素及其类似物、RU486、化学二聚体如雷帕霉素及其类似物等。

[0230] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括骨形态发生蛋白 (“BMP”) 家族如 BMP-2、BMP-3、BMP-4、BMP-5、BMP-6 (Vgr-1)、BMP-7 (OP-1)、BMP-8、BMP-9、BMP-10、BMP-11、BMP-12、BMP-13、BMP-14、BMP-15 和 BMP-16。这些二聚体蛋白其中一些可提供为同二聚体、杂二聚体或其组合,单独或与其它分子一起提供。或者 / 另外,可提供能够诱导 BMP 上游或下游作用的分子。此类分子包括任何“刺猬”蛋白或其编码 DNA。

[0231] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括细胞存活分子如 Akt、胰岛素样生长因子 1、NF- κ B 圈套 (decoy)、I- κ B、Madh6、Smad6 和 Apo A-1。

[0232] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括病毒和非病毒载体,如腺病毒、容易消化的 (gutted) 腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒、 α 病毒 (Semliki Forest, Sindbis 等)、慢病毒、单纯疱疹病毒、离体 (ex vivo) 改性细胞 (即干细胞、成纤维细胞、肌原细胞、卫星细胞、周细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞、巨噬细胞等)、可复制性病毒 (ONYX-015 等) 和杂合载体、人工染色体和微染色体、质粒 DNA 载体 (pCOR)、阳离子聚合物 (聚乙烯亚胺、聚乙烯亚胺 (PEI) 移植共聚物如聚醚-PEI 和聚环氧乙烷-PEI、天然聚合物 PVP、SP1017 (SUPRATEK)、脂质或脂质体复合物 (lipoplex)、具有或不具有靶序列如蛋白转导域 (PTD) 的纳米微粒和微粒。

[0233] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括化疗剂。化疗剂的非限制性实例包括含氨基化疗剂,如柔红霉素、多柔比星、N-(5,5-二乙酰氧基戊基)多柔比星、蒽环类、丝裂霉素 C、丝裂霉素 A、9-氨基喜树碱、氨基蝶呤、放线菌素、N⁸-乙酰基亚精胺 (acetyl spermidine)、1-(2-氯乙基)-1,2-二甲磺酰肼、博来霉素、他利霉素及其衍生物;含羟基化疗剂,如依托泊苷、喜树碱、依立替康、托泊替康、9-氨基喜树碱、紫杉醇、多西紫杉醇、埃斯培拉霉素、1,8-二羟基-双环 [7.3.1] 十三-4-烯-2,6-二炔-13-酮、蛇形菌素、吗啉代-多柔比星、长春新碱和长春碱及其衍生物;含巯基化疗剂和含羧基化疗剂。

[0234] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括抗生素。抗生素的非限制性实例包括过氧苯甲酰、羟甲辛吡酮、红霉素、锌、四环素、三氯生、壬二酸及其衍生物、苯氧基乙醇和苯氧基丙醇、乙酸乙酯、克林霉素和甲氯环素;sebastats 如黄酮类; α 和 β 羟酸;和胆酸盐,如硫酸鲨胆固醇及其衍生物、脱氧胆酸盐和胆酸盐。

[0235] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括非类固醇抗炎剂。非类固醇抗炎剂的非限制性实例包括昔康类,如吡罗昔康、伊索昔康、替诺昔康和舒多昔康和 CP-14,304;水杨酸盐,如阿司匹林、双水杨酸酯、贝诺酯、三柳胆镁、痛热宁、solprin、二氟尼酸和芬度柳;乙酸衍生物,如双氯芬酸、芬氯酸、吲哚美辛、舒林酸、托美汀、伊索克酸、呋罗芬酸、硫平酸、齐多美辛、阿西美辛、芬替酸、佐美酸、clindanac、奥昔平酸、联苯乙酸和酮咯酸;灭酸酯类,如甲灭酸、甲氯灭酸、氟芬那酸、尼氟灭酸和托芬那酸;丙酸衍生物,如布洛芬、萘普生、苯噻洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、非诺洛芬、芬布芬、indopropfen、吡洛芬、卡洛芬、奥沙普嗪、普拉洛芬、咪洛芬、硫噻洛芬、舒洛芬、阿明洛芬和噻洛芬酸;吡唑类,如保泰松、羟布宗、非普拉宗、阿扎丙宗和三甲保泰松。

[0236] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括类固醇抗炎药物。类固醇抗炎药物的非限制性实例包括但不限于皮质类固醇,如氢化可的松、羟基曲

安西龙、 α -甲基地塞米松、磷酸地塞米松、二丙酸倍氯米松、戊酸氯氟美松、地奈德、去氧米松、乙酸脱氧皮质酮、地塞米松、二氯松、二乙酸二氟松、戊酸二氟米松、fludrenolone、氟氯奈德、氟氢可的松、新戊酸二氟美松、氟西奈德、氟轻松、flucortine 丁酯、氟可龙、乙酸氟泼尼定（氟泼尼定）、氟羟可舒松、哈西奈德、乙酸氢化可的松、丁酸氢化可的松、甲泼尼龙、曲安奈德、可的松、可托多松、flucetonide、氟氢可的松、二乙酸二氟松、fluradrenolone、氟氢可的松、二乙酸二氟松、fluradrenoloneacetone、甲羟松、安西非特、安西非特、倍他米松及其酯的平衡、氯泼尼松、乙酸氯泼尼松、氯可托龙、clescinalone、二氯松、二氟泼尼酯、氟二氯松、氟尼缩松、氟米龙、氟培龙、氟泼尼龙、戊酸氢化可的松、环戊丙酸氢化可的松、氢可他酯、甲泼尼松、帕拉米松、泼尼松龙、泼尼松、二丙酸倍氯米松、曲安西龙及其混合物。

[0237] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括抗氧化剂。抗氧化剂的非限制性实例包括抗坏血酸（维生素 C）及其盐、脂肪酸的抗坏血酸酯、抗坏血酸衍生物（如抗坏血酸磷酸镁、抗坏血酸磷酸钠、抗坏血酸山梨酸酯）、生育酚（维生素 E）、山梨酸生育酚、乙酸生育酚、其它生育酚酯、丁羟苯甲酸及其盐、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色满-2-羧酸（市售获得的商标为 Trolox[®]）、没食子酸及其烷基酯（特别是没食子酸丙酯）、尿酸及其盐和烷基酯、抗坏血酸及其盐、硫辛酸、胺（如 N,N-二乙基羟胺、氨基-胍）、巯基化合物（如谷胱甘肽）、二羟延胡索酸及其盐、氧脯氨酸甜菜碱（lycine pidolate）、氧脯氨酸精氨酸（arginine pidolate）、去甲二氢愈创木酸、生物类黄酮、姜黄、赖氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、超氧化物歧化酶、水飞蓟素、茶提取物、葡萄皮/籽提取物、黑色素和迷迭香提取物。

[0238] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括维生素。维生素的非限制性实例包括维生素 A 及其类似物和衍生物：视黄醇、视黄醛、棕榈酸视黄酯、视黄酸、维甲酸、异维甲酸（合称为类视黄醇）、维生素 E（生育酚及其衍生物）、维生素 C（L-抗坏血酸及其酯和其它衍生物）、维生素 B₃（烟酰胺及其衍生物）、 α -羟酸（如乙醇酸、乳酸、酒石酸、苹果酸、枸橼酸等）和 β -羟酸（如水杨酸等）。

[0239] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括激素。激素的非限制性实例包括雄激素化合物和孕激素化合物，如甲睾酮、雄酮、乙酸雄酮、丙酸雄酮、苯甲酸雄酮、雄酮二醇（androsteronediol）、雄酮二醇-3-乙酸酯、雄酮二醇-17-乙酸酯、雄酮二醇-3-17-二乙酸酯、雄酮二醇-17-苯甲酸酯、雄酮二酮（androsteronedione）、雄烯二酮、雄烯二醇、脱氢表雄酮、硫酸脱氢表雄酮钠、屈他雄酮、丙酸屈他雄酮、乙雌烯醇、氟甲睾酮、苯丙酸诺龙、癸酸诺龙、呋喃丙酸诺龙、环己烷丙酸诺龙、苯甲酸诺龙、环己烷羧酸诺龙、雄酮二醇-3-乙酸酯-1-7-苯甲酸酯、氧雄龙、羟甲烯龙、司坦唑醇、睾酮、癸酸睾酮、4-二氢睾酮、5 α -二氢睾酮、睾内酯、17 α -甲基-19-去甲睾酮及其药学上可接受的酯和盐以及上述任何组合、去氧孕烯、地屈孕酮、二乙酸炔诺醇、甲羟孕酮、左炔诺孕酮、乙酸甲羟孕酮、己酸羟孕酮、炔诺酮、乙酸炔诺酮、异炔诺酮、烯丙雌醇、19-去甲睾酮、炔雌烯醇、醋炔醚、美屈孕酮、诺孕烯酮、地美炔酮、炔孕酮、乙酸环丙氯地孕酮、乙酸氯地孕酮、乙酸甲地孕酮、诺孕酯、炔诺孕酮、脱氧炔诺酮、曲美孕酮、孕二烯酮、乙酸诺美孕酮、孕酮、5 α -孕-3 β , 20 α -二醇硫酸酯、5 α -孕-3 β , 20 β -二醇磷酸酯、5 α -孕-3 β -醇-20-酮、16, 5 α -孕烯-3 β -醇-20-酮、4-孕烯-20 β -醇-3-酮-20-硫酸酯、乙酸孕烯醇酮、乙酸

阿那孕酮、环丙孕酮、二氢孕酮、乙酸氟孕酮、孕二烯酮、乙酸羟孕酮、羟甲孕酮、乙酸羟甲孕酮、3-酮基去氧孕烯、甲地孕酮、乙酸美仑孕酮、炔诺酮及其混合物。

[0240] 可有益地加入本发明实施方案复合结构涂层内的其它生物活性剂包括人来源的细胞（自体或异体）包括干细胞，或来自动物来源（异源性），如果需要递送感兴趣的蛋白质可进行基因工程。细胞类型包括骨髓基质细胞、内皮祖细胞、包括心肌细胞如前心肌细胞、心肌细胞在内的肌源性细胞、成肌细胞如骨骼肌成肌细胞、成纤维细胞、干细胞（如间质细胞、造血细胞、神经元细胞等）、多向干细胞、巨噬细胞、卫星细胞等。适合实施本发明的细胞还包括直接使用的活检样品（如全部骨髓）或其部分（如骨髓基质、分离白细胞的骨髓分段分离）。在适当时，可根据需要配制培养液，包括在本发明纤维的制备工艺中，以维持细胞功能和活力。如本文描述，优选使细胞附着于涂层表面或者通过应用具有直径为至少 $100\ \mu\text{m}$ 或更大的大孔的涂层，可将细胞加入涂层内。

[0241] 如上所述，涂层的多孔性（微结构）是确定生物活性剂从中的释放曲线的关键因素，多孔性由平均孔径（直径）及其密度限定，还反应各孔相互连接的水平。

[0242] 一般而言，根据本发明的优选实施方案，涂层多孔性以平均孔径表征，平均孔径可在 $0.001\ \mu\text{m}(1\text{nm})$ – $1000\ \mu\text{m}(1\text{mm})$ 范围，孔密度可在每涂层体积约 50% 空隙体积–每涂层体积约 95% 空隙体积范围，优选每涂层体积约 70% 空隙体积–每涂层体积约 95% 空隙体积，更优选每涂层体积约 80% 空隙体积–每涂层体积约 95% 空隙体积。

[0243] 几种因素影响所得孔径和密度，包括加入涂层内的生物活性剂的性质和涂层的制备工艺。

[0244] 涂层的微结构明显影响所加入的生物活性剂的释放速率。根据本发明实施方案，可以精细地控制多孔涂层的平均孔径和密度，以便获得适合特殊用途的被包裹药物特别理想的释放曲线。反过来，生物活性剂的性质即其溶于水和其它水溶液中的能力影响涂层微结构。

[0245] 而且，尽管下文提出的涂层制备工艺不受任何具体理论的约束，但采取将疏水生物活性剂加入涂层的实体壁，而亲水和两亲物质将加入孔中或加至孔的内壁上。因此，当引入基本为水性的生理介质时，溶剂一进入构成孔的空隙，亲水物质就暴露于溶剂（水），因此在孔暴露于生理介质时将立即释放。另一方面，位于涂层实体聚合物壁内部的疏水生物活性剂将根据实体聚合物的表面积释放，其释放速率不超过实体聚合物的降解速率。

[0246] 当设计形成本文复合结构的生物活性剂的释放曲线时，必须考虑复合结构一旦暴露于宿主介质就将发生的所需的突破速率 (burst rate) 和最初突破之后的扩散控制的释放速率。可通过涂层的多孔性控制这些释放阶段，多孔性决定暴露于介质的表面积和详细的涂层微结构。

[0247] 例如，在各孔基本互联的情况下，一旦涂层暴露于水性介质，将全部释放假定加在孔内壁上的亲水生物活性剂。为了降低此突破程度和允许以更延长和稳定的状态释放活性剂，各孔应当分离，以便只有当实体聚合物壁降解后，每个孔内部的空隙才暴露于介质。

[0248] 另一方面，如果大表面积的聚合物同时暴露于介质，可能突然释放位于涂层实体聚合物部分内的疏水生物活性剂，因此包含疏水剂的复合结构的多孔性优选呈现互相连接的孔，以便允许介质渗入涂层深部，更有效地进行其降解。

[0249] 无论其水溶性如何，相对大的生物活性剂如病毒、细胞器或细胞将需要与其大小

相配的合适孔径。因此,在大生物活性剂的情况下,多孔性将具有大孔径的特征。

[0250] 因此,例如设计用于包裹亲水/两亲(水溶性)生物活性剂的多孔涂层具有约 1nm-约 50 μm 范围的优选平均孔径,每涂层体积约 70%空隙体积-每涂层体积约 90%空隙体积范围的优选密度,和/或分离的孔。

[0251] 设计用于包裹疏水(水不溶性)生物活性剂的多孔涂层具有约 1nm-约 200 μm 范围的优选平均孔径,每涂层体积约 80%空隙体积-每涂层体积约 95%空隙体积范围的密度,和/或互相连接的孔。

[0252] 在被包裹物质包含大的大生物分子、其组装体、细胞器或完整细胞的情况下,优选具有约 50 μm -约 500 μm 范围和更大平均孔径的较大的孔。

[0253] 如下文详述和随后实施例部分的进一步证明,通过在本文复合结构的制备工艺中改变某些参数和使用添加剂及其它力学和动力学因子(促成最终涂层微结构),针对多种治疗及其它用途利用这种机动性,可以调节多孔性以适合几乎任何生物活性剂。

[0254] 可促成最终涂层微结构的一类添加剂包括表面活性剂或表面活性试剂,如下文限定。如以下实施例部分证明,在涂层材料的制备阶段添加表面活性剂影响其多孔性,有时是涂层形成所必需。对表面活性剂的需要与生物活性剂性质即其是否疏水密切相关。疏水生物活性剂和亲水生物活性剂可能不有助于涂层前体的稳定性,而在大多数情况下可充当表面活性剂的两亲生物活性剂将不需要使用另外的表面活性剂。

[0255] 除了生物活性剂之外,涂层还可包含可以改善生物活性剂性能的添加剂。这些包括如穿透增强剂、保湿剂、螯合剂、防腐剂、闭塞剂、软化剂、渗透增强剂和抗刺激剂。这些物质可包裹在多孔涂层的孔内或可掺杂在形成涂层的聚合物内。

[0256] 保湿剂的典型实例包括但不限于胍、乙醇酸和乙醇酸盐(如铵盐和烷基季铵盐)、任何一种形式的芦荟(如芦荟凝胶)、尿囊素、尿嘧啶唑、多元醇(如山梨醇、甘油、己三醇、丙二醇、丁二醇、己二醇等)、聚乙二醇、糖和淀粉、糖和淀粉衍生物(如烷氧基化葡萄糖)、透明质酸、乳酰胺单乙醇胺、乙酰胺单乙醇胺及其任何组合。

[0257] 螯合剂的非限制性实例包括乙二胺四乙酸(EDTA)、EDTA 衍生物或其任何组合。

[0258] 闭塞剂的非限制性实例包括凡士林、矿物油、蜂蜡、硅油、羊毛脂和油溶性羊毛脂衍生物、饱和和不饱和脂肪醇如山萿醇、烃如角鲨烷,和各种动物和植物油如杏仁油、花生油、麦胚芽油、亚麻子油、荷荷芭油、杏油、核桃油、棕榈果油、阿月浑子果油、芝麻油、油菜籽油、杜松油、玉米油、桃核油、罂粟籽油、松油、蓖麻油、大豆油、鳄梨油、红花油、椰子油、榛子油、橄榄油、葡萄籽油和葵花子油。

[0259] 软化剂的非限制性实例包括十二烷、角鲨烷、胆固醇、异十六烷、异壬酸异壬酯、PPG 醚、凡士林、羊毛脂、红花油、蓖麻油、椰子油、棉籽油、棕榈仁油、棕榈油、花生油、大豆油、多元醇羧酸酯及其衍生物和混合物。

[0260] 穿透增强剂的非限制性实例包括二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、尿囊素、尿嘧啶唑、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、癸甲基亚砜(C_{10}MSO)、单月桂酸聚乙二醇酯(PEGML)、丙二醇(PG)、单月桂酸丙二醇酯(PGML)、单月桂酸甘油酯(GML)、卵磷脂、1位-取代的氮杂环庚-2-酮,特别是 1-n-十二烷基环氮杂环庚-2-酮(市售商标 **Azone^{RTM}**,来自 Whitby Research Incorporated, Richmond, Va.)、醇类等。渗透增强剂还可以是植物油。此类油包括如红花油、棉籽油和玉米油。

[0261] 抗刺激剂的非限制性实例包括类固醇和非类固醇抗炎剂或其它材料,如芦荟、甘菊、 α -没药醇、可乐提取物、绿茶提取物、茶树油、甘草提取物、尿囊素、咖啡因或其它黄嘌呤类、甘草酸及其衍生物。

[0262] 防腐剂的非限制性实例包括一种或多种烷醇、EDTA(乙二胺四乙酸)二钠、EDTA盐、EDTA脂肪酸共轭物、异噻唑啉酮、对羟苯甲酸酯如对羟苯甲酸甲酯和对羟苯甲酸丙酯、丙二醇、山梨酸酯、脲衍生物如 diazolidinyl urea 或其任何组合。当需要包裹以下生物活性剂时 本发明实施方案的复合结构特别有用,所述生物活性剂需要精细地处理和操作,如果暴露于如加热、有害物质和溶剂和 / 或其它有害条件等条件下不能保留其生物学和 / 或治疗活性。此类生物活性剂包括如肽、多肽、蛋白质、氨基酸、多糖、生长因子、激素、抗血管生成剂、干扰素或细胞因子、细胞和前药。

[0263] 选择装在复合结构中的生物活性剂的量优选足够发挥所需治疗或生物学作用。因此生物活性剂的有效量取决于使用的具体药物,还可取决于所得结构的所需用途。因此,例如在生物活性剂是生长激素的情况下,需要用微量活性剂即可发挥有效治疗。在生物活性剂是蛋白质或肽的情况下,需要中量活性剂。在生物活性剂是具有高代谢更新速率的代谢物或化学药物的情况下,通常需要较大量生物活性剂。

[0264] 因此,在生物活性剂是生物分子如肽的情况下,生物活性剂在复合结构中的量可占涂层总重量的约 0.00001 重量百分数 - 约 50 重量百分数范围,优选占涂层总重量的约 0.1 重量百分数 - 约 30 重量百分数范围,更优选占涂层总重量的约 1 重量百分数 - 约 20 重量百分数且更优选约 1 重量百分数 - 约 10 重量百分数。如上所述,对于生物活性剂如生长因子,在复合结构中的量为涂层总重量的约 0.00001- 约 0.0001% 时,足够发挥所需活性,而对于生物活性剂如合成药物,优选在复合结构中的量为涂层总重量的约 1- 约 30%。如以下实施例部分显示,将活性酶(蛋白质 HRP) 和小的疏水有机药物分子(紫杉醇)以占涂层总重量约 0.00001- 约 10% 范围的量加入复合结构的涂层中。

[0265] 如以下实施例部分证明,成功地制备了复合结构,其中含有所述相对量的 HRP 和聚合物,HRP 和聚合物构成涂层,同时,保留了 95% 酶活性并可控制地释放该酶。然而,应理解可用更低或更高的量完成其它各种生物活性剂的有效加入和释放。

[0266] 生物活性剂的量还影响其释放速率,特别是在生物活性剂包裹在孔隙内的情况下(亲水 / 双亲性试剂),因为存在扩散相关因素。因此,还可根据其所需释放速率控制生物活性剂的量。

[0267] 还可将本文所述各种复合结构用于形成更大、更复杂的元件。例如,可以通过组装多种本文所述复合结构或者将一种或多种这些复合结构与其它纤维或结构组装,形成此类元件。例如,可以通过将大量纤维和 / 或复合物拈纺成条索、将大量纤维和 / 或复合物编织成网、将大量纤维和 / 或复合物铺成片并按顺序使用上述几种技术以形成越来越复杂的元件,从而实现这种组装。

[0268] 因此,根据本发明的其它方面,提供包含单独的或与其它纤维和 / 或复合物合并的一种或多种本文所述复合结构的纤维状组合物。组合物可采用例如条索、网或片形式。或者组合物可以是三维结构。

[0269] 由于能够以控制方式递送生物活性剂,所以用本发明复合结构制备的网和片可以有利地用于伤口敷料、皮肤贴剂及其它医疗用途,如下文详细讨论。

[0270] 为了制备本文描述的复合结构,特别是具有所需力学性能等特性并能包含生物活性剂、同时保留其活性且可控制地释放这些活性剂的此类结构,本发明者已经开发了独特工艺。

[0271] 因此,根据本发明的另一方面提供制备本文所述复合结构的工艺。该工艺如下完成:提供纤维或原纤维;提供含水溶液和有机溶液的乳液,所述有机溶液含第二聚合物;使纤维与乳液接触,从而得到至少部分纤维上涂有乳液层的纤维;将其上有涂层的纤维冷冻干燥。

[0272] 构成本发明实施方案复合结构原纤维芯的纤维可以为天然或合成来源,不需要进一步操作或制备过程,或者对其进行表面处理,即可供使用。

[0273] 或者,充当本发明实施方案复合结构原纤维芯的纤维可以用常规纤维纺丝技术制备。此类技术包括如溶液纺丝、电纺丝、湿法纺丝、干法纺丝、熔体纺丝和凝胶纺丝。每种纺丝法都赋予所得纤维特定的物理大小和力学性能,可以根据所得复合结构的所需用途进行调配,以得到所需特征。

[0274] 简言之,纤维纺丝技术通常涉及喷丝头的使用。大体而言,这些与浴室淋浴头相似,可具有一百至几百个小洞(hole)。随着细丝或粗纤维从喷丝头的小洞出现,将溶解或液化的聚合物首先转化为橡胶样状态然后固化。将“无尽的”粗纤维挤出和固化的工艺称为纺丝,不能与将短纤维的短片段扭曲成纱丝的相同名称的织物操作混淆。

[0275] 优选一种或多种本文称为第一聚合物的聚合物制备纤维。此类聚合物纤维可以例如通过下文详细描述纤维纺丝工艺制备。非聚合物纤维可以例如通过熔体纺丝制备。

[0276] 湿法纺丝用于已经溶于溶剂中的纤维成形物质。将喷丝头浸在化学浴中,随着细丝出现,它们从溶液中沉淀和固化。因为溶液被直接挤入沉淀液体中,所以这种制备纤维的工艺称为湿法纺丝。通过这种工艺可制备如丙烯酸、人造丝、芳族聚酰胺、改性聚丙烯腈和氨纶等纤维。

[0277] 干法纺丝也可用于溶液中的纤维成形物质,但是,通过在空气流或惰性气体中蒸发溶剂完成固化,而不是通过稀释或化学反应使聚合物沉淀。细丝与沉淀液体不接触,不需要干燥且便于回收溶剂。该工艺可用于制备乙酸酯、三乙酸酯、丙烯酸、改性聚丙烯腈、PBI、氨纶和维纶。

[0278] 在熔体纺丝中,使纤维成形物质熔化,从喷丝头挤出,然后粗纤维直接冷却固化。从喷丝头挤出的熔化纺丝粗纤维的横断面可呈不同形状(圆形、三叶形、五角形、八角形等)。尼龙(聚酰胺)、烯烃、聚酯、莎纶和萨尔法尔(sulfar)以这种方式制备。

[0279] 凝胶纺丝是获得高强度或其它特殊纤维特性的特殊工艺。在挤压时聚合物不处于真正的液体状态。聚合物链以液晶形式在不同点结合在一起,而不是像真溶液中那样完全分离。这在所得细丝中产生强大的链间力,可明显增加纤维抗拉强度。此外,挤压时通过剪切力使液晶沿纤维轴对齐。细丝相互之间出现不同寻常的高度定向,增加其强度。该工艺也可描述为干-湿法纺丝,因为细丝首先穿过空气,然后在液体浴中再冷却。一些高强度聚乙烯和芳族聚酰胺纤维通过凝胶纺丝制备。

[0280] 本发明复合结构的原纤维芯优选通过熔体纺丝或凝胶纺丝制备。最优选原纤维芯用熔体纺丝制备。

[0281] 电纺丝是用于形成非常纤细的纤维的工艺。在这种工艺中,将纤维从粘稠聚合物

溶液中拉出,或者通过对溶液小滴(通常在金属针头的尖端)施加电场使其熔化。电场将该小滴拉成圆锥形结构。如果适当调配溶液的粘度和表面张力,可避免肿胀破碎(varicose breakup)而不达到电喷雾,并形成稳定连续的液体聚合物射流。曲折的倾向导致缠绕过程(whipping process),使出现的纤维拉伸和延长,直至其直径减少至几微米或甚至几纳米,然后使纤维沉积于接地集电极线圈上。

[0282] 用溶液纺丝制备可将生物活性剂加入其中的纤维,描述于例如美国专利号 6,485,737、6,596,296 和 6,858,222,描述于具有公开号 20050106211 的美国专利申请和描述于 WO 01/10421 中,其通过引用结合到本文中,如同在本文完整列举。根据这些专利和专利申请的教导,通过将用聚合物溶液和水溶液制备的油包水乳液通过分液嘴挤入凝固浴中制备纤维。凝固浴包含与聚合物的溶剂可混溶但与水不可混溶并且是聚合物的非溶剂的溶剂。然后在干燥线圈上收集所得纤维。这些纤维虽然能够将生物活性剂截留其中,但是与由类似聚合物组成但用其它纺丝技术制备的纤维相比,最终的力学性能受到限制。

[0283] 如上所述,在本发明的一些实施方案中,复合结构是生物可降解结构,包含生物可降解芯和生物可降解涂层,各自包裹一种或多种生物活性剂。在这些情况下,含有一种或多种生物活性剂的芯纤维可用本领域描述和上文提出的任何方法制备,包括溶液纺丝,但已认识到所得纤维在力学性能和物理尺寸方面的缺陷。

