

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 996

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLŮVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2016-38**
(22) Přihlášeno: **27.01.2016**
(40) Zveřejněno: **09.08.2017**
(Věstník č. 32/2017)
(47) Uděleno: **28.08.2019**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **09.10.2019**
(Věstník č. 41/2019)

C08L 75/04 (2006.01)
A01N 59/16 (2006.01)
A01N 25/10 (2006.01)
C08K 3/08 (2006.01)
D01C 1/00 (2006.01)
D01D 1/02 (2006.01)
D01D 5/00 (2006.01)
D01F 1/10 (2006.01)
D01F 6/88 (2006.01)
D04H 1/42 (2012.01)
D04H 1/728 (2012.01)
D06M 11/65 (2006.01)
D06M 11/83 (2006.01)
D06M 16/00 (2006.01)
D06M 23/08 (2006.01)
D06N 1/00 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

Advances in Colloid and Interface Science 166 (2011) 119–135; Panagiotis Dallas et al.: "Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives"; Available online 31 May 2011; Biosens Bioelectron. 2014 Apr 15;54:91-101. doi: 10.1016/j.bios.2013.10.047. Epub 2013 Oct 31; Zhu H et al.: "Self-assembly of various Au nanocrystals on functionalized water-stable PVA/PEI nanofibers: a highly efficient surface-enhanced Raman scattering substrates with high density of "hot" spots"; Carbohydrate Polymers 108 (2014) 192–199; Na Wanga et al.: "Electrospun nanofibrous chitosan membranes modified with polyethyleneimine for formaldehyde detection"; Available online 12 March 2014.
CZ 303 502 B; DE 10323597 A1; WO 2009063508 A2; WO 2013/023006 A2.

(73) Majitel patentu:
Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ

(72) Původce:
Mgr. Jana Soukupová, PhD., Olomouc, CZ
prof. RNDr. Radek Zbořil, Ph.D., Olomouc, CZ

(74) Zástupce:
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,
170 00 Praha 7, Holešovice

(54) Název vynálezu:

Polymerní substrát s imobilizovanými nanočásticemi stříbra a způsob jeho přípravy

(57) Anotace:

Řešení poskytuje způsob přípravy polymerního substrátu s imobilizovanými nanočásticemi stříbra, kdy se připraví substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru obsahujícího Ag-redukující funkční skupiny obsahující atom dusíku s volným elektronovým párem a následně se na substrát působí vodným roztokem stříbrných iontů za vzniku stříbrných nanočástic kovalentně imobilizovaných na substrátu prostřednictvím atomu dusíku polymerního linkeru. Dále je popsán antimikrobiální materiál, obsahující substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru obsahujícího funkční skupiny obsahující atom dusíku s volným elektronovým párem, přičemž na tyto funkční skupiny jsou kovalentně imobilizovány nanočástice stříbra.

CZ 307996 B6

Polymerní substrát s imobilizovanými nanočásticemi stříbra a způsob jeho přípravy

Oblast techniky

5

Předkládaný vynález se týká způsobu přípravy kompozitního polymerního substrátu s imobilizovanými nanočásticemi stříbra a substrátu připravitelného uvedeným způsobem.

10

Dosavadní stav techniky

V současné době známé postupy umožňují cílenou modifikaci rozličných substrátů nanočásticemi stříbra (AgNPs), s cílem antimikrobiálního ošetření materiálu nebo vytvoření antifoulingové ochrany (prodloužení životnosti některých filtračních/vláknitých struktur), ale neřeší problém uvolňování nanočástic stříbra, případně nanočástic stříbra i s jejich linkery. Český patent 303502 popisuje způsoby imobilizace AgNPs prostřednictvím kovalentní vazby mezi Ag a linkerem, ale neeliminuje možnost uvolnění celého kompozitu, tj. Ag-linker, ze substrátu vlivem mechanické námahy nebo například u filtračních materiálů vlivem vysokých tlaků průtočného média nebo vysokých průtoků média.

