



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111778494 A

(43) 申请公布日 2020.10.16

(21) 申请号 202010595026.0

(22) 申请日 2020.06.28

(71) 申请人 中国科学院上海硅酸盐研究所  
地址 200050 上海市长宁区定西路1295号

(72) 发明人 刘宣勇 邢顺 马小涵 王东辉

(74) 专利代理机构 上海瀚桥专利代理事务所  
(普通合伙) 31261

代理人 曹芳玲 郑优丽

(51) Int. Cl.

C23C 18/12 (2006.01)

A61L 31/02 (2006.01)

A61L 31/08 (2006.01)

A61L 31/14 (2006.01)

A61L 31/16 (2006.01)

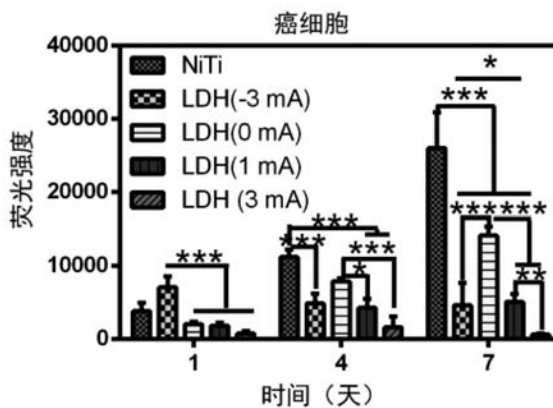
权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

一种表面改性的医用金属材料及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种表面改性的医用金属材料及其制备方法和应用,所述医用金属材料表面是由主要成分为位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物形成的薄膜,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度小于镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度。



1. 一种表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述医用金属材料表面是由主要成分为位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物形成的薄膜,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度小于镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度。

2. 根据权利要求1所述的表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物中包含镍空位。

3. 根据权利要求1所述的表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物包含间隙镍。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度 $<2.5\text{eV}$ ,优选为 $2.25\sim 2.45\text{eV}$ 。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物中镍/钛原子数比为 $(1.38\sim 4):1$ 。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的表面改性的医用金属材料,其特征在于,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的微观结构为片状结构,所述片状结构的长度为 $0.5\sim 5\mu\text{m}$ ,厚度为 $30\sim 50\text{nm}$ ;优选片状结构的长度为 $3\mu\text{m}$ ,厚度为 $40\text{nm}$ 。

7. 一种权利要求2所述的表面改性的医用金属材料的制备方法,其特征在于,先在医用金属基材表面制备得到镍钛层状双金属氢氧化物薄膜,然后再利用电化学的方法对镍钛层状双金属氢氧化物薄膜进行充电处理。

8. 一种权利要求3所述的表面改性的医用金属材料的制备方法,其特征在于,先在医用金属基材表面制备得到镍钛层状双金属氢氧化物薄膜,然后再利用电化学的方法对镍钛层状双金属氢氧化物薄膜进行放电处理。

9. 根据权利要求7或8所述的制备方法,其特征在于,所述镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的制备方法为水热处理法,包括:

将镍源和尿素加入超纯水中,得到溶液A;

将溶液A置于冰浴环境中,再加入盐酸和钛源,得到前驱体溶液;

将医用金属基材置于前驱体溶液中,在 $50\sim 150^\circ\text{C}$ 下水热反应 $10\sim 30$ 小时。

10. 根据权利要求9所述的制备方法,其特征在于,所述前驱体溶液中镍源的浓度为 $0.01\sim 0.5\text{M}$ ,尿素浓度为 $0.5\sim 5\text{M}$ ,盐酸的浓度 $0.01\sim 0.1\text{M}$ ,钛源的浓度为 $0.01\sim 0.5\text{M}$ ;优选地,镍源中Ni和钛源中Ti的摩尔比为 $1.5\sim 3.5:1$ ;更优选地,所述镍源选自 $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 中的至少一种,所述钛源选自 $\text{TiCl}_4$ 、 $\text{Ti}(\text{NO}_3)_4$ 中的至少一种;最优选地,将前驱体溶液稀释 $10\sim 20$ 倍之后,再进行水热反应。

11. 根据权利要求7或8所述的制备方法,其特征在于,所述充电反应和放电反应所用电解液的组分包括:电解质选自氢氧化钠、氢氧化钾、硅酸钠、磷酸钠、磷酸二氢钠、甘油磷酸钠中的至少一种;溶剂选自超纯水、去离子水的至少一种;电解质的总浓度为 $0.1\sim 10\text{M}$ 。

12. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,所述充电反应的电流为 $1\sim 10\text{mA}$ ,反应时间为 $0.5\sim 5$ 分钟。

13. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于,所述放电反应的电流为 $-6\sim -1\text{mA}$ ,反应时间为 $0.5\sim 5$ 分钟。

14. 根据权利要求7-13中任一项所述的制备方法,其特征在于,所述医用金属基材为钛合金基材、金属钛基材、金属镍基材、金属镁基材、或镁合金基材,优选为镍钛合金基材。

15. 一种权利要求1-6中任一项所述的表面改性的医用金属材料在制造与肿瘤组织接触的医用金属器件中的应用。

## 一种表面改性的医用金属材料及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种表面改性的医用金属材料及其制备方法和应用,具体涉及一种镍钛合金材料的表面改性方法,属于医用金属材料表面改性技术领域。

