

## АНТИАДЕНОВІРУСНА АКТИВНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ ТИТАНУ

**Ю.Б. Паньківська<sup>1</sup>, Л.О. Білявська<sup>1</sup>, О.Ю. Повниця<sup>1</sup>, М.М. Загорний<sup>2</sup>,  
А.В. Рагуля<sup>2</sup>, М.С. Харчук<sup>1</sup>, С.Д. Загородня<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

<sup>2</sup>Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М.Францевича НАН України,  
вул. Кржижановського, 3, Київ, 03142, Україна  
e-mail:svetazagorodnya@ukr.net

Пошук безпечних для людини та навколишнього середовища речовин та способів інактивації збудників хвороб є одним з пріоритетних напрямків наукових досліджень. Зокрема, відомі властивості діоксиду титану продукувати активні оксигенвмісні радикали під дією УФ випромінювання, які можуть пошкоджувати такі біологічні молекули патогенів як білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти, роблять його перспективним агентом для розробки препаратів з віруліцидними та антивірусними властивостями. **Мета роботи.** Дослідження інактивуючої дії наночастинок діоксиду титану відносно аденовірусу 5 серотипу *in vitro*. **Методи.** Дослідження пористої структури наночастинок проводили адсорбційно-структурним динамічним та статичним об'ємним методом. Структуру досліджуваних зразків визначали за допомогою електронного мікроскопа JEM-1400 (JEOL, Японія). Цитотоксичну, віруліцидну та антиаденовірусну дію наночастинок визначали в культурі клітин MDBK із застосуванням МТТ-тесту. **Результати.** У результаті проведених досліджень антиаденовірусної дії наночастинок діоксиду титану встановлено, що наночастинок зразка (I) з частинками розміром 8 – 15 нм проявили більшу активність після короткого часу інкубації (5хв) з аденовірусом 5 серотипу, при цьому наночастинок зразка (II) розміром 20 – 30 нм проявили інгібуючий вплив після 15хв інкубації. Антивірусна активність наночастинок TiO<sub>2</sub>(II) відносно аденовірусу людини 5 серотипу була в межах 45 – 95 %. Використання комерційного нанопорошку TiO<sub>2</sub> P25 виробництва Evonik Industries AG (Німеччина) як контролю виявилось неефективним, оскільки в досліджуваній модельній системі антивірусна активність відсутня. Найефективніше підсилення віруліцидної дії TiO<sub>2</sub> (II) відбувалось при концентрації наночастинок 10 мкг/мл та становило близько 30 %. **Висновки.** У результаті проведених досліджень встановлено, що наночастинок діоксиду титану мають віруліцидну та антивірусну дію відносно аденовірусу 5 серотипу.

*Ключові слова:* аденовірус, наночастинок, діоксид титану, віруліцидна дія, антивірусна дія.

Створення матеріалів з новими властивостями та характеристиками на сьогоднішній день безсумнівно пов'язано з отриманням наночастинок. З появою нанотехнологій виникають нові галузі – наноінженерія, наноелектроніка, нанохімія. Практичні розробки вже застосовано в різноманітних сферах – електроніці, інформаційних технологіях, медицині, фармакології, фармацевції, сільському господарстві, медичних технологіях, молекулярній біології, тощо. Дане явище стало можливим завдяки розробці цілого ряду нових методів, які дозволяють синтезувати структури з властивостями, що регулюються на атомно-молекулярному рівні [1].

Нанопорошки металів та їх оксидів займають важливе місце у розробці сполук з противірусними властивостями. Особливо перспективними є такі оксиди металів, як ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, а також металів Ag, Au, оскільки в багатьох дослідженнях було показано їх виражену бактерицидну, фунгіцидну та віруліцидну дію [2 – 5]. Зокрема, була показана антивірусна активність наночастинок діоксиду титану щодо вірусу гепатиту В, норовірусу та вірусу грипу [5 – 7] при ультрафіолетовому опроміненні (УФ).

Під дією УФ випромінювання діоксид титану продукує активні оксигенвмісні радикали, які можуть пошкоджувати біологічні молекули патогенів такі, як білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти. Тому пошук безпечних для людини та навколишнього середовища речовин та способів інактивації небезпечних збудників хвороб є одним з найважливіших напрямків дослідження. При УФ-опроміненні можливий вихід зарядів на поверхню каталізатора. Глибина проникнення ультрафіолету в частинки TiO<sub>2</sub> обмежена (~100 нм), відповідно тільки її зовнішня поверхня є активною. В наночастинках TiO<sub>2</sub> час виходу електрону на поверхню не перевищує 10 пкс, тоді як порошки напівпровідників мікронного розміру, в тому числі і діоксиду титану, характеризуються величиною близько 100 нс, завдяки чому поділ фотогенерованих зарядів в нано-TiO<sub>2</sub> проходить досить ефективно. Вони досягають поверхні і далі витрачаються в процесах УФ-опромінення [8]. Зменшення розміру частинок до нанорозмірних значень сприяє поглинанню світла всім їх об'ємом, що сприяє підвищенню антивірусної активності TiO<sub>2</sub> [9].