20

Tento problém řeší předkládaný vynález tak, že poskytuje způsob imobilizace nanočástic stříbra, který zajišťuje jejich ukotvení v substrátu takovým způsobem, že je účinně zabráněno uvolnění nanočástic stříbra/nanočástic stříbra i s polymerním linkerem z kompozitu. Postup dále zjednodušuje celý proces funkcionalizace povrchů a dovoluje práci za významně nižších teplot, což je pro některé substráty klíčové.

25

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález poskytuje způsob přípravy polymerního substrátu s imobilizovanými nanočásticemi stříbra, jehož podstata spočívá v tom, že se připraví substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru obsahujícího Ag-redukující funkční skupiny (tj. funkční skupiny schopné redukovat ionty stříbra) obsahující atom dusíku s volným elektronovým párem a následně se na substrát působí vodným roztokem stříbrných iontů za vzniku nanočástic stříbra kovalentně imobilizovaných na substrátu prostřednictvím atomu dusíku a/nebo sily polymerního linkeru.

35

Vodonerozpustný polymer je syntetický polymer vybraný ze skupiny zahrnující polyurethany, polylaktát, polyglykolid, poly(laktát-co-glykolid), polyethylen, polypropylen, polyamid, sacharidy, jako například celulózu nebo chitosan.

40

Ag-redukující funkční skupiny zahrnují všechny skupiny obsahující dusík a zároveň disponující volným elektronovým párem, tzn. například amino, imino, imido skupina.

45

Polymerní linker má s výhodou molekulovou hmotnost od 300 g.mol⁻¹ do 1 000 000 g.mol⁻¹ a má buď lineární či větvenou strukturu řetězce. Výhodným polymerním linkerem je např. polyethylenimin.

50

Substrát je nanovláknitý. Zvláknění se provádí ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru. V rámci předkládaného vynálezu bylo zjištěno, že připraví-li se substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru, je to postačující pro zabránění uvolnění kompozitu Ag-linker, což je nevýhoda řešení podle CZ 303502.

55

Polymerní linker je v substrátu s výhodou obsažen v koncentraci od 0,0001 % hmotn. do 5 % hmotn., vztaženo na celkovou hmotnost vodonerozpustného polymeru.

Stříbrné ionty mohou být ve formě sloučeniny obsahující stříbrné ionty, což může být stříbrná vodorozpustná sůl, jako např. AgNO_3 , AgClO_4 , AgF , nebo vodorozpustný komplex stříbrných iontů jako např. diaminstříbrný komplex.

Působení vodným roztokem sloučeniny obsahující stříbrné ionty na substrát se s výhodou provádí při koncentraci roztoku stříbrných iontů v rozmezí $0,0001 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ až $5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; s výhodou při teplotě média od 5°C do 95°C , ideálně však za laboratorní teploty, s výhodou po dobu 1 s až 60 minut.

Výsledný kompozitní materiál vykazuje požadované antimikrobiální vlastnosti prostřednictvím kovalentně vázaných nanočástic stříbra, které jsou navíc pevně kotveny prostřednictvím polymerního linkeru, který je sám ukotven do struktury substrátu. Na rozdíl od pouhého kotvení samotných nanočástic stříbra do substrátu je zde celý povrch nanočástic stříbra dostupný pro antimikrobiální účinnost a částice se z povrchu mechanicky neuvolňují, což je klíčovým parametrem například pro použití tohoto materiálu v technologiích čištění vod či medicínálních aplikacích.

Předmětem předkládaného materiálu je dále antimikrobiální materiál s obsahem nanočástic stříbra, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru a polymerního linkeru obsahujícího funkční skupiny obsahující atom dusíku a/nebo síry, na něž jsou kovalentně imobilizovány nanočástice stříbra. Antimikrobiální materiál je s výhodou připravitelný způsobem podle předkládaného vynálezu.

Objasnění výkresů

Obr. 1 ukazuje mikrofotografii nanovláken připravených podle příkladu 1.

Obr. 2 ukazuje mikrofotografii nanovláken připravených podle příkladu 2.

