

## МИКРОБИЦИДЫ С АНТИ-ВИЧ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ АДДУКТОВ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКЛАСТЕРОВ

© 2011 г. А.В. Гилязова\*, \*\*, Г.В. Корнилаева\*\*, А.Н. Пономарев\*\*\*,  
В.А. Черешнев\*\*\*\*, Э.В. Карамов\*, \*\*

\*ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

\*\*ФГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития РФ, Москва, Россия;

\*\*\*НТЦ «Прикладных нанотехнологий», Санкт-Петербург, Россия;

\*\*\*\*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

В рамках данной работы мы провели исследование водорастворимых аддуктов нанокластеров углерода (АНКУ), торговое наименование «Углерон», активных в отношении штаммов ВИЧ-1, для разработки анти-ВИЧ микробицидов.

Все исследованные водорастворимые аддукты углеродных нанокластеров, различающиеся по способу получения (эталон, №2, №5, №6, АНКУ и раствор АНКУ ВТП), являются мало-токсичными для клеток СЕМ SS: 50%-ная токсическая доза не была достигнута. Изучение антивирусной активности показало, что водорастворимые аддукты углеродных нанокластеров обладают невысокой ингибирующей активностью в отношении ВИЧ-инфекции *in vitro*. 50% эффективная доза (ED50) этой группы препаратов находится в пределах 21,4–27,5 мкг/мл. Был обнаружен значительный вирулицидный эффект: все образцы способны инактивировать вирус, предотвращая заражение клеток-мишеней.

Микробициды – иммунобиологические препараты, гелевые или мазевые композиции, содержащие активные составляющие, способные предотвращать половую передачу ВИЧ и других (или сопутствующих) инфекций, передающихся половым путем (таких, как гонорея, хламидиозы, генитальный герпес).

В рамках данной работы мы провели исследование водорастворимых аддуктов нанокластеров углерода (АНКУ), активных в отношении штаммов ВИЧ-1, для разработки микробицидов.

### *Клетки*

Была использована Т-лимфобластоидная линия CD4+ клеток СЕМ-SS [1], полученная из коллекции Национального Института Здоровья (НИН, США). Данная линия представляет собой перевиваемую суспензионную клеточную культуру. Клетки культивировали при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>, в ростовой среде RPMI1640 (Sigma, США) с 10% фетальной телячьей сыворотки (Sigma, США), 2 мМ глутамина (Sigma, США), 100 мкг/мл гентамицина (KRKA, Словения).

### *Вирусы*

В работе использовали штамм HIV-1BRU – референс-штамм, активно реплицирующийся в Т-лимфобластоидных клеточных линиях.

### *Оценка цитотоксичности соединений*

Цитотоксическое действие тестируемых препаратов оценивали, сравнивая жизнеспособность клеток в присутствии различных доз соединений с жизнеспособностью клеток без соединения. Жизнеспособность клеток определяли подсчетом живых клеток в камере Горяева после окраски витальным красителем трипановым синим.

### *Оценка антивирусной активности*

Клетки, чувствительные к ВИЧ, в течение 2 часов инкубировали при 37 °С с различными концентрациями соединений и затем заражали вирусом с множественностью заражения

100TCID50. После 24-часовой инкубации клеток с вирусом в присутствии препаратов ростовую среду заменяли на свежую.

#### *Исследование вирулицидного действия соединений*

Изучение вирулицидного действия препарата проводили следующим образом: к вирусосодержащему стоку добавляли сухие навески или раствор препарата, создавая определенные концентрации. Затем инкубировали 20 – 30 мин при комнатной температуре, встряхивая на вортексе. Смесь центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин, осаждая агрегаты частиц. Полученный супернатант использовали для заражения клеток, чувствительных к ВИЧ.

#### *РЕЗУЛЬТАТЫ*

Аддукты нанокластеров углерода (АНКУ) представляют собой новые соединения углерода, обладающие высокой растворимостью в полярных растворителях, в т.ч. и воде.

При этом наименьшей токсичностью обладала легкая фракция АНКУ (раствор АНКУ ВТП).

Для изучения антивирусных свойств препаратов клетки СЕМ SS заражали штаммом ВИЧ-1BRU с множественностью инфекции 100 TCID50 и культивировали в присутствии различных концентраций препаратов.

Изучение вирулицидного действия углеродных нанокластеров проводили, добавляя препараты к вирусному стоку.

Наиболее эффективным препаратом является легкая фракция АНКУ (раствор АНКУ ВТП): при добавлении 0,75 мг/мл препарата уровень инфекции снижается до 0%, а при добавлении 0,2 мг/мл – снижается на 98,5%.

Таким образом, для вирулицидного действия ED50 для легкой фракции АНКУ (раствор АНКУ ВТП) составила < 0,2 мг/мл, а для остальных образцов < 1 мг/мл.

В наши задачи входило исследование аддуктов нанокластеров углерода (АНКУ). АНКУ представляет собой новое углеродное соединение, обладающее высокой растворимостью в полярных растворителях, в том числе в воде. Данный препарат относится к группе фуллероидов – гигантских каркасных однослойных, либо многослойных молекул, составленных из сочетания углеродных гексагонов и пентагонов.

Результаты наших исследований показали низкую токсичность тестируемых препаратов (50% цитотоксическая доза не была достигнута), наличие незначительной анти-ВИЧ активности (ED50 составила от 21,4 до 27,6 мкг/мл для разных препаратов), а также вирулицидный эффект, особенно выраженный у раствора АНКУ ВТП (легкая фракция АНКУ) (ED50 < 0,2 мг/мл). Таким образом, АНКУ являются перспективными для дальнейших исследований с использованием других моделей, с целью создания микробицидов с анти-ВИЧ действием.