

Изобретение относится к фармацевтической промышленности и касается получения средства, обладающего ранозаживляющим и антимикробным действием.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому способу является выбранный в качестве прототипа способ получения средства, обладающего ранозаживляющим и антимикробным действием, путем экстракции растительного сырья этанолом, упаривания, очистки, извлечения целевого продукта органическим растворителем и повторного упаривания. В качестве растительного сырья используют листья ореха грецкого (*Juglans regia* L.). Экстракцию проводят 70 - 75° спиртом методом настаивания. Упаренный экстракт очищают хлороформом в соотношении 1 : 1, а целевой продукт извлекают смесью этилового спирта и этилацетата в соотношении (8 - 9) : (2 - 1). Затем отделяют водный остаток и полученный экстракт повторно упаривают [1].

К недостаткам прототипа можно отнести недостаточно высокий процент выхода сухого экстракта готового продукта, а также относительная сложность способа, связанная с использованием этилацетата.

Целью изобретения является повышение выхода готового продукта.

Поставленная цель достигается тем, что при получении средства, обладающего ранозаживляющим и антимикробным действием осуществляют экстракцию растительного сырья из листьев ореха грецкого (*Juglans regia* L.) этанолом методом настаивания, отделение водного остатка и упаривание полученного экстракта под вакуумом. Отличительной особенностью заявляемого способа является то, что перед экстракцией растительное сырье обрабатывают хлороформом в соотношении 1 : 5 ... 6 со сменой растворителя через каждые 12ч не менее 5 раз, до полного обесцвечивания растворителя, затем сырье просушивают при комнатной температуре до удаления запаха хлороформа, после чего целевой продукт извлекают путем двойной экстракции 70 ... 75% - ным этанолом в соотношении 1 : 6 ... 8 со сменой экстрагента через 24ч с последующей отгонкой спирта из объединенного экстракта под вакуумом, после чего водную фракцию упаривают под вакуумом до сухого остатка.

Обработка листьев ореха грецкого перед экстракцией хлороформом в соотношении 1 : 5 ... 6 со сменой растворителя до полного его обесцвечивания обеспечивает полное удаление липофильной фракции, не обладающей полезной активностью, что позволяет более полно выделить целевые гидрофильные вещества при последующей экстракции 70 - 75% - ным этанолом.

Просушивание сырья при комнатной температуре после обработки хлороформом необходимо для полного удаления хлороформа, чтобы избежать смешивание растворителя и этанола при последующей экстракции сырья, что затрудняет более полное извлечение гидрофильных веществ. Удаление хлороформа контролируют по наличию его запаха.

Экстракция сырья после удаления хлороформа 70 ... 75° этиловым спиртом в соотношении 1 : 6 ... 8 последовательно два раза

с последующей отгонкой спирта из объединенного экстракта и упаривание водной, фракции обеспечивает наиболее полное извлечение гидрофильного вещества из растительного сырья.

Соотношения между количеством сырья и хлороформом, а также этанолом определены экспериментально.

Наличие перечисленных, отличительных по отношению к выбранному прототипу признаков, позволяет сделать вывод о соответствии заявляемого способа критерию изобретения "Новизна".

В связи с отсутствием в известных источниках информации признаков, отличающих заявляемый способ от прототипа, можно сделать вывод о соответствии разработанного технического решения критерию изобретения "Существенные отличия". В прототипе удаление липофильных компонентов осуществляют путем обработки водного остатка, образующегося после экстракции растительного сырья этанолом и удаления из экстракта этилового спирта упариванием. Последующая экстракция смесью этиловый спирт - этилацетат позволяет выделить только ту сумму флавоноидов, которая была экстрагирована из растительного сырья совместно с липофильными компонентами. В заявляемом же способе предварительное удаление липофильных компонентов хлороформом до начала экстракции позволяет во время экстракции этанолом более полно выделить только гидрофильные вещества.

Положительный эффект, указанный в цели изобретения, будет получен благодаря тому, что предварительное удаление из растительного сырья липофильных компонентов до начала экстракции позволяет более полно осуществить выделение только гидрофильных веществ в процессе экстракции этанолом. Экстракт выделенных гидрофильных веществ проявляет ранозаживляющее и антимикробное действие.

Заявляемый способ может быть реализован, например следующим образом. Сухой лист ореха грецкого (*Juglans regia* L.) в количестве 10кг измельчали на вальцах и заливали 50л хлороформа (соотношение 1 : 5). Растворитель меняли через 12ч 6 раз до полного обесцвечивания хлороформа. Затем сырье просушивали при комнатной температуре до полного удаления запаха хлороформа. После органолептического определения отсутствия запаха хлороформа сырье заливали 70° этиловым спиртом в количестве 70л (соотношение 1 : 7). Через 24ч производили замену этилового спирта. Спиртовые экстракты объединяли и под вакуумом на водяной бане отгоняли спирт. Упаривание экстракта этилового спирта производили на аппарате "Симакс". Оставшуюся водную фракцию высушивают под вакуумом до получения сухого остатка. Выход готового продукта составил 10,7% (у прототипа 8,0%).

