



УКРАЇНА

(19) (UA)

(11) 71281 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

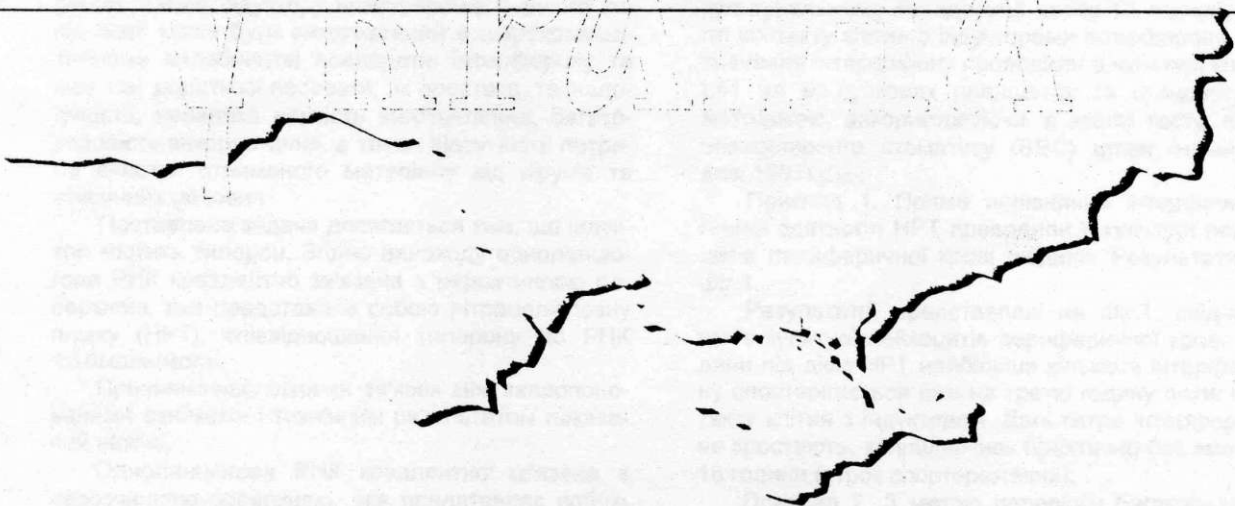


М. Паладій

- (21) 20031211722
- (22) 16.12.2003
- (24) 15.11.2004
- (46) 15.11.2004. Бюл.№ 11

- (72) Карпов Олександр^чВікторович, Поводзинський Вадим Миколайович, Пенчук Юрій Миколайович, Жолобак Надія Михайлівна, Верьовка Сергій Вікторович
- (73) Національний університет харчових технологій

(54) ІНДУКТОР ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН





УКРАЇНА

(19) U A

pi) 7 1 2 8 1

(13) M

(51)7 A 61K38/21

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ІНДУКТОР ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН

(21)20031211722

(22) 16.12.2003

(24) 15.11.2004

(46) 15.11.2004, Бюл. № 11, 2004 р.

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

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ
ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Індуктор інтерферону першого типу в культурах клітин, що містить тилорон, який **відрізняється** тим, що одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка являє собою нітроцелюлозну плівку, співвідношення тилорону до РНК 1:10 моль/моль.

Винахід відноситься до біотехнології та фармацевції і може бути використаний в процесах отримання інтерферонів.

Прототипом запропонованого індуктору можна вважати індуктор інтерферону першого типу в культурах клітин (Пат. №9690А кл. А61К37/66, опубл. 30.09.96. Бюл. №3).

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

За основу винаходу поставлена задача створення нового індуктору інтерферонів першого типу, який може бути використаний в широкомасштабному виробництві препаратів інтерферону та має такі додаткові переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Поставлена задача досягається тим, що індуктор містить тилорон. Згідно винаходу одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою нітроцелюлозну плівку (НРТ), співвідношення тилорону до РНК 1:10моль/моль.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і технічним результатом показаний нижче.

Одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою нітроцелюлозну плівку, співвідношення тилорону до РНК 1:10моль/моль, що дає змогу виключення стадії накопичення вірусу-індуктору, видалення неадсорбованого клітинами вірусу, а також інакти-

вації вірусу-індуктору в цільовому продукті.

З метою встановлення і характеристики інтерферогенних властивостей НРТ в культурах клітин був поставлений ряд дослідів на лейкоцитах периферичної крові людини.

