





Оригінальна стаття

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2023-50-02>

УДК 577;636.09

ПРОНИКНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК C₆₀ ФУЛЕРЕНУ КРИЗЬ МОДЕЛЬНУ ЛІПІДНУ ОБОЛОНКУ КОРОНАВІРУСА ТА ЇХ ПРОТИКОРОНАВІРУСНА ДІЯ В СИСТЕМІ *IN OVO*

В. В. Гурмач¹, В. Р. Караушу², З. С. Клестова³, В. П. Берест⁴,
Ю. І. Прилуцький^{2,*}

¹ Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна;

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна

³ Інститут медичної вірусології та епідеміології вірусних захворювань, Ельфріде-Аульхорн-штрассе, 6, Тюбінген, 72076, Німеччина;

⁴ Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна

*e-mail: prylut@ukr.net

Надійшла до редакції 2 вересня 2023 р. Переглянута 21 листопада 2023 р.

Прийнята до друку 30 листопада 2023 р.

Актуальність. Актуальним питанням сучасної біомедицини є пошук потенційних шляхів щодо зменшення поширення коронавірусних інфекцій у популяціях людей і тварин та усунення впливу коронавірусу на їх організми.

Мета роботи полягала у визначенні структурної організації C₆₀ фулеренів у модельному клітинному середовищі, оцінці їх потенційної здатності проникати крізь модельну ліпідну оболонку коронавірусу, руйнуючи таким чином його цілісність, а також встановленню ефективності протикоронавірусної дії в системі *in ovo*.

Матеріали і методи. Дослідження проводили з використанням програмного пакета Gromacs 2020 і силового поля Charmm36. Для побудови ліпідної оболонки коронавірусу застосовували веб-ресурс CHARMM-GUI. В експериментах *in ovo* на курячих ембріонах використали вірусологічні та токсикологічні методи.

Результати. Показано, що на початкових етапах молекулярної динаміки C₆₀ фулерен формує незначні за розміром нанокластери у кількості 7–16 молекул, на що впливає їх вихідна концентрація у модельному клітинному середовищі. При цьому форма наноструктур для кількості молекул понад 16 може відрізнятися від правильної сферичної. Встановлено, що C₆₀ фулерен та його нанокластери здатні проникати всередину ліпідної оболонки коронавірусу. Зокрема, поодинокі молекули C₆₀ може мігрувати, повністю заглиблюватися у ліпідну оболонку або

Як цитувати: Гурмач ВВ, Караушу ВР, Клестова ЗС, Берест ВП, Прилуцький ЮІ. Проникність наночастинок C₆₀ фулерену крізь модельну ліпідну оболонку коронавірусу та їх протикоронавірусна дія в системі *in ovo*. Біофізичний вісник. 2023;50:17–24. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2023-50-02>

In cites: Hurmach VV, Karaushu VR, Klestova ZS, Berest VP, Prylutskyu YuI. C₆₀ fullerene nanoparticles permeability through the model lipid envelope of coronavirus and their anticoronavirus effect in the *in ovo* system. Biophysical Bulletin. 2023;50:17–24. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2023-50-02>

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

© Гурмач В. В., Караушу В. Р., Клестова З. С., Берест В. П., Прилуцький Ю. І., 2023.

пересуватися всередині неї. Встановлено, що водний розчин C_{60} фулеренів за максимально допустимої концентрації (МДК) 30 мкг/ембріон знижує інфекційну активність коронавірусу інфекційного бронхіту курей (ІБК) при його застосуванні через 1, 2 і 4 год після інфікування коронавірусом чутливої біологічної системи.

Висновки. Показано, що агрегація C_{60} фулеренів у модельному клітинному середовищі може відбуватися по-різному: або до проникнення у ліпідну оболонку коронавірусу, або всередині неї. C_{60} фулерени, як поодинокі, так і у складі нанокластерів, здатні утворювати пори в оболонці коронавірусу, руйнуючи його цілісність, що, можливо, призводить до порушення відповідних стадій циклу його реплікації та прикріплення до рецепторів клітини. Встановлено, що водний розчин C_{60} фулеренів при застосуванні за МДК проявляє протівірусну активність щодо коронавірусу ІБК на його ранніх стадіях взаємодії з клітиною (1–4 год).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: C_{60} фулерен; коронавірус; молекулярна динаміка; протикоронавірусна активність.

