



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2021 00121**

(22) Data de depozit: **18/03/2021**

(41) Data publicării cererii:
30/09/2022 BOPI nr. **9/2022**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **ION RODICA MARIANA, STR. VOILA
NR. 3, BL. 59, SC.3, ET.1, AP. 36,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **DISPOZITIV MEDICAL PENTRU INACTIVAREA
FOTODINAMICĂ ANTI-VIRALĂ HSV-1/SARS-COV-2/
COVID-19 DE PE SUPRAFEȚE, PROCEDEU DE REALIZARE
ȘI DE UTILIZARE AL ACESTUIA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de fotoinactivare virală a unor suprafețe contaminate. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: preparare a unui hidrogel din alcool polivinilic (PVA), adăugarea unei porfirine sub formă de dication $TSPPH_4^{2+}$ ca și fotosensibilizator rezultând un hidrogel de PVA cu porfiringa înglobată drept agent fotosensibilizator, în concentrație de 10...30 μg gel, aplicarea pe suprafața contaminată cu celule virale HSV-1, eventual cu menținerea

suprafeței la întuneric timp de 30 min și activarea agentului prin iradierea suprafeței cu radiații laser de mică putere 3... 15 mW, la o distanță de iradiere de 5... 10 cm, cu lungimi de undă de 635 nm, timp de 10...20 min, rezultând o eficiență de inactivare a HSV-1 de pe suprafață, exprimată prin scăderea ratei de supra-viețuire a virusului de 75% după 120 h.

Revendicări: 3



**DISPOZITIV MEDICAL PENTRU INACTIVAREA
FOTODINAMICĂ ANTI-VIRALĂ HSV-1 / SARS-COV-2 / COVID-19 DE PE
SUPRAFEȚE, PROCEDEU DE REALIZARE ȘI DE UTILIZARE AL ACESTUIA**

Invenția se referă la utilizarea porfirinei tetrasulfonate în forma sa dicationică $TSPPH_4^{2+}$ pentru realizarea unui dispozitiv medical de tip hidrogel utilizat pentru inactivarea fotodinamică antivirală HSV-1 / SARS-CoV-2 / COVID-19 de pe suprafețe precum: mobilier, instrumentar medical, vase de laborator, căi de acces, ș.a. din sistemul de sănătate, spitale, farmacii precum și în alte spații pentru protejarea personalului.

În ultimii ani, terapia fotodinamică, PDT, a devenit un instrument promițător atât în chimioterapia antivirală, cât și în cea împotriva cancerului. În prezența radiației luminoase cu lungime de undă corespunzătoare spectrului de absorbție al agentului fotoactiv denumit și fotosensibilizator, acesta absoarbe lumina și generează specii reactive ale oxigenului ce inactivează virusurile sau distruge celulele tumorale.

Terapia fotodinamică antimicrobiană, aPDT, a fost aplicată pentru inactivarea microorganismelor folosind diverși agenți fotosensibilizatori. Deși efectul de inactivare fotodinamică a fost demonstrat împotriva virusurilor, au existat mai multe limitări în utilizarea acestei metode, cum ar fi hidrofobicitatea fotosensibilizatorilor, specificitatea slabă a țintei, și capacitatea limitată de penetrare a țesuturilor. Cei mai mulți fotosensibilizatori sunt hidrofobi și agregă cu ușurință în soluții apoase, ceea ce le-ar putea afecta proprietățile fotochimice, fotofizice și fotobiologice.