На сьогодні робоча група аденовірусів людини (Human Adenovirus Working Group) повідомляє про наявність 90 типів аденовірусів людини, розподілених у сім груп (A-G) [10]. Аденовірусні інфекції протягом останніх років продемонстрували стійке розповсюдження захворювань, обумовлених ними. Зокрема, високий ризик розвитку даної інфекції має місце у реципієнтів після пересадки стовбурових клітин, у осіб з імунodefіцитами, особливо у тих, що приймають імуносупресивну терапію після трансплантації органів або у ВІЛ-інфікованих [11, 12]. Аденовіруси, для яких також характерний аліментарний шлях передачі інфекції, здатні вражати популяцію людей через безпосередній контакт з водою: вони були виявлені в різних водоймах світу, включаючи стічні води, води річок, питну воду, океан і басейни [13]. У контексті відсутності специфічного препарату для лікування аденовірусних інфекцій підтримується пошук нових терапевтичних альтернатив.

При вивченні механізму інактивації аденовірусу важливу роль відіграє кінетика процесу УФ-опромінення системи з TiO<sub>2</sub>. Необхідно зрозуміти хімічну будову активних рецепторів, що атакуються гідроксильними радикалами під час опромінення системи з TiO<sub>2</sub>. Розкриття механізмів антивірусної дії TiO<sub>2</sub> та визначення оптимальної дози УФ-опромінення для активації фотокаталітичних процесів дозволить застосувати їх для розробки засобів очистки від вірусів у повітряному і водному середовищах.

Метою роботи було дослідження інактивуєчої дії наночастинок діоксиду титану відносно аденовірусу 5 серотипу *in vitro*.

**Матеріали і методи.** У роботі використовували перещеплювані культури клітин: MDBK – нирки бика та Нер-2 – карциноми гортані людини, отримані з Банку клітин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ, Україна). Для культивування клітин використовували ростове середовище, що складалося з 45 % DMEM (Sigma, США), 45 % RPMI 1640 (Sigma, США) та 10 % інактивованої прогріванням сироватки ембріона великої рогатої худоби (Sigma, США) і антибіотиків – пеніциліну (100 мкг/мл), стрептоміцину (100 мкг/мл). Культивування клітин здійснювали згідно зі стандартною методикою [14]. У роботі було використано еталонний штам аденовірусу людини 5 серотипу із колекції Інституту мікробіології Будапештського медичного університету (Будапешт, Угорщина). Вірус накопичували та титрували на культурі клітин Нер-2, зберігали за температури  $-20^{\circ}\text{C}$ . Титр вірусу визначали за кінцевою точкою розведення вірусу, при якому реєструється 50 % ЦПД (цитопатична дія). Використовуючи функцію прогнозування програми Microsoft Excel, вираховували титр вірусу.

*Досліджувані сполуки.* Нанопорошки діоксиду титану  $\text{TiO}_2$ -I та  $\text{TiO}_2$ -II з розміром частинок і питомою поверхнею 8 – 15 нм і  $57,3\text{ м}^2/\text{г}$ , та 20 – 30 нм і  $50\text{ м}^2/\text{г}$  відповідно, а також комерційний зразок діоксиду титану  $\text{TiO}_2$ -P25 виробництва Evonik Industries AG (Німеччина) з питомою поверхнею  $52\text{ м}^2/\text{г}$ . У роботі використовували 0,1 % водні суспензії наночастинок  $\text{TiO}_2$ . Вихідні суспензії з наночастинками  $\text{TiO}_2$  готували за допомогою гомогенізатора ULAB 2200 (Німеччина).

Структуру досліджуваних зразків визначали за допомогою електронного мікроскопа JEM-1400 (JEOL, Японія) при інструментальному збільшенні від 2000 до 100000 та прискорюючій напрузі 80 кВ.

При дослідженні впливу УФ на віруліцидну активність діоксиду титану застосовували бактерицидну лампу МЕДИКОР Q-139 з рівнем опромінення  $22,3 \pm 0,2\text{ Вт}/\text{м}^2$ .

Цитотоксичність наночастинок визначали у культурі клітин MDBK, використовуючи МТТ-тест за стандартною методикою [15]. Оптичну густину зразків реєстрували спектрофотометрично на приладі Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при довжині хвилі 540 нм.

Для встановлення віруліцидної дії (вплив на позаклітинний вірус) наночастинок використовували чутливу до аденовірусу людини 5 серотипу культуру клітин нирок бика (MDBK). Дослідження проводили за класичною схемою, а саме: змішували у рівних об'ємах аденовірус та суспензію наночастинок  $\text{TiO}_2$ , суміш витримували протягом 5, 15 та 30 хв у термостаті при  $37^{\circ}\text{C}$  та інфікували нею клітини MDBK.

Для встановлення антивірусної дії наночастинок клітини після 24 годин росту та утворення моношару у 96-лунковому планшеті інфікували вірусом. Адсорбцію вірусу проводили при кімнатній температурі протягом 1,5 години при 5 %  $\text{CO}_2$ . Потім клітини відмивали від неадсорбованого вірусу розчином Хенкса (Біотестмед, Україна) та додавали 10-кратні розведення наночастинок (по 200 мкл/лунку). Для приготування розведень наночастинок використовували підтримуюче середовище, що складалося з 50% DMEM (Sigma, США) та 50 % RPMI 1640 (Sigma, США), без додавання ембріональної сироватки. У контрольних лунках середовище замінювали на свіже без додавання наночастинок.

