



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119818723 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 15

(21) 申请号 202510023517.0

A61L 27/52 (2006.01)

(22) 申请日 2025.01.07

D04H 1/728 (2012.01)

D04H 1/435 (2012.01)

(71) 申请人 西安蝶螈生物技术有限公司

地址 710000 陕西省西安市高新区草堂科
技产业基地秦岭大道西6号12幢309室

(72) 发明人 王昕 康鹏 张凯悦 马倩
段丹丹

(74) 专利代理机构 西安赛嘉知识产权代理事务
所(普通合伙) 61275

专利代理师 李东京

(51) Int.Cl.

A61L 27/18 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/58 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

权利要求书2页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜
补片及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片及其制备方法。该方法工艺较简单,制备效率较高,产品具有与胶原蛋白相似的天然三维结构,所获得补片具有双层结构、优良的力学性能及生物相容性,能显著促进受损脑膜组织再生、具备防粘连和可生物降解性能、易于存储、消毒和术前准备。

1. 一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,具备双层结构,包括粗糙面和光滑面;

粗糙面所在的粗糙层经静电纺丝制备,使用时朝向颅骨侧,用于支撑自体硬脑膜细胞的生长、迁移、增殖和分化,促进自体硬脑膜再生,且吸水凝胶化后产生组织粘合效果以提高封闭致密性;

光滑面所在的光滑层交联固定于粗糙层上,使用时朝向脑组织侧,用于防止脑脊液渗漏、防止脑组织粘连,且可缝合。

2. 根据权利要求1所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述粗糙层由脂肪族聚酯及聚酯醚分别制备纺丝液后,经静电纺丝混纺制备而成。

3. 根据权利要求2所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述脂肪族聚酯包括聚乙醇酸、聚乳酸、聚己内酯、聚戊内酯及其共聚物;

所述聚酯醚包括聚-1,4-二氧杂环己酮-2-酮、聚-1,5-二氧杂环庚烷-2-酮、乙二醇-脂肪族聚酯共聚物和丙二醇-脂肪族聚酯共聚物。

4. 根据权利要求3所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述粗糙层由质量比为(90~50):(10~50)的聚乳酸/聚己内酯共聚物制备而成。

5. 根据权利要求4所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述聚乳酸的纺丝溶液的浓度范围为8~20wt%,聚己内酯的纺丝溶液的浓度为2~8wt%。

6. 根据权利要求1或2或3或4或5所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述光滑层是采用质量比为(50~60):(20~30):(5~10):(15~20)的壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠混合制成的水凝胶,再采用水凝胶漆法均匀涂抹在制备好的粗糙层上而成。

7. 根据权利要求6所述的人工合成硬脑(脊)膜补片,其特征在于,所述壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠占水凝胶的质量分数为2.5~5.0wt%。

8. 一种可降解、防粘连的双层硬脑(脊)膜补片的制备方法,其特征在于,包括:

静电纺丝法制备粗糙层:

准备以丙酮为溶剂、浓度分别为8wt%~10wt%、2.5wt%~8wt%的聚乳酸PLA静电纺丝溶液和聚己内酯PCL静电纺丝溶液,在无菌环境下将聚乳酸PLA静电纺丝溶液和聚己内酯PCL静电纺丝溶液分别加入10~30ml针筒,采用20~22号纺丝针头,调整电压为4~16kV,流速为0.1~0.3ml/h,接收距离为4cm~6cm,圆盘接收切线速率为5.2m/s~9.4m/s,在此条件下制备的聚乳酸PLA和聚己内酯PCL的混合纤维形态均一,无珠串无液滴,混合纤维平均直径为568nm~699nm,直径分布较窄;

水凝胶漆法在粗糙层上制备光滑层:

将脱乙酰度为70%、分子量为 0.85×10^6 Da壳聚糖粉末加入体积浓度为2%~5%的醋酸溶液,室温搅拌溶解,得到1.5wt%~2.75wt%壳聚糖醋酸溶液;

