

ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ В ГЕПАТОЦИТАХ

Для разработки лекарственных веществ решающее значение имеет исследование метаболизма препарата. Печень – это наиболее важное место метаболизма лекарственных препаратов в организме.

Для оценки метаболизма в печени используется тест по экспериментальному определению стабильности в культуре гепатоцитов, которая представляет собой модельную систему для изучения фармакокинