

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392347** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.10.24

(51) Int. Cl. *C09D 5/16* (2006.01)
C09D 5/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.02.23

(54) **СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ПРОТИВОМИКРОБНОГО
ПОКРЫТИЯ, КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПОКРЫТИЯ И
ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПРИДАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ
ПОВЕРХНОСТИ ПОДЛОЖКИ**

(31) 102021000004457

(32) 2021.02.25

(33) IT

(86) PCT/IB2022/051568

(87) WO 2022/180521 2022.09.01

(71) Заявитель:

ЭНИ С.П.А. (IT)

(72) Изобретатель:

Ассанелли Джулио, Нотари

Марчелло, Амико Антонио, По

Риккардо, Серболиска Лука (IT)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способу приготовления композиции противомикробного покрытия, содержащему следующие стадии: а. обеспечение водной дисперсии, содержащей графит, по меньшей мере один окислитель и необязательно по меньшей мере одну противомикробную добавку; б. подвергание водной дисперсии со стадии а гомогенизации с высоким усилием сдвига путем смешивания указанной дисперсии со скоростью перемешивания, равной или превышающей 1000 об/мин, с получением противомикробной водной дисперсии, содержащей оксид графена; с. смешивание этой водной противомикробной дисперсии по меньшей мере с одним пленкообразующим агентом для того, чтобы получить композицию противомикробного покрытия. Настоящее изобретение дополнительно относится к композиции, получаемой вышеупомянутым способом, и к ее применению для придания противомикробных свойств поверхности подложки.

A1

202392347

202392347

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578460EA/042

СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПОКРЫТИЯ, КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПОКРЫТИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПРИДАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ ПОДЛОЖКИ

Настоящее изобретение относится к способу приготовления композиции противомикробного покрытия, к композиции противомикробного покрытия и к ее применению для придания противомикробных свойств поверхности подложки.

Как известно, значительное количество инфекций развивается при контакте человека с поверхностями, зараженными бактериями или вирусами, такими как поверхности упаковки для товаров народного потребления, транспортных средств, предметов мебели, мест общего пользования, оборудования, одежды, или поверхности медицинских устройств (протезы, катетеры, бандажи и т.д.). Эти поверхности фактически содержат следы питательных для микроорганизмов соединений (сахаров, соединений фосфора, масел и т.д.), которые способствуют размножению колоний бактерий и прилипанию вирусных частиц.

Известно, что для снижения риска инфицирования поверхности, подверженные возможному микробиологическому загрязнению, покрывают противомикробными покрытиями, в частности красками, которые действуют либо за счет предотвращения адгезии микроорганизмов, либо за счет снижения их размножения за счет цитотоксического действия (биоцидного действия).

Противомикробные покрытия обычно получают путем нанесения композиций, как правило в жидкой форме, на покрываемые поверхности. Композиция покрытия обычно содержит: (1) по меньшей мере один *пленкообразующий агент* (также называемый *связующим веществом*), (2) летучие компоненты (например растворители), (3) пигменты и (4) добавки. В противомикробных композициях покрытия противомикробный эффект обычно достигается за счет включения в композиции одной или более добавок с противомикробными свойствами.

Противомикробная эффективность покрытия зависит, среди прочих факторов, от совместимости используемой противомикробной добавки с другими компонентами композиции покрытия, в частности от ее совместимости с пленкообразующим агентом. Кроме того, с точки зрения приготовления важно, чтобы противомикробная добавка могла легко диспергироваться в композиции покрытия, и чтобы получаемая дисперсия была достаточно стабильной во времени, т.е. не подвергалась явлениям фазового разделения или седиментации в течение достаточно длительного периода времени.

В уровне техники известны основанные на графене материалы, в частности графен в окисленной форме (оксид графена), которые используются в качестве противомикробных добавок в противомикробных композициях покрытия. Примером такого использования графена является коммерческий продукт «Dr. Wall» производства компании Graphene,

Калифорния, США, представляющий собой акриловую краску на водной основе, содержащую комбинацию графена и TiO_2 .

Дополнительные примеры использования графена в качестве противомикробной добавки в композициях покрытия описываются в публикации Sacaci M. et al. (2019) *Graphene Oxide Coatings as Tools to Prevent Microbial Biofilm Formation on Medical Device*, in: Donelli G. (eds) *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1282. Springer, Cham. [https://doi.org/10,1007/5584_2019_434](https://doi.org/10.1007/5584_2019_434).

Ограничение композиций покрытия, содержащих графен, известных в данной области техники, состоит в ограниченной противомикробной эффективности получаемых покрытий, как с точки зрения снижения противомикробного действия, так и с точки зрения продолжительности этого действия во времени.

Принимая во внимание вышеупомянутый уровень техники, существует потребность в противомикробных композициях покрытия, в частности содержащих оксид графена в качестве противомикробной добавки, которые преодолевали бы недостатки композиций, известных в данной области техники.

В частности, желательно иметь композиции покрытия, которые обладают более эффективным и продолжительным противомикробным действием с течением времени, чем композиции предшествующего уровня техники.

Также желательно, чтобы противомикробные композиции покрытия могли готовиться легко, быстро и экономично.

Заявитель теперь обнаружил, что эта и другие цели, которые будут лучше проиллюстрированы ниже, могут быть достигнуты путем подвергания водной дисперсии графита процессу окисления и расслоения, осуществляемому при определенных рабочих условиях, что позволяет получить водную дисперсию оксида графена, которая в дополнение к тому, что она является однородной и стабильной во времени, легко смешивается с пленкообразующим агентом в широком диапазоне весовых соотношений. Водная дисперсия графита содержит по меньшей мере один окислитель (например перекись водорода) и подвергается стадии гомогенизации с высоким усилием сдвига (при скорости равной или больше чем 1000 об/мин), во время которой происходит расслоение графита с образованием нанопластин графена и сопутствующим окислением графена в оксид графена (в дальнейшем также упоминаемый как GO).

Композиции покрытия, полученные из вышеупомянутой водной дисперсии оксида графена, могут быть нанесены на поверхность подложки для формирования пленки покрытия, противомикробное действие которой с точки зрения биоцидной эффективности и продолжительности превосходит действие композиций, известных в уровне техники.

Также было замечено, что противомикробное действие покрытия может быть увеличено за счет включения одной или более обычных противомикробных добавок в содержащую оксид графена композицию покрытия.

Таким образом, в соответствии с первым аспектом настоящее изобретение относится

к способу приготовления противомикробной композиции покрытия по п. 1 формулы изобретения.

В соответствии со вторым аспектом настоящее изобретение относится к противомикробной композиции покрытия по п. 13, получаемой вышеупомянутым способом.

В соответствии с третьим аспектом настоящее изобретение относится к использованию противомикробной композиции покрытия по п. 14 для придания подложке противомикробных свойств.

В соответствии с четвертым аспектом настоящее изобретение относится к способу придания подложке противомикробных свойств по п. 15.

Дополнительные особенности вышеперечисленных аспектов настоящего изобретения определяются в зависимых пунктах формулы изобретения.

Характеристики и преимущества способа в соответствии с настоящим изобретением станут более очевидными из следующего описания. Описание и следующие примеры вариантов осуществления приводятся с единственной целью проиллюстрировать настоящее изобретение, и не должны трактоваться как ограничивающие область защиты настоящего изобретения, определяемую приложенной формулой изобретения.

Пределы и числовые интервалы, выраженные в данном описании и в формуле изобретения, также включают в себя упомянутое числовое значение или числовые значения. Кроме того, все значения или подинтервалы предела или числового интервала должны пониматься как конкретно включенные, как если бы они были упомянуты явно.

Композиции в соответствии с настоящим изобретением могут «содержать», «состоять из» или «состоять по существу из» существенных и необязательных компонентов, описанных в данном описании и в приложенной формуле изобретения. Выражение «по существу состоит из» означает, что композиция или компонент могут включать в себя дополнительные ингредиенты, но только в той мере, в какой они не изменяют существенно основные характеристики композиции или компонента.

Для целей описания и прилагаемой формулы изобретения термины графен и оксид графена следует понимать в соответствии с определениями, приведенными в документе ISO/TS 80004-13:2017 (*Нанотехнологии - Словарь - Часть 13: Графен и родственные двумерные (2D) материалы*). В частности, термин графен включает в себя, в дополнение к однослойному графену, материалы, сформированные 2-10 наложенными друг на друга слоями графена, такие как двухслойный графен, «малослойный графен», состоящий из трех-десяти слоев графена, и графеновые нанопластины, состоящие из наложенных друг на друга слоев графена и имеющие толщину в диапазоне от 1 нм до 3 нм и поперечные размеры от 100 нм до 100 мкм.

Для целей данного описания и прилагаемой формулы изобретения термин «противомикробный» относится к веществу, способному инактивировать любую биохимическую функцию микроорганизмов (понимаемых как организмы размером микрометрового масштаба, такие как грибки, бактерии и вирусы).

Для целей описания и прилагаемой формулы изобретения молекулярные массы полимерных веществ выражаются как средняя масса MW , определяемая с помощью гель-проникающей хроматографии (GPC).