按(50~60):(20~30):(5~10):(15~20)的质量比分别加入壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠,搅拌均匀过滤除去未溶解杂质,真空脱泡直至2min内无气泡产生,得到2.5wt%~5.0wt%的壳聚糖/细菌纤维素/单宁酸/透明质酸钠的混合溶液;

将所得混合溶液涂抹于粗糙层上,保证涂层表面光滑、平整,各处厚度一致保持在0.3~0.7mm,交联,后于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,干燥,成型的双层膜内包经 γ 射线

辐照灭菌。

9. 根据权利要求8所述的制备方法, 其特征在于, 在给粗糙层上涂抹前, 还包括按1:1的体积比在室温条件下加入2%的京尼平溶液, 溶剂为pH=1.4的PBS缓冲液, 快速搅拌3min, 脱气处理后再均匀涂抹于所述粗糙层上; 交联是在37°C下静置交联24h; 真空干燥的真空度是10Pa, 干燥温度是50°C, 干燥8h;

或,

再往所述混合溶液中加入0.58% EDC·HCl和0.06%的NHS固体粉末, 搅拌至完全溶解, 真空脱泡直至2min内无气泡产生, 再均匀涂抹于所述粗糙层上; 室温下静置交联6h, 于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中, 真空度: 10Pa, 干燥温度: 40°C, 干燥3h, 后采用20倍量纯化水30°C、110rpm振摇清洗3次, 每次10min后, 再于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中, 真空度: 15Pa, 干燥温度: 50°C, 干燥6h。

10. 根据权利要求8所述的制备方法, 其特征在于, 所述交联是在常压下、105°C高温热交联1min, 真空干燥的真空度是10Pa, 干燥温度是50°C, 干燥8h。

一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医用材料技术领域,具体涉及一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片及其制备方法。

背景技术

[0002] 硬脑膜,也称为硬膜,是由纤维组织组成的围绕颅内和脊髓神经结构的连续胶原片,是包围中枢神经系统的最外层脑膜,为中枢神经系统提供有效的保护,防止对颅骨和脊柱造成感染或创伤。硬脑膜缺损会导致脑脊液持续泄漏,可能会引发颅内感染、脑膨出和癫痫等并发症,甚至危及患者生命安全。此外,人体硬脑膜是高度的神经支配和血管化膜,其血管系统在诸如硬脑膜血肿、脑膜炎等各类疾病中起着至关重要的作用。但是近年来,由于意外创伤、肿瘤切除和开颅手术等原因造成硬脑膜创伤的事件不断发生,并且发生频率也在逐年提高。因此,寻找有效的硬脑膜修补材料,改善硬脑膜创伤修复效果是当前医学领域重要的研究方向之一。硬脑膜修补材料对于重建硬脑膜完整性,保护脑组织,防止脑脊液泄露、颅内感染、脑膨出和癫痫等并发症的发生具有重要作用。

[0003] 近几十年来,随着再生医学的发展,神经外科工作者开发了许多不同类型的硬脑膜修复材料。目前,用于硬脑膜修复的材料有自身组织、同种异体材料、异种材料、合成材料和天然材料。自体筋膜组织具有生物相容性良好和不发生免疫排斥等优点,但是需要进行手术从身体其他部位提取,来源较为有限,并且可能会引发其他创伤;同种异体组织多为冻干人硬脑膜,具有正常人体硬脑膜的微结构,可以起到支撑和保护脑组织的作用,但是材料来源有限,并且具有潜在的病毒感染风险,可能会引起克雅氏病,但受限于来源有限、取材困难、手术操作复杂以及潜在病毒风险等原因,上述2种材料已开始慢慢地退出硬脑膜修复材料的舞台。异种材料包括牛膜、猪膜和羊膜等,具有一定的伸展性和弹性,可以完整修补硬脑膜,防止脑脊液泄露。Costa等研究表明新型牛胶原膜材料对于硬脑膜修复具有防止脑脊液泄露等效果,一定程度上解决了自体组织修补材料和同种异体修补材料来源有限的问题,但是这类异种材料具有一定排斥,可能会引起异物反应,并且溯源难度较高;如公布号为CN112915260, CN110327135, CN1037275或CN111110920的专利文献记载。人工合成材料主要通过合成高分子加工得到,具有来源丰富、价格低廉和机械性能优异等优势。1990年, Sakas等通过动物实验,研究聚氨酯类聚合物为原料的硬脑膜植物体内后的修复效果,虽然该硬脑膜具有一定封闭性能,但存在不可降解和导致炎症反应等问题,如专利公布号为CN107596448的专利申请记载。