### 背景技术

[0002] 镍钛合金等医用金属材料由于其具有良好的生物相容性以及优良的形状记忆效应。被广泛应用于临床支架手术中。尤其是一些由于恶性肿瘤造成的胆道、食道、以及肠道阻塞的姑息治疗中。但是随着临床需求的多功能化。镍钛合金支架材料本身不具有抗癌以及抑菌功能的缺点被暴露出来。这就导致临床中支架植入人体后,随着恶性肿瘤以及细菌的不断侵袭,极易造成支架的再次堵塞甚至植入体的失效,给病人身心带来痛苦。降低其生存质量。因此,如何对镍钛合金支架表面进行改性使其同时具有抗癌抑菌功能,成为植入材料的研究热点之一。

[0003] 层状双氢氧化物具有独特阴离子交换能力且生物相容性优异,目前被广泛应用于生物材料领域。通过水热处理在镍钛合金表面构建的镍钛层状双金属氢氧化物,被证实可对癌细胞实现选择性的杀伤。研究表明镍钛层状双金属氢氧化物的抑癌能力与材料表面镍含量有关,镍含量越高则其抗癌能力越强。但由于镍是一种致敏性元素,过量的镍释放必然会阻碍其在生物材料领域的应用与发展。

### 发明内容

[0004] 为了解决现有的医用镍钛合金存在的不能抑癌抗菌,易造成其所制备的医疗器件发生梗阻的问题,本发明提供了一种可实现抑癌抗菌的表面改性的医用金属材料及其制备方法和应用。

[0005] 第一方面,本发明提供了一种表面改性的医用金属材料,所述镍钛合金材料表面是由主要成分为位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物形成的薄膜,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度小于镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度。

[0006] 在本公开中,表面改性的医用金属材料其表面的改性层,是由位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物组成。在该改性层中,位于简并态的镍钛层状双氢氧化物本身可以产生羟基自由基,具有一定的抑癌抗菌作用。而且,由于层状双氢氧化物处于亚稳态(简并态),在后续生理环境中可逐渐去简并化(即,其能带宽度逐渐向镍钛层状双金属氢氧化物持平),可以更快响应酸性肿瘤微环境,从而杀伤肿瘤细胞。此外,鉴于不同细胞、细菌微环境的差异,材料对其行为影响也各有不同,可实现对细胞细菌行为的调控,进而调节材料的抑癌抗菌能力。

[0007] 其中,所述医用金属材料可选自金属钛、钛合金(例如,镍钛合金等)、金属镍、金属镁、镁合金等具有导电性能金属材料,以适用于后续充/放电过程。

[0008] 在本公开中,表面改性的医用金属材料表面的位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物中可包含镍空位。

[0009] 该包含镍空位的表面改性的医用金属材料,其在后续生理环境中,因为镍空位存在导致能带宽度变窄,电荷转移速率提高,储存电荷释放更快作用于癌细胞。同时,镍钛层状双金属氢氧化物作为一种碱性氢氧化物,进而可以更快响应酸性肿瘤微环境,从而杀伤肿瘤细胞。

[0010] 在本公开中,表面改性的医用金属材料表面的位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物可包含间隙镍。

[0011] 该包含间隙镍表面改性的医用金属材料,其后续生理环境中,生理环境中,因为间隙存在导致能带宽度变窄,电荷转移速率提高,储存电荷释放更快作用于癌细胞。同时,镍钛层状双金属氢氧化物作为一种碱性氢氧化物,进而可以更快响应酸性肿瘤微环境,从而杀伤肿瘤细胞。

[0012] 较佳的,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的能带宽度 $<2.5\text{eV}$ ,优选为 $2.25\sim 2.45\text{eV}$ 。

[0013] 较佳的,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物中镍/钛原子数比为 $(1.38\sim 4):1$ 。

[0014] 较佳的,所述位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物的微观结构为片状结构,所述片状结构的长度为 $0.5\sim 5\mu\text{m}$ ,厚度为 $30\sim 50\text{nm}$ ;优选片状结构的长度为 $3\mu\text{m}$ ,厚度为 $40\text{nm}$ 。

[0015] 第二方面,本发明提供了一种包含镍空位的表面改性的医用金属材料的制备方法,先在医用金属基材表面制备得到镍钛层状双金属氢氧化物薄膜,然后再利用电化学的方法对镍钛层状双金属氢氧化物薄膜进行充电处理。

[0016] 在本发明中,通过电化学充电的过程对镍钛合金表面构建的镍钛层状双金属氢氧化物进行处理,电流作用下使得原来晶格位置镍原子离开晶格点进入薄膜表面形成镍空位,该层状双金属氢氧化物中载流子浓度发生改变,从而使薄膜发生简并化,具体表现为材料能带宽度变窄,电荷转移电阻降低。而且,电化学处理以后使得材料的抑癌抗菌能力得以加强。

[0017] 较佳的,所述镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的制备方法可为水热处理法,所述水热处理法包括:

将镍源和尿素加入超纯水中,得到溶液A;

将溶液A置于冰浴环境中,再加入盐酸和钛源,得到前驱体溶液;

将医用金属基材置于前驱体溶液中,在 $50\sim 150^\circ\text{C}$ 下水热反应 $10\sim 30$ 小时。

[0018] 又,较佳的,所述前驱体溶液中镍源的浓度为 $0.01\sim 0.5\text{M}$ ,尿素浓度为 $0.5\sim 5\text{M}$ ,盐酸的浓度为 $0.01\sim 0.1\text{M}$ ,钛源的浓度为 $0.01\sim 0.5\text{M}$ ;优选地,镍源中Ni和钛源中Ti的摩尔比为 $1.5\sim 3.5:1$ (例如, $2.64:1$ );更优选地,所述镍源选自 $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 中的至少一种,所述钛源选自 $\text{TiCl}_4$ 、 $\text{Ti}(\text{NO}_3)_4$ 中的至少一种。最优选地,将前驱体溶液稀释 $10\sim 20$ 倍之后,再进行水热处理。