Віруліцидну та антивірусну дію зразків оцінювали за пригніченням розвитку ЦПД вірусу в культурі клітин MDBK, застосовуючи МТТ-тест [16, 17]. Оптичну щільність зразків визначали за допомогою приладу Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при довжині хвилі 540 нм. Відсоток пригнічення розвитку ЦПД аденовірусу вираховували за формулою, наведеною нижче:

$$A = (a - b) / (c - b) * 100,$$

де А – відсоток пригнічення розвитку ЦПД вірусу, а – оптична щільність лунки з дослідним зразком, b – оптична щільність лунки контролю вірусу, c – оптична щільність лунки контролю клітин.

Дослідження проводили у 3-х повторах та 3-х незалежних експериментах. Статистична обробка даних була виконана згідно стандартних підходів до обчислення статистичних помилок (середнє значення, стандартне відхилення). Для обробки результатів дослідження використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel 2010.

**Результати.** Проведено аналіз структури нанопорошків  $TiO_2$  з використанням електронної трансмісійної мікроскопії (JEOL JEM1400). На рисунку 1 наведено електронно-мікроскопічне зображення наночастинок  $TiO_2$ -I (А) та  $TiO_2$ -II (Б). Порошок  $TiO_2$ -I містить м'які агрегати, розміром від 50 нм до 500 нм. Частинки практично монодисперсні, їх розмір ~10 нм. Встановлено, що порошок  $TiO_2$ -II нанорозмірний, неоднорідний, присутня велика кількість агломератів. Частинки сфероподібної форми. В якості порівняльного агента був застосований комерційний зразок діоксиду титану, а саме  $TiO_2$ -P25 виробництва Evonik Industries AG (Німеччина). Його електронно-мікроскопічне зображення представлено на рисунку 1 (В). Частинки  $TiO_2$ -P25 (В) більш квадратичні, розміром 20 – 25 нм.

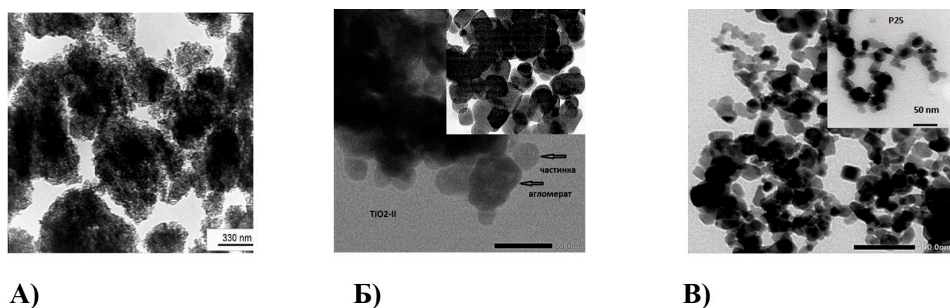


Рис. 1. Електронно-мікроскопічне зображення частинок вихідного порошку  $TiO_2$ -I (А),  $TiO_2$ -II (Б) та комерційного зразка  $TiO_2$ -P25 (В)

Показано, що нанопорошки мають мезопористу порову будову з деякими відмінностями за об'ємом і площею мезопор (Таблиця 1). Мезопорові матеріали можуть бути використані як сорбенти та носії для каталізаторів (мезопори – пори від 2 до 50 нм).

Характеристики пористої структури синтезованого і комерційного зразків  $TiO_2$  корелюють між собою за методами розрахунку пор ВЕТ і ВЖН. Для зразка  $TiO_2$ -II характерно зменшення  $V_p$ ,  $D_{sp}$ , що може бути пов'язано з будовою частинок, наявністю агломератів (рис.1).

Таблиця 1

Характеристики пористості порошків  $\text{TiO}_2$ 

№	Порошок	$V, \text{cm}^3/\text{г}$	BET		ВН		
			$S_{\text{BET}}, \text{M}^2/\text{г}$	$D_{\text{cp}}, \text{нм}$	$V_{\text{mez}}, \text{cm}^3/\text{г}$	$S_{\text{mez}}, \text{M}^2/\text{г}$	$D_{\text{cp}}, \text{нм}$
1	$\text{TiO}_2\text{-I}$	0,19	57,3	13,3	0,23	69,1	13,5
2	$\text{TiO}_2\text{-II}$	0,08	50,0	6,0	0,09	58,6	4,8
3	$\text{TiO}_2\text{-P25}$	0,12	51,9	12,5	0,16	51,3	12,8

Примітки:  $V$  – сумарний об'єм пор; BET – метод розрахунку пор за теорією Brunauer-Emmett-Teller; ВН – метод розрахунку пор за теорією Barrett-Joyner-Halenda;  $S_{\text{BET}}$  – площа поверхні;  $D_{\text{cp}}$  – середній діаметр пор;  $V_{\text{mez}}$  – об'єм мезопор;  $S_{\text{mez}}$  – площа мезопор.

