



УКРАЇНА

(19) UA (11) 71281 (13) A  
(51) 7 A61K38/21МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ІНДУКТОР ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН

1

2

(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 Вік-  
торович(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ  
ТЕХНОЛОГІЙ(57) Індуктор інтерферону першого типу в культу-  
рах клітин, що містить тилорон, який **відрізняєть-**  
**ся** тим, що одноланцюгова РНК ковалентно зв'я-  
зана з нерозчинною поверхнею, яка являє собою  
нітроцелюлозну плівку, співвідношення тилорону  
до РНК 1:10 моль/моль.

Винахід відноситься до біотехнології та фар-  
мації і може бути використаний в процесах отри-  
мання 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 розчи-  
нятися в культуральній рідині, що не дозволяє  
використовувати цей індуктор протягом декількох  
промислових циклів.

За основу винаходу поставлена задача ство-  
рення нового індуктору інтерферонів першого ти-  
пу, який може бути використаний в широкомас-  
штабному виробництві препаратів інтерферону та  
має такі додаткові переваги, як простота, техноло-  
гічність, невелика вартість виготовлення, багато-  
разовість використання, а також відсутність потре-  
би очищення отриманого матеріалу від вірусів та  
токсичних речовин.

Поставлена задача досягається тим, що індук-  
тор містить тилорон. Згідно винаходу одноланцю-  
гова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною по-  
верхнею, яка представляє собою нітроцелюлозну  
плівку (НРТ), співвідношення тилорону до РНК  
1:10 моль/моль.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропоно-  
ваними ознаками і технічним результатом показан-  
ий нижче.

Одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з  
нерозчинною поверхнею, яка представляє собою  
нітроцелюлозну плівку, співвідношення тилорону  
до РНК 1:10 моль/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 ін-  
терфероногенних властивостей НРТ в культурах  
клітин був поставлений ряд дослідів на лейкоци-  
тах периферичної крові людини.

Стандартними індукторами порівняння були  
рибостин та комплекс дріжджової РНК з тилоро-  
ном, які вносили в культуру, в вигляді розчинів у  
згаданому вище буфері, в концентраціях, що за-  
безпечують, згідно літературним даним, максима-  
льний індукторний ефект.

Рівні екзогенного інтерферону визначали в  
культуральному середовищі через 18 години, піс-  
ля контакту клітин з індукторами інтерферону. Ви-  
значення інтерферону проводили в культурі клітин  
L41 на 96-луноквих планшетах за стандартною  
методикою, використовуючи, в якості тесту, вірус  
везикулярного стоматиту (ВВС) штам Індіана в  
дозі 100ТЦД<sub>50</sub>.

Приклад 1. Пряме порівняння інтерфероно-  
генної здатності НРТ проводили в культурі лейко-  
цитів периферичної крові людини. Результати на  
фіг.1.

Результати, представлені на фіг.1, свідчать,  
що в культурі лейкоцитів периферичної крові лю-  
дини під дією НРТ найбільша кількість інтерфе-  
рону спостерігається вже на третю годину після кон-  
такту 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 дво-  
разове промивався дистильованою водою та зно-  
ву насичувався тилороном. Результати представ-  
лені на фіг.2.

(13) A

(11) 71281

(19) UA

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 інтерфероногенної 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-

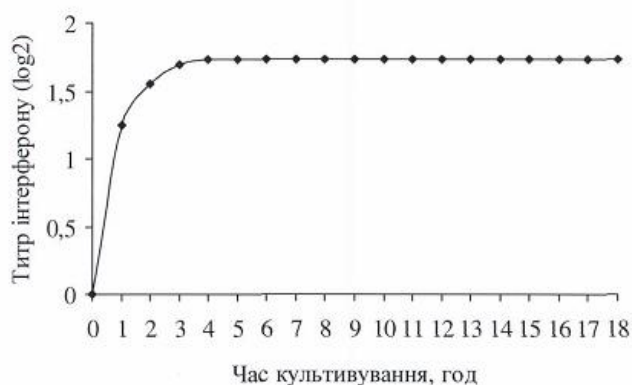
ндартних індукторів. Слід відмітити, що доза НРТ, яка вводилася (відносно її нуклеїнового компоненту), практично відповідала дозам стандартних індукторів, в яких, згідно літературним даним, вони виражають оптимальну дію.

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

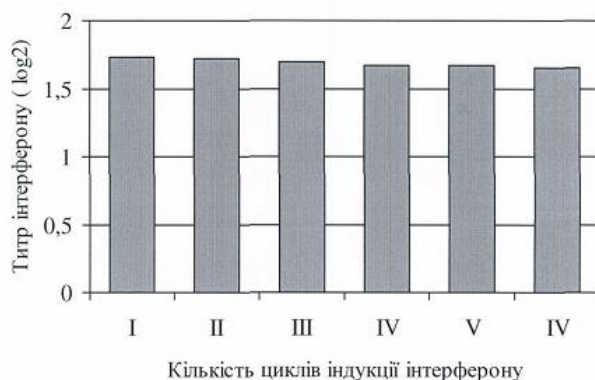
Запропонований індуктор має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Таблиця 1

Індуктор, що вводився	Доза, мкг/10 <sup>6</sup> кл	Середній титр (log <sub>2</sub> )	Сумарний титр (log <sub>2</sub> )
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