



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA (11) 97316 (13) C2
(51) МПК (2011.01)
C01B 31/00

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ C₆₀ ФУЛЕРЕНІВ ДЛЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ІНАКТИВАЦІЇ ІРИДОВІРУСІВ КОМАРІВ

1

(21) a201011130

(22) 16.09.2010

(24) 25.01.2012

(46) 25.01.2012, Бюл.№ 2, 2012 р.

(72) РУДЬ ЮРІЙ ПЕТРОВИЧ, ПРИЛУЦЬКА СВІТЛАНА ВОЛОДИМИРІВНА, БУЧАЦЬКИЙ ЛЕОНІД ПЕТРОВИЧ, ПРИЛУЦЬКИЙ ЮРІЙ ІВАНОВИЧ

(73) КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

(56) S.V. Prylutska et al. Study of C60 fullerenes and C60-containing composites cytotoxicity in vitro // Mater.Sci.& Engineer. C, 2007, V. 27, N 5-8, P. 1121-1124

2

Susanna Bosi et al. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications // European Journal of Medicinal Chemistry. - November-December 2003, V. 38, Is. 11-12, P. 913-923

V. V. Zarubaev et al. Photodynamic inactivation of influenza virus with fullerene C60 suspension in allantoic fluid // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. - March 2007, V. 4, Issue 1, P. 31-35

RU 2291700 C2, 20.01.2007

US 586316 A, 02.02.1999

(57) Застосування немодифікованих C₆₀ фулеренів як високоефективних агентів для фотодинамічної інактивації іридовірусів комарів.

Винахід, що заявляється, належить до галузі експериментальної медицини та ветеринарії і стосується засобів противірусного захисту, і може використовуватися для фотодинамічної інактивації іридовірусів комарів немодифікованими C₆₀ фулеренами.

Відомо, що водорозчинні немодифіковані C₆₀ фулерени є нетоксичними сполуками, за низьких (фізіологічних) концентрацій [1], які інтенсивно поглинають світло в УФ та ближній видимій ділянках спектра [2]. Під дією світла C₆₀ фулерени активуються, зокрема генерують активні форми кисню (АФК) (зокрема супероксидні радикал-аніони, перекис водню, синглетний кисень і гідроксильні радикали), які у свою чергу викликають деструкцію біологічних макромолекул [3-4]. Ця здатність модифікованих C₆₀ фулеренів, розчинених в алантоїсній рідині, та вискодиспергованої суспензії C₆₀ фулеренів у буферному розчині, була використана для цілеспрямованого знешкодження вірусу грипу [5] та фотодинамічної інактивації SVF та вірусу везикулярного стоматиту [6].

Новизна винаходу полягає у тому, що тут вперше пропонується використати немодифіковані (нетоксичні водорозчинні) C₆₀ фулерени для фотодинамічної інактивації іридовірусів комарів, які широко розповсюджені у природних водоймах України і є регуляторами їх чисельності. Іншими словами, пропонується технологія контрольованого генерування у вірусовмісному матеріалі значної

кількості АФК за допомогою фотозбуджених немодифікованих фулеренів, що призводить до окисного стресу та деструкції віріонів.

Приклад

Противірусну дію C₆₀ фулеренів визначали шляхом фотодинамічної інактивації іридовірусу комара, виділеного з природних водойм Київської області від личинок кровосисних комарів *Ae. flavescens*.

Для фотодинамічної інактивації іридовірусу комара використовували лампу потужністю 1 кВт. До вірусного препарату з концентрацією білку 170 мкг/мл додавали водний розчин C₆₀ фулеренів у концентрації 1,4 мг/мл. Фотодинамічну інактивацію іридовірусу комара проводили при довжині хвилі 400-850 нм. Між джерелом світла та вірусною суспензією розміщали скляний світлофільтр. Час експозиції становив 2,5, 10, 30 та 60 хв. Як контроль використовували вірусну суспензію без фулеренів та вірусну суспензію з фулеренами, але без фотодинамічної інактивації вірусу.