При визначенні цитотоксичної дії дослідних зразків наночастинок встановлено, що жодна з досліджуваних концентрацій (від 0,01 нг/мл до 10 мкг/мл) не була токсичною для клітин MDBK (дані не наводимо).

При дослідженні віруліцидної та антивірусної дії наночастинок після 3-х діб культивування (з появою вираженої ЦПД вірусу у контролі) визначали відсоток пригнічення репродукції аденовірусу. При цьому співвідношення оптичної щільності контрольних клітин до інфікованих було  $\geq 3$ . На рис. 2 представлені результати дослідження впливу наночастинок діоксиду титану на позаклітинний вірус (віруліцидна дія), що виражена у відсотках інгібування аденовірусу при дії різних концентрацій наночастинок та часу експозиції в порівнянні з контролями. Проаналізувавши отримані результати, можна зробити наступні висновки: по-перше, для концентрованого розчину зразків  $\text{TiO}_2\text{-I}$  та  $\text{TiO}_2\text{-II}$  (10 мкг/мл) було показано зменшення віруліцидної активності зі збільшенням часу інкубації; по-друге, виявлено, що найбільшу активність наночастинок виявляють саме у менших концентраціях (0,1 – 0,01 мкг/мл). Для зразка  $\text{TiO}_2\text{-I}$  показане суттєве пригнічення репродукції вірусу (на 49 %) після 5 хв інкубації при концентрації наночастинок 0,1 мкг/мл. Проте найбільшу віруліцидну дію (63 %) спостерігали при концентрації наночастинок  $\text{TiO}_2\text{-II}$  0,01 мкг/мл після 15 хв інкубації з аденовірусом.

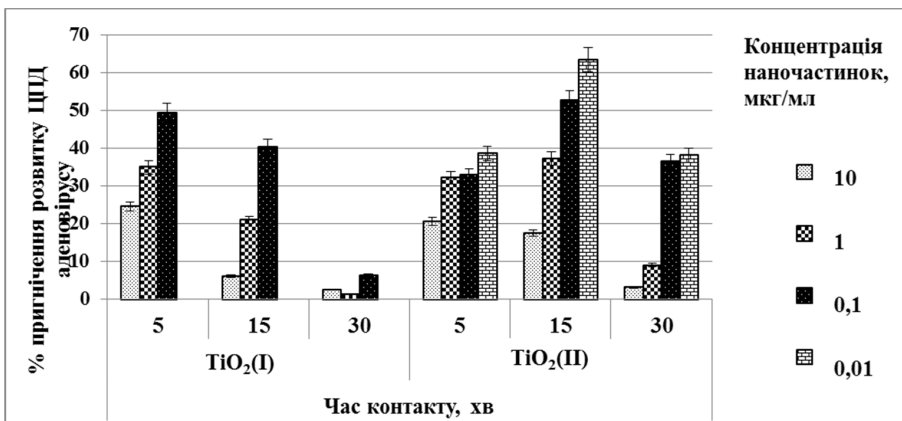


Рис. 2. Віруліцидна дія наночастинок  $\text{TiO}_2\text{(I)}$  та  $\text{TiO}_2\text{(II)}$  проти аденовірусу людини 5 серотипу

Отже, наночастинки  $\text{TiO}_2$ -II розміром 20 – 30 нм проявили значну віруліцидну дію після 15 хв контакту з вірусом. Натомість наночастинки зразка  $\text{TiO}_2$ -I з розміром 8 – 15 нм були значно активнішими після коротшого часу інкубації (5 хв).

З літературних даних відомо, що діоксид титану має фотокаталітичні властивості [18 – 20]. Результати, одержані при дослідженні фотокаталітичних властивостей препарату наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II, свідчать про підсилення віруліцидної дії за 5 хв УФ-опромінення (Рис. 3). Найвище значення інгібування вірусу (30 %) спостерігали при концентрації наночастинок 10 мкг/мл.

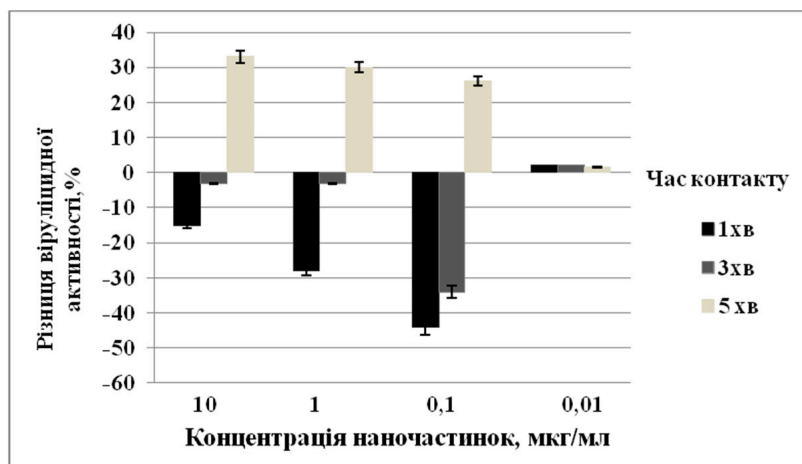


Рис. 3. Вплив УФ на віруліцидну дію наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II відносно аденовірусу 5 серотипу

При дослідженні фотокаталітичних властивостей  $\text{TiO}_2$ -P25 виробництва Evonik Industries AG (Німеччина) встановлено, що за даних умов (темрява та УФ) та часу опромінення зразок не має віруліцидної активності по відношенню до аденовірусу 5 серотипу порівняно зі зразком  $\text{TiO}_2$ -II (Рис. 4). Це пояснюється пористою структурою і морфологією наночастинок  $\text{TiO}_2$ -P25.

