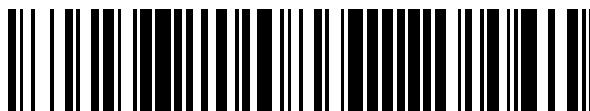


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 587 377**

51 Int. Cl.:

C02F 1/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.10.2007 PCT/EP2007/008564**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2008 WO08046513**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2007 E 07818644 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 2077976**

54 Título: **Revestimiento bioactivo que comprende rutenio y dispositivo**

30 Prioridad:

13.10.2006 DE 102006049108

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.10.2016

73 Titular/es:

**AGXX INTELLECTUAL PROPERTY HOLDING
GMBH (50.0%)
Am Waldhaus 32
14129 Berlin , DE y
LARGENTEC GMBH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**LANDAU, UWE;
LISOWSKY, THOMAS;
ESSER, KARLHEINZ y
MEHLER, KLAUS-DIETER**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 587 377 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Revestimiento bioactivo que comprende rutenio y dispositivo

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a un revestimiento bioactivo que comprende al menos rutenio o partículas bimetalicas de plata-rutenio y está aplicado sobre una superficie de plata o que contiene plata o bien está en contacto con un revestimiento de plata, y a un procedimiento para revestir un dispositivo y al uso del revestimiento bioactivo.

10 Ya Ravelin en 1869 y von Nägeli en 1893 describieron el efecto antibacteriano de la plata en dosis muy bajas. Incluso hoy en día, la eficacia de la plata no ha perdido actualidad (Landau, U. (2006): Die keimreduzierende Wirkung des Silbers in Hygiene, Medizin und Wasseraufbereitung: Die Oligodynamie des Silbers; Isensee-Verlag, Oldenburg, 2006-10-03).

15 Además, las contaminaciones microbianas causan grandes problemas y pérdidas comerciales en todos los ámbitos relacionados con la calidad del agua, las disoluciones acuosas y la higiene. Estos ámbitos se encuentran, por ejemplo, en hospitales, centros de higiene, en la tecnología alimentaria, en la producción, en la técnica de la climatización y también en el hogar.

Por esta razón, existen desde hace tiempo las más diversas disoluciones para descontaminación antimicrobiana con sustancias químicas agresivas contra microorganismos como, por ejemplo, formaldehído, alcoholes, fenoles, azida de sodio, hipoclorito de sodio o agentes fuertemente oxidantes como, por ejemplo, hipoclorito, agentes blanqueantes o ácidos minerales.

20 Los inconvenientes de estas disoluciones y métodos radican en el hecho de que los productos químicos y agentes oxidantes muy agresivos utilizados para la descontaminación y desinfección tienen un alto potencial corrosivo y tóxico. Por tanto, el agua y las disoluciones acuosas tratadas se vuelven habitualmente inadecuadas para el consumo humano, y los aparatos o superficies utilizadas pueden resultar dañadas por la corrosión.

25 Por tanto, estas disoluciones químicas agresivas para el lavado y enjuague de aparatos, instrumentos y superficies de trabajo se utilizan normalmente en circuitos cerrados.

La aplicación de la tecnología con plata ha aportado una mejora gradual a este problema. El efecto oligodinámico de la plata permite la esterilización del agua o disoluciones acuosas con una calidad que es inocua para los seres humanos y cuida los materiales y las superficies. Por tanto, la tecnología con plata se utiliza también en la producción, tratamiento y garantía de la calidad del agua potable.

30 En consecuencia, se trabaja constantemente para mejorar la eficacia de la tecnología con plata. Por ejemplo, a partir del documento WO 2005/023206 A2 y del documento DE 100 54 248 A1 son conocidos procedimientos más recientes que aprovechan las propiedades de las nanopartículas para lograr, a través de una superficie muy grande, una liberación acelerada de iones plata.

35 A partir del documento WO 01/143788 A2 es conocido un dispositivo que está revestido con un polímero que comprende un coloide. El coloide se origina en este caso mediante la reacción de una primera sal, que puede ser una sal de plata y/o de rutenio, con una segunda sal, que puede ser un ascorbato. El documento WO 01/143788 A2 describe además un procedimiento para preparar un revestimiento polimérico que contiene coloide, que comprende plata, rutenio y ascorbato, en el cual el ascorbato sirve para formar con sales de plata y/o de rutenio un coloide, que origina luego una capacidad incrementada para la absorción de iones antimicrobianos y una modificación de la cinética de liberación de los iones oligodinámicos.

El interés comercial acerca de materiales y métodos para mantener la calidad del agua o, en general, la calidad de disoluciones acuosas para los seres humanos por medio de la tecnología con plata se subraya por la ya amplia distribución comercial de productos correspondientes, bajo los nombres comerciales más variados.

45 Los inconvenientes de los métodos conocidos en la tecnología con plata son un inicio de la acción fuertemente retardado después del contacto de la plata con el agua, y una acción selectiva solamente antibacteriana. Por tanto, en la mayoría de los casos se necesitan por lo general varias horas, con frecuencia incluso significativamente más tiempo, hasta que, tras el contacto de la plata con agua contaminada se liberan de la superficie iones plata suficientes para conseguir una suficiente mortandad de los microorganismos y una esterilización del agua.

50 Por lo tanto, la tecnología con plata presenta dos campos problemáticos: 1. la aparición retrasada en el tiempo de la acción germicida y 2. el espectro de acción limitado para la descontaminación y desinfección eficaces del agua o disoluciones acuosas, con el fin de destruir o eliminar microorganismos y biomoléculas problemáticas. Por tanto, constantemente se buscan métodos y procedimientos mejorados para aumentar la eficacia de la tecnología con plata.

Además, los nuevos hallazgos de la moderna biología molecular y la tecnología genética muestran que, además de

los microorganismos, también informaciones genéticas aisladas, genes individuales o incluso partes de los mismos, y ciertas proteínas ya son suficientes para desencadenar enfermedades o provocar alteraciones genéticas indeseadas (Elhafi *et al.*, 2004). Así pues, una descontaminación eficaz de superficies para destruir o eliminar biomoléculas activas constituiría una ganancia de seguridad adicional en todos los ámbitos de la calidad del agua y la higiene.

Por consiguiente, existe en la práctica una necesidad de materiales, métodos y procedimientos mejorados para la descontaminación completa y la desinfección eficaces, y sobre todo también no tóxicas y no corrosivas, del agua o disoluciones acuosas, con el fin de destruir o eliminar microorganismos y biomoléculas activas, como por ejemplo ADN, ARN y proteínas.