В соответствии с настоящим изобретением способ приготовления противомикробной композиции покрытия содержит следующие последовательные стадии:

а. обеспечение водной дисперсии, содержащей графит, по меньшей мере один окислитель и опционально по меньшей мере одну противомикробную добавку;

б. подвергание водной дисперсии со стадии а гомогенизации с высоким усилием сдвига путем смешивания указанной дисперсии со скоростью перемешивания, равной или превышающей 1000 об/мин, с получением противомикробной водной дисперсии, содержащей оксид графена;

с. смешивание содержащей оксид графена водной противомикробной дисперсии по меньшей мере с одним пленкообразующим агентом для того, чтобы получить противомикробную композицию покрытия.

Графит, используемый на стадии а, предпочтительно представляет собой графит с большой площадью поверхности (HSAG) с высоким кристаллическим порядком внутри структурных слоев. Предпочтительно графит имеет площадь поверхности в диапазоне от 200 до 500 м²/г, которая определяется способом ASTM D 6556.

Предпочтительно графит имеет турбостратную структуру с относительно небольшим количеством уложенных друг на друга слоев, например 30-40 (приблизительно 35). Предпочтительно поперечные размеры графитовых слоев составляют приблизительно 300-400 нм. Эти размеры могут быть определены, например, как описано в публикации *Biomacromolecules* 2017, 18, 3978-3991.

Графит предпочтительно имеет содержание углерода, равное или превышающее 99 мас.%. Например, химический состав графита, определенный с помощью элементного анализа, может быть следующим: углерод (99,5 мас.%), водород (0,4 мас.%) и азот (0,1 мас.%).

Концентрация графита в водной дисперсии на стадии а предпочтительно находится в диапазоне от 0,1 до 10%, более предпочтительно 0,5-5%, еще более предпочтительно 0,8-2% по массе дисперсии.

На стадии а водная дисперсия графита содержит по меньшей мере один окислитель для окисления графена, полученного при расслоении, до оксида графена.

Окислитель может быть выбран без каких-либо конкретных ограничений из тех, которые обычно используются в уровне техники для получения оксида графена. В одном варианте осуществления окислитель выбирается из: кислорода, пероксида водорода, воздуха в присутствии гидроксида калия, азотной кислоты, трет-бутилпероксида, м-хлорпербензойной кислоты, озона, серной кислоты, иона перманганата (например, $KMnO_4$), иона хромата ($K_2Cr_2O_7$), иона гипохлорита, а также их смесей.

В одном варианте осуществления окислитель выбирается из: кислорода, пероксида водорода, воздуха в присутствии гидроксида калия, трет-бутилпероксида, м-

хлорпербензойной кислоты, озона, иона хромата ($K_2Cr_2O_7$), иона гипохлорита, а также их смесей.

В одном предпочтительном варианте осуществления окислитель выбирается их: кислорода, пероксида водорода, трет-бутилпероксида, м-хлорпербензойной кислоты, озона, иона хромата ($K_2Cr_2O_7$), иона гипохлорита, а также их смесей.

В одном варианте осуществления окислитель предпочтительно представляет собой пероксид водорода (H_2O_2), опционально смешанный с уксусной кислотой.

В целом уксусная кислота, которая добавляется к H_2O_2 вместе или по отдельности, может дать несколько преимуществ, таких как:

- 1) перенос кислотных протонов, пригодных для превращения в соль аминогрупп хитозана;
- 2) увеличение «потенциала заряда» (Z-потенциала) смеси для повышения ее стабильности.

В дополнение к этому, уксусная кислота в комбинации с H_2O_2 может образовывать перуксусную кислоту, чрезвычайно активную как в качестве окислителя, так и в качестве противомикробной добавки.

Как правило, пероксид водорода используется в форме водного раствора, содержащего H_2O_2 по массе раствора в диапазоне 0,5-30%, предпочтительно 2-20%, и еще более предпочтительно 5-15%. Опционально окисляющий раствор может также содержать уксусную кислоту, предпочтительно в молярном соотношении $H_2O_2:CH_3COOH$ 30:0,01, предпочтительно 20:0,05, и еще более предпочтительно 10:0,1.

Предпочтительно вода в водной дисперсии представляет собой деминерализованную воду и/или техническую и/или питьевую воду. Предпочтительно деминерализованная вода имеет электропроводность в диапазоне 30-100 мкСм/см, предпочтительно 45-50 мкСм/см.

Предпочтительно техническая и/или питьевая вода имеет электропроводность 3000 мкСм/см - 100 мкСм/см, предпочтительно 500-50 мкСм/см.

Предпочтительно вода присутствует в противомикробной дисперсионной композиции в количестве 70-98%, предпочтительно 80-95%, и еще более предпочтительно 88-92% по массе противомикробной композиции покрытия.

Гомогенизация с высоким усилием сдвига (стадия b) относится к перемешиванию графитовой дисперсии со скоростью, равной или больше чем 1000 об/мин, предпочтительно равной или больше чем 2000 об/мин, и более предпочтительно равной или больше чем 3000 об/мин.

Предпочтительно скорость перемешивания не превышает 10000 об/мин, более предпочтительно не превышает 9000 об/мин, и еще более предпочтительно не превышает 6000 об/мин.

В одном варианте осуществления скорость перемешивания находится в диапазоне 4000-9000 об/мин, более предпочтительно 5000-7000 об/мин.

Гомогенизация с высоким усилием сдвига может быть достигнута с помощью

коммерчески доступных обычных устройств, таких как роторно-статорные смесители. Эти смесители содержат смесительный элемент (ротор), вращающийся с высокой скоростью (обычно 10-50 м/с), и неподвижный элемент (статор), которые расположены в непосредственной близости друг от друга так, чтобы зазор между концом ротора и стенками статора был очень малым, обычно от 100 мкм до 3 мм.

Продолжительность стадии гомогенизации с высоким усилием сдвига предпочтительно находится в диапазоне 1-24 час, более предпочтительно 5-10 час, и еще более предпочтительно 8-9 час.

В конце стадии b получается водная дисперсия, содержащая оксид графена в форме нанопластин.

Предпочтительно противомикробная композиция покрытия содержит оксид графена в количестве 0,1-10%, более предпочтительно 0,5-5%, и еще более предпочтительно 0,8-2% по массе противомикробной композиции покрытия.

Дисперсия оксида графена является однородной и стабильной, без разделения фаз или седиментации в течение относительно длительного периода времени (по меньшей мере одного месяца) при условиях комнатной температуры и атмосферного давления.

Дисперсия оксида графена совместима с добавлением одного или более пленкообразующих агентов, то есть она может быть смешана с одним или более пленкообразующими агентами в широком диапазоне концентраций. Пленкообразующий агент имеет функцию поддержки формирования и адгезии пленки покрытия на поверхности подложки, которая должна быть сделана противомикробной.

Для целей настоящего изобретения можно использовать обычные пленкообразующие агенты, такие как полимерные смолы, обычно используемые при приготовлении композиций покрытия, лаков, красок, эмалей и т.д.

Неограничивающими примерами пленкообразующих агентов, которые могут использоваться в целях настоящего изобретения, являются: акриловая смола, виниловая смола, стирольная смола, алкидная смола, эпоксидная смола, полиэфирная смола, поливинилацетатная смола и их комбинации.

В противомикробной композиции покрытия пленкообразующий агент предпочтительно присутствует в количестве 1-99%, более предпочтительно 1,5-75%, и еще более предпочтительно 3-50% сухой смолы по массе противомикробной композиции покрытия.

Предпочтительно стадии a - с выполняются при температуре в диапазоне от 25°C до 90°C, более предпочтительно от 35°C до 85°C, и еще более предпочтительно от 55°C до 80°C.

Предпочтительно стадии a - с выполняются при абсолютном давлении в диапазоне от 0,5 бар до 2 бар, более предпочтительно от 0,8 бар до 1,2 бар, и еще более предпочтительно при атмосферном давлении.

В одном предпочтительном варианте осуществления противомикробная композиция покрытия содержит по меньшей мере одну дополнительную противомикробную добавку,

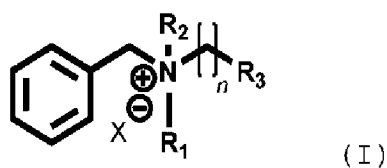
отличающуюся от оксида графена.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления противомикробная композиция покрытия содержит по меньшей мере две дополнительные противомикробные добавки, отличающиеся от оксида графена.

Противомикробная добавка может быть выбрана, например, из: соли четвертичного аммониевого основания; полигликоля с молекулярной массой в диапазоне 200-12000 г/моль; полисахарида, имеющего противомикробные свойства, предпочтительно хитозана, галактана, маннана и ламинарина; иона металла, имеющего противомикробные свойства, предпочтительно ионов серебра, ионов натрия и ионов цинка; хлорированного изотиазола; а также их смесей.

В одном особенно предпочтительном варианте осуществления по меньшей мере одна противомикробная добавка содержит: соль четвертичного аммониевого основания, предпочтительно соль бензалкония; полигликоль с молекулярной массой в диапазоне 200-12000 г/моль; ион серебра.