Після встановлення наявності віруліцидної активності (як без УФ опромінення, так і з його застосуванням) наночастинок діоксиду титану розміром 20 – 30 нм та виявивши, що вони є більш активними із застосуванням УФ у порівнянні з комерційним зразком, який є стандартом для перевірки наявності фотокаталітичних властивостей, було досліджено їх антивірусну активність. Результати проведеного дослідження представлені на рис. 5. Антивірусна активність наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II відносно аденовірусу людини 5 серотипу була в межах 45 – 95 %. Найбільший відсоток пригнічення аденовірусу становив 95 % при концентрації наночастинок 0,001 мкг/мл.

Отримані результати підтверджують перспективність використання наночастинок діоксиду титану як інактивуючих сполук з дезінфікуючою активністю щодо аденовірусів та можливість розробки на їх основі компонентів фільтрів для дезінфекції води та повітря.

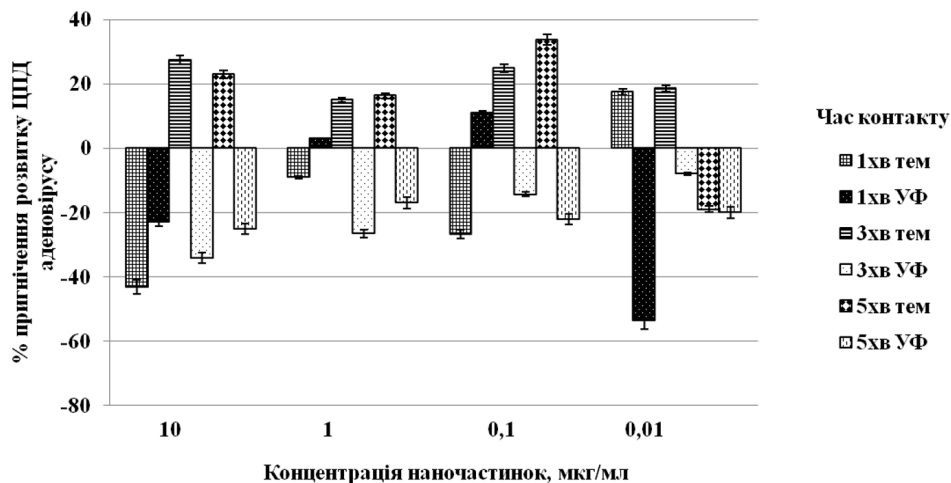


Рис. 4. Фотокаталітичні властивості наночастинок  $TiO_2$ -P25 відносно аденовірусу 5 серотипу

Примітка: тем – взаємодія вірусу і наночастинок в темряві, УФ – взаємодія вірусу і наночастинок за УФ-опромінення

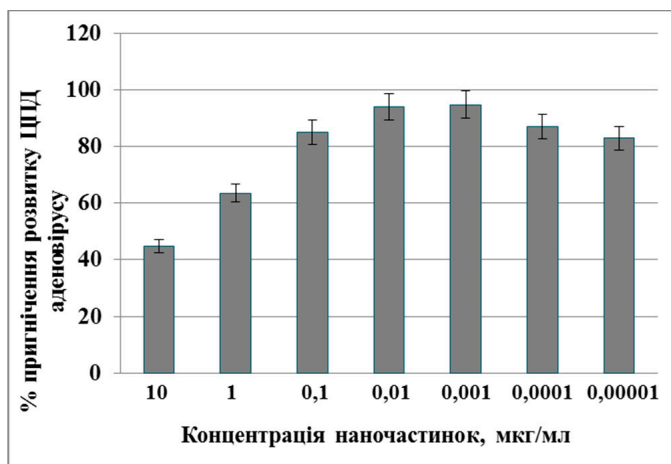


Рис. 5. Антивірусна активність наночастинок  $TiO_2$  (II) відносно аденовірусу людини 5 серотипу

**Обговорення.** У медицині наночастинок діоксиду титану використовуються як носії ліків, а нанотрубочки з наночастинками  $TiO_2$  застосовують в якості датчиків і наносенсорів глюкози, кисню, водню, вологості і т. д. [8]. Для діоксиду титану показана здатність ефективно інгібувати життєздатність мікроорганізмів та вірусів, але переважно із застосуванням УФ-опромінення [18, 19]. Діоксид титану має фотокаталітичні властивості та продукує під дією УФ-випромінювання активні оксигенвмісні радикали [9]. Хімічно механізм дії наночастинок під дією УФ-випромінювання відбувається наступним чином: наночастинки  $TiO_2$  накопичують (поглинають) фотони, які переносяться на поверхню частинок та взаємодіють зі

сполуками, що вже адсорбовані на поверхні частинки [9]. В результаті цієї взаємодії формуються вільні радикали. Активні радикали здатні окиснювати С-Н зв'язки та призводити до деградації органічних молекул (Рис. 6).

