



Республика Таджикистан

(19) TJ (11) 1032

(51) МПК G01N 33/50

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**
К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

(21) 1901332

(22) 09.07.2019

(46) Бюл.154, 2019

(71) Кодиров А.Х. (TJ); Пиров Г.З. (TJ);

Рахимова Х.С. (TJ)

(72) Кодиров А.Х. (TJ); Пиров Г.З. (TJ);

Султонмамадова М.П. (TJ);

Рахимова Х.С. (TJ)

(73) Кодиров А.Х. (TJ); Пиров Г.З. (TJ);

Рахимова Х.С. (TJ)

**(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ХОЛЕСТЕРИНА В МОЧЕ**

(56) 1. Ш. Гёрёг Количественный анализ стероидов Москва Изд. «Мир», 1985с.295-297

2. Knights B.A. Qualitative and Quantitative Analysis of plant Sterols by Gas-Liquid Chromatography, in Heftmann E. (Editor). Modern Methods of Steroid Analysis. Academic press. NewYork, London 1973, pp-103-138.

3. Малый патент № TJ 283, 2009, Мироджов Г.К., Кодиров А.Х., Кодиров А.А., Суриев М.Р., Раджабов Г.О. Способ определения холестерина в сыворотке крови методом газожидкостной хроматографии.

4. Вяхирев Д.А., Шушунова А.Ф., Руководство по газовой хроматографии М., Изд. «Высшая школа»-1987 с.-226-228.

(57) Изобретение относится к медицине, вернее к области клинико-биохимической лабораторной диагностики, и может быть использовано в качестве диагностического теста при эффективном лечении различных заболеваний.

Сущность изобретения заключается в том, что для определения холестерина в пробирке с притертой пробке берут 1мл мочи, добавляют 1мл из раствора 0,25мг/мл метилового эфира 3 α , 7 α -дигидрокси-12-кето -5 β -холановой кислоты, экстрагируют холестерин и связанные с ним эфиры с 10мл хлороформом.

Остаток подвергается гидролизу при помощи 0,6мл 4N раствора едкого натрия в присутствии 0,6мл бидистиллированную воды до образования свободного холестерина. Гидролиз проводят в течение 10 минут. Гидролизат нейтрализуют 8%раствором соляной кислоты и дважды экстрагируют хлороформом. Хлороформный экстракт промывают водой, сушат над сульфатом натрия. Затем, экстракт фильтруют и после удаления растворителя, остаток растворяют в 0,2 мл этилового спирта и концентрации общего холестерина определяли газохроматографическим методом.

Изобретение относится к медицине, вернее к области клинико-биохимической лабораторной диагностики, и может быть использовано в качестве диагностического теста при эффективном лечении различных заболеваний.

Известен газохроматографический способ определения холестерина в сыворотке крови, который определяют холестерин в виде метилового эфира, а также использовали силилпроизводных холестерина.

Недостаток данного аналога в том что, теряется часть холестерина и уходит многое время, а также он невыгоден в клинических масштабах.

Известен также способ определения содержания холестерина в сыворотке крови, который используется в медицинской практике в диагностических целях.

Но при использовании данного метода расходуется значительное количество химических реактивов.

Наиболее близкий аналог является, способ определения холестерина в сыворотке крови методом газожидкостной хроматографии заключается в том, что в 0,25 мл сыворотки крови добавляют 1 мл рабочего стандарта – трикосан 0,125 мг/мл, 5 мл хлороформа, взбалтывают в течение 5 минут, фильтруют и выпаривают досуха. Затем добавляют 0,5 мл бидистиллированной воды и 0,5 мл 4N раствора едкого натрия, гидролизуют в течение 15 минут, гидролизат нейтрализуют 10% раствором соляной кислоты и дважды экстрагируют хлороформом, экстракт промывают водой и сушат над сульфатом натрия, фильтруют, удаляют растворитель, остаток растворяют в 0,3 мл этилового спирта и хроматографируют. Недостаток прототипа в том, что используется дорогостоящий внутренний стандарт трикосан.

