

**ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ –
филиал федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии

**РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ
ХИМИИ**

**33.05.01 Фармация (уровень специалитета)
III курс VI семестр**

Студент _____

_____ курс, _____ группа

Преподаватель _____

Пятигорск, 2021

УДК 577.1 (076.5)

ББК 28.072я73

С 46

Рецензент: Кодониди И.П. д-р ф. н., профессор кафедры органической химии ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ

Скульте И.В., Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Жилина О.М.,
Парфентьева Е.П.

С 46 Рабочая тетрадь по биологической химии 33.05.01 Фармация (уровень специалитета) III курс VI семестр

/ Скульте И.В. [и др.]. – Пятигорск: ПМФИ-филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 2021. – 47 с.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с ФГОС ВО по специальности: 33.05.01 Фармация и рабочей программой для студентов 3-го курса очной формы обучения. В тетрадь включены вопросы для обсуждения на занятиях, список используемой литературы, выполняемая на занятии самостоятельная работа, форма протокола для оформления результатов работы, темы заслушиваемых докладов. Рабочая тетрадь предназначена для самостоятельной аудиторной работы студентов под руководством преподавателя с целью закрепления и усвоения знаний.

УДК 577.1.017 (076)

ББК 28.072я73

Печатается по решению Центральной методической комиссии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ

© ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ- филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 2021

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Темы лабораторных занятий	Вид занятия	Коли- чество часов
1.	Катаболизм липидов.	ЛЗ	3
2.	Синтез липидов. Обмен стероидов.	ЛЗ	3
3.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен липидов.	ЛЗ	3
4.	Обмен аминокислот и белков.	ЛЗ	3
5.	Пути обезвреживания аммиака в клетке.	ЛЗ	3
6.	Обмен сложных белков.	ЛЗ	3
7.	Матричные биосинтезы: репликация, транскрипция и трансляция. Основные этапы белкового синтеза.	ЛЗ	3
8.	Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков.	ЛЗ	3
9.	Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Классификация. Механизм действия.	ЛЗ	3
10.	Стероидные гормоны. Гормоны – производные аминокислот. Белково-пептидные гормоны. Гормоны производные жирных кислот.	ЛЗ	3
11.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны.	ЛЗ	3
12.	Биохимия органов и тканей.	ЛЗ	3
13.	Фармацевтическая биохимия.	ЛЗ	3
14.	Метаболизм лекарственных соединений.	ЛЗ	3
15.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Обмен липидов. Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Фармацевтическая биохимия.	ЛЗ	3

Как пользоваться рабочей тетрадью

1. Ознакомьтесь с содержанием очередного занятия и приведёнными техниками работы.
2. Пользуясь учебниками, лекциями, методическими пособиями подготовьтесь к входному контролю по вопросам для обсуждения и тестированию.
3. Список литературы для подготовки к занятию приведён в конце рабочей тетради.
4. Под руководством преподавателя на занятии студенты заполняют протокол.
5. Преподаватель проверяет протокол и по итогам работы на занятии выставляет оценку в кафедральном журнале.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.

Прежде чем приступить к самостоятельной работе, необходимо знать некоторые обязательные правила при выполнении биохимических анализов, что позволит избежать несчастных случаев, возможных при работе с ядовитыми и взрывчатыми веществами, концентрированными кислотами и щелочами.

Общие правила.

Все работы в лаборатории проводить в рабочей одежде – халате и шапочке. При использовании реактивов обращать внимание на надписи на этикетке. Растворы из разных склянок набирать разными пипетками, пипетки ставить в те склянки, из которых они были взяты, не путать пробки от склянок.

Не пробовать на вкус или на ощупь неизвестные вещества.

Не производить смешивание веществ, результаты реакции между которыми неизвестны.

Работу с выделением ядовитых газов и сильно пахнущими веществами производить в вытяжном шкафу.

Не следует вдыхать выделяющиеся газы непосредственно из пробирки или направлять их в лицо. При подогревании пробирки направлять её отверстие в сторону от себя и товарища.

Ввиду того, что водород, метан, этилен и ацетилен образуют с воздухом взрывчатые смеси, нельзя поджигать их у отверстия газоотводной трубки, не убедившись предварительно, что воздух полностью вытеснен из пробирки.

Не принимать пищу на рабочем месте и во время работы.

При возникновении пожара в лаборатории тушить его, прикрыв пламя тряпкой, одеялом или засыпав песком. Ящики с песком должны быть в каждой лаборатории. Знать места расположения огнетушителей.

Не жечь зря электроплитки и газ.

После работы поставить все реактивы на место, вымыть посуду, убрать рабочий стол. В конце работы обязательно вымыть руки.

**С правилами техники безопасности
ознакомлен и обязуюсь выполнять**

Инструктаж провёл _____

/ _____ /

Занятие 1. Тема: Катаболизм липидов.

Цель: знать переваривание жиров в пищеварительном тракте: гидролиз и ресинтез триглицеридов и фосфолипидов; катаболизм жиров в тканях, окисление и синтез жирных кислот. Уметь проводить гидролиз триацилглицеринов молока с помощью панкреатической липазы и желчных кислот с определением продуктов гидролиза жирных кислот, объяснять роль желчных кислот в данном процессе; выполнять определение бета – и пре-бета – липопротеинов в сыворотке крови; давать диагностическую оценку этих показателей при патологии липидов.

Вопросы для обсуждения.

1. Гидролиз и ресинтез триацилглицеринов и фосфолипидов в желудочно – кишечном тракте с написанием уравнений.
2. Структура желчных кислот и их роль в пищеварении жиров.
3. Особенности всасывания жирных кислот в кишечнике.
4. Катаболизм триацилглицеринов в тканях.
5. Окисление глицерина в тканях (схема) и его энергетический итог.
6. Бета-окисление жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов, бета – окисление непредельных жирных кислот с написанием уравнений. Энергетический итог окисления жирных кислот.
7. Синтез жирных кислот в тканях с написанием уравнений.

Выполняемая работа.

Работа 1. Изучение динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы.

Работа 2. Определение содержания бета и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Саммай.

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления о роли липопротеинов при нарушениях липидного обмена.

Подпись преподавателя _____

Изучение динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы

Таблица 1

Принцип метода: _____

№ колбы	Молоко	H ₂ O дистил.	5% р-р панкреатина, рН=8,0	Желчь	Термостат, 37°C	Инкубац. смесь	H ₂ O дистил	Р-р фенолфталеина 0,5%	Объем 0,1М р-ра NaOH, пошедшего на титрование (до слабо – розового окрашивания)
№1	5 мл	1 мл	-	-	30 мин	5 мл	10 мл	2 кап.	
№2	5 мл	-	1 мл	-	30 мин	5 мл	10 мл	2 кап.	
№3	5 мл	-	1 мл	5 кап	30 мин	5 мл	10 мл	2 кап.	

Вывод: _____

Определение содержания бета – и пре бета – липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Самой

Принцип метода: _____

Таблица 2

Кювета	Хлорид кальция 0,025М р-р	Сыворотка крови	ФЭК, 720 нм, против воды	Гепарин, 1000 Ед в 1 мл.	Через 4 мин. ФЭК, λ=750 нм, против воды	Расчет $X = (E_{II} - E_I) * 11,65 =$ (г/л)
0,5 см	2,0 мл.	0,2 мл	E _I =	0,04 мл (≈ 2 кап.)	E _{II} =	= (г/л)

Норма = 3,6 – 6,5 г/л

Вывод: _____

Подпись преподавателя: _____

Занятие 2. Тема: Синтез липидов. Обмен стероидов.

Цель: знать синтез липидов в тканях (триацилглицеринов и фосфолипидов); обмен стероидов и холестерина; нейрогуморальную регуляцию обмена липидов; нарушения обмена липидов. Уметь определять содержание холестерина в сыворотке крови по методу Илька; определять наличие кетоновых тел в моче; проводить качественные реакции на стероиды; анализировать результаты определений, давать диагностическую оценку этих показателей при патологии обмена липидов.