10 Compendio de la invención

Por tanto, es objeto de la presente invención superar los inconvenientes de la técnica anterior y desarrollar nuevos materiales y procedimientos que consigan un efecto mejorado y ampliado de la tecnología con plata.

Este objeto se logra, según la invención, por que el revestimiento comprende adicionalmente al menos una vitamina o al menos un derivado de una vitamina y al menos una sustancia superficialmente activa, siendo la vitamina ácido ascórbico.

Las moléculas de rutenio sobre la superficie de plata, o en contacto directo con moléculas de plata, sirven en este caso para una liberación más rápida de iones plata, pero también, al mismo tiempo, como "puntos de anclaje" para la fijación y complejación de moléculas de ácido ascórbico o sus derivados.

Además, el objeto se resuelve mediante un procedimiento para revestir un dispositivo, en concreto mediante la aplicación de un revestimiento de rutenio sobre una superficie de plata o que contiene plata del dispositivo, o aplicación de un revestimiento de plata sobre el dispositivo y posterior aplicación de un revestimiento de rutenio sobre el revestimiento de plata, o puesta en contacto de un revestimiento de plata y un revestimiento de rutenio, o aplicación de partículas de rutenio-plata sobre el dispositivo; y aplicación de al menos una vitamina o al menos un derivado de una vitamina y al menos una sustancia superficialmente activa sobre la superficie que comprende plata y rutenio del dispositivo, siendo la vitamina ácido ascórbico.

En la invención presente, se mejora significativamente el efecto oligodinámico, en sí conocido, de la plata para la reducción de gérmenes y se refuerza mediante la combinación de la plata con rutenio y ácido ascórbico o sus derivados, así como una sustancia superficialmente activa. Estas nuevas superficies metálicas bioactivas conducen a una destrucción más rápida y más eficiente de microorganismos. Al mismo tiempo, estas nuevas superficies metálicas impiden la infestación con microorganismos y la adhesión o deposición estable de biomoléculas, como ADN, ARN o proteínas. De este modo se obtiene una superficie autolimpiante que, al contacto con agua o disoluciones acuosas, produce muy rápidamente y de manera eficiente la esterilidad, y durante periodos de tiempo más largos.

La superficie que contiene plata o la superficie de plata que se constituye según la invención puede ser la superficie de un material compacto o macizo correspondiente. Sin embargo, en principio esta superficie también puede comprender cualquier otro material (por ejemplo, material sintético, cerámica, vidrio, etc.) que tenga aplicado un delgado revestimiento que contenga plata, que junto con el revestimiento de rutenio externo aplicado forme un eficaz sistema en sándwich de rutenio-plata con una capa inferior o sustrato de plata o aleación de plata y una capa externa, capa superior o capa de revestimiento de rutenio, permeable a la humedad o al agua.

Los revestimientos o sistemas de revestimiento, es decir, el revestimiento de rutenio y una capa inferior de plata eventualmente requerida (generalmente con un espesor de 2-10 μm) se aplican o depositan preferiblemente de manera galvánica. También son métodos de chapado adecuados para ello otros métodos de revestimiento, como los procedimientos de PVD, de CVD, de pulverización catódica, de sol-gel y por reducción.

La aplicación de los revestimientos de rutenio se controla en este caso de manera que la superficie que contiene plata está en contacto de humedad con el entorno, o puede entrar en contacto de humedad con el entorno, a través de superficies libres continuas, preferiblemente configuradas finamente, aberturas, poros, grietas, intersticios o similares en el revestimiento de rutenio, y así se garantiza un contacto de humedad entre la plata y el rutenio. Si la superficie de plata está ocupada por racimos de rutenio, se puede intensificar de manera ventajosa el efecto oligodinámico de la plata. Las capas de rutenio, que preferiblemente son arracimadas y son porosas o contienen microfisuras, en combinación con plata permiten una liberación mucho más eficaz de iones de plata hacia el entorno. Preferiblemente, se aplica rutenio en un espesor en el rango de nanómetros o micrómetros, habiéndose revelado particularmente útil un espesor de, como máximo, aproximadamente 2 μm , en particular aproximadamente 0,05 μm , y, como mínimo, aproximadamente 0,005-0,01 μm .

Sin embargo, también se pueden utilizar partículas de Ag-Ru en las que plata y rutenio están en contacto eléctricamente conductor y la humedad o el agua mojan ambos metales. Las partículas bimetálicas de plata-rutenio pueden presentarse en el rango micrométrico o nanométrico, preferiblemente en el rango nanométrico, con un tamaño de aproximadamente <50 nm. Las partículas de plata y de rutenio también pueden ser eficaces como

partículas individuales, si existe un contacto metálico estrecho entre ambos tipos de partículas.

5 Las partículas metálicas de tamaño nanométrico y micrométrico se pueden obtener, por ejemplo, mediante procedimientos de molienda, electroquímicos, de reducción química, de electroforesis capilar, de síntesis hidrotérmica, de PVD, de CVD o métodos sol-gel. Según el estado de la técnica se preparan, preferiblemente con fines catalíticos, nanopartículas de rutenio-plata (Wu *et al.*, 1990 II), de platino-rutenio (Schmidt *et al.*, 1998), de rutenio-cobre (Wu *et al.*, 1990 I), y de rutenio-oro (Wu *et al.*, 1990 II).

10 La electrodeposición, en particular la deposición de las capas de rutenio preferiblemente arracimadas, porosas o con microfisuras, según la invención, se puede controlar selectivamente mediante la elección de un electrólito adecuado, el contenido de metal en el electrólito, la temperatura del electrólito, el valor de pH del electrólito, la duración de la deposición o el tiempo de tratamiento, y/o por medio de la densidad de corriente o la cantidad de corriente. Por lo tanto, también la estructura y las dimensiones de los racimos de rutenio, (micro)poros y microfisuras de la capa de rutenio según la invención están determinadas, en particular, por las condiciones de electrodeposición elegidas, de modo que se pueden ajustar o configurar el espesor y la estructura de la capa de rutenio en función de las necesidades y adaptarlos de manera óptima al uso pretendido respectivo. En la electrodeposición, no solo se puede emplear una conducción convencional del proceso, simple y conocida, en donde se pueden depositar simplemente de forma consecutiva las capas individuales de un sistema en sándwich de rutenio-plata según la invención, sino que también se pueden utilizar para este propósito sistemas de electrólito disponibles comercialmente, conocidos y probados.