发明内容

[0004] 本发明的目的旨在提供一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,具有双层结构、柔韧性佳、良好的力学性能和组织相容性良好、能显著促进受损脑膜组织再生、具备防粘连和可生物降解性能、易于存储的特点。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供了一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,具备双层结构,包括粗糙面和光滑面;

[0006] 粗糙面所在的粗糙层经静电纺丝制备,使用时朝向颅骨侧,用于支撑自体硬脑膜细胞的生长、迁移、增殖和分化,促进自体硬脑膜再生,且吸水凝胶化后产生组织粘合效果以提高封闭致密性;

[0007] 光滑面所在的光滑层交联固定于粗糙层上,使用时朝向脑组织侧,用于防止脑脊液渗漏、防止脑组织粘连,且可缝合。

[0008] 更进一步的,粗糙层由脂肪族聚酯及聚酯醚分别制备纺丝液后,经静电纺丝混纺制备而成。

[0009] 更进一步的,脂肪族聚酯包括聚乙醇酸、聚乳酸、聚己内酯、聚戊内酯及其共聚物;

[0010] 所述聚酯醚包括聚-1,4-二氧杂环己酮-2-酮、聚-1,5-二氧杂环庚烷-2-酮、乙二醇-脂肪族聚酯共聚物和丙二醇-脂肪族聚酯共聚物。

[0011] 更进一步的,粗糙层由质量比为(90~50):(10~50)的聚乳酸/聚己内酯共聚物制备而成。

[0012] 更进一步的,聚乳酸的纺丝溶液的浓度范围为8~20wt%,聚己内酯的纺丝溶液的浓度为2~8wt%。

[0013] 更进一步的,光滑层是采用质量比为(50~60):(20~30):(5~10):(15~20)的壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠混合制成的水凝胶,再采用水凝胶漆法均匀涂抹在制备好的粗糙层上而成。

[0014] 更进一步的,壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠占水凝胶的质量分数为2.5~5.0wt%。

[0015] 更进一步的,提供了一种可降解、防粘连的双层硬脑(脊)膜补片的制备方法,包括:

[0016] 静电纺丝法制备粗糙层:

[0017] 准备以丙酮为溶剂、浓度分别为8wt%~10wt%、2.5wt%~8wt%的聚乳酸PLA静电纺丝溶液和聚己内酯PCL静电纺丝溶液,在无菌环境下将聚乳酸PLA静电纺丝溶液和聚己内酯PCL静电纺丝溶液分别加入10~30ml针筒,采用20~22号纺丝针头,调整电压为4~16kV,流速为0.1~0.3ml/h,接收距离为4cm~6cm,圆盘接收切线速率为5.2m/s~9.4m/s,在此条件下制备的聚乳酸PLA和聚己内酯PCL的混合纤维形态均一,无珠串无液滴,混合纤维平均直径为568nm~699nm,直径分布较窄;

[0018] 水凝胶漆法在粗糙层上制备光滑层:

[0019] 将脱乙酰度为70%、分子量为 0.85×10^6 Da壳聚糖粉末加入体积浓度为2%~5%的醋酸溶液,室温搅拌溶解,得到1.5wt%~2.75wt%壳聚糖醋酸溶液;