[0284] 如上所述,除了生物活性剂之外,在制备芯纤维的工艺中,可将其它成分如生物降解促进剂及其它试剂加入聚合物中。

[0285] 在原纤维芯的力学性能和物理大小需要纤维可屈曲和纤细但相对坚硬的情况下,满足这些要求的最有效的纺丝技术是熔体纺丝。

[0286] 在用熔体纺丝制备本发明实施方案原纤维芯纤维的情况下,该工艺在提高的温度下进行,以便熔化纤形成物质,在其通过喷丝头挤出之前赋予合适粘度。当用聚合物如熔点为 173–178°C 的聚(L-乳酸)作为芯时,在约 50°C – 约 250°C 范围的温度、优选 190°C 温度下进行熔体纺丝。

[0287] 当固化挤压的粗纤维时,或者有时甚至在它们已经变硬之后,可拉伸粗纤维赋予其强度及其它柔韧性。当由喷丝头出现时,粗纤维几乎不具有分子定向,其轻度双折射性(双重折射,用于定量其内部分子定向度和测量分子各向异性:结晶度)是由于挤压期间建立的剪切力。

[0288] 为了通过分子定向和结晶度获得所需特性,必须拉伸新形成的粗纤维。将分子链一起拉伸并沿纤维轴定向,得到明显更强的纤维,很像揉捏(是一种拉伸生面团的形式),通过使淀粉链再定向赋予所得面条和面团类似力学性能。

[0289] 根据使用的特殊纤维成形物质,可冷拉或热拉纤维。将这些纤维拉伸至其初始长度的几倍,通过拉伸对双折射的影响,监测拉伸效应。与纤维的抗拉强度一起,随着定向增加,弹性模量明显增加。拉伸还可影响其它物理特性如密度平衡、湿度吸收、韧性和断裂延伸度。

[0290] 拉伸的程度通常用术语“拉伸比”限定,这是纤维或细丝定向工艺中伸展程度的测量指标,表示未拉伸纤维长度与拉伸纤维长度的比率。

[0291] 终产物即复合结构的所需力学性能基本由用作终产物芯的纤维的力学性能确定。因此,终产物的长度、厚度、抗拉强度和弹性模量在纺丝阶段部分地确定,在原纤维芯的拉

伸阶段最终确定。

[0292] 用作复合结构的芯的纤维的拉伸优选在提高的温度或者略高于玻璃转化温度的温度下进行,在这种温度下聚合物坚硬易碎,可能出现塑性变形和断裂。根据所用纤维成形物质确定提高的温度,在纤维由聚合物纤维如聚(L-乳酸)组成的情况下,拉伸温度优选约 30℃ – 约 130℃ 范围,更优选提高的温度是 70℃。

[0293] 以约 2 : 1– 约 10 : 1 范围的拉伸比进行拉伸,更优选以 4 : 1–8 : 1 范围的拉伸比进行拉伸。

[0294] 一旦制备或者另外提供用作本发明实施方案复合结构的芯的纤维,可将乳液层涂在纤维表面上,在其上形成涂层。如上所述,乳液层可覆盖部份纤维或整个纤维。通过将乳液喷洒、溅射或刷在纤维表面上可得到分离的斑状乳液层。通过将纤维部分浸在乳液但不将纤维完全浸在乳液中,可得到沿纤维的长且连续的乳液条纹(片状);通过将纤维完全浸在乳液中可得到完整的表面鞘。

[0295] 涂层厚度取决于乳液粘度,即乳液越粘稠,则越粘附于原纤维芯,因此所得涂层越厚。或者,可以不止一次地将原纤维芯浸在乳液中,以便形成变为较厚涂层的较厚乳液层。

[0296] 术语“乳液”用于本文描述两种不可混溶液体的混合物,通常称为相,如水相和油相。一种液体(通常称为分散相)分散于另一种(通常称为连续相)中。乳液实例包括奶、黄油和人造黄油、酱汁、生胶片光敏侧和金属工的润切液。乳液变成油包水乳液还是水包油乳液取决于两相的体积分数和所用乳化剂类型。如果不使用乳化剂或乳液稳定剂,一些乳液稳定,而其它乳液容易破坏,使两相再分离。通常,乳化剂和乳化颗粒容易促使它们不能很好溶于其中的相分散,如蛋白质容易形成水包油乳液。在奶中,连续相(水)包绕脂质和蛋白质小滴(水包油乳液),在黄油和人造黄油中,连续脂质相包绕水滴(油包水乳液)。

[0297] 术语“乳化剂”(也称为表面活性剂或其它表面活性材料)用于本文时,指使乳液稳定的物质。大部分乳化剂是两亲性或双亲性。蛋白质特别是脂蛋白是优良天然乳液稳定剂,如日常生活食品所见,如奶和黄油。卵磷脂(在蛋黄中发现)是食物乳化剂实例(在黄油中)。天然和合成来源的去污剂如磷脂是另一类表面活性剂,与油和水都结合,因此将微观有机或水滴维持在混悬液中。

[0298] 根据优选实施方案,用于形成本发明提出的复合结构多孔涂层的乳液是“油包水”或相反的乳液,其中水相小滴分散在连续有机相中。

[0299] 根据本发明的优选实施方案,通过制备两种溶液提供乳液,一种溶液是水相(水基相),另一种是有机相(油基相)。

[0300] 通过使一种或多种聚合物溶于有机溶剂中制备有机相。选择与水溶液不可混溶的有机溶剂。此类有机溶剂的实例包括但不限于氯仿、二氯甲烷、四氯化碳、二氯甲烷、二甲苯、苯、甲苯、己烷、环己烷、乙醚和二硫化碳。优选有机溶剂是与水不可混溶的氯仿,适合溶解上述优选聚合物,即生物可降解脂族共聚物,如 DL-乳酸:乙醇酸的比为约 75 重量百分数:约 25 重量百分数的 DL-乳酸-乙醇酸共聚物。根据本发明实施方案,生物可降解聚合物在有机溶剂中的含量可变化,为约 1 重量:体积百分数 – 约 50 重量:体积百分数,优选约 10 重量:体积百分数 – 约 25 重量:体积百分数。

[0301] 水相可单独包含水,或者可包含其它物质如缓冲盐、可能需要用于稳定乳液的乳化试剂(乳化剂)、表面活性剂、防静电剂、螯合剂、防腐剂、增溶剂、粘度调节剂、生物降解

促进剂、穿透增强剂及上文描述的其它添加剂、因子和药学上可接受的载体（可能为终产物功能所需，如保护或稳定生物活性剂的活性），以改善生物活性剂的性能和 / 或实施或影响其释放速率。

[0302] 根据生物活性剂的性质将其引入有机相或水相中，换言之使在有机相溶剂中可混溶的疏水生物活性剂溶解或引入有机相中，而将水溶性的亲水 / 两亲性生物活性剂引入水相内。

[0303] 生物活性剂在乳液其中一相中的存在决定其释放曲线的许多因素，如上文讨论。溶于水相的亲水 / 两亲剂将出现在分散相小滴中，然后将加至孔内壁上涂层。溶于有机相的疏水剂将出现在连续相中，然后将加入包围孔的涂层实体材料中。

[0304] 有机相或水相还可包含添加剂，例如可能需要用于稳定乳液的乳化试剂（乳化剂）、表面活性剂、防静电剂、螯合剂、防腐剂、增溶剂、粘度调节剂、生物降解促进剂、穿透增强剂及上文描述的其它添加剂。

[0305] 生物活性剂的性质可产生需要用乳化剂或表面活性剂稳定乳液的条件。例如，疏水或亲水生物活性剂可改变两相之间的相对表面张力，以致它们不再形成稳定的乳液。使用乳化剂（表面活性剂，表面活性试剂）可恢复适合形成稳定乳液的相对表面张力。

[0306] 两亲生物活性剂因为其稳定乳液的固有能力而形成独特基团，来源于其内在表面活性。蛋白质是还可促成乳液稳定的生物活性剂实例。

[0307] 适用于制备本发明实施方案乳液的缓冲盐包括但不限于枸橼酸盐缓冲液、乙酸 / 乙酸钠缓冲液和磷酸 / 磷酸钠缓冲液。

[0308] 适用于制备本发明实施方案乳液的乳化剂包括但不限于植物衍生物，如阿拉伯胶、西黄蓍胶、琼脂、果胶、角叉菜胶和卵磷脂；动物衍生物，如明胶、羊毛脂和胆固醇；半合成剂，如甲基纤维素和羧甲基纤维素；和合成剂，如 **Carbopols[®]**。其它乳化剂包括乙二醇和聚乙二醇、甘油和聚甘油、山梨酸酯和聚山梨酸酯、异硬脂酸脱水山梨醇酯、油酸脱水山梨醇酯、倍半油酸脱水山梨醇酯、三油酸脱水山梨醇酯、烷基胺和烷基酰胺，及其酯、盐和混合物。

[0309] 用于本文时，在本文也可与“表面活性试剂”互换使用的术语“表面活性剂”描述能够改变其所溶解于其中的液体的界面张力的物质。

[0310] 适用于制备本发明实施方案乳液的表面活性剂包括阴离子、非离子、两性、阳离子和两性离子表面活性试剂。通常，表面活性剂可包括基于脂肪酸的表面活性剂；基于多肽的表面活性剂，如蛋白质、糖蛋白及其它改性多肽；和多羟基表面活性剂。特别适合的表面活性剂包括但不限于氧化乙烯 (EO) 和氧化丙烯 (PO) 的三嵌段共聚物 (PEO-PPE-PEO)、聚(乙烯醇) (PVA)、谷氨酸酰基酯、牛磺酸酰基酯、N- 烷酰基肌氨酸酯、烷基烷氧基硫酸酯、烷基酰氨基丙基甜菜碱、烷基 芳基磺酸酯、烷基胺氧化物、烷基甜菜碱、碳酸烷基酯、烷基羧基甘氨酸酯、烷基醚羧酸酯、烷基醚磷酸酯、烷基醚硫酸酯、烷基醚磺酸酯、烷基甘油醚硫酸酯、甘氨酸烷基酯、磷酸烷基酯、琥珀酸烷基酯、硫酸烷基酯、磺基琥珀酸烷基酯、烷基硫酸铵、月桂基硫酸铵，及其衍生物、酯、盐和混合物。

[0311] 合适的增溶剂包括但不限于丙二醇、1,3- 丙二醇、聚乙二醇、乙醇、丙醇、甘油、二甲基亚砷、己二醇、碳酸丙烯酯，及其衍生物、盐和混合物。

[0312] 合适的粘度调节剂包括但不限于卡波姆、聚乙二醇、聚丙二醇、二甲苯磺酸

钠、尿素、阿伯拉胶、醇、聚氧乙烯月桂基醚硫酸铵、聚氧乙烯十四烷基醚硫酸铵、两性-12(amphoteric-12)、两性(amphoteric-7)、膨润土、丁二醇、纤维素胶、羟乙基纤维素、甲基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、鲸蜡醇等。

[0313] 可加入水溶液和 / 或有机溶剂中的其它添加剂实例如上文所示。

[0314] 如上所述,在制备其中将一种或多种生物活性剂包含在涂层内的复合结构时,上文描述的乳液包含生物活性剂。生物活性剂可在有机相和 / 或水相中,取决于其溶解度、稳定性和其它特征以及所得结构的所需特性。

[0315] 因此,例如使水溶性生物活性剂如蛋白质、肽、生长因子等溶于水相中。在这些情况下,油包水乳液将得到其中将生物活性剂包裹在涂层孔内的聚合物涂层。如上所述,需要分离的孔来延长释放生物活性剂。

[0316] 使水不溶性生物活性剂如细胞毒性药物溶于有机相中。在这些情况下,油包水乳液将得到其中将生物活性剂包裹在构成涂层的聚合物内的聚合物涂层。如上所述,需要大量和相对小而且互联的孔,以便通过最大暴露的表面积完成生物活性剂的有效释放。

[0317] 本发明的范围还包括包在孔内的水溶性生物活性剂与包在构成涂层的聚合物中的水不溶性生物活性剂的组合。

[0318] 当包含生物活性剂时,优选在不损害生物活性剂的温度下制备水相,否则将危害其活性。优选水相温度保持低于 37℃。同样,使制备水溶液的其它参数如 pH、盐度及其它化学和物理参数保持在保护生物活性剂活性的水平。

[0319] 当有机相包含生物活性剂时,优选选择不影响活性剂活性的溶剂制备有机相。

[0320] 一旦制备或提供了两种溶液即有机溶液 / 相和水溶液 / 相,即以预定比率混合两种溶液,从而获得其混合物。

[0321] 如以下实施例部分证明,乳液中水相与有机相之间的比率可影响所得结构的特性,以及被包裹生物活性剂的释放曲线。

[0322] 根据本发明的优选实施方案,混合物中水溶液与有机溶液的比率可在约 1 份有机溶液 :1 份水溶液 - 约 20 份有机溶液 :1 份水溶液范围。有机溶液 : 水溶液的优选比率取决于终产物的特殊要求及其预期用途。

[0323] 一旦获得混合物,即进行乳化过程,从而得到乳液。用机械搅拌器、混合器或匀浆器进行本领域任何技术人员都熟知的乳化过程,直至达到所需一致性。

[0324] 乳化混合的速率(能量输入)和时间很大程度上决定涂层中所得孔的大小。延长时间的快速混合(通常用匀浆器)将得到多孔涂层中非常精细的孔。在生物活性剂溶于有机相且需要纳米大小的孔的情况下通常优选如此快速的混合,如上文详述。

[0325] 如上所述,在生物活性剂的水溶性有限或不溶于水的情况下,将包含该生物活性剂的相是有机(连续)相。在这种情况下,可用水相引入其它成分如缓冲剂、乳化剂、表面活性剂、防静电剂、螯合剂、增溶剂、粘度调节剂、生物降解促进剂和穿透增强剂。在这些情况下,由聚合物中的水滴形成的孔可能非常小,将通过增加生物可降解聚合物涂层表面积加速生物降解过程。

[0326] 当包含生物活性剂时,在不损害生物活性剂的温度下进行乳化,否则将危害其活性。优选在低于 37℃ 的温度下进行乳化。同样,将乳化过程的其它力学参数保持在保留生物活性剂活性的水平。

[0327] 如上所述,将所得乳液涂在纤维上以便在其上形成乳液层。一旦纤维被乳液完全或部分覆盖,即将纤维冷冻干燥,以便固化乳液,得到本发明的最终复合结构。

[0328] 词组“冷冻干燥”(也称为冻干)用于本文是通常用于保护易腐蚀性材料或者使该材料更便于转运、递送和贮存的脱水工艺。通过将材料深度冷冻完成冷冻干燥,通常在液氮中快速冷冻,然后减小周围压力,允许材料中的冷冻溶剂(通常是水和有机溶剂)从固相直接升华为气体,在冷凝器或冷阱上固化。冷的冷凝室和/或冷凝板提供表面,供蒸汽在其上再固化。这些表面的温度必须低于正在干燥的材料表面的温度,否则蒸汽将不迁移至收集器内。这种水收集的冰的温度通常低于 -50°C 。结果是明显减少的水含量抑制了通常破坏或降解物质的微生物和酶的作用,明显降低氧化及其它自发化学降解过程的速率。

[0329] 如果密封冷冻干燥的物质预防湿度再吸收,可不需冷藏,而将物质贮存在室温下,长期保存不发生变质。冷冻干燥与涉及较高温度的其它脱水方法相比较不易损伤被脱水组织。冷冻干燥通常不引起被干燥物质的收缩或变韧。而且,冷冻干燥的液体溶液可以更容易再水合(重新配制),因为所得干燥固体中存在细微的孔。这些孔由变成冰转而又升华的水滴产生,在其位置留下缝隙或孔。当用于药物制备和用途时这特别重要,因为冻干还增加药物的多年保质期。

[0330] 根据本发明的优选实施方案,用常规方法和工具在降低的温度和压力下进行本领域任何技术人员都熟知的冷冻干燥过程。因此多孔涂层是冷冻干燥油包水乳液的产物,其中分散水相的小滴在聚合物的固化连续有机相中变成空隙或孔。在水相包含至少一种生物活性剂的情况下,一旦乳液被冷冻干燥,则分散水相小滴变成包含生物活性剂的微囊,生物活性剂被包裹、截留和包埋在实体聚合物中。

[0331] 总之,多种生物活性剂都可加入本文所述复合结构的涂层内。涂层的制备不涉及通常破坏许多生物活性剂活性的苛刻条件。通过形成含水相和有机相的乳液制备涂层,能够加入具有亲水/两亲性能或疏水性能的生物活性剂或者小有机分子或复合大生物分子。

[0332] 如以下实施例部分证明,成功地将完整活性酶(蛋白质)形式的相对大且两亲性的大生物分子加入例示性纤维状复合结构的涂层内。由于具有两亲性能,所以蛋白质充当有效稳定乳液的表面活性剂,该乳液由使蛋白质溶于其中的水溶液和含有生物可降解聚合物的有机相组成。

[0333] 加入具有更明显溶解度特性的生物活性剂,如小且主要疏水的药物分子紫杉醇,需要进行不同处理,以便成功地加在本文提出的复合纤维中。将疏水药物分子如紫杉醇直观地加入在其中更易于溶解的有机相内,需要用表面活性剂稳定乳液。

[0334] 如以下实施例部分进一步指出,本发明者已经用精细的尼龙缝线纤维作为原纤维芯,用含紫杉醇的乳液涂布,以便在不可降解的芯上形成生物可降解紫杉醇洗脱物涂层。此类紫杉醇洗脱物复合结构兼具尼龙缝线纤维的强度和延展性,以及本文所示复合结构可控制释放药物洗脱物的能力,因此可用于多种医疗用途,包括构成植入性医疗器械如支架。

[0335] 如上讨论,设计的本发明复合结构适合用作许多医疗操作和装置的结构元件和/或药物递送系统。

[0336] 因此,根据本发明又一方面,提供包含本文所述复合结构的医疗器械。

[0337] 在本发明的优选实施方案中,医疗器械是生物可降解装置。

[0338] 通常,使用生物可降解医疗器械的主要原因是利用可用作植入物且不需要第二次

手术干预取出的装置。除了不需要第二次手术之外,生物降解可提供局部、功能集中药物递送的优点。例如,已经用坚硬的生物不可降解不锈钢植入物固定的骨折骨在取出植入物时存在再骨折的倾向。因为应力由坚硬的不锈钢产生,所以在愈合过程中骨不能够承受足够负荷。然而,用本文所述生物可降解复合结构制备的植入物可以设计以一定速率降解,在该速率下将缓慢地转移负荷至愈合的骨上,同时将骨再生促进剂稳定地递送至骨折部位。

[0339] 在其最简单的形式中,具有生物活性剂递送能力的生物可降解装置由生物活性剂在聚合物涂层基体中的分散体组成。随着生物可降解聚合物涂层在体内生物降解成可溶性产物,通常释放生物活性剂,所述可溶性产物可被吸收和/或代谢并经过一段时间后最终从体内排出,该时间取决于聚合物和装置的物理大小。

[0340] 用于本发明正文的术语“递送 (delivering)”或“传递 (delivery)”指能够将物质运送至特定部位、更具体来讲运送至所需机体目标的行为,目标可以是例如器官、组织、细胞和细胞区室如细胞核、线粒体、细胞质等。

[0341] 在特别优选的实施方案中,含有本文所述复合结构的医疗器械用于植入、注射或者完全或部分置于机体内。

[0342] 在本发明的优选实施方案中,医疗器械适合经皮和/或局部用于主体。特别重要的是此类医疗器械用于治疗指定组织时,产生的组织刺激将最小。

[0343] 可用于经皮应用的例示性装置包括但不限于缝线、橡皮膏和皮肤贴剂。

[0344] 可用于局部应用的例示性装置包括但不限于缝线、粘合带、绷带、橡皮膏、伤口敷料和皮肤贴剂。

[0345] 在更优选的实施方案中,本发明医疗器械适合将医疗器械植入主体的身体器官内。特别重要的是此类医疗器械除实现其预期目标之外,将不引起导致排斥后全身衰竭的免疫反应(这种全身衰竭可能有害且甚至是致命的)。

[0346] 可用于植入主体身体器官内的例示性装置包括但不限于板、网、螺钉、针、平头钉、棒、缝合锚、吻合夹或塞、牙科植入物或装置、主动脉瘤移植装置、房室分流器、导管、心脏瓣膜、透析导管、骨折愈合装置、骨置换装置、关节置换装置、组织再生装置、血透移植、留置动脉导管、留置静脉导管、注射针头、起搏器、起搏器导线、卵圆孔未闭关闭中隔的装置、血管支架、气管支架、食管支架、尿道支架、直肠支架、支架移植、缝线、合成血管移植、线、管、血管动脉瘤闭合器、血管夹、血管假体滤器、血管鞘和递药孔、静脉瓣和导丝。

[0347] 其中可使用本发明医疗器械的身体部位实例包括但不限于皮肤、头皮、皮层、眼、耳、小肠组织、大肠组织、肾、胰腺、肝、消化道组织或腔、呼吸道组织或腔、骨、关节、骨髓组织、脑组织或脑室、粘膜、鼻粘膜、血液系统、血管、肌肉、肺组织或胸腔、腹部组织或腹腔、动脉、静脉、毛细血管、心脏、心腔、男性生殖器官、女性生殖器官和内脏器官。

[0348] 优选本发明医疗器械包括支架、伤口敷料、缝线和缝合锚、过盈和普通螺钉、血管成形塞、销和棒、平头钉、板、网、吻合夹和环、牙科植入物和引导的组织基质。

[0349] 目前全世界环境保护变得重要,不一定用于医疗目的和用途的生物可降解产品的重要性的需求很大。通过在制备时使用生物可降解化合物,许多一次性产品对环境的影响不大。如本领域已知,市场上有许多此类产品和材料,用本发明的复合结构制备的一次性货物和产品由于其中存在生物活性剂而具有附加优点。

[0350] 因此,根据本发明的另一方面提供包含一种或多种本文所述复合结构的制品。

[0351] 此类制品可包括但不限于钓丝和渔网、昆虫网和鸟网、植物网、织造和非织造布料和纤维、一次性妇女卫生用品、一次性口罩（如由外科医生使用）、湿“纸”巾（湿巾）、一次性内衣、一次性手帕、毛巾和尿布、一次性医疗用品、一次性食物容器或盘、一次性布料、一次性餐具及其它一次性消耗和工业产品。

[0352] 本发明实施方案复合结构中生物活性剂的释放速率取决于多种参数，包括但不限于芯和 / 或涂层的组成以及制备涂层乳液所用的工艺。如以下实施例部分证明，可积累经验数据以获得对应于材料和制备工艺的不同组合和亚组合的释放速率。或者 / 另外，可通过构建释放机制的数学 - 物理模型，通过适当的数学方法或通过进行数学模拟解支配此类模型的方程，预测释放速率。在复合结构的设计阶段用数学 - 物理模型预测释放速率特别有用，因为这种模型能够快速评估和精细调节各种参数以获得最佳或改良的释放曲线，同时减少通常昂贵和耗时的实验步骤。

[0353] 已经开发预测物体和降解表面扩散系统的许多模型。可参阅如 Gopferich A. 等, *Biomaterials* 1996 ;17 :103-114 ;Siepmann J. 等, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001 ;48 :229-247 ;Charlier A. 等, *International Journal of Pharmaceutics* 2000 ;200 :115-120 ;Faisant N. 等, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2002 ;15 :355-366 ;和 Zhang M. 等, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2003 ;92 :2040-2056。

[0354] Sagiv A. 等在 *Annals of Biomedical Engineering* 2003 ;31 :1132-1140 开发一种预测从整体 PLLA 纤维中释放蛋白质的具体模型。然而，该模型假定不变的扩散系数，因此只适用于相对慢降解的材料如 PLLA 等。因此本发明的目的是提供预测快速降解材料的释放速率的技术，所述材料例如但不限于 PDLGA、PGA、PLLA、PDLLA、PCL、PDO 和 PGA-TMC，其中在本发明正文将 50/50PDLGA 视为快降解聚合物，PCL 和 PLLA 视为慢降解聚合物（关于完成质量损失的降解时间和缩写见上文表 A）。

[0355] 因此，根据本发明另一方面，提供预测复合结构中生物活性剂的释放速率的方法。

[0356] 本发明实施方案的方法运用以扩散现象为基础的数学 - 物理模型。在本发明的各种例示实施方案中，模型使用聚合物涂层结构特征和 / 或其降解和膨胀能力。在本发明优选实施方案中，数学 - 物理模型以生物活性剂和 / 或宿主聚合物的分子量为基础。优选本发明实施方案的方法能够根据乳液配方参数调节数学 - 物理模型。

[0357] 在本发明的各种例示实施方案中，解扩散方程以便得到呈时间函数的生物活性剂的浓度分布。

[0358] 一般而言，扩散方程优选符合 Fick 第二扩散定律，该方程的形式为

$$[0359] \quad \partial C / \partial t = D \nabla^2 C$$

[0360] 其中 $C = C(\underline{x}, t)$ 是时间依赖性浓度分布函数，描述在时间 t 和聚合物涂层内三维空间位置 $\underline{x}$ 的生物活性剂浓度 C ， $D = D(\underline{x}, t)$ 是在时间 t 和聚合物涂层内位置 $\underline{x}$ 生物活性剂的扩散系数， ∇^2 是 Laplace 算子。

[0361] 呈现扩散方程的坐标系取决于复合结构的几何形状。例如，当复合结构为圆柱形时，优选圆柱形坐标系；当复合结构为球形时，优选球形坐标系；当复合结构为圆盘形时，优选极性坐标系。还包括其它坐标系，例如但不限于椭圆形坐标系、椭圆形圆柱状坐标系、椭圆体坐标系、抛物线坐标系、抛物线圆柱状坐标系、环形坐标系等。

[0362] 虽然下文描述的实施方案特别以具有圆柱形复合结构（如纤维）为重点，但应理

解关于圆柱形状的更详细标准决不应视为限制本发明的范围。

[0363] 因此,在圆柱坐标 (r, θ, z) 中,扩散方程具有以下形式:

$$[0364] \quad \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(rD \frac{\partial C}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{D}{r} \frac{\partial C}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(rD \frac{\partial C}{\partial z} \right) \right\}. \quad (\text{EQ. 1})$$

[0365] 在本发明的各种例示实施方案中,应用圆对称。在这些实施方案中,生物活性剂浓度分布基本各向同性,因此关于角坐标 θ 的偏导数可忽略:

$$[0366] \quad \frac{\partial C}{\partial \theta} = 0. \quad (\text{EQ. 2})$$

[0367] 当本发明实施方案的复合结构具有其中半径明显小于长度的延伸形状(如纤维),可忽略终端效应。因此,在本发明的各种例示实施方案中,假定纵轴 z 的对称性:

$$[0368] \quad \frac{\partial C}{\partial z} = 0. \quad (\text{EQ. 3})$$

[0369] 通过运用以上对称性,扩散方程的简化形式为:

$$[0370] \quad \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(rD \frac{\partial C}{\partial r} \right) \right\}. \quad (\text{EQ. 4})$$

[0371] 通常,扩散系数 D 可以是时间和/或空间的函数。本发明者发现足以使用与径向坐标 r 同质的时间依赖性扩散系数。因此,根据本发明的优选实施方案,扩散系数是一元函数 $D(t)$ 。在该实施方案中,扩散方程具有以下形式:

$$[0372] \quad \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(rD \frac{\partial C}{\partial r} \right) \right\} = \frac{1}{r} \left\{ D \frac{\partial C}{\partial r} + rD \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \right\} = \frac{1}{r} D \frac{\partial C}{\partial r} + \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} D, (\text{EQ. 5})$$