Соли четвертичного аммониевого основания могут быть выбраны из солей четвертичного аммониевого основания, содержащих бензильные группы и имеющих углеводородные цепи различной длины (например хлорид бензалкония, хлорид бензетония, бромид бензалкония). Предпочтительно соли четвертичного аммониевого основания имеют следующую общую формулу I



в которой:

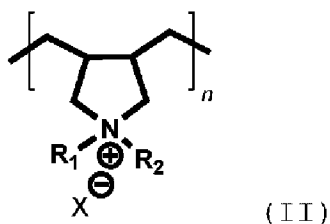
- R_1 и R_2 независимо представляют собой алкильную группу, содержащую 1-10 атомов углерода, предпочтительно 1-5 атомов углерода, и еще более предпочтительно 1-2 атома углерода;

- R_3 представляет собой алкильную группу, содержащую 1-10 атомов углерода, предпочтительно 1-5 атомов углерода, и еще более предпочтительно 1-2 атома углерода;

- n представляет собой целое число от 1 до 20, предпочтительно от 6 до 15, и еще более предпочтительно от 8 до 12;

- X представляет собой ион галогена, выбираемый из фтора, хлора, брома, йода, предпочтительно хлора и брома, и еще более предпочтительно хлора.

В одном варианте осуществления соли четвертичного аммониевого основания имеют полимерную структуру. Примером таких полимерных солей являются полидиаллилдиметиламмонийгалиды, имеющие следующую общую формулу II



в которой:

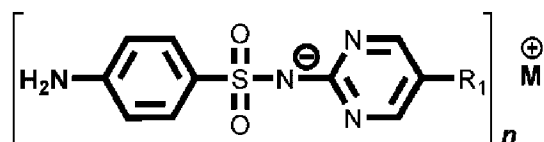
- R₁ и R₂ представляют собой алкильную группу, содержащую 1-10 атомов углерода, предпочтительно 1-5 атомов углерода, и еще более предпочтительно 1-2 атома углерода;
- n означает количество повторяющихся блоков внутри полимерной структуры;
- n представляет собой целое число от 100 до 3000, предпочтительно от 500 до 2500, и еще более предпочтительно от 1000 до 2000;
- X представляет собой ион галогена, выбираемый из фтора, хлора, брома, йода, предпочтительно хлора и брома, и еще более предпочтительно хлора.

Молекулярная масса M_w солей формулы II предпочтительно составляет 20000-1000000 г/моль, более предпочтительно 80000-600000 г/моль, и еще более предпочтительно 200000-350000 г/моль.

Полигликоли, пригодные в качестве противомикробных добавок, предпочтительно полиэтиленгликоль, имеют молекулярную массу M_w 200-12000 г/моль, предпочтительно 250-6000 г/моль, и более предпочтительно 300-3000 г/моль.

Полисахариды, имеющие противомикробные свойства, которые могут использоваться в целях настоящего изобретения, предпочтительно выбираются из: хитозана, галактана, маннана, ламинарина и их смесей. Эти соединения предпочтительно имеют молекулярную массу M_w 50000-500000 г/моль, более предпочтительно 150000-350000 г/моль, и еще более предпочтительно 190000-310000 г/моль.

Ионы металлов, имеющие противомикробные свойства, предпочтительно выбираются из ионов серебра, ионов натрия, ионов цинка и ионов меди, более предпочтительно из ионов серебра, ионов натрия и ионов меди. Предпочтительно эти ионы присутствуют в противомикробной композиции покрытия в форме соответствующих солей металлов, таких как нитратные соли, хлорированные соли, ацетатные соли и сульфодиазины. Примерами солей сульфодиазина являются соединения следующей общей формулы III



III

в которой:

- R₁ представляет собой водород или алкильную группу, содержащую 1-10 атомов

углерода, предпочтительно 1-5 атомов углерода, и еще более предпочтительно представляет собой метил;

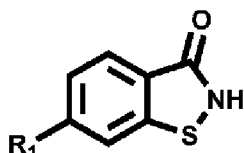
- М выбирается из серебра, цинка и натрия,
- n равен 1 или 2 в зависимости от валентности иона металла М.

Соли металлов можно использовать как таковые в виде водного раствора или растворов в водорастворимых растворителях на основе алканоламинов (например этаноламина) или диаминов (например этилендиамина).

Предпочтительно для получения более стабильных во времени водных дисперсий ионы металлов используются в комбинации по меньшей мере с одним полисахаридом, например описанного выше типа. Предпочтительно полисахарид добавляется к раствору, содержащему ионы металла, в количестве 0,2-5%, предпочтительно 0,3-4%, и еще более предпочтительно 0,5-2% по массе раствора.

Хлорированные изотиазолы предпочтительно выбираются из: 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-она и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она.

Изотиазолиноновые соединения могут быть выбраны, например, из соединений следующей общей формулы IV



IV

в которой:

- R₁ представляет собой водород или алкильную группу, содержащую 1-10 атомов углерода, предпочтительно 1-5 атомов углерода, и еще более предпочтительно представляет собой метильную группу. Предпочтительно изотиазолиноновое соединение представляет собой бензизотиазолинон.

В большинстве случаев противомикробная добавка, используемая в комбинации с оксидом графена, присутствует в противомикробной водной дисперсии в полном количестве 0,1-20%, более предпочтительно 0,5-10% по массе противомикробной водной дисперсии.

Предпочтительно массовое отношение общего количества противомикробной добавки к оксиду графена в композиции покрытия находится в диапазоне от 0,01 до 5, более предпочтительно от 0,05 до 2, и еще более предпочтительно от 0,08 до 0,15.

Для приготовления композиции покрытия противомикробная добавка может использоваться в чистом виде или в виде водного раствора, предпочтительно с концентрацией противомикробной добавки по массе раствора в диапазоне от 20% до 90%, предпочтительно от 30% до 80%, и еще более предпочтительно от 40% до 60%.

В случае солей металлов водный или растворимый в воде раствор противомикробной добавки предпочтительно имеет концентрацию соли металла по массе

раствора от 0,1% до 3%, предпочтительно от 0,2% до 2%, и еще более предпочтительно от 0,3% до 1,5%.

В случае полисахаридов, особенно хитозанов, водный раствор противомикробной добавки предпочтительно имеет концентрацию полисахарида по массе раствора от 0,3% до 3%, предпочтительно от 0,5% до 2%, и еще более предпочтительно от 0,8% до 1,5%.

В одном предпочтительном варианте осуществления раствор, содержащий полисахарид или соль металла, подкисляется ледяной уксусной кислотой в концентрации по массе раствора полисахарида от 1% до 3%, предпочтительно от 0,5% до 2%, и еще более предпочтительно от 0,1% до 1%.

В одном предпочтительном варианте осуществления противомикробная композиция покрытия содержит одну или более противомикробных добавок, выбираемых из: солей бензалкония, хитозана и ионов серебра.

Предпочтительно противомикробная композиция покрытия содержит все три вышеперечисленные противомикробные добавки.

Эта комбинация противомикробных добавок позволяет получить композицию покрытия, обладающую противомикробной эффективностью в отношении широкого спектра микроорганизмов.

Противомикробная добавка может добавляться независимо к содержащей графит водной дисперсии на стадии а, к содержащей оксид графена дисперсии, полученной на стадии б, или в обоих случаях. Противомикробная добавка может добавляться в форме водного раствора. Когда присутствуют две или более противомикробных добавок, они могут добавляться вместе или отдельно, причем каждую из них можно дозировать в одной или нескольких аликвотах. За добавлением противомикробной добавки предпочтительно следует гомогенизация полученной дисперсии с высоким усилием сдвига, т.е. в условиях, описанных выше для стадии б.

Противомикробная композиция покрытия в соответствии с настоящим изобретением опционально содержит обычные добавки, используемые в рецептуре композиций покрытия, такие как, например, окрашивающие агенты (пигменты или красители), растворители, коалесцирующие агенты, поверхностно-активные вещества, загустители, модификаторы реологических свойств, компатибилизаторы и т.п.

Оксид графена (GO) по настоящему изобретению, который представляет собой оксид графена с «окислением по краям» (EOGO), не подвергается какой-либо реакции химического восстановления, функционализации, прививки, карбоксилирования, образования композита/комплекса и т.п., когда он находится в присутствии других ингредиентов, используемых в настоящей композиции, таких как, например, антимикробные агенты, пленкообразующий агент, уксусная кислота.

Единственным возможным взаимодействием, если таковое вообще имеется, является взаимодействие нековалентных связей.

Способ приготовления противомикробной композиции покрытия в соответствии с настоящим изобретением может быть выполнен с помощью обычных устройств и

оборудования, известных специалисту в данной области техники.

Обычно компоненты водной дисперсии, приготовляемой на стадии а, можно смешивать в любом порядке. В некоторых случаях может быть предпочтительно добавлять две или более противомикробных добавок отдельно друг от друга в более позднее время, чтобы избежать возможных взаимодействий между ними. Таким является, например, случай с добавлением хлорида бензалкония и нитрата серебра, взаимодействие которых может привести к осаждению $AgCl$.