Вопросы для обсуждения.

1. Синтез липидов в тканях.
2. Особенность синтеза триацилглицеринов в печени и почках.
3. Особенность синтеза триацилглицеринов в мышцах и жировой ткани.
4. Синтез фосфолипидов у холинсинтезирующих и холиннесинтезирующих организмов с написанием уравнений.
5. Катаболизм холестеридов и холестерина с написанием уравнений.
6. Роль холестерина как предшественника холевых кислот, витамина Д₃, стероидных гормонов.
7. Биосинтез холестерина и реакции образования мевалоновой кислоты.
8. Биосинтез кетоновых тел, их роль в условиях патологии (с написанием уравнений).
9. Нейрогуморальная регуляция обмена липидов.
10. Основные формы нарушений липидного обмена.

Выполняемая работа.

Работа 1. Качественные реакции на стероиды.

Работа 2. Определение содержания холестерина в сыворотке крови по методу Илька.

Работа 3. Определение кетоновых тел в моче.

Таблица 1**Качественные реакции на стероиды**

Реакция	Раствор стероида	Реактив	Наблюдаемые изменения	Принцип реакции
Гупперт – Сальковского	10 кап	Конц. H ₂ SO ₄ – 10 кап.		
Либермана - Бурхарда	10 кап	Уксусный ангидрид, 10 кап + 2 кап конц. H ₂ SO ₄ (реактив Либермана-Бурхарда)		

Вывод: _____

Определение содержания холестерина в сыворотке крови по методу Ильки

Принцип метода:

Пробирка (абсолютно сухая)	Реактив Илька	Сыворотка крови	Встряхивание	Термостат 37°C	ФЭК, $\lambda=750$ нм против реактива Илька (кювета на 0,5 см.)	Расчет по калибровочному графику
№1	2,1 мл	0,1 мл сыворотка №1	11-12 раз	10-20 мин	$E_I =$	$X_I =$ ммоль/л
№2	2,1 мл	0,1 мл сыворотка №2	11-12 раз	10-20 мин	$E_{II} =$	$X_{II} =$ ммоль/л

Норма - 3,0 – 6,2 ммоль/л

Вывод:

Таблица 3

Определение кетоновых тел в моче

Исходный материал	Проба Ледяля на ацетон и ацетоуксусную кислоту					Проба Герхарда на ацетоуксусную кислоту	
	10 % р-р нитропруссид натрия	10 % р-р NaOH	Изменение окрасивания	Конц. СН ₃ СООН	Изменение окрасивания	10% р-р хлорида железа (III)	Изменение окрасивания
Нормальная моча 10 кап.	2 кап.	4 кап.		10 кап.		3 кап. К 10 кап. мочи нормальной	
Патологическая моча 10 кап.	2 кап.	4 кап.		10 кап.		3 кап. К 10 кап. мочи патологической	
Принцип метода:							
Принцип метода							

Работа 4. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Изучение роли кетоновых в норме и при патологии.

Подпись преподавателя _____

Занятие 3. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен липидов.

Цель – закрепить теоретические знания по разделу и провести контроль усвоения практических навыков и умений.

Вопросы для обсуждения.

1. Какова роль липидов в жизнедеятельности организма?
2. Гидролиз триацилглицеринов в пищеварительном тракте, напишите уравнения.
3. Гидролиз фосфолипидов в пищеварительном тракте, напишите уравнения.
4. Структура желчных кислот и их роль в пищеварении липидов, напишите формулы кислот.
5. Всасывание продуктов гидролиза липидов.
6. Ресинтез триацилглицеринов в кишечном эпителии, фосфатидный и бета – моноглицеридный пути ресинтеза, напишите уравнения.
7. Ресинтез в кишечном эпителии фосфолипидов (фосфотидилхолина), напишите уравнения.
8. Гидролиз жиров в тканях, три вида липаз участвующих в гидролизе.
9. Окисление глицерина (продукта гидролиза триацилглицеринов) в тканях до CO_2 и H_2O , энергетический итог окисления (напишите схему).
10. Напишите уравнения реакций бета – окисления жирных кислот в тканях, особенности окисления насыщенных жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов, окисление ненасыщенных жирных кислот.
11. Каков энергетический итог окисления жирных кислот? Рассчитать энергетический итог бета – окисления пальмитиновой кислоты.
12. Напишите уравнения реакций синтеза жирных кислот в тканях.
13. Синтез триацилглицеринов в тканях. Особенности их синтеза в тканях печени, почек, жировой ткани, мышцах.
14. Синтез фосфолипидов в тканях. Особенности синтеза в холинсинтезирующих и холиннесинтезирующих организмах, напишите уравнения этих синтезов.
15. Напишите реакции катаболизма холестерина и холестерина в тканях.
16. Основные этапы синтеза холестерина в тканях, напишите реакции биосинтеза мевалоновой кислоты.
17. Синтез холестеридов в тканях, напишите уравнения.
18. Нейрогуморальная регуляция липидного обмена.
19. Нарушения липидного обмена: гиперлипидемия, кетоз, атеросклероз, желчекаменная болезнь, нарушение перехода липидов из крови в ткани.
20. Напишите реакции биосинтеза кетоновых тел в тканях.
21. Нарушения липидного обмена при сахарном диабете. Как развивается кетонемия и кетонурия?

Работа 1. Результаты анализа контрольных проб.

Таблица 1

Определение содержания бета - и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Самай

Кювета	Показания ФЭК при 750 нм, против воды	Показания ФЭК через 4 мин при 750 нм против воды	Расчет $X = (E_{II} - E_I) * 11,65 =$ (г/л)
0,5 см	$E_1 =$	$E_2 =$	

Вывод: _____

Определение кетоновых тел в моче

Таблица 2

Исходный материал	Проба Легалья на ацетон и ацетоуксусную кислоту	Проба Герхарда на ацетоуксусную кислоту
	Изменение окрашивания	Изменение окрашивания
Исследуемая моча №1 №2		

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные исследования в изучении биохимических аспектов атеросклероза.

Подпись преподавателя: _____

Занятие 4. Тема: Обмен аминокислот и белков.

Цель: знать переваривание белков в желудочно-кишечном тракте, образование в кишечнике ядовитых продуктов распада белков и их обезвреживание, катаболизм белков и аминокислот в тканях. Уметь проводить качественную реакцию на белок в моче, определять количественное содержание белка в крови.

Вопросы для обсуждения.

1. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Преферменты и протеолитические ферменты: пепсин, гастриксин, химозин, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, аминопептидаза, дипептидаза и их роль в пищеварении белков.
2. Гниение белков в кишечнике.
3. Понятие об азотистом балансе.
4. Межуточный обмен белков. Катепсины . Аминокислотный пул.
5. Общие пути превращения аминокислот в организме: реакции по аминогруппе, по карбоксильной группе и радикалу аминокислот.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение белка в сыворотке крови биуретовым методом.

Работа 2. Обнаружение белка в моче.

Количественное определение белка в сыворотке крови биуретовым методом

Таблица 1

Принцип метода: _____

№ пробирки	Сыворотка крови	0,9% раствор NaCl	Стандартный раствор белка 80 г/л	Биуретовый реактив	Через 30 мин ФЭК, $\lambda=750$ нм, кювета 1 см	Расчет Норма 65-85 г/л
№ 1 контроль	-	0,1 мл	-	5,0 мл	-	Ест – 80 г/л
№ 2 стандарт	-	-	0,1 мл	5,0 мл	Ест = ?	$X = \frac{E_{оп} \times 80}{E_{ст}} =$ г/л
№ 3 опыт	0,1 мл	-	-	5,0 мл	Еоп = ?	

Вывод: _____

Обнаружение белка в моче

Таблица 2

№ пробы	Нормальная моча	Патологическая моча	Проба с кипячением	Наблюдаемый результат	Проба Геллера			
					Конц. HNO_3	Нормальная моча	Патологическая моча	Наблюдаемый результат
№1	20 кап.	-	Нагреть до кипения		1 мл	10 кап	-	
№2	-	20 кап.	Нагреть до кипения		1 мл	-	10 кап.	