[0373] 其中为了表达清楚,省略函数 $D(t)$ 和 $C(r, t)$ 的自变量(argument)。下文提供本发明各种例示实施方案的时间依赖性扩散系数 $D(t)$ 的优选表达。

[0374] 方程 5 可重新排列如下:

$$[0375] \quad \frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{1}{r} \frac{\partial C}{\partial r} + \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \right). \quad (\text{EQ. 6})$$

[0376] 可用解偏微分方程的任何已知方法解简化的扩散方程 6 或任何其它形式的扩散方程(如方程 1 或 4)。通常,解方程包括选择适当的初始和边界条件,用多种步骤(如半离散法、Euler 法、Crank-Nicholson 法、Monte-Carlo 模拟、Lagrangian 法、小波等)得到函数 $C(r, t)$, 描述呈时间函数的生物活性剂的浓度分布。

[0377] 在本发明的各种例示实施方案中,扩散方程的初始条件包括最初加入聚合物涂层的生物活性剂的初始浓度 $C_0(r) = C(r, 0)$ 。 $C_0(r)$ 也可以是不随径向坐标改变的同质函数。在该实施方案中,优选初始条件:

$$[0378] \quad C = C_0 \quad @t = 0, r_1 < r < r_2, \quad (\text{EQ. 7})$$

[0379] 其中 r_1 是原纤维芯半径, r_2 是复合结构半径(见图 1)。

[0380] 虽然优选扩散方程的边界条件,但并非必须使用:(i) $r = r_1$ 的“无流量(no flux)”条件和(ii) $r = r_2$ 的“完全下沉(peerct sink)”条件。“无流量”条件表示涂层内的生物活性剂向涂层表面而不向芯扩散。“完全下沉”条件表示在复合结构外的介质中生物活性剂浓度为 0。在数学上,两种边界条件可写成:

$$[0381] \quad \frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad @r = r_1, t > 0 \quad (\text{EQ. 8})$$

$$[0382] \quad C = 0 \quad @r = r_2, t > 0 \quad (\text{EQ. 9})$$

[0383] 一旦用适当的初始和边界条件（如条件 7-9）解扩散方程后，该方法即优选继续另外的步骤，其中积分浓度分布以得到涂层中呈时间函数的积分生物活性剂质量 $M(t)$ 。在数学上，将积分表达如下：

$$[0384] \quad M(t) = \int_{r_1}^{r_2} S * C(r, t) dr = \int_{r_1}^{r_2} 2\pi r L * C(r, t) dr = 2\pi L \int_{r_1}^{r_2} r * C(r, t) dr \quad (\text{EQ. 10})$$

[0385] 其中， S 是复合结构的横截面积， L 是复合结构总长度。已知聚合物涂层中生物活性剂的初始质量 $M(t = 0)$ ，可由初始质量 $M(t = 0)$ 减去积分质量 $M(t)$ 计算释放质量 $M_{\text{释放}}$ ：

$$[0386] \quad M_{\text{释放}}(t) = M(t = 0) - M(t) \quad (\text{EQ. 11})$$

[0387] 然后可用计算的释放质量得到生物活性剂的释放速率，例如对随时间的 $M_{\text{释放}}$ 求数值微分，或者计算预定时间间隔内两个 $M_{\text{释放}}$ 数值的差。

[0388] 根据本发明的各种例示实施方案，以下是优选时间依赖性扩散系数的描述。

[0389] 关于以多孔基体为基础的药物递送系统的现有报道揭示生物活性剂的释放比最简单的水扩散形式预期的慢很多。涂层的多孔结构部分地抑制生物活性剂扩散，因为它们要经过相当长的曲折路径才能渗滤至基体表面。另一方面，涂层的降解减轻扩散的抑制。因此，生物活性剂的扩散系数优选时间的增函数。例如，可采用生物可降解聚合物涂层的降解曲线 M_w 的方式表达扩散系数的时间依赖性，优选定义为：

$$[0390] \quad M_w(t) = \frac{M_w(t = 0) - M_w(t)}{M_w(t = 0)}, \quad (\text{EQ. 12})$$

[0391] 其中 $M_w(t)$ 是描述作为时间 t 函数的生物可降解聚合物涂层分子量的函数。

[0392] 根据本发明的优选实施方案，假定生物可降解聚合物涂层以一级动力学降解。一级动力学表示分子量 M_w 与分子量随时间的改变率成比例。在数学上，一级动力学表示 $B \frac{dM_w}{dt} = -M_w$ ，其中 B 称为 M_w 的衰变常数。如本领域技术人员理解，用指数减少函数 $M_w(t) = M_w(t = 0) \exp(-t/B)$ 描述此类行为。比率 $M_w(t) = M_w(t = 0)$ 称为“标化分子量”，用 $\tilde{M}_w(t)$ 表示。

[0393] 根据渗滤理论，以指定平均曲折路径和指定平均多孔性表征的多孔结构扩散速率与平均曲折路径近似成反比，与平均多孔性近似成正比。

[0394] 本发明实施方案复合结构的平均曲折路径优选参数化为 $\tau(r_2 - r_1)$ ，其中 τ 是所谓“曲折因子”[Gopferich A., Macromolecular. 1997 ;30 :2598-2604 ;Geankoplis C.J., Transport process and unit operations, 第二版, 1983, Englewood Cliffs, NJ :Prentice Hall ;ch. 6. ;和 Pismen L M., Chemical Engineering Science 1974 ;29 :1227-1236]。在该实施方案中， D_0 表示时间依赖性扩散系数的初始值，与 ε / τ 之比成比例，其中 ε 和 τ 都用作表征生物可降解涂层初始状态（分别关于平均多孔性和平均曲折路径）的输入参数。

[0395] 在数学上， D_0 可以写成：

$$[0396] \quad D_0 = D_w \frac{\varepsilon}{\tau}, \quad (\text{EQ. 13})$$

[0397] 其中 D_w 是生物活性剂在指定介质中的渐近扩散系数。在本发明的各种例示实施方案中, D_w 是生物活性剂在水中的扩散系数。

[0398] 已知有许多确定指定结构 ε 和 τ 值的方法。通常(但不一定),用随机几何(如立体抽样)法确定 ε 和 τ 。例如,可以用如二维扫描电镜获得结构的横截面图像。可在图像上限定多点网格,可用点计数估测方法以平均多孔性和平均曲折路径表征该结构。更具体来讲,通过计算覆盖了结构的孔的点数与占据结构横截面的总点数之间的比率可估测结构的多孔性,可估测平均曲折路径。在另一种方法中,使用结构的三维图像。可对三维图像进行适当的模拟算法,该算法限定通过各孔渗透直至其离开结构的“穿行体(walker)”。已知穿行体的速率和渗透时间,该算法可计算平均曲折路径。通过计算三维图像的任意选择的立体像素是孔的概率可估测多孔性。

[0399] 根据本发明的优选实施方案,将常数 D_0 与函数 $M_{w1}(t)$ 合并得到时间依赖性扩散系数 $D(t)$,基本按照以下方程:

$$[0400] \quad D(t) = D_0 + (D_w - D_0) * M_{w1}(t), \quad (\text{EQ. 14})$$

[0401] 其中 M_{w1} 是生物可降解聚合物涂层的降解曲线,优选通过以上方程 12 得到。因此,生物可降解聚合物涂层中生物活性剂的扩散系数从最初的低“有效”值(方程 14 中的常数 D_0) 演变为生物活性剂在水中的特征性扩散系数 D_w 。

[0402] 任何合适的数值都可用于渐近扩散 D_w 。 D_w 的优选表达是 Polson 的半经验方程 [Saltzman WM., Drug delivery:engineering principles for drug therapy(药物递送:药物治疗的工程化原理), 2001, Oxford, Oxford University Press; He L. 和 Niemeyer, B., Biotechnology Progress 2003; 19: 544-548; 以及 Tyn MT. 和 Gusek TW., Biotechnology and Bioengineering 1990; 35: 327-338]:

$$[0403] \quad D_w = A * \frac{T}{\mu M_{wBA}^{1/3}}, \quad (\text{EQ. 15})$$

[0404] 其中 M_{wBA} 是生物活性剂的分子量, T 是绝对温度, μ 是外部液体介质通常是水性介质的粘度, A 是生物活性剂特异性的常数。

[0405] 生物活性剂的扩散速率特别取决于聚合物在生物可降解聚合物涂层中的浓度。聚合物浓度越高,有机相越粘稠,由此产生越稳定的乳液。用于本发明正文的典型聚合物浓度(以在有机相中的 % w/v 表示)是 13%、15% 和 19%,如以下实施例部分所示。伴随较高密度的较高粘度,预期可对扩散速率产生以下阻碍作用:

[0406] (i) 因为实体基体更密集和较不“容易”渗透水所以减慢基体降解;和

[0407] (ii) 减少供生物活性剂扩散的自由体积,导致释放曲线中初始突破效应更短。

[0408] 可用任何已知步骤将生物可降解聚合物涂层标化分子量的时间依赖性参数化。例如,图 24 显示呈时间函数的三种生物可降解聚合物的标化分子量。数据来自 Wu 等, Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers(生物可降解乳酸/乙醇酸聚合物的合成、表征、生物降解和药物递送应用). Part II: Biodegradation. Journal of Biomaterials Science-polymer 2001 版; 12(1): 21-34。图 24 显示初始分子量为 40kDa、100kDa 和 160kDa 的 75/25PDLGA 标化分子量的时间依赖性。如图所示,标化分子量随时间降低。因此可通过将生物可降解聚合物的实验数据(如图 24 显示的实验数据)与指数减函数拟合,从所得拟

合中提取衰变常数 B, 将标化分子量的时间依赖性参数化。可运用任何拟合步骤, 包括但不限于 x^2 最小化等。

[0409] 然后可将降解曲线 M_{w1} 写成以下形式:

$$[0410] \quad M_{w1}(t) = 1 - \tilde{M}_w(t) = 1 - \exp\left(\frac{-t}{B}\right) = 1 - \exp\left(\frac{-C_p}{B}t\right), \quad (\text{EQ. 16})$$

[0411] 其中 C_p 是无量纲参数, 与涂层中生物可降解聚合物的浓度成比例。 C_p 的代表值约为 0.2- 约 1.5。

[0412] 通过以下实施例的检验, 本领域技术人员将清楚本发明的其它目的、优点和新特征, 所述实施例并非限制性。此外, 上文描述和下文权利要求部分要求的本发明每种不同的实施方案和方面都在以下实施例中得到实验支持。

[0413] 实施例

[0414] 现在参考以下实施例, 与上文描述一起以非限制性的方式解释本发明。

[0415] 材料和实验方法

[0416] 用购自 Boehringer Ingelheim, Germany 的聚(L- 乳酸)(PLLA, cat. RESOMER L210, CHCl_3 中固有粘度 = 3.6dL/ 克, 在 30°C 测定) 形成由相对高分子量 PLLA 组成的生物可降解原纤维芯。

[0417] 用购自 Absorbable Polymer Technologies, Inc, USA 的 DL- 乳酸 - 乙醇酸共聚物, 75% / 25%, (PDLGA, cat. 75DG065, CHCl_3 中固有粘度 = 0.65dL/ 克, 在 30°C 测定, 分子量约 118,000 克每摩尔) 形成生物可降解多孔涂层。

[0418] 具有 500U/mg 初始酶活性的辣根过氧化物酶 (HRP) 购自 Aldrich, 用作蛋白质模型。

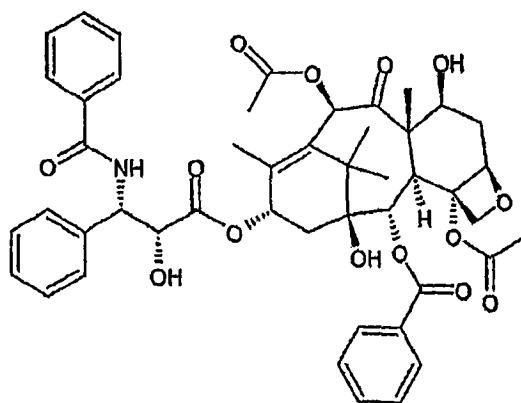
[0419] 用购自 Pierce 的 BCA™ 蛋白质测定试剂盒 (Protein Assay Kit) 测定蛋白质含量相对高 (20-2000 $\mu\text{g/ml}$) 的溶液的蛋白质含量, 用购自 Pierce 的 Micro BCA™ 蛋白质测定试剂盒测定蛋白质含量相对低 (0.5-40 $\mu\text{g/ml}$) 的溶液的蛋白质含量。

[0420] 用购自 Pierce 的 1-Step™ Slow TMB ELISA Kit 测定 HRP 酶活性。

[0421] 在酶测定中用 SpectraMax 340PC384 读板器分光光度计测定吸光度。

[0422] 紫杉醇 (Genexol™) 购自 Sam Yang Corp, Seoul, Korea。

[0423]



[0424] 紫杉醇

[0425] 熔体纺丝在购自 Alex James Inc. of Greer SC 的活塞 / 缸单次纺丝系统上进行。喷丝头毛细管直径为 0.024 英寸。挤压速率为每分钟 0.5 克 -4 克。

[0426] 在温度为 70-80°C 的热板上用手拉伸纤维使其伸展。

[0427] 用直径约 200 μm 的 Ethilon™ 单细丝尼龙缝线 (型号 W597), Ethicon Inc., USA 作为紫杉醇洗脱物纤维的芯纤维。

[0428] 用于稳定用于紫杉醇洗脱物纤维的乳液的表面活性剂是 Pluronic® L121TM, 氧化乙烯 (EO) 和氧化丙烯 (PO) 的三嵌段共聚物 (PEO-PPE-PEO), 平均分子量约 4,400Da, 由 BASF, USA 惠赠 ; 和聚 (乙烯醇) (PVA), 87% -89% 水解, 分子量范围 13,000-23,000Da, 购自 Sigma。

[0429] 用 Jeol JSM-6300 扫描电镜进行 SEM 测量, 加速电压为 5kV。

[0430] 用 购 自 MTS Systems Corporation, Eden Prairie, Minnesota 的 Universal Testing System 机器, 在 ASTM D 638-98 仪器上以每分钟 50mm 速率的单向拉力在室温下测量纤维的力学性能。将抗拉强度定义为应力 - 应变曲线中的最大强度 ; 拉断时的应变为最大应变 ; 弹性 (线性) 区中应力 - 应变曲线的斜率为杨氏模量。每个点测试 5 个样品。

[0431] 酶洗脱物复合结构

[0432] 生物可降解芯纤维的制备 :

[0433] 用活塞 / 缸单次纺丝系统以批量方式将聚 (L- 乳酸) (PLLA) (10 克) 在 190°C 熔融纺丝, 然后在 70°C 拉伸至拉伸比为 3 : 1-8 : 1, 以产生具有各种力学性能的纤维。拉伸纤维的最终直径为 200 μm 。

[0434] 图 3 显示以不同比率拉伸的纤维的应力 - 应变曲线。如图 3 显示, 以不同拉伸比制备的纤维在约 5% 应变点 (在张力的情况下, 应变是伸展) 具有从弹性行为到塑料行为的相似转换点, 和弹性极限。纤维确实伸展, 提示高延展性。已知曲线转折的点是比例极限 ; 在该点之前应力与应变之间的关系成比例, 在该点之后, 撤除应变后纤维不再恢复其原来的形状。意料之中的是, 以 8 : 1 比率拉伸的纤维比拉伸比率更低的纤维更脆弱和可拉伸性更小, 直至以 3 : 1 比率拉伸的更具可拉伸性的纤维。

[0435] 图 4a-c 显示作为拉伸比函数的屈服强度、极限抗拉强度、最大应变和杨氏模量的图。如图 4a-c 所示, 屈服强度 (图 4a)、极限强度 (图 4a) 和杨氏模量 (图 4b) 随拉伸比增加而增加, 而最大应变 (图 4c) 随拉伸增加而降低。8 : 1 拉伸纤维表现 980MPa 的最高抗拉强度和 4.9GPa 的模量以及估计约 50% 应变的延展性和柔韧性。因此, 在设计用于需要高强度的结构 (如支架) 用途的复合结构时, 使用 8 : 1 比率拉伸的纤维。在例如组织工程和以下实验的应用中, 使用 4 : 1 比率拉伸的纤维。

[0436] 生物可降解多孔涂层的乳液的制备 :

[0437] 使 DL- 乳酸 - 乙醇酸共聚物 (PDLGA) (0.5 克、0.6 克或 0.75 克) 溶于氯仿 (4ml) 中以形成有机相 (分别相当于 13%、15% 和 19% w/v 的聚合物含量)。以能够获得聚合物量的 1、5 和 10 重量百分数 (w/w) 含量的量, 将辣根过氧化物酶 (HRP) 溶于水中。将有机相置于测试管内, 将含 HRP 的水溶液倒入测试管中。使用的水相体积是 0.25ml、0.5ml 和 1ml, 分别能够使有机相 : 水相比率为 16 : 1、8 : 1 和 4 : 1。然后用手提式 7mm 旋转匀浆器 (Omni International, Inc.) 在 5,000rpm 运行 3 分钟, 匀化乳液。在实验时发现这些加工条件最适合保护 HRP 的酶活性, 全部受检制剂都获得均匀乳液。

[0438] 将有机相的聚合物含量以每体积氯仿的 PDLGA 重量表示。本文将水相 HRP 含量与有机相聚合物含量的比率称为 HRP 负荷,以重量 / 重量百分数 (w/w) 比率表示。本文将有机相 (O) 与水相 (A) 的比率称为 O : A,以体积 / 体积 (v/v) 比率表示。

[0439] 用生物可降解多孔涂层涂布生物可降解原纤维芯 :

[0440] 使芯 PLLA 原纤维精细地伸展在特殊支架 (holder) 上,然后浸渍和涂上新鲜乳液,随后立即在液氮浴中瞬间冷冻。然后将支架和样品置于预冷却的冷冻干燥器 (VirTis 型号 101) 中,该干燥器配备液氮阱,能够耐受有机溶剂。冷凝器的冷冻温度为约 -105°C 。

[0441] 冷冻干燥按照以下三个阶段进行 :

[0442] i) 在前 12 小时,冷的冷凝板充当冷阱,涂层纤维与冷凝器之间出现温度梯度

[0443] ii) 停止冷凝器运行,让其板温缓慢上升至室温。同时激活液氮阱。使第一步干燥阶段聚集在冷凝板上的氯仿和水升华,与复合纤维的残留液体一起转移至氮阱的表面上。

[0444] iii) 在室温下再真空干燥 24 小时完成最终干燥。

[0445] 将样品贮存于干燥器中备用。

[0446] 按照相同方式制备冻干乳液,但不作为涂层涂在芯原纤维上。将这些乳液倒在铝板 (5cm 直径) 上,按照上文描述冷冻干燥。用这些样品确定几种工艺参数对生物可降解多孔层微结构的影响,如下文描述。

[0447] 图 2 呈现本发明实施方案例示性复合纤维状结构的标准彩色照片,显示用本文所述方法由原纤维芯和多孔涂层制备的细长形纤维。

[0448] 复合结构的表征

[0449] 研究改变乳液配方的几个特征对所得多孔涂层 (包裹复合纤维状结构的原纤维芯) 微结构的作用。这些特征包括作为聚合物量的函数的 HRP 负荷 (重量百分数)、有机相的聚合物含量 (重量百分数) 和乳液中有机相与水相的比率。

[0450] 为明确起见,注意下文提到的聚合物含量及其它聚合物参数指用于制备乳液的聚合物 (涂层聚合物),不应与上文所述用于制备原纤维芯的聚合物 (芯聚合物) 混淆。

[0451] 形态学表征 :

[0452] 通过分析复合纤维状结构低温断裂表面 (横截面) 的 SEM 图像,检测乳液配方的各种参数与所得多孔涂层 (涂布原纤维芯) 微结构之间的关系。

[0453] 检测下列乳液参数 :

[0454] i) HRP 负荷 / 涂层 - 聚合物量 (以重量 / 重量百分数 w/w 表示) ;

[0455] ii) 有机相的涂层 - 聚合物含量 (以重量 / 体积百分数 w/v 表示) ;和

[0456] iii) 乳液中有机相 : 水相比率 (O : A,以体积 / 体积比 v/v 表示) 。

[0457] 将 SEM 样品用金染色,用 Image Pro Plus 软件计算所见特征的尺寸。

[0458] 图 5 呈现 SEM 显微照片,显示本发明实施方案例示性复合纤维状结构的典型横截面。具体图像是复合纤维状结构图像,该复合纤维状结构用具有 5% 的 HRP : 涂层 - 聚合物比率、15% 的涂层 - 聚合物含量和 4 : 1 有机相 : 水相比率的乳液制备。如图 5 所示,将乳液冷冻干燥,产生密孔 PLLA 纤维与多孔 75/25 PDLGA 多孔涂层之间的界面,表现优良的紧密接触,允许原纤维芯与多孔涂层之间强有力地粘附。因为两部分都用脂族聚 (α - 羟酸) 制备,所以它们相似的表面张力促成在界面处很好的粘附。

[0459] HRP 负荷对多孔涂层微结构的影响 :

[0460] 用电镜检测乳液配方,如 HRP 负荷,与涂布原纤维芯的所得多孔涂层微结构之间的关系。

[0461] 图 6a-i 呈现一组 SEM 显微照片,显示乳液的不同 HRP 负荷 (1%、5%和 10% w/w) 和不同涂层 - 聚合物含量 (13%、15%和 19% w/v) 对涂布 复合纤维状结构原纤维芯的所得多孔涂层微结构 (横截面) 的影响。用 O : A 比恒定为 4 : 1 的乳液制备测试涂层。下文表 2 呈现图 6SEM 显微照片的指标。

[0462] 表 2

[0463]

HRP 负荷/聚合物含量(w/w)	有机相中的聚合物含量(w/v)		
	13%	15%	19%
1%	图 6a	图 6d	图 6g
5%	图 6b	图 6e	图 6h
10%	图 6c	图 6f	图 6i

[0464] 如图 4a-i 显示,对于任何指定结构 (用相同涂层 - 聚合物含量制备),随着 HRP 含量增加,多孔涂层结构从双重孔群 (大孔和小孔共存) 变成相对一致的孔群。用 1% HRP 乳液制备的样品中大孔群的表面由较小的孔组成,而当 HRP 含量增加至 5%和 10% w/w 时得到更均匀的孔径。这种效果是由于蛋白质充当表面活性剂的乳液稳定作用造成的。

[0465] 图 7a-d 呈现一组 SEM 显微照片,显示乳液的涂层 - 聚合物含量和蛋白质 (HRP) 负荷对所得多孔涂层孔径分布形态学的影响。用 O : A 相比率恒定为 8 : 1 的乳液制备测试涂层。下文表 3 呈现图 7SEM 显微照片的指标和该研究所得结果。

[0466] 如图 7a-d 和表 3 显示,在用 O : A 相比率 8 : 1 乳液制备的样品中,观察到与用 O : A 比 4 : 1 乳液制备的涂层中类似的现象,也就是说,随着蛋白质 (HRP) 含量增加,孔径分布变窄和它们的平均大小降低。

[0467] 表 3

[0468]

HRP 负荷/聚合物含量(w/w)	有机相中的聚合物含量(w/v)	
	15%	19%
0%	5.30±2.80 μm (图 7a)	5.50±2.60 μm (图 7c)
5%	3.02±1.13 μm (图 7b)	2.40±1.10 μm (图 7d)

[0469] 在表 3 还可看到,用含 15% w/v 涂层 - 聚合物含量的乳液制备的样品,在该样品用无 HRP 的乳液制备时,样品的平均孔径为 5.3 μm ,在含 5% w/w HRP 时,样品的平均孔径减小为 3.0 μm ,用含 19% w/v 涂层 - 聚合物含量的乳液制备的样品,在该样品用无 HRP 的乳液制备时,样品的平均孔径为 5.5 μm ,在含 5% w/w HRP 时,样品的平均孔径减小为 2.4 μm 。

[0470] 可以如下解释这些结果：

[0471] 用于涂布工艺的乳液是热力学复合的，因为它被溶于有机相的聚合物和溶于水相的 HRP 蛋白质分子稳定。共聚物 PDLGA 是脂族聚酯，其链在有机 / 水界面没有特定锚定区，如同两亲性物质。因此只通过在有机 / 水界面的微弱的相互作用稳定乳液 [Tadros, T. F. 等, Adv. Colloid Interface Sci., 2004, 108-109, 207-226]。相反，蛋白质如 HRP 包含限定的疏水 / 亲水区和静电荷 [Piazza, R., Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2004, 8, 515-522]，具有吸附有机 / 水界面的自然趋势。因此蛋白质发挥类似于广泛用作乳化剂的嵌段共聚物表面活性剂的作用。虽然在缺乏 HRP 时也可得到乳液，但因为 HRP 的加入支持 HRP 的乳液稳定现象，所以导致孔径降低。乳液稳定效应与 HRP 负荷相关。用 HRP 负荷为 1% 的乳液制备的纤维状结构显示在液氮固定之前，最初分散的水滴聚结，得到双重孔群，而用 HRP 负荷为 5% 和 10% 的乳液制备的结构具有均匀得多的孔特征（参阅图 4）；提示改善的乳液稳定性。先前已描述关于含牛血清白蛋白的 PDLGA 冷冻干燥大框架的类似的孔径减少作用 [Whang, K. 等, Biomaterials, 2000, 21, 2545-2551]。

[0472] 乳液中有机相：水相比率和聚合物含量对多孔涂层微结构的影响：

[0473] 用电镜检测乳液配方（如有机相：水相比率）与涂布原纤维芯的所得多孔涂层微结构的关系。

[0474] 图 8a-i 呈现一组 SEM 显微照片，显示乳液中不同有机相：水相比率（0：A 为 4：1、8：1 和 16：1）和不同涂层 - 聚合物含量（13%、15% 和 19% w/v）对所得复合纤维状结构的涂层微结构（横截面）的影响。用 HRP 负荷恒定为 5% w/w 的乳液制备测试涂层。下文表 4 呈现图 8 SEM 显微照片的指标和测量的各结构平均孔径。

[0475] 如图 8 显示，对于任何指定结构（包含各种涂层 - 聚合物含量），随着有机相与水相之间比率的增加，所得涂层微结构从具有高密度和部分互联的孔逐渐变成具有被粘稠聚合物壁分开的相对低密度的孔。

[0476] 表 4

[0477]

O:A 比	有机相中的聚合物含量(w/v)		
	13%	15%	19%
4:1	(图 8a)	(图 8d)	(图 8g)
8:1	2.47±1.08 μm (图 8b)	1.67±0.58 μm (图 8e)	1.28±0.63 μm (图 8h)
16:1	3.19±1.12 μm (图 8c)	1.60±0.65 μm (图 8f)	1.50±0.78 μm (图 8i)

[0478] 如表 4 显示，在用具有 16：1 的相对高 O：A 相比率的乳液制备的各种涂层中，随着有机相的涂层 - 聚合物含量从 13% 增加至 15% w/v，测量的平均孔径从 3.19 μm 下降至 1.60 μm。这种现象也归因于乳液稳定性的增加。事实上，已显示此类作用在相对低的乳液粘度下并不显著。在用以 4：1 O：A 比制备的类似结构系列的研究中，可见聚合物含量对涂层结构无明显作用（数据未显示）。