Также было замечено, что полисахариды, в частности хитозан, могут действовать как промоторы процесса расслаивания графита, в то время как соли четвертичного аммония, в частности соли бензалкония, могут действовать как интеркалирующие агенты между слоями графена (например *графена с несколькими слоями*). Следовательно, в предпочтительном варианте осуществления стадия расслаивания проводится в присутствии по меньшей мере одного полисахарида, предпочтительно хитозана. В другом предпочтительном варианте осуществления соль четвертичного аммониевого основания, предпочтительно соль бензалкония, добавляется к дисперсии после того, как графит был по меньшей мере частично расслоен.

Противомикробная композиция покрытия в соответствии с настоящим изобретением может использоваться для придания противомикробных свойств поверхности подложки. С этой целью композицию можно наносить с помощью технологии, подходящей для нанесения жидкой композиции покрытия на поверхность подложки, из тех, которые обычно используются в области окраски, например путем распыления, погружения или с помощью кисти. После нанесения жидкая фаза, содержащаяся в композиции покрытия, испаряется, формируя должным образом отвержденную и сухую пленку покрытия на подложке. Обычно испарение жидкой фазы достигается на воздухе при комнатной температуре или выше. Для сокращения времени сушки и формирования противомикробного покрытия композиция покрытия может сушиться в сушильном шкафу.

Примерами подложек, на которые можно наносить противомикробную композицию покрытия по настоящему изобретению, являются поверхности из пластика, металла, дерева, бетона, камня, поликарбоната, плексигласа, PVC, латекса, керамики и т.п.

Композиция покрытия в соответствии с настоящим изобретением также может наноситься на подложки, предварительно покрытые, например, лаками, красками и другими типами покрытий.

Противомикробная эффективность композиций в соответствии с настоящим изобретением может быть измерена с точки зрения снижения общего количества живых микробов, контактирующих с противомикробным покрытием.

Для целей настоящего изобретения антибактериальная эффективность может быть определена, например, с помощью метода ASTM E2180-18.

В большинстве случаев, композиции покрытия по настоящему изобретению можно использовать против потенциально патогенных микроорганизмов, присутствующих в окружающей среде.

Микроорганизмы, против которых эффективна противомикробная композиция покрытия, включают в себя грибки, водоросли, бактерии и вирусы. Примерами грибков являются: *Aspergillus niger* и *Penicillium funiculosum*. Примерами бактерий являются: *Gordonia amicalis*, *Microbacterium hydrocarbonoxidans*, *Pseudomonas taiwanensis*, *Pseudomonas resinovorans* и *Escherichia coli*.

Другими патогенными бактериями, против которых могут быть эффективны композиции покрытия по настоящему изобретению, являются: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio harveyi* и *Enterococcus faecalis*.

Композиции покрытия также эффективны против вирусов. Вирусы представляют собой малые возбудители инфекции (от 0,02 мкм до максимум 1 мкм), состоящие из биологического материала, которые не могут жить или воспроизводиться автономно, кроме как внутри клетки-хозяина, функциональные механизмы которой они используют. Примерами вирусов являются: коронавирус, в частности, вирус Sars-Cov2.

Для целей настоящего изобретения противовирусную эффективность композиций покрытия можно определить, например, как указано в стандарте ISO 21702:2019 «Измерение противовирусной активности на пластмассах и других непористых поверхностях».

Для лучшего понимания характеристик настоящего изобретения ниже приведены следующие примеры варианта осуществления.

ПРИМЕРЫ

1. Материалы

Используемый графит представляет собой High Surface Area Graphite (HSAG) Nano 27 производства компании Asbury Graphite Mills, Inc. (Эсбери, Нью-Джерси, США). Графит обладает следующими характеристиками:

- площадь поверхности 250 м²/г,
- химический состав по данным элементного анализа (стандартные тестовые сита США): углерод 99,82%, зола 0,18%, влажность 0,97%;
- количество уложенных друг на друга слоев равно приблизительно 50.

В качестве пленкообразующих агентов использовались два различных коммерческих продукта на водной основе, оба на основе акриловых смол:

А. Праймер Adesital GS производства компании ADESITAL S.p. A., Италия (20 мас.% твердого остатка);

В. Праймер San Marco производства компании San Marco Group S.p. A., Италия (содержащий следующие антибактериальные соединения: 0,005% - 0,01% 1,2-бензотиазол-3(2H)-она; 0,00015% - 0,0015% смеси 5-хлор-2-метил-2H-изотиазол-3-она и 2-метил-2H-изотиазол-3-она).

Для сравнения было выполнено покрытие коммерческой композицией «Dr. Wall» (Graphene, Калифорния, США).

2. Тест противомикробной эффективности

Противомикробная эффективность покрытия, полученного с использованием вышеописанных композиций, была протестирована в соответствии с методом ASTM E2180-18.

Противовирусная эффективность вместо этого была протестирована в соответствии со стандартом ISO 21702:2019 «Измерение противовирусной активности на пластмассах и других непористых поверхностях» с некоторыми модификациями, которые описаны ниже.

Для вышеуказанных тестов каждая композиция покрытия, включая композиции, используемые в сравнительных целях, наносилась на предметное стекло микроскопа, которое было предварительно поцарапано (протерто наждачной бумагой), обожжено, стерилизовано этанолом и покрыто тем же самым пленкообразующим агентом, который присутствует в композиции покрытия. Для каждого образца выполнялось два нанесения в день (с интервалом в шесть часов) в течение трех дней подряд в аспирационном колпаке.

Перед выполнением антибактериального теста адгезия пленки покрытия к предметному стеклу проверялась путем многократной промывки его поверхности деминерализованной водой и вытирания впитывающей тканью.

2.1 Тест ASTM E2180-18 (антибактериальная эффективность)

Тест в соответствии с ASTM E2180-18 проводился на четырех различных видах бактерий, относящихся к классу риска 1 (неопасных для здоровья человека), из которых два грамположительных и два грамотрицательных, с целью проверки противомикробной эффективности покрытий на бактериях с двумя различными структурами клеточной стенки. Использовались следующие 4 штамма бактерий: *Gordonia amicalis* и *Microbacterium hydrocarbonoxidans* (грамположительные); *Pseudomonas taiwanensis* и *Pseudomonas resinovorans* (граммотрицательные).

Антибактериальная эффективность определялась путем оценки снижения числа жизнеспособных бактерий в образце с противомикробным покрытием по сравнению с эталонным образцом без покрытия в соответствии со следующим способом. Приблизительно 10^8 жизнеспособных клеток (CFU) для каждого штамма, суспендированных в 100 мкл стерильного водного физиологического раствора, наносились на покрытую поверхность предметного стекла. После нескольких минут сушки в вытяжном шкафу бактерии оставались в контакте с покрытием при комнатной температуре на 5 час. По окончании экспозиции предметное стекло помещалось в стерильную пробирку с завинчивающейся крышкой, содержащую 10 мл физиологического раствора, и интенсивно встряхивалось в течение 5 мин для элюирования биомассы с поверхности покрытия. Затем полученная бактериальная взвесь переносилась на поверхность чашек Петри, содержащих агаризованную питательную среду, для проведения подсчета выживших микроорганизмов путем серийного разведения (1:10) бактериальной суспензии.

Засеянные чашки оставались при комнатной температуре не менее чем на 1 неделю. По истечении этого периода чашки проверялись, и проводился подсчет колоний (CFU) в наиболее подходящих для этой цели разведениях.

Тот же самый процесс применялся к контрольному образцу, состоящему из предметного стекла, покрытого только пленкообразующим агентом (праймером А или В), соответствующим пленкообразующему агенту, присутствующему в противомикробной композиции покрытия.

Результаты выражаются в терминах:

- разницы между Log10 числа бактерий в нулевое время и Log10 числа бактерий после 5-часового анализа;
- процента выживших жизнеспособных бактерий по сравнению с контрольным образцом;
- процента уничтоженных бактерий, выражаемого как Процент уничтоженных бактерий=100 - Процент жизнеспособных бактерий.

2.2 Тест ISO 21702:2019 (противовирусная эффективность)

Тест в соответствии со стандартом ISO 21702:2019 проводился на образцах, зараженных вирусом «SARS-CoV-2», ответственным за COVID-19.

Клеточная культура

Клетки Vero E6 (эпителиальные клетки почки обезьяны) поддерживались в культуре в среде DMEM, в которую было добавлено 10% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина.

Выделение SARS-CoV-2 из носовых мазков

SARS-CoV-2 выделялся из 500 мкл мазка из носа, инокулировался на клетках Vero при 80% слиянии; после 3 ч инкубации при 37°C с 5% CO₂ инокулят удалялся и клетки инкубировались в среде в течение 72 ч до развития выраженного цитопатического эффекта (CPE).

Количественный анализ числа копий вируса в надосадочных жидкостях выполнялся с помощью количественной PCR в реальном времени (qRT-PCR) как описано в документе «World Health Organization, WHO. Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans. US CDC Real-time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus (28 January 2020).

