МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ЦЕНТР СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЫ '

**Стандартные операционные процедуры по методу обнаружения бисопролола**

**в моче методом ТСХ**

СОСТАВИТЕЛИ: ЮКФА, Ордабаева С.К. - д.фарм.н., профессор,

Серикбаева А.Д., к.фарм.н,,доцент, Кулаева С.Ю, - магистрант

Астана, 2016 год

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

|  |  |
| --- | --- |
| 1. Наименование методики | Стандартные операционные процедуры по методу обнаружения бисопролола в моче методом ТСХ. |
| 2.Шифр специальности методики | 27.1 |
| 3. Информация об авторе (ах) (составителе (ях)) методики | Составитель: ЮКФА, Ордабаева С.К. – д.фарм.н., профессор, Серикбаева А.Д., к.фарм.н.,доцент, Кулаева С.Ю. - магистрант Использовнные источники1. 1. . Hahn-Deinstrop E. Applied Thin-Layer Chromatography.-2nd Ed. -Wiley, 2007.
2. 2. Reich E., Widmer V. Thin Layer Chromatography//Ullmann's Encyc-lopedia of Industrial Chemistry. -Wiley, 2012.
3. 3. Приказ министра здравоохранения Республики Казахстан от 20 мая 2010 года № 368 «Об утверждении Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы».
4. 4. TIAFT 2015 53rd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists 30 August 2015 - 04 September 2015, Italy, Florence
5. 5. Секреты токсикологии: пер. с англ. / Д. Луис, Ф. Ричард, Б. Тимоти, Джон Х. Трестрейл III.– М.-Спб. : Изд. Бином – Диамант, 2006. – 376.
6. 6. Руководство по экспертизе лекарственных средств /под ред. проф. А. Н. Миронова. Том I. / М.: Гриф и К, 2013
 |
| 4. Сущность методики | Сущность Определения бисопролола в моче методом ТСХ с применением в качестве проявляющего реагента модифицированного реактива Драгендорфа по Мунье |
| 4.1 Экспертные задачи, решаемые методикой | Определения в моче бисопролола |
| 4.2 0бъекты исследования | Объекты биологические жидкости |
| 4.3 Методы исследования | Тонкослойная хроматография |
| 4.4 Краткое поэтапное описание методики | 1.Подготока пробы.2. Хроматографическое исследование в тонком слое сорбента3.Оценка результатов. |
| 5. Дата одобрения методики Ученым Советом ЦСМ МЮ РК | Протокол № 1 от 07 «ноября» 2016г. |
| 6. Информация о лице составившим паспорт методики | Составитель: Жуматаева Г.С. |

СОДЕ РЖАНИЕ

1. Введение
2. Область применения
3. Термины и обозначения
4. Основная часть
5. Заключение

 Список использованных источников

Введение

Среди большого арсенала лекарственных веществ, действующих на сердечно- сосудистую систему, широко используются [}|-адреноблокаторы. Одним из ярких представителей этой группы является бисопролол.

Близость границы между терапевтической и токсическими концентрациями, широкое применение бисопролола, токсические свойства, наличие случаев летального отравления, передозировки и применение в криминогенных целях делают его потенциальным объектом судебно- химического исследования. Он включен в список запрещенных лекарственных препаратов Всемирного антидопингового агентства (ВАДЛ) на период соревнований.

Материал для исследования

Объект исследования - моча, не консервированная - 5мл, Забор образцов осуществляется согласно «Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы»

 Область применения

«Стандартные операционные процедуры по методу определения концентрации бисопролола в моче методом ТСХ» используется в качестве стандарта персоналом лаборатории, выполняющим данную процедуру, а также для обучения нового персонала.

Термины и обозначения

**СОП** - стандартные операционные процедуры.

х.ч. - химически чистый. ^

Реактивы

1. Вода дистиллированная **ГОСТ** 33045-2014
2. Хлороформ ГОСТ **20015-88**

3 С пирт-изо проі I иловый **ГО** С Г 98СҺ-84

1. Этила цетат Г0^9-81'79
2. Раствор аммония гидроксида конц. Г ОС I 3/60-79
3. Спирт этиловый 95 % ГОСТ 596---0J3
4. Бисопролола фумарат РК, гЗ, стр, ,э40

Приготовление реактивов:

1. Реактив Драгендорфа модифицированный по Мунье, Вначале 0,85 г нитрита висмута основного растворяют в 40 мл воды и 10 мл уксусной кислоты. Затем готовят раствор йодида калия в воде, для чего 8 г йодида калия растворяют в 20 мл воды. Смешивают равные объемы приготовленных растворов. К 10 мл полученной смеси добавляют 100 мл воды и 20 мл уксусной кислоты.