[0019] 较佳的,所述充电反应和放电反应所用电解液的组分包括:电解质选自氢氧化钠、氢氧化钾、硅酸钠、磷酸钠、磷酸二氢钠、甘油磷酸钠中的至少一种;溶剂选自超纯水、去离子水的至少一种;电解质的总浓度为 $0.1\sim 10\text{M}$ 。

[0020] 较佳的,所述充电反应的电流为 $1\sim 10\text{mA}$ ,反应时间为 $0.5\sim 5$ 分钟。

[0021] 第三方面,本发明提供了一种包含间隙镍的表面改性的医用金属材料的制备方

法,先在医用金属基材(例如,镍钛合金基材等)表面制备得到镍钛层状双金属氢氧化物薄膜,然后再利用电化学的方法对镍钛层状双金属氢氧化物薄膜进行放电处理。

[0022] 在本发明中,通过电化学放电的过程对镍钛合金表面构建的镍钛层状双金属氢氧化物进行处理,放电处理使得原来晶格位置镍原子离开晶格点进入结构间隙形成间隙镍,该层状双金属氢氧化物中载流子浓度发生改变,从而使薄膜发生简并化,具体表现为材料能带宽度变窄,电荷转移电阻降低。而且,电化学处理以后使得材料的抑癌抗菌能力得以加强。

[0023] 较佳的,所述镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的制备方法可为水热处理法,包括:

将镍源和尿素加入超纯水中,得到溶液A;

将溶液A置于冰浴环境中,再加入盐酸和钛源,得到前驱体溶液;

将镍钛合金基材置于前驱体溶液中,在50~150℃下水热反应10~30小时。

[0024] 又,较佳的,所述前驱体溶液中镍源的浓度为0.01~0.5M,尿素浓度为0.5~5M,盐酸的浓度为0.01~0.1M,钛源的浓度为0.01~0.5M;优选地,镍源中Ni和钛源中Ti的摩尔比为1.5~3.5:1(例如,2.64:1);更优选地,所述镍源选自 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 中的至少一种,所述钛源选自 $\text{TiCl}_4$ 、 $\text{Ti}(\text{NO}_3)_4$ 的至少一种。

[0025] 较佳的,所述充电反应和放电反应所用电解液的组分包括:电解质选自氢氧化钠、氢氧化钾、硅酸钠、磷酸钠、磷酸二氢钠、甘油磷酸钠中的至少一种;溶剂选自超纯水、去离子水的至少一种;电解质的总浓度为0.1~10M。

[0026] 较佳的,所述放电反应的电流为-6~-1mA,反应时间为0.5~5分钟。

[0027] 第四方面,本发明提供了一种上述表面改性的医用金属材料在制造与肿瘤组织接触的医用器件中的应用。

[0028] 在本发明中,通过电化学充/放电的过程对镍钛合金表面构建的镍钛层状双金属氢氧化物进行处理,充/放电处理使得该层状双金属氢氧化物中载流子浓度发生改变,从而使薄膜发生简并化,具体表现为材料能带宽度变窄,电荷转移电阻降低。当作用于肿瘤或者细菌时,所存储的电荷逐渐释放,且肿瘤酸性微环境下该作用更为迅速。在原来镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的基础上提高了材料抗癌抑菌能力,同时实现过程的可重复进行。

## 附图说明

[0029] 图1为实施例2、3、4、5处理后得到的扫描电镜形貌图,图中LDH(0mA)是指未经电化学处理的样品,LDH(-3mA)、LDH(1mA)、LDH(3mA)是指经不同参数电化学处理后的样品;

图2为实施例2、3、4、5处理后X射线光电子能谱分析图,图中LDH(0mA)是指未经电化学处理的样品,LDH(-3mA)、LDH(1mA)、LDH(3mA)是指经不同参数电化学处理后的样品;

图3为本发明处理前与处理后(充放电)细菌涂板实验结果,图中LDH指的是未经电化学处理的样品;

图4为实施例2、3、4、5处理后种植RBE癌细胞后细胞增殖结果图,图中LDH(0mA)是指未经电化学处理的样品,LDH(-3mA)、LDH(1mA)、LDH(3mA)是指经不同参数电化学处理后的样品;

图5为实施例2、3、4、5处理后得到的紫外吸收光谱图,图中LDH(0mA)是指未经电化学处理的样品,LDH(-3mA)、LDH(1mA)、LDH(3mA)是指经不同参数电化学处理后的样品;

图6为实施例2、3、4、5处理后得到的阻抗谱图,图中LDH(0mA)是指未经电化学处理的样品,LDH(-3mA)、LDH(1mA)、LDH(3mA)是指经不同参数电化学处理后的样品;

图7为实施例5处理后在不同pH水溶液中得到的电势变化图;

图8为中表1为实施例2、3、4、5处理后得到的X射线吸收精细结构(XAFS)谱结果图,其中N(Ni)表示镍的配位数。

### 具体实施方式

[0030] 以下通过下述实施方式进一步说明本发明,应理解,下述实施方式仅用于说明本发明,而非限制本发明。

[0031] 在本公开中,具有抑/癌抗菌能力的表面改性的医用金属材料(例如,镍钛合金、金属镍、金属钛、金属镁以及镁合金等),其表面改性层的主要成分为位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物,解决了现有的医用金属支架材料表面存在抗癌效果不佳以及抗菌性能较差的问题。