[0479] 复合纤维状结构表面的微结构：

[0480] 用电镜检测乳液配方与涂布原纤维芯的多孔涂层外表面微结构之间的关系。

[0481] 图 9a-d 呈现一组 SEM 显微照片，显示乳液中不同有机相：水相比率 (O : A 为 8 : 1 和 16 : 1) 和不同涂层 - 聚合物含量 (13% 和 19% w/v) 对所得涂层表面结构的影响。用 5% w/w HRP 恒定负荷的乳液制备测试涂层。下文表 5 呈现图 9 SEM 显微照片的指标。

[0482] 表 5

[0483]

O:A 比率	有机相的聚合物含量(w/v)	
	13%	19%
8:1	(图 9a)	(图 9c)
16:1	(图 9b)	(图 9d)

[0484] 如图 9 显示，全部测试结构都具有相对小孔径 (1-2 μm) 的外表面。显示乳液的 O : A 相比率和涂层 - 聚合物含量对所得涂层外表面孔径的作用可忽略不计。意料之中的是随着 O : A 相比率增加可看到孔密度降低，因为乳液水含量降低。

[0485] 如上所述，在制备本发明的复合纤维状结构时，将涂层材料乳液涂布的原纤维芯暴露于液氮。该工艺与表面张力一起可在多孔涂层外表面形成“皮肤”。如图 6 和 8 显示，该“皮肤”是密度与涂层内部稍微不同的薄层，与涂层厚度相比非常薄。如图 6 和 8 显示，除了“皮肤”之外，涂层的整体微结构保持相似，提示快速冷冻乳液保护了其微结构。

[0486] 总之，已经显示用于制备纤维状结构的乳液的 HRP 负荷和有机相：水相比率对多孔涂层微结构具有显著作用，而乳液有机相的聚合物含量只是少量地和在各种特殊条件下影响这些纤维特征。

[0487] 活性测定：

[0488] 为了定性地（活性）和定量地（速率）确定复合纤维状结构递送相对敏感的生物活性剂（如酶）的能力，用 90 天时间监测和测量作为例示性蛋白包裹在各种复合纤维状结构中的 HRP 的释放曲线和活性。

[0489] 通过测量活性和释放速率确定用于制备涂布原纤维芯的涂层的乳液配方的各种参数与 HRP 释放曲线之间的关系。

[0490] 如形态学分析，检测下列乳液参数：

[0491] i) 相对于涂层 - 聚合物量的 HRP 负荷（以重量 / 重量百分数 w/w 表示）；

[0492] ii) 有机相的涂层 - 聚合物含量（以重量 / 体积百分数 w/v 表示）；和

[0493] iii) 乳液的有机相：水相比率 (O : A, 以体积 / 体积比 v/v 表示)。

[0494] HRP 活性：

[0495] 根据先前描述的方法，用 HRP 校准曲线确定从复合纤维状结构释放或抽提的 HRP 的酶活性 [Woo B. H. 等, Pharm. Res., 2001, 18(11), 1600-1605 页]。

[0496] 简言之，用浓度为 0.1 $\mu\text{g/ml}$ -10 $\mu\text{g/ml}$ 的 HRP 贮备液获得 HRP 校准曲线。用慢 TMB 试剂 (Pierce) 制备底物贮备液。用 1N 硫酸 (H_2SO_4) 作为反应猝灭液。

[0497] 将 TMB 剂 (0.4ml) 置于 2ml Eppendorf 管中。将 HRP 浓度在 $0.1 \mu\text{g/ml}$ – $10 \mu\text{g/ml}$ 范围的 $5 \mu\text{l}$ 溶液加入装底物的管内启动酶反应。2 分钟后将硫酸 (0.4ml) 加入管内以终止反应, 测量 450nm 的吸光度。

[0498] 测试用乳液制备的复合纤维状结构, 该乳液包含 15% w/v 涂层 – 聚合物、5% w/w HRP 和有机相: 水相比率为 4 : 1、8 : 1 和 16 : 1。

[0499] 用上文描述的步骤测定包裹在用各种乳液制剂制备的复合纤维状结构中的 HRP 的特异性活性。

[0500] 全部测试样品都保留至少 95% 初始特异性酶活性, 表示乳化、涂布芯纤维和涂层冷冻干燥工艺对 HRP 酶活性的影响可忽略不计。

[0501] 体外蛋白质释放研究:

[0502] 在 90 天时间段用各种含 HRP 的复合纤维状结构样品测定 HRP 的释放动力学。在密闭的 1ml 玻璃器中进行 HRP 释放研究, 其中在 37°C 将含 HRP 的复合纤维状结构浸在含有叠氮钠作为防腐剂 (0.05% w/w) 的 1ml 无菌双蒸水中。用新鲜介质定期更换全部水介质, 用微 BCA 测定法确定移去的介质中的 HRP 含量, 测量 595nm 吸光度。

[0503] 确定相对于每种测试结构中初始量 HRP 的累积 HRP 释放曲线, 即培养期的 HRP 释放量和结构中剩余的 HRP 残留量。所有实验都进行三次。

[0504] HRP 负荷的影响: 图 10 呈现从各种复合纤维状结构中 HRP 的累积体外释放的比较图, 作为各种 HRP 含量 (1%、5% 和 10% w/w) 的函数和各种涂层 – 聚合物含量 (13%、15% 和 19% w/v) 的函数, 在用于制备涂布复合纤维状结构的涂层的乳液中, 有机相: 水相比率恒定为 4 : 1。下文表 6 呈现图 10 体外释放图中的符号标记。

[0505] 表 6

[0506]

相对于聚合物 含量的 HRP 含 量(w/w)	有机相的聚合物含量(w/v)		
	13%	15%	19%
1%	白色方形	白色圆形	白色三角形
5%	黑色方形	黑色圆形	黑色三角形
10%	灰色方形	灰色圆形	灰色三角形

[0507] 如图 10 显示, 全部复合纤维状结构表现的 HRP 释放曲线都具有初始突破效应后在前 30 天内随时间流逝释放速率降低的特征。大部分样品, 第 30 天 – 90 天释放速率恒定不变。

[0508] 突破效应随着 HRP 负荷增加而增加, 因为扩散驱动力更高。可看到 1% – 5% w/w HRP 负荷之间的明显变化, 其中初始突破从 20% 增加至均数 70%。恒定释放速率随 HRP 负荷增加而降低。涂层 – 聚合物含量对释放曲线无明显影响, 与图 6 显示的其对结构形态无影响相一致。

[0509] 图 11 呈现 HRP 释放测定的比较结果, 显示在实验的前 30 天内, 作为各种 HRP 负荷

的函数,从用具有 15% w/v 涂层 - 聚合物的乳液制备的复合纤维状结构中的释放速率 (不包括初始突破值)。

[0510] 如图 11 显示,所有样品的释放速率都降低,但装载 1% w/w HRP 的复合纤维状结构 (在图 11 用白色棒标记) 的降低缓和得多。这种现象还见于用 13% w/v 涂层 - 聚合物含量制备的样品 (数据未显示)。

[0511] 总之,随着 HRP 负荷增加,初始突破效应显著增加,因为扩散驱动力更高。因为 HRP 还发挥表面活性剂作用,所以 5% 和 10% w/w 的 HRP 负荷可稳定化用于涂层的乳液和降低涂层孔径。释放速率随 HRP 负荷增加而降低,还可能是由于这些结构改变。

[0512] HRP 负荷对其自身释放曲线具有显性效应 (参阅图 10),这是因为扩散驱动力的原因。涂层装载 1% w/w HRP 的复合纤维状结构中 HRP 的突发释放和总释放相对于 5% 和 10% w/w 负荷的情况而言显著下降,也可能与 HRP-PDLGA 相互作用如氢键有关。先前已有关于包含其它蛋白质如牛血清白蛋白 (BSA) [Verrecchia, T. 等, J. Biomed. Mater. Res., 1993, 27(8), 1019-28 页] 和溶菌酶 [Jiang, G. 等, J. Control. Release, 2002, 79(1-3), 137-145 页和 Diwan, M. 和 Park, T. G., J. Control. Release., 2001, 73(2-3), 233-244 页] 的乳液系统的蛋白质 - 聚合物相互作用的报道。这些出版物证明在 PLGA 的存在下培养溶菌酶,产生可与其在周围介质中的负荷相比的蛋白质吸附。也已显示吸附是 PDLGA 微粒表面积的函数,无论培养条件如何,一些 BSA 分子都不可逆性结合。

[0513] 有机相: 水相比率的影响:

[0514] 图 12a-c 呈现 HRP 复合纤维状结构的累积体外释放曲线的比较图,作为乳液有机相: 水相比率函数 (黑色三角形为 4 : 1,白色方形为 8 : 1 和灰色圆形为 16 : 1),作为乳液中涂层 - 聚合物含量的函数 (13% w/v- 图 12a, 15% w/v- 图 12b 和 19% w/v- 图 12c),用于制备涂层的乳液的 HRP 负荷恒定为 5% w/w。

[0515] 如图 12a-c 显示,所有释放曲线都表现特征性图,初始突破效应显示随时间流逝释放速率降低。在 90 天实验中所有样品都释放至少 90% 活性酶。对于所有涂层 - 聚合物含量而言,用于制备涂层的乳液的有机相: 水相比率增加都导致初始突发释放明显降低和更缓和的释放曲线。

[0516] 累积释放曲线的这些倾向主要归因于涂层微结构的改变。因此,控制乳液的 0 : A 相比率可充当获得各种蛋白质释放曲线的有力工具,同时保持恒定的 HRP 负荷 (参阅图 12)。特征性结构从 4 : 1 0 : A 相比率制剂的密集和部分互联的孔群变成 16 : 1 0 : A 相比率的较不密集并具有一闭合孔的孔群,导致多孔涂层中 HRP 扩散急剧降低,突破效应从 70-80% 明显减少至仅有约 10-20%。

[0517] 总之,随着有机相: 水相比率增加,多孔涂层微结构从密集且部分互联的孔变成具有被涂层 - 聚合物厚壁分开的孔的相对低密度的多孔结构。这些结构改变引起 HRP 扩散急剧降低,导致较小的初始突破效应和更缓和的释放曲线。

[0518] 聚合物含量的影响:

[0519] 图 10 和 12 呈现上文讨论的结果,也显示乳液涂层 - 聚合物含量对 HRP 释放曲线的影响。

[0520] 如图 10 显示,复合纤维状结构的 HRP 释放曲线在所有研究制剂中都表现类似释放曲线,复合纤维状结构的涂层用含有三种不同涂层 - 聚合物含量值和 4 : 1 有机相: 水相

比率的乳液制备。

[0521] 虽然 0 : A 比和涂层 - 聚合物含量的二维变更显示对 0 : A 比变更的敏感度更高, 但 0 : A 相比率为 8 : 1 和 16 : 1 时涂层 - 聚合物含量变更的影响更明显。如图 12a-c 显示, 用 0 : A 相比率为 8 : 1 和 16 : 1 的乳液制备的结构的 HRP 释放测定显示随着乳液有机相中涂层 - 聚合物含量增加, 突破效应降低。用 8 : 1 0 : A 比乳液制备的结构的突破效应 (图 12a-c 的白色方形) 从 66% 降低至 26%, 16 : 1 0 : A 比样品 (图 12a-c 灰色圆形) 从 20% 降低至 10%, 总体曲线更缓和。这些结果与观察到的形态学改变一致 (参阅图 6 和 8)。因此, 用 4 : 1 0 : A 相比率乳液制备的涂层的孔径没有随着涂层 - 聚合物含量增加而明显改变 (参阅图 6), 而用 8 : 1 和 16 : 1 0 : A 比乳液制备的样品的孔径随着乳液涂层 - 聚合物含量增加而降低 (参阅图 8 和表 3)。这种孔径和孔密度的降低导致 HRP 扩散减少, 因此表现为突发释放降低。

[0522] 复合纤维状结构的残留蛋白回收: 根据先前描述的方法对用于上述体外释放实验的废弃复合纤维状结构样品进行残留蛋白回收 [Jeffery H 等, Pharm. Res., 1993, 10 (3), 362-368 页]。

[0523] 简言之, 在 37°C 将复合纤维状结构在 1ml 十二烷基硫酸钠 (SDS) / NaOH 5% / 0.1M 溶液中提取 48 小时。提取后, 按照上文描述用微 BCA 测定估计 HRP 浓度。根据这些测定, 确定各结构装载的精确 HRP 量, 用于计算在以上测定中引用的百分数。

[0524] 总之, 虽然涂层 - 聚合物含量决定乳液粘度, 但只有在相对高的有机相 : 水相比率才影响所得涂层微结构和 HRP 释放曲线。在此类制剂中, 乳液中涂层 - 聚合物含量增加通过增加乳液稳定性降低所得涂层孔径, 导致更低的突发释放和更缓和的释放曲线。HRP- 负荷纤维的释放曲线通常表现随时间流逝释放速率降低的初始突破效应, 这是扩散控制系统的典型特征。

[0525] 这些测定证明适当选择用于制备本发明复合纤维状结构涂层的乳液的参数, 可得到具有由涂层微结构产生的所需蛋白质释放行为及其它力学性能的结构。

[0526] 药物洗脱物复合结构

[0527] 尼龙芯纤维的制备:

[0528] 对用作制备紫杉醇洗脱物原纤维状结构的芯纤维的尼龙缝线纤维进行表面处理, 以去除原来的纤维涂层, 增强芯纤维与涂层之间的粘附。将尼龙纤维在特殊支架上轻微拉伸, 在 75/25v/v 甲酸 / 乙醇溶液中浸渍 15 秒。然后将纤维洗涤, 在 65°C 真空烘箱中干燥 80 分钟。

[0529] 用于复合紫杉醇洗脱物多孔涂层的乳液的制备:

[0530] 为了制备紫杉醇洗脱物纤维状结构, 将不溶于水的 (疏水) 药物紫杉醇加入乳液有机相内, 用表面活性剂稳定乳液。

[0531] 使 75/25DL- 乳酸 - 乙醇酸共聚物 (75/25PDLGA) (0.5 克、0.6 克或 0.75 克) 溶于氯仿 (4ml) 中形成有机相 (分别相当于聚合物含量为 13%、15% 和 19% w/v) 以形成有机溶液, 将紫杉醇加入溶液内。将双蒸水倒入测试管的有机相内, 用手提式匀浆器匀化乳液 (OMNI TH, 7mm 转子), 大部分样品以 16,500rpm (中速) 运行 3 分钟。为了评估加工条件 对多孔涂层结构的影响, 用 5,500rpm (低速) 或 25,000rpm (高速) 的匀化速率以及 1 分钟和 4 分钟的匀化时间制备一些样品。

[0532] 用 17.5% w/v 聚合物（有机溶液中）、1.43% w/w 紫杉醇（相对于聚合物负荷）和 2 : 1v/v 的有机相：水相（O : A）比率的乳液制备标准参考样品。用于该样品的乳液在本文也称为标准参考乳液，用该乳液制备的纤维状结构在本文称为标准参考纤维。例如，用含 15% 和 22.5% w/v 聚合物；0.71%，2.86% 和 7.14% w/w 紫杉醇以及 4 : 1 和 1.3 : 1 的 O : A 相比率的乳液制备其它样品。

[0533] 所有用于制备乳液的测试制剂在下文表 8 列出。

[0534] 一些样品用还包含表面活性剂的乳液制备。将 Pluronic®（相对于聚合物量为 1% w/w）加入聚合物溶液中，将 PVA（相对于水量为 1% w/v）加入水中。

[0535] 用生物可降解多孔紫杉醇洗脱物涂层涂布尼龙芯纤维：

[0536] 将处理的尼龙芯纤维置于支架上，在新鲜乳液中浸渍涂布，然后在液氮浴中立即冷冻。然后将固定样品的支架置于设定在 -105℃ 并能够耐受有机溶剂的预冷冷冻干燥器中（配备氮阱的 Virtis 101）。将样品冷冻干燥，以保护基于乳液的芯 / 涂层纤维结构的微结构。

[0537] 按照以下两步进行冷冻干燥：

[0538] i. 将冷冻干燥室压力减少至 100 毫托，同时使冷凝器温度维持在 -105℃。

[0539] ii. 关闭冷凝器，使其板温缓慢上升至室温，同时监测压力在 100 毫托 -700 毫托。在这一步液氮阱浓缩过量的水和溶剂蒸汽。

[0540] 将样品贮存于干燥器中备用。

[0541] 复合纤维状结构的抗张和力学性能：

[0542] 用 5500 Instron 机根据抗拉强度 ASTM D 3379 标准法，以每分钟 50mm 速率的单向张力在室温下测量复合结构抗张的力学性能。简言之，将抗拉强度定义为应力 - 应变曲线的最大强度，而最大应变定义为断裂应变，杨氏模量定义为弹性（线性）区中应力 - 应变曲线的斜率。每个点测试 6 份样品，用 SPSS 10 软件计算均数和标准差。用 ANOVA (Tukey-Kramer) 进行组间比较。

[0543] 如上所述，对尼龙缝线纤维进行表面处理，以去除纤维原来的制备壳，增强芯纤维与涂层之间的粘附。用两种方法评估芯 / 涂层纤维的力学性能：一种考虑包括涂层厚度在内的纤维总直径，一种考虑实际上不加入涂层厚度的处理的芯纤维的有效直径，假定涂层对复合结构的宏观力学性能仅有微量影响。

[0544] 图 13 呈现比较图，显示处理的尼龙纤维和用上文描述的标准参考乳液涂布的纤维的拉伸应力 - 应变曲线，其中曲线“1”相应于表面处理尼龙芯纤维，考虑总直径的曲线“2”相应于标准参考纤维状结构，考虑有效直径的曲线“3”相应于标准参考纤维状结构。如图 13 显示，在处理的芯纤维中观察到强度和杨氏模量有些降低，可能是由于尼龙芯的处理及冷冻和冷冻干燥加工。

[0545] 下文表 7 呈现测量五类纤维得到的纤维的宏观力学性能，五类纤维是：

[0546] 未涂布处理的尼龙芯纤维；

[0547] 用上文所述标准参考乳液涂布且考虑总纤维直径的尼龙芯纤维，用“复合型 A*”表示；

[0548] 用上文所述标准参考乳液涂布且考虑有效纤维直径的尼龙芯纤维，用“复合型 A**”表示；

[0549] 用更粘稠的乳液 (22.5% w/v 聚合物, 而标准乳液为 17.5% w/v) 涂布且考虑有效纤维直径的尼龙芯纤维, 用“复合型 B^{**}”表示;

[0550] 用粘度较小的乳液 (5ml 的较高的溶剂体积, 聚合物含量为 14% w/v, 代替产生 17.5% w/v 聚合物含量的 4ml 体积) 涂布且考虑有效纤维直径的尼龙芯纤维, 用“复合型 C^{**}”表示。

[0551] 如表 7 显示, 对用标准乳液涂布且考虑复合结构有效直径的尼龙芯纤维计算的测量宏观力学性能显示, 涂布的实际作用是使抗拉强度降低 18% 和杨氏模量降低 20%。这些结果证明涂布纤维的工艺 (包括 暴露于乳液、浸在液氮中猝灭和冷冻干燥) 引起复合结构抗拉强度和模量与未涂布的纤维相比稍有降低, 纤维保持强度和柔软性。

[0552] 在表 7 还可看到, 另两种复合结构表现类似于用标准乳液涂布的纤维的力学性能, 提示乳液粘度对纤维力学性能基本无影响。

[0553] 表 7

[0554]

纤维类型	强度 (MPa)	模量 (MPa)	应变 (%)
处理尼龙芯纤维	396±50	880±15	48.0±5.5
复合型 A [*]	267±32	590±7	47.4±4.8
复合型 A ^{**}	325±40	700±12	47.9±5.0
复合型 B ^{**}	331±35	713±17	37.8±5.3
复合型 C ^{**}	337±41	695±21	39.0±4.9

[0555] 形态学特征:

[0556] 用 Jeol JSM-6300 扫描电镜 (SEM) 评估复合结构 (低温断裂表面) 形态学, 加速电压为 5kV。简言之, 在观察前对样品进行 Au 溅射。用 Sigma Scan Pro 软件分析所见形态学的平均孔径和多孔性, 用 SPSS 10 软件进行统计。用 ANOVA (Tukey-Kramer) 法确定统计学意义。

[0557] 为了评估每张 SEM 断口组织照片样品的多孔性, 用 Sigma ScanPro 软件计算孔占据的面积, 孔占据的面积除以总面积即为多孔性。

[0558] 通过检测下列参数研究乳液组成和工艺参数对微结构的作用:

[0559] i. 乳液配方 (相对于溶剂体积测量的聚合物含量, % w/v);

[0560] ii. 紫杉醇含量 (相对于聚合物重量测量的 % w/w);

[0561] iii. 水: 有机相比率 (v/v);

[0562] iv. PDLGA 共聚物比率;

[0563] v. 表面活性剂的添加; 和

[0564] vi. 匀化时间和速率。

[0565] 根据下列参数表征特征性微结构:

[0566] i. 平均孔径和分布;

[0567] ii. 多孔性和孔结构; 和

[0568] iii. 涂层厚度和粘附质量。

[0569] 这些研究的结果见下文表 8。

[0570] 图 14a 呈现例示性紫杉醇洗脱物复合纤维的概略图, 显示尼龙芯和其中包裹紫杉醇的生物可降解多孔涂层。

[0571] 图 14b-d 呈现用上文所述标准参考乳液制备的纤维状复合结构的 SEM 断面组织

照片,显示其总体形态学。处理芯纤维的直径在 170–190 μm 范围,大部分乳液配方得到 30–60 μm 的涂层厚度。相对高含量的疏水成分如 PDLGA 和紫杉醇导致涂层厚度增加,因为乳液粘度更高。如图 14 显示,芯与涂层之间没有缝隙,表示纤维与多孔涂层之间界面的质量高,表面处理使其之间能够很好地粘附。所有研究样品中涂层的多孔结构都包含圆形孔,通常直径在 5–10 μm ,多孔性超过 80% (见下文表 8)。每个样品的涂层微结构均匀一致,可能是因为乳液快速猝灭,能够保护其微结构。在图 14b 还可看到,各孔通过较小的内孔部分地互联。

[0572] 表 8

[0573]

工艺参数	量	平均孔径 [μm]	多孔性 ($\%\pm 10\%$)	涂层厚度 [μm]
聚合物含量 [%]	15	5.8 ± 2.3	85	27.7 ± 3.6
	17.5	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	22.5	5.4 ± 2.1	82	64.2 ± 32.4
紫杉醇含量 [%w/w]	0	6.9 ± 1.9	N/A	42.2 ± 3
	0.71	5.4 ± 2.6	89	74.2 ± 9.9
	1.43	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	2.86	21.2 ± 6	85	81 ± 37.7
	7.14	79.1 ± 17	N/A	192.8 ± 90.7
有机相:水相 比率[v/v]	4:1	6.1 ± 3.1	87.6	52.3 ± 12.5
	2:1	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	1.3:1	7.8 ± 3.8	94.2	64.6 ± 24.1
表面活性剂 含量 [1%w/v]	None	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	Pluronic®	8.2 ± 3.0	88	204.1 ± 129.3
	PVA	6.2 ± 2.8	87.5	77.5 ± 24.7
匀化时间 [秒]	60	7 ± 3.7	86.8	23.8 ± 1.3
	180	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	240	5.9 ± 2.6	81.6	90.2 ± 44.7
匀化速率 [rpm]	5,500	7.7 ± 3.5	92.7	114.6 ± 33.2
	16,500	6.5 ± 2.3	85.2	104 ± 31.4
	25,000	5.8 ± 1.9	86	65.7 ± 20.7

[0574] 乳液配方的影响：

[0575] SEM测量提示药物含量越高导致孔径越大，大概是因为乳液不稳定。图15a-d呈现各种紫杉醇洗脱物复合纤维状结构的SEM断面组织照片，全部具有尼龙芯并用各种乳液制备，证明乳液配方对所得涂层微结构的影响。图15a显示用包含17.5% w/v 聚合物、1.43% w/w 紫杉醇和0 : A相比率为2 : 1的标准参考乳液制备的复合纤维状结构。图15b显示

用包含 15% w/v 聚合物的乳液制备的复合纤维状结构,与标准参考纤维对比。图 15c 显示用包含 2.9% w/w 紫杉醇的乳液制备的复合纤维状结构,与用标准参考乳液对比。图 15d 显示用 O : A 比为 4 : 1 的乳液制备的复合纤维状结构,与用标准参考乳液对比。

[0576] 如图 15a-d 显示,孔径几乎不受乳液聚合物含量的影响(还参阅上文表 8),但在相邻的孔之间显示产生密度较低的“聚合物壁”。提示相对低的聚合物含量减少基体与紫杉醇之间的结合区。该特点可能影响药物释放,产生较高的扩散系数,更有效释放药物,如下文讨论。

[0577] 表面活性剂的影响:

[0578] **Pluronic[®]**型表面活性剂是以氧化乙烯和氧化丙烯为基础的嵌段共聚物。它们可发挥消泡剂、湿润剂、分散剂、增稠剂和乳化剂的功能。

[0579] 图 16a-c 呈现证明例示性紫杉醇洗脱物复合纤维状结构的涂层微结构的一组 SEM 断面组织照片,各自具有尼龙芯和涂层,所述涂层为用不含表面活性剂的乳液制备的涂层(图 16a)、用含 1% w/w **pluronic[®]**的乳液制备的涂层(图 16b)和用含 1% w/v PVA 的乳液制备的涂层(图 16c)。

[0580] 如上文表 8 显示,将 **pluronic[®]**加入乳液内导致孔径和多孔性增加。

[0581] 如图 16a-c 显示,因为存在 **pluronic[®]**表面活性剂,相对大的空隙出现在规则的多孔结构域之间(见图 16b)而不是规则的均匀结构(见图 16a)。这些位于规则多孔区之间的大空隙为药物扩散引入局部连续路径,因而可增加药物释放速率和数量。另一方面,PVA 表面活性剂的存在对涂层形态学几乎无影响,如图 16c 显示。

[0582] 体外紫杉醇释放研究:

[0583] 用 4 个月时间监测和跟踪复合纤维状结构样品中紫杉醇的累积释放。将复合结构样品浸在 37°C PBS 中 112 天。定期移去全部介质,测定药物释放,引入新鲜介质。用 Agilent 1100 高效液相层析(HPLC)测定各介质样品的紫杉醇含量。在整个测试期,紫杉醇洗脱物复合结构都维持其力学完整性,没有可见裂缝或将芯降解产物排入介质中。

[0584] 在测试期间大部分研究结构得到的紫杉醇释放曲线表现低的初始突破效应,随时间流逝释放速率降低。

[0585] 图 17 呈现用上文所述标准参考乳液制备的例示性复合纤维状结构中紫杉醇释放的累积图,显示用 4 个月时间测定的紫杉醇释放 mg 量和释放的紫杉醇占负荷量的百分数。