SARS-CoV-2 концентрировался с помощью PEG, следуя инструкциям изготовителя, и титр вируса определялся методом анализа бляшкообразования с использованием разведений от 10¹ до 10⁹. Полная нуклеотидная последовательность выделенного таким образом штамма SARS-CoV-2 была депонирована в Gen Bank, NCBI (инвентарный номер GeneBank: MT748758)

Для каждого образца на предметном стекле выбиралась квадратная область противовирусного теста размером (25±2) мм x (25±2) мм.

Перед тестированием каждый образец стерилизовался воздействием УФ-излучения в течение 20 мин под колпаком с ламинарным потоком для устранения любого потенциального бактериального загрязнения, а затем помещался в чашку Петри.

Тест проводился следующим образом. На образец тестируемого материала наносилось 0,07 мл вирусной суспензии (9×10⁵ PFU/мл). Вирусный инокулят накрывался

пленкой размером 25 x 25 мм, и образцы инкубировались в течение 2-4 час при 25°C.

По истечении 2-4 час контакта к каждому образцу добавлялось 10 мл бульона SCDLP, а затем проводился анализ бляшкообразования.

Анализ бляшкообразования выполнялся в 6-луночных планшетах путем оценки присутствия вируса в среде SCDLP, извлеченной из чашек Петри. Для каждой обработки делались 3 серийных разведения от 1 до 10 в полной среде для клеток Vero E6, и 0,4 мл каждого разведения добавлялись к монослою клеток в каждой из двух лунок дубликата. Через 2 часа инокулят удалялся, клетки промывались 2 мл среды и покрывались 0,3% раствором агарозы в полной среде. После 48 час инкубации при 37°C с 5% CO₂ клетки фиксировались 4%-ным формальдегидом, и после удаления агарозного слоя и промывки окрашивались метиленовым синим. Бляшки подсчитывались, и результаты выражались в единицах образования бляшек (PFU) на мл.

В момент времени 0, т.е. сразу после осаждения вируса, к некоторым образцам добавлялось 10 мл бульона SCDLP, и остаточная инфекционность оценивалась с помощью анализа бляшкообразования.

Определение инфекционности вируса

Для каждого образца инфекционность извлеченного вируса определялась по следующей формуле:

$$N=(14 \times C \times D \times V) / A$$

где:

N - инфекционность извлеченного вируса на см² образца;

C - среднее количество бляшек, подсчитанное в двух лунках дубликата;

D - коэффициент разбавления для учитываемых лунок;

V - объем бульона SCDLP, добавленного к образцу, мл;

A - поверхность покрывающей пленки, см².

Вычисление противовирусной активности

Противовирусная активность вычислялась с использованием следующей формулы:

$$R=U_t - A_t$$

где:

R - противовирусная активность;

U_t - среднее логарифмическое число бляшек (в PFU/см²) эталонного образца (покрытие только праймером, через 2 или 4 час);

A_t - среднее логарифмическое число бляшек (в PFU/см²) образца, обработанного композицией покрытия в соответствии с настоящим изобретением, через 2 или 4 час.

3. Композиции покрытия

Композиции покрытия были приготовлены с использованием роторно-статорного гомогенизатора Silverson L5M-A, оснащенного головкой из нержавеющей стали AISI 316, длиной 290 мм и максимальным диаметром 57 мм. Устройство содержит стеклянный или стальной сосуд переменного объема (500-2000 мл), в который загружается жидкая дисперсия, подлежащая гомогенизации для получения противомикробной водной

дисперсии, содержащей оксид графена.

Аликвота (приблизительно 15 г) вышеуказанной противомикробной дисперсии, содержащей оксид графена, смешивалась затем с желаемым количеством пленкообразующего агента А или В для получения конечной противомикробной композиции покрытия.

Сравнительный пример 1: подготовка предметного стекла с помощью праймера Adesital GS

Подходящее количество праймера Adesital GS наносилось на предметные стекла, подготовленные на вышеописанной стадии 2.

Сравнительный пример 2: подготовка предметного стекла с помощью праймера San Marco

Подходящее количество праймера San Marco наносилось на предметные стекла, подготовленные на вышеописанной стадии 2.

Сравнительный пример 3: подготовка предметного стекла с помощью Doctor Nano®

Подходящее количество коммерческой композиции покрытия «Dr. Wall», содержащей графен и оксид титана, наносилось на предметные стекла, ранее подготовленные на вышеописанной стадии 2.

Сравнительный пример 4: приготовление смеси графита HSAG и коммерческого праймера Adesital GS (28PN/20/1)

Подходящее количество графита HSAG, описанного в п. 1, смешивалось в количестве 50 мас.% с 50 мас.% праймера Adesital. Полученная таким образом дисперсия перемешивалась магнитной мешалкой в течение приблизительно 6 час, а затем наносилась на предметные стекла, ранее подготовленные на вышеописанной стадии 2.

Пример 1: синтез дисперсии 01 (015PN/20/1 □ эталонный противомикробный тест с праймером Adesital; 021PN/20/1 эталонный противомикробный тест с праймером San Marco)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (5,1 г), перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (111,5 г), деминерализованная вода (201,1 г), твердый нитрат серебра производства компании Sigma-Aldrich (0,5 г) и ледяная уксусная кислота производства компании Sigma-Aldrich (3,4 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 2 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C. При продолжении перемешивания добавлялась вторая аликвота перекиси водорода (40,1 г), и перемешивание продолжалось еще 2 час. По истечении этого времени добавлялась смесь хитозана (0,43 г), деминерализованной воды (50,1 г) и ледяной уксусной кислоты (0,09 г). Условия перемешивания поддерживались еще в течение двух часов при значении аутогенной температуры приблизительно 60°C. В конце этого периода

добавлялась смесь соли хлорида бензалкония (5,1 г), растворенной в воде (5,1 г). Вся смесь перемешивалась еще два часа до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предметные стекла, как описано в п. 2. После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла. Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

В другом приготовлении описанная выше нанодисперсия после добавления 5 мас.% праймера San Marco по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 2: синтез дисперсии 02 (016PN/20/1 □ эталонный противомикробный тест с праймером Adesital; 022PN/20/1 эталонный противомикробный тест с праймером San Marco)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (5,1 г), перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (112,2 г), деминерализованная вода (200,4 г) и ледяная уксусная кислота производства компании Sigma-Aldrich (6,84 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 2 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C. При продолжении перемешивания добавлялась вторая аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (40,4 г), в которой было растворено 0,50 г твердого нитрата серебра производства компании Sigma-Aldrich. Перемешивание выполнялось при 5000 об/мин еще 2 час. По истечении этого времени добавлялась смесь хитозана (0,85 г), деминерализованной воды (50,4 г) и ледяной уксусной кислоты (0,43 г). Условия перемешивания поддерживались еще в течение двух часов при значении аутогенной температуры приблизительно 60°C. В конце этого периода добавлялась смесь соли хлорида бензалкония (5,1 г), растворенной в воде (5,1 г). Вся смесь перемешивалась еще два часа до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital в количестве 5 мас.% по

массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2. После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла. Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

В другом приготовлении описанная выше нанодисперсия после добавления 5 мас.% праймера San Marco по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла. Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 3: синтез дисперсии 03 (017PN/20/1 □ эталонный противомикробный тест с праймером Adesital; 023PN/20/1 □ эталонный противомикробный тест с праймером San Marco)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,2 г), перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (111,3 г), деминерализованная вода (198,9 г) и ледяная уксусная кислота производства компании Sigma-Aldrich (6,80 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 1,5 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C. При продолжении перемешивания добавлялась вторая аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (40,4 г), в которой было растворено 0,43 г твердого нитрата серебра производства компании Sigma-Aldrich. Перемешивание выполнялось при 5000 об/мин еще 2 час. По истечении этого времени добавлялась смесь хитозана (2,55 г), деминерализованной воды (49,3 г) и ледяной уксусной кислоты (2,55 г). Условия перемешивания поддерживались еще в течение двух часов при значении аутогенной температуры приблизительно 60°C. В конце этого периода добавлялась смесь соли хлорида бензалкония (4,25 г), растворенной в воде (4,25 г). Вся смесь перемешивалась еще два часа до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2. После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению

нанодисперсии на поверхности стекла. Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

В другом приготовлении описанная выше нанодисперсия после добавления 5 мас.% праймера San Marco по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла. Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 4: синтез дисперсии 04 (код препарата 024PN/20/1; код противомикробных тестов 033PN/20/1 при 25% (033PN/20/1-3), 50% (033PN/20/1-2), 30% (36PN/20/1-4), 95% (36PN/20/1-2/1-й посев), 95% (36PN/20/1-2/2-й посев), 95% (36PN/20/1-2/3-й посев), 50% (36PN/20/1-3/1-й посев), 50% (36PN/20/1-3/2-й посев), 50% (36PN/20/1-3/3-й посев)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (5 г), деминерализованная вода (200 г) и смесь, состоящая из хитозана производства компании Sigma-Aldrich (0,50 г), деминерализованной воды (49,5 г) и ледяной уксусной кислоты производства компании Sigma-Aldrich (0,06 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 1,5 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C. При продолжении перемешивания добавлялась первая аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (112,0 г). В конце этой стадии все это перемешивалось в течение приблизительно одного часа, а затем добавлялась вторая аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (40,0 г), в которой были растворены 0,50 г нитрата серебра производства компании Sigma-Aldrich и ледяная уксусная кислота производства компании Sigma-Aldrich (3,8 г). Перемешивание выполнялось при 5000 об/мин еще 1,5 час. По истечении этого времени добавлялась смесь хитозана (0,5 г), деминерализованной воды Sigma-Aldrich (49,5 г) и ледяной уксусной кислоты производства компании Sigma-Aldrich (0,04 г). Условия перемешивания поддерживались еще в течение двух часов при значении аутогенной температуры приблизительно 60°C. В конце этого периода добавлялась смесь соли хлорида бензалкония (5 г), растворенной в воде (5 г). Вся смесь перемешивалась еще два часа до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия разделялась на три различных аликвоты, в которые добавлялось три различных количества праймера Adesital GS, равных 5%, 50% и 70 мас.% по массе всей