În plus, sursa de lumina curentă utilizată este în domeniul ultraviolet (UV), domeniu în care cei mai mulți fotosensibilizatori au o capacitate limitată de penetrare a țesuturilor. Energia luminoasă astfel absorbită poate deteriora biomoleculele. Terapia fotodinamică antimicrobiană, aPDT, se bazează pe acest proces și a fost utilizată pentru tratarea infecțiilor microbiene localizate cauzate de virusurilor, bacterii, ciuperci și paraziți. Printre mulții agenți patogeni care pot fi vizați de aPDT, virusurile sunt cele mai vulnerabile, deoarece depind de intrarea într-o celulă gazdă pentru supraviețuire și replicare și pot fi inactivate prin deteriorarea moleculelor capsidice sau plic ca: lipide, carbohidrați, proteine sau a moleculelor interne, acizi nucleici. Astfel, multe virusuri pot fi tratate prin aPDT, inclusiv papilomavirus HPV, virusul hepatitei A, HAV și virusul herpes simplex HSV.

A fost raportată de asemenea fotoinactivarea coronavirusurilor și a altor agenți patogeni relevanți din punct de vedere clinic care utilizează aPDT mediat de coloranți cationici, cum ar fi coloranții cationici.

Porfirinele sunt recunoscute ca fotosensibilizatori ideali, buni generatori de specii reactive de oxigen: oxigen singlet, ROS, etc., au fost utilizate în inactivarea fotodinamică a unei game largi de microorganisme, cum ar fi bacteriile, virusurile și celulele tumorale. S-a raportat că inactivarea virusurilor pe bază de ROS poate apărea din mai multe motive, cum ar fi oxidarea proteinelor, rupturile genomului ARN monocatenar și reticularea proteinelor din ARN. Porfirinele sunt molecule amfipatice capabile să interacționeze cu membranele și să absoarbă lumina, fiind utilizate pe scară largă în terapia fotodinamică. Tratatamentul cu porfirine determină pierderea proteinelor învelișului viral, afectând morfologia virală, adsorbția și intrarea în celulele țintă. În cele din urmă, încărcătura virală scade progresiv până la distrucția acestuia. Porfirinele prezintă avantajul ca absorb în esență toate lungimile de undă ale luminii UV / vizibile din spectrul soarelui și prin urmare, acestea sunt active la doze foarte mici.

Virusurile sunt agenți patogeni microscopici, cu diferite forme, cel mai adesea sferice sau elipsoidale cu dimensiuni cuprinse între 18 și 900 nm. Particulele virale conțin material genetic sub formă de ADN sau ARN, adesea o coajă proteică - capsidă, și pot include, de asemenea, lipide suplimentare -supercapside. Virusurile sunt purtători ai propriului lor genom în timpul distribuției intercelulare și al transmiterii de la organism la organism. Ele protejează genomul în timpul tranzitului și, împreună cu proteinele nestructurale, îl livrează citosolului sau nucleului celulelor gazdă; după aceea, mecanismul de replicare și formare a virionilor este declanșat. De regulă, penetrarea agentului patogen în celula gazdă duce la moartea acestuia.

Virusul Herpes Simplex de tip 1, HSV-1, este cel mai frecvent agent patogen, un membru al subfamiliei Alpha Herpes Viridae și structura sa este compusă din dsDNA liniar, un capsid icosaedral cu un plic spikey. Infecția cu HSV-1 se caracterizează printr-un ciclu de infecție primară a celulelor epiteliale și latență în principal în neuroni. HSV-1 a implicat mucoasa orală generală. Acest virus poate inactiva majoritatea elementelor din sistemul imunitar, care sunt concepute pentru a proteja împotriva virusurilor, bacteriilor și altor agenți patogeni. HSV-1 poate deteriora, de asemenea, bariera sânge creier -BBB, care previne intrarea agenților patogeni în sistemul nervos central. Fără ajutorul HSV-1, este posibil ca

virusul COVID-19 să nu poată provoca boli grave sau deces la om. Un tratament profilactic pentru HSV-1, ar putea fi vital în lupta împotriva COVID-19. Coronavirusul SARS-CoV-2 responsabil de apariția COVID-19 este un virus ARN cu catenă pozitivă, cu o omologie ridicată la coronavirusul liliac. Conform cercetărilor efectuate, unele proteine virale structurale și nestructurale se pot lega de porfirine. Virusuri precum Covid – 19 au capacitatea de a se lega de unele porfirine, precum hemul sau Sn-protoporfirina IX, acestea manifestând o activitate antivirală largă împotriva mai multor tipuri distincte de virusuri; de asemenea, Co-protoporfirina IX și Sn-protoporfirina IX inactivează Zika, Chikungunya afectează distructiv învelișul viral al acestora.