[0586] 如图 17 显示,紫杉醇释放速率随时间流逝呈指数降低,在释放第一天观察到小于 3% 的小的突破效应。此类释放曲线是扩散控制系统的典型。紫杉醇从多孔涂层中相当慢地释放,主要因为紫杉醇是疏水性质,所以位于缓慢溶解/生物降解的聚合物内部。释放速率的指数降低可能是由于药物必须穿过涂层的距离逐渐延长。

[0587] 这些结果证实这些复合纤维状结构中紫杉醇的药物释放曲线主要由扩散控制,涂层的生物可降解聚合物的降解速率对药物释放曲线具有次要影响。负荷药物释放的分量处于多种应用(如植入性医疗器械(如支架))中所需的药物治疗有效量范围内。

[0588] 涂层加工条件的影响:

[0589] 涂布工艺的动力学参数包括冷冻及其随后的冷冻干燥之前将含药物的乳液匀化的速率和持续时间。如上所述,通过用手提式匀浆器以 16,500rpm 速率的中速(本文称为

适中的速率)运行3分钟使乳液匀化。用低速(5,500rpm)和高速(25,000rpm)匀化,和1分钟和4分钟的匀化时间,检测加工条件对涂层的药物释放速率的影响。

[0590] 图18呈现显示从紫杉醇洗脱物复合结构多孔涂层中药物释放的比较图,其中匀化用于制备多孔涂层的各种乳液,匀化在低速(蓝色菱形标记)、中速(紫红色方形标记)和高速(绿色三角形标记)进行,显示乳液匀化速率对释放速率的影响。如图18显示,匀化速率对释放曲线有一些影响,增加匀化速率导致药物释放速率和数量增加。结合表8显示的结果,提示匀化速率增加导致孔径稍微降低,存在更小的孔能够使药物释放速率和数量有些增加。

[0591] 匀化时间对用超过180秒匀化时间制备的样品的紫杉醇释放曲线无明显影响。这与上文表8显示的孔径和形状的情况一致。然而,相对短的匀化时间如60秒在涂层微结构中产生局部连续路径(大概是因为乳液不稳定),使药物扩散,因此释放速率更高。

[0592] 乳液配方中聚合物含量的影响:

[0593] 一般而言,用于制备紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的乳液的稳定性决定多孔结构,因为预期有机相越疏水则多孔结构具有越大的孔,因为较高的界面张力导致水性区域的聚结。预期这种孔径的增加导致表面积下降和扩散速率更低。因此预期有机相越疏水则药物释放速率和数量越低。

[0594] 图19呈现紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的药物释放曲线的比较图,显示乳液配方中聚合物含量对复合结构中药物释放的影响,其中聚合物含量为15% w/v的乳液的药物释放曲线用蓝色方形标记、聚合物含量为17.5% w/v的用紫红色圆形标记、22.5% w/v的用绿色三角形标记。

[0595] 如图19显示,药物释放的释放速率和量随聚合物含量降低而增加。含15% w/v聚合物的配方释放的数量明显高于17.5% w/v和22.5% w/v配方。因为孔径几乎不受乳液聚合物含量的影响,如图15a和15b和上文表8显示,提示用聚合物含量相对低的乳液制备的涂层中相邻孔之间产生的“聚合物壁”密度较低,所以在此类复合结构中可见到较高的扩散速率。

[0596] 发现有机相的聚合物含量主要影响乳液粘度,对紫杉醇的释放只具有微量间接影响。

[0597] 乳液配方中药物含量的影响:

[0598] 因为紫杉醇是疏水药物,所以预期乳液有机相中紫杉醇含量越高,导致界面张力越高,也就是说有机相与水相表面张力之间的差异更大,产生具有更大孔径的更不稳定的乳液。这种预期与上文表8提出的发现一致。预期较大的孔可减少一定多孔性和互联度之下的释放速率。

[0599] 图20呈现显示紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的药物释放曲线的比较图,证明乳液配方的药物含量对复合纤维释放药物的影响,其中药物含量为0.7% w/w的乳液的药物释放曲线用红色菱形标记,1.4% w/w用紫红色圆形标记,2.9% w/w用蓝色三角形标记,7.1% w/w用青色方形标记。

[0600] 如图20显示,药物含量对释放曲线具有明显影响。药物释放的释放速率和量都随紫杉醇含量增加而增加,主要因为涂层基体与周围介质之间的药物浓度梯度更高。而且,高药物含量的样品可看到相对大的突破效应。在前24小时内,用含7.14% w/w紫杉醇的乳液

涂布的纤维释放 7%，而用含 2.9% w/w 紫杉醇的乳液制备的样品释放 3%。

[0601] 推断扩散驱动力影响大于形态学改变，因为该系统的释放速率随药物含量增加，即使形态学改变有利于相反的药物释放行为也是如此。

[0602] 乳液配方中有机相：水相比率的影响：

[0603] 释放曲线以及孔径和多孔性对有机相：水相比率（O：A 比率）范围的改变敏感度低，如上文表 8 显示。应指出考虑到乳液稳定因素，使用 2：1-4：1 O：A 比的相当窄的 O：A 范围。

[0604] 图 21 呈现显示紫杉醇洗脱物纤维状复合结构的药物释放曲线的比较图，证明乳液配方中有机相：水相比率（O：A 比）对药物从复合结构中释放的影响，其中 O：A 比为 4：1 v/v O：A 的乳液的释放曲线用紫红色方形标记，2：1 v/v O：A 用绿色菱形标记。

[0605] 如图 21 显示，药物从用 4：1 v/v O：A 比乳液制备的结构中的释放明显慢于用 2：1 v/v O：A 比乳液制备的结构中的释放速率。提示用 O：A 比高于 4：1 的乳液制备的样品的多孔性可能不够高，不能有效释放不溶于水的药物如紫杉醇。另一方面，用 O：A 比小于 2：1 的乳液制备的样品不够稳定，不能承受制备工艺。例如，用 1.3：1 O：A 比乳液制备的复合结构不够稳定，表现多孔性为 94.2% 的相对大的孔分布，如上文表 8 显示。

[0606] 表面活性剂的影响：

[0607] 用两种表面活性剂 PVA 和 **Pluronic**[®] 研究将表面活性剂加入用于制备复合纤维的乳液中的影响。两种表面活性剂的加入浓度都是 1% w/w。

[0608] 图 22 呈现显示紫杉醇洗脱物复合结构的药物释放曲线的比较图，证明将表面活性剂加入乳液配方对复合结构的药物释放的影响，其中用不含表面活性剂的乳液制备的结构中的药物释放曲线用紫红色方形标记，用 1% **pluronic**[®] 乳液的用蓝色三角形标记，用 1% PVA 乳液的用黑色菱形标记。还加入浓度为 10% w/w 的 **Pluronic**[®]，但释放速率没有再增加（数据未显示）。

[0609] 如图 22 显示，与用没有添加表面活性剂的乳液制备的结构相比，将 **pluronic**[®] 加入乳液中导致药物释放速率和数量增加，而加入 PVA 导致两种参数都降低。如上文提出和讨论，将 **pluronic**[®] 表面活性剂加入乳液内改变了涂层微结构（参阅图 16b），在规则多孔结构域之间引入相对大的空隙，而不是规则的整个均匀结构。规则多孔区之间的这些大空隙（表现为孔径和多孔性增加，如表 8 显示）为药物扩散引入局部连续路径，提示这些路径在使用 **pluronic**[®] 的情况下能够一定程度地增加释放速率和数量。另一方面，PVA 表面活性剂对涂层形态学几乎没有影响，如图 16c 显示，但仍导致释放速率降低。

[0610] 总之，显示多孔涂层中孔的内部表面积影响疏水的小分子生物活性剂如紫杉醇从本文所述复合结构的释放速率。通过调节乳液配方和制备工艺以获得更小和更互联的孔，可得到更大内部表面积的涂层。

[0611] 预测复合纤维中生物活性剂释放的模型

[0612] 在制备本发明复合结构的设计阶段预测本文所述复合结构的生物活性剂释放速率的能力非常重要。因此，本发明者已经开发了数学-物理模型，该模型使用支配本文所述复合结构的生物活性剂释放速率的各种关键参数的物理数值。这些参数包括涂层中生物活性剂的相对浓度、与涂层多孔性密切相关的曲折因子、芯和涂层的物理尺寸以及涂层-聚

合物组成。

[0613] 上文详细描述了数学模型,用于确证该模型的实验数据采自上文所述 HRP 洗脱物复合结构的实例。采自 Wu 等研究 [Part II:Biodegradation,Journal of Biomaterials Science-Polymer edition 2001;12(1):21-34] 的研究数据用于内插,以便很好地评估初始分子量为 100kDa 的 75/25PDLGA 的降解曲线。

[0614] 作为乳液特征的函数的释放速率的预测:

[0615] 图 23a-e 呈现五组比较图及其平均误,显示下列每种复合纤维状结构的实验释放曲线(红色曲线)和预测 HRP 释放曲线(蓝色曲线)的比较:具有生物可降解芯(计算时不包括)和用乳液制备的涂层的结构,所述乳液包含 8:1 的 O:A 比和 15% w/v 聚合物含量(图 23a)、8:1 的 O:A 比和 19% w/v 聚合物含量(图 23b)、16:1 的 O:A 比和 13% w/v 聚合物含量(图 23c)、16:1 的 O:A 比和 15% w/v 聚合物含量(图 23d)以及 16:1 的 O:A 比和 19% w/v 聚合物含量(图 23e)。

[0616] 如图 23b-e 显示,所有研究结构都普遍实现预测与实验测量数值之间很好的拟合(参阅图 23a)。因此,这些结果支持关于以 Fick's 定律为基础的模型预测适当的第一模型假定。

[0617] 下文表 9 呈现用于图 23 所示研究的五种结构的乳液参数,以及其半经验聚合物浓度 C_p 和每种样品纤维的曲折因子 τ 。

[0618] 表 9

[0619]

纤维类型	乳液有机相: 水相比率 (O:A)	有机相的聚合物含量 (% w/v)	C_p	τ
A	8:1	15%	0.29	3.3
B	8:1	19%	0.58	7.0
C	16:1	13%	0.54	8.0
D	16:1	15%	0.8	11.0
E	16:1	19%	1.4	21.0

[0620] 如上文讨论,用恒定有机相体积与两种不同水相体积制备两种基本的乳液类型,即 O:A 比为 8:1 和 16:1。用 16:1 的更高 O:A 比制备的结构表现更曲折的扩散路径,导致曲折因子的数值更高,如上文表 9 显示。而且,8:1 和 16:1 O:A 比中的曲折因子都随聚合物含量增加而增加。因此,增加乳液 O:A 比即降低水相体积或者增加聚合物含量,都引起供扩散的自由空间减少,导致曲折因子更高,转而降低生物活性剂从结构涂层中的释放速率。这些结果与第二模型假定符合,乳液配方参数影响生物活性剂释放曲线。

[0621] 因为更高的聚合物含量产生具有更粘稠和密集有机相的乳液,所以认为所得实体多孔结构将吸收更少水,导致水解减慢从而降解减慢,产生更短和更缓和的突破效应。按照这种假定,将 C_p 引入模型中以改变多孔结构的降解速率。这也得到实验结果的支持,该结果证明随着聚合物含量增加,涂层基体的降解减少,产生更小的初始突发释放。

[0622] 将不同复合结构的 C_p 和 τ 值相比,可说明工艺条件对检测其微结构所评估的这些参数的影响。如上文表 9 显示,用 O:A 比为 16:1 和 15% w/v 聚合物含量乳液制备的样品的 C_p 值是用 O:A 比为 8:1 的乳液制备的样品的 2.8 倍,对于用 19% w/v 聚合物含量制备的结构,16:1 O:A 比样品的 C_p 是用 8:1 O:A 比乳液制备的样品的 2.4 倍。

[0623] 在 τ 可看到类似倾向,如上文表 9 显示,其中用 O:A 比为 16:1 和聚合物含量

为 15% w/v 的乳液制备的样品的 τ 值是 8 : 1 样品的 3.3 倍,对于用聚合物含量 19% w/v 制备的纤维,用 0 : A 比 16 : 1 的乳液制备的样品的 τ 值是用 0 : A 比 8 : 1 的乳液制备的纤维的 3.0 倍。两种参数都作为聚合物浓度函数,这种一致的行为与某些试验校准曲线和可用以进一步简化模型的数学函数相结合,可简化该模型,并验证其合理性和预测能力。

[0624] 作为聚合物分子量函数的释放速率的预测:

[0625] 除了实际用于上文所述实验的 100kDa 的标准平均分子量之外,用 40kDa 和 160kDa 的初始平均分子量的降解曲线检测 PDLGA 分子量对释放速率的影响。根据 Wu 等的实验结果进行内插,得到这些降解曲线,如图 24 显示。

[0626] 图 24 呈现用三种类型 PDLGA 聚合物制备的纤维涂层的降解速率比较图(数据采自 Wu 等),其中绿色曲线表示 160kDa 分子量聚合物的降解速率,蓝色曲线表示 100kDa 聚合物,红色曲线表示 40kDa PDLGA 聚合物。

[0627] 图 25a-e 呈现显示复合结构的预测 HRP 释放曲线的五组比较图,复合结构由三种类型 75/25PDLGA 聚合物制备,所述聚合物分别具有 40kDa 分子量(红色曲线)、100kDa 分子量(蓝色曲线)和 160kDa 分子量(绿色曲线),并且复合结构由以下乳液制备:具有 8 : 1 的 0 : A 比和 15% w/v 聚合物含量(图 25a)、8 : 1 的 0 : A 比和 19% w/v 聚合物含量(图 25b)、16 : 1 的 0 : A 比和 13% w/v 聚合物含量(图 25c)、16 : 1 的 0 : A 比和 15% w/v 聚合物含量(图 25d)以及 16 : 1 的 0 : A 比和 19% w/v 聚合物含量(图 25e)。

[0628] 如图 25a-e 显示,初始分子量降低导致所有测试样品的 HRP 释放速率增加。这种预测符合逻辑并与实验结果一致,因为较低的初始分子量聚合物将随着降解进行而产生较短的聚合物链,提高药物释放速率。应指出在这些预测中突发释放值几乎不受初始平均分子量影响,主要因为这些预测的计算中唯一改变的参数是基体降解曲线,而曲折因子相同,对 100kDa 纤维类型进行计算而得。然而,预期曲折因子可随分子量增加而增加。

[0629] 作为蛋白质分子量函数的释放速率的预测:

[0630] 还用本文所述数学模型研究对应于其大小的生物活性剂分子量对其从各种纤维状复合结构的释放曲线的影响。

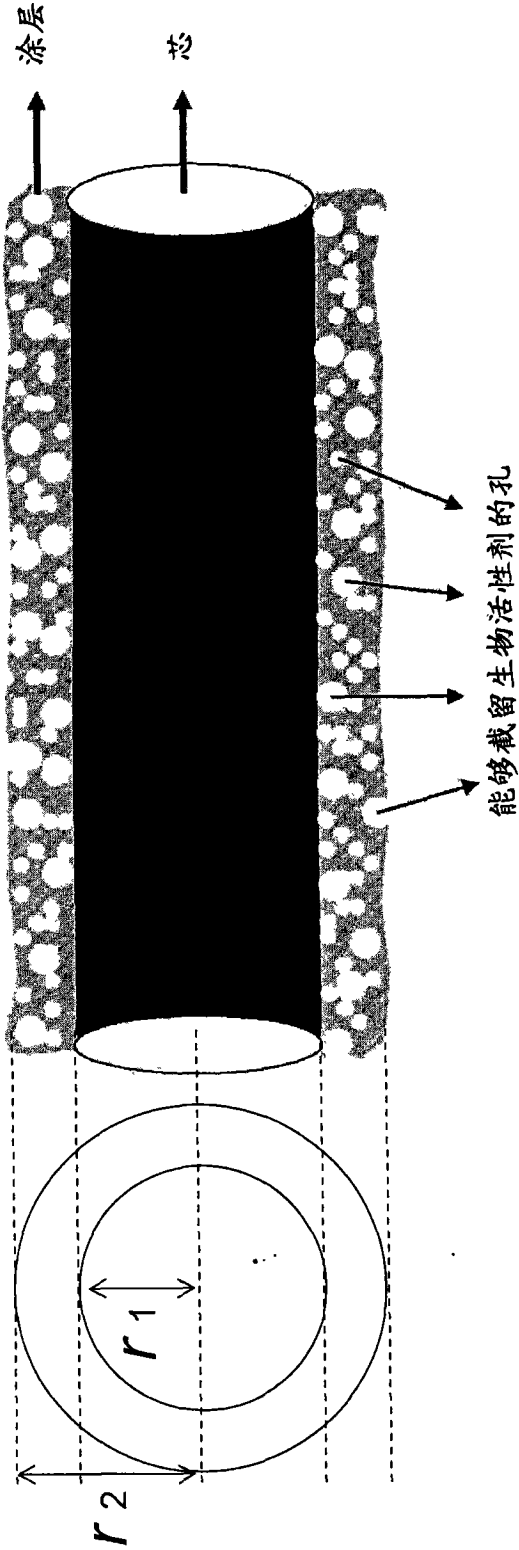
[0631] 图 26a-b 呈现两组比较图,显示生物活性剂分子量对其预测释放曲线的影响,使用分子量为 22kDa(红色曲线)、44kDa(蓝色曲线)和 160kDa(绿色曲线)的三种模型蛋白,从用 5% w/w 模型蛋白、19% w/v 聚合物含量和 8 : 1 0 : A 比(图 26a)以及 16 : 1 0 : A 比(图 26b)的乳液制备的复合结构涂层释放。

[0632] 如图 26a-b 显示,预测曲线证明随着其分子量增加,蛋白质的释放速率降低,即高分子量蛋白质表现较低的扩散系数,导致在水中的迁移速率较低。因为蛋白质通过在水中扩散释放,所以较低的扩散系数将导致较低释放速率。这些结果支持第二模型假定,说明释放曲线受两种系统成分即生物活性剂和涂层大小的影响,生物活性剂大小对其释放曲线的影响显然高于宿主聚合物初始平均分子量的影响。

[0633] 应理解为明确起见而描述于分开的实施方案正文中的某些本发明特征也可在单个实施方案中联合提供。相反,为了简要而描述于单个实施方案正文中的各种本发明特征也可分开或以任何合适的亚组合形式提供。

[0634] 虽然已经结合具体实施方案描述了本发明,但显然本领域技术人员将清楚多种改变、修饰和变更。因此,意欲包括落在附属权利要求的主题和范围内的所有此类改变、修饰

和变更。本说明书提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用在说明书中而完全结合到本文中,如同每种具体出版物、专利或专利申请特别和具体标明将通过引用结合到本文中。此外,在本申请中任何文献的引用或认同不应视为承认此类文献能够作为本发明的现有技术。



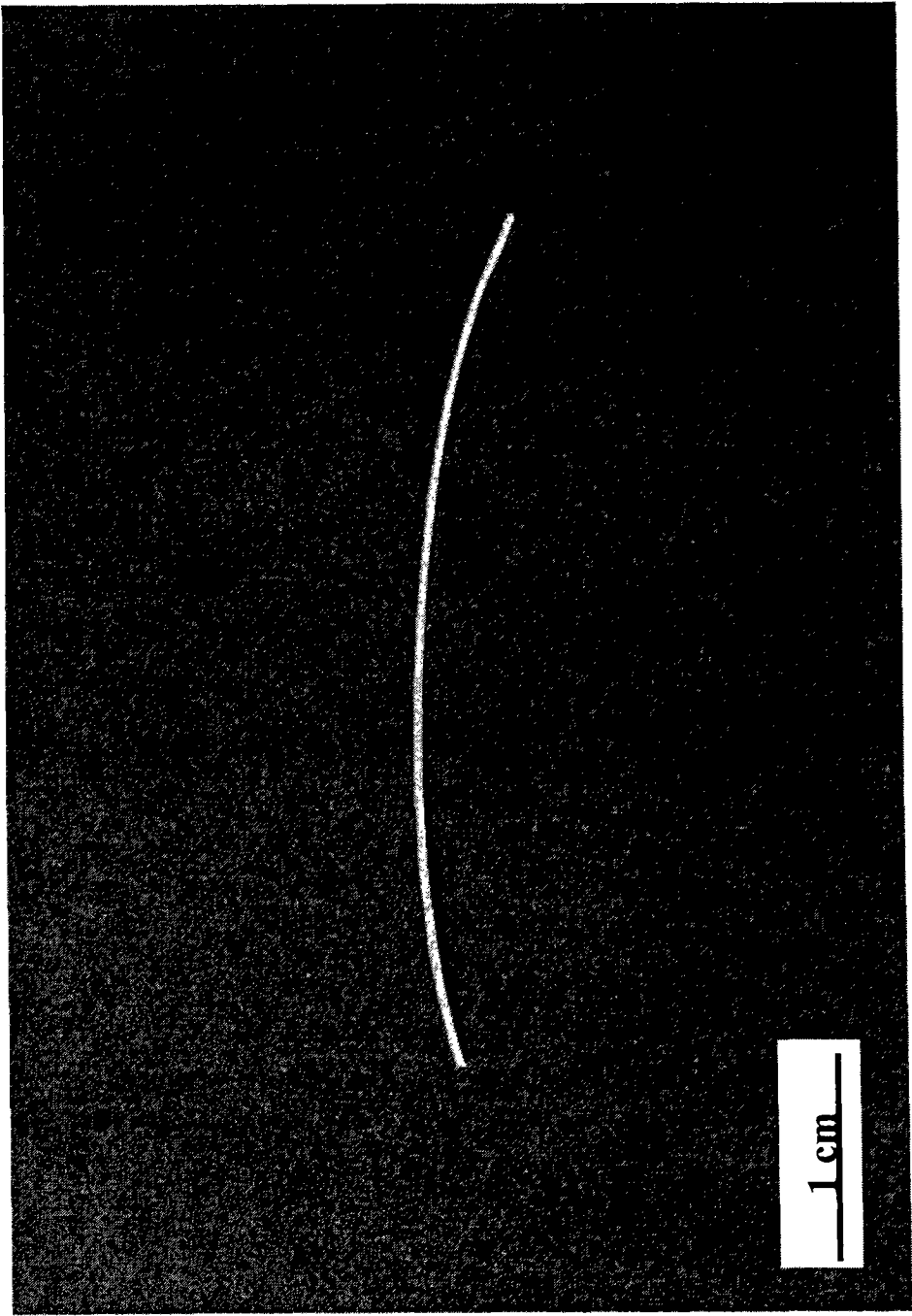


图 2

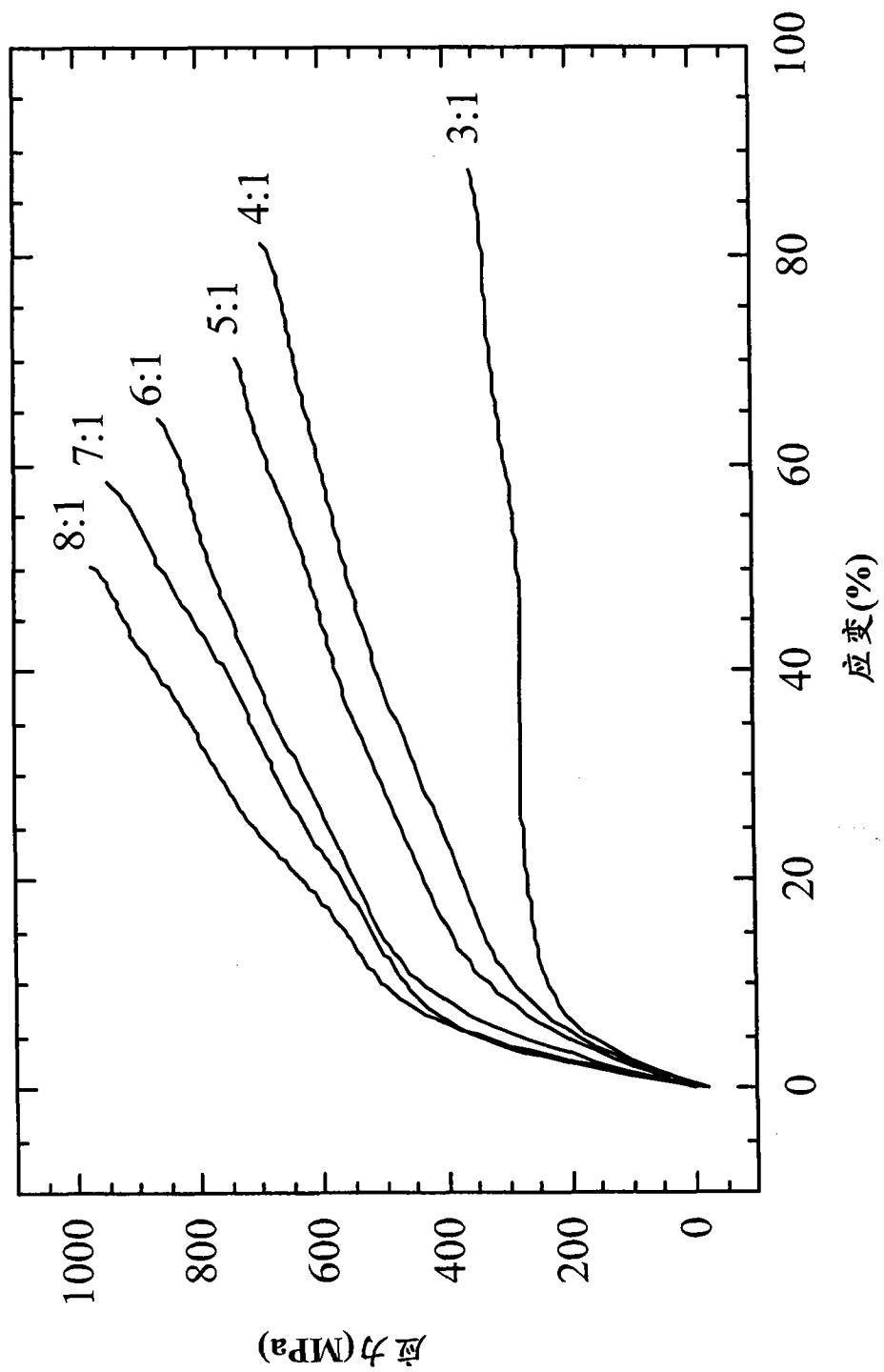


图 3

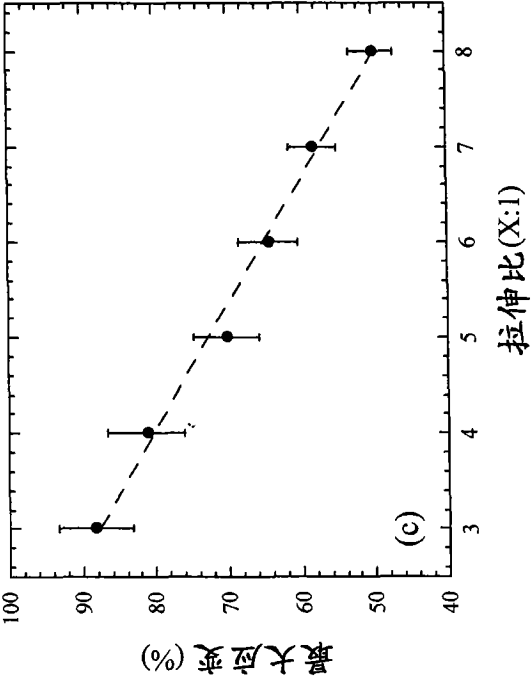
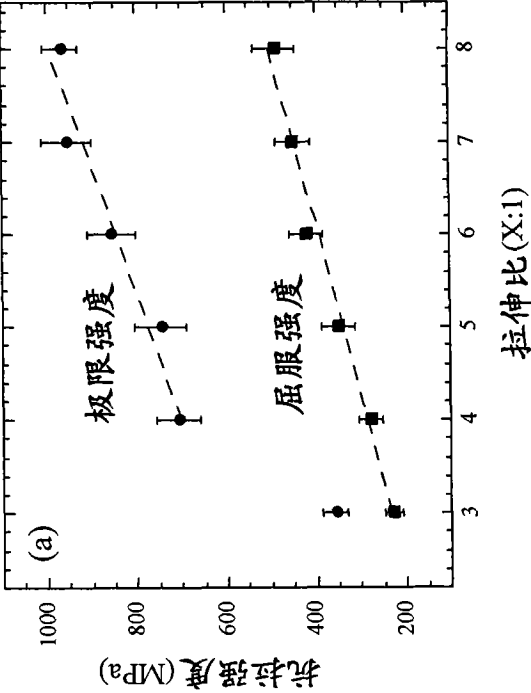
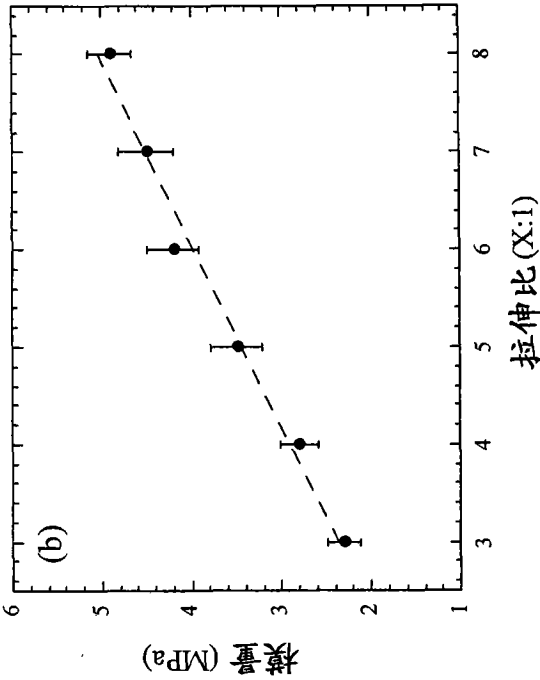