смеси. Полученные таким образом растворы перемешивались магнитными мешалками в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этих продуктов на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

Те же самые предметные стекла, полученные путем нанесения составов, содержащих 5% и 50% праймеров, были подвергнуты второму тесту на инокуляцию, который неожиданно подтвердил положительные результаты в отношении противомикробной активности, полученные при первой инокуляции. Этот результат свидетельствует о том, что противомикробная эффективность предметных стекол, покрытых композициями покрытия в соответствии с настоящим изобретением, может проявляться не только благодаря явлению медленного высвобождения противомикробного агента из композиции покрытия, но также и благодаря явлениям физического контакта между покрытием и патогеном. Эта гипотеза была подтверждена путем помещения образцов из теста со вторым инокулятом в третий инокулят после погружения в воду на одну неделю с ежедневной сменой той же воды.

Полученные таким образом образцы затем инокулировались в третий раз и снова подвергались антибактериальным тестам. Результаты показаны в Таблице 2.

Пример 5: синтез дисперсии 05 (код препарата 032PN/20/1; код противомикробных тестов 40PN/20/1-1)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,7 г), деминерализованная вода (306,2 г) и перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (160,14 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 3 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C.

В конце этого периода получалась водная дисперсия на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 6: синтез дисперсии 06 (код препарата 034PN/20/1; код противомикробных тестов 40PN/20/1-2)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,24 г), деминерализованная вода (306,2 г)

и перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (160,14 г), содержащая нитрат серебра производства компании Sigma-Aldrich (0,47 г).

В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 3 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C.

В конце этого периода получалась водная дисперсия на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 7: синтез дисперсии 07 (код препарата 039PN/20/1; код противомикробных тестов 40PN/20/1-3)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,0 г) и деминерализованная вода (252 г). В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 0,5 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C.

Затем добавлялась смесь, состоящая из соли хлорида бензалкония (4,2 г), растворенной в деминерализованной воде (4,2 г).

Перемешивание полученной таким образом дисперсии продолжалось еще два часа при температуре приблизительно 70°C. В конце этого периода добавлялась перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (136 г), и перемешивание продолжалось еще 3 час для получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и

поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Последующие тесты для оценки противомикробной эффективности выполнялись с использованием описанной выше методологии при количестве праймера Adesital GS, равном 75 мас.% по массе всей смеси.

Пример 8: синтез дисперсии 08 (код препарата 041PN/20/1; код противомикробных тестов 40PN/20/1-4)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,0 г) и деминерализованная вода (220 г). В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 0,5 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C.

Затем добавлялась смесь хитозана (0,4 г), деминерализованной воды (39,6 г) и ледяной уксусной кислоты производства компании Sigma-Aldrich (0,04 г).

Перемешивание полученной таким образом дисперсии продолжалось еще два часа при температуре приблизительно 70°C. В конце этого периода добавлялась перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (136 г), и перемешивание продолжалось еще 3 час для получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Пример 9: синтез дисперсии 09 (048/PN/20/1 □ код противомикробного теста с 5% и 75% праймера)

В реактор объемом 500 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (4,0 г) и деминерализованная вода (256 г). В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 5000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 0,5 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 70°C.

Затем добавлялся полиэтиленгликоль производства компании Sigma-Aldrich (4 г) и перемешивался 2 час при температуре, близкой к 70°C. После этого периода добавлялось 136 г 30 мас.% перекиси водорода производства компании Sigma-Aldrich, и перемешивание продолжалось еще 3 час. Таким образом получалась водная дисперсия на основе оксида

графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Эта нанодисперсия после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметное стекло оно сушилось приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения противомикробных тестов.

Последующие тесты для оценки противомикробной эффективности выполнялись с использованием описанной выше методологии при количестве праймера Adesital GS, равном 75 мас.% по массе всей смеси.

Пример 10: синтез дисперсии 10 (068/PN/20/1 □ код противомикробного теста с 5% двух различных праймеров)

В реактор объемом 1000 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (9 г), деминерализованная вода (312 г), полиэтиленгликоль-400 производства компании Sigma-Aldrich (9 г) и 0,9 г нитрата серебра производства компании Sigma-Aldrich. В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 6000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 1 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 60°C.

По истечении этого периода деминерализованная вода (306 г) добавлялась в течение приблизительно 20 мин посредством капельной воронки с последующим продолжением перемешивания всей реакционной смеси еще в течение часа.

В конце этой стадии дополнительная аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (306 г) добавлялась посредством капельной воронки. Система постоянно перемешивалась еще час, после чего прозрачный водный раствор, содержащий хитозан производства компании Sigma-Aldrich (1,8 г), деминерализованную воду (207 г) и уксусную кислоту (0,45 г) подавался посредством капельной воронки. Полученная таким образом система перемешивалась еще час, после чего посредством капельной воронки добавлялась смесь, состоящая из хлорида бензалкония производства компании Sigma-Aldrich (9 г) и 45 г деминерализованной воды.

Полученная таким образом смесь перемешивалась еще 1 час до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных тестах.

Аликвота этой нанодисперсии после добавления праймера Adesital GS в количестве 5 мас.% по массе всей смеси перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

В другом случае вторая аликвота упомянутой нанодисперсии добавлялась с 5 мас.% праймера San Marco по массе всей смеси и перемешивалась в течение 3 час. В конце этого периода выполнялись последовательные нанесения этого продукта на предварительно подготовленные предметные стекла, как описано в п. 2.

После нанесения нанодисперсий на предметные стекла они сушились приблизительно 12 час, чтобы способствовать закреплению нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученные таким образом предметные стекла не выделяют нанесенного на них вещества, и поэтому считаются подходящими для выполнения противомикробных тестов.

Пример 11: синтез дисперсии 11 с обычным перемешиванием (без использования смесителя Silverson)

Пример 10 повторялся во всей его полноте при использовании обычного перемешивания посредством механических лопастей. Результат, полученный в конце этого процесса, приводил к получению нестабильных смесей с разделением фаз.

Следовательно, смесь не могла быть подвергнута антибактериальным тестам. Этот результат показывает важность и эффективность перемешивания с высоким усилием сдвига (смесителем Silverson) по сравнению с обычным смешиванием, использующим механические лопасти или магнитные мешалки, для получения стабильной дисперсии оксида графена.

Пример 12: синтез дисперсии 12 (086/PN/20/1 □ код противомикробного теста с 5% праймера San Marco)

В реактор объемом 2000 мл загружалось соответственно: графит Nano 27 производства компании Asbury Carbons (HSAG) (13 г), деминерализованная вода (385 г), перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (65 г), полиэтиленгликоль-400 производства компании Sigma-Aldrich (6,5 г), уксусная кислота (6,5 г), нитрат серебра производства компании Sigma-Aldrich (1,3 г) и хитозан производства компании Sigma-Aldrich (1,9 г). В конце этой стадии мешалка Silverson погружалась в реактор и устанавливалась скорость перемешивания 6000 об/мин. Система поддерживалась в этих условиях 1 час с отслеживанием повышения аутогенной температуры, которая достигает значения приблизительно 60°C.

В конце этой стадии дополнительная аликвота перекиси водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (299 г), предварительно смешанная с уксусной кислотой (6,5 г) добавлялась посредством капельной воронки. Система перемешивалась еще 2 час, после чего прозрачный водный раствор, содержащий хитозан производства компании Sigma-Aldrich (4,5 г), деминерализованную воду (413,6 г), уксусную кислоту (6,5 г), хлорид бензалкония производства компании Sigma-Aldrich (13 г) и перекись водорода 30 мас.% производства компании Sigma-Aldrich (78 г), подавался посредством капельной воронки. Полученная таким образом смесь перемешивалась еще 3 час до получения водной дисперсии на основе оксида графена, которая использовалась в последующих противомикробных и противовирусных тестах.

Аликвота этой нанодисперсии после добавления предварительно разбавленного количества (20 мас.% деминерализованной воды) праймера San Marco перемешивалась еще 3 час в смесителе Silverson. Количество предварительно разбавленного праймера, добавленного к нанодисперсии, составляло 5 мас.% по массе всей нанодисперсии. В конце периода смешивания полученный таким образом продукт наносился посредством распылителя на предварительно подготовленные предметные стекла для микроскопии, как описано в п. 2.