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные данные об особенностях обмена аминокислот серина, глицина, метионина, тирозина.

Подпись преподавателя _____

Занятие 5. Тема: Пути обезвреживания аммиака в клетке.

Цель: знать пути обезвреживания аммиака в организме, синтез аминокислот и использование аминокислот как лекарственных веществ. Уметь готовить препарат уреазы и определять количественное содержание мочевины в сыворотке крови.

Вопросы для обсуждения.

1. Обезвреживание аммиака.
2. Орнитинный цикл.
3. Биосинтез аминокислот, первичный синтез аминокислот.
4. Аминокислоты как лечебные средства

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение мочевины крови уреазным методом с реактивом Несслера.

Получение препарата уреазы

Препарат уреазы получают следующим образом: очищают 3-4 семечки арбуза, извлеченные зерна растирают в ступке, сначала в 1 мл воды, а затем добавляют воду до 10 мл. Полученную эмульсию фильтруют.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные сведения о метаболизме гема и обмене железа.

Определение мочевины крови уреазным методом с реактивом Несслера

Таблица 1

Принцип метода: _____

№ пробы	Дист. вода	Сыворотка крови	Станд. р-р мочевины	Препарат уреазы	Температура 37°C	Р-р ZnSO ₄	Р-р NaOH	Фильтрат	Р-р сегнетовой соли	Р-тив Несслера	ФЭК, λ=490 нм, кювета 0,5см против 3,5 мл воды +0,5мл р-ва Несслера	Расчет
№1 опыт	3 мл	0,2мл	-	1 мл перемешать закрыть пробой	20мин	0,4 мл	0,4 мл перемешать, фильтровать через 5 мин	1,25мл Фильтрата №1	2,25мл	0,5 мл перемешать	Еоп=	$X = \frac{E_{оп} * 5}{E_{ст}}$ = ммоль/л
№2 стандарт	3 мл	-	0,2мл	1 мл перемешать закрыть пробой	20мин	0,4 мл	0,4 мл перемешать, фильтровать через 5 мин	1,25мл фильтрата №2	2,25мл	0,5 мл перемешать	Ест=	

Вывод: _____

Норма – 2,50- 8,33 ммоль/л

Подпись преподавателя _____

Занятие 6. Тема: Обмен сложных белков.

Цель: знать особенности обмена сложных белков, распад и синтез гемоглобина, образование желчных пигментов и их диагностическое значение. знать этапы пищеварения нуклеопротеидов, основные стадии катаболизма нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот в тканях, реакции катаболизма пуриновых оснований, реакции катаболизма пиримидиновых оснований, основные этапы синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Уметь определять количественно содержание билирубина и его фракций в сыворотке крови, проводить качественную реакцию на кровяные и желчные пигменты в моче. Уметь выполнять количественное определение мочевой кислоты крови и гемоглобина в плазме крови.

Вопросы для обсуждения.

1. Особенности обмена сложных белков. Обмен хромопротеинов.
2. Распад гемоглобина в пищеварительном тракте.
3. Катаболизм гемоглобина эритроцитов в клетках ретикуло-эндотелиальной системы. Этапы образования продуктов распада гемоглобина.
4. „Характеристика” прямого” и “непрямого” билирубина. Виды желтух.
5. Диагностическое значение определения билирубина и его фракций.
6. Диагностическое значение определения уробилиногена в моче.
7. Основные стадии синтеза гемоглобина, источники атомов углерода и азота для построения тетрапиррольного кольца гема.
8. Характеристика этапов пищеварения нуклеопротеинов.
9. Характеристика основных стадий катаболизма нуклеиновых кислот в тканях.
10. Уравнения реакций дезаминирования пуриновых и пиримидиновых оснований.
11. Уравнения реакций образования мочевой кислоты из аденина.
12. Уравнения реакций образования бета-аланина и карбаминовой кислоты из урацила.
13. Основные этапы и ферменты биосинтеза пуриновых нуклеотидов.
14. Основные этапы и ферменты биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение билирубина и его фракций в сыворотке крови спиртовым методом.

Работа 2. Обнаружение пигментов в моче.

Работа 3. Количественное определение мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера и Зейферта.

Работа 4. Количественное определение гемоглобина, растворенного в плазме крови.

Определение билирубина и его фракций в сыворотке крови спиртовым методом							Таблица 1
Принцип метода:							
Проба	Сыворотка крови	Диазореактив	Развед. этанол	Дист. вода	Физ. р-р	ФЭК, $\lambda=490$ нм, против воды, кювета на 1 см	Расчет
ОБЩИЙ БИЛИРУБИН							
опыт	0,5 мл	1,0мл смеси р-вов №1 и №2	1,5мл, взболтать, оставить на 25 мин для экстракции в термостате.	1,0мл	-	$E_{1-0} =$	Вычисляют $E_{1-0} - E_k$ и по калибровочному графику находят содержание общего билирубина в мкмоль/л
контроль	0,5 мл	1,0 мл р-ра №1	1,5мл, взболтать, оставить на 25 мин для экстракции в термостате	1,0мл	-	$E_k =$	
СВЯЗАННЫЙ (ПРЯМОЙ) БИЛИРУБИН							
опыт	0,5 мл	0,5 мл смеси р-ов №1 и №2	Не добавлять! Оставить на 25 мин. в термостате.	-	3мл взболтать	$E_{1-C} =$	Вычисляют $E_{1-C} - E_k$ и по калибровочному графику находят содержание связанного билирубина в мкмоль/л
контроль	0,5 мл	1,0мл р-ра №1	1,5мл, взболтать, оставить на 25 мин для экстракции в термостате	1,0мл	-	$E_k =$	

Свободный (непрямой) билирубин определяют: С общий – С прямой = мкмоль/л

Вывод: _____

Норма: общий билирубин – 8,6-20,5 мкмоль/л; прямой билирубин – до 4,3 мкмоль/л.

Обнаружение пигментов в моче

Таблица 2

Проба	№ пробирки	Нормальная моча	Патол. моча	Бензидиновый реактив - 1% р-р в 32% р-ре уксусной кислоты	Пероксид водорода 3% р-р	1% р-р йода спиртовый	Окрашивание
Бензидиновая проба на кровяные пигменты	№1 норм.	5 кап.	-	3 кап.	3 кап.		
	№2 пат.	-	5 кап.	3 кап.	3 кап.		
Розина на желчные пигменты	№1 норм.	20 кап.	-	-	-	10 кап. наслить	
	№2 пат	-	20 кап.	-	-	10 кап. наслить	

Вывод: _____

Количественное определение мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера и Зейферта

Таблица 3

Принцип метода: _____

№ пробы	Сыворотка	Дист. вода	ТХУ к-та 20% р-р	Перемешивание, фильтрация	Фильтрат	Насыщенный р-р Na ₂ CO ₃	Стандартный р-р мочевой к-ты 0,02 мг/мл	Р-тив Фолина	ч/з 10мин ФЭК, λ=750 нм, кювета 0,5см против воды	Расчет
№1 опыт	1,5 мл	1,5мл	1,5 мл	да	1,5 мл	0,7 мл	-	1 кап	E _{оп} =	$x = \frac{E_{оп} * 0,01 * 20}{E_{ст} * 168}$
№2 стан- дарт	-	0,5 мл	0,5 мл	Нет	-	0,7 мл	0,5	1 кап	E _{ст} =	
										ммоль/л

Норма: 0,1-0,4 ммоль/л

Вывод: _____

Количественное определение гемоглобина, растворенного в плазме крови

Таблица 4

Принцип метода: _____

№ пробы	Ацетатн. буфер рН=4,6, мл	H ₂ O ₂ 0,3% р-р, мл	Бензидин 0,1% р-р, мл	Плазма крови, мл	Физ. р-р, мл	ч/з 3мин ФЭК, λ=750 нм, кювета на 1см против контроля	Расчет по калибровочной кривой
№1 опыт	4,0	2,0	2,0	0,04	-	E _{оп} =	X= _____ мг%
№2 контр.	4,0	2,0	2,0	-	0,04	-	

Норма: 0,2-2,5 мг%

Вывод: _____

Работа 5. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления о биосинтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

Подпись преподавателя _____

Занятие 7. Тема: Матричные биосинтезы: репликация, транскрипция и трансляция. Основные этапы белкового синтеза.