In brevetul US10934067B1, Sanitary covers for drink containers and method, se prezintă o acoperire sanitară care oferă o modalitate îmbunătățită de prevenire sau reducere a răspândirii bolilor infecțioase, cum ar fi COVID-19, gripa și / sau răceala obișnuită, prin contact indirect cu recipientele pentru băuturi. Capacul sanitar include un manșon din țesătură absorbantă flexibilă, care este impregnat cu un dezinfectant germicid lichid. Manșonul este dimensionat și modelat pentru a se potrivi pe și peste deschiderea de turnare a unui recipient pentru băuturi. Un set de învelitoare sanitare conectate este format dintr-un manșon tubular alungit al țesăturii flexibile absorbante impregnate cu un dezinfectant germicid lichid și împărțit în cele individuale ale învelitoarelor sanitare prin linie frangibilă și o cusătură formată în manșonul tubular alungit între fiecare pereche adiacentă de huse sanitare. Germicidul lichid cuprinde un amestec apos compus substanțial din izopropanol, alcool etanol, clorură de dodecil dimetil amoniu și clorură de alchil dimetil benzil amoniu în cantități eficiente pentru a distruge agenții patogeni virali și / sau bacterieni la contact, substanțele utilizate au dezavantajul că nu distrug virusurile. Invenția nu acoperă protecția obiectului ci se referă la un anumit mecanism utilizat pentru manevrarea unor recipiente.

In brevetul US10932505 B1, Enzyme-enhanced anti-viral fabrics, se prezintă țesături care încorporează enzime care inactivează agenții patogeni microbieni, în special particulele virale învelite, cum ar fi cele ale virusului gripal și Coronavirus, precum COVID-19. Țesăturile invenției pot fi utilizate la producerea diferitelor articole, inclusiv măști de protecție. Invenția se referă la țesături protective și nu se referă la un mod de protecție în utilizarea anumitor obiecte, suprafețe de lucru.

In brevetul RU2742116 (C1), Anti-coronavirus agent for COVID-19 combination therapy (SARS-COV-2), se dezvăluie utilizarea și rapoartele terapeutice a două

medicamente în terapia combinată COVID-19 (SARS-CoV-2). Unul dintre aceste medicamente include aprotinina. Celălalt include favipiravir, care este inhibitor al replicării SARS-CoV-2. Invenția oferă un efect sinergetic al două medicamente în tratamentul COVID-19 și poate reduce semnificativ durata tratamentului și riscul de efecte secundare adverse. Invenția se refră la anumite medicamente și nu se referă la măsuri de inactivare a virusurilor depuse pe obiecte.