[0032] 在本发明一实施方式中,位于简并态的镍钛层状双金属氢氧化物改性层是在医用金属材料表面原位形成。以镍钛合金作为示例,先通过水热处理等方法在镍钛合金表面制备镍钛层状双金属氢氧化物薄膜,再进一步通过电化学的方法对上述镍钛层状双金属氢氧化物薄膜进行充/放电处理,从而实现对镍钛合金进行表面改性。其后续电化学处理使得层状双氢氧化物处于简并态,即一种中间亚稳态,该状态对癌细胞酸性微环境表现出更快响应,从而有效抑制癌细胞RBE的增殖。同时,改性后的镍钛合金表现出较好的抗菌能力。平板计数的结果表明改性后的材料对绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制能力均有提高。此外,该充放电循环可反复进行,可根据需求人为调节材料生理功能。本发明的制备方法简单易行,成本低廉,稳定性好,安全性高。以下示例性地说明医用金属材料表面的改性方法。

[0033] 医用金属材料表面镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的制备,例如可采用包括但不限于水热法等。以水热法作为示例,所用前驱体溶液中加入的 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 浓度可为0.01~0.5M,水热介质为超纯水,尿素浓度可为0.5~5M,盐酸的浓度可为0.01~0.1M。加入的 $\text{TiCl}_4$ 浓度为0.01~0.5M。水热反应的温度可为50~150℃,反应时间可为10~30h。将医用金属材料和前驱体溶液放置于反应釜中,该反应釜填充度可为40%~80%。在可选的实施方式中,镍源可选 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 等。钛源可选 $\text{TiCl}_4$ 、 $\text{Ti}(\text{NO}_3)_4$ 等。作为一个详细的前驱体溶液的制备示例,包括:在100~200mL的超纯水中加入1~3g  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和5~15g尿素,搅拌均匀后进行冰浴处理,然后再加入 $\text{TiCl}_4$ (加入体积为0.1~0.8mL)和盐酸(加入的体积为0.1~0.8mL)混合,得到前驱体溶液。其中冰浴处理的温度一般为0~-4℃,时间为0.5~12小时。

[0034] 充电处理。将镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的医用金属材料浸渍于电解液中作为阳极,进行充电反应。充电反应的电流可为1~10mA,反应时间可为0.5~5min。在充电反应过程中,随着充电量的提高,与氧配位的镍降低,但其价态并没有明显变化,说明充电使得镍脱离晶格,在材料内部形成镍空位(参见图8),原位生成了镍空位增加的镍钛层状双金属氢氧化物。

[0035] 放电处理。将镍钛层状双金属氢氧化物薄膜的医用金属材料浸渍于电解液中作为阴极,进行放电反应。放电反应的电流可为-6~-1mA,反应时间可为0.5~5min。在放电反应

过程中,随着充电量的提高,在材料内部形成间隙镍(参见图8),原位生成了间隙镍增加的镍钛层状双金属氢氧化物。

[0036] 在上述充放电过程中,所用电解液中溶质可为氢氧化钠、氢氧化钾、硅酸钠、磷酸钠、磷酸二氢钠、甘油磷酸钠中的至少一种。溶质的总浓度为0.1~10M。溶剂可为超纯水、去离子水等中的至少一种。

[0037] 在本发明中,首次赋予了镍钛合金等医用金属材料抑癌/抗菌作用,可被广泛应用于与肿瘤组织接触的医用镍钛合金器械的制备或改性。表面改性镍钛合金可有效的调控癌细胞和细菌的生物学行为。细胞增殖实验表明,经改性的镍钛合金对癌细胞RBE的增殖产生了明显的抑制作用。平板计数结果表明本发明的表面改性镍钛合金对金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌均表现出优异的抗菌能力。能够满足与肿瘤组织接触的医用镍钛合金器件对材料抑癌抗菌能力方面的要求。

[0038] 下面进一步列举实施例以详细说明本发明。同样应理解,以下实施例只用于对本发明进行进一步说明,不能理解为对本发明保护范围的限制,本领域的技术人员根据本发明的上述内容作出的一些非本质的改进和调整均属于本发明的保护范围。下述示例具体的工艺参数等也仅是合适范围中的一个示例,即本领域技术人员可以通过本文的说明做合适的范围内选择,而非要限定于下文示例的具体数值。

#### [0039] 实施例1

将直径为12mm厚度为2mm的镍钛合金圆片,用酸洗液(HF:HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O=1:5:4)进行超声清洗3遍,每次清洗5min,每片镍钛圆片酸洗液用量为5ml,清洗完毕后用超纯水进行超声清洗两次,每次清洗时间为5min,60℃烘箱烘干。

#### [0040] 实施例2

向100ml超纯水中加入1.426g NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O(0.006mol,浓度0.06mol/L)和6.5g尿素(0.108mol,浓度1.08mol/L),搅拌均匀后放入4℃冰箱内预冷半小时,后在冰浴环境中加入0.25ml盐酸(盐酸本身的溶度是12M,前驱体溶液中盐酸浓度是0.03M)和0.25mlTiCl<sub>4</sub>(0.00227mol,浓度为0.0227mol/L)搅拌均匀后作为前驱液放入4℃冰箱中保存,得到前驱液。水热处理时,向反应釜中加入镍钛圆片和前驱液,前驱液使用倍数稀释20倍,使用量为每片镍钛合金圆片对应5ml稀释后的前驱液,反应温度120℃,反应时间24h。所得样品标记为LDH(0mA),Ni/Ti原子比与为2.84:1。

[0041] 图1是LDH(0mA)样品经本实施例处理后得到的扫描电镜形貌图,从图中可以看出,经过处理后样品表面呈现纳米片状结构,每个纳米片的长度约为2μm,厚度约为30nm。图2中LDH(0mA)样品是经本实施例处理后X射线光电子能谱分析图,由图可知处理后样品表面主要成分为镍、钛和氧。图5是LDH(0mA)样品的紫外可见吸收光谱图。图中可以看出,该层状双氢氧化物中能带宽度约为2.5eV。图6是LDH(0mA)样品的阻抗谱图。图中可以看出,LDH(0mA)样品曲线为半圆状,半圆半径与材料的电荷转移电阻成正比,即LDH(0mA)样品的电荷转移电阻最高。图8是LDH(0mA)样品经过X射线吸收精细结构分析后的结果,图中可以看出LDH(0mA)样品的镍配位数为5.77±1.87。