Стандартними індукторами порівняння були ридостин та комплекс дріжджової РНК з тилорон, які вносили в культуру, в вигляді розчинів у згаданому вище буфері, 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 (ВВС) штам Індіана в дозі 100тцд₅₀.

Приклад 1. Пряме порівняння інтерферогенної здатності НРТ проводили в культурі лейкоцитів периферичної крові людини. Результати на фіг.1.

Результати, представлені на фіг.1, свідчать, що в культурі лейкоцитів периферичної крові людини під дією НРТ 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 НРТ після проведення кожної індукції НРТ дворазове промивався дистильованою водою та знову насичувався тилорон. Результати представлені на фіг.2.

<
∞

∞
CM

4-

<

sg

Виходячи із результатів, що представлені на фіг.2 можна зробити висновок, що НРТ, в якості індуктору інтерферону, можна використовувати протягом шести промислових циклів.

Приклад 3. Пряме порівняння інтерферогенної здатності НРТ проводили по відношенню до відомих стандартних індукторів. Результати зведені в табл.1.

Результати, представлені в табл.1, свідчать, що хоча НРТ індукує меншу, порівняно з стандартними індукторами кількість інтерферону в культурі лейкоцитів периферичної крові людини, але сумарна доза інтерферону, отримана протягом шести циклів використання НРТ, значно перевищує кількість інтерферону, отриману під дією ста-

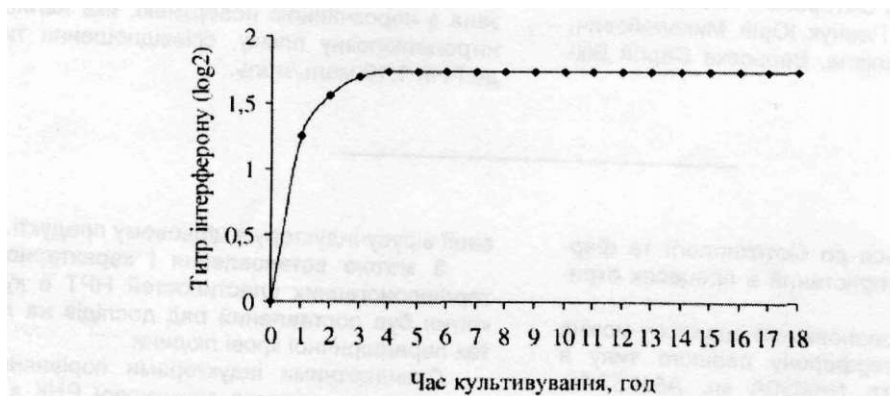
ндартних індукторів. Слід відмітити, що доза НРТ, яка вводилася (відносно її нуклеїнового компоненту), практично відповідала дозам стандартних індукторів, в яких, згідно літературним даним, вони виражають оптимальну дію.

Позитивний ефект полягає у тому, що запропонований індуктор може використовуватись протягом декількох промислових циклів, забезпечуючи титри інтерферону на рівні технологічних потреб.

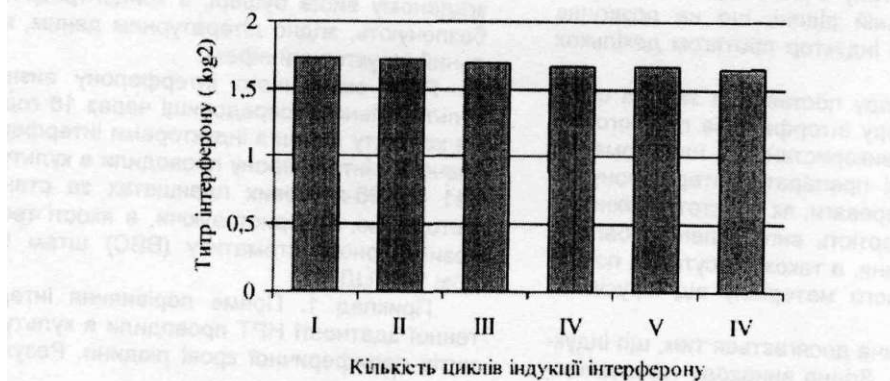
Запропонований індуктор має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Таблиця 1

Індуктор, що вводився	Доза, мкг/10 ⁶ кл	Середній титр (log ₂)	Сумарний титр (log ₂)
Контроль	-	-	-
НРТ (нуклеїновий компонент)	25	1,73	8,47
Ридостин	50,0	4,8	4,8
МК	25,0	6,4	6,4



Фіг. 1



Фіг. 2