Цель: знать биосинтез ДНК (репликацию); биосинтез РНК (транскрипцию); обратную транскрипцию; неспецифический синтез РНК; основные этапы биосинтеза белка (транскрипцию, рекогницию, трансляцию); знать регуляцию биосинтеза белка у прокариотов и эукариотов, молекулярные основы изменчивости, протеинопатии и ферментопатии, полиморфизм белков, иммуноглобулины и их образование в организме. Уметь проводить выделение дРНК из ткани селезенки и качественную реакцию на ДНК. Уметь проводить экспресс-диагностику патологии аминокислотного и углеводного обменов.

Вопросы для обсуждения.

1. Путь биосинтеза ДНК (репликация).
2. Путь биосинтеза РНК (транскрипция).
3. Свойства генетического кода.
4. Обратная транскрипция.
5. Неспецифический синтез РНК.
6. Основные этапы биосинтеза белка (транскрипция, рекогниция, трансляция).
7. Этапы трансляции при биосинтезе белка.
8. Регуляция биосинтеза белка у прокариотов.
9. Регуляция биосинтеза белка у эукариотов.
10. Препараты, влияющие на синтез белка.
11. Молекулярные основы изменчивости.
12. Основные варианты генных мутаций.
13. Характеристика протеинопатий и ферментопатий.
14. Полиморфизм белков.
15. Строение иммуноглобулинов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Выделение дезоксирибонуклеопротеинов из ткани селезенки.

Работа 2. Качественная реакция на ДНК (реакция ДИШЕ).

Работа 3. Научные достижения в области изучения процесса репликации.

Выделение дезоксирибонуклеопротеинов из ткани селезенки

Ход определения

2-3 г ткани селезенки тщательно растирают в ступке со стеклянным порошком, приливая постепенно небольшими порциями 40 мл раствора хлорида натрия. Полученный вязкий раствор фильтруют через 2 слоя марли в малый кристаллизатор. Отмеривают цилиндром шестикратный (по отношению к фильтрату) объем воды очищенной и медленно выливают ее в фильтрат. Образовавшиеся нити дезоксирибонуклеопротеинов осторожно наматывают на деревянную палочку, переносят в пробирку.

Качественная реакция на ДНК (реакция ДИШЕ)

Таблица 1

Ход определения	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
К ¼ части осадка дезоксирибонуклеопroteина приливают 1 мл 0,4% раствора гидроксида натрия (до растворения). Отбирают в пробирку 15-20 капель раствора, добавляют равный объем дифенилового реактива. Содержимое пробирки перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин.		

Вывод: _____

Работа 4. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные достижения в области изучения процесса репликации.

Определение наследственных дефектов обмена веществ скрининг-тестами

Таблица 2

Название скрининг – теста и нарушения (патологии)	Иследуемый материал и реактивы	Окрашивание при положительной реакции	Нарушения
1. Проба на тирозин и пара-оксифенил пировиноградную кислоту (тирозурия)	1) Патологическая моча – 5 кап + 1 кап. р-тива Миллона (в кипящую водяную баню на 2-3 мин.). 2) Нормальная моча – 5 кап + 1 кап. р-тива Миллона (в кипящую водяную баню на 2-3 мин.).		
2. Проба на гомогентизиновую кислоту (алкаптонурия)	1) Патологическая моча – 10 кап. + 2-3 кап. 10% NaOH 2) Нормальная моча – 10 кап. +2-3 кап. 10% NaOH		
3. Проба на фенилпировиноградную кислоту (фенилкетонурия)	1) Патологическая моча – 20 кап + 5 кап. 5% FeCl ₃ 2) Нормальная моча – 20 кап. +5 кап. 5% FeCl ₃		
4. Проба на гипераминоацидурию (гипераминоацидурия)	1) Патологическая. моча – 5 кап. + 5 кап. 0,5% р-ра нингидрина (в кипящую водяную баню на 2-3 мин). 2) Нормальная моча – 5 кап. +5 кап. 0,5% р-ра нингидрина (в кипящую водяную баню на 2-3 мин).		
5. Проба Бельке на лактозу и мальтозу. (мальтозурия)	1) Патологическая моча – 5 кап. + 2,5 мл конц. р-ра аммиака + 0,2мл 20%р-ра КОН. Нагреть! 2) Нормальная моча – 5 кап. + 2,5 мл конц. р-ра аммиака + 0,2мл 20%р-ра КОН. Нагреть!		

Вывод: _____

Подпись преподавателя: _____

Занятие 8. Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков.

Цель: закрепить теоретические знания по теме «Обмен аминокислот и белков. Передача генетической информации. Биосинтез белка и его регуляция, генетическая изменчивость, полиморфизм белков. Иммуноглобулины. Молекулярная патология». Ответить на тестовые задания. Контроль практических умений и навыков провести путём определения в контрольной пробе: общего белка, кровяных и желчных пигментов.

Вопросы контрольной работы.

- 1.Пищеварение белков. Роль протеолитических ферментов желудка, поджелудочной железы, тонкого кишечника, их активирование в полости желудочно-кишечного тракта.
- 2.Специфичность действия пепсина, трипсина химотрипсина, карбоксипептидаз, аминопептидаз, дипептидаз.
- 3.«Гниение» белков в кишечнике.
- 4.Межуточный обмен белков (общая характеристика, роль катепсинов, азотистый баланс, аминокислотный пул, общие пути катаболизма аминокислот).
- 5.Реакции по альфа-аминогруппе аминокислот: дезаминирование, переаминирование, трансдезаминирование.
- 6.Судьба безазотистого углеродного скелета аминокислот.
- 7.Обезвреживание аммиака: образование амидов, орнитинный цикл.
- 8.Реакции по карбоксильной группе аминокислот: декарбоксилирование, образование аминокислотаденилатов. Обезвреживание биогенных аминов.
- 9.Реакции по радикалу аминокислот.
- 10.Биосинтез аминокислот, первичный синтез аминокислот.
- 11.Аминокислоты и белки как лечебные средства.
- 12.Катаболизм и синтез гемопротеидов (гемоглобина).
- 13.Катаболизм нуклеопротеидов, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, нуклеозидов, пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований.
14. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
- 15.Общие черты сходства в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований.
- 16.Репликация (синтез ДНК).
- 17.Обратная транскрипция.
- 18.Транскрипция (синтез РНК).
- 19.Неспецифический синтез РНК.
- 20.Общая характеристика синтеза белка. Матричный и мультиэнзимный синтез белка.
- 21.Этап транскрипции в синтезе белка.
- 22.Этап рекогниции в синтезе белка. Характеристика т-РНК.
- 23.Этапы трансляции в синтезе белка: инициация, элонгация и терминация.

- 24.Регуляция биосинтеза белка у прокариотов. Гипотеза Жакоба и Моно.
 25.Регуляция биосинтеза белка эукариотов.
 26. Молекулярные механизмы изменчивости. Типы генетической мутации.
 27.Молекулярная патология. Ферментативные и не ферментативные протеинопатии.
 28.Полиморфизм.
 29.Иммуноглобулины: строение, синтез, функции.

Контроль практических умений и навыков.

Работа 1. Анализ контрольных проб на содержание компонентов белкового обмена.

Таблица 1

Название реакции	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
Проба Геллера	№А		
	№Б		
	№В		
Бензидиновая проба	№А		
	№Б		
	№В		
Проба Розина	№А		
	№Б		
	№В		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные представления о механизмах межклеточной коммуникации.