#### [0042] 实施例3

取实施例2制备样品进行电化学处理,阳极为石墨电极,阴极为镍钛LDH圆片,电解液为0.1M NaOH溶液,电流设定为3mA,处理时间60s,处理完毕后在通电状态下置于超纯水中清



洗30s。断电,吹风机吹干。所得样品标记为LDH(-3mA),其Ni/Ti原子比为4:1。

[0043] 图1中LDH(-3mA)样品是经本实施例处理后得到的扫描电镜形貌图,从图中可以看出,经过处理后样品形貌与未充放电样品无明显差别,表面呈现纳米片状结构,纳米片长度约为2 $\mu$ m,厚度约为30nm。图2中LDH(-3mA)样品是经本实施例处理后X射线光电子能谱分析图,由图可知处理后样品表面主要成分为镍、钛和氧,与未充放电样品无明显差别。图5是LDH(-3mA)样品经本实施例得到的紫外可见吸收光谱图。图中可以看出,该层状双氢氧化物中能带宽度约为2.38ev,比LDH(0mA)能带宽度(2.5ev)低,证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图6是LDH(-3mA)样品的阻抗谱图。图中可以看出,LDH(-3mA)样品曲线为半圆状,半圆半径与材料的电荷转移电阻成正比,即LDH(-3mA)样品的电荷转移电阻比LDH(0mA)低,进一步证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图8包含LDH(-3mA)样品经过X射线吸收精细结构分析后的结果,图中可以看出LDH(-3mA)样品的镍配位数为 $7.59 \pm 2.39$ ,高于LDH(0mA)样品。说明放电后材料间隙镍含量增加,处于亚稳态。

#### [0044] 实施例4

取实施例2制备样品进行氧化还原处理,阳极为镍钛LDH圆片,阴极为石墨电极,电解液为0.1M NaOH溶液,电流设定为1mA,处理时间60s,处理完毕后在通电状态下置于超纯水中清洗30s。断电,吹风机吹干。所得样品标记为LDH(1mA),其Ni/Ti原子比与为1.63:1。

[0045] 图1中LDH(1mA)样品是经本实施例处理后得到的扫描电镜形貌图,从图中可以看出,经过处理后样品形貌与未充放电样品无明显差别,表面呈现纳米片状结构,纳米片长度约为2 $\mu$ m,厚度约为30nm。图2中LDH(1mA)样品是经本实施例处理后X射线光电子能谱分析图,由图可知处理后样品表面主要成分为镍、钛和氧,与未充放电样品无明显差别。图5是LDH(1mA)样品经本实施例得到的紫外可见吸收光谱图。图中可以看出,该层状双氢氧化物中能带宽度约为2.43ev,比LDH(0mA)能带宽度(2.5ev)低,证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图6是LDH(1mA)样品的阻抗谱图。图中可以看出,LDH(1mA)样品曲线为半圆状,半圆半径与材料的电荷转移电阻成正比,即LDH(1mA)样品的电荷转移电阻比LDH(0mA)低,进一步证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图8包含LDH(1mA)样品经过X射线吸收精细结构分析后的结果,图中可以看出LDH(1mA)样品的镍配位数为 $5.55 \pm 1.56$ ,低于LDH(0mA)样品。说明充电后材料产生镍空位,处于亚稳态。

#### [0046] 实施例5

取实施例2制备样品进行氧化还原处理,阳极为镍钛LDH圆片,阴极为石墨电极,电解液为0.1M NaOH溶液,电流设定为3mA,处理时间60s,处理完毕后在通电状态下置于超纯水中清洗30s。断电,吹风机吹干。所得样品标记为LDH(3mA),其Ni/Ti原子比为1.38:1。

[0047] 图1中LDH(3mA)样品是经本实施例处理后得到的扫描电镜形貌图,从图中可以看出,经过处理后样品形貌与未充放电样品无明显差别,表面呈现纳米片状结构,纳米片长度约为2 $\mu$ m,厚度约为30nm。图2中LDH(3mA)样品是经本实施例处理后X射线光电子能谱分析图,由图可知处理后样品表面主要成分为镍、钛和氧,与未充放电样品无明显差别。图5是LDH(3mA)样品经本实施例得到的紫外可见吸收光谱图。图中可以看出,该层状双氢氧化物中能带宽度约为2.28ev,比LDH(0mA)能带宽度(2.5ev)低,证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图6是LDH(3mA)样品的阻抗谱图。图中可以看出,LDH(3mA)样品曲线为半圆状,半圆半径与材料的电荷转移电阻成正比,即LDH(3mA)样品的电荷转移电阻比LDH(0mA)

低,进一步证明电化学处理使层状双氢氧化物发生简并化。图7是LDH (3mA) 样品在不同pH水溶液中得到的电势变化图。图中可以看出,随着pH的逐渐升高,放电所需时间逐渐增加,与环境的响应速度变慢。表明经过本实施例改性后的样品更能迅速的响应肿瘤酸性微环境。图8为包含LDH (3mA) 样品经过X射线吸收精细结构分析后的结果,图中可以看出LDH (3mA) 样品的镍配位数为 $5.18 \pm 1.57$ ,低于LDH (0mA) 样品,同时也低于LDH (1mA) 样品。说明充电电量进一步增加后,材料产生更多镍空位。