[0020] 按(50~60):(20~30):(5~10):(15~20)的质量比分别加入壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠,搅拌均匀过滤除去未溶解杂质,真空脱泡直至2min内无气泡产生,得到2.5wt%~5.0wt%的壳聚糖/细菌纤维素/单宁酸/透明质酸钠混合溶液;

[0021] 所得混合溶液涂抹于粗糙层上,保证涂层表面光滑、平整,各处厚度一致保持在0.3~0.7mm,交联,后于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,干燥,成型的双层膜内包经 γ 射线辐照灭菌。

[0022] 更进一步的,在给粗糙层上涂抹前,还包括按1:1的体积比在室温条件下加入2%的京尼平溶液,溶剂为pH=1.2的PBS缓冲液,快速搅拌3min,脱气处理后再均匀涂抹于所述粗糙层上;交联是在37℃下静置交联24h;真空干燥的真空度是10Pa,干燥温度是50℃,干燥8h;

[0023] 或,

[0024] 再往所述混合溶液中加入0.58%EDC·HCl和0.06%的NHS固体粉末,搅拌至完全溶解,真空脱泡直至2min内无气泡产生,再均匀涂抹于所述粗糙层上;室温下静置交联6h,于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,真空度:10Pa,干燥温度:40℃,干燥3h,后采用20倍量纯化水30℃、110rpm振摇清洗3次,每次10min后,再于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,真空度:15Pa,干燥温度:50℃,干燥6h。

[0025] 更进一步的,交联是在常压下、105℃高温热交联1min,真空干燥的真空度事10Pa,干燥温度是50℃,干燥8h。

[0026] 本发明的有益效果是:本发明提供的可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,具有双层结构、柔韧性佳、力学性能和组织相容性良好、能显著促进受损脑膜组织再生、具备防粘连和可生物降解性能、补片柔软有韧性,可任意弯曲、折叠、裁剪,形状和尺寸易调控,易于存储、消毒和术前准备,且其制备方法简单易行,制造成本较低。

附图说明

[0027] 图1是实施例1光滑面扫描电镜图(500×)。

[0028] 图2是实施例1粗糙面扫描电镜图(500×)。

[0029] 图3是实施例2光滑面扫描电镜图(500×)。

[0030] 图4是实施例2粗糙面扫描电镜图(500×)。

[0031] 图5是实施例1动物实验前HE染色病理分析图。

[0032] 图6是实施例1动物实验后HE染色病理分析图。

[0033] 图7是可降解、防粘连的双层硬脑膜补片的结构示意图。

具体实施方式

[0034] 为进一步阐述本发明达成预定目的所采取的技术手段及功效,以下结合附图及实施例对本发明的具体实施方式、结构特征及其功效,详细说明如下。为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合附图及实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当指出,此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0035] 为了实现具有双层结构、柔韧性佳、良好的力学性能和组织相容性良好、能显著促进受损脑膜组织再生、具备防粘连和可生物降解性能、易于存储的特点的目的,本实施例提供了一种可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,其具备图7所示的双层结构,包括粗糙面1和光滑面2;

[0036] 粗糙面所在的粗糙层经静电纺丝制备,使用时朝向颅骨侧,用于支撑自体硬脑膜细胞的生长、迁移、增殖和分化,促进自体硬脑膜再生,且吸水凝胶化后产生组织粘合效果以提高封闭致密性;

[0037] 光滑面所在的光滑层交联固定于粗糙层上,使用时朝向脑组织侧,用于防止脑脊

液渗漏、防止脑组织粘连,且可缝合。

[0038] 其中,粗糙层由脂肪族聚酯及聚酯醚分别制备纺丝液后,经静电纺丝混纺制备而成。本实施例中,提供的脂肪族聚酯包括聚乙醇酸、聚乳酸、聚己内酯、聚戊内酯及其共聚物;而聚酯醚包括聚-1,4-二氧杂环己酮-2-酮、聚-1,5-二氧杂环庚烷-2-酮、乙二醇-脂肪族聚酯共聚物和丙二醇-脂肪族聚酯共聚物。