In brevetul US2021038111 (A1), Method and System for Enhancing Resolution of Terahertz Imaging and Detection of Symptoms of COVID-19, se prezintă o nouă metodă și sistem pentru imagini THz cu rezoluție îmbunătățită, prin care o imagine THz cu rezoluție îmbunătățită este dezvoltată prin deconvoluția imaginii THz originale care este dezvoltată utilizând semnale THz care sunt manipulate în domeniul timpului și / sau în domeniul frecvenței funcția spread (PSF) care este dezvoltată conform unei ecuații în care semnalele THz menționate în domeniul timp și / sau domeniul frecvenței sunt parametri de intrare. Prin utilizarea acestei metode și sistem, imaginile THz cu rezoluție îmbunătățită sunt dezvoltate pentru detectarea urmelor de simptome ale COVID-19 la fel de mici ca o picătură de apă. Această nouă metodă și sistem pentru imagini THz cu rezoluție îmbunătățită este utilizată pentru dezvoltarea unui dispozitiv și metodă, care este: (a) rapidă, (b) economică, (c) capabilă să efectueze măsurători de la distanță, (d) neinvazivă. Acest dispozitiv și această metodă sunt capabile să detecteze simptomele COVID-19, cum ar fi curgerea nasului, congestia și tusea. Persoana examinată poate purta sau nu o mască de acoperire a feței. Acest dispozitiv și această metodă sunt capabile să efectueze examinarea de la distanță și fără a fi nevoie ca persoana să scoată masca. Invenția se referă la o testare prin imagini la expunerea la COVID-19 și nu la protejarea prin inactivare a obiectelor, suprafețelor infestate cu virusuri.

Marotti et al. in lucrarea intitulată *Photodynamic Therapy Can Be Effective as a Treatment for Herpes Simplex Labialis. Photomed Laser Surg 27(2): 357-363(2009)*, a demonstrat eficacitatea PDT asupra infecțiilor recurente cu Herpes Simplex pe buze. O soluție de albastru de metilen a fost plasată peste leziuni, iar după 5 minute, colorantul în exces a fost îndepărtat. Leziunile au fost iradiate cu un laser diodă cu o lungime a undelor de 660 nm. Pacienții nu au prezentat recurențe la 6 și 10 luni de urmărire. S-a demonstrat, de asemenea, că PDT este eficace ca terapie cu laser la nivel înalt pentru infecții cu HSV.

In lucrarea intitulată ***Treatment of herpes simplex labialis in macule and vesicle phases with photodynamic therapy. Report of two cases, Photodiagnosis Photodyn Ther***

12(2): 321-323 (2015) Ramalho et al. a propus, de asemenea, utilizarea albastrului de metil ca fotosensibilizator. Soluția albastru de metilen a fost aplicată local de către autori într-o concentrație de 0,005%. Cinci minute a fost considerat timp de pre-iradiere și un punct de iradiere a fost efectuat peste leziune folosind un laser cu lungime de undă 660 nm. Timpul de iradiere a fost de 2 min.

Kvacheva et al. în lucrarea intitulată *Photodynamic inhibition of infection caused by herpes simplex virus type 1 in the cultured cells, by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins. Vopr Virusol 50(4): 44-47(2005)* a raportat un studiu in vitro privind eficacitatea PDT asociat cu acidul 5-aminolevulinic. Inactivarea foto a virusului herpes simplex a fost evaluată după tratarea cu Rozbengal și fluoresceină ca fotosensibilizatori.

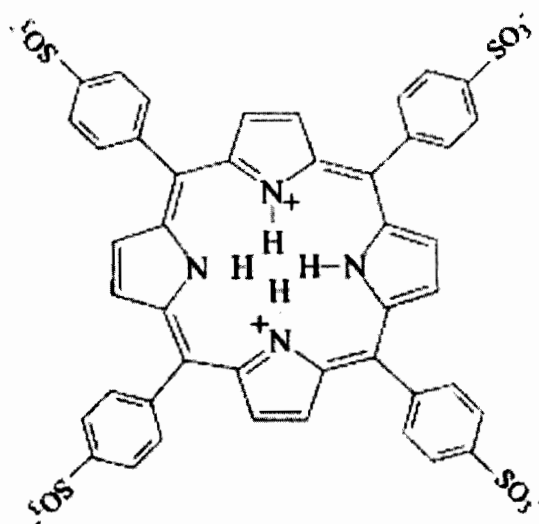
Chanh și colab., în lucrarea sa intitulată *"Inactivarea fotodinamică a virusului imunodeficienței simiene", J. of Virological Methods, Vol. 26, pp. 125-132 (1989)*, dezvăluie inactivarea fotodinamică a virusului imunodeficienței simiene SIV, prin utilizarea dihematoporfirinei eter, DHE, pentru a inactiva, in vitro, infecțiozitatea SIV. DHE a fost activat prin utilizarea unui fascicul laser. Autorii au postulat că acest tratament va reduce riscul de infecție cu virusuri încapsulate în timpul transfuziilor.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în inactivarea fotodinamică a virusurilor. Soluția acestei probleme constă în realizarea unui dispozitiv, dispozitiv care are la bază un hidrogel de concentrație 10-14% în volum de 35 - 65% raport la un volum de 65-35% de porfirina sulfonată dicationică de concentrație $1-3 \times 10^{-5}$ M înglobată în hidrogel, și care cuprinde: prepararea hidrogelului din alcool polivinilic PVA, adăugarea unei porfirine, sub forma de dication TSPPH_4^{2+} ca și fotosensibilizator pentru a obține un hidrogel PVA cu porfirina înglobată - dispozitiv medical și testarea acestei compoziții farmaceutice pentru inactivarea fotodinamică a virusului HSV-1 ca model pentru SARS-CoV-2 COVID-19.