Відповідно до звітів ВООЗ, незважаючи на оголошення про припинення пандемії, станом на сьогодні все ще спостерігається поширення коронавірусної інфекції COVID-19 у багатьох країнах світу. Саме тому дослідження потенційних шляхів нівелювання впливу коронавірусу SARS-CoV-2 та його штамів на організм людини є глобальним питанням сучасної біомедицини.

Сучасні нанобіотехнології можуть знайти застосування при вирішенні численних клінічних проблем, пов'язаних з пандемією COVID-19. Тому така біосумісна і біодоступна наноструктура як C_{60} фулерен викликає неабияку зацікавленість щодо застосування при коронавірусних інфекціях завдяки притаманній «специфічній» протівірусній активності [1]. Так, літературні дані [2] свідчать, що висока ліпофільність C_{60} фулерену зумовлює «мембранотропний» механізм його протівірусної дії. Відомо, що біологічні ефекти водорозчинних C_{60} фулеренів напряду корелюють з їх розмірами [3], тому на першому етапі дослідження важливим було оцінити розподіл за розміром цих наночастинок у модельному клітинному середовищі та їх здатність проникати крізь модельну ліпідну оболонку коронавірусу.

Важливо зазначити, що інфекційний бронхіт курей (ІБК) є однією з найбільш поширених вірусних інфекцій птахів, які завдають величезних економічних збитків птахівництву в усьому світі, включаючи Україну. Це захворювання високо контагіозне, уражає органи дихання (верхні дихальні шляхи) у курчат, репродуктивні органи з тривалим зниженням несучості у дорослих курей (*Gallus gallus*). Крім того, поширеним явищем є погіршення якості яєць та нефрит, який можуть викликати деякі штами цього вірусу. Інкубаційний період захворювання зазвичай становить 24–48 год, пік виділення вірусу з дихальних шляхів триває 3–5 днів після інфікування. На тяжкість захворювання та враження систем організму впливають як штам вірусу, так і вік, порода, імунний статус та раціон курки, холодний стрес.

РНК-геномний вірус з родини *Coronaviridae*, роду *Coronavirus*, гаммакоронавірус (*Gammacoronavirus*) птахів викликає ІБК. Віріони сферичної форми, діаметром 65–135 нм, вкриті ліпопротеїновою оболонкою з булавоподібними відростками завдовжки до 20 нм, що утворюють «сонячну корону». Цей коронавірус (*Avian infectious bronchitis virus*) представлений широким спектром сероваріантів. Встановлено понад 20 серотипів вірусу у всьому світі, які відрізняються між собою за антигенними та імунологічними властивостями. Через відсутність механізмів корекції під час реплікації генома вірус ІБК може швидко мутувати і генерувати нові штами, що можливо є схожим у нинішній ситуації з COVID-19, коли ми спостерігаємо швидкий мутаційний процес вірусу. Тому на другому етапі дослідження важливим було оцінити ефективність протівірусної дії водного розчину C_{60} фулеренів щодо коронавірусу ІБК в системі *in ovo*.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

Усі розрахунки проводили у програмному пакеті Gromacs 2020 [4] і силовому полі Charmm36 [5]. Їх ключові етапи включали мінімізацію енергії та два кроки еквілібрації системи (NVT (constant Number of particles, Volume and Temperature) і NPT (constant Number of particles, Pressure and Temperature)). Молекулярну динаміку (МД) проводили упродовж 100 нс за температури 36°C.

Топологію для C₆₀ фулерену побудували, використовуючи онлайн сервер SwissParam [6]. Після цього ці наноструктури рандомно помістили у квадратний бокс та заповнили його молекулами води. Для імітації клітинного середовища до такої системи додавали іони Na⁺/Cl⁻ (їх концентрація складала 0,15 М). Базуючись на експериментальних даних щодо приготування і характеризування водного розчину C₆₀ фулеренів [7], загалом провели тестування трьох вихідних розчинів, що містили 5%, 10% і 15% молекул C₆₀.

Для побудови ліпідної оболонки коронавірусу на основі фосфатидилхоліну (POPC) у кількості 1024 молекул було використано web-ресурс CHARMM-GUI [8].

Для отримання водного розчину C₆₀ фулеренів був застосований метод, заснований на переведенні молекул C₆₀ з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком [9]. Одержаний водний розчин C₆₀ фулеренів за максимальної концентрації 150 мкг/мл є типовим колоїдом, що містить як поодинокі молекули C₆₀, так і їх наночастинки [7], і залишається високостабільним упродовж 18 місяців за температури +4°C.

Для проведення досліджень *in ovo* у курячих ембріонах (КЕ) необхідною умовою був підбір штаму вірусу ІБК з найвищою інфекційною активністю. Для цього було визначено інфекційну активність п'яти штамів вірусу ІБК. Підбір оптимального штаму для дослідження здійснювали за інокуляції 8-добових КЕ в об'ємі 0,2 см³ вірусомісного матеріалу за умови дотримання правил асептики і антисептики. Спостереження проводили упродовж 8 діб, результати аналізували на 8 добу. Серед усіх перевірених штамів найбільш інфекційно активним виявився штам «M41» з інфекційною активністю вірусу — $6,70 \pm 0,35 \lg \text{EID}_{50}/\text{cm}^3$, який і було відібрано для подальших досліджень (Рис. 1).



Рис. 1. Вплив вірусу ІБК на інфіковані КЕ через 8 діб експерименту: А — контрольні інтактні ембріони; В — ембріони, інфіковані штамом «M41».

Fig. 1. The effect of chicken infectious bronchitis virus on infected chicken embryos after 8 days of the experiment: A — control intact embryos; B — embryos infected with strain "M41".

Відібрані для досліджень рухливі з добре розвинутими судинами КЕ 8 добового віку, інокульовані відповідно до розведення вірусу, вводили по 0,2 см³ в алантоїсну

порожнину КЕ (по 4 ембріони на кожне десятикратне розведення від 10^{-1} до 10^{-6}) [10]. Досліджували вплив водного розчину C_{60} фулеренів на КЕ через 1, 2, 4 і 6 год після інфікування КЕ коронавірусом ІБК шляхом внесення його у КЕ за максимально допустимої концентрації (МДК). Як контроль, використали КЕ, яким було інокульовано забуферений фізіологічний розчин. Ембріони в процесі інкубації овоскопували двічі на день. Процедуру повторювали тричі, з контролями. КЕ інкубували 8 діб за температури 37°C та відносної вологості 50–52%. Встановлено, що водний розчин C_{60} фулеренів є безпечним для застосування *in ovo* навіть у максимальному об'ємі введення — по $1,0\text{ см}^3$ на КЕ незалежно від місця введення. Це є доволі важливий факт, оскільки спеціальна методична література [10] рекомендує максимальний об'єм введення лікарського препарату $0,2\text{ см}^3$ на КЕ.

Протикоронавірусну дію досліджуваної нанополуки в системі *in ovo* визначали за співставленням рівней зниження інфекційної активності вірусу, яка виражається у показниках титру інфекційної активності вірусу [10].