[0039] 优选的制备方案是,粗糙层优选聚乳酸/聚己内酯的共聚物,因为其动态性质和降解速率易于控制,共聚物中,聚乳酸和聚己内酯的优选质量比范围为(90~50):(10~50),通过分别调整两种纺丝溶液的浓度范围来控制,如,聚乳酸的纺丝溶液的浓度范围为8~20wt%,聚己内酯的纺丝溶液的浓度为2~8wt%。

[0040] 而光滑层则是采用质量比为(50~60):(20~30):(5~10):(15~20)的壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠混合制成的水凝胶,再采用水凝胶漆法均匀涂抹在制备好的粗糙层上而成。优选方案是:壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠的质量比为55:20:5:20,由壳聚糖、细菌纤维素、单宁酸和透明质酸钠配制的混合物占水凝胶的质量分数为2.5~5.0wt%,如此可以实现对水凝胶涂层的厚度(光滑层的厚度)的控制,比如控制在0.1~0.3mm。

[0041] 需要说明的是,细菌纤维素的加入,显著改善了纯壳聚糖膜脆硬、遇水易卷曲的缺陷,提升了力学性能。单宁酸的加入,起到收敛,抗菌抑菌,抗氧化和抗炎症等的作用;配合透明质酸钠的加入,在一定程度上能够防止粘连。

[0042] 通过在静电纺丝法制备的混纺共聚物微孔基质层(即粗糙层)上采用水凝胶漆法形成水凝胶涂层(即光滑层)后,真空低温干燥制得双层硬脑膜补片即本实施例提供的可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片,其除具备优良的力学性能和生物相容性以外,还可促进细胞生长和增殖,安全,无免疫原性,具备一定的防组织粘连和生物降解性能。制备方法简便、成本较低,补片柔软有韧性,可任意弯曲、折叠、裁剪,形状和尺寸易调控,易于存储、消毒和术前准备。

[0043] 以下通过几个具体的实施例对前述的可降解、防粘连的人工合成硬脑(脊)膜补片作进一步的说明。

[0044] 实施例1:

[0045] 可降解、防粘连的双层硬脑膜补片的制备方法,包括以下步骤:

[0046] 1) 静电纺丝法制备粗糙层

[0047] 聚乳酸PLA和聚己内酯PCL静电纺丝溶液的溶剂均为丙酮,溶液浓度分别为10wt%及2.5wt%,在无菌环境下将纺丝液分别加入20ml针筒,采用20号针头,调整电压为12kV,流速为0.2ml/h,接收距离为4cm,圆盘接收切线速率为6.8m/s。在此条件下制备的PLA和PCL混合纤维形态均一,无珠串无液滴,纤维平均直径为568nm直径分布较窄;

[0048] 2) 水凝胶漆法在粗糙层上制备光滑层

[0049] 将壳聚糖粉末(脱乙酰度为70%、分子量为 0.85×10^6 Da)加入5%(v/v)醋酸溶液,室温搅拌溶解,得到2.75wt%壳聚糖醋酸溶液。按55:20:5:20比例分别加入细菌纤维素、单宁酸及透明质酸钠,搅拌均匀过滤除去未溶解杂质,真空脱泡直至2min内无气泡产生,得到5.0wt%的壳聚糖/细菌纤维素/单宁酸/透明质酸钠混合溶液。

[0050] 按体积比1:1在室温条件下加入2%(m/m)京尼平溶液(PBS pH=7.4缓冲液),快速

搅拌3min,脱气处理后再均匀涂抹于补片粗糙层上,保证溶胶表面光滑、平整,各处厚度一致,并符合前述优选厚度范围0.3~0.7mm,37℃下静置交联24h。于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,真空度:10Pa,干燥温度:50℃,干燥8h。

[0051] 成型的双层膜内包经 γ 射线辐照灭菌即制得一种可降解、防粘连的双层硬脑膜补片。采用扫描电子显微镜观察实施例1试样的截面和光滑层表面。如图1所示,光滑层朝向脑组织侧,无气孔,结构致密,未见明显的小团簇或聚集体;如图2所示,粗糙层孔径分布均在90~200 μm 之间,适合细胞的生长和繁殖;本实施例提供的双层硬脑膜补片层间无过大空腔,层间材料相容性良好,接触良好。经测定实施例1试样粗糙层平均厚度为0.393mm,本实施例提供的双层硬脑膜补片总厚度为0.589mm。

[0052] 采用电子拉力机测定实施例1试样的力学性能,拉伸、缝合速率设置为100mm/min,传感器最大负荷为300kg。本实施例提供的双层硬脑膜补片的湿态拉伸强度为18.5MPa,断裂伸长率为73.1%,缝合强度为14.6N。另采用薄膜加压破裂强度法测定顶破强度为22.4kPa。

[0053] 使用人工脑脊液模拟2倍最大颅内压(据报道成人最大颅内压为5.3kPa,相当于约1100mmH₂O),测定实施例2试样光滑面侧的抗泄露能力。所述双层硬脑膜补片可承受静态水压1100mmH₂O维持30min内无泄漏。

[0054] 使用NIH/3T3细胞直接培养于实施例1试样上,采用CCK-8法对培养24h的细胞进行体外细胞毒性检测。可见,本实施例提供的双层硬脑膜补片的细胞相对增殖率为239%,无细胞毒性。

[0055] 植入动物体内3个月后光滑层未发生粘连,粗糙层即有血管及成纤维细胞长入,如图5、6所示。表明其能够起到一定的防止粘连的作用,并且促进组织再生性能良好。

[0056] 实施例2:

[0057] 一种可降解、防粘连的双层硬脑膜补片的制备方法,包括以下步骤:

[0058] 1) 静电纺丝法制备粗糙层

[0059] PLA和聚己内酯PCL静电纺丝溶液的溶剂均为丙酮,溶液浓度分别为8wt%及8wt%,在无菌环境下将纺丝液分别加入20ml针筒,采用20号针头,电压为16kV,流速为0.4ml/h,接收距离为6cm,圆盘接收切线速率为9.6m/s。在此条件下制备的PLA和PCL混合纤维形态均一,无珠串无液滴,纤维平均直径为699nm直径分布较窄;

[0060] 2) 水凝胶漆法在粗糙层上制备光滑层

[0061] 高分子量壳聚糖粉末(脱乙酰度为70%、分子量为 $0.85 \times 10^6 \text{Da}$)加入2% (v/v) 醋酸溶液,室温搅拌溶解,得到1.5wt%壳聚糖醋酸溶液。按60:5:15:20比例分别加入细菌纤维素、单宁酸及透明质酸钠分散液,搅拌均匀过滤除去未溶解杂质,真空脱泡直至2min内无气泡产生,得到2.5wt%的壳聚糖/细菌纤维素/单宁酸/透明质酸钠混合溶液。

[0062] 再均匀涂抹于补片粗糙层上,保证溶胶表面光滑、平整,各处厚度一致,并符合前述优选厚度范围0.3~0.7mm。于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中,常压下105℃高温热交联1min,调整参数真空度:10Pa,干燥温度:50℃,干燥8h。

[0063] 成型的双层膜内包后经 γ 射线辐照灭菌即制得一种可降解、防粘连的双层硬脑膜补片。采用扫描电子显微镜观察实施例1试样的截面和光滑层表面。如图3所示,光滑层朝向脑组织侧,结构较致密;如图4所示,粗糙层孔径分布均在78~235 μm 之间,适合细胞的生长