Obr. 3 ukazuje mikrofotografii nanovláken připravených podle příkladu 3.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1: Vlákna polyurethanu (PU) s imobilizovanými nanočásticemi stříbra na všech površích

Nanovláknité struktury polyurethanu (PU), tj. vlákna mající průměr v rozmezí desítek až stovek nm, jsou připravována pomocí koaxiálního zvláknování/elektrospinningu ze směsi PU rozpuštěného v dimethylformamidu (DMF). V DMF je rozpuštěn PU v hmotnostním poměru 4 %. Po homogenizaci je do směsi přidán polyethylenimin (tj. rozvětvený polymerní linker obsahující atomy dusíku s volným elektronovým párem, které jsou dostupné k využití z hlediska redukce a stabilizace následně generovaných a současně imobilizovaných nanočástic stříbra) o molekulové hmotnosti $25000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (v koncentraci 1 % hmotn. ve vztahu k hmotě PU). Po homogenizaci směsi DMF:PU:PEI je provedeno zvláknění směsi pomocí elektrospinningu. Vytážené vlákno je sbíráno na rotačním kolektoru, kde vzniká kompaktní vrstva těchto vláken bez cílené orientace (tzv. ve formě označované jako „mesh“). Takto připravená struktura obsahující vlákna s imobilizovaným i polymerním linkerem ve své struktuře jsou výhodně použitelná pro cílenou depozici nanočástic stříbra ponořením do roztoku prekursoru nanočástic stříbra, tj. do dusičnanu stříbrného o koncentraci $8 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Z roztoku jsou nanovlákna ihned vytáhena a struktura vymyta vodou z důvodu odstranění veškerých zbytků prekursoru ze všech kavit. Tímto způsobem jsou tedy odstraněna všechna chemická residua, která nejsou kotvena k povrchu vláken. Celý proces probíhá při laboratorní teplotě. Mezi heteroatomem a Ag je silná koordinačně-kovalentní vazba a linker samotný je uchycený ve struktuře substrátu.

Z tohoto důvodu nezhrozí uvolňování nanočástic samotných nebo s polymerním linkerem z připraveného kompozitu.

5 Takto připravený vzorek PU vláken s imobilizovanými AgNPs byl podroben mineralizaci s cílem převedení všech AgNPs na Ag^+ a jejich kvantifikaci pomocí AAS. Identické analýze byl podroben materiál po 24 hodinách pobytu ve vodném prostředí na třepačce. Množství stříbra identifikované v materiálu po syntéze a po 24 h. třepání bylo téměř identické (pozn. úbytek 0,1 % hmotn. představuje chybu měření a může korespondovat s uvolněnými Ag^+ ionty z povrchu nanočástic stříbra, což je proces, na kterém je založen antimikrobiální efekt těchto částic).

10 Struktura polymerních vláken polyuretanu s imobilizovanými molekulami hyperrozzvětveného polyethyleniminu a následně na povrchu imobilizovanými nanočásticemi stříbra prokázala antimikrobiální účinnost vůči modelovým organismům rodu *Staphylococcus* a *Escherichia* (testováno podle normy JIS1902/ISO20743 pro textilie). *Testované vzorky měly velikost 5x5 cm a koncentrace inokula byla 10^5 CFU/mL.* Při testování byl kompletně potlačen nárůst bakterií u vzorků funkcionalizovaných nanočásticemi stříbra oproti vzorkům polyuretanových vláken, které byly použity jako srovnávací vzorek.