#### [0048] 实施例6

对经上述实施例2得到的样品循环进行实施例3 (充电) 和5 (放电) 处理并进行抗菌实验:样品在75%酒精灭菌120min,分四次进行,每次30min,中间更换新的酒精溶液。将浓度为 $10^7$ CFU/ml的菌液滴在灭菌过的样品表面( $0.06\text{mL}/\text{cm}^2$ ),然后将滴有菌液的样品放入37℃恒温培养箱培养24h。取出24h培养的样品,将菌液倍比稀释后接种在含有培养基的琼脂板上。接种后的琼脂板放入37℃恒温培养箱恒温培养16h,经过16h的培养后取出琼脂板计算活细菌数。结束后,样品循环进行实施例3 (充电)、实施例5 (放电) 处理以及实施例6操作,检测样品重复抗菌能力。

[0049] 图3是指经电化学处理前与处理后(充/放电)细菌涂板实验结果。图中可以看出,经过电化学处理后,对于绿脓杆菌和大肠杆菌两种细菌而言,改性后的材料的抗菌能力均有所增加。与此同时,循环充放电操作后,经过电化学处理的样品仍然具有较高的抗菌能力。

#### [0050] 实施例7

采用人胆管癌细胞RBE体外培养实验,分别评估未经处理的镍钛合金(实施例1)和经上述实施例2、3、4、5改性处理所得镍钛材料对癌细胞活性的影响,然后利用阿尔玛蓝(AlamarBlue™, AbD serotec Ltd, UK)试剂盒检测细胞在材料表面的增殖情况,其具体的测试方法如下:

1) 将使用75%乙醇灭菌的样品放入24孔培养板中,每孔滴加1mL密度为 $5 \times 10^4$  cell/mL 细胞悬液;

2) 将细胞培养板放入5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的细胞培养箱中36.5℃孵化18h;

3) 吸去细胞培养液,用PBS清洗样品表面后,将样品移至新的24孔板内,放入培养箱中继续培养;

4) 细胞培养1、4和7天后,吸去原培养液,加入含有5%阿尔玛蓝(AlamarBlue™) 染液的新培养液,将培养板置于培养箱中培养4h后,从每孔取出100μL培养液放入96孔板中;

5) 利用酶标仪(BIO-TEK, ELX800) 测量各孔在570nm和600nm波长下的吸光度值。

[0051] 图4是实施例2、3、4、5处理后种植RBE癌细胞后细胞增殖结果图。图中可以看出, Ni-Ti合金以及LDH (0mA) 组表面癌细胞生长状态较好,经过电化学处理后,癌细胞数量均有一定下降。其中LDH (3mA) 实验组抗癌效果最好。主要原因是LDH (3mA) 充电电流更高,同等时间下薄膜储存电荷更多所致。即有更多的电荷作用于癌细胞与细菌。而且,LDH (-3mA) 1d时无明显抗癌效果,但随着时间的推移,根据增殖结果,4d和7d时LDH (-3mA) 抗癌效果逐渐体现,能够有效抑制癌细胞生长。