Подпись преподавателя _____

Занятие 9. Тема: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Классификация. Механизм действия.

Цель: знать общие принципы интеграции обмена веществ, взаимосвязи между отдельными видами обмена веществ, ключевые метаболиты и лимитирующие вещества в интеграции обмена веществ, основные механизмы и системы регуляции обмена веществ (паракринная и аутокринная, иммунная, эндокринная, центральная и периферическая нервная система), уровни регуляции жизненных процессов; гормональную регуляцию как механизм клеточной и межорганной координации обмена веществ, структура, метаболизм и механизм действия гормонов. Уметь выполнять количественное определение гистамина и качественную реакцию на дофамин; выполнить качественные реакции на гормоны.

Вопросы для обсуждения.

1. В чем состоят основные принципы интеграции обмена веществ?
2. Назовите ключевые метаболиты и лимитирующие вещества в интеграции обмена веществ?
3. Уровни и системы регуляции обмена веществ
4. Как обеспечивается единство нейрогуморальной регуляции обмена веществ? Нейросекреторные клетки. Рилизинг-факторы.
5. Какова химическая природа гормонов?
6. Какие процессы в организме регулируют гормоны?
7. Какие различают типы действия гормонов на клетку?
8. Как подразделяются гормоны по характеру взаимодействия их с клетками? Назовите соответствующие гормоны.
9. Охарактеризуйте цитозольный тип взаимодействия гормонов с клеткой.
10. Охарактеризуйте мембрано – внутриклеточный тип взаимодействия гормонов с клеткой.
11. Назовите вторичные мессенжеры клетки при ее взаимодействии с гормонами.
12. Охарактеризуйте общие принципы метаболизации гормонов в животном организме.
13. Какие общие принципы метаболизации гормонов в животном организме.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение гистамина в крови с диазотированным п-нитроанилином.

Работа 2. Качественная реакция на дофамин.

Работа 3. Качественные реакции на гормоны.

Количественное определение гистамина в крови с диазотированным п-нитроанилином

Таблица 1

Принцип метода:

№ пробы	Ст. р-р гистамина 200 мкмоль/л	Дист. вода	Сыв-ка крови	Дист. вода	4% р-р натрия нитрита	Диазотир. п-нитроанилин	20% р-р Na ₂ CO ₃	5М р-р натрия гидроксида	ч/з 10 мин ФЭК, λ=540 нм кювета 0,5 см, против контроля	Расчет
№1 стандарт	0,2 мл	4,8 мл	-	3 мл	1,0 мл, перемешать	1,0 мл, перемешать	2,0 мл, перемешать	5 кап.	Е ст=	$X_{оп} = \frac{E_{оп} \cdot 200}{E_{ст}} =$ мкмоль/л
№2 опыт		4,8 мл	0,2 мл	3 мл	1,0 мл, перемешать	1,0 мл, перемешать	2,0 мл, перемешать	5 кап.	Е оп=	
№3 контроль		5,0 мл	-	3 мл	1,0 мл, перемешать	1,0 мл, перемешать	2,0 мл, перемешать	5 кап.	-	

Вывод: _____

Качественная реакция на дофамин

Таблица 2

Ход определения	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
К 1 мл 0,5% раствора препарата или 0,1 мл 4% раствора препарата прибавляют 4 мл воды очищенной и 0,02 мл 1% раствора хлорида железа (III), а затем 0,05 мл 10% раствора аммиака		

Работа 3. Качественные реакции на гормоны.

Таблица 3

Название гормона	Химическая природа	Название реакции и употребляемые реактивы	Принцип реакции	Наблюдаемое окрашивание
1. Инсулин	Белок	1) Биуретовая р-ция: инсулин 5 кап. + биуретовый реактив – 2 кап.		
		2) Нингидриновая р-ция: инсулин – 5 кап. + 0,5% р-р нингидрина – 2 кап. Нагреть!		
		3) Р-ция Геллера: инсулин – 5 кап. + конц. азотная к-та – 5 кап.		
2. Окситоцин	Пептид	1) Биуретовая р-ция: окситоцин 5 кап. + биуретовый реактив – 5 кап.		
		2) Нингидриновая р-ция: окситоцин – 5 кап. + 0,5% р-р нингидрина – 2 кап. Нагреть!		
3. Адреналин	Производное аминокислот	1) Р-ция с хлоридом железа: адреналин, 0,1% р-р – 10 кап + 0,15М р-р хлорида железа – 1 кап.		
		2) Р-ция с иодатом калия: адреналин, 0,1% р-р – 3 кап + 10% р-р иодата калия – 2 кап. + 10% р-р уксусной кислоты – 2 кап, Подогреть!		
		3) Р-ция с диазобензосульфокислотой: 1% р-р сульфаниловой к-ты – 3 кап + 5% р-р натрия нитрита – 3 кап. + адреналин, 0,1% р-р – 5 кап + 10% р-р карбоната натрия – 3 кап. Встряхнуть!		
4. Иодтиронин	Производное аминокислот	1) Р-ция с выделением свободного иода: 1% р-р тиреоидина – 10 кап. + конц. азотной к-ты – 2 кап. + 1% р-р иодата калия – 10 кап +		

		хлороформ – 10 кап. Встряхнуть!		
5. Эстрон	Стероид	1) Р-ция с р-вом Фолина: 0,1% р-р эстрогена (фолликулина) – 5 кап.+ р-тив Фолина – 2 кап. + 30% р-р натрия гидроксида – 2 кап.		
6. Дийодтирозин	Производное аминокислот	1) Качественная р-я на дийодтирозин (фармакопейная): 0,1% р-р дийодтирозина-10 кап.+ 0,5%р-р нингидрина-10 кап. Нагреть до кипения!		
7. Метилтестостерон	Стероид	1) Качественная р-ция на метилтестостерон (фармакопейная): 0,1% р-р метилтестостерона – 5 кап. + конц. серная к-та - 5 кап. Осторожно перемешать!		

Вывод: _____

Работа 4. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные концепции механизмов передачи гормонального сигнала.

Подпись преподавателя _____

Занятие 10. Тема: Стероидные гормоны. Гормоны – производные аминокислот. Белково-пептидные гормоны. Гормоны производные жирных кислот.

Цель: знать классификацию гормонов и иерархию гормональной регуляции; строение, свойства и функции стероидных гормонов, гормонов – производных аминокислот, пептидных гормонов, гормонов – производных жирных кислот, использование гормонов и их синтетических аналогов в медицине. Уметь проводить количественное определение адреналина, давать оценку этого показателя для диагностики ряда заболеваний и анализа фармакопейных гормональных препаратов.

Вопросы для обсуждения.

1. Классификация гормонов, основанная на химическом строении.
2. Строение, свойства и функции стероидных гормонов.
3. Строение, свойства и функции гормонов – производных аминокислот.
4. Строение, свойства и функции пептидных гормонов.
5. Строение, свойства и функции гормонов – производных жирных кислот (простагландинов).
6. Использование гормонов и их синтетических аналогов в медицине.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение адреналина в исследуемой жидкости с реактивом Фолина.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Исследования по изучению гормональной регуляции водно-солевого обмена.

Количественное определение адреналина в исследуемой жидкости с реактивом Фолина.

Принцип метода: _____

Таблица 1

№ пробы	Стандартный р-р адреналина $C_{ст}=0,04$ мг/мл	Исследуемый Р-р	10% р-р карбоната натрия	Реактив Фолина	Добавить ч/з 5 мин. 10 % р-р карбоната натрия	ФЭК, $\lambda=750$ нм, кювета на 1 см, против воды	Расчет
№1 стандарт	1 мл	-	4 мл	0,5 мл встряхнуть	4,5 мл, перемешать	Ест=	$C_{оп} = \frac{C_{ст} \cdot E_{оп}}{E_{ст}} =$ $\frac{0,04 \cdot E_{оп}}{E_{ст}} =$ <p style="text-align: right;">мг/мл</p>
№2 опыт	-	1 мл	4 мл	0,5 мл встряхнуть	4,5 мл, перемешать	Еоп=	

Вывод: _____

Подпись преподавателя _____

Занятие 11. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны.