Статистичну обробку результатів вимірювань проводили методами варіаційної статистики з використанням програми Statistica 13.3. При аналізі експериментальних даних у різних групах використовували t-критерій Стьюдента, після чого виконували множинний порівняльний тест Даннета для порівняння всіх даних з контрольними. Припущення про те, що експериментальні дані відповідають нормальному розподілу та мають ідентичні стандартні відхилення були перевірені за допомогою тестів Шапіро-Уїлка та Бартлетта, відповідно. Повторюваність вимірювань складала не менше п'яти разів. При значенні $p < 0,05$ відмінності вважалися значущими.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що на початкових етапах МД C_{60} фулерен формує незначні за розміром нанокластери у кількості 7–16 молекул (Рис. 2; див. 5% розчин, 25 нс). Важливо зазначити, що на розмір нанокластеру, утвореного за той чи інший час, істотно впливає вихідна концентрація C_{60} фулеренів у модельному клітинному середовищі (Рис. 2; див. 10% і 15% розчини, 25 нс). Так, за високої вихідної концентрації C_{60} фулеренів, крім незначних за розміром наноагрегатів, утворюються також нанокластери розміром 25 і більше молекул C_{60} . Цікавим є те, що нанокластери розміром до 16 молекул здебільшого мають сферичну форму або наближену до такої (Рис. 2; див. 5% розчин, 25 нс), а у нанокластерів більшого розміру форма є неправильною (Рис. 2). На нашу думку, це пов'язано з тим, що нанокластери більшого розміру є більш рухливими і мають більшу ентропійну складову, яка не дозволяє їм набути сферичної форми. Наступні снапшоти МД чітко показують, що утворені на початку нанокластери C_{60} фулеренів мають тенденцію до збільшення свого розміру з часом.

Встановлено, що C_{60} фулерен та його нанокластери здатні проникати всередину ліпідної оболонки коронавірусу і згодом виходити з неї, що корелює з модельними розрахунками [11]. Так, на рис. 3А добре видно, як поодинокі молекули C_{60} повністю заглиблюються у ліпідну оболонку і упродовж МД пересуваються всередині неї. Дещо цікавіша ситуація спостерігалася для 10% і 15% розчинів молекул C_{60} . Тут C_{60} фулерен формує нанокластери з 2, 3 і 4 молекул, які, як виявилось, здатні швидше проникати всередину ліпідної оболонки та виходити з неї (Рис. 3В, С). Так, на рис. 3С має місце утворення майже рівностороннього трикутника з 3 молекул C_{60} , який починає занурюватися у ліпідну оболонку, а вже під кінець МД він перебуває з іншого її боку. Також добре видно утворення всередині ліпідної оболонки тетраедра з 4 молекул C_{60} . Інших геометричних утворень не спостерігали, хоча літературні дані [11] вказують на

потенційну можливість утворення таких наноструктур, як деформована/правильна тригональна біпіраміда (5 молекул C_{60}), деформований октаедр (6 молекул C_{60}) і суперкластери (10 і більше молекул C_{60}).