В конце стадии покрытия предметных стекол они сушились приблизительно 12 час, чтобы облегчить закрепление нанодисперсии на поверхности стекла.

Полученное таким образом предметное стекло не выделяет нанесенного вещества, и поэтому считается подходящим для выполнения тестов для оценки антибактериальных и противовирусных свойств.

Для проведения противовирусных тестов также были подготовлены предметные стекла, покрытые только праймером San Marco, для корректного сравнения с образцами, покрытыми описанным выше способом (95% «дисперсии 12» + 5% праймера San Marco, разбавленные 20% H₂O).

Композиции Примеров 1-10 и 12 показаны в Таблицах 1-3.

Таблица 1

	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6
Графит HSAG	1,2%	1,2%	1,0%	1,1%	1%	0,9%
H₂O₂ 30 мас.%	35,7%	35,7%	35,7%	32,2%	34%	34%
AgNO₃	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	-	0,1%
CH₃COOH	0,8%	1,7%	2,2%	0,8%	-	-
Хитозан	0,1%	0,2%	0,6%	0,2%	-	-
ВАС	1,2%	1,2%	1,0%	1,1%	-	-
PEG-400	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	-	-
H₂O	60,9%	59,9%	59,4%	64,5%	65%	65%
Всего	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Таблица 2

	Пример 7	Пример 8	Пример 9	Пример 10	Пример 12
Графит HSAG	1%	1%	1%	1,0%	1,00%
H₂O₂ 30 мас.%	34%	34%	34%	34,0%	34,00%
AgNO₃	-	-	-	0,1%	0,10%
CH₃COOH	-	0,01%	-	0,1%	1,50%
Хитозан	-	0,1%	-	0,2%	0,50%
ВАС	1%	-	-	1,0%	1,00%
PEG-400	-	-	1%	1,0%	0,50%
H₂O	64%	65%	64%	62,7%	61,40%
Всего	100%	100%	100%	100%	100%

Таблица 3

	Пример 5 (32 PN)	Пример 6 (34 PN)	Пример 7 (39 PN)	Пример 8 (41 PN)	Пример 9 (48 PN)
Графит HSAG	1,0%	0,9%	1,0%	1,0%	1,0%

H₂O₂ 30 мас.%	34,0%	34,0%	34,0%	34,0%	34,0%
AgNO₃		0,1%			
CH₃COOH				0,01%	
Хитозан				0,1%	
ВАС			1,1%		
PEG-400					1,0%
H₂O	65%	65,0%	64,0%	64,9%	64,0%
Всего	100%	100%	100%	100%	100%

Результаты антибактериального теста

Результаты тестов бактерицидных свойств составов, представленных в примерах, перечислены в нижеприведенной Таблице 4, которая показывает следующую информацию:

- Количество бактериальных клеток, выживших после воздействия;
- Разница между Log₁₀ числа бактерий в нулевое время и Log₁₀ числа бактерий после 5-часового анализа. Это значение показывает, на сколько порядков уменьшилось количество жизнеспособных бактерий по сравнению с контрольным образцом (праймеры Adesital GS или San Marco).
- Процент оставшихся жизнеспособных бактерий по сравнению с измеренным в контрольном образце;
- Процент уничтожения бактерий.

Таблица 4

<i>Эталонный препарат дисперсия</i>	<i>Эталонный препарат предметное стекло</i>	<i>Код антибактериального теста</i>	<i>Общее количество выживших клеток</i>	<i>Δ Log уменьшение</i>	<i>% жизнеспособных бактерий после обработки относительно контроля</i>	<i>% уничтожения</i>
Сравнительный пример 1 контрольный образец	Контроль (Adesital GS)	Контроль (Adesital GS)	$2,04 \cdot 10^8$	N. A.	N. A.	N. A.
Сравнительный пример 2 контрольный образец	Контроль (San Marco)	Контроль (San Marco)	$1 \cdot 10^7$	N. A.	N. A.	N. A.
Сравнительный пример 3 коммерческий продукт	Doctor Nano® (без света)	Doctor Nano® (без света)	$1,63 \cdot 10^8$	0	80,10	19,90
Сравнительный пример 3 коммерческий продукт	Doctor Nano® (свет)	Doctor Nano® (свет)	10^7	1	4,9	95,09
Сравнительный пример 4 Исходный материал (графит)	50% 28PN/20/1 50% Adesital	50% 28PN/20/1 50% Adesital	$2,5 \cdot 10^7$	1	12,3	87,71498771
Пример 1 дисперсия 01	95% 015PN/20/1 5% Adesital	015PN/20/1	$2,4 \cdot 10^3$	5	0,001	99,99882064
Пример 2 дисперсия 02	95% 016PN/20/1 5% Adesital	016PN/20/1	$< 10^2$	> 6	<000004	> 99,99995135
Пример 3 дисперсия 03	95% 017PN/20/1 5% Adesital	017PN/20/1	$< 10^2$	> 6	<000004	> 99,99995135
Пример 1 дисперсия 01	95% 015PN/20/1 5% SanMarco	021PN/20/1	$< 10^2$	> 6	<000004	> 99,99995135
Пример 2 дисперсия 02	95% 016PN/20/1 5% SanMarco	022PN/20/1	$< 10^2$	> 6	<000004	> 99,99995135
Пример 3 дисперсия 03	95% 017PN/20/1 5% SanMarco	023PN/20/1	$< 10^2$	> 6	<000004	> 99,99995135
Пример 4 дисперсия 04	25% 024PN/20/1 75% Adesital	033PN/20/1-3	$4,25 \cdot 10^5$	3	0,20884521	99,79115479
Пример 4 дисперсия 04	30% 024PN/20/1-4 70% Adesital	36PN/20/1-4	$1,2 \cdot 10^4$	4	0,00589681	99,99410319

Пример 4 дисперсия 04	50% 024PN/20/1 50% Adesital	033PN/20/1-2	1,5*10 ⁴	4	0,00737101	99,99262899
Пример 4 дисперсия 04	95% 024PN/20/1 5% Adesital 1-й посев	36PN/20/1-2	< 10 ²	> 6	< 000004865	> 99,99995135
Пример 4 дисперсия 04	95% 024PN/20/1 5% Adesital 2-й посев	36PN/20/1-2	2*10 ³	5	000098280	99,99901720
Пример 4 дисперсия 04	95% 024PN/20/1 5% Adesital 3-й посев	36PN/20/1-2	2,2*10 ⁶	2	1,10073710	98,89926290
Пример 4 дисперсия 04	50% 024PN/20/1 50% Adesital 1-й посев	36PN/20/1-3	< 10 ²	> 6	< 000004865	> 99,99995135
Пример 4 дисперсия 04	50% 024PN/20/1 50% Adesital 2-й посев	36PN/20/1-3	2,50*10 ²	6	000012285	99,99987715
Пример 4 дисперсия 04	50% 024PN/20/1 50% Adesital 3-й посев	36PN/20/1-3	4,50*10 ⁵	3	0,22113022	99,77886978
Пример 5 дисперсия 05	95% 032PN/20/1 5% Adesital (H ₂ O ₂)	40PN/20/1-1	2,5*10 ⁶	2	1,22850123	98,77149877
Пример 6 дисперсия 06	95% 034PN/20/1 5% Adesital (H ₂ O ₂ +Ag)	40PN/20/1-2	2,2*10 ⁵	3	0,10810811	99,89189189
Пример 7 дисперсия 07	95% 039PN/20/1 5% Adesital (H ₂ O ₂ +BAC)	40PN/20/1-3	0	> 6	< 000004865	> 99,99995135
Пример 7 дисперсия 07	25% 039PN/20/1 75% Adesital (H ₂ O ₂ +BAC)	39PN/20/1	3,00E+07	1	14,74201474	85,25798526
Пример 8 дисперсия 08	95% 041PN/20/1 5% Adesital (H ₂ O ₂ + CS)	40PN/20/1-4	2*10 ⁶	2	0,98280098	99,01719902
Пример 9 дисперсия 09	95% 048PN/20/1 5% Adesital (H ₂ O ₂ +PEG)	48PN/20/1	< 10 ²	> 6	< 000004865	> 99,99995135
Пример 9 дисперсия 09	25% 048PN/20/1 75% Adesital (H ₂ O ₂ +PEG)	48PN/20/1	2,20E+07	1	10,81081081	89,18918919
Пример 10 дисперсия 10	95% 68PN/20/1 5% Adesital	68PN/20/1 Adesital	1,2*10 ⁶	2	0,58968059	99,41031941

Пример 10 дисперсия 10	95% 068PN/20/1 5% San Marco	68PN/20/1 San Marco	2,9*10³	5	0,00142506	99,99857494
Пример 11 дисперсия 11	Нестабильность смеси	-	-	-	-	-
Пример 12 дисперсия 12	95% 086PN/20/1 5% San Marco	86PN/20/1 (TQ)	< 10²	> 6	< 000004865	> 99,99995135

Первый контрольный образец, состоящий из предметного стекла, покрытого только праймером Adesital, показал значение, совпадающее со значением инокуляции. По этой причине данный материал рассматривался как эталонный образец, с которым сравнивалось противомикробное действие всех препаратов.