20 **Příklad 2: Vlákná poly(laktát-co-glykolidu) (PLGA) s imobilizovanými nanočásticemi stříbra na všech površích**

Nanovláknité struktury poly(laktát-co-glykolidu) u (PLGA), tj. vlákna mající průměr ve stovkách nanometrů jsou připravována pomocí elektrospinning ze směsi PLGA rozpuštěného v chloroformu (CHCl_3 , 95%) s přidavkem dimethylformamidu (DMF; 5%). Ve směsi DMF a chloroformu je rozpuštěn PLGA s molekulovou hmotností 50 000 až 75 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ v hmotnostním poměru 30 %. Po homogenizaci směsi PLGA:DMF: CHCl_3 na třepačce je do roztoku přidán hyperrozzvětvený polyethylenimin (PEI) s molekulovou hmotností 25 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (tj. rozvětvený polymerní linker obsahující atomy dusíku s volným elektronovým párem, který je dostupný k využití z hlediska redukce a stabilizace následně generovaných a současně imobilizovaných nanočástic stříbra) v koncentraci 0,1 % hmotn. ve vztahu k hmotě PLGA. Následně je provedeno zvláknění směsi pomocí elektrospinningu. Vytažené vlákno je sbíráno na rotačním kolektoru ve formě orientovaných vláken. Takto připravená vlákna, obsahující ve své struktuře polymerní linker pro cílenou depozici nanočástic stříbra, jsou následně ponořena do roztoku prekursoru nanočástic stříbra, tj. do dusičnanu stříbrného o koncentraci $5\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. V roztoku jsou vlákna ponechána po dobu 3 minut a ihned vytažena. Následně jsou promyta destilovanou vodou s cílem odstranění zbytku prekursoru nanočástic stříbra. Mezi heteroatomem a Ag je silná koordinačně-kovalentní vazba a linker samotný je uchycený ve struktuře. Z tohoto důvodu nehrozí uvolňování nanočástic samotných nebo s polymerním linkerem.

40 **Příklad 3: Nanovlákná polylaktát-co-glycolidu (PLGA) s imobilizovanými nanočásticemi stříbra na všech površích**

Nanovláknité struktury polylaktát-co-glycolidu (PLGA), tj. vlákna mající průměr v desítkách nanometrů jsou připravována pomocí elektrospinningu ze směsi PLGA rozpuštěného v tetrahydrofuranu (THF; 50%) s přidavkem chloroformu (CHCl_3 , 50%). Ve směsi THF a chloroformu je rozpuštěn PLGA s molekulovou hmotností 50 000 až 75 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ v hmotnostním poměru 30%. Po homogenizaci směsi PLGA:THF: CHCl_3 na třepačce je do roztoku přidán hyperrozzvětvený polyethylenimin s molekulovou hmotností 750 000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (pozn. rozvětvený polymerní linker obsahující dostatečné množství dusíku s volným elektronovým párem, který je dostupný k využití z hlediska redukce a stabilizace následně generovaných a současně imobilizovaných nanočástic stříbra) v koncentraci 0,1 hm. % ve vztahu k hmotě PLGA. Následně je provedeno zvláknění směsi pomocí elektrospinningu. Vytažené vlákno je sbíráno na rotačním kolektoru, kde vzniká kompaktní vrstva těchto vláken bez cílené orientace (tzv. ve formě označované jako „mesh“). Takto připravená vlákna, obsahující ve své struktuře polymerní linker pro cílenou depozici nanočástic stříbra, jsou následně ponořena do

roztoku prekursoru nanočástic stříbra, tj. do dusičnanu stříbrného o koncentraci $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. V roztoku jsou vlákna ponechána po dobu 3 minut a následně vytažena. Poté je struktura promyta destilovanou vodou s cílem odstranění zbytku prekursoru nanočástic stříbra. Mezi heteroatomem a Ag je silná koordinačně-kovalentní vazba a linker samotný je uchycený ve struktuře. Z tohoto důvodu nehrozí uvolňování nanočástic samotných nebo s polymerním linkerem.

PATENTOVÉ NÁROKY

10

1. Způsob přípravy polymerního substrátu s imobilizovanými nanočásticemi stříbra, **vyznačený tím**, že se připraví substrát zvlákněním ze směsi vodonerozpustného polymeru vybraného ze skupiny zahrnující polyurethany, polylaktát, polyglykolid, poly(laktát-co-glykolid), polyethylen, polypropylen, polyamid a sacharidy, a polymerního linkeru obsahujícího Ag-redukující funkční skupiny obsahující atom dusíku s volným elektronovým párem a následně se na substrát působí vodným roztokem stříbrných iontů za vzniku nanočástic stříbra kovalentně imobilizovaných na substrátu prostřednictvím atomu dusíku polymerního linkeru.