图 4

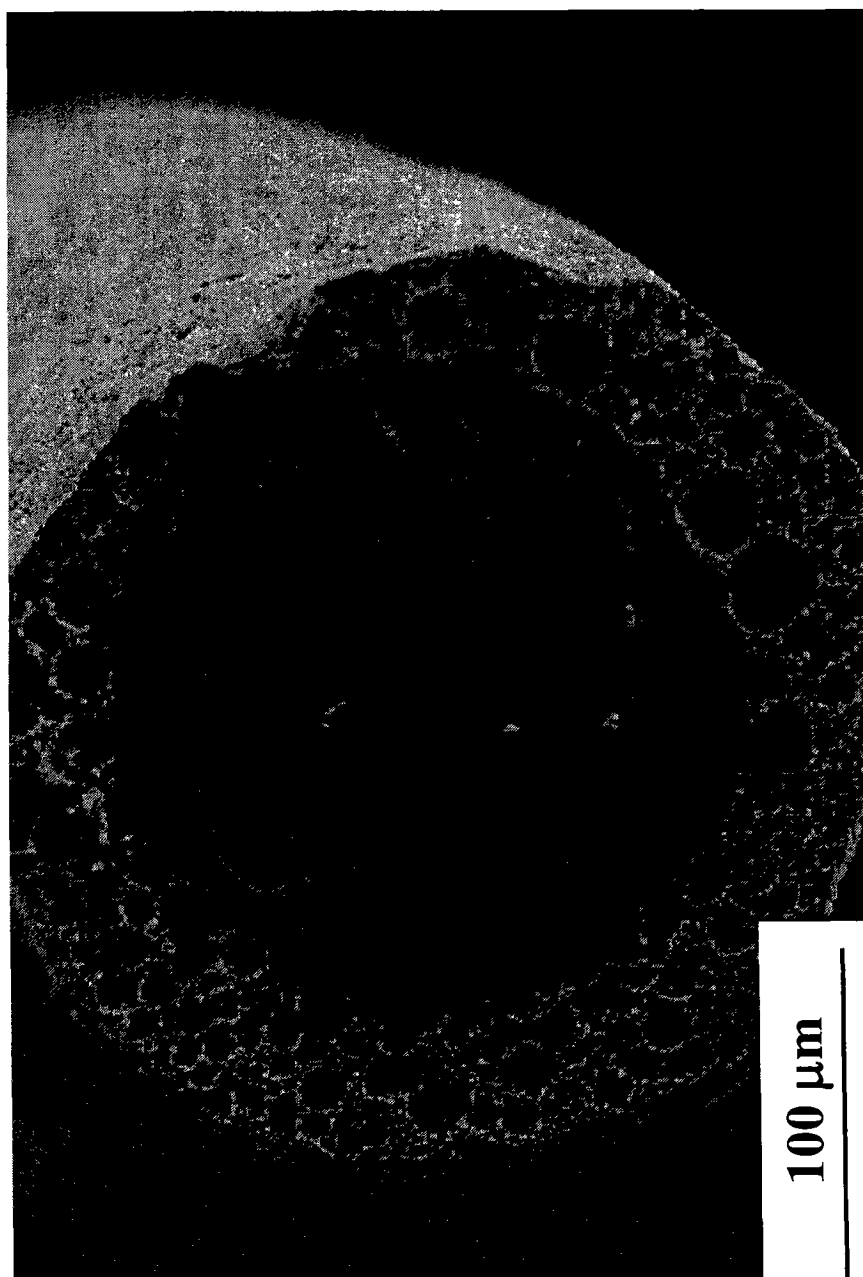


图 5

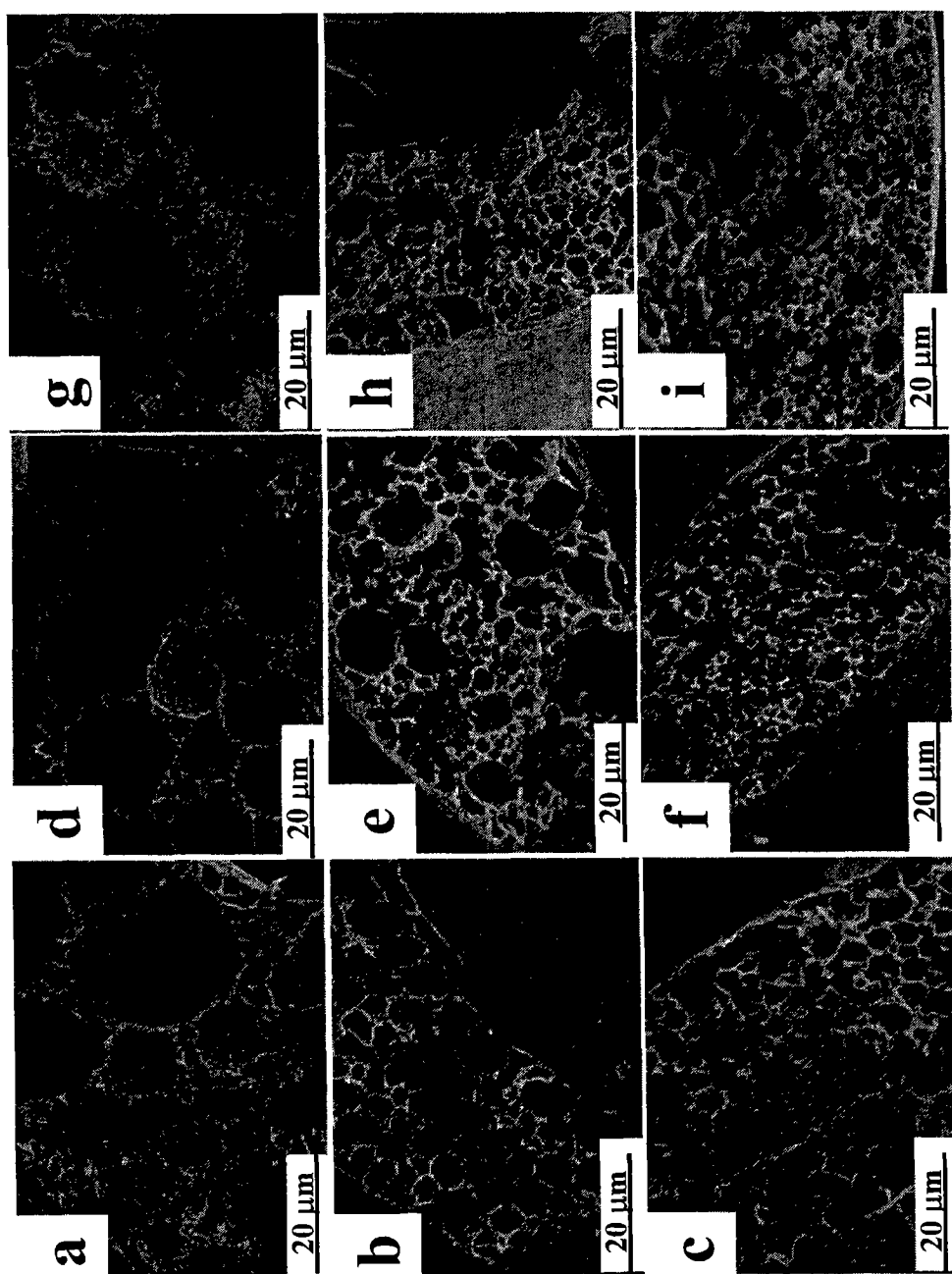


图 6

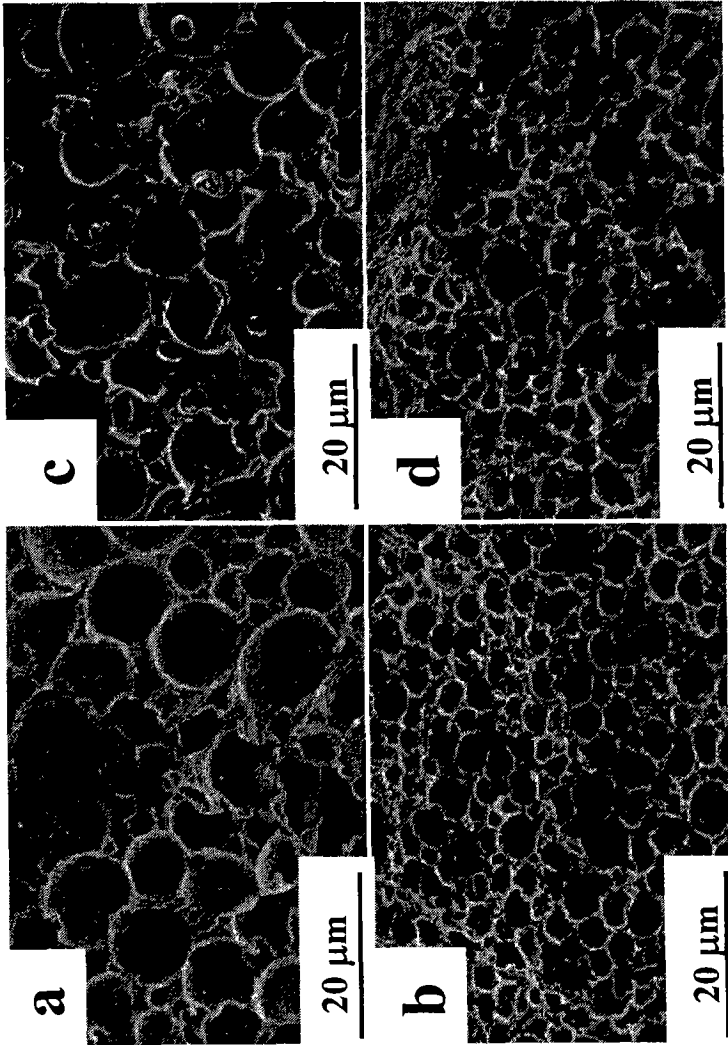


图 7

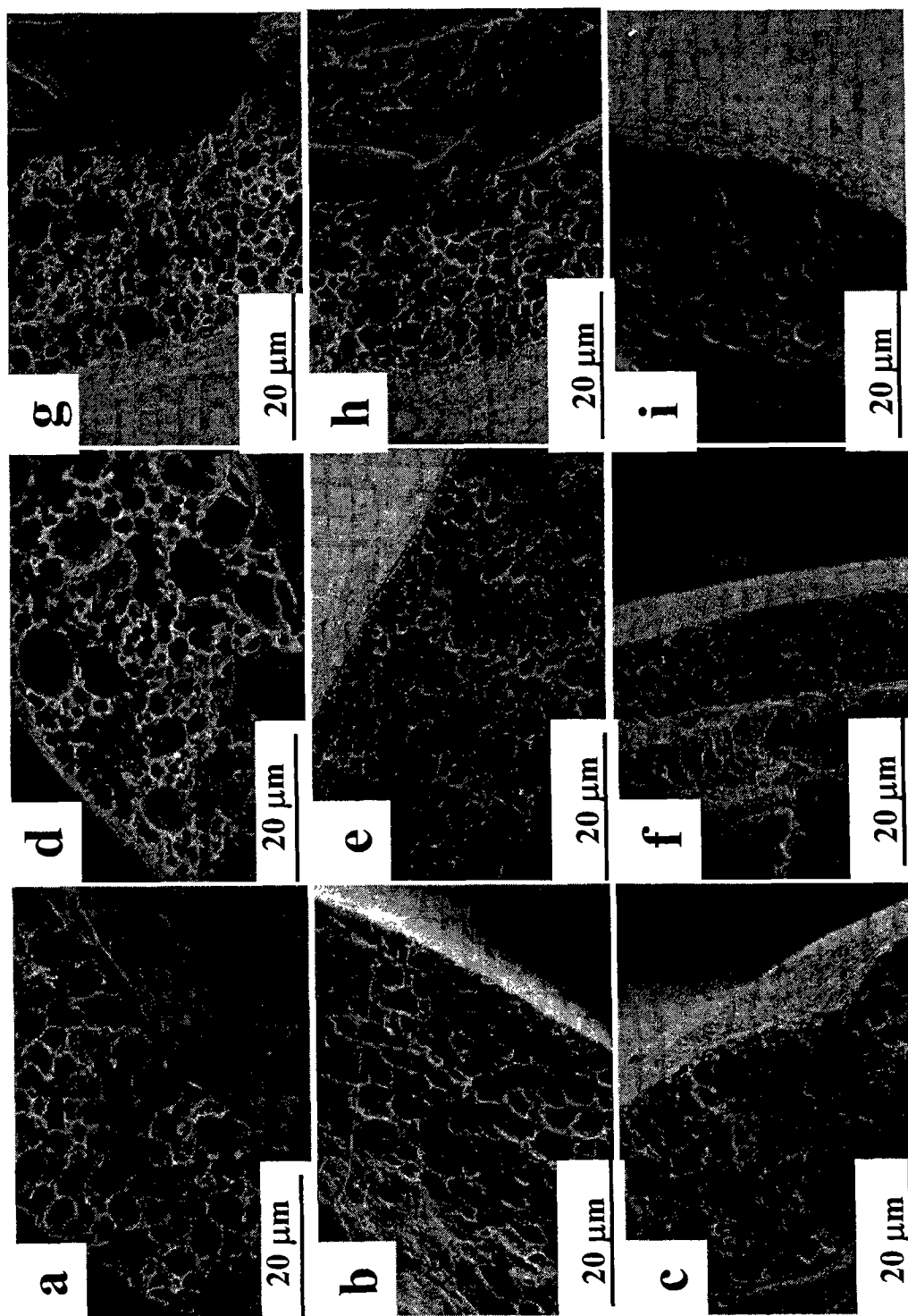


图 8

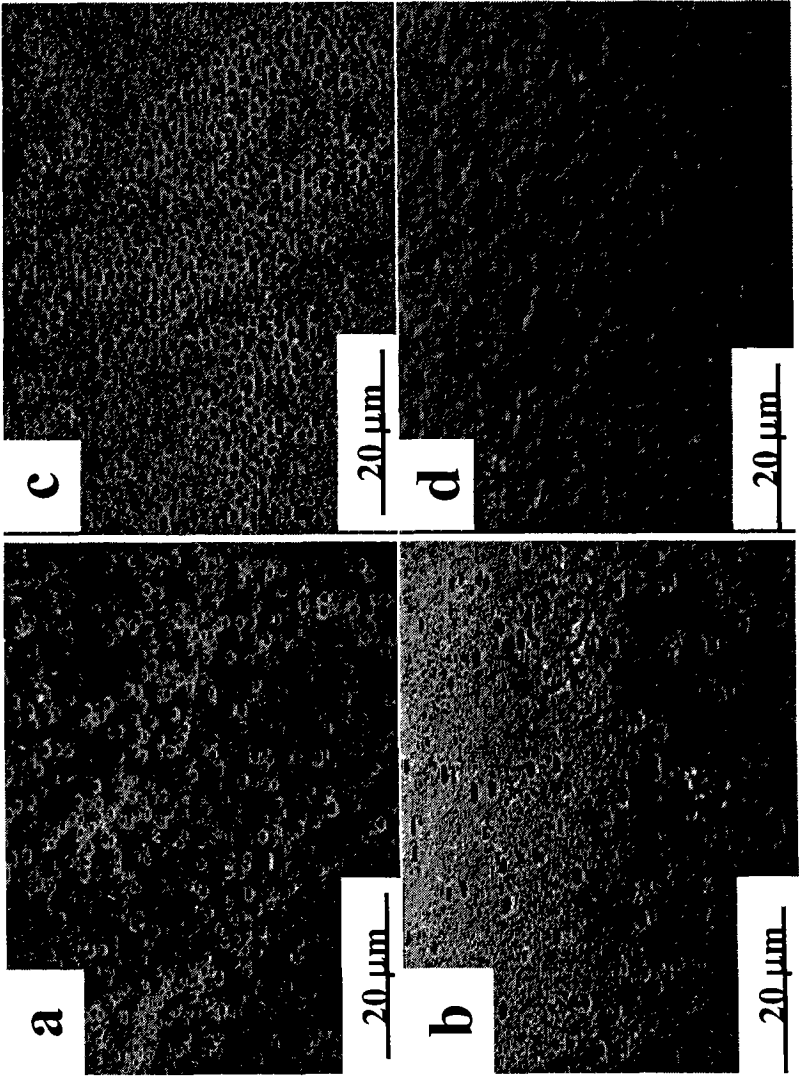


图 9

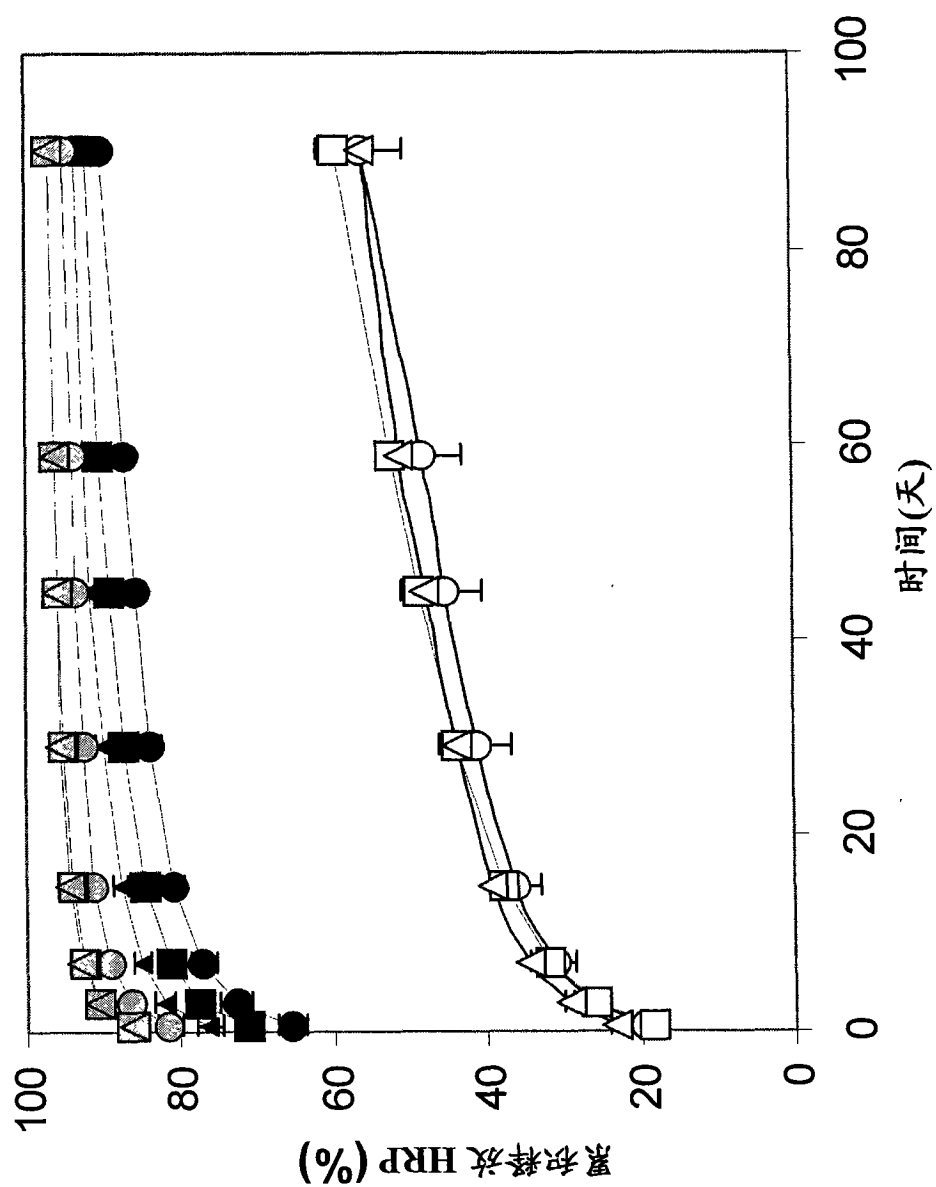


图 10

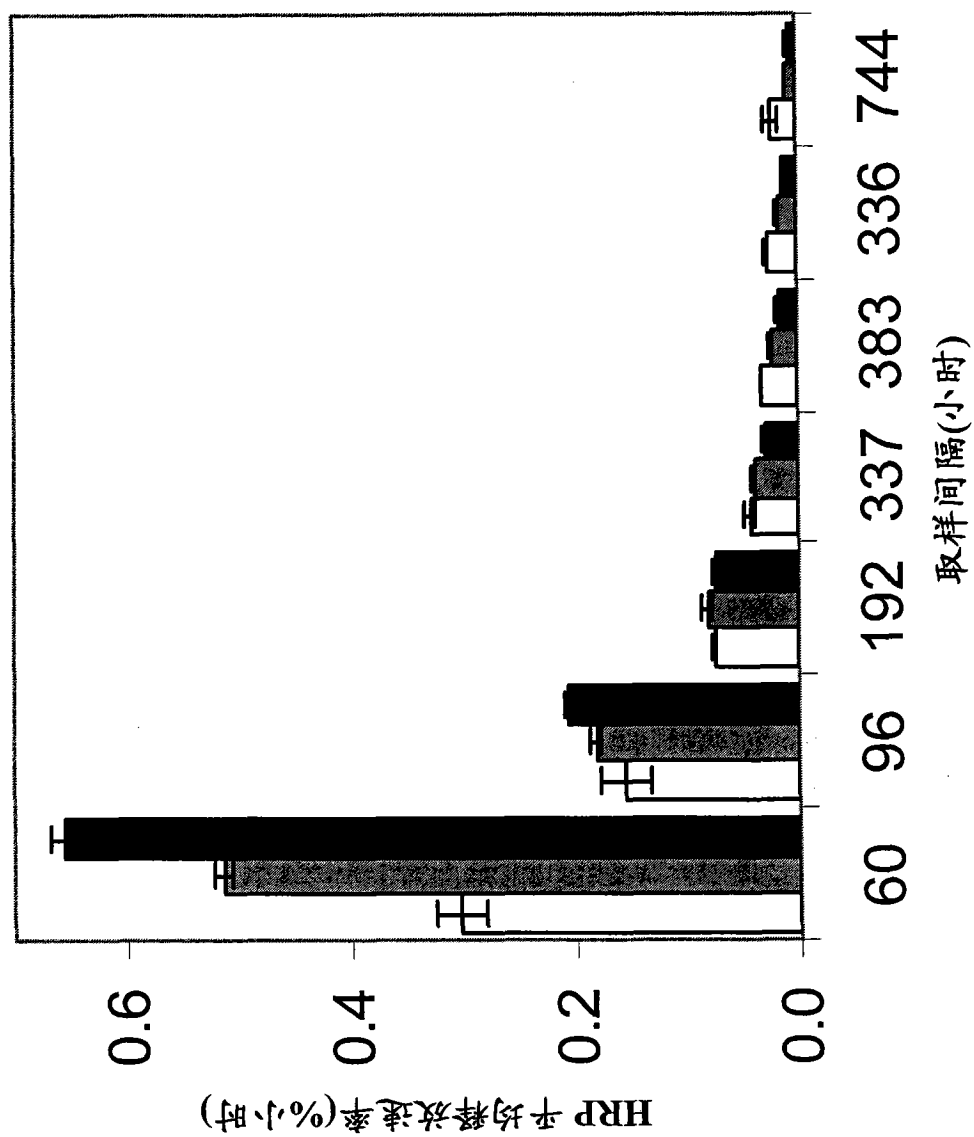