Оборудование

Хроматографическая камера ГОСТ 10565-75

Хроматографические пластинки «Sorbfil»

Весылабораторныеаналитические **ГОС** Г24104 2001

Мерные пипетки вместимостью 1, 5, 10 см3 ГОСЛ 20292-

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 **см** ГОСТ I

Палочки стеклянные ГОСI - -

Опрыскиватель

У Ф-хром аТОСКОП

Микрокапилляры К 2, 5, 10 мкл

Делительная воронка

Мерный цилиндр

Процедура

*Приготовление раствора модельной смеси.* К 25 мл мочи добавляют спиртовый раствор, содержащий 2,5 мг бисопролола (концентрация вещества соответствует минимальной терапевтической дозе, исходя из среднесуточного объема мочи 1500 мл). Полученную модельную смесь оставляют на 24 часа в холодильнике при температуре 4'С, Органическии

растворитель упаривают в токе теплого воздуха.

*Процедура ЖЖМЭ.* 5 мл мочи с содержанием активною вещества 0Л мг/мл помещают в 100 мл стеклянную колбу с коническим дном и оставляют на час. После этого исследуемый образец переносят в делительную воронку на 100 мл и экстрагируют смесью, состоящей из хлороформа и спирта изопропилового в соотношении 8:2 в течение 15-20 мин при комнатной температуре по 5 мл два раза. Нижний органическии слои отдел яки и фильтруют через бумажный фильтр. После этого, полученные вытяжки объединяют и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл спирта

этилового 96%. „

*Методика обнаруженыя.* На линию старта хроматографической пластины размером 15x15 наносят 10 мкл раствора СОВС бисопролола и 10 мкл извлечения из биологической жидкости. Пластинку с нанесенными пробами подсушивают на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру с подвижной фазой состава хлороформ-спирт-изопропиловый-этил ацегат- раствор аммония гидроксида конц. (40:9:5:0,5 по объему) и хроматографируют восходящим способом, когда фронт растворителя достигает 12 см, пластинку вынимают из камеры, подсушивают на воздухе до полного исчезновения зanaxa растворителей и детектируют раствором, модифицированным по Мунье. При этом Rt и интенсивность пятна бисопролола в испытуемом образце должен соответствовать СОВС .

При концентрации более 5 мкг/мл можно обнаружить бисопролол по собственной **светло-коричневой** окраске, при меньших концентрациях – **но** флюоресценции в УФ-свете.

*Приготовление раствора стандартного образца вещества свидетеля*

*бисопролола (СОВС}* 0,001 г (точная навеска) бисопролола растворяют в 50 мл спирта этилового 95 % в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем тем же раствором до метки и перемешивают. Срок годности раствора - 1 месяц.

***Подготовка камеры для хроматографирования****.* Хроматографирование проводят в стеклянных камерах (высота 30 см, диаметр 15 см), в которые помещают соответствующую смесь растворителей. Толщина слоя жидкости - I см. Камеру плотно закрывают крышкой и оставляют на 30 мин для насыщения пространства парами системы растворителей.

***Предварительная подготовка пластинок.*** При необходимости перед использованием пластинки либо промывают в подходящем растворителе, либо посредством элюирования, погружения или опрыскивания, лиоо **активируют** в термостате при температуре от 100 "С до 105 С в течение 1 ч.

Рассчитать значение Rj бисопролола. Детектировать проявляющим реагентом модифицированного реактива Драгендорфа по Мунье с предварительным **опрыскиванием** 1 % раствором аскорбиновой кислоты для предотвращения взаимодействия крахмала е йодом. Также детектирование провести в УФ-свете и с парами йода.

Заключение.

При применении в качестве проявляющего реагента модифицированного реактива Драгендорфа по Мунье должны наблюдаться пятна ярко­оранжевого цвета.

Под действием паров Йода бисопролол в исследуемом образце и в стандартном образце вещества-свидетеля (СОВС) должен детектироваться в виде пятна темно-коричневого цвета.

Внутренний оперативный контроль

Внутренний оперативный контроль качества результатов контрольного химического анализа осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве анализов и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению.

Список использонанных источников

1. Hahn-Deinstrop Е. Applied Thin-Layer Chromatography.-2nd hd.-Wiley,

2007. ,

2. Reich E., Widmer V. Thin Layer Chromatography/ZUllmann *s* Encyc-lopedia ot Industrial Chemistry . -Wiley, 2012,

3. Приказ министра здравоохранения Республики Казахстан от \_0 мая ~ года Ка 368 «Об утверждении Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы».

4. T1AFT 2015 53rd Annual Meeting of the Iniemational Association от I orensic Toxicologists 30 August 2015-04 September 2015, Italy, Florence

5. Секреты токсикологии: пер. с англ. / Д. Луис, Ф. Ричард, Б. Тимоти, Джон X. Трестрсйл III. - М.-Спб. : Изд. Бином - Диамант, 2006. - 376.

6. Руководство по -экспертизе лекарственных средств /под ред. проф. А. *II* Миронова. Том L / М.; Гриф и К, 2013