15

20

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačený tím**, že Ag-redukující funkční skupiny jsou vybrány ze skupiny zahrnující amino, imino, imido skupiny.

3. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že polymerní linker je polyethylenimin.

25

4. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že polymerní linker je v substrátu obsažen v koncentraci od 0,0001 % hmotn. do 5 % hmotn., vztaženo na celkovou hmotnost vodonerozpustného polymeru.

30

5. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že stříbrné ionty jsou ve formě stříbrné vodorozpustné soli nebo vodorozpustného komplexu stříbrných iontů.

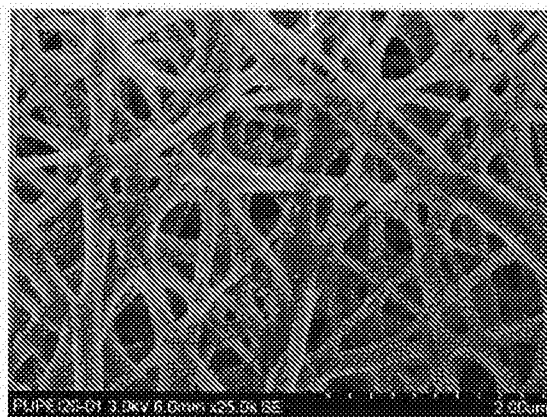
35

6. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že působení vodným roztokem stříbrných iontů na substrát se provádí při koncentraci roztoku stříbrných iontů v rozmezí $0,0001 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ až $5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; s výhodou při teplotě média od 5 °C do 95 °C, s výhodou po dobu 1 s až 60 minut.

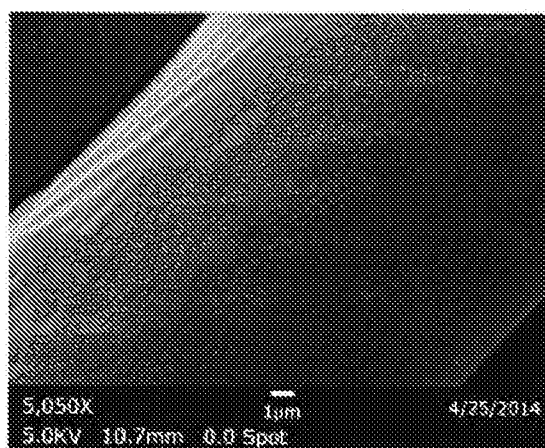
40

7. Antimikrobiální materiál s obsahem nanočástic stříbra, **vyznačený tím**, že obsahuje nanovláknitý substrát ze směsi vodonerozpustného polymeru vybraného ze skupiny zahrnující polyurethany, polylaktát, polyglykolid, poly(laktát-co-glykolid), polyethylen, polypropylen, polyamid a sacharidy, a polymerního linkeru obsahujícího funkční skupiny obsahující atom dusíku s volným elektronovým párem, přičemž na těchto funkčních skupinách jsou kovalentně imobilizovány nanočástice stříbra.

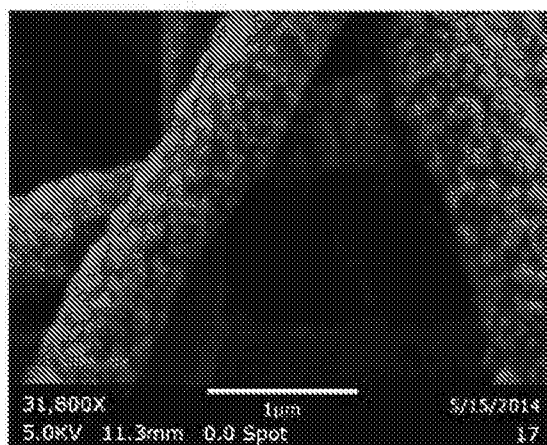
2 výkresy



Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3