



УКРАЇНА

(19) (UA)

(11) 70638 A

(51) 7 A61K38/21

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І
НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

Деклараційний патент на винахід

видано відповідно до Закону України
"Про охорону прав на винаходи і корисні моделі"

Голова Державного Департаменту
інтелектуальної власності



М. Паладій

(21) 20031211869

(22) 18.12.2003

(24) 15.10.2004

(46) 15.10.2004. Бюл. № 10

(72) Карпов Олександр Вікторович, Поводзинський Вадим Миколайович, Пенчук Юрій
Миколайович, Жолобак Надія Михайлівна, Верьовка Сергій Вікторович

(73) Національний університет харчових технологій

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 70638

(13) A

(51) 7 A61K38/21

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ

1

2

(21) 20031211869

(22) 18.12.2003

(24) 15.10.2004

(46) 15.10.2004, Бюл. № 10, 2004 р.

(72) Карпов Олександр Вікторович, Поводзинський Вадим Миколайович, Пенчук Юрій Миколайович, Жолобак Надія Михайлівна, Верьовка Сергій Вікторович

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ
ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб отримання інтерферону першого типу, що включає стадію індукції, який відрізняється тим, що як індуктор застосовують комплекс одноланцюгової дріжджової РНК з тилороном, при цьому РНК іммобілізована на нерозчинній поверхні, яка являє собою полігліколеві гранули - сферон.

Винахід відноситься до медичної біотехнології та фармацевтики і може бути використаний в процесах отримання інтерферонів першого типу.

Прототипом запропонованого способу можна вважати спосіб отримання людського лейкоцитарного інтерферону (Пат. РФ № 1744811 кл. А 61 К 38/21, опубл. 10.01.95. Бюл. №1).

Недоліком прототипу є його здатність розчинятися в культуральній рідині, що не дозволяє використовувати цей індуктор протягом декількох промислових циклів.

За основу винаходу поставлена задача збільшення виходу кінцевого продукту, покращення його якості та спрощення технологічного процесу отримання інтерферону.

Поставлена задача досягається тим, що в спосіб отримання інтерферону включає стадію індукції. Згідно винаходу в якості індуктору пропонується використовувати комплекс одноланцюгової дріжджової РНК з тилороном, при цьому РНК іммобілізована на нерозчинній поверхні, яка являє собою полігліколеві гранули - сферою.

Прийчинно-наслідковий зв'язок між запропонованим способом і очікуваним результатом показаний нижче.

Одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою полігліколеві гранули - сферою, що дає змогу виключення стадії накопичення вірусу-індуктору, видалення не адсорбованого клітинами вірусу, а також інактивації вірусу-індуктору в цільовому продукті.

З метою встановлення і характеристики інтерферогенних властивостей індуктору був поставлений ряд дослідів на культурах клітин L41.

Стандартними індукторами порівняння були ридостин та комплекс дріжджової РНК з тилороном, які вносили в культуру, в концентраціях, що забезпечують, згідно літературним даним, максимальний індукторний ефект. Рівні екзогенного інтерферону визначали в культуральному середовищі через 18 години, після контакту клітин з індукторами інтерферону. Визначення інтерферону проводили в культурі клітин L41 на 96-лункових планшетах за стандартною методикою, використовуючи в якості тесту, вірус, везикулярного стоматиту (VBC) штам Індіана в дозі 100 ТЦД₅₀.

Приклад 1. Пряме порівняння інтерферогенної здатності індуктору проводили в культурі клітин L41. Результати на фіг. 1.

Результати, представлені на фіг. 1, свідчать, що в культурі клітин L41, під дією запропонованого індуктору, найбільша кількість інтерферону спостерігається вже на третю годину після контакту клітин з індуктором. Далі титри інтерферону не зростають, залишаючись практично без змін до 18 години (строк спостереження).

Приклад 2. З метою перевірки багаторазової дії запропонованого індуктору після проведення кожної індукції він дворазово промивався дистильованою водою та знову насичувався тилороном. Результати представлені на фіг. 2.

Виходячи із результатів, що представлені на фіг. 2 можна зробити висновок, що запропонова-

(13) A

(11) 70638

(19) UA

ний індуктор, можна використовувати протягом шести промислових циклів.

Приклад 3. Пряме порівняння інтерферогенної здатності запропонованого індуктору проводили по відношенню до відомих стандартних індукторів. Результати зведені в таблицю.

Результати, представлені в таблиці, свідчать, що хоча запропонований індуктор індукує меншу, порівняно з стандартними індукторами кількість інтерферону в культурі клітин L41, але сумарна доза інтерферону, отримана протягом шести циклів, значно перевищує кількість інтерферону, отриману під дією стандартних індукторів. Доза запропонованого індуктору, була еквівалентна

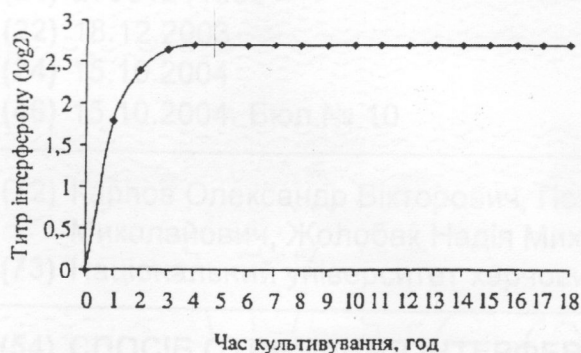
дозам стандартних індукторів, в яких, згідно літературним даним, вони виражають оптимальну дію.

Позитивний ефект полягає у тому, що запропонований індуктор може використовуватись протягом декількох промислових циклів, забезпечуючи титри інтерферону на рівні технологічних потреб, що дає змогу виключення стадії накопичення вірусу-індуктору, видалення не адсорбованого клітинами вірусу, а також інактивації вірусу-індуктору в цільовому продукті.

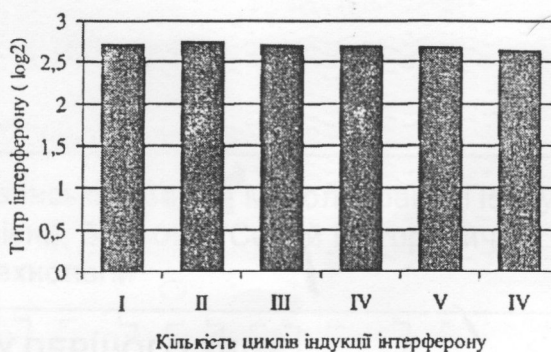
Запропонований спосіб має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Таблиця

Індуктор, що вводився	Доза, мкг/10 ⁶ кл	Середній титр (log ₂)	Сумарний титр (log ₂)
Контроль	-	-	-
СРТ (нуклеїновий компонент)	25,0	2,7	16,14
Ридостин	50,0	4,8	4,8
МК	25,0	6,4	6,4



Фіг. 1



Фіг. 2