Цель: закрепить теоретические знания по теме: «Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны и гормональная регуляция как механизм межклеточной и межорганной координации обмена веществ» и провести контроль практических навыков и умений по индивидуальным заданиям.

Вопросы для обсуждения.

1. Основные принципы интеграции обмена веществ
2. Ключевые метаболиты и лимитирующие вещества в интеграции обмена веществ.
3. Основные системы регуляции обмена веществ.
4. Уровни регуляции жизненных процессов.
5. Гормоны и гормональная регуляция как механизм межклеточной и межорганной координации обмена веществ.
6. Общая характеристика механизма действия гормонов.
7. Химическое строение гормонов. Классификация гормонов.
8. Механизм действия гормонов. Мембранный тип действия гормонов. Инсулин.
9. Механизм действия гормонов. Мембранно-внутриклеточный тип действия гормонов. Катехоламины.
10. Механизм действия гормонов. Цитозольный тип действия гормонов. Эстрагены.
11. Гормоны щитовидной железы.
12. Гормоны коры надпочечников.
13. Гормоны мозгового вещества надпочечников.
14. Гормоны поджелудочной железы.
15. Половые гормоны (андрогены, эстрогены).
16. Гормоны передней доли гипофиза.
17. Гормоны средней и задней долей гипофиза.
18. Простагландины.

Контроль практических навыков и умений.

Работа 1. В полученных контрольных пробах провести идентификацию гормонов.

Для этого с каждой пробой провести качественные реакции:

- а) биуретовую реакцию;
- б) реакцию с хлоридом железа;
- в) реакцию с конц. серной кислотой.

Идентификация содержимого полученной пробы

Таблица 1

Название реакции	Химическая природа содержимого пробы	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Предполагаемый гормон
Биуретовая реакция		№ А		
		№ Б		
		№ В		
Реакция с хлоридом железа		№ А		
		№ Б		
		№ В		
Реакция с конц. серной кислотой		№ А		
		№ Б		
		№ В		

Вывод:

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные исследования в изучении биохимических аспектов сахарного диабета.

Подпись преподавателя _____

Занятие 12. Тема: Биохимия органов и тканей.

Цель: знать особенности обмена веществ в печени и крови, их основные биохимические функции, важнейшие биохимические константы крови, роль печени в обмене веществ, биохимические методы диагностики заболеваний печени. Уметь определять содержание белковых фракций сыворотки крови и выполнять пробу Вельтмана на коллоидную устойчивость белков крови; оценивать состояние белкового обмена организма по результатам определений.

Вопросы для обсуждения:

1. Каковы биохимические функции и состав крови?
2. Охарактеризуйте белки плазмы крови и их диагностическое значение.
3. Назовите азотсодержащие небелковые компоненты плазмы крови и их диагностическое значение.
4. Охарактеризуйте кининовую систему крови.
5. Какие препараты получают из крови?
6. Каковы особенности метаболизма в форменных элементах крови?
7. Роль печени в обмене белков, липидов, углеводов, витаминов, гормонов, минеральных веществ.
8. Охарактеризуйте детоксицирующую функцию печени. Назовите биохимические методы диагностики заболеваний печени.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение содержания белковых фракций сыворотки крови турбидиметрическим методом.

Таблица 1

Принцип метода: _____

№ пробирки	Вода дист. мл.	Буф. раб. р-р №1, мл	Буф. раб. р-р №2, мл	Буф. раб. р-р №3, мл	Буф. раб. р-р №4, мл	Осн. буф. р-р, мл	Сыв-ка крови	Сод. проб. №5, мл	Через 15 мин ФЭК $\lambda=750$ нм против контроля, кювета 0,5 см	Расчет Общ. белок $C=70$ г/л
Контр.	5,0							0,50	-	Альбумины $=E=E_1-E_2$
№1		2,5						0,25	$E_1=$	α -глобулины $=E=E_2-E_3$
№2			2,5 мл					0,25	$E_2=$	β -глобулины $=E=E_3-E_4$
№3				2,5 мл				0,25	$E_3=$	γ -глобулины $=E=E_4$
№4					2,5 мл			0,25	$E_4=$	$X=\frac{E_{оп}}{E_{общ}}*100\%=$? % E общ
№5	0,4					1,9 мл	0,25 мл		-	$X=\frac{E_{оп}}{E_{общ}}*C=$? г/л E общ

Вывод: _____

В норме в сыворотке содержится:

Альбумины: 35-60 г/л

Глобулины: 25-35 г/л

α -1 глобулины 2,0-5,0 г/л (2,5-5,0%)
 α 2-глобулины: 4,0-7,0 г/л (7-13%)
 β -глобулины: 5,0-9,0 г/л (8-14%)
 γ -глобулины 8,0-17,0 г/л (12-22%)
 Индекс альбумины/глобулины = 1,5-2,3

Работа 2. Проба Вельтмана на коллоидную устойчивость белков сыворотки крови.

Ход определения: в пробирку вносят 0,1 мл. сыворотки крови и 4,9 мл. дистиллированной воды. Перемешивают, добавляют по 0,1 мл. раствора хлорида кальция и нагревают до появления хлопьев.

Принцип метода: _____

Таблица 2

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CaCl ₂ , мл	1,0 мл	0,9 мл	0,8 мл	0,7 мл	0,6 мл	0,5 мл	0,4 мл	0,3 мл	0,2 мл	0,1 мл
Изменения	Сдвиг влево					Норма		Сдвиг вправо		
Патологии	Острые воспалительные и экссудативные состояния, опухоли							Повреждение печени, фиброзы, гемолиз, хронические воспалительные заболевания		

Вывод: _____ -

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные сведения о белках, принимающих участие в свертывании крови.

Подпись преподавателя: _____

Занятие 13. Тема: Фармацевтическая биохимия.

Цель: знать место и роль биохимии в фармации, использование биохимических методов в решении фармацевтических задач, представление о лекарствах как чужеродных соединениях, их всасывании, распределении и выделении из организма. Уметь количественно определять активность фармакопейного препарата трипсина.

Вопросы для обсуждения.

1. Связь фармации и биохимии, использование биохимических методик в фармации.
2. Биохимические методы, применяемые в стандартизации и контроле качества лекарств.
3. Биогенные препараты и препараты- ксенобиотики.
4. Судьба чужеродных соединений - лекарств в организме.
5. Всасывание лекарственных веществ. Виды транспорта лекарственных веществ через мембраны.
6. Распределение лекарственных веществ в тканях и жидкостях организма. Свободная и связанная форма лекарств.
7. Выведение лекарств из организма.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение активности фармакопейного препарата трипсина по Ансону.

Характерной особенностью ферментов является их способность сохранять свою активность вне организма, в связи с чем они могут быть использованы как лекарственные препараты. Ферменты - лекарственные препараты- периодически проверяют на активность. Количественное определение активности трипсина может проводиться в различных партиях препарата, поступившего в контрольно-аналитическую лабораторию.

Принцип метода.

