

ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЦИТОХРОМА Р450

Экспериментальный метод по определению степени участия изоформ цитохрома печени в метаболизме препарата входит в панель тестов АДМЕ. Наиболее распространенными изоферментами, обеспечивющими окислительную биотрансформацию лекарств, являются: СҮР1А2, СҮР2С9, СҮР2С19, СҮР2D6 и СҮР3А4. Знание особенностей метаболизма лекарственного средства определенными изоформами системы цитохрома Р450 является необходимым при прогнозировании возможных нежелательных явлений, вызванных лекарственным взаимодействием, которые могут приводить к изменению концентрации лекарственного средства или его метаболитов (включая активные или токсические метаболиты) в плазме крови и в области молекул-мишеней.

Цель данного исследования состоит в изучении вклада изоформ цитохрома 1A2, 3A4, 2C9, 2C19 и 2D6 в процесс метаболизма исследуемого препарата микросомами печени человека. Фенотипирование осуществляется путем селективного ингибирования этих ферментов специфическими препаратами: фурафиллином, кетоконазолом, сульфафеназолом, омепразолом и хинидином. Убыль тестируемого вещества в процессе 1 ч инкубации определяется с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Краткое описание метода

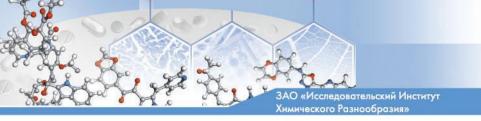
Тестируемые вещества в концентрации 1 мкМ инкубируются с микросомами человека (0,5 мг/мл, BD Gentest) в присутствии НАДФН, в 2 повторах. Метаболизм изучают без добавления ингибиторов и с селективными ингибиторами изоформ цитохрома Р450 в концентрации 10 мкМ.

Реакцию останавливают во временные точки 0, 5, 15, 30, 45, 60 мин путем добавления ацетонитрила. После преципитации белков, определяют количество оставшегося тестпрепарата в супернатантах с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа. Рассчитывают время полураспада ($T_{1/2}$), клиренс *in vitro* (CL_{int}) и оставшееся количество вещества (% от начального). По влиянию селективных ингибиторов на скорость исчезновения вещества делают вывод об изоформах P450, преимущественно задействованных в метаболизме.

Протокол фенотипирования цитохрома

Изоформы СҮР450	1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 (по требованию панель
	изоформ может быть расширена)
Концентрация соединения	1 мкМ (по требованию)
Кофактор	НАДФН
Число повторов	2
Микросомы человека	0,5 мг/мл, BD Gentest





Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	Без кофакторов;
	Специфические ингибиторы, 10 мкМ:
	кетоконазол (3A4), хинидин (2D6), омепразол
	(1А2), флувоксамин (1А2, 2С19), сульфафеназол
	(2C9)
Анализируемые параметры	- Т1/2, мин, время полураспада
	- CLint, мкл/мин/мг
	- оставшееся количество тестируемого
	соединения, %
Число тестируемых	2
соединений	

Подробнее: http://chemrar.ru/services/adme.php

По вопросам заказа и проведения исследований: Ирина Титкова Биоаналитическая лаборатория

ЗАО «ИИХР», ЦВТ "ХимРар"

тел. раб.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(557) E-mail: tira@iihr.ru