

Винахід відноситься до одержання бактерицидних препаратів з рослинної сировини, зокрема, до одержання соку з каланхое перистого (*Kalanchoe pinnata*).

У медичній практиці застосовується ефективний протизапальний препарат сік каланхое, що одержують зі свіжих листів і трав'янистої частини стебла рослини каланхое. Сік каланхое має протизапальну дію, сприяє швидкому очищенню ран і виразок від некротичних тканин, швидкої епітелізації ран і виразок (Машковский М.Д. «Лекарственные средства», ч.II, М., 1972, с.137). Виявлена також антивірусна активність соку. Установлено, що сік каланхое має антивірусну активність стосовно РНК-вірусів (Нікітіна В.В. Біологія видів роду *Kalanchoe* Adans в умовах захищеного ґрунту та перспективи їх практичного використання. - К., 1994, Автореферат дисертації на здобуття вченого ступеня к.б.н.). Сік каланхое широко використовують у хірургічній, стоматологічній і акушерсько-гінекологічній практиці при лікуванні гнійно-некротичних процесів, трофічних виразок, пролежнів, гінгівітів, пародонтозів, стоматитів. Сік випускають в ампулах або у флаконах, які необхідно зберігати при температурі не вище 10°C.

Відомий спосіб одержання соку каланхое, що включає подрібнювання сировинної маси, виділення рідкої фази центрифугуванням, витримку рідкої фази з наступним відділенням осаду стерилізуючою фільтрацією і додавання консерванту до фільтрату до одержання 0,5%-ного розчину. (М.М.Басс, А.А.Федоровський Л.В.Коберніченко, Е.Ф.Саливон, В.Я.Пинський. Новий лікарський засіб - сік каланхое. - Фармацевтичний журнал, №3, 1970). Після перевірки на стерильність сік в асептичних умовах розливають в ампули або стерильні флакони. Як і багато препаратів рослинного походження сік каланхое проявляє свою біологічну й антивірусну активність при температурі 22-37°C. Тому перед застосуванням у хірургічній, акушерсько-гінекологічній практиці сік протягом 30хв. витримують при температурі 22-25°C, у стоматологічній практиці сік підігрівують на водяній бані до температури 37°C. Однак, після цієї процедури часто спостерігається випадання осаду і зниження активності соку.

Задачею винаходу є удосконалення способу одержання соку каланхое, у якому за рахунок запропонованої його обробки досягається збереження активності соку, збільшення терміну придатності.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом одержання соку каланхое, що включає подрібнювання сировинної маси, виділення рідкої фази центрифугуванням, витримку рідкої фази і відділення осаду стерилізуючою фільтрацією, додавання консерванту до фільтрату, у якому після додавання консерванту фільтрат витримують при температурі 1-10°C і піддають фільтрації.

Фільтрат витримують на холоді протягом від 1 до 30 діб.

Стерилізуючи фільтрацію здійснюють через мембранні фільтри з діаметром пор 0,22мкм.

Як консервант використовують спирт етиловий у кількості 3-20% об. або хлороформ, що додають до одержання 0,1-0,5%-ного розчину.

Експериментально нами було виявлено, що дозрівання фільтрату соку на холоді після додавання до нього консерванту протягом визначеного часу приводить до утворення осаду. Однак утворення цього осаду в таких умовах і відділення його фільтрацією не приводить до зниження активності соку при його використанні. При цьому при нагріванні соку перед його використанням до температури 22-37°C осад не утворюється і активність соку не зменшується. Крім того, сік зберігає свою активність більш тривалий час. Термін збереження соку каланхое збільшується до 1,5 року.

Спосіб здійснюється таким чином.

Для одержання соку каланхое використовують свіжі паростки рослини каланхое перистого (*Kalanchoe pinnata*), сімейства товстолих (Grassulaceae), що збирають у період вегетації. Свіжі паростки витримують у темному місці при температурі 2-10°C протягом 1-10 діб.

Промиту зелену масу подрібнюють на м'ясорубці, центрифугують при 500-1000об./хв. протягом 1-4 годин. Рідку фазу збирають у скляні ємності і поміщають у холодильну камеру при температурі 2-10°C на 1-3 доби. Осад, що утворився, відокремлюють стерилізуючою фільтрацією. До фільтрату додають консервант -спирт етиловий (ГФ, стор. 776) у кількості 3-20 % об. або хлороформ (ФС 424 Ф2 349-98) до одержання 0,1-0,5%-ного розчину, - і витримують для дозрівання на холоді при температурі 1-10°C протягом від 1 до 30 діб до утворення осаду. Суміш піддають фільтрації на мембранних фільтрах з діаметром пор 0,22мкм. Отриманий сік розливають в асептичних умовах в ампули або флакони.

Сік каланхое являє собою прозору або злегка опалесцентну рідину від ясно-жовтого до жовтого кольору з оранжевим відтінком, з ароматичним запахом. Реакція кисла (рН соку 3,8-6,0).