TSPP este o porfirină deosebit de stabilă termic în medii atât acide cât și bazice, deși este distrusă de radiația ultravioletă îndelungată. Surprinzător, noi am observat că TSPP în forma ei dicationică poate fi utilizată la prepararea unui agent fotosensibilizator cu efecte fotodinamice anti-virale, prin transformarea acestei porfirine în forma ei dicationică, cu două sarcini pozitive, TSPPH_4^{2+} , și care în combinație cu iradierea cu radiație laser vizibilă de 635 nm conduce la distrugerea virusurilor. Inglobarea ei în hidrogel servește la menținerea ei stabilă timp îndelungat. Dispozitivul medical din prezenta invenție, acoperă suprafața

infectată care este apoi iradiată cu un laser cu lungime de undă 635 nm, densitatea puterii a laserului este 1-15mW/cm²; timpul de iradiere 10 - 20 de minute.

Prin iradierea zonei patologice, sub acțiunea radiației laser cu lungime de undă specifică, TSPPH₄²⁺ participă la transformarea oxigenului prezent în mediul biologic în specii reactive precum oxigenul singlet și radicali liberi, care produc moartea celulară. TSPP este o porfirină anionică cu o moleculă foarte mare în formă de disc, care posedă patru sarcini negative, grupurile sulfonate din cele patru colțuri; structura formei dicatice a TSPP are două sarcini pozitive și este formulată ca TSPPH₄²⁺ cu structura prezentată mai jos:



Structura TSPPH₄²⁺

În soluții apoase, la pH neutru, spectrul electronic de absorbție al TSPP este tipic pentru porfirine de bază liberă, simetrie D_{2h} și se caracterizează printr-o bandă Soret intensă la aproximativ 412 nm și patru benzi Q în intervalul 500-700 nm, spectru de tip aetio. Prin creșterea acidității, apar modificări complicate ale spectrului de absorbție pentru soluțiile apoase TSPP. Banda Soret este roșie deplasată la 435 nm, în timp ce benzile Q devin mai puțin intensive. Noile benzi apar la 710 nm și 490 nm. Intensitatea absorbției acestor benzi devine dominantă atunci când concentrația de TSPPH₄²⁺ depășește 10⁻⁵ M și sunt atribuite speciilor dicatice c > 2x10⁻⁵ M.

TSPP are o structură zwitterionică între sarcina dublă din macrociclu din interior, grupul dicationic central, și una dintre celelalte sarcini negative furnizate de grupurile sulfonice, în domeniul de concentrații 1 - 3 x 10⁻⁵ M, în care pot ajunge până la o formă J-

agregată fiind o dovadă a activității speciale eficiente a acestei porfirine, capacitate specială de a pătrunde mai eficient în membrana celulară. Pentru stabilitatea acestei forme un timp cât mai îndelungat, ea trebuie înglobată în vehicule polimerice, printre care hidrogelurile ocupă o poziție primordială.