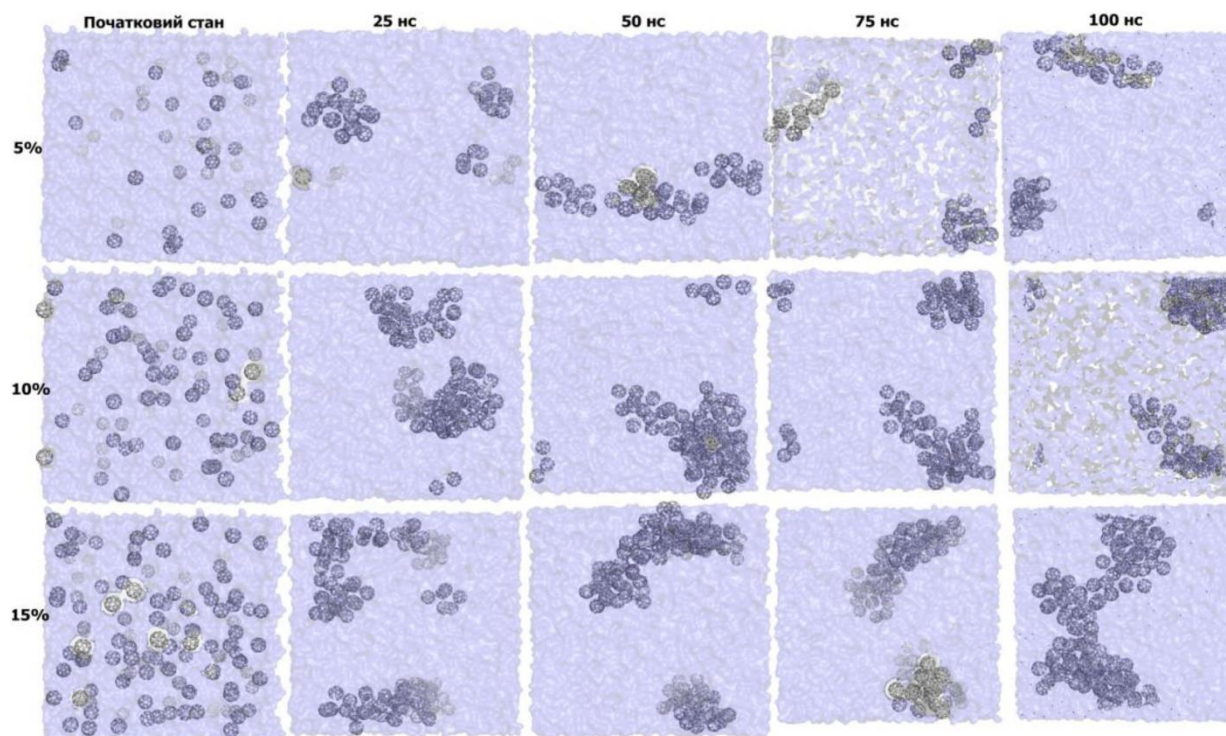


Рис. 2. Вигляд зверху боксів з різною концентрацією C_{60} фулеренів у модельному клітинному середовищі на різних етапах МД симуляції: C_{60} фулерен — сірий колір; бокс середовища — блакитний колір.

Fig. 2. Top view of boxes with different C_{60} fullerene concentration in the model cell medium at various stages of MD simulation: C_{60} fullerene — gray color; the environment box — blue color.

Нарешті, в експериментальній роботі [9] було показано, що водорозчинні C_{60} фулерени за низької концентрації 10^{-5} М взаємодіють з плоскою двошаровою мембраною (сформована шляхом нанесення суміші фосфатидилхоліну та холестерину (1:1) у гептані через отвір діаметром 0,6 мм у тefлоновій чашці, яка містилася у скляній камері, за кімнатної температури), збільшуючи її питому провідність та електричну ємність, і утворюють в ній локальні дефекти — пори і канали.

При дослідженні серії концентрацій водного розчину C_{60} фулеренів у КЕ виявлено, що ця наносполука не викликала місцево-подразнюючої і токсичної дії за МДК (30 мкг/ембріон) упродовж 96 год.

Встановлено, що при внесенні водного розчину C_{60} фулеренів за МДК через 1 і 2 год інфікування КЕ коронавірусом ІБК титр інфекційної активності вірусу зменшився на однакову величину і склав $5,45 \pm 0,30 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$ у досліді проти значення $6,70 \pm 0,35 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$ у контролі (терапевтична схема застосування). При внесенні водного розчину C_{60} фулерену за МДК через 4 і 6 год інфікування КЕ коронавірусом ІБК титр інфекційної активності знизився і склав, відповідно, $4,45 \pm 0,25 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$ і $6,45 \pm 0,33 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$ у досліді проти значення $6,70 \pm 0,35 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$ у контролі.