图 11

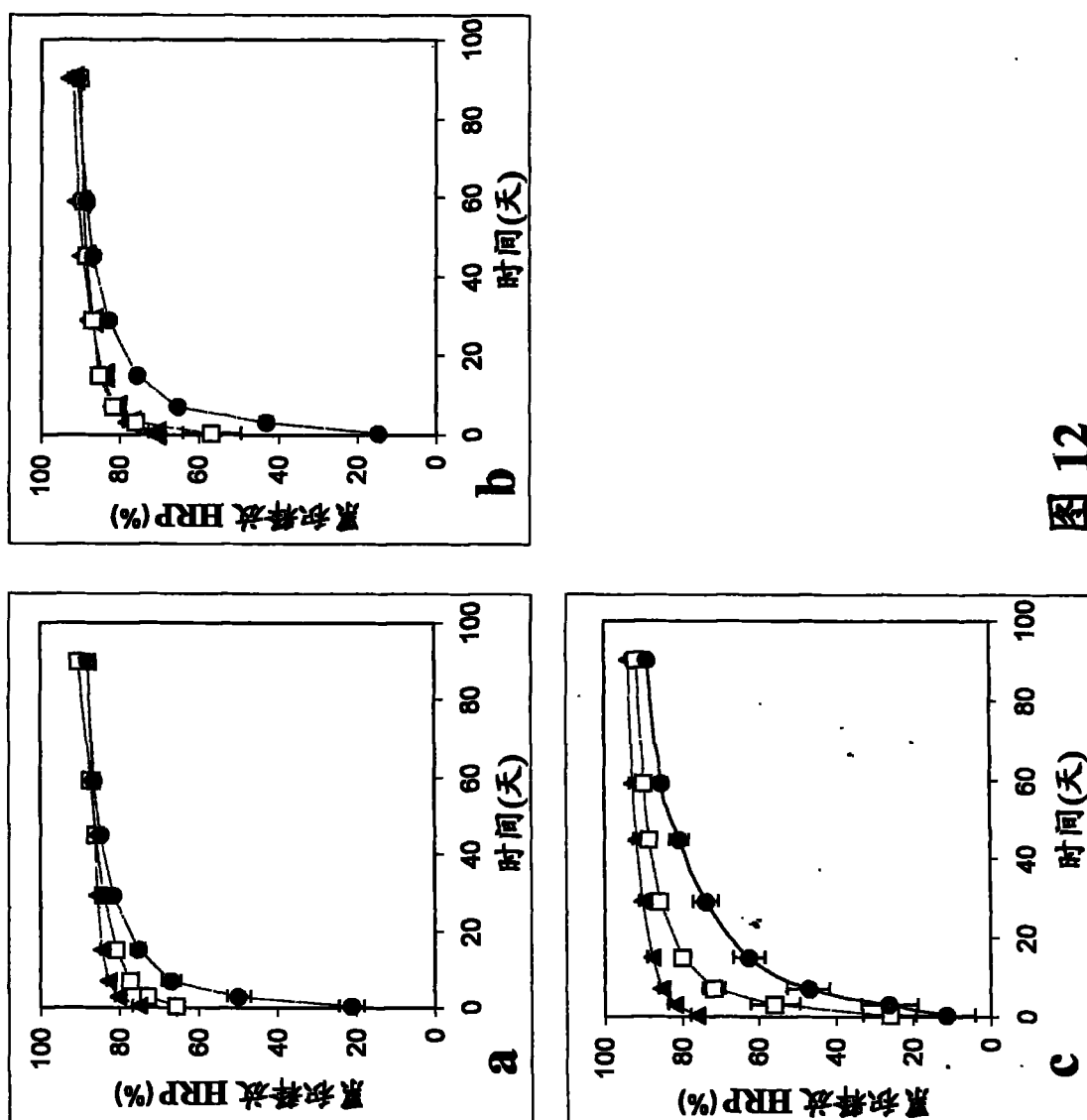


图 12

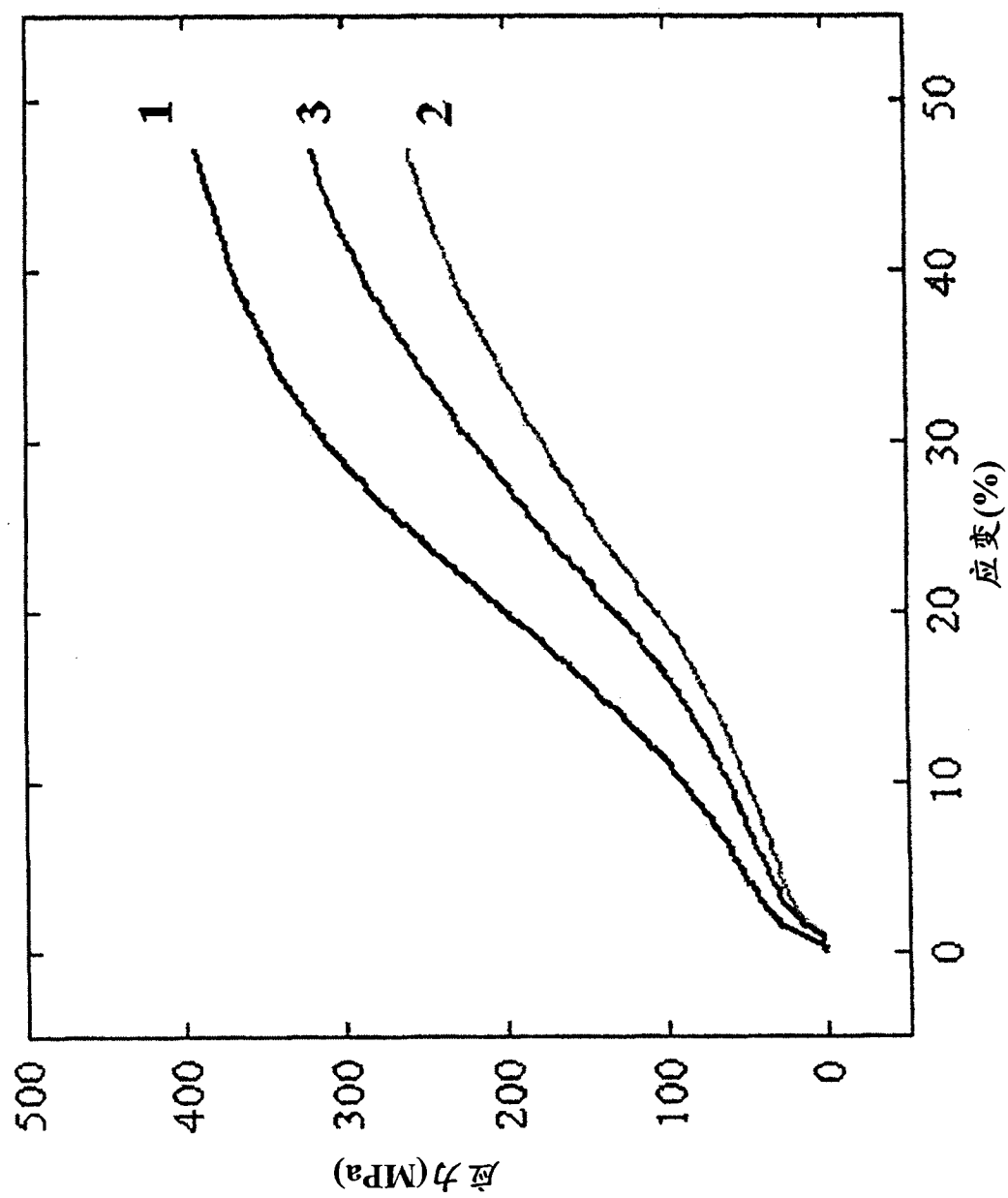


图 13

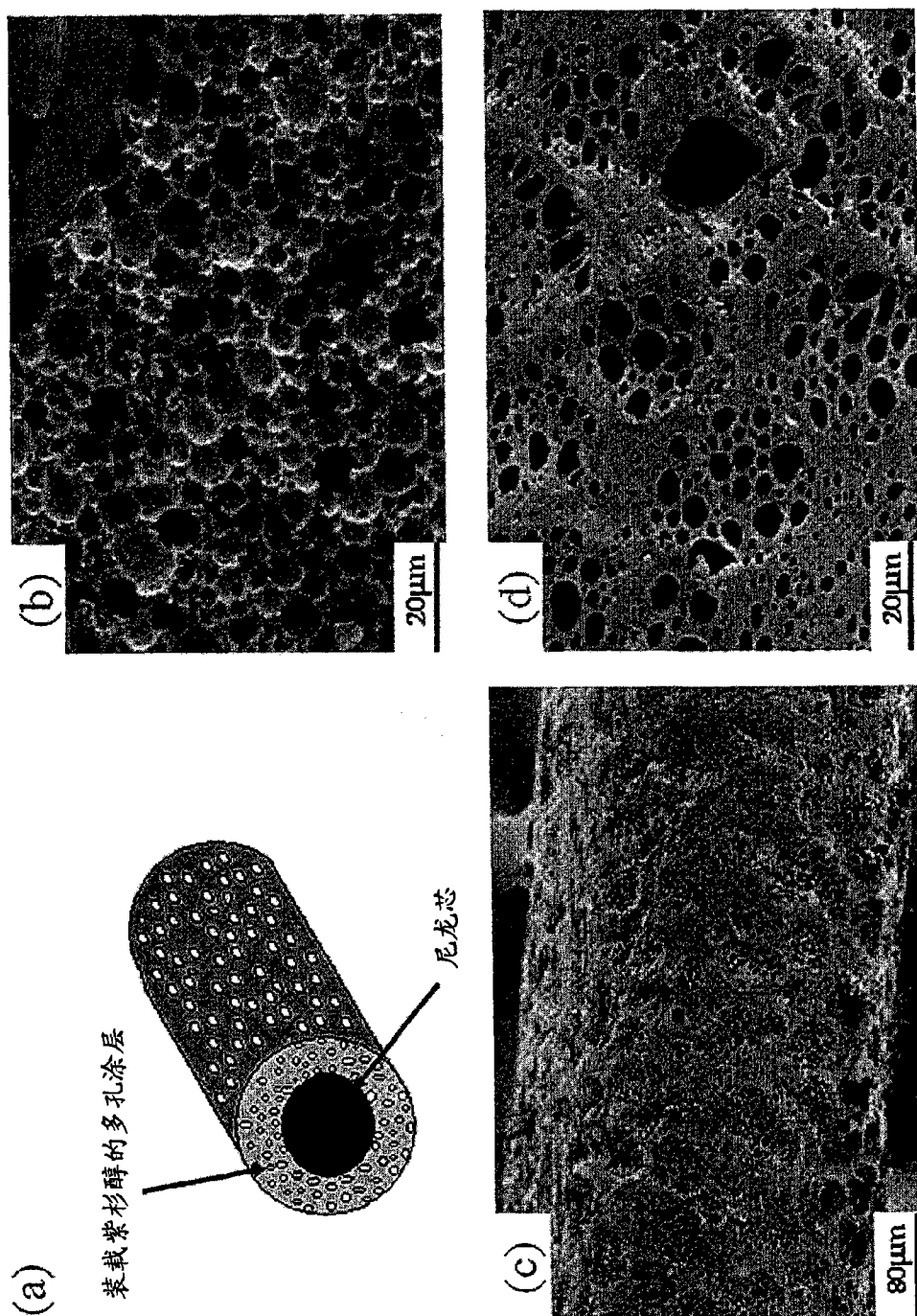


图 14

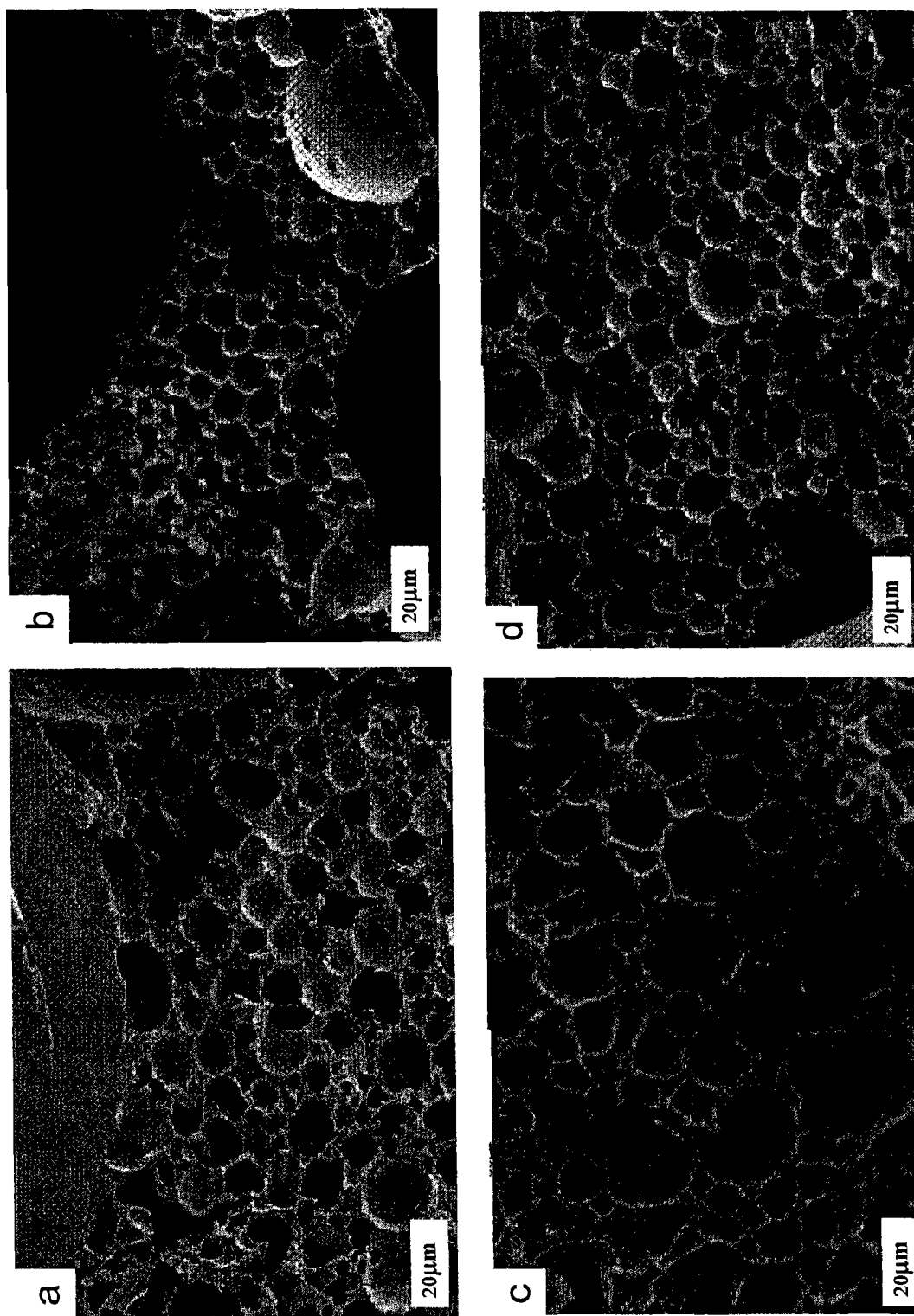


图 15

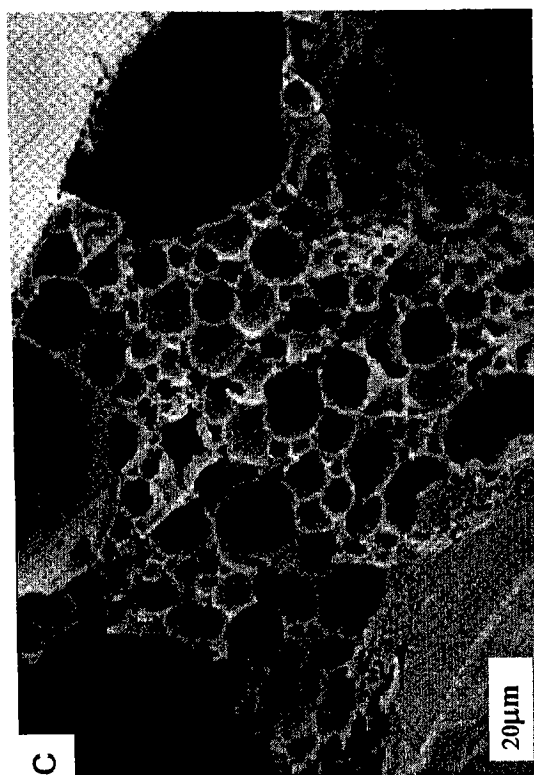
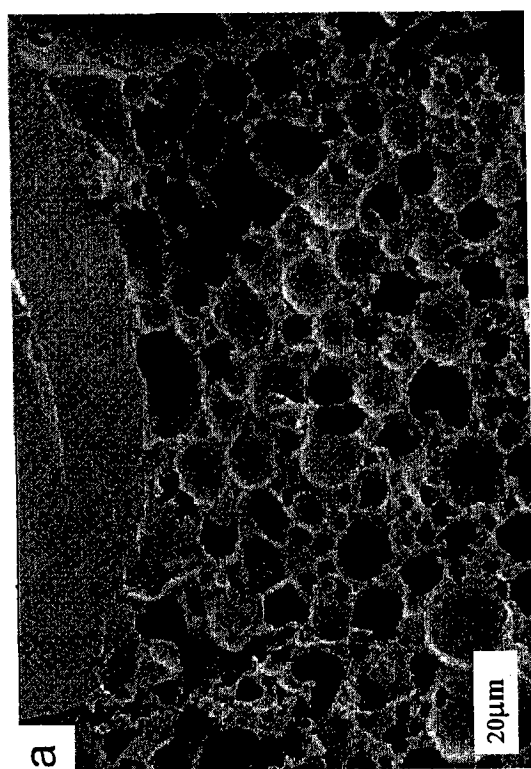
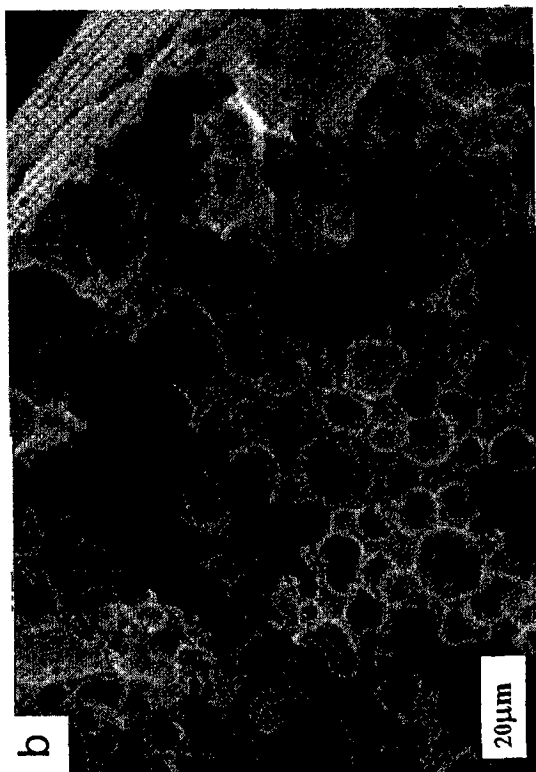