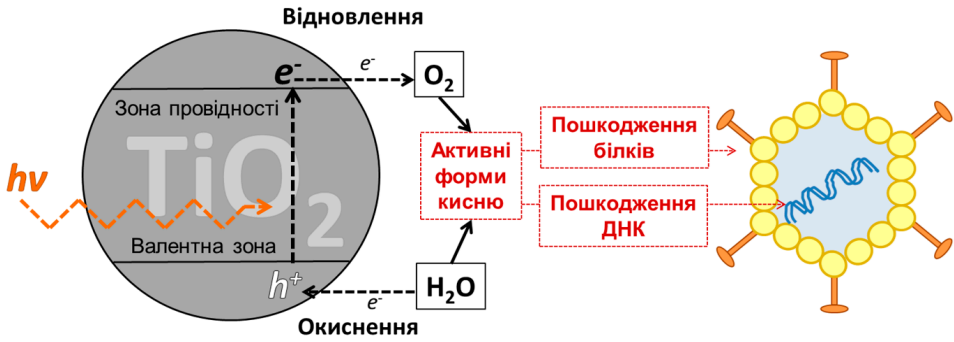


Рис. 6. Схематичне зображення фотокаталітичної дії наночастинок діоксиду титану

У роботі дослідників з Південної Кореї було показано, що при фотокаталітичній інактивації *E. coli* спостерігали помітне зменшення кількості ліпідів клітинних стінок, при цьому повне руйнування бактерії відбувалося протягом 1,5 год контакту з наночастинками діоксиду титану та УФ-опроміненням [20].

Опубліковано результати досліджень впливу наноформи  $\text{TiO}_2$  на вірус гепатиту В. Показано, що руйнування поверхневого антигену вірусу гепатиту (HBsAg) відбувається в результаті фотокаталітичної реакції, що має місце на поверхні наночастинок під дією УФ чи сонячного світла. Автори роботи вважають, що активні окисненні радикали, які утворюються під час фотокаталітичних реакцій, атакують карбоксильні групи та дисульфідні зв'язки HBsAg антигену і таким чином інактивують його [5]. Вчені з Новосибірського державного університету встановили, що наночастинкам діоксиду титану властива віруліцидна активність проти вірусу грипу [7]. Механізм антивірусної дії полягає у їх взаємодії з ліпідами, які є основним компонентом суперкапсиду складних вірусів (наприклад, вірусу грипу). У роботі Kato T. з співавторами представлені результати дослідження впливу на норовіруси  $\text{TiO}_2$  за УФ-опромінення. Отримані цими авторами дані свідчать про те, що саме застосований варіант обробки найефективніше впливає на руйнування вірусу [21]. Оскільки норовірус так, як і аденовірус не має суперкапсидної оболонки, можна припустити, що механізм інактивації аденовірусу подібний до такого у норовірусу, тобто під час УФ опромінення  $\text{TiO}_2$  утворюються вільні радикали, які здатні безпосередньо взаємодіяти з білками капсиду, руйнуючи його, та в подальшому можуть впливати і на вірусну ДНК.

В результаті виконання роботи встановлено, що  $\text{TiO}_2$ -II з розміром частинок 20 – 30 нм проявив вищу інгібуючу дію після 15 хв інкубації з аденовірусом, ніж  $\text{TiO}_2$ -I з розміром частинок 5 – 15 нм. Проте наночастинок зразка  $\text{TiO}_2$ -I з частинками меншого розміру були більш активними після коротшого часу інкубації (5 хв) з вірусними частинками, але в значно більшій концентрації. Найбільшу віруліцидну дію (63 %) спостерігали саме



при концентрації наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II 0,01 мкг/мл після 15 хв інкубації з аденовірусом. Для зразка  $\text{TiO}_2$ -I також показана віруліцидна дія відносно аденовірусу (49 %) після 5 хв інкубації при концентрації наночастинок 0,1 мкг/мл. Антивірусна активність наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II відносно аденовірусу людини 5 серотипу була в межах 45 – 95 %. Використання наночастинок  $\text{TiO}_2$ -P25 виробництва Evonik Industries AG (Німеччина) як контролю виявилось неефективним, оскільки за даних умов дослідження не вдалося виявити їх фотокаталітичних властивостей. Проте було виявлено незначне підсилення віруліцидної дії із застосуванням УФ-опромінення наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II. Найефективніше підсилення відбувалось за концентрації наночастинок 10 мкг/мл та становило дещо більше 30 %.

Таким чином, в результаті виконання роботи:

- Проведено аналіз структури новосинтезованих нанопорошків  $\text{TiO}_2$ , встановлено, що вони мають мезопорову структуру, відрізняються за розміром, об'ємом і площею мезопор.

- Показано, що наночастинок діоксиду титану не спричинюють цитотоксичної дії на культуру клітин МДВК.

- Встановлено 63 % інгібуючу віруліцидну дію  $\text{TiO}_2$ -II в дозі 0,01 мкг/мл після 15 хв інкубації з аденовірусом та 49 % – для  $\text{TiO}_2$ -I в дозі 0,1 мкг/мл після 5 хв інкубації.