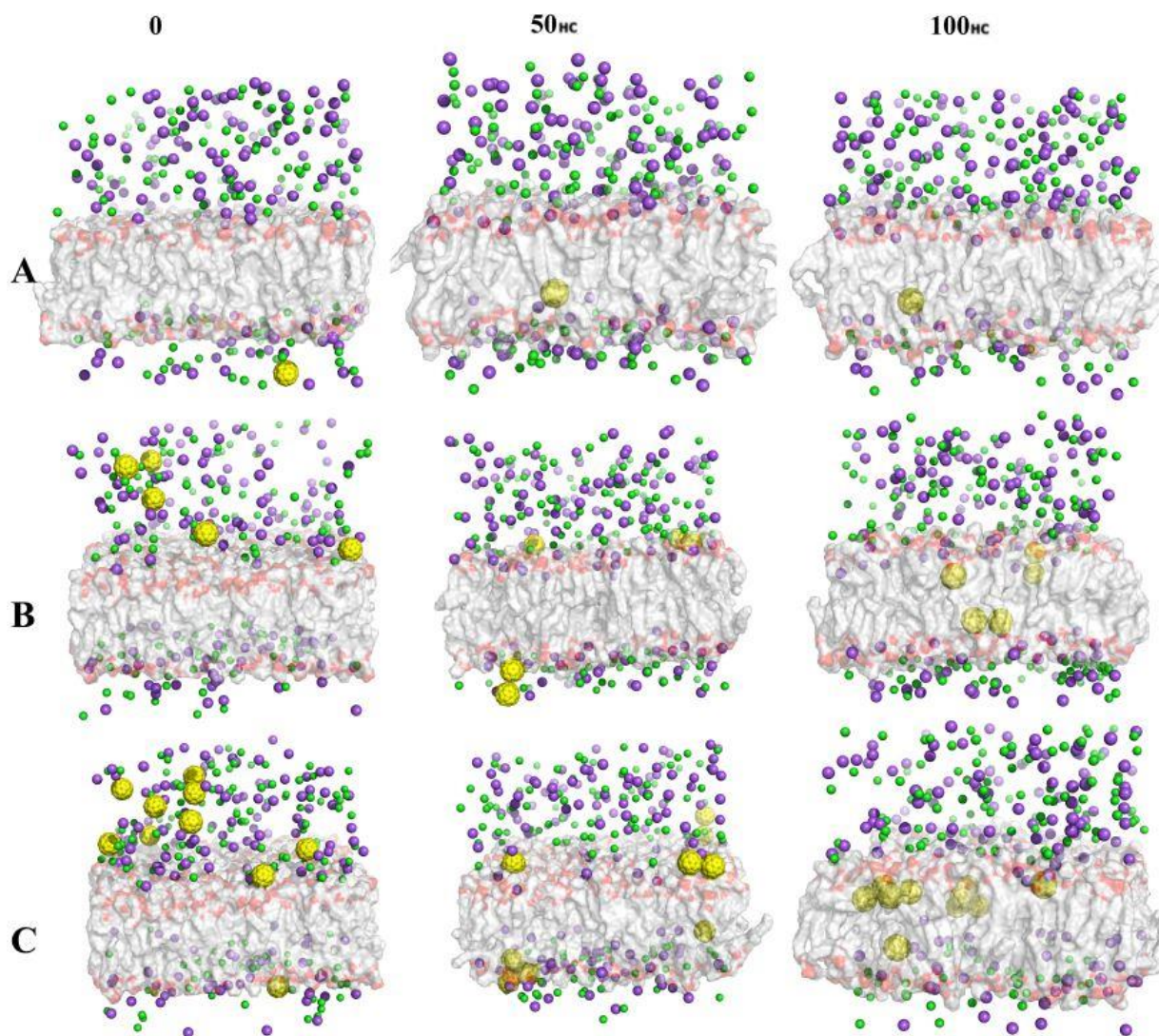


Рис. 3. Бічний вигляд побудованих систем з різною кількістю молекул C_{60} на різних етапах МД симуляції: ПОРС оболонка — сірого кольору; C_{60} фулерен — жовтого кольору; А — 5%, В — 10% і С — 15% розчин молекул C_{60} , відповідно.

Fig. 3. Side view of constructed systems with different numbers of C_{60} molecules at various stages of MD simulation: POPC envelope — gray color; C_{60} fullerene — yellow color; A — 5%, B — 10% and C — 15% solution of C_{60} molecules, respectively.