20 Antes del revestimiento, preferiblemente se limpian primeramente las superficies y se someten a un decapado y/o un enjuague. En caso de un dispositivo que no sea eléctricamente conductor, antes de la aplicación de un revestimiento de plata y rutenio se debe tratar previamente la superficie del dispositivo conforme a un método de galvanoplastia conocido, para posibilitar un revestimiento con plata y rutenio resistente a la despegadura.

25 Una primera indicación de la especial interacción sinérgica entre rutenio y ácido ascórbico la proporciona el hallazgo de que el rutenio se puede utilizar de manera muy eficaz en nuevas disoluciones para descontaminación con derivados de vitaminas, iones metálicos y detergentes.

30 Se han desarrollado nuevas disoluciones y procedimientos con iones metálicos divalentes o trivalentes, derivados de vitaminas y detergentes que superan los inconvenientes del estado de la técnica en cuanto a disoluciones universales de desinfección y descontaminación, y no trabajan con productos químicos corrosivos agresivos o agentes fuertemente oxidantes, y además descontaminan por completo los sustratos tratados, a temperatura ambiente o temperaturas ligeramente elevadas.

Se sabe que, en cantidades fisiológicas de concentraciones micromolares, los antioxidantes en combinación con iones metálicos divalentes pueden conducir esporádicamente a daños y roturas parciales de cadena en moléculas de ácido nucleico (Padayatty *et al.*, 2003; Blokhina *et al.*, 2003; Veal *et al.*, 1991). Sin embargo, estos son sólo resultados esporádicos y aislados que sólo son aplicables al respectivo caso particular.

35 El ensayo sistemático de nuevas combinaciones de iones metálicos, derivados de vitaminas y detergentes ha conducido al desarrollo de nuevas disoluciones para descontaminación y desinfección muy eficaces y universales. Además, las investigaciones más recientes en este sentido prueban que también el rutenio tiene un efecto sinérgico muy eficaz en este sistema (véase la Figura 1).

40 Sorprendentemente, se ha encontrado ahora, además, que la incubación de superficies metálicas revestidas con plata y rutenio, de nuevo desarrollo, en disoluciones de ácido ascórbico conduce a una fijación y complejación espontáneas de las moléculas de ácido ascórbico sobre las moléculas de rutenio. Se forma de este modo sobre la superficie metálica un depósito persistente de moléculas de ácido ascórbico. También es posible un revestimiento de plata y rutenio dispuesto de manera contigua, siempre y cuando exista un contacto metálico. También es concebible una capa de plata porosa, con microfisuras, sobre una capa porosa de rutenio, siempre que se produzca un contacto entre ambos metales a través de una disolución acuosa. Estos sistemas de revestimiento de nuevo desarrollo, a base de plata, rutenio, ácido ascórbico y tensioactivos inertes, poseen propiedades sorprendentes y totalmente nuevas.

50 Las nuevas propiedades de estas superficies metálicas conducen a una destrucción de microorganismos mucho más rápida y más eficaz de lo que es posible según el estado de la técnica con los materiales y procedimientos actuales.

Esto resulta obvio al comparar, en cuanto a eficacia germicida, distintas muestras de plata con revestimientos de plata/rutenio tras un tratamiento con ácido ascórbico.

55 Se dotó galvánicamente de respectivos revestimientos microporosos a láminas redondas de plata, de 1,3 cm de diámetro, y después se incubaron durante 24 horas en disolución acuosa 0,5 M de ácido ascórbico. Después de la incubación, se lavaron las láminas dos veces con agua estéril. Una lámina de plata/rutenio (Ag/Ru) así tratada con ácido ascórbico muestra una destrucción de gérmenes mucho más rápida que las muestras comparativas. Por ejemplo, las bacterias de un cultivo de ensayo ya se vieron reducidas drásticamente en número al cabo de 2 a