Задачей изобретения является разработка нового способа, который по сравнению с другими существующими методами было бы более точным и информативным в определение холестерина, будучи в тоже время не трудоемким и дешевым.

Сущность изобретения заключается в том, что для определения холестерина в пробирке с притертой пробке берут 1мл мочи, добавляют 1мл из раствора 0,25мг/мл метилового эфира 3 α , 7 α -дигидрокси-12-кето -5 β -холановой кислоты, экстрагируют холестерин и связанные с ним эфиры с 10мл хлороформом.

Остаток подвергается гидролизу при помощи 0,6мл 4N раствора едкого натрия в присутствии 0,6мл бидистиллированную воды до образования свободного холестерина. Гидролиз проводят в течение 10 минут. Гидролизат

нейтрализуют 8% раствором соляной кислоты и дважды экстрагируют хлороформом. Хлороформный экстракт промывают водой, сушат над сульфатом натрия. Затем, экстракт фильтруют и после удаления растворителя, остаток растворяют в 0,2 мл этилового спирта и концентрации общего холестерина определяли газохроматографическим методом.

Этого способа можно использовать в диагностике мочекаменной болезни, а также калькулезного холецистита, сочетающего с уролитиазом.

Преимуществом способа является доступность сырья: хлороформ метилового эфира 3 α , 7 α -дигидрокси 12-кето-5 β -холановой кислоты и едкого натрия.

Условия хроматографирования. Колонку длиной 1,5 м с внутренним диаметром 0,3 см заполняли фазой: хроматон N-AW зернения 0,160-0,200мм, содержащий 3% SE-30. Темпера хроматографической колонки 170-240 $^{\circ}$ C при программировании температуры 5 $^{\circ}$ C/мин температура испарителя - 280 $^{\circ}$ C, детектора 275 $^{\circ}$ C, скорость газонесителя-40мл/мин, скорость водорода 30мл/мин, скорость движения ленты самописца -0,4см/мин, продолжительность анализа 30- минут.

Для идентификации были приготовлены искусственные смеси из хромато- графически чистых эталонов холестерина и внутреннего стандарта –метилового эфира 3 α , 7 α –дигидрокси-12-кето-5 β -холановой кислоты.

Все полученные хроматограммы оценивали методом внутреннего стандартизациями.

Относительного поправочного коэффициента вычислили по следующей формуле

$$K = \frac{C_i \cdot S_{ст}}{C_{ст} \cdot S_i}$$

K – относительный поправочный коэффициент;

C_i – Концентрация холестерина;

$S_{ст}$ – площадь пика стандарта;

$C_{ст}$ – концентрация стандарта;

S_i – площадь пика холестерина;

Процент холестерина в моче оценивали по следующей формуле:

$$\%C_{\text{холестерин}} = \frac{S_i \cdot M \cdot R \cdot 100}{K_{ст} \cdot S_{ст} \cdot a}$$

M – масса стандарта;

a – количество анализируемой пробы;

$K_{ст}$ – постоянная величина = 1

Формула изобретения

1. Способ определения холестерина методом газожидкостной хроматографии включающий растворения пробы в хлороформе с последующим взбалтыванием, фильтрованием и выпариванием досуха, с добавлением бидистиллированной воды и 0,5 мл 4N раствора едкого натрия, проведение гидролиза и нейтрализацией гидролизата с помощью раствора соляной кислоты и дважды экстрагированием хлороформом и промывания экстракта водой и сушки над сульфатом натрия, фильтрования,

удаления растворителя, растворения полученного остатка в этиловом спирте с последующим хроматографированием, **отличающийся тем, что** в качестве пробы используют мочу, которую растворяют в 1мл раствора метилового эфира 3 α , 7 α -дигидрокси 12-кето-5 β -холановой кислоты.

2. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** гидролиз растворимых веществ проводят в течение 10 минут и гидролизат нейтрализуют 8% раствором соляной кислоты.

Компьютерный набор: Назарова Дж.Д.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ734042, г. Душанбе,
ул. Айни, 14а