Метод основан на определении количества тирозина, освобождаемого трипсином из гемоглобина (или казеина) при определенных условиях. Протеолитическая активность выражается в тирозиновых единицах по Ансону. Препарат имеет активность в одну тирозиновую единицу, если при воздействии на субстрат в течение одной минуты освобождается такое количество продуктов гидролиза, неосаждаемых трихлоруксусной кислотой, которое при реакции с фенольным реактивом соответствует 1 миллиэквиваленту (МЭКВ) тирозина

Ход определения

1.Контроль. В пробирку вносят 2,5 мл субстрата, добавляют 5,0 мл 0,3н раствора трихлоруксусной кислоты. Затем вносят 0,5 мл препарата-та трипсина и тщательно перемешивают. Пробирку помещают в водяную баню с температурой 36°С на 3 мин. Затем для осаждения белков оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Содержимое пробирки фильтруют через фильтр в пробирку, помеченную словом «контроль». В новую пробирку,

помеченную также, вносят 2,5 мл фильтрата, 5,0 мл 0,5н раствора едкого натра и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива. Через 10 минут измеряют оптическую плотность раствора на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

2.Опыт: в пробирку вносят 2,5 мл субстрата и помещают в водяную баню с температурой 36°С на 3 минуты. Затем добавляют 0,5 мл препарата трипсина, тщательно перемешивают и выдерживают в термостате или водяной бане при 36°С в течение 10-ти минут. Затем в пробирку вносят 5,0 мл 0,3н раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают и для осаждения белков выдерживают пробу при комнатной температуре 30 минут. Содержимое пробирки фильтруют через фильтр в пробирку, помеченную словом «опыт». В новую пробирку помеченную также вносят 2,5 мл фильтрата и 5,0 мл 0,5н раствора едкого натра и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива. Через 10 минут измеряют оптическую плотность на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

3.Стандарт: в пробирку, помеченную словом «стандарт», вносят 2,5 мл стандартного раствора (стандартный раствор тирозина готовят растворением 14,495 мг чистого тирозина в 100 мл 0,2н раствора HCl: в 1 мл стандартного раствора содержится 0,0008 мэкв тирозина). Добавляют 5,0 мл 0,3н раствора едкого натра и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива. Через 10 минут измеряют оптическую плотность раствора на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

Пример количественного расчета

Оптическая плотность стандарта, содержащего в 1 мл 0,0008 мэкв тирозина, равна 0,3. Оптическая плотность контроля равна 0,12. Оптическая плотность опыта равна 0,27. Находим разность в оптической плотности между опытом и контролем: (0,27— 0,12 = 0,15) и по пропорции рассчитываем содержание тирозина в мэкв в опытной пробе.

$$\begin{array}{r} 0,0008 \quad - \quad 0,3 \\ X \quad \quad - \quad 0,15 \\ X = \frac{0,0008 * 0,15}{0,3} = 0,0004 \text{ мэкв} \end{array}$$

Количество тирозировых единиц в 1 г исследуемого препарата трипсина (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,0004 * 200 * 16 * 1000}{2,5 * 2,5 * 0,5 * 10} = 8$$

где: 0,0004 - количество тирозина в опытной пробе в мэкв,
200 — объем, в котором растворен препарат (в мл),
16 — коэффициент пересчета на белок,
1000 — коэффициент пересчета в граммы,
2,5 — навеска препарата трипсина (в мг)

0,5 — объем исследуемого препарата трипсина (в мл)

10 — время термостатирования (в минутах)

Согласно Государственной Фармакопее (1968г) 1 г препарата трипсина должен содержать не менее 8 тирозиновых единиц.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Использование современных биохимических методов в стандартизации лекарственных средств.

Таблица 1

Определение активности фармпрепарата трипсина (по Ансону)

Принцип метода: _____

№ про- бирки	Субс- трат	0,3Н р-р ТХУ к-ты	Водя- ная баня 36°С	Препарат трипсина	Водя- ная баня 36° С	0,3Н р-р ТХУ к-ты	Осажде- ние белка	Филь- трат или стан- дарт- ный р-р	0,5Н р-р NaOH	Раб р-р феноль- ного реактива	ч/з 10мин. ФЭК, λ=750 нм, кюв. 1 см. против воды	Расчет 1) $E_p = E_{оп} - E_{конт.} =$ 2) содержание тирозина в мэкв в опытной пробе= $0,0008 * E_p =$ [мэкв] Ест. 3) количество тирозиновых ед. в 1 г исследуемого препарата трипсина (X) $X = \frac{мэкв * 200 * 16 * 1000}{2,5 * 0,5 * 2,5 * 10} =$
Конт- роль	2,5мл	5 мл	3 мин	0,5 мл переме- шать	10 мин	-	30 мин Филь- тровать	2,5 мл филь- трага	5,0 мл	1,5мл переме- шать	Е конт=?	
Опыт	2,5мл	-	3 мин	0,5 мл переме- шать	10 мин	5 мл пере- меш ать	30 мин Филь- тровать	2,5 мл филь- трага	5,0 мл	1,5мл переме- шать	Е опыт=?	
Стан- дарт 0,0008 мэкв	-	-	-	-	-	-	-	2,5 мл стан- дарт- ного р-ра	5,0 мл	1,5мл переме- шать	Е станд.=?	

В норме: 1 г препарата трипсина должен содержать не менее 8-ми тирозиновых ед.

Вывод: _____

Подпись преподавателя _____

Занятие 14. Тема: Метаболизм лекарственных соединений.

Цель: знать особенности метаболизма лекарственных веществ, основные реакции биотрансформации лекарств в организме, роль микросомальных ферментов, факторы, влияющие на метаболизм лекарств. Уметь определять в моче свободную и ацетилированную формы сульфаниламидов.

Вопросы для обсуждения.

1. Общая характеристика метаболизма лекарств, фазы метаболизма.
2. Микросомальные и немикросомальные ферменты в метаболизме лекарств.
3. Схема функционирования микросомальной монооксигеназной системы по Эстабруку, Гильденбранту и Барону.
4. Микросомальные реакции окисления, восстановления и гидролиза лекарств.
5. Процессы конъюгации лекарств, виды конъюгации.
6. Факторы влияющие на метаболизм лекарств.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение ацетилирующей способности организма по выделению с мочой свободной и ацетилированной форм сульфаниламида.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные концепции функционирования микросомальных ферментных систем печени.

Определение ацетилирующей способности организма по выделению с мочой свободной и ацетилированной форм сульфаниламида

Таблица 1

Принцип метода:

№ пробы	Разведеная моча	Дистил. вода	10% HCl	Кипящая водяная баня	0,5% р-р нитрита натрия	Насыщенный р-р ацетата натрия	0,5% р-р резорцина	ФЭК через 15 мин, против контроля, кювета 0,5 см, λ=490 нм	Расчет
									$X = \frac{(E_2 - E_1) * 100}{E_2} =$
№1 свободная форма сульфаниламида	1 мл	1,5мл	0,25мл	-	2 кап. перемешать, 10 мин стоять	1,5 мл перемешать	0,25 мл перемешать (закрывать пробкой)	E ₁ =	%
№2 общая форма сульфаниламида	1 мл	1,5мл	0,25мл	15 мин охладить закрыть пробками пробирки	2 кап. перемешать, 10 мин стоять	1,5 мл перемешать	0,25 мл перемешать (закрывать пробкой)	E ₂ =	%
№3 контроль	-	2,5 мл	0,25мл	-	2 кап. перемешать, 10 мин стоять	1,5 мл перемешать	0,25 мл перемешать (закрывать пробкой)	-	%

Вывод:

Занятие 15. Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Обмен липидов. Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Фармацевтическая биохимия.

Цель: закрепить теоретические знания по теме: Фармацевтическая биохимия. Метаболизм лекарств, провести контроль практических навыков и умений.

Вопросы для обсуждения.