- 20 minutos, o incluso fueron eliminadas por completo (véanse las Figuras 2A a 2D). Después del tratamiento con ácido ascórbico, las distintas muestras comparativas con lámina de plata pura (Ag), lámina de plata con revestimiento de oro (Ag/Au) o lámina de plata con revestimiento de paladio y níquel (Ag/Pd/Ni) muestran la primera reducción significativa del recuento de gérmenes solamente al cabo de un tiempo de contacto o de acción de
- 5 aproximadamente 60 minutos, sin lograr la destrucción completa de todos los gérmenes en este período de tiempo.
- Tampoco un lavado repetido con agua estéril de las superficies de plata-rutenio tratadas con ácido ascórbico produjo una reducción significativa de la elevada acción antibacteriana (véanse las Figuras 3A a 3D). Esto demuestra que las moléculas de ácido ascórbico han experimentado una fuerte fijación a la superficie de plata y rutenio y forman un depósito. Además, existe una interacción sinérgica especial entre los tres componentes.
- 10 En caso necesario, el depósito de ácido ascórbico se puede reponer mediante una simple aplicación de una disolución acuosa de ácido ascórbico, o incluso con solo hacer pasar la misma. Como alternativa, la reposición del depósito también se puede efectuar mediante una nueva incubación en una disolución de ácido ascórbico.
- El hecho de completar el depósito de ácido ascórbico mediante la aplicación de una delgada capa de ácido ascórbico y detergentes proporciona el efecto adicional especial de que ahora también se degradan de forma rápida y por completo moléculas de ácido nucleico al contacto con esta superficie. Un nuevo punto crucial para la formación persistente de depósito son en este caso las capas de rutenio-plata arracimadas, porosas o con microfisuras, preferidas según la invención, que favorecen una eficaz formación de depósito.
- 15
- Constituye un inconveniente del estado de la técnica en cuanto a la tecnología con plata, pero también para la mayoría de las superficies bioactivas en general, la falta de una función de degradación para biomoléculas problemáticas tales como ADN, ARN o proteínas. Investigaciones propias demuestran que distintas superficies de plástico o metal no tienen efecto degradante alguno, o tienen solamente un efecto degradante muy limitado, sobre moléculas de ADN (véase la Figura 4).
- 20
- El efecto sinérgico especial de los nuevos revestimientos de Ag/Ru en combinación con ácido ascórbico y detergentes se pone de manifiesto en estudios sobre la estabilidad de moléculas de ADN sobre superficies así
- 25 revestidas. Si se aplican como contaminación sobre estas superficies muestras definidas de ADN, el análisis mediante gel de agarosa y electroforesis muestra una degradación rápida y completa en el transcurso de 30 minutos a 24 horas. Análisis adicionales utilizando la tecnología de PCR, muy sensible, muestran que las moléculas de ADN aplicadas ya no son detectables después de transcurridos solamente 30 minutos (véase la Figura 6). Una muestra comparativa sobre una superficie de plástico no muestra, en este período de tiempo, ninguna degradación del ADN.
- 30 Por lo tanto, las nuevas superficies bioactivas tienen la propiedad adicional de una superficie autolimpiante para biomoléculas problemáticas.
- Es un objeto adicional de la presente invención el uso del revestimiento según la invención para producir y mantener la esterilidad del agua o disoluciones acuosas, para salvaguardar la higiene y calidad del agua.
- 35
- Otras realizaciones ventajosas de la presente invención se desprenden de los objetos de las reivindicaciones dependientes.
- La acción eficaz de las nuevas superficies metálicas es más sorprendente dado que, como se ha demostrado, cada uno de los componentes individuales no muestra una acción eficaz comparable.
- Sólo la carga de superficies metálicas o revestimientos de plata y rutenio con al menos una vitamina o sus derivados, y detergentes, conduce a un efecto sinérgico y a una desinfección acelerada y más eficaz de disoluciones acuosas y a la degradación de biomoléculas problemáticas en estas superficies metálicas o revestimientos.
- 40
- Por tanto, las superficies metálicas o revestimientos a producir según la invención contienen plata, rutenio y ácido ascórbico o sus derivados, así como al menos una sustancia superficialmente activa.
- La vitamina o sus sales o derivados con ácido que preferiblemente se cutilizan según la invención son uno o varios compuestos y/o sales de los mismos seleccionados del grupo de las vitaminas solubles en agua que tienen las propiedades de los antioxidantes, en concreto la vitamina C. Se cutiliza en cantidades de aproximadamente 1 mM a 1.000 mM, referidas al total de la disolución, preferiblemente en cantidades de aproximadamente 10 mM a 100 mM.
- 45
- Se puede lograr un incremento adicional del efecto mediante la aplicación de capas delgadas de ácido ascórbico o sus derivados y sustancias superficialmente activas adicionales. Las sustancias superficialmente activas que se cutilizan según la invención son tensioactivos inertes aniónicos, no iónicos, anfóteros o catiónicos, o bien mezclas adecuadas de unos con otros o entre sí. En particular, se pueden utilizar alquil-éter-sulfatos, alquil- y/o arilsulfonatos, alquilsulfatos, tensioactivos anfóteros, betaínas, alquilamidoalquilaminas, aminoácidos sustituidos con alquilo, iminoácidos sustituidos con alquilo, aminoácidos acilados y combinaciones de tensioactivos anfóteros. Son adecuados, en principio, todos los tensioactivos inertes. Inerte significa que no afecta ni a la disolución sinérgica ni al resultado experimental. Según la invención se prefieren tensioactivos aniónicos y no iónicos.
- 50
- Se utilizan en cantidades de aproximadamente 0,1 a 10% en peso, referidas al total de la disolución, preferiblemente
- 55

en cantidades de aproximadamente 0,2 a 0,5% en peso.

5 Sobre las superficies bioactivas según la invención se pueden aplicar, además, iones metálicos divalentes y/o trivalentes. Se trata de iones de metales del 4º período y/o los subgrupos I, II y VIII del sistema periódico de los elementos. Se utilizan en forma de sus sales con ácidos o bases orgánicos y/o inorgánicos. Se prefieren según la invención uno o más compuestos seleccionados del subgrupo VIII, en particular hierro, cobalto, níquel, cobre o cinc.

Se utilizan en cantidades de aproximadamente 1 mM a 100 mM, referidas al total de la disolución, preferiblemente en cantidades de aproximadamente 5 mM a 10 mM.

10 Sobre las superficies bioactivas según la invención también se pueden aplicar, además, otras sustancias auxiliares y aditivas inertes comunes como, por ejemplo, sustancias tampón adecuadas para el ajuste de un valor de pH definido, como Tris (tris(hidroximetil)aminometano), MES (ácido 2-(morfolino)etanosulfónico), HEPES (ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil]etanosulfónico), MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico), carbonatos y derivados del ácido succínico. Estas sustancias tampón se utilizan en cantidades de aproximadamente 1 mM a 500 mM, referidas al total de la disolución.

15 Como tiempo de contacto o de actuación entre las superficies metálicas bioactivas según la invención y el agua o las disoluciones acuosas, por regla general son suficientes alrededor de 5 a 20 minutos a temperatura ambiente o temperatura ligeramente elevada para la descontaminación y desinfección completas. Sin embargo, los procedimientos aplicados se pueden modificar y adaptar a las necesidades respectivas.

20 La presente invención permite el desarrollo de nuevas superficies bioactivas para aplicaciones de higiene y para la producción de agua de alta calidad por medio de revestimientos de plata, rutenio y ácido ascórbico o sus derivados, así como una sustancia superficialmente activa. Con ello, se logra un nuevo salto de calidad en la descontaminación y desinfección mediante la tecnología con plata, ya que de este modo es posible una acción antimicrobiana más rápida combinada con una protección sostenida a largo plazo. Al mismo tiempo, se evita que biomoléculas activas, como ADN, ARN o proteínas, se depositen de manera estable en la superficie.

La invención se ilustra por medio de las siguientes figuras ilustrativas y ejemplos de ejecución.

25 **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra aquí el efecto sinérgico especial entre rutenio y ácido ascórbico con el ejemplo de la degradación de moléculas de ADN.

Las Figuras 2A-D muestran la acción antimicrobiana potenciada de los revestimientos de plata, rutenio y ácido ascórbico según la invención, en comparación con otras muestras de plata del estado de la técnica.

30 Las Figuras 3A-D muestran el mismo ensayo que la Figura 2 después de que las láminas metálicas idénticas a las de la Figura 2 se hubieran lavado de nuevo con agua estéril y se hubieran secado.

La Figura 4 muestra un análisis de la estabilidad de moléculas de ADN sobre diversas superficies.

La Figura 5 muestra un análisis de la eficaz degradación de ADN sobre las nuevas superficies metálicas con un revestimiento especial.

35 La Figura 6 muestra un análisis mediante PCR de muestras de ADN después de distintos tiempos de contacto con las nuevas superficies metálicas revestidas según la invención.