和繁殖；双层硬脑膜补片层间无过大空腔，层间材料相容性良好，接触良好。经测定实施例2试样粗糙层平均厚度为0.215mm，本实施例提供的双层硬脑膜补片总厚度为0.503mm。

[0064] 采用电子拉力机测定实施例2试样的力学性能，拉伸、缝合速率设置为100mm/min，传感器最大负荷为300kg。双层硬脑膜补片的湿态拉伸强度为16.5MPa，断裂伸长率为36.1%，缝合强度为13.1N。另采用薄膜加压破裂强度法测定顶破强度为18.6kPa。

[0065] 使用人工脑脊液模拟2倍最大颅内压（据报道成人最大颅内压为5.3kPa，相当于约1100mmH₂O），测定实施例2试样光滑层侧的抗泄露能力。双层硬脑膜补片可承受静态水压1100mmH₂O维持10min内无泄漏。

[0066] 使用NIH/3T3细胞直接培养于实施例2试样上，采用CCK-8法对培养24h的细胞进行体外细胞毒性检测。本实施例提供的双层硬脑膜补片的细胞相对增殖率为251%，无细胞毒性。

[0067] 实施例3：

[0068] 一种可降解、防粘连的双层硬脑膜补片的制备方法，包括以下步骤：

[0069] 1) 静电纺丝法制备粗糙层

[0070] PLA和PCL静电纺丝溶液的溶剂均为丙酮，溶液浓度分别为9wt%及4wt%，在无菌环境下将纺丝液分别加入20ml针筒，采用20号针头，电压为14kV，流速为0.4ml/h，接收距离为4cm，圆盘接收切线速率为8.8m/s。在此条件下制备的PLA和PCL混合纤维形态均一，无珠串无液滴，纤维平均直径为596nm直径分布较窄；

[0071] 2) 水凝胶漆法在粗糙层上制备光滑层

[0072] 高分子量壳聚糖粉末（脱乙酰度为80%、分子量为 1.25×10^5 Da）加入2%（v/v）醋酸溶液，室温搅拌溶解，得到1.5wt%壳聚糖醋酸溶液。按58:22:5:15比例分别加入细菌纤维素、单宁酸及透明质酸钠分散液，搅拌均匀过滤除去未溶解杂质，得到2.5wt%的壳聚糖/细菌纤维素/单宁酸/透明质酸钠混合溶液，

[0073] 再加入0.58%（m/m）EDC·HCl和0.06%（m/m）的NHS固体粉末，搅拌至完全溶解，真空脱泡直至2min内无气泡产生。

[0074] 将其均匀涂抹于补片粗糙层上，保证溶胶表面光滑、平整，各处厚度一致，并符合前述优选厚度范围0.3~0.7mm。室温（20℃）下静置交联6h。于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中，真空度：10Pa，干燥温度：40℃，干燥3h。采用20倍量纯化水30℃、110rpm振摇清洗3次，每次10min后，再于光滑不锈钢盘上置于真空干燥箱中，真空度：15Pa，干燥温度：50℃，干燥6h。

[0075] 成型的双层膜内包后经 γ 射线辐照灭菌即制得一种可降解、防粘连的双层硬脑膜补片。

[0076] 采用电子拉力机测定实施例3试样的力学性能，拉伸、缝合速率设置为100mm/min，传感器最大负荷为300kg。所述双层硬脑膜补片的湿态拉伸强度为17.9MPa，断裂伸长率为46.1%，缝合强度为14.2N。另采用薄膜加压破裂强度法测定顶破强度为28.1kPa。

[0077] 使用人工脑脊液模拟2倍最大颅内压（据报道成人最大颅内压为5.3kPa，相当于约1100mmH₂O），测定实施例3试样光滑层侧的抗泄露能力。本实施例提供的双层硬脑膜补片可承受静态水压1100mmH₂O维持30min内无泄漏。