Hidrogelurile sunt rețele polimerice tridimensionale, reticulate prin legături fizice sau chimice, având capacitatea de a absorbi și reține cantități importante de apă, fără a se dizolva. Alcoolul polivinilic, PVA, rezolvă aceasta problemă prin natura sa biocompatibilă, biodegradabilă, necancerigenă și non-imunogenică. PVA-ul este un polimer hidrofil netoxic. Hidrogelurile de PVA au încă un avantaj prin faptul că nu favorizează formarea de biofilm bacterian la suprafața lor, ceea ce reprezintă un avantaj major în utilizarea lor ca vehicule terapeutice transdermale și transmucosale.

PVA-ul, prin capacitatea sa de a forma hidrogeluri cu proprietăți de gonflare este adecvat pentru încărcarea medicamentelor hidrosolubile, dar și ale celor nehidrosolubile, dizolvate în solvenți organici. Hidrogelul reține medicamentul, umflându-se în soluția acestuia, iar apoi solventul poate fi eliminat din matricea hidrogelică printr-o metodă ecologică, prin extracție cu apă distilată.

Hidrogelurile trebuie să îndeplinească caracteristicile esențiale mecanice: elasticitate, rezistență la rupere, optice de transparență sau opacitate, porozitate și conținut de apă, biocompatibilitate. În acest scop, s-a ales ca metoda de sinteză metoda criogenică, prin cicluri de îngheț-dezghet, deoarece astfel se pot obține hidrogeluri biocompatibile, biodegradabile și netoxice, utile pentru aplicațiile medicale.

Pentru realizarea dispozitivului, în prealabil se obține :

1. agentul fotosensibilizator pe baza de TSPPH_4^{2+} , TSPP dication, astfel: se dizolvă o cantitate de TSPP pulbere în apa bidistilată pentru realizarea soluție stock de concentrație $1...3 \times 10^{-5}$ M, după care se adaugă în picătură o soluție 1N HCl, picurarea se desfășoară la o temperatură cuprinsă între 34,5.... 37,5 °C timp de 22...34 minute până la obținerea unei valori a pH-ului acid de 1-4 rezultând o soluție de culoare verde TSPPH_4^{2+} ;
2. se realizează sinteza hidrogelurilor pe bază de PVA sub formă de soluție de PVA cu grad de polimerizare 900 și grad de hidroliză 98% care se prepară prin dizolvarea alcoolului polivinilic sub formă de pulbere de culoare albă, în apă distilată, sub agitare continuă, la o temperatură de 87...93°C, timp de 2,5...3,7 ore, soluția de polimer se prepară astfel încât să aibă o concentrație de aproximativ 12% masic. Pentru sinteza acestor hidrogeluri s-a recurs la

turnarea soluției în vase Petri, avînd un diametru de 70 mm, cu o grosime de turnare de 1 mm. Soluția turnată astfel a fost supusă la 3 cicluri succesive de 12 ore îngheț la -20°C și de 12 ore dezgheț la temperatura camerei. Cele trei cicluri de îngheț-dezgheț conduc la realizarea unor membrane de culoare albă, opace de hidrogeluri de PVA. Hidrogelurile au fost condiționate în apă distilată la temperatura camerei până la atingerea echilibrului de gonflare. În etapa următoare s-a determinat conținutul în solide al hidrogelului prin uscarea unei probe de hidrogel în etuvă timp de 10 ore la 110°C , până la masă constantă.

După formarea membranelor de gel, acestea au fost prelevate din vasele Petri și introduse în apă distilată de spălare. Apa de spălare a fost schimbată o dată la 24 de ore, fiecare membrană fiind menținută în total timp de 5 zile în apă distilată.

