



УКРАЇНА

(19) (UA)

(11) 71280 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



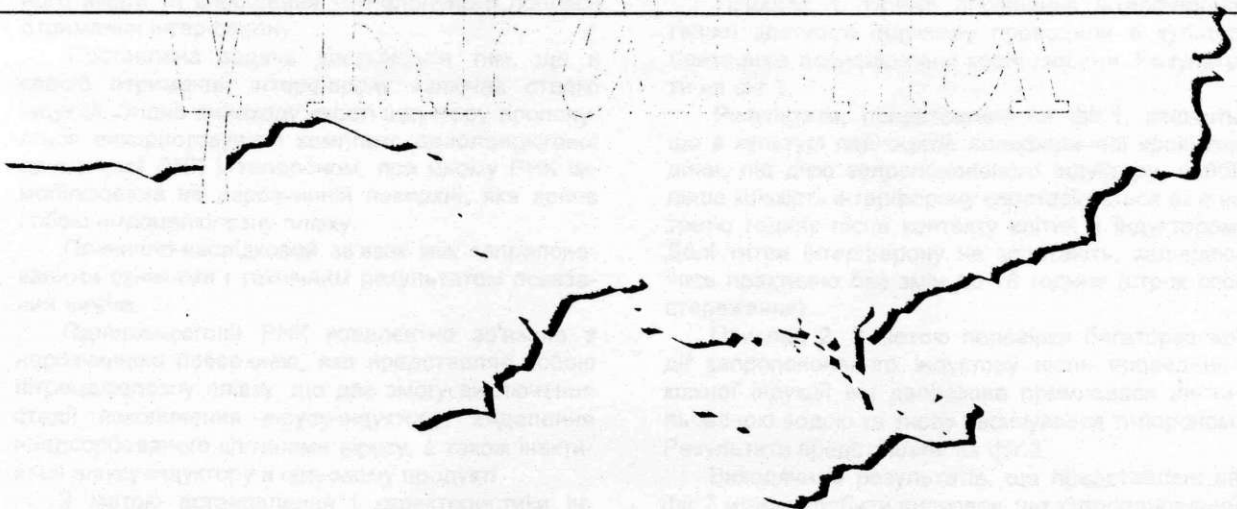
М. Паладій

- (21) 20031211721
- (22) 16.12.2003
- (24) 15.11.2004
- (46) 15.11.2004. Бюл.№ 11

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

(73) Національний університет харчових технологій

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
НАУКИ УКРАЇНИ

ОПИС

^^

в ідкшід ал ьжсть
власника
патентуДЕРЛАТК?АГНЗІЛЕНТ
ВЛАСНОСТІД° ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ

1

(21)20031211721

(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) Спосіб отримання інтерферону першого типу, що включає стадію індукції, який відрізняється тим, що як індуктор використовують комплекс одностанцюгової дріжджової РНК з тилороном, при цьому РНК іммобілізована на нерозчинній поверхні, яка являє собою нітроцелюлозну плівку.

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

Прототипом запропонованого способу можна вважати спосіб отримання людського лейкоцитарного інтерферону (Пат. РФ №1744811 кл. А61К38/21, 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 якості індуктору пропонується використовувати комплекс одностанцюгової дріжджової РНК з тилороном, при цьому РНК іммобілізована на нерозчинній поверхні, яка являє собою нітроцелюлозну плівку.

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

Одностанцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою нітроцелюлозну плівку, що дає змогу виключення стадії накопичення вірусу-індуктору, видалення неадсорбованого клітинами вірусу, а також інактивації вірусу-індуктору в цільовому продукті.

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

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 (ВВС) штам Індіана в дозі 100ТЦД50.

Приклад 1. Пряме порівняння інтерферогенної здатності індуктору 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 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 запропонований індуктор, можна використовувати протягом шести промислових циклів.

Приклад 3. Пряме порівняння інтерферогенної

<
oO
OO
CMI^s--

<

3
CT

генної здатності запропонованого індуктору проводили по відношенню до відомих стандартних індукторів. Результати зведені в табл.1.

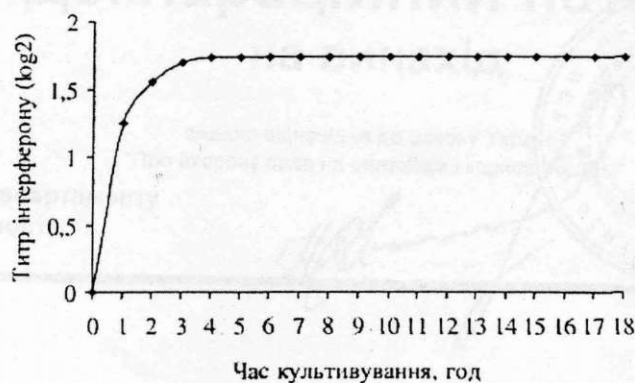
Результати, представлені в табл.1, свідчать, що хоча запропонований індуктор індуктує меншу, порівняно з стандартними індукторами кількість інтерферону в культурі лейкоцитів периферичної крові людини, але сумарна доза інтерферону, отримана протягом шести циклів, значно перевищує кількість інтерферону, 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.

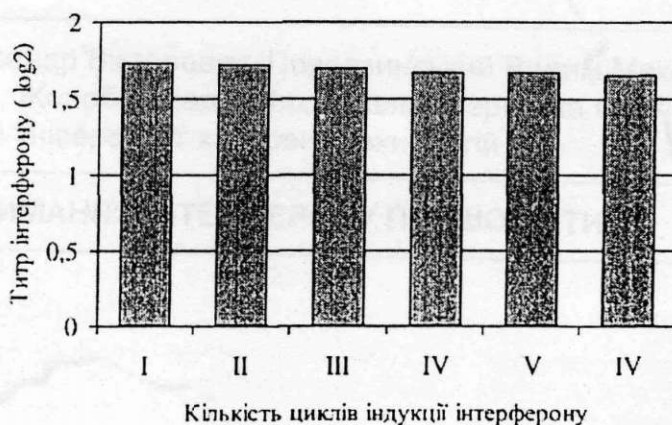
Запропонований спосіб має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Табл.1

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



Фіг. 1



Фіг. 2