- Визначено антивірусну активність наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II відносно аденовірусу людини 5 серотипу. Вона була в межах 45 – 95 %.

- Показано, що із застосування УФ-опромінення відбувається підсилення ефективності віруліцидної дії наночастинок  $\text{TiO}_2$ -II на 30 %.

Отже, отримані результати дослідження наночастинок діоксиду титану відносно аденовірусної інфекції розширили дані щодо їх біологічних властивостей, залежності ефективності від розміру та форми часток, а також ролі їх фотокаталітичних властивостей в процесі інгібування вірусів.

Таким чином, в умовах *in vitro* виявлена віруліцидна та антивірусна дія наночастинок діоксиду титану відносно аденовірусу людини 5 серотипу, що робить їх перспективними для подальших досліджень.

Автори висловлюють подяку співробітнику Лобунець Т. Ф. (Інститут проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України) за дослідження характеристик пористої структури вихідних зразків  $\text{TiO}_2$ .

## АНТИАДЕНОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЧЕК ДИОКСИДА ТИТАНА

Ю.Б. Паньковская<sup>1</sup>, Л.О. Белявська<sup>1</sup>, О.Ю. Повниця<sup>1</sup>, М.Н. Загорный<sup>2</sup>,  
А.В. Рагуля<sup>2</sup>, М.С.Харчук<sup>1</sup>, С.Д. Загородняя<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
ул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

<sup>2</sup>Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М.Францевича НАН України,  
ул. Кржижановського, 3, Київ, 03142, Україна

### Резюме

Поиск безопасных для человека и окружающей среды веществ и способов инактивации возбудителей болезней является одним из приоритетных направле-

ний научных исследований. В частности, известны свойства диоксида титана производить активные кислородные радикалы под действием УФ излучения, которые могут повреждать такие биологические молекулы патогенов, как белки, липиды и нуклеиновые кислоты, делают его перспективным агентом для разработки препаратов с вирулицидными и антивирусными свойствами. **Цель работы.** Исследование свойств наночастиц диоксида титана относительно аденовируса 5 серотипа *in vitro*. **Методы.** Исследование пористой структуры наночастиц проводилось адсорбционно-структурным динамичным и статичным объемным методами. Структуру исследуемых образцов определяли с помощью электронного микроскопа JEM-1400 (JEOL, Япония). Цитотоксическое, вирулицидное и антивирусное действие наночастиц определяли с применением МТТ-теста. **Результаты.** В результате проведенных исследований антиаденовирусного действия наночастиц диоксида титана установлено, что нанопорошок образца (I) с частицами размером 8 – 15 нм был более активен после короткого времени инкубации (5 мин) с аденовирусом 5 серотипа, при этом образец (II) с размером частиц 20 – 30 нм проявил ингибирующее влияние после 15 мин инкубации. Антивирусная активность наночастиц TiO<sub>2</sub> (II) относительно аденовируса человека 5 серотипа была в пределах 45 – 95 %. Использование коммерческого нанопорошка TiO<sub>2</sub> P25 производства Evonik Industries AG (Германия) в качестве контроля оказалось неэффективным, поскольку в исследуемой модельной системе антивирусная активность отсутствует. Эффективное усиление вирулицидного действия TiO<sub>2</sub> (II) происходило при концентрации наночастиц 10 мкг/мл и составляло около 30 %. **Выводы.** В результате проведенных исследований установлено, что наночастицы диоксида титана имеют вирулицидное и антивирусное действие в отношении аденовируса 5 серотипа.

*Ключевые слова:* аденовирус, наночастицы, диоксид титана, вирулицидное действие, антивирусное действие.

## ANTIADENOVIRAL ACTIVITY OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

*Yu.B. Pankivska<sup>1</sup>, L.O. Biliavska<sup>1</sup>, O.Yu. Povnitsa<sup>1</sup>, M.M. Zagorny<sup>2</sup>,  
A.V. Ragulia<sup>2</sup>, M.S. Kharchuk<sup>1</sup>, S.D. Zagorodnya<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,  
154 Acad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine*

<sup>2</sup>*Institute for Problems in Materials Science, NAS of Ukraine,  
3 Krzhizhanovsky Str., Kyiv, 03142, Ukraine*

### Summary

The analysis of non-toxic and environment-friendly substances and methods for the inactivation of infectious pathogens is one of the major areas of scientific research. In particular, it is known that titanium dioxide induces the production of active oxygen-containing radicals under the influence of UV radiation. As these reactive oxygen species can damage pathogenic biological molecules comprising proteins, lipids and nucleic acids, the compound is a promising agent for the development of preparations with virucidal and antiviral properties. **The aim of the work.** Investigation of the properties of titanium dioxide nanoparticles against adenovirus 5 serotype *in vitro*. **Methods.** The analysis of the porous structure of nanoparticles was carried out by adsorption-structural dynamic