Ejemplos y descripción de distintas y preferidas realizaciones de la invención

40 La Figura 1 muestra el efecto sinérgico especial entre rutenio y ácido ascórbico con el ejemplo de la degradación de moléculas de ADN. Se trataron durante 2 minutos porciones alícuotas idénticas de plásmidos de ADN (YEp351) con las disoluciones de prueba 1-7 que figuran a continuación. Posteriormente, se desnaturalizaron las muestras de ADN y separaron por electroforesis en gel, sobre un gel de agarosa (al 1%), las moléculas de ADN de cadena sencilla. Después de teñir con bromuro de etidio, se obtienen las imágenes representadas. El testigo muestra el ADN intacto del plásmido tras el tratamiento con agua estéril. Mediante la inducción de roturas de cadena, se reduce el peso molecular de las moléculas de ADN en cuestión. Esto se puede determinar en el gel por comparación con el testigo y el marcador de peso molecular. En cada caso 5 µg de ADN, en 5 µl de tampón de Tris (1 mM; pH 8,0) estéril, se trataron durante 2 minutos, a temperatura ambiente, con 5 µl de las soluciones de prueba 1-7 que figuran a continuación. Posteriormente, se mezclaron las muestras con 5 µl de Tris 100 mM (pH 12), se añadió marcador de azul de bromofenol, y se desnaturalizó durante 5 minutos a 95°C. Se enfriaron inmediatamente a 4°C las muestras desnaturalizadas, y se aplicaron en cada caso porciones alícuotas de 1 µg de ADN en cada carril del gel. Después de la electroforesis en gel en el gel de agarosa al 1%, se tiñó el ADN con bromuro de etidio y se fotografió.

Datos de las muestras:

M: marcador de ADN en escalera de 1 kb; K: testigo: ADN + 5 µl de H₂O estéril; 1: ácido ascórbico 100 mM + FeCl₃

10 mM; 2: ácido ascórbico 10 mM + FeCl₃ 1 mM; 3: ácido ascórbico 100 mM + RuCl₃ 10 mM; 4: ácido ascórbico 10 mM + RuCl₃ 1 mM; 5: ácido ascórbico 100 mM + AgNO₃ 10 mM; 6: ácido benzoico 10 mM; 7: ácido ascórbico 100 mM.

5 Las Figuras 2A-D muestran la acción antimicrobiana potenciada de los nuevos revestimientos de plata, rutenio y ácido ascórbico, en comparación con otras muestras de plata. Se incubaron las láminas metálicas (de 1,3 cm de diámetro) en disolución 0,5 M de ácido ascórbico, después se lavaron con agua estéril y se secaron. Tras el secado, se pusieron las muestras en 1 ml de agua estéril que contenía en cada caso 10⁵ bacterias de la cepa estándar RRI de *Escherichia coli*. Se determinó el número de bacterias vivas al cabo de 1, 5, 20 y 60 minutos de incubación, y se expresó en una escala de 10⁵ a 10⁰.

10 Muestras: 0: solo H₂O estéril; 1: lámina de plata pura (Ag); 2: lámina de plata con rutenio (Ag/Ru); 3: lámina de plata con oro (Ag/Au); 4: lámina de plata con paladio y níquel (Ag/Pd/Ni); 5: ácido ascórbico 100 mM, FeCl₃ 10 mM; 6: ácido ascórbico 100 mM, RuCl₃ 10 mM (5 + 6 cada uno con 0,3% de SDS y 0,2% de Tween 20).

15 Las Figuras 3A-D muestran el mismo ensayo que la Figura 2 después de que las láminas metálicas idénticas a las de la Figura 2 se hubieran lavado de nuevo con agua estéril y se hubieran secado. Después del secado, se pusieron de nuevo las muestras en 1 ml de agua estéril que contenía en cada caso 10⁵ bacterias de la cepa estándar RRI de *Escherichia coli*. Se determinó el número de bacterias vivas al cabo de 1, 5, 20 y 60 minutos de incubación, y se expresó en una escala de 10⁵ a 10⁰.

20 Muestras: 0: solo H₂O estéril; 1: lámina de plata pura (Ag); 2: lámina de plata con rutenio (Ag/Ru); 3: lámina de plata con oro (Ag/Au); 4: lámina de plata con paladio y níquel (Ag/Pd/Ni); 5: ácido ascórbico 100 mM, FeCl₃ 10 mM; 6: ácido ascórbico 100 mM, RuCl₃ 10 mM, (5 + 6 cada uno con 0,3% de SDS y 0,2% de Tween 20).

25 La Figura 4 muestra un análisis de la estabilidad de moléculas de ADN sobre distintas superficies. En cada caso, se aplicaron gota a gota 50 µl de una disolución de ADN (25 ng/µl) sobre las superficies. Al cabo de 24 horas se tomaron porciones alícuotas de 2 µl cada una y se examinaron en gel de agarosa analítico. Después de la electroforesis en gel sobre gel de agarosa al 1%, se tiñó con bromuro de etidio el ADN y se fotografió. Se utilizó como superficie testigo material plástico estéril.

Aplicación sobre el gel:

K: muestra testigo de superficie de plástico

M: marcador/escalera de 1 kb

1: muestra de ADN de Ag después del tratamiento con ácido ascórbico

30 2: muestra de ADN de Ag/Au después del tratamiento con ácido ascórbico

3: muestra de ADN de Ag/Ru después del tratamiento con ácido ascórbico

4: muestra de ADN de Pd/Ni después de tratamiento con ácido ascórbico

35 La Figura 5 muestra un análisis de la degradación eficaz del ADN sobre las nuevas superficies metálicas con revestimiento especial. Al revestimiento de Ag/Ru se le proveyó adicionalmente de una delgada capa de ácido ascórbico, iones metálicos y detergentes. Para ello se aplicó a la superficie mediante inmersión rápida una disolución con ácido ascórbico 100 mM, FeCl₃ 10 mM, 0,3% de SDS, y 0,2% de Tween 20, dejando escurrir y secando. Posteriormente, se añadieron gota a gota sobre la superficie 50 µl de una disolución de ADN (25 ng/µl). Transcurridos los tiempos especificados se tomaron porciones alícuotas de 2 µl en cada caso y, tras electroforesis en gel sobre gel de agarosa al 1%, se tiñó con bromuro de etidio el ADN y se fotografió. Se utilizó como superficie

40 testigo material plástico estéril.