1. В чем заключается связь фармации и биохимии, как используются биохимические методики в фармации?
2. Охарактеризуйте биогенные препараты и препараты-ксенобиотики.
3. Какие выделяют этапы в судьбе лекарственных веществ, поступивших в организм?
4. Охарактеризуйте механизмы транспорта лекарственных веществ, через биологические мембраны.
5. Охарактеризуйте всасывание лекарств из желудочно-кишечного тракта, укажите факторы, влияющие на всасывание лекарственных веществ.
6. Опишите виды биологических мембран, их строение, виды транспорта через биологические мембраны. Каким путем осуществляется транспорт лекарств-ксенобиотиков?
7. Как происходит распределение лекарственных веществ в жидкостях и тканях организма? Свободная и связанная формы лекарств, депонирование лекарств.
8. Охарактеризуйте взаимодействие лекарств с рецепторами.
9. Как происходит выведение лекарств из организма? Укажите основные пути выведения и его механизм.
10. Дайте общую характеристику метаболизма лекарств, опишите две фазы метаболизма лекарств.
11. Как меняется активность лекарств при метаболизме? Приведите примеры.
12. Охарактеризуйте ферментные механизмы метаболизации лекарственных веществ.
13. Охарактеризуйте эндоплазматический ретикулум и его ферменты.
14. Охарактеризуйте микросомальные ферменты и их роль в метаболизме лекарственных веществ.
15. Как происходит метаболизация лекарств немикросомальными ферментами?
16. Охарактеризуйте микросомальное окисление лекарств, приведите примеры-схему функционирования микросомальной монооксигеназной системы с участием цитохрома P₄₅₀.
17. Укажите различия между митохондриальной окислительной системой и микросомальной монооксигеназной системой.
18. Охарактеризуйте цитохром P₄₅₀ и его роль в гидроксировании

лекарственных веществ.

19. Приведите примеры (с написанием уравнений) гидроксирования ароматических веществ, алифатических веществ, окислительного дезаминирования, S-дезалкилирования, O-дезалкилирования, N-дезалкилирования, сульфоокисления, N-окисления.

20. Охарактеризуйте микросомальные окислительные ферменты. Превращение каких лекарственных веществ они катализируют?

21. Напишите уравнение восстановления протозила в сульфаниламид.

22. Охарактеризуйте микросомальные гидролитические ферменты. Превращение каких лекарственных веществ они катализируют?

23. Напишите уравнение гидролиза ипрониазида.

24. Охарактеризуйте метаболизм лекарственных веществ немикросомальными ферментами. Перечислите эти ферменты и приведите примеры. Какие лекарственные вещества метаболизируются немикросомальными ферментами?

25. Охарактеризуйте процессы конъюгации лекарственных веществ. Какие ферменты участвуют в этих процессах?

26. Охарактеризуйте глюкуронидную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

27. Охарактеризуйте сульфатную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

28. Охарактеризуйте метильную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

29. Охарактеризуйте ацетильную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

30. Охарактеризуйте пептидную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

31. Охарактеризуйте глутатионовую конъюгацию. Приведите пример, уравнение.

32. Напишите схему одновременного метаболизирования фенаcetина по различным путям.

33. Охарактеризуйте генетические факторы, влияющие на метаболизм лекарств.

34. Охарактеризуйте физиологические факторы, влияющие на метаболизм лекарств.

35. Охарактеризуйте факторы, внешней среды, влияющие на метаболизм лекарств.

Выполняемая работа.

Работа 1. Итоговое тестирование.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Исследования по изучению влияния различных факторов на метаболизм ксенобиотиков.

Подпись преподавателя: _____

Рекомендуемая литература			
Основная литература			
	Авторы, составители	Заглавие	Издательство, год
1.	Северин Е.С.	Биохимия: учебник [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.
2.	Василенко Ю.К.	Биологическая химия: учеб. пособие	М.: МЕДпресс, 2011, 432 с.
3.	Под ред. Е.С. Северина	Биологическая химия с упражнениями и задачами: учеб.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 624с.
4.	Василенко Ю.К.	Биологическая химия: учеб. пособие-CD- диск [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	М.: МЕДпресс, 2014
5.	Зезеров Е.Г.	Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций	М.:МИА, 2014, 456 с.
Дополнительная литература			
1.	Под ред. Е. С. Северина	Биохимия учебник / под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, 768 с.
2.	Северин Е.С.	Биохимия: учебник/ под ред. Е. С. Северина. - 3-е изд., испр. и доп.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007, 704 с.
3.	Под ред. Северина Е.С., Николаевой А.Я.	Биохимия: краткий курс с упражнениями и задачами: учеб. пособие	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005, 784 с.
4.	Василенко Ю.К.	Краткий курс биологической химии для студентов заочного отделения фармвузов :учеб. пособие	Пятигорск: ПГФА, 2010, 176 с.
5.	Комов В.П.	Биохимия: учеб.	М.: Дрофа, 2004, 640 с.
6.	Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.	Биологическая химия: учеб. - 3-е изд., испр. и доп.	М.: Медицина, 2004, 704 с.
7.	Уилсон К., Уолкер Дж.	Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии	Бином, 2015, 848 с.
8.	Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович О.Л.	Патологическая биохимия	Бином, 2015, 448 с.
9.	Коваленко Л.В.	Биохимические основы химии биологически активных веществ	Бином, 2013, 229 с.
10.	Рослый И.М.	Биохимические показатели в медицине и биологии	М.: МИА, 2015, 612с.

11.	Маршалл В.Дж.	Клиническая биохимия	Бином. Лаборатория знаний, 2015, 408 с.
Методические разработки			
1.	Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П.	Тестовые задания с ответами и комментариями по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019 .
2.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П.	Методические рекомендации студентов к лабораторным занятиям по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
3.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П., Сидорская С.Ю., Темирбулатова А.М., Сигарева С.С., Куличенко Е.О.	Сборник заданий по биологической химии для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
4.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П., Сидорская С.Ю., Темирбулатова А.М., Сигарева С.С., Куличенко Е.О.	Методические рекомендации для самоконтроля знаний студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
5.	Василенко Ю.К., Доркина Е.Г., Скульте И.В., Темирбулатова А.М.	Основные понятия и термины биохимии в фармации : учебное пособие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2020.
Электронные образовательные ресурсы			
1.	Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с. ил. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		
2.	Биохимия. Практикум.: учебное пособие. Чернов Н.Н., Смирнова И.П., Березов Т.Т./ Под ред. Н.Н. Чернова. - Феникс, 2017.: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		
3.	Биологическая химия с упражнениями и задачами. учеб. / Под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. -624 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		

Журналы	
1.	Биохимия
2.	Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии
3.	Бюллетень экспериментальной биологии и медицины
4.	Экспериментальная и клиническая фармакология
Программное обеспечение	
Перечень лицензионного программного обеспечения. Реквизиты подтверждающего документа	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Microsoft Office 365. Договор с ООО СТК «ВЕРШИНА» №27122016-1 от 27 декабря 2016 г. 2. Kaspersky Endpoint Security Russian Edition. 100149 Educational Renewal License 1FB6161121102233870682. 100 лицензий. 3. Office Standard 2016. 200 лицензий OPEN 96197565ZZE1712. 4. Microsoft Open License :66237142 OPEN 96197565ZZE1712. 2017 5. Microsoft Open License : 66432164 OPEN 96439360ZZE1802. 2018. 6. Microsoft Open License : 68169617 OPEN 98108543ZZE1903. 2019. 7. Операционные системы OEM, OS Windows XP; OS Windows 7; OS Windows 8; OS Windows 10. На каждом системном блоке и/или моноблоке и/или ноутбуке. Номер лицензии скопирован в ПЗУ аппаратного средства и/или содержится в наклеенном на устройство стикере с голографической защитой. 8. Система автоматизации управления учебным процессом ООО «Лаборатория ММИС» 9. Доступ к личному кабинету в системе «4Portfolio». Договор № В-21.03/2017 203 от 29 марта 2017 10. Доступ к личному кабинету в системе «ЭИОС» 11. Система электронного тестирования VeralTest Professional 2.7. Акт предоставления прав № ИТ178496 от 14.10.2015 (бессрочно) 	

Учебное издание

Скульте Ирина Валерьевна
Лужнова Светлана Алексеевна
Василенко Юрий Киприанович
Жилина Оксана Михайловна
Парфентьева Елена Пантелеевна

**Рабочая тетрадь по биологической химии
33.05.01 Фармация (уровень специалитета) III курс VI семестр**

Подписано в печать «__» _____ 2021г.

Формат _____. Бумага кн. - журнальная.

Печать ротапунктная. Усл. печ. ____.

Уч.- изд.л. ____.

Тираж _____ заказ _____

**ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ- филиал
ФГБОУ ВО ВолгГМУ**

357532, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11.