Таким чином, водний розчин C_{60} фулеренів за МДК знижує інфекційну активність коронавірусу ІБК при його застосуванні через 1, 2 і 4 год після інфікування коронавірусом чутливої біологічної системи. Найбільшого противірусного ефекту досягнуто при введенні дослідної нанополуки через 4 год після інфікування: зниження інфекційної активності на величину $2,25 \lg \text{ЕД}_{50}/\text{см}^3$ є високим показником. При застосуванні водного розчину C_{60} фулеренів через 6 год після інфікування достовірного протикоронавірусного ефекту не виявлено. Одержані дані свідчать про те, що C_{60} фулерен діє на вірус у його ранніх стадіях реплікації (1–4 год) у чутливій біологічній системі, знижуючи інфекційні властивості коронавірусу ІБК, що добре узгоджується з попередніми результатами [12].

ВИСНОВКИ

Таким чином, агрегація C_{60} фулеренів у модельному клітинному середовищі відбувається або до проникнення у ліпідну оболонку коронавірусу, або після проникнення всередині неї. Відтак, можна припустити, що поодинокі C_{60} фулерени або у складі нанокластерів здатні утворювати пори в оболонці коронавірусу, наприклад, SARS-CoV-2, руйнуючи цілісність його структури, що безумовно призведе до порушення відповідних стадій циклу реплікації цього коронавірусу.

Нарешті, водний розчин C_{60} фулеренів при застосуванні за МДК проявляє протівірусну активність щодо коронавірусу ІБК на його ранніх стадіях взаємодії з чутливою клітиною (1–4 год).

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

В. В. Гурмач <https://orcid.org/0000-0002-0844-1586>

З. С. Клестова <https://orcid.org/0000-0003-0771-7808>

В. П. Берест <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>

Ю. І. Прилуцький <https://orcid.org/0000-0002-9847-4137>

REFERENCES

- Goodarzi S, Da Ros T, Conde J, Sefat F, Mozafari M. Fullerene: biomedical engineers get to revisit an old friend. *Mater Today*. 2017;20(8):460–80. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
- Piotrovsky LB, Kiselev OI. Fullerenes and viruses. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*. 2005;12(1-2):397–403. <https://doi.org/10.1081/FST-120027198>
- Melnyk MI, Ivanova IV, Dryn DO, Prylutsky YuI, Hurmach VV, Platonov M, et al. C_{60} fullerenes selectively inhibit BC_{Ca} but not K_v channels in pulmonary artery smooth muscle cells. *Nanomedicine*. 2019;19:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.03.018>
- Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Páll S, Smith JC, Hess B, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftWareX*. 2015;(1-2):19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
- Huang J, MacKerell Jr AD. CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data. *J Comput Chem*. 2013;34(25):2135–45. <https://doi.org/10.1002/jcc.23354>
- Zoete V, Cuendet MA, Grosdidier A. SwissParam: A fast force field generation tool for small organic molecules. *J Comput Chem*. 2011;32:2359–68. <https://doi.org/10.1002/jcc.21816>
- Prilutski YuI, Durov SS, Yashchuk VN, Ogul'chansky TYu, Pogorelov VE, Astashkin YuA, et al. Theoretical predictions and experimental studies of self-organization C_{60} nanoparticles in water solution and on the support. *Eur Phys J D*. 1999;9(1–4):341–3. <https://doi.org/10.1007/s100530050452>
- CHARMM-GUI Input Generator [Internet]. 2023 [cited 2023 Aug 28]. Available from: <https://www.charmm-gui.org/?doc=input/membrane.bilayer>
- Prylutska SV, Matyshevska OP, Grynyuk II, Prylutsky YuI, Ritter U, Scharff P. Biological effects of C_{60} fullerenes in vitro and in a model system. *Mol Cryst Liq Cryst*. 2007;468:265–74. <https://doi.org/10.1080/15421400701230105>
- Klestova ZS, Tashuta SG, Blotska OF, Kuzmitch GS, Kubayev AP, Krasnobayev EO. Determining the infectious activity of chicken infectious bronchitis virus in chicken embryos. State Scientific and Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms of Kyiv; 2020. Methodological recommendations approved by State Service of Ukraine on Security Issues of Food and Consumer Protection on Dec 18, 2020, record 3. (In Ukrainian)
- Zhang S, Mu Y, Zhang JZH, Xu W. Effect of Self-Assembly of Fullerene Nano-Particles on Lipid Membrane. *PLoS ONE*. 2013;8:e77436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077436>
- Hurmach V, Platonov M, Prylutska S, Klestova Z, Cherepanov V, Prylutsky Yu, et al. Anticoronavirus activity of water-soluble pristine C_{60} fullerenes: *in vitro* and *in silico* screenings. In: Asea AAA, Kaur P, eds. *Coronavirus Therapeutics — Volume I. Advances in Experimental Medicine and Biology 1352*. Springer; 2021. p. 159–72. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85109-5_10