Aplicación sobre el gel:

M: marcador/escalera de 1 kb

K1: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurridos 30 minutos

K2: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurrida 1 hora

45 K3: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurridas 4 horas

K4: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurridas 24 horas

Ab1: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurridos 30 minutos

Ab2: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurrida 1 hora

Ab3: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurridas 4 horas

Ab4: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurridas 24 horas

5 La Figura 6 muestra un análisis por PCR de muestras de ADN después de distintos tiempos de contacto con las nuevas superficies metálicas revestidas. A los revestimientos de Ag/Ru se les proveyó adicionalmente de una delgada capa de ácido ascórbico, iones metálicos y detergentes. Para ello, se aplicó a la superficie mediante una breve inmersión una disolución con ácido ascórbico 100 mM, FeCl₃ 10 mM, 0,3% de SDS y 0,2% de Tween 20, dejando escurrir y secando. Posteriormente, se añadieron gota a gota sobre la superficie 50 µl de una disolución de ADN (0,1 ng/µl). Transcurridos los tiempos especificados se tomaron porciones alícuotas de 2 µl en cada caso y en cada caso se transfirieron con pipeta a una mezcla de reacción para PCR de 50 µl. La mezcla de reacción para PCR contiene pares de cebadores para la amplificación del ADN de prueba (gen scPCP1 de la levadura). Los testigos (+/-) indican si la reacción de PCR ha discurrido correctamente. Una banda de 780 pares de bases (pb) del ADN de prueba indica que todavía están presentes moléculas de ADN intactas de este gen. En caso de una eliminación o destrucción completas del ADN de prueba, no se detecta en el gel ninguna banda de ADN amplificada.

10 Después de la electroforesis en gel sobre gel de agarosa al 1%, se tiñó con bromuro de etidio el ADN y se fotografió. Se utilizó como superficie testigo material plástico estéril.

15 Aplicación sobre el gel:

+: testigo positivo de la reacción de PCR con ADN de prueba

-: testigo negativo de la reacción de PCR sin ADN

M: marcador/escalera de 1 kb

20 K1: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurridos 30 minutos

K2: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurrida 1 hora

K3: muestra testigo de la superficie de plástico, transcurridas 4 horas

Ab1: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurridos 30 minutos

Ab2: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurrida 1 hora

25 Ab3: muestra de ADN de la superficie revestida, transcurridas 4 horas

Bibliografía

- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. (2003): Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals Botany* 91:179-194
- 30 Elhafi, G., Naylor, C.J., Savage, C.E. y Jones, R.C. (2004): Microwave or autoclave treatments destroy the infectivity of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus but allow detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 33, 3003-306
- Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S.K. y Levine M. (2003): Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.* 1, 18-35
- 35 Schmidt, T.J., Noeske, M., Gasteiger, H.A., Behm, R.J., Britz, P., Bönnemann, H. (1998): PtRu Alloy Colloids as Precursors for Fuel Cell catalysts. *J. Electrochem. Soc.* 145, 925
- Veal J.M., Merchant K. y Rill R.L. (1991): The influence of reducing agent and 1,10-phenanthroline concentration on DNA cleavage by phenanthroline + copper. *Nucl Acids Res*, vol. 19, n.º 12, 3383-3388
- Wu, X., Gerstein, B.C., King, T.S. (1990) I: Characterization of Silica-Supported Cu Monometallic and Ru-Cu Bimetallic Catalysts by Hydrogen Chemisorption and NMR of Adsorbed Hydrogen. *J. Catal.* 121, 271-293
- 40 Wu, X., Gerstein, B.C., King, T.S. (1990) II: Characterization of Silica-Supported Ru-Ag and Ru-Au Bimetallic Catalysts by Hydrogen Chemisorption and NMR of Adsorbed Hydrogen. *J. of Catalysis* 123, 43-49