Коммерческий продукт Doctor Nano[®] проявил значительную противомикробную активность только в образце, подвергнутом воздействию света [Doctor Nano[®] (свет)]. Общее количество бактерий снизилось только на один порядок, в результате чего степень уничтожения достигла 95% от значения отрицательного контроля. Аналогичные результаты были получены с коммерческими эталонными продуктами [сжатый графен Directa Plus и порошкообразный графит].

Образцы, содержащие только графен (40PN/20/1-1 (H₂O₂) и графен плюс хитозан [40PN/20/1-4 (H₂O₂+хитозан)], показали снижение на 2 порядка по сравнению с отрицательным контролем, т.е. более высокую эффективность, чем коммерческие продукты предшествующего уровня техники. Образец с графеном и нитратом серебра показал снижение на 3 порядка.

Образцы, проанализированные и подготовленные в соответствии с примерами 01, 02, 03 и 04 [16; 17; 21; 22; 23, 36PN/20/1-2 (95%); 36PN/20/1-3 (50%)], содержащие хлорид серебра, хитозан и хлорид бензалкония, показали максимальную биоцидную активность, которую способна обнаружить принятая система измерения: отсутствие жизнеспособных колоний, определяемых при первом разведении (10⁻²), так что количество выживших клеток определенно меньше, чем 99 из 2,04*10⁸ в отрицательном контроле. Снижение составило по меньшей мере 6 порядков величины с коэффициентом гибели более 99,99995135%.

Корреляция между биоцидным эффектом и процентным содержанием используемой дисперсии 04 по отношению к праймеру также очевидна: образцы, содержащие количества дисперсии 04, равные или меньше чем 50 мас.% [33PN/20/1-3 (25%); 33PN/20/1-2 (50%); 36PN/20/1-4 (30%)] показали более низкую биоцидную активность, чем образцы, содержащие 95% той же смеси, за исключением образца [36ПН/20/1-3 (50%)], который все же показал максимальную эффективность. В менее концентрированном образце (25%, 33PN/20/1-3) все же было получено снижение количества жизнеспособных микроорганизмов на 3 порядка, эквивалентное 99,89189189%.

Повторная инокуляция образцов [36PN/20/1-2 (95%) «2-й посев» и 36PN/20/1-3 (50%) «2-й посев»], уже использованных и промытых, показала незначительное снижение биоцидной активности, всего на один порядок величины уменьшения меньше, чем образец, использованный в первый раз, достигая 99,999% уничтожения.

Тесты на примерах 06, 07 и 08 [40PN/20/1-2 (H₂O₂+Ag); 40PN/20/1-3 (H₂O₂+BAC); 40PN/20/1-4 (H₂O₂+хитозан)] показали, что дисперсия 04 оксида графена в присутствии хлорида бензалкония (BAC) гарантирует очень высокий уровень снижения жизнеспособной бактериальной нагрузки даже в отсутствие нитрата серебра и хитозана.

Максимальная биоцидная активность (более 6 порядков) была получена также на дисперсии 10, где используется оксид графена в комбинации с полипропиленгликолем

[48PN/20/1 (PEG)].

Другой положительный результат с точки зрения антибактериальных свойств был получен в случае примера 12, который показал биоцидную активность более шести порядков.

Результаты противовирусных тестов

Противовирусная эффективность композиции Примера 12 была протестирована в соответствии со стандартом ISO 21702:2019.

Таблица 5 показывает результаты противовирусного теста анализа бляшкообразования, проводимого после 2 или 4 час инкубации с вирусом SARS-CoV-2.

Таблица 5

Образец	N ¹ (PFU/см ²)	Log N	R ² (Ut-At)	% уменьшения вирусов
ПРАЙМЕР (2 час)	2492	3,40	--	--
Покрытие по настоящему изобретению (2 час)	154 ³	2,19	1,21	93,84
ПРАЙМЕР (4 час)	0	--	--	--
Покрытие по настоящему изобретению (4 час)	0	--	--	--

¹ N - инфекционность извлеченного вируса на см² образца

² R - противовирусная активность

³ Значение, полученное путем анализа разведений 1:10 и 1:100. Все клетки в разведении 1:1 были мертвыми.

Таблица 6 показывает результаты противовирусного теста анализа бляшкообразования, проводимого в момент времени 0, по сравнению с результатами, полученными после 2 час инкубации.

Таблица 6

Образец	N ¹ (PFU/см ²)	Log N	R ² (Ut-At)	% уменьшения вирусов
ПРАЙМЕР (T ₀)	26040	4,42	--	--
ПРАЙМЕР (2 час)	2492	3,40	1,02	90,45
Покрытие по настоящему изобретению (T ₀)	26796	4,43	--	--
Покрытие по настоящему изобретению (4 час)	154 ³	2,19	2,24	99,42

¹ N - инфекционность извлеченного вируса на см² образца

² R - противовирусная активность

³ Значение, полученное путем анализа разведений 1:10 и 1:100. Все клетки в разведении 1:1 были мертвыми.

Эти результаты показывают, что и предметные стекла, покрытые «дисперсией 12», и предметные стекла, покрытые только «праймером SanMarco», продемонстрировали противовирусную активность против SARS-CoV-2 как через 2 час, так и через 4 час.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ приготовления композиции противомикробного покрытия, включающий следующие последовательные стадии:

а. обеспечение водной дисперсии, содержащей графит, по меньшей мере один окислитель и не обязательно по меньшей мере одно противомикробное средство;

б. подвергание водной дисперсии со стадии а гомогенизации с высоким усилием сдвига путем смешивания указанной дисперсии со скоростью перемешивания, равной или превышающей 1000 об/мин, с получением противомикробной водной дисперсии, содержащей оксид графена;

с. смешивание упомянутой водной противомикробной дисперсии, содержащей оксид графена, по меньшей мере с одним пленкообразующим агентом для получения композиции противомикробного покрытия, причем упомянутый пленкообразующий агент может способствовать образованию и адгезии пленки покрытия упомянутой композиции на поверхности подложки.

2. Способ по п. 1, в котором водная дисперсия со стадии а содержит по меньшей мере одну противомикробную добавку, отличающуюся от оксида графена.

3. Способ по п. 1, в котором водная дисперсия со стадии а содержит по меньшей мере две противомикробные добавки, отличающихся от оксида графена.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором упомянутые противомикробные добавки выбираются из: соли четвертичного аммониевого основания; полигликоля с молекулярной массой в диапазоне 200-12000 г/моль; полисахарида, имеющего противомикробные свойства, предпочтительно хитозана, галактана, маннана и ламинарина; иона металла, имеющего противомикробные свойства, предпочтительно иона серебра, иона натрия и иона меди; хлорированного изотиазола; изотиазолинонов; а также их смесей.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором упомянутые противомикробные добавки содержат по меньшей мере: соль четвертичного аммониевого основания, предпочтительно соль бензалкония; полигликоль с молекулярной массой 200-12000 г/моль; полисахарид, имеющий противомикробные свойства, предпочтительно хитозан; ион серебра.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором по меньшей мере один пленкообразующий агент выбирается из: акриловой смолы, виниловой смолы, стирольной смолы, алкидной смолы, эпоксидной смолы, полиэфирной смолы, поливинилацетатной смолы и их смесей.

7. Способ по любому из пп. 1-6, в котором по меньшей мере один окислитель выбирается из: пероксида водорода, воздуха в присутствии гидроксида калия, азотной кислоты, трет-бутилпероксида, м-хлорпербензойной кислоты, озона, серной кислоты, иона перманганата, иона хромата, иона гипохлорита, а также их смесей.

8. Способ по п. 7, в котором упомянутый по меньшей мере один окислитель представляет собой пероксид водорода, опционально с примесью уксусной кислоты.

9. Способ по любому из пп. 1-8, в котором композиция противомикробного покрытия содержит оксид графена в количестве 0,1-10%, предпочтительно 0,5-5%, более

предпочтительно 0,8-2% по массе композиции противомикробного покрытия.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором водная дисперсия со стадии а содержит по меньшей мере один окислитель в количестве 0,5-30%, предпочтительно 2-20%, более предпочтительно 5-15% по массе водной дисперсии.

11. Способ по любому из пп. 1-10, в котором водная противомикробная дисперсия содержит противомикробную добавку (добавки) в полной концентрации 0,1-20%, более предпочтительно 0,5-10% по общей массе водной противомикробной дисперсии.

12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором композиция противомикробного покрытия содержит по меньшей мере один пленкообразующий агент в количестве 0,1-99%, предпочтительно 1,5-75%, более предпочтительно 3-50% по массе композиции противомикробного покрытия.

13. Композиция противомикробного покрытия, получаемая с помощью способа по любому из пп. 1-12.

14. Применение композиции противомикробного покрытия по п. 13 для придания подложке противомикробных свойств.

15. Способ придания противомикробных свойств поверхности подложки, включающий:

- нанесение композиции противомикробного покрытия по п. 13 по меньшей мере на одну поверхность подложки;

- испарение жидкой фазы композиции покрытия для получения пленки противомикробного покрытия, прилипшей к поверхности упомянутой подложки.

По доверенности