[0078] 使用NIH/3T3细胞直接培养于实施例3试样上，采用CCK-8法对培养24h的细胞进行

体外细胞毒性检测。本实施例提供的双层硬脑膜补片的细胞相对增殖率为108%,无细胞毒性。

[0079] 以上内容是结合具体/优选的实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,其还可以对这些已描述的实施方式做出若干替代或变型,而这些替代或变型方式都应当视为属于本发明的保护范围。

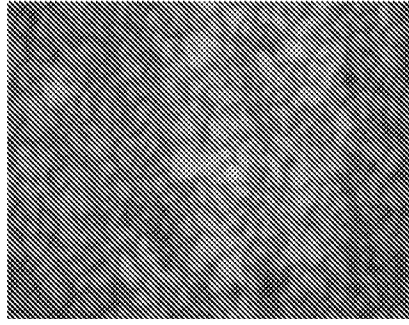


图1

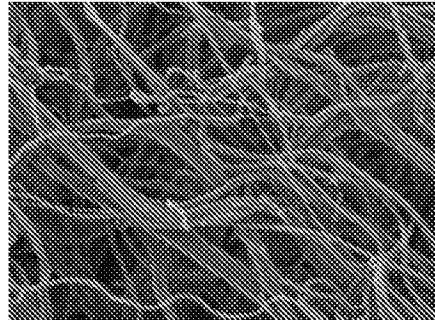


图2

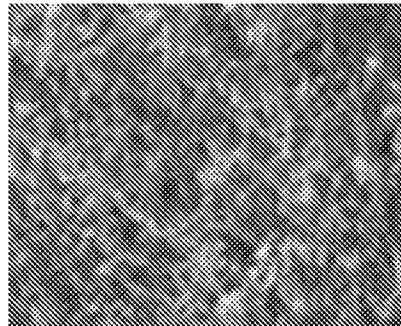


图3

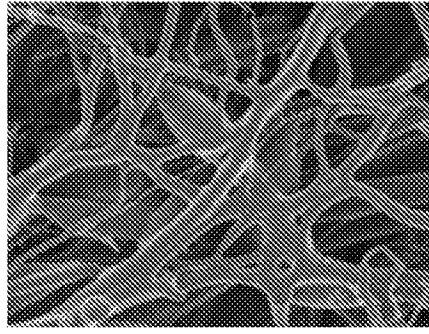


图4

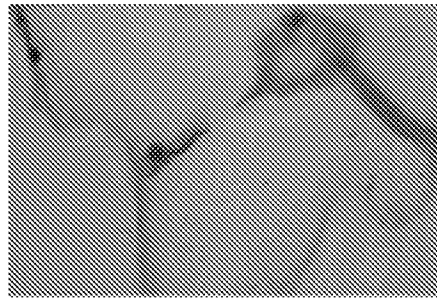


图5

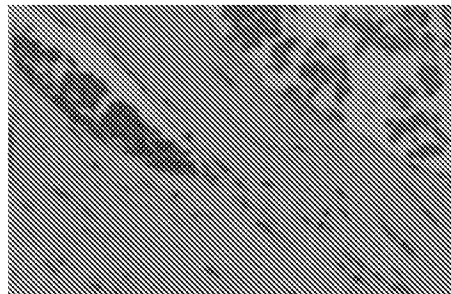


图6

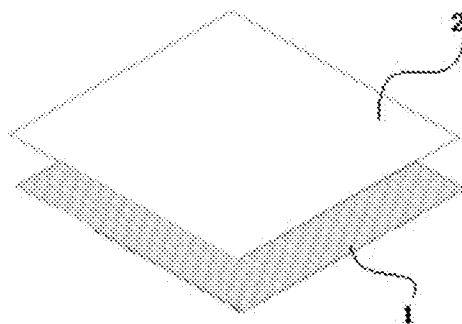


图7