C₆₀ FULLERENE NANOPARTICLES PERMEABILITY THROUGH THE MODEL LIPID ENVELOPE OF CORONAVIRUS AND THEIR ANTICORONAVIRUS EFFECT IN THE *IN OVO* SYSTEM

V. V. Hurmach¹, V. R. Karaushu², Z. S. Klestova³, V.P. Berest⁴, Yu. I. Prylutskyy²

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, NASU, 150 Zabolotnogo Str., Kyiv, 03143, Ukraine;

² Taras Shevchenko National University of Kyiv, ESC "Institute of Biology and Medicine", 64/13 Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine;

³ The Institute for Medical Virology and Epidemiology of Viral Diseases, 6 Elfriede-Aulhorn-Straße, Tübingen, 72076, Germany;

⁴ V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

*e-mail: prylut@ukr.net

Submitted September 2, 2023; Revised November 21, 2023;

Accepted November 30, 2023

Background: An urgent problem of modern biomedicine is the search for potential ways to reduce the spread of coronavirus infections in human and animal populations and eliminate the impact of coronavirus on their bodies.

Aim of the work was to determine the structural organization of C₆₀ fullerenes in a model cell medium, to assess their potential ability to penetrate the model lipid envelope of a coronavirus, thus destroying its integrity, as well as the effectiveness of the anticoronavirus action in the *in ovo* system.

Methods: The research was conducted using the Gromacs 2020 software package and the Charmm36 force field. The CHARMM-GUI web resource was used to construct the lipid envelope of a coronavirus. Virological and toxicological methods were used in the *in ovo* experiments.

Results: It is shown that at the initial stages of molecular dynamics C₆₀ fullerene forms small nanoclusters in the amount of 7–16 molecules, which is affected by the initial concentration of C₆₀ fullerene in a model cell medium. At the same time, the shape of nanostructures for the number of molecules over 16 may differ from the correct spherical shape. It was established that C₆₀ fullerene and its nanoclusters are able to penetrate inside the lipid envelope of a coronavirus. In particular, a single C₆₀ molecule can migrate, completely embed itself in the lipid envelope, or move within it. It was found that C₆₀ fullerene aqueous solution, at the maximum permissible concentration (MPC) of 30 µg/embryo, reduces the infectious activity of the chicken infectious bronchitis (CIB) coronavirus when it is used 1, 2 and 4 h after the infection of a sensitive biological system with a coronavirus.

Conclusions: It is shown that aggregation of C₆₀ fullerene in a model cell medium can occur in different ways: either before penetration into the lipid envelope of a coronavirus, or inside it. C₆₀ fullerenes, both individually and as part of nanoclusters, are able to form pores in the envelope of a coronavirus, destroying its integrity, which possibly leads to disruption of the corresponding stages of its replication cycle and attachment to cell receptors. It was established that C₆₀ fullerene aqueous solution, when used in the MPC value, shows antiviral activity against the CIB coronavirus in its early stages of interaction with the cell (1–4 h).

KEY WORDS: C₆₀ fullerene; coronavirus; molecular dynamics; anticoronavirus activity.