Після експозиції з дослідного та контрольного зразків робили 10-кратні розведення в стерильній дистильованій воді в інтервалі 10⁻¹-10⁻². Матеріалом з кожного розведення інфікували личинки *Galleria mellonella*. Інфіковані личинки інкубували при температурі 20 °С. Через 14 днів визначали наявність вірусу в кожній личинці методами блакитних осадів та електронної мікроскопії. За титр вірусу приймали те кінцеве розведення, при якому

(13) C2

(11) 97316

(19) UA

в 50 % личинок виявляли вірус. Титр вірусу обчислювали за загальноприйнятою методикою [7].

На крес. представлено інфекційний титр іридовірусу комара *Ae. flavescens* як функцію часу експозиції досліджуваного препарату. Як видно, фотодинамічна інактивація іридовірусу комара C_{60} фулеренами упродовж 2.5 хв. призводила до зниження інфекційного титру вірусу на $2.2 \lg ID_{50}/мл$. Порівняно з контролем під час експозиції тривалістю 10 та 30 хв. інфекційний титр вірусу знижувався на 2.93 та 3.88 $\lg ID_{50}/мл$, відповідно. Зазначимо, що показники інфекційного титру іридовірусу комара після фотодинамічної інактивації упродовж 60 хв. не відрізнялись суттєво від показників фотодинамічної інактивації тривалістю 30 хв. Інфекційний титр іридовірусу комара *Ae. flavescens* після фотодинамічної інактивації упродовж 60 хв. складав $7.15 \lg ID_{50}/мл$.

У контролі інфекційний титр іридовірусу комара не змінювався упродовж дослідів і становив $11.2 \lg ID_{50}/мл$. Присутність C_{60} фулеренів у вірусній суспензії, але без фотодинамічної інактивації, так само як і дія світла на вірусну суспензію без C_{60} фулеренів, взагалі не впливали на інфекційний титр іридовірусу комара.

Таким чином, C_{60} фулерени, взаємодіючи з віріонами іридовірусу комара *Ae. flavescens*, знижують інфекційний титр цього вірусу при його фото-

динамічній інактивації упродовж 30 хв. на величину $\sim 4 \lg ID_{50}/мл$, тобто у – 10000 разів на одиницю об'єму.

Джерела інформації:

1. S.V. Prylutska, O.P. Matyshevska, A.A. Golub, Yu.I. Prylutsky, G.P. Potebnya, U. Ritter, P. Scharff. *Mater.Sci.& Engineer. C*, 2007, 27, 1121.
2. P. Scharff, K. Risch, L. Carta-Abelmann, I.M. Dmytruk, M.M. Bilyi, O.A. Golub, A.V. Khavryuchenko, E.V. Buzaneva, V.L. Aksenov, M.V. Avdeev, Yu.I. Prylutsky, S.S. Durov, *Carbon*, 2004, 42, 1203.
3. S. Bosi, T. Da Ros, G. Spalluto, M. Prato, *Eur. J. Med. Chem*, 2003, 38, 913.
4. S.V. Prylutska, I.I. Grynyuk, O.P. Matyshevska, A.A. Golub, A.P. Burlaka, Yu.I. Prylutsky, U. Ritter, P. Scharff. Chapter 6. In "Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes". Series: Carbon Materials: Chemistry and Physics, Vol. 1, Springer Netherlands, 2008, P. 123-137.
5. V.V. Zarubaev, I.M. Belousova, O.I. Kiselev, L.B. Piotrovsky, P.M. Anfimov, T.C. Krisko, T.D. Muraviova, V.V. Rylkov, A.M. Starodubzev, A.C. Sirotkin, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2007, 4,31.
6. Патент US 5866316 A, 20.01.2007.
7. Reed L., Muench H, *Am. J. Hy*, 1938, 27, 493.

