



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 718092

В П Т Б

ФОНД ИЗОБРЕТОВ

(61) Дополнительное к авт. свид-ву -

(22) Заявлено 24.04.78 (21) 2609180/28-13

с присоединением заявки № -

(23) Приоритет -

Опубликовано 28.02.80. Бюллетень № 8

Дата опубликования описания 03.03.80

(51) М. Кл.²

A 61 B 10/00

G 01 N 33/16

(53) УДК 616-074

(088.8)

(72) Авторы
изобретения

В. В. Михню, В. В. Петренко, И. Г. Постригань
и П. П. Луцко

(71) Заявитель

Запорожский медицинский институт

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭРИЗИМИНА

1

Изобретение относится к области клинической биохимии, а именно к способу определения гликозида эризимина и может быть применено для количественного и качественного анализа этого соединения в различном материале для клинических исследований.

Известен способ определения эризимина путем воздействия на исследуемый материал реагентом с последующей фотометрией образовавшегося окрашенного продукта [1].

Недостатком этого способа является его малая специфичность и точность.

Цель предлагаемого изобретения - повышение чувствительности и специфичности анализа.

Поставленная цель достигается тем, что в качестве реагента используют 2,3,2,4-тетранитродифенил, и реакцию проводят в щелочной среде.

К раствору 10 мкг исследуемого препарата в 96° этаноле или к 0,1 мл ампульного раствора прибавляют до

2

2 мл 96° этанол, 2,5 мл 15%-ного спиртового раствора ТНДФ, 0,5 мл 0,15 н. водного раствора едкого кали. Смесь охлаждают до 20-22°C. При этом возникает синее окрашивание. В опыте для сразнения проба бесцветна.

Построение калибровочного графика определения эризимина.

Точную навеску препарата (0,0500 г) растворяют в 96° этаноле, количественно переносят в мерную колбу на 50 мл, и доводят до метки этим же растворителем (раствор А). Из разведения берут 10 мл (точно мерной пипеткой) переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят 96° этанолом до метки (раствор Б). Из раствора Б берут 0,1; 0,2; 0,5; 1 и 2 мл, помещают в пробирки, добавляют 96° этанол до 2 мл, 2,5 мл 0,15% спиртового раствора ТНДФ, 0,5 мл 0,15 н. водного раствора едкого кали. Смесь охлаждают до 20-22°C и проводят измерение оптической плотности растворов, окрашенных в синий цвет, через 20 минут

после добавления щелочи. Измерения проводят на фотоэлектроколориметре ФЭК-И. В течение 20 мин до измерения растворы хранят в темноте. Светофильтр красный, кювета 5 мм, фон - смесь реактивов. Экспозиция t_E окрашенных

комплексов 18-20 мин, стабильность окрашивания Δt 8-10 мин. Подчиняемость продукта реакции основному закону светопоглощения наблюдается в пределах концентраций препарата 10-150 мкг/мл. Данные приведены в таблице.

Результаты зависимости величины оптической плотности окрашенных растворов эризимина с ТНДФ от концентрации

Концентрация раствора Б, мг	Концентрация препарата, мкг	Оптическая плотность							
		D_1	D_2	D_3	D_4	D_5	D_6	D_7	D_8
0,1	10	0,550	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
0,2	20	0,100	0,085	0,100	0,100	0,090	0,095	0,100	0,095
0,4	40	0,180	0,170	0,170	0,170	0,170	0,180	0,175	0,180
0,5	50	0,235	0,217	0,210	0,240	0,220	0,240	0,240	0,235
0,7	70	0,330	0,325	0,300	0,325	0,330	0,330	0,330	0,320
1,0	100	0,470	0,450	0,450	0,500	0,470	0,460	0,490	0,480
1,2	120	0,600	0,600	0,590	0,580	0,560	0,560	0,600	0,580
1,4	140	0,680	0,680	0,680	0,650	0,650	0,680	0,690	0,650
1,5	150	0,720	0,700	0,700	0,700	0,720	0,690	0,710	0,720
2,0	200	0,900	0,890	0,900	0,900	0,840	0,850	0,860	0,870

Пример. К 100 г печени, почек, крови и мочи трупа, погибшего от травмы, добавляют 1000 мкг эризимина. Изолирование проводят через сутки 70%-ным этанолом. Настаивают объект с растворителем 24 ч. После трехкратного настаивания спиртовые вытяжки объединяют, упаривают при 60°C и осаждают белки 96% этанолом. Осадок коагулировавших белков отфильтровывают, раствор упаривают и растворяют в 50 мл 20%-ного этанола. Полученный раствор двоекратно очищают от примесей экстракцией этиловым эфиром. Из очищенного спиртоводного раствора экстрагируют эризимин четырьмя смесью этанола - хлороформа 1:4. Объединенный спирто-хлороформный экстракт очищают экстракцией 1 н. раствором едкого натра, промывают дистиллированной водой, сушат, пропуская через слой безводного сульфата натрия и упаривают при 40°C

досуша. Сухой остаток растворяют в 5 мл 96% этанола. Из разведения берут 1,0 мл, добавляют до 2 мл 96% этанол. Изолирование из мочи проводят аналогично, опуская настаивание 70%-ным этанолом и осаждение белков. Расчет процентного содержания эризимина, выделенного из биологического материала, проводят по формуле

$$\% = \frac{a \cdot V_2 \cdot 100}{V_1 \cdot p},$$

где

a - концентрация, мкг, найденная по калибровочному графику;

V_1 - объем, мл, взятый на анализ;

V_2 - объем, мл, в котором растворен сухой остаток;

p - количество эризимина, мкг, добавленного к 100 г объекта.

Результаты исследования контрольных проб указывают на отсутствие влияния экстрактивных веществ из печени на определение эризимина, колориметрируемые растворы практически бесцветны.

Способ позволяет повысить чувствительность и специфичность метода определения эризимина, исключить дорогостоящее оборудование, упростить методику анализа эризимина, уменьшить расход исследуемого препарата.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения эризимина путем воздействия на исследуемый материал реагентом с последующей фотометрией образовавшегося окрашенного продукта, отличающийся тем, что, с целью повышения чувствительности и специфичности анализа, в качестве реагента используют 2,4,2,4-тетранитродифенил, и реакцию проводят в щелочной среде.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе
1. Аптечное дело. 3, 1962, с. 38-41.

Составитель Л. Морозова

Редактор Л. Герасимова Техред М. Петко Корректор Е. Папп

Заказ 9983/6

Тираж 673

Подписное

ЦНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4