3. pentru realizarea hidrogelurilor de PVA cu porfirina TSPPH_4^{2+} înglobată, porfirina dicationică hidrosolubilă TSPPH_4^{2+} a fost încărcată în hidrogelul de PVA prin imersia unei membrane de PVA 90-98 în 10 mL de soluție apoasă de TSPPH_4^{2+} 10^{-5} M, sub agitare, timp de 20...35 min, timp în care se atinge echilibrul de sorbție. Hidrogelul astfel realizat se păstrează în recipiente sau ambalaje care permit protecția la lumină, factori iradianți, până la utilizarea acestuia.

4 Fotoinactivarea virală pe suprafațe se realizează prin aplicare hidrogelurilor de PVA cu porfirina TSPPH_4^{2+} înglobată, se iradiază cu laser de mica putere 15 mW cu lungimi de unda de 635 nm, timp de 10...20 minute la o distanță de iradiere este de aprox. 5..10 cm. Procedul se repetă după 24 de ore pentru obținerea nivelului de contaminare dorit.

Metoda de activare conform invenției consta în aplicarea unui hidrogel cu agent fotosensibilizator pe suprafața contaminată, cu sau fără menținerea suprafeței la întuneric timp de 30 - 60 minute și iradierea suprafeței, de la o distanță de 5 - 10 cm, la radiații laser de mica putere 3-15 mW, cu lungimi de unda 635 nm timp de 10 - 20 minute; operațiile menționate pot fi eventual repetate până la obținerea unui nivel de contaminare dorit.

Avantajele pe care le oferă invenția constau în aceea că:

- TSPP în forma sa di-cationică, obținută la un pH 1-4, poate fi utilizată ca agent fotosensibilizator cu acțiune anti-virală în combinație cu iradierea cu radiație laser vizibilă (635 nm).
- De asemenea, agentul fotosensibilizator conform invenției prezintă o serie de avantaje cum ar fi accesibilitatea, lipsa de toxicitate și compatibilitatea biologică, precum și activitatea fotodinamică ridicată.

Conform acestei invenții, TSPPH_4^{2+} se formulează sub formă de hidrogel în concentrație 10-30 $\mu\text{g/g}$ gel.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- agentul fotosensibilizator este netoxic, nepoluant;
- agentul fotosensibilizator este ușor de preparat și nu este costisitor;
- agentul fotosensibilizator preparat sub forma de hidrogel devine mult mai stabil și penetrează mai ușor în țesut;
- agentul fotosensibilizator poate fi activat cu radiație optica din domeniul vizibil, care nu este nocivă;
- se obține un nivel de decontaminare a suprafețelor necesar, impus de standardele in vigoare prin reaplicarea procedurii.

Exemplu de realizare a invenției care are rolul de a ilustra invenția și nu de a o limita:

20 μg TSPP pulbere a fost dizolvată în 25 ml apă bidistilată realizandu-se o soluție stock de concentrație $1-3 \times 10^{-5}$ M, după care s-a adăugat în picătură 1-2 ml soluție 1N HCl, picurare la 37°C timp de 30 minute, până la obținerea pH-ului acid 1-4. Se obține o soluție de culoare verde TSPPH_4^{2+} .

Soluția de PVA cu grad de polimerizare 900 și grad de hidroliză 98% a fost preparată prin dizolvarea a 6 g alcool polivinilic sub formă de pulbere de culoare albă având dimensiunea particulelor de 350-500 μm , în apă distilată 75 ml, sub agitare continuă, la o temperatură de 90°C, timp de 3 h, într-o instalație de agitare. Soluția de polimer se prepară astfel încât să aibă o concentrație de aproximativ 12% masic. Soluția astfel obținută se toarnă în vase Petri, având o un diametru de 70 mm, la o grosime de turnare de 1 mm și se supun la 3 cicluri succesive de 12 ore îngheț la -20°C în congelator și de 12 ore dezgheț la temperatura camerei. Cele trei cicluri de îngheț-dezgheț au condus la obținerea unor membrane de culoare albă, opace de hidrogeluri de PVA. Hidrogelurile au fost lasate 2 ore în apă distilată la temperatura camerei până la atingerea echilibrului de gonflare. Fiecare proba de hidrogel este menținută timp de 5 zile în apă distilată.