[0052] 产业应用性:本发明赋予了镍钛合金表面选择性的抑癌抗菌作用,可被广泛应用于与肿瘤组织接触的镍钛合金医疗器械表面改性。

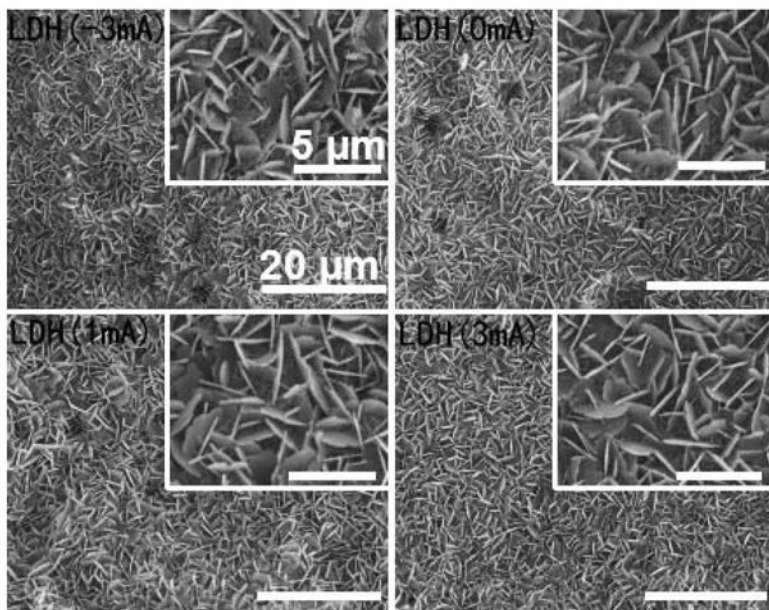


图 1

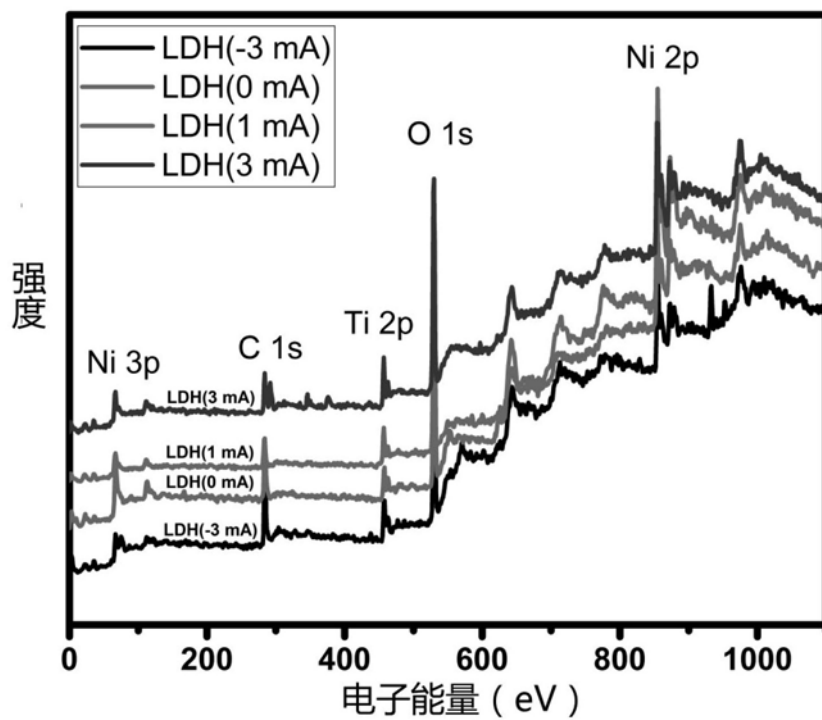


图 2

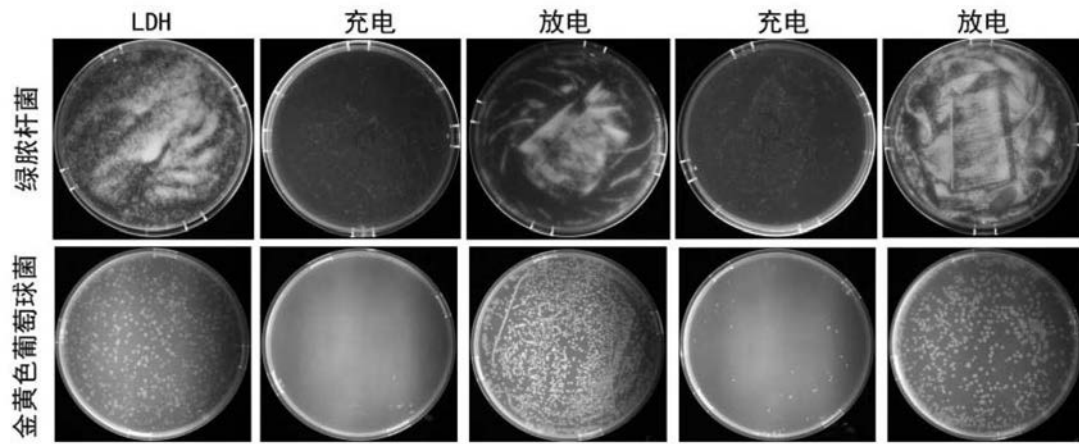


图 3

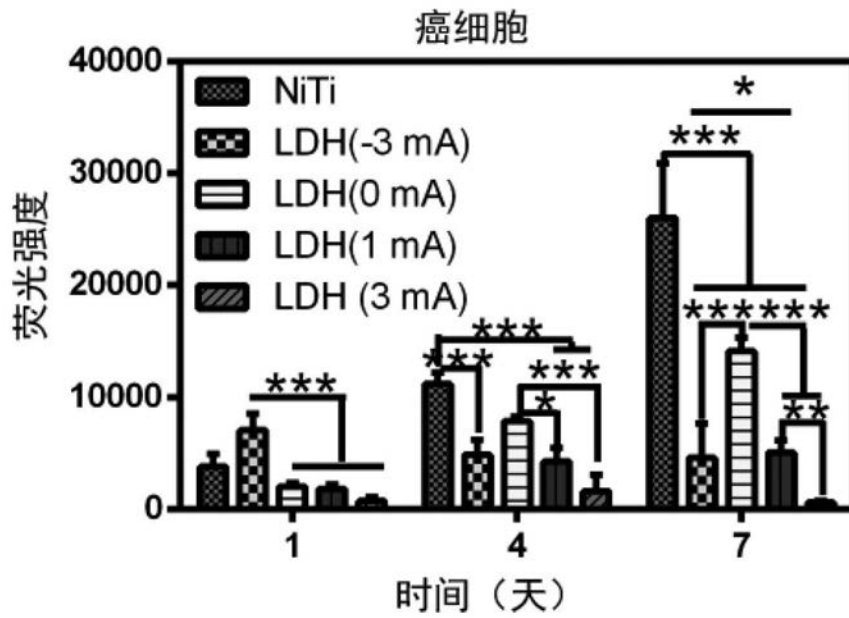


图 4

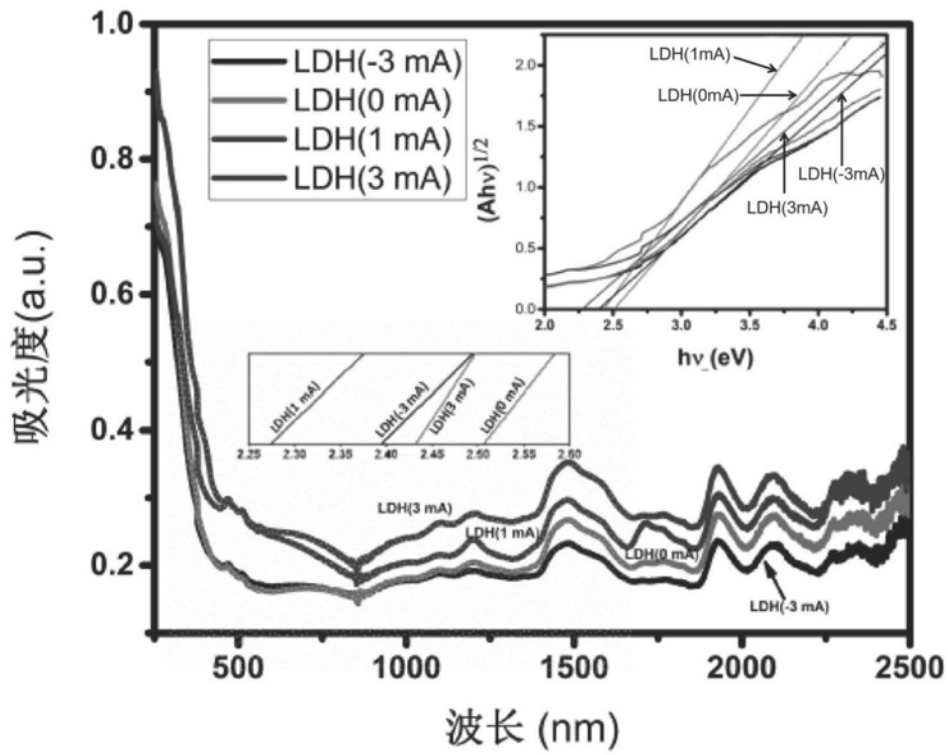