图 16

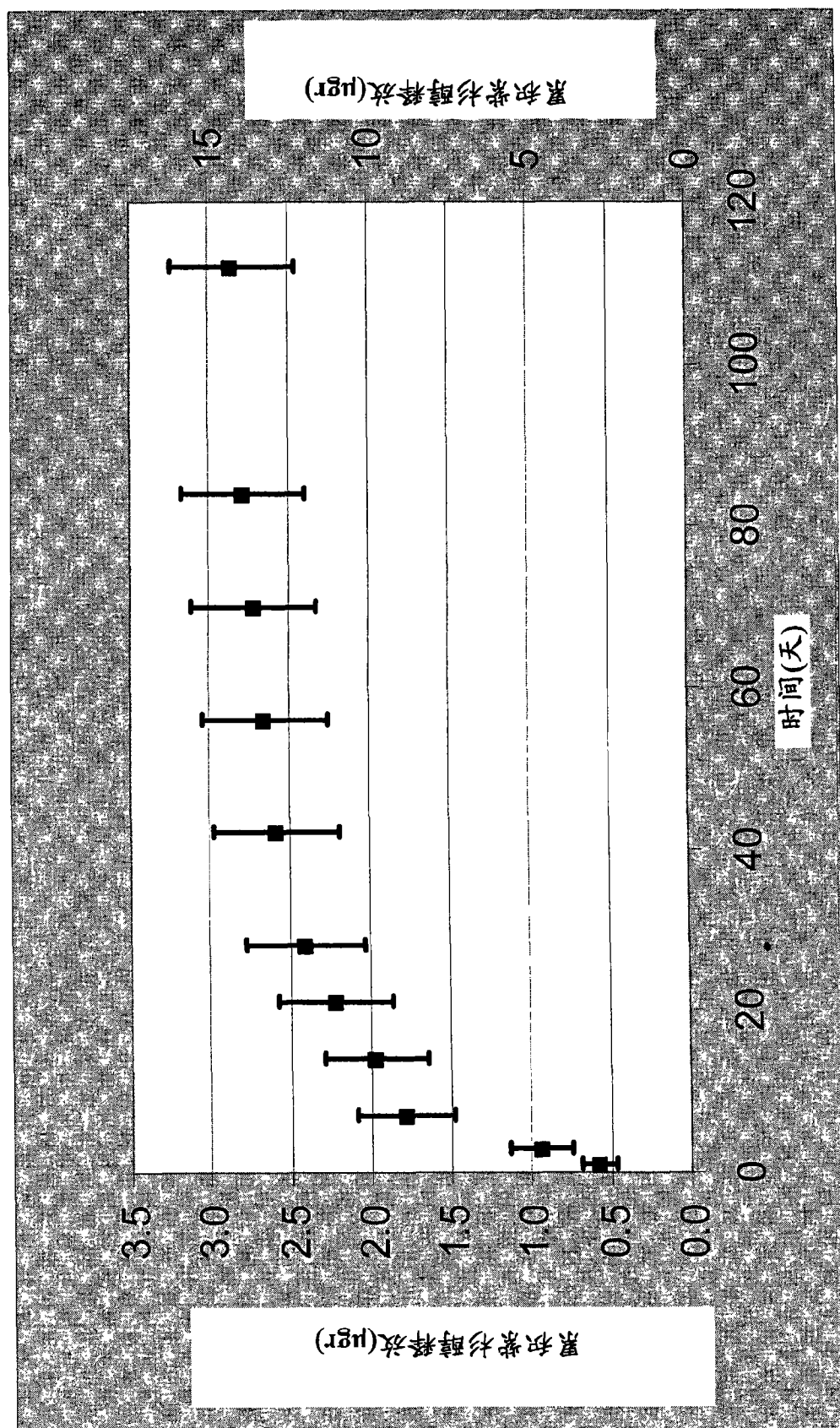


图 17

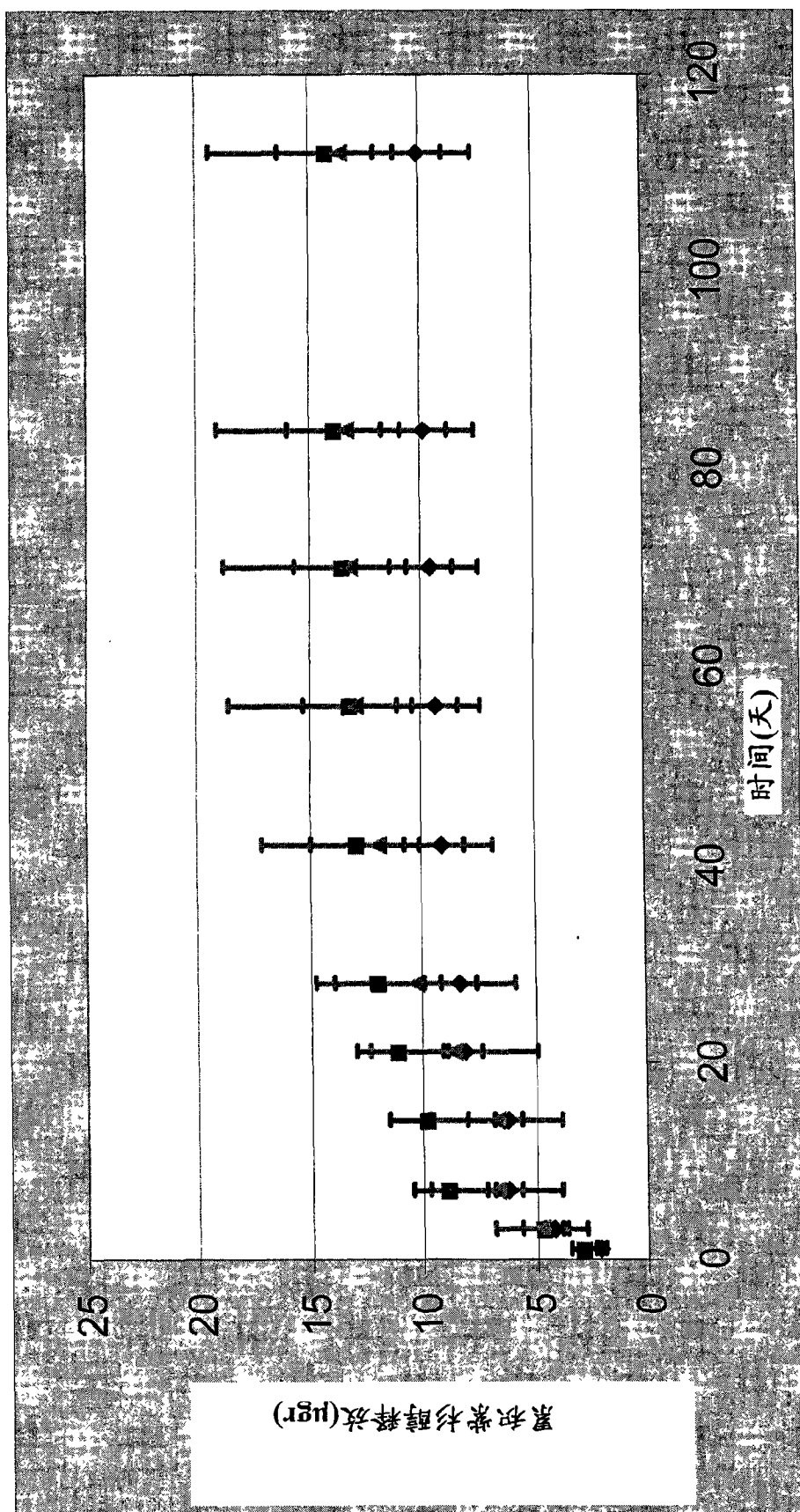


图 18

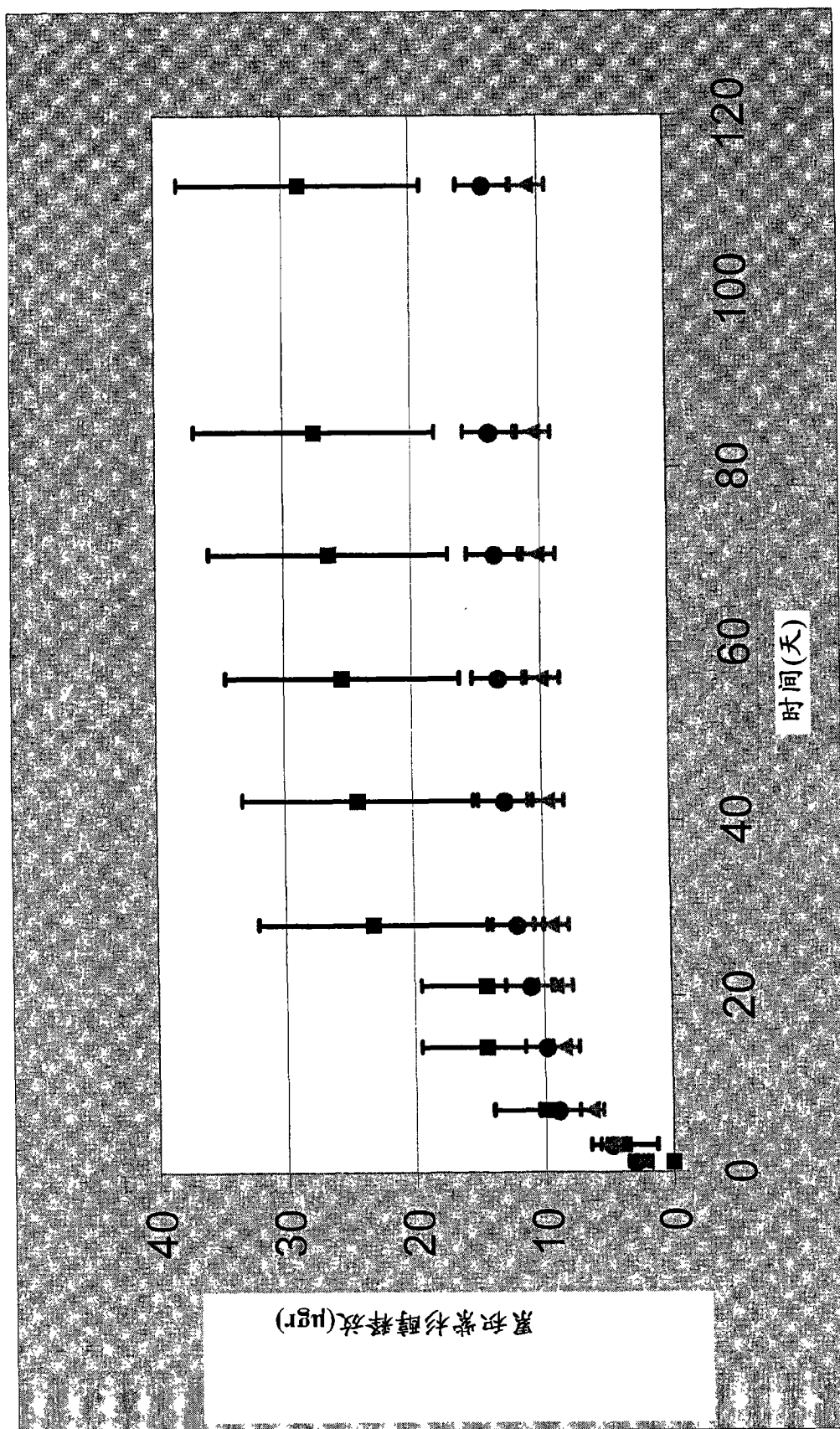


图 19

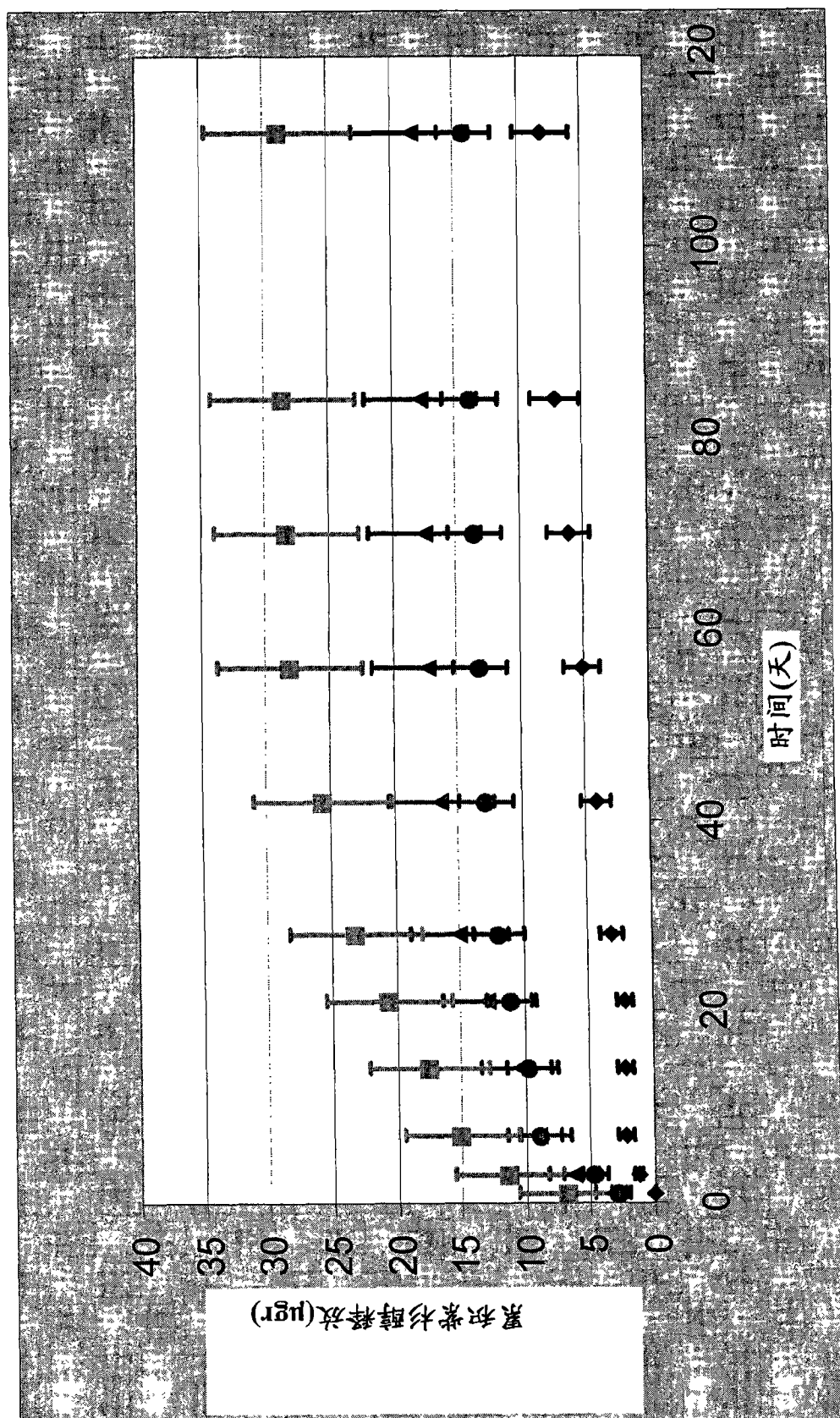


图 20

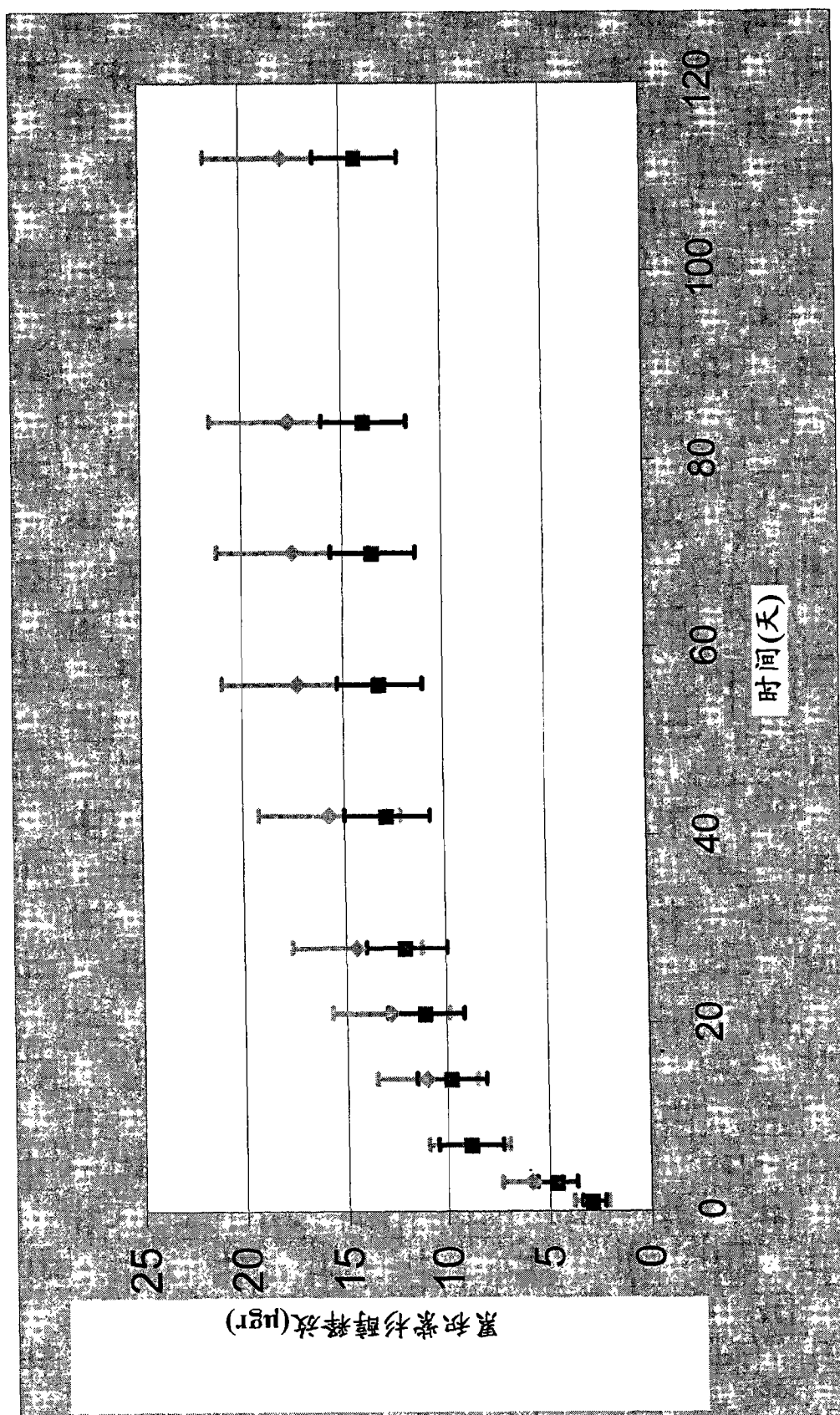


图 21

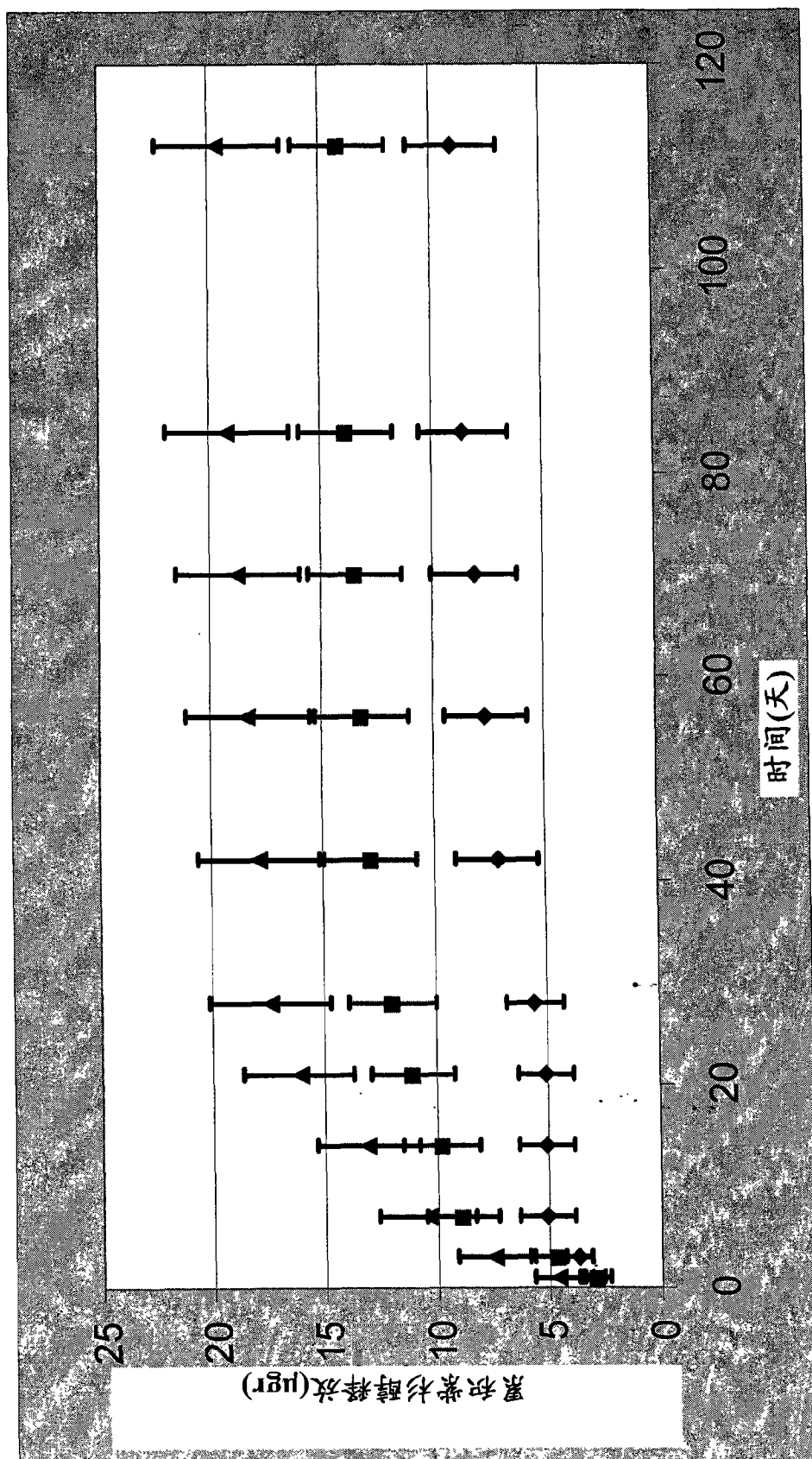


图 22

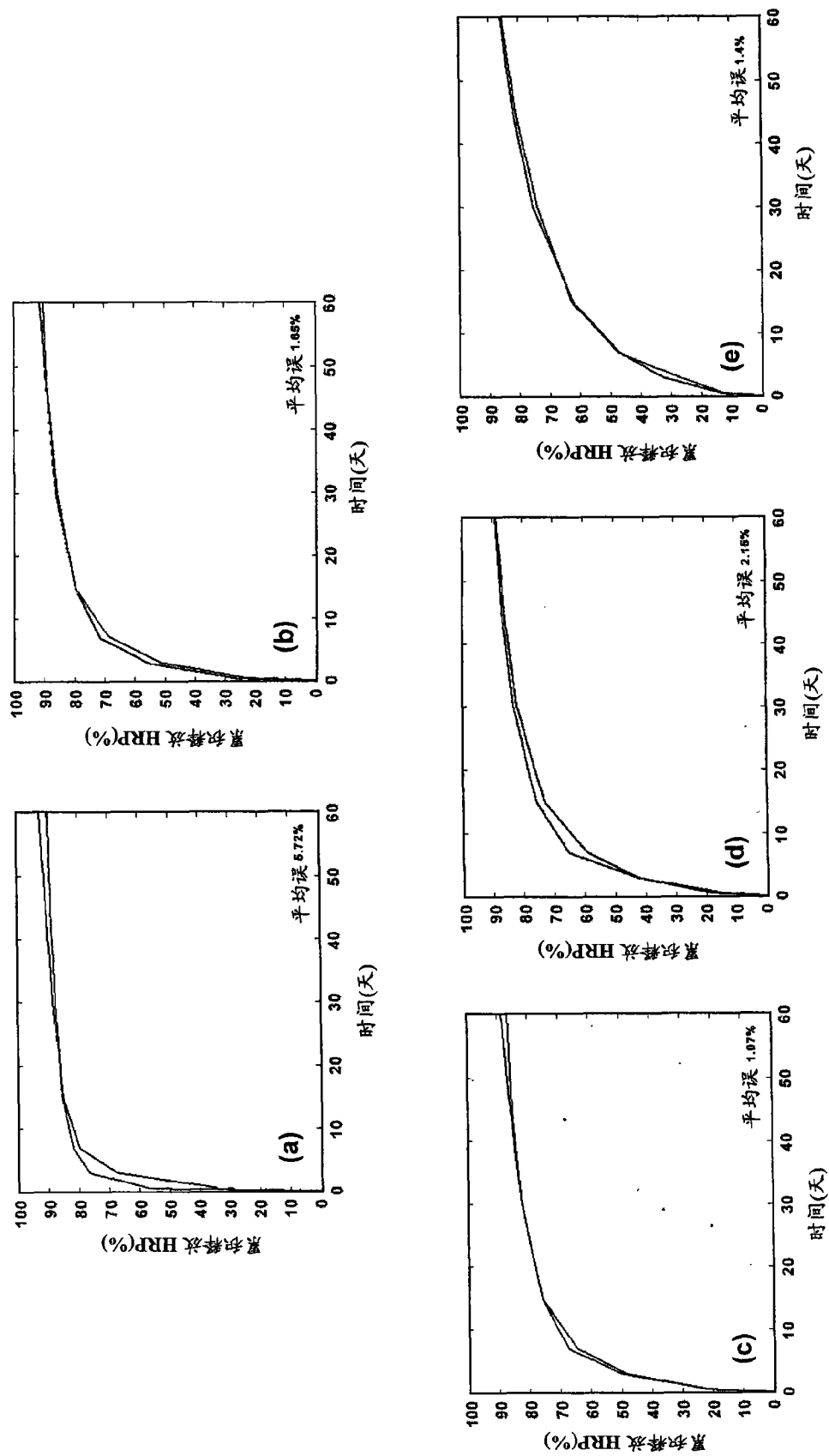


图 23

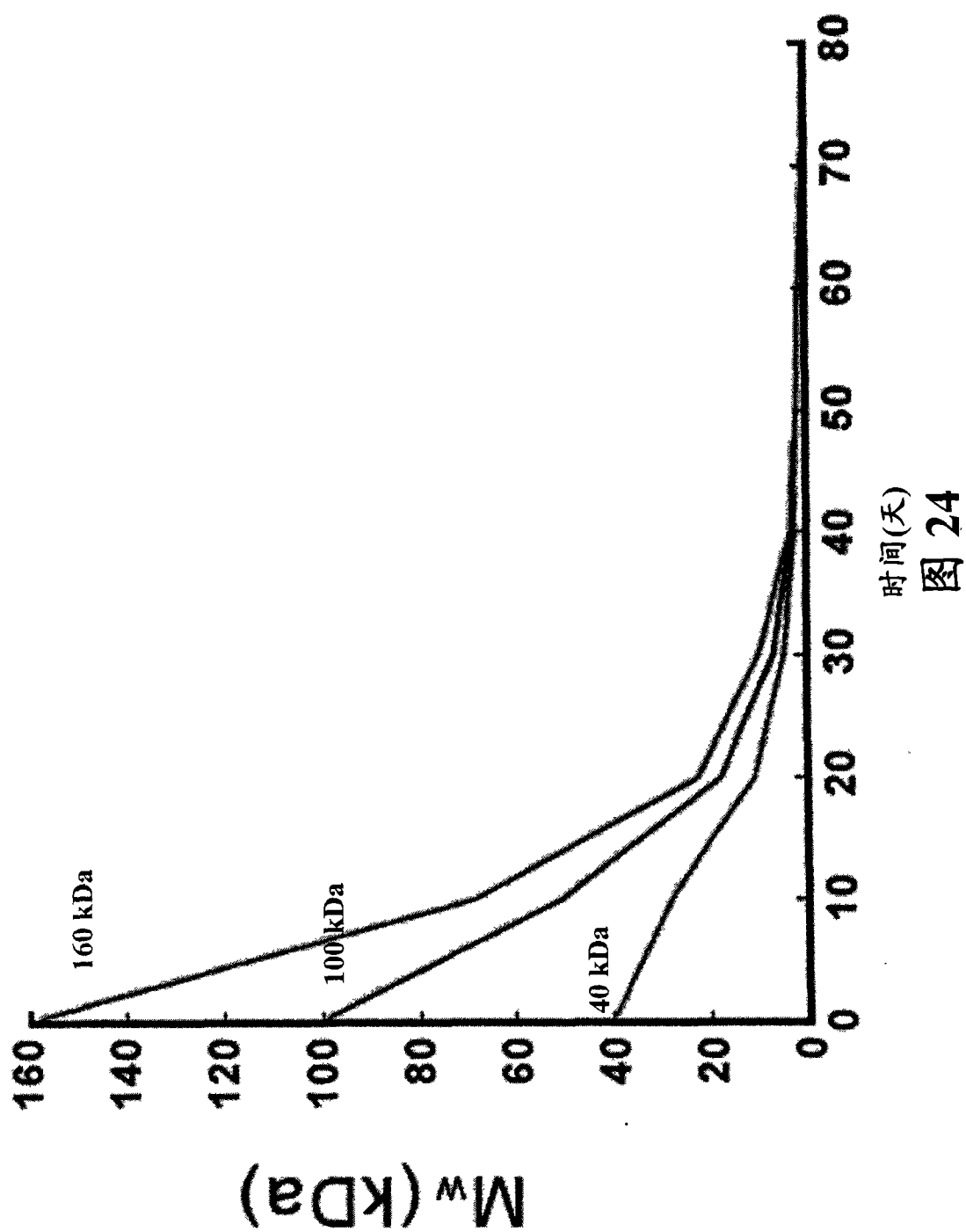


图 24

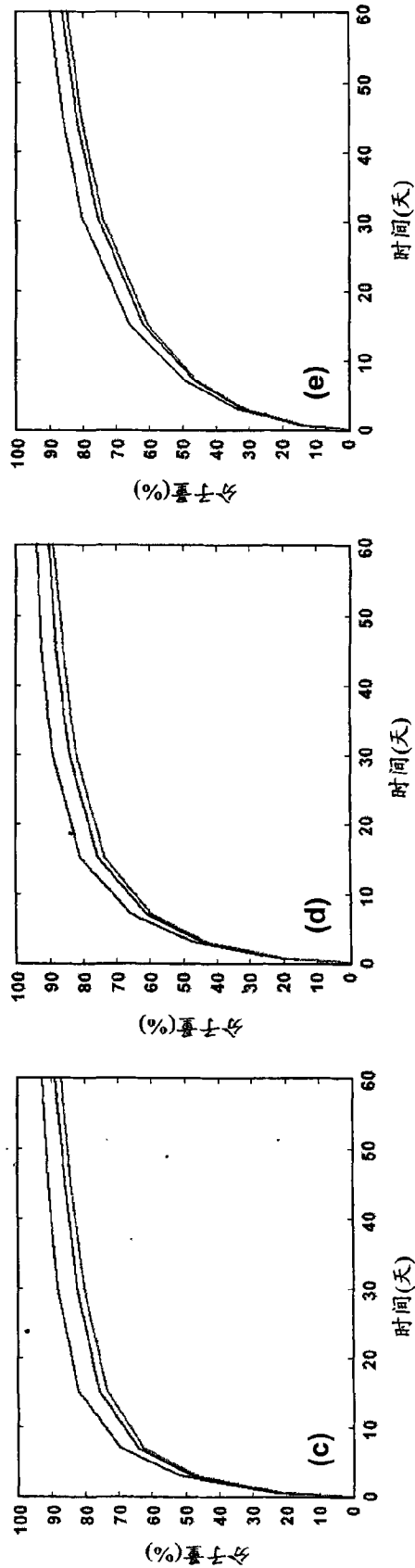
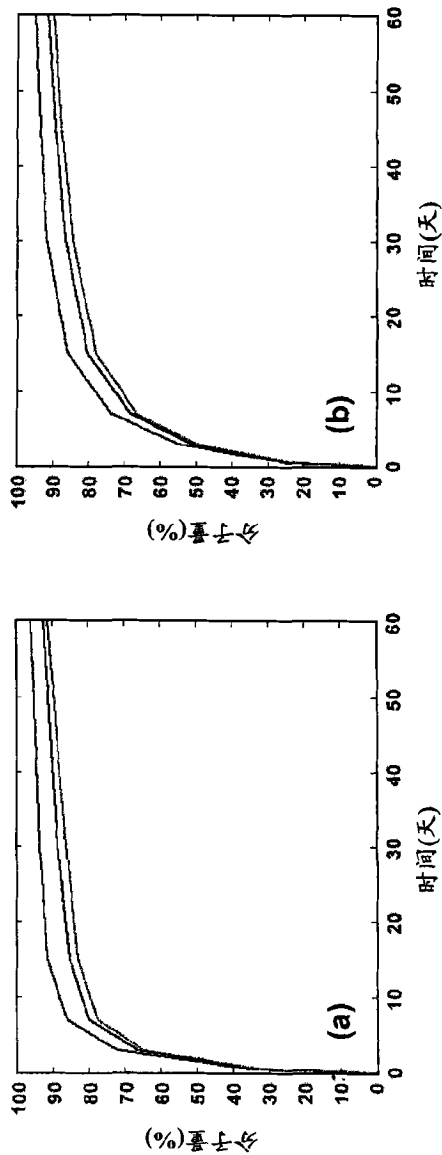


图 25

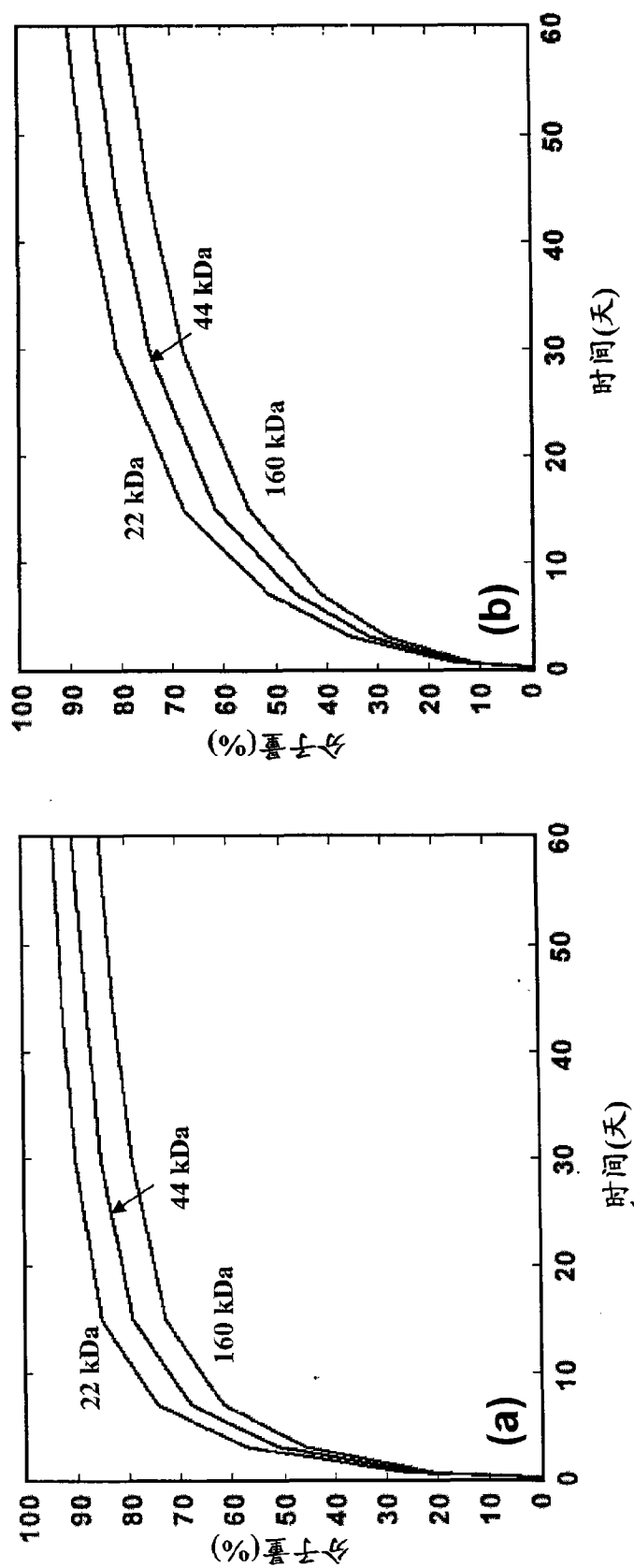


图 26