Готовый продукт представляет собой мелкокристаллический порошок коричнево-красного цвета, со своеобразным запахом, горького вкуса, хорошо растворимый в воде, спирте и ацетоне. Рекомендованное хранение: в плотнокупоренных склянках оранжевого стекла в прохладном месте.

По описанной технологии проводились эксперименты, в которых изменялось соотношение между массой сырья и объемом

этанол. Изменялась также концентрация этилового спирта. Данные экспериментов сведены в табл.1.

На основании проведенных опытов можно сделать вывод, что оптимальной концентрацией этилового спирта является 70 ... 75°, соотношение сырья и хлороформа должно составлять 1 : 5 ... 6, а сырья и этилового спирта - 1 : 6 ... 8. Дальнейшее повышение количества хлороформа при предварительной обработке сырья и повышение количества этилового спирта при последующей экстракции сырья нецелесообразно, так как выход годного продукта практически не увеличивается.

Ранозаживляющая активность исследуемого экстракта оценивалась по скорости эпителизации поверхности пораженного участка кожи. Динамика изучения площади раны пораженной поверхности представлена в табл.2, и свидетельствует о выраженном и соизмеряемом терапевтическом эффекте 1%-ного раствора гидрофильного экстракта из листьев ореха грецкого, полученного по заявляемому способу.

Как видно из табл.2, полная эпителизация раневого дефекта при применении экстракта, полученного по заявляемому способу, наступает на 12 сутки, т.е. активность полученного экстракта такая же, как и экстракта, полученного по способу-прототипу.

Антимикробная активность гидрофильного экстракта листа ореха грецкого, полученная по заявляемому способу, определялась методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне с последующим посевом на МПА или среду Плоскирева для определения минимальной бактерицидной концентрации водного раствора исследуемого экстракта. В качестве тест-микробов были исследованы следующие штаммы: стафилококка №25923, синегнойной палочки №27653, протеус вульгарис №Х4636. В результате экспериментов установлено, что минимальная бактерицидная концентрация исследуемого экстракта в отношении стафилококка составляет 0,9 - 1,0% - ный раствор, в отношении синегнойной палочки - 0,5 - 1,0% - ный раствор и в отношении протея - 0,9 ... 1,1% - ный раствор экстракта из листьев ореха грецкого.

Средство, полученное по заявляемому способу, обладает в 3 раза более выраженной антимикробной активностью в отношении изученных штаммов микроорганизмов по сравнению с "хлорофиллиптом".

В сравнении со способом прототипом заявляемый способ позволяет повысить выход средства, обладающего ранозаживляющим и антимикробным действием на 0,7 ... 2,9%. При этом упрощается реализация способа, так как отпадает необходимость использовать этилацетат, предусмотренный по технологии прототипа.

№№ пп	Соотношение: сырье/хлороформ	Соотношение: сырье/этиловый спирт	Конц спирт
1	1:4	1:5	
2	То же	—"	
3	—"	—"	
4	—"	—"	
5	1:4	1:6	
6	То же	—"	
7	—"	—"	
8	—"	—"	
9	1:4	1:7	
10	То же	—"	
11	—"	—"	
12	—"	—"	
13	1:4	1:8	
14	То же	—"	
15	—"	—"	
16	—"	—"	
17	1:5	1:5	

18	То же	—"
19	—"	—"
20	—"	—"
21	1:5	1:6
22	То же	—"
23	—"	—"
24	—"	—"
25	1:5	1:7
26	То же	—"
27	—"	—"
28	—"	—"
29	1:5	1:8
30	То же	—"
31	—"	—"
32	—"	—"
33	1:6	1:5
34	1:6	1:5
35	—"	—"
36	—"	—"
37	1:6	1:6
38	—"	—"
39	—"	—"
40	—"	—"
41	1:6	1:7
42	—"	—"
43	—"	—"
44	—"	—"
45	1:6	1:8
46	—"	—"
47	—"	—"
48	—"	—"

№№ пп	Препарат	1	
1	1 %-ный раствор средства, полученного заявляемым способом	478 100%	
2	1 %-ный раствор средства, полученного по способу прототипу (з. № 4734579/30-№-14)	478 100%	
3	2 %-ный раствор хлорофиллипта	511 100%	
	Контроль	521 100%	

№№ пп	Дни		
	12	14	18
1	7,0 1,5%		
2	7,0 1,5%		
3	204 40% 299 57%	148 29% 231 44%	41 8% 152 29%
	70	9,4	
	75	9,6	
	80	8,9	
	65	8,6	
	70	8,8	
	75	9,9	
	80	8,9	
	65	8,5	
	70	8,7	
	75	8,9	
	80	8,7	