图 5

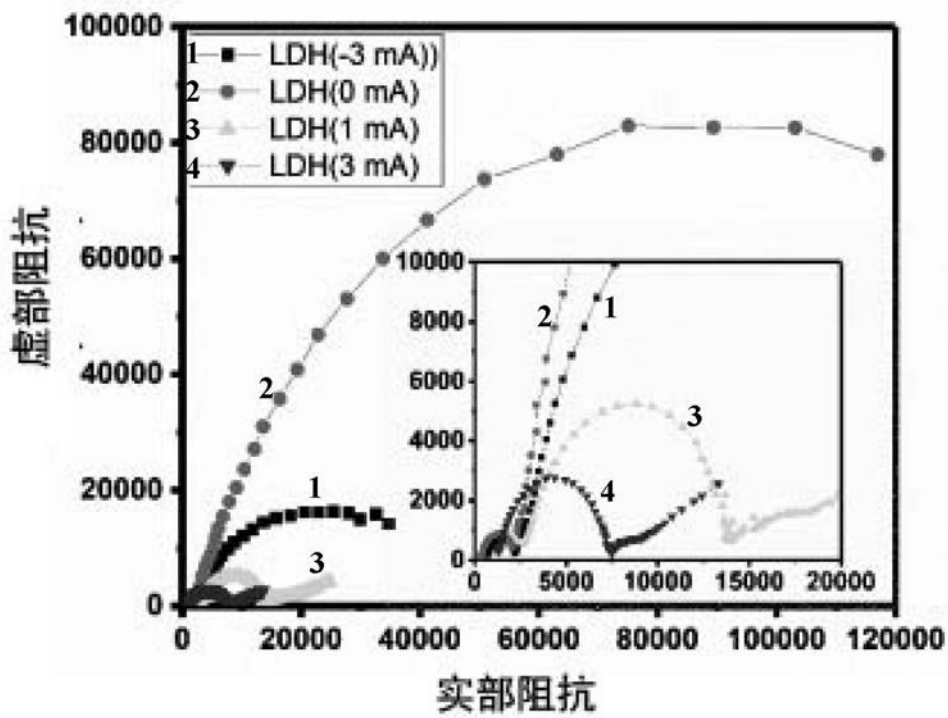


图 6

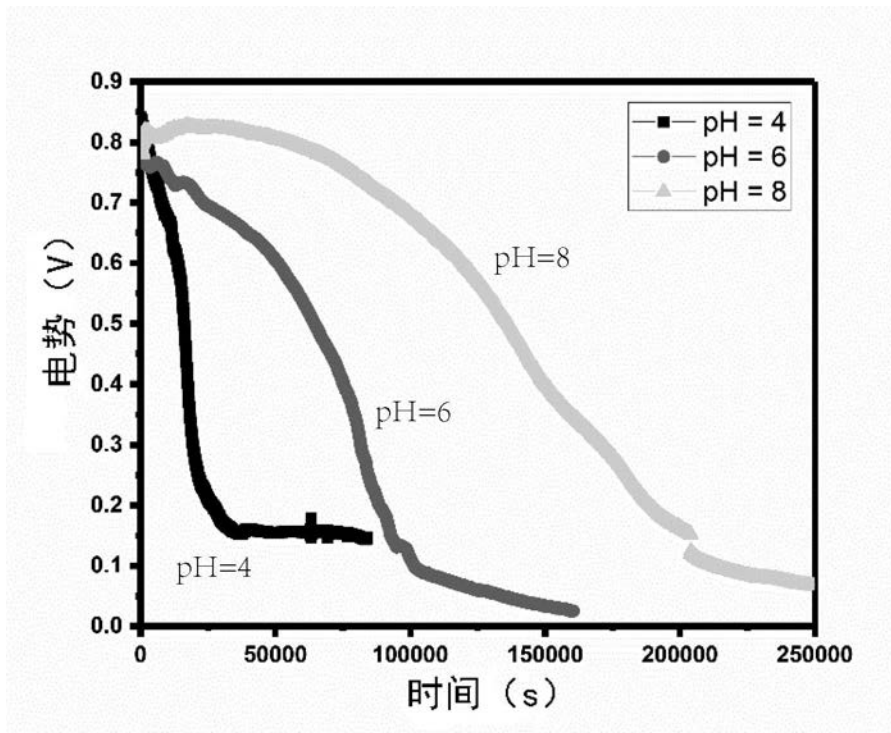


图 7

表 1:

|        | LDH(-3mA)   | LDH(0mA)    | LDH(1mA)    | LDH(3mA)    |
|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| N (Ni) | 7.59 ± 2.39 | 5.77 ± 1.87 | 5.55 ± 1.56 | 5.18 ± 1.57 |

图 8