Для перевірки антивірусної активності соку каланхое, отриманого за відомою технологією і за винаходом, використовували вірус везикулярного стоматиту (ВВС). Цей вірус вирощували в культурах клітин HeLa; як підтримуюче використовували середовище №199. Титування ВВС здійснювали методом бляшок у культурах клітин під бентонітовим живильним покриттям, інфекційний титр ВВС знаходився в межах 10⁴-10⁵БОЕ/мл.

Визначення віруліцидної дії соку здійснювали за такою методикою: до послідовних дворазових розведень соку в ізотонічному розчині хлориду натрію додавали рівну за обсягом кількість розведення вірусу, що містить 50-100БОЕ. Суміш інкубували при 37°C протягом 30хв. після чого інфікували культуру клітин. Віруліцидну активність соку виражали величиною іН₅₀, тобто максимальним розведенням соку, що ще здатна подавити утворення 50 % бляшок. Аналізу піддавали свіжоприготовлений сік і сік, що зберігається в ампулах протягом 1 місяця, 6 місяців, 1 року і 1,5 року.

При використанні соку каланхое, отриманого відповідно винаходу, випадання осаду і зниження активності не спостерігаються. Активність соку при дотриманні умов збереження не зменшується протягом 1,5 років.

Нижче приведені конкретні приклади одержання соку, що підтверджують, але не обмежують обсяг винаходу.

Приклад 1.

Промиту зелену масу подрібнюють на м'ясорубці, центрифугують при 1000об./хв. протягом 1 години. Рідку фазу збирають у скляні ємності, і поміщають у холодильну камеру при температурі 4°C на 2 доби. Осад, що утворився, відокремлюють стерилізуючою фільтрацією. До фільтрату додають хлороформ у кількості 3мл на 1л рідини і витримують для дозрівання на холоді при температурі 4°C протягом 5 діб. Осад, що утворився,

відокремлюють фільтрацією на мембранних фільтрах з діаметром пор 0,22мкм. Сік розливають в асептичних умовах в ампули, по 5мл або флакони по 10 і 20мл.

Отриманий сік являє собою прозору рідину жовтого кольору з оранжевим відтінком, з ароматичним запахом. Реакція кисла, рН 4,

Віруліцидна активність свіжоприготовленого соку, а також соку, що зберігається в ампулах протягом 1,5 року, після розкупорювання ампул приведена в таблиці.

Приклад 2.

Промиту зелену масу подрібнюють на м'ясорубці, центрифугують при 1000об./хв. протягом 1 години. Рідку фазу збирають у скляні ємності і поміщають у холодильну камеру при температурі 4°C на 2 доби. Осад, що утворився, відокремлюють стерилізуючою фільтрацією. До фільтрату додають спирт етиловий у кількості 10% об. і витримують для дозрівання на холоді при температурі 4°C протягом 8 діб. Осад, що утворився, відокремлюють фільтрацією на мембранних фільтрах з діаметром пір 0,22мкм. Сік розливають в асептичних умовах в ампули по 5 мл або флакони по 10 і 20мл.

Отриманий сік являє собою прозору рідину жовтого кольору з оранжевим відтінком, з ароматичним запахом. Реакція кисла, рН 5,2.

Віруліцидна активність свіжоприготовленого соку, а також соку, що зберігається в ампулах протягом 1,5 року, після розкупорювання ампул приведена в таблиці.

Приклад 3.

Промиту зелену масу подрібнюють на м'ясорубці, центрифугують при 500об./хв. протягом 3 годин. Рідку фазу збирають у скляні ємності і поміщають у холодильну камеру при температурі 8°C на 2 доби. Осад, що утворився, відокремлюють стерилізуючою фільтрацією. До фільтрату додають хлороформ у кількості 5мл на 1л рідині і витримують для дозрівання на холоді при температурі 8°C протягом 15 діб. Осад, що утворився, відокремлюють фільтрацією на мембранних фільтрах з діаметром пір 0,22мкм. Сік розливають в асептичних умовах в ампули по 5мл або флакони по 10 і 20мл.

Отриманий сік являє собою прозору рідину жовтого кольору з оранжевим відтінком, з ароматичним запахом. Реакція кисла, рН 4,8.

Віруліцидна активність свіжоприготовленого соку, а також соку, що зберігається в ампулах протягом 1,5 року, після розкупорювання ампул приведена в таблиці.

Таблиця

Одержання соку	Віруліцидна активність соку у відношенні ВВС					через 1,5 року
	свіжопри-готовлений	через 1 міс.	через 3 міс.	через 6 міс.	через 12 міс.	
Відомий	1:8192	1:4096	1:4096	1:4096	1:4096	1:2048
за Прикладом 1	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192
за Прикладом 2	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192
за Прикладом 3	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192	1:8192

При використанні соку каланхое, отриманого згідно запропонованого способу, не спостерігається випадання осаду. Як видно з табличних даних, віруліцидна активність соку протягом зберігання 1,5 року не зменшується.