Hidrogelul astfel obtinut se introduce într-un vas în care se găsește soluția verde de TSPPH_4^{2+} , și sub agitare timp de 30 min, timp în care este atins echilibrul de sorbție, are loc înglobarea porfirinei cationice în hidrogel, obținându-se astfel hidrogelul de PVA cu porfirina TSPPH_4^{2+} . Produsul astfel obținut se scoate din soluție și se păstrează în vase ermetice, de culoare brună până la utilizare.

Mod de utilizare, un hidrogel de PVA cu TSPPH₄²⁺ înglobat, se aplica pe suprafața contaminată cu celule virale HSV-1 și se lasă la întuneric timp de 30 minute. Se expune apoi suprafața contaminată, timp de 10 minute, la radiația laser de mică putere de 15 mW și doză de 18 J / cm² cu lungimea de undă de 635 nm. Distanța de iradiere este de aprox. 5 cm.

Eficiența de inactivare fotodinamică a virusurilor în funcție de timp la intensitate constantă a luminii exprimată prin rata de supraviețuire reprezentată în funcție de timp a relevat ca TSPPH₄²⁺ cu concentrația de $1,377 \times 10^{-5}$ M este cea mai eficientă în procesul de inactivare a HSV-1, scăderea ratei de supraviețuire a HSV-1 fiind 75% după 120 ore.

**DISPOZITIV MEDICAL PENTRU INACTIVAREA
FOTODINAMICĂ ANTI-VIRALĂ HSV-1 / SARS-COV-2 / COVID-19 DE PE
SUPRAFEȚE, PROCEDEU DE REALIZARE ȘI DE UTILIZARE AL ACESTUIA**

Revendicări

1. Dispozitiv medical pentru inactivarea fotodinamică anti-virală HSV-1 / SARS-COV-2 / COVID-19 de pe suprafețe **caracterizat prin aceea că** este constituit din hidrogel PVA cu grad de polimerizare 900 și grad de hidroliză 98% de concentrație 10-14% în volum de 35 - 65% raportat la un volum de 65-35% de porfirina sulfonată dicationică TSPPH₄²⁺ de concentrație $1-3 \times 10^{-5}$ M înglobată în hidrogel și un laser de mică putere de 15 mW.
2. Procedeu de realizare a dispozitivului medical pentru inactivarea fotodinamică anti-virală HSV-1 / SARS-COV-2 / COVID-19 de pe suprafețe, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** hidrogelurile de PVA cu porfirina TSPPH₄²⁺ înglobată se obține prin imersia unui hidrogel de PVA 90-98 în soluție apoasă de TSPPH₄²⁺ 10^{-5} M, sub agitare, timp de 20...35 min, timp în care se atinge echilibrul de sorbție, hidrogelul astfel realizat, cu stabilitate ridicată în timp, se păstrează în recipiente sau ambalaje care permit protecția la lumină, factori iradianți, până la utilizarea acestuia.
3. Procedeu de utilizare a dispozitivului medical pentru inactivarea fotodinamică anti-virală HSV-1 / SARS-COV-2 / COVID-19 de pe suprafețe, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** se aplică pe suprafața contaminată cu celule virale HSV-1 și se lasă la întuneric timp de 30 minute, se expune apoi suprafața contaminată, timp de 10 minute, la radiația laser de mică putere de 15 mW și doză de $18 \text{ J} / \text{cm}^2$ cu lungimea de unda de 635 nm, la o distanță de iradiere este de aprox. 5 cm, rezultând distrugerea virusurilor.