



ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЦИТОХРОМА P450

Экспериментальный метод по определению степени участия изоформ цитохрома печени в метаболизме препарата входит в панель тестов АДМЕ. Наиболее распространенными изоферментами, обеспечивающими окислительную биотрансформацию лекарств, являются: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4. Знание особенностей метаболизма лекарственного средства определенными изоформами системы цитохрома P450 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 P450 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 тест-препарата 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 CYP450	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 (3А4), хинидин (2D6), омепразол (1А2), флувоксамин (1А2, 2С19), сульфафеназол (2С9)
Анализируемые параметры	- T _{1/2} , мин, время полураспада - CL _{int} , мкл/мин/мг - оставшееся количество тестируемого соединения, %
Число тестируемых соединений	2

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@iibr.ru