REIVINDICACIONES

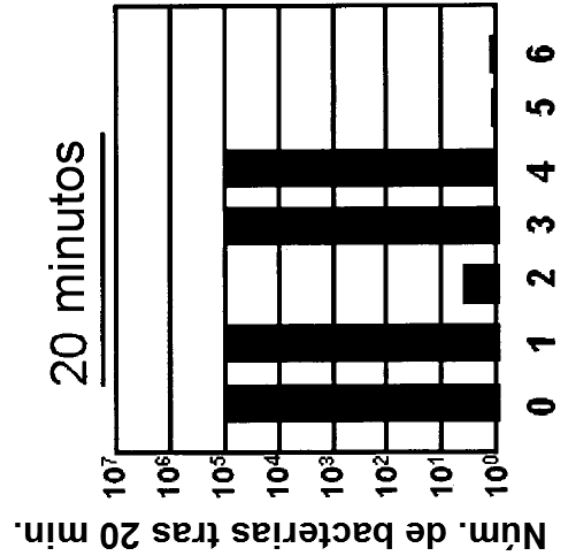
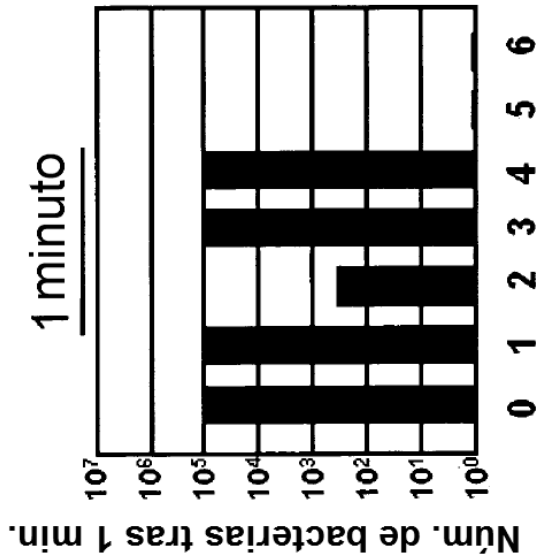
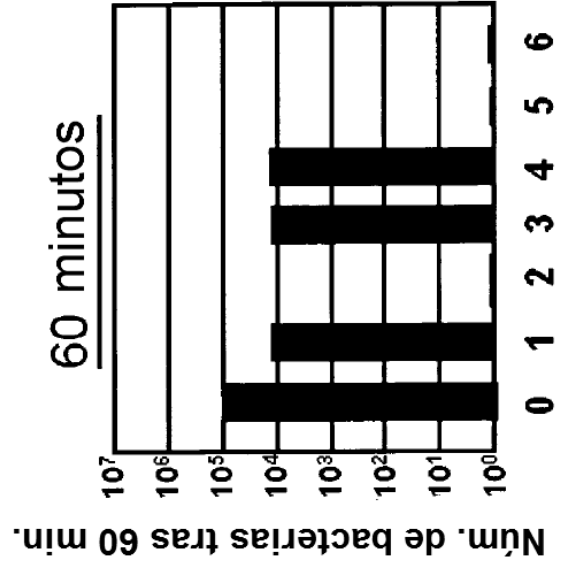
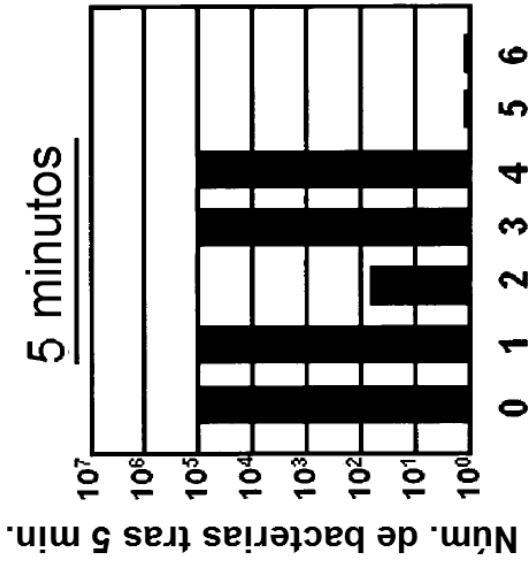
- 5 1. Revestimiento bioactivo que comprende al menos rutenio o partículas bimetálicas de plata-rutenio y está aplicado sobre una superficie de plata o que contiene plata o bien está en contacto con un revestimiento de plata, caracterizado por que el revestimiento comprende adicionalmente al menos una vitamina o al menos un derivado de una vitamina y al menos una sustancia superficialmente activa, siendo la vitamina ácido ascórbico.
2. Revestimiento bioactivo según la reivindicación 1, caracterizado por que el mismo está configurado de manera que contactos de plata-rutenio están en un contacto de humedad con el entorno.
- 10 3. Revestimiento bioactivo según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que el mismo comprende al menos un ion metálico divalente o trivalente, siendo el ion metálico un ion de uno de los metales del 4º período y/o de los subgrupos I, II u VIII del sistema periódico de los elementos.
4. Revestimiento bioactivo según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la sustancia superficialmente activa es al menos un compuesto del grupo de los tensioactivos aniónicos, no iónicos, anfóteros o catiónicos, o una mezcla apropiada de estos compuestos.
- 15 5. Revestimiento bioactivo según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que el revestimiento que contiene rutenio tiene un espesor de al menos 5-10 nm y, como máximo, 2 µm.
6. Procedimiento para revestir un dispositivo mediante:
- aplicación de un revestimiento de rutenio sobre una superficie de plata o que contiene plata del dispositivo, o aplicación de un revestimiento de plata sobre el dispositivo y posterior aplicación de un revestimiento de rutenio sobre el revestimiento de plata, o puesta en contacto de un revestimiento de plata y un revestimiento de rutenio, o aplicación de partículas de rutenio-plata sobre el dispositivo; y
- 20 aplicación de al menos una vitamina o al menos un derivado de una vitamina y al menos una sustancia superficialmente activa sobre la superficie que comprende plata y rutenio del dispositivo, siendo la vitamina ácido ascórbico.
- 25 7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado por que se aplica el revestimiento de rutenio con un espesor de al menos 5-10 nm y, como máximo, 2 µm.
8. Procedimiento según la reivindicación 6 o 7, caracterizado por que se aplica el revestimiento de plata con un espesor de 2-10 µm.
9. Procedimiento según una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por que se preparan las partículas de plata-rutenio como partículas bimetálicas unidas metálicamente entre sí.
- 30 10. Procedimiento según una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por que se preparan partículas de rutenio y de plata como partículas de metal puro y se llevan a un contacto metálico estrecho para preparar las partículas de plata-rutenio.
11. Uso del revestimiento bioactivo según una de las reivindicaciones 1 a 5 para la descontaminación o desinfección de agua o disoluciones acuosas.

35

Fig. 1



Figs. 2A-D



Figs. 3A-D

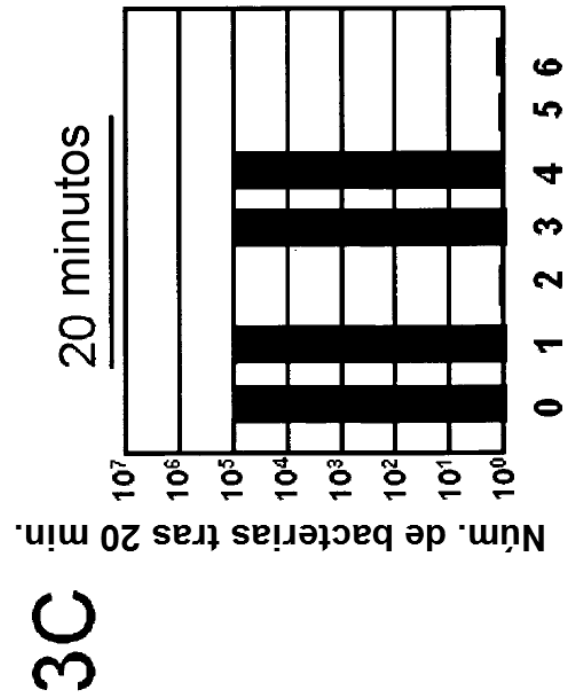
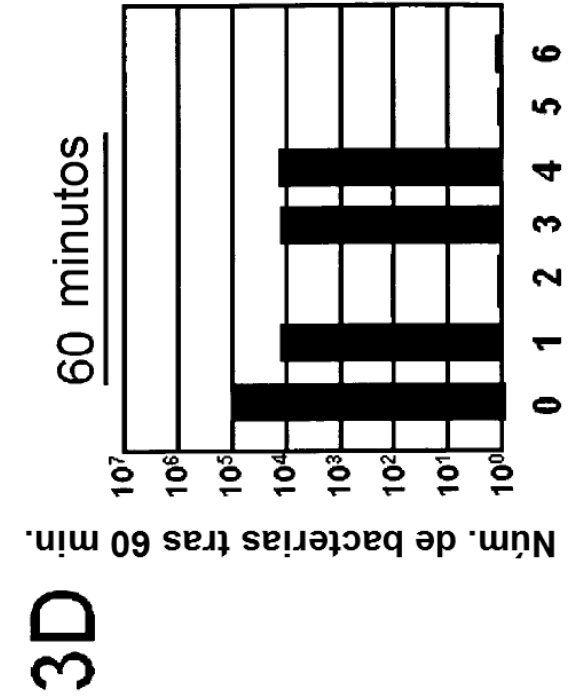
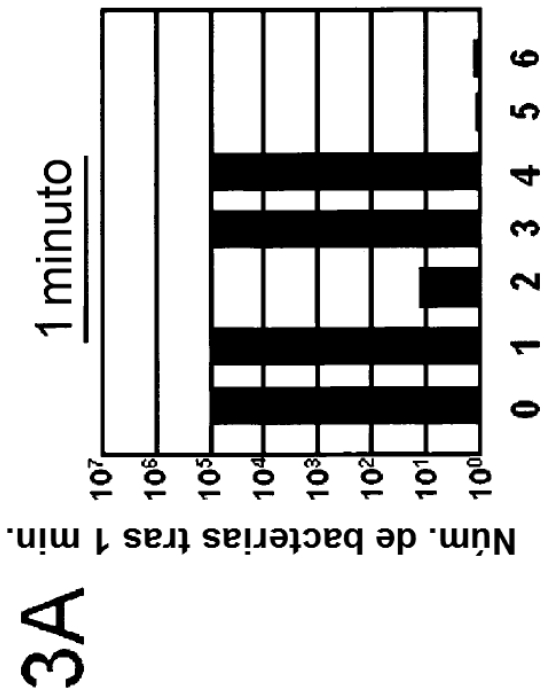
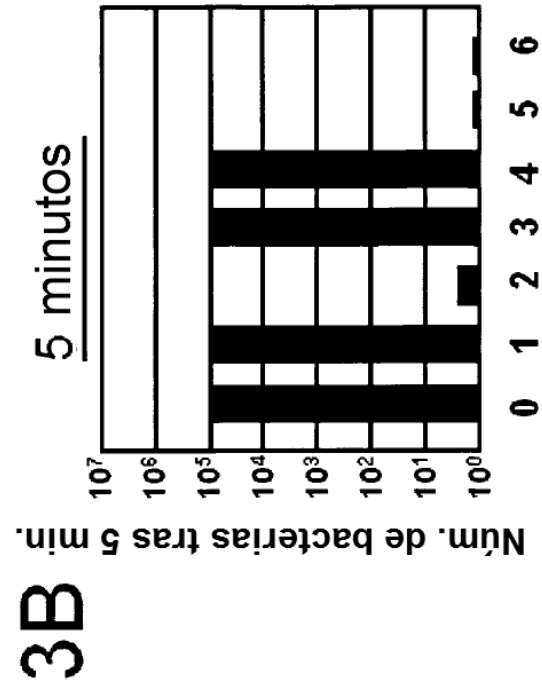


Fig. 4

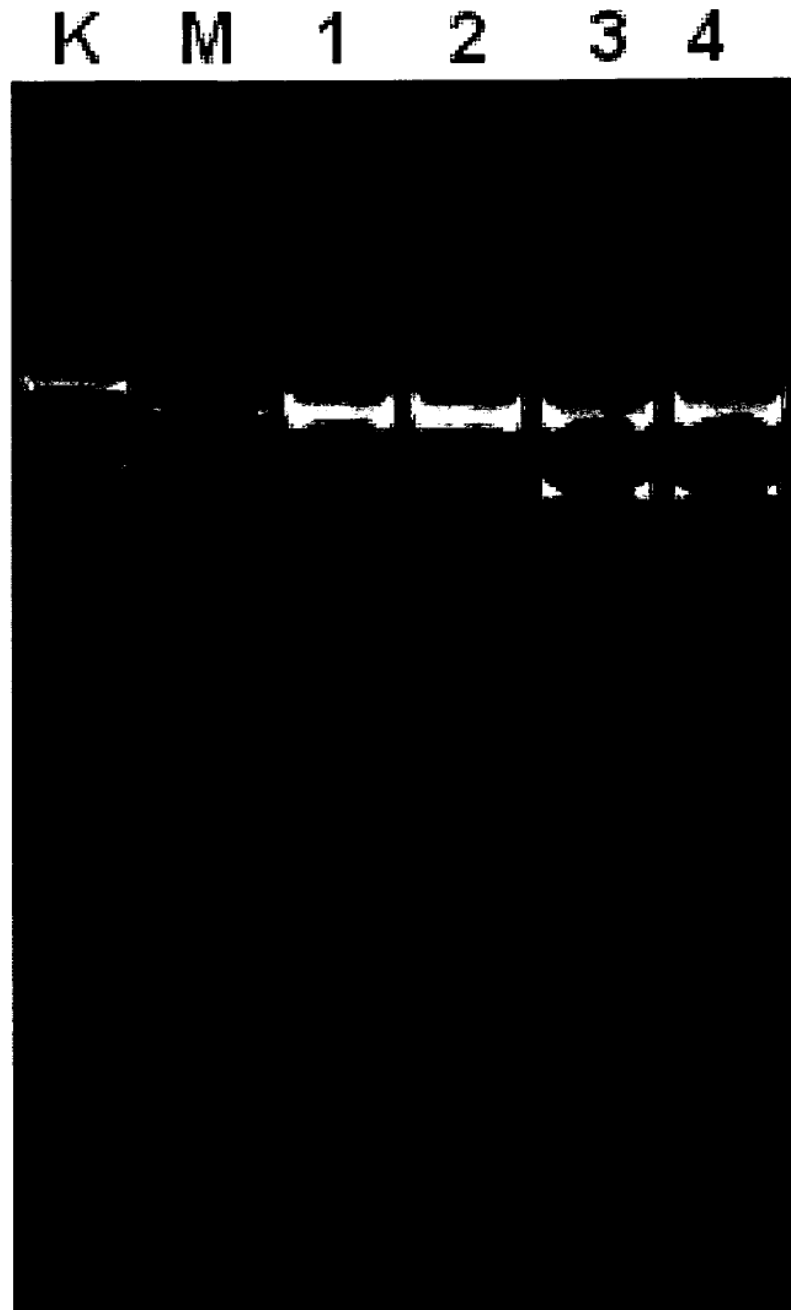


Fig. 5

M K1 K2 K3 K4 M Ab1 Ab2 Ab3 Ab4 M



Fig. 6