and static volumetric method. The structure of the test specimens was determined using an electron microscope JEM-1400 (JEOL, Japan). The cytotoxic, virucidal and antiviral effects of nanoparticles were determined using the MTT test. **Results.** Based on the analysis of antiadenoviral action of titanium dioxide nanoparticles, it was found that the nanopowder of the specimen (I) with particles of 8 – 15 nm in size was more active after a short incubation time (5 min) with adenovirus serotype 5, whereas a sample (II) with a particle size of 20 – 30 nm showed an inhibitory effect after 15 minutes of incubation. The antiviral activity of TiO<sub>2</sub> (II) nanoparticles against human adenovirus 5 serotypes was between 45 and 95 %. The use of the commercial nanopowder of TiO<sub>2</sub> P25 produced by Evonik Industries AG (Germany) was found to be ineffective as the antiviral activity in the studied model system was absent. The most effective enhancement of the nanoparticles action of virucidal effect TiO<sub>2</sub> (II) occurred at the concentration of 10 µg/ml and was approximately 30 %. **Conclusions.** As a result of the research, it was found that titanium dioxide nanoparticles have a virucidal and antiviral effect against adenovirus serotype 5.

Keywords: adenovirus, nanoparticles, titanium dioxide, virucidal action, antiviral action.

1. Kavooosi F, Modaresi F, Sanaei M, Rezaei Z. Medical and dental applications of nanomedicines. *APMIS*. 2018; 126(10):795–803.
2. Toledano-Osorio M, Babu JP, Osorio R, Medina-Castillo AL, García-Godoy F, Toledano M. Modified Polymeric Nanoparticles Exert In Vitro Antimicrobial Activity Against Oral Bacteria. *Materials (Basel)*. 2018;11(6):1013.
3. Bowman MC, Ballard TE, Ackerson CJ, Feldheim DL, Margolis DM, Melander C. Inhibition of HIV Fusion with Multivalent Gold Nanoparticles *J Am Chem Soc*. 2008; 130(22):6896–97.
4. Burduşel AC, Gherasim O, Grumezescu AM, Mogoanta L, Ficai A, Andronesu E. Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview. *Nanomaterials (Basel)*. 2018; 8(9):681.
5. Zan L, Fa W, Peng T, Gong Z. Photocatalysis effect of nanometer TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>-coated ceramic plate on Hepatitis B virus. *J Photochem Photobiol. B: Biology*. 2007; 86:165–69.
6. Park D, Shahbaz HM, Kim SH, Lee M, Lee W, Oh JW, et al. Inactivation efficiency and mechanism of UV-TiO<sub>2</sub> photocatalysis against murine norovirus using a solidified agar matrix. *Int J Food Microbiol*. 2016;238:256–264.
7. Mazurkova NA, Spitsyna YE, Zagrebel'nyi SN, Ryabchikova EI, Shikina NV, Ismagilov ZR. [Interaction of titanium dioxide nanoparticles with influenza virus]. *Nanotechnologies in Russia*. 2010. 5(5-6):417–20. Russian.
8. Kryukov AI, Stroyuk AL, Kuchmiy SYa, Pokhodenko VD. [Nanofotokataliz]. – Kiev: Akadempriodika. 2013. 618. Russian.
9. Zahornyi M. Nanosized powders as reinforcement for photoactive composites (Overview). *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2017; 56:130–147.
10. HAdV\_Working\_Group, 2018. <http://hadvbwg.gmu.edu/>
11. Khanal S, Ghimire P, Dharmoon AS. The Repertoire of Adenovirus in Human Disease: The Innocuous to the Deadly. *Biomedicines*. 2018; 6(30).
12. Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev*. 2014;27(3):441–62.

13. Farkas K, Marshall M, Cooper D, McDonald JE, Malham SK, Peters DE, et al. Seasonal and diurnal surveillance of treated and untreated wastewater for human enteric viruses. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018. doi:10.1007/s11356-018-3261-y.
14. European Collection of Animal Cell Cultures Catalog. Porton Down: Salisbury (UK) PHLS Centre of Applied Microbiology and Research; 1990.
15. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983; 65(1-2):55–63.
16. Kodama E, Shigeta S, Suzuki T, De Clerq E. Application of gastric cancer cell line (MKN-28) for anti-adenovirus screening using the MTT method. *Antiviral Research*. 1996; 31:159–64.
17. Carriel-Gomes MA, Kratz JM, Barracco MA, Bachère E, Monte Barardi CR, Oliveira Simões CM. *In vitro* antiviral activity of antimicrobial peptides against herpes simplex virus 1, adenovirus and rotavirus. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2007; 102(4):469–72.
18. Jukapli NM, Bagheri S. Recent developments on titania nanoparticle as photocatalytic cancer cells treatment. *J Photochem Photobiol B*. 2016; 163:421–30.
19. Kulkarni M, Mazare A, Gongadze E, Perutkova S, Kralj-Iglic V, Milosev I, et al. Titanium nanostructures for biomedical applications. *Nanotechnology*. 2015; 26(6): 062002.
20. Cho M, Chung H, Choi W, Yoon J. Different Inactivation Behaviors of MS-2 Phage and *Escherichia coli* in TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Disinfection. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71(1):270–75.
21. Kato T, Tohma H, Miki O. Degradation of Norovirus in Sewage Treatment Water by Photocatalytic Ultraviolet Disinfection. *Nippon Steel Technical Report*. 2005; 92:41–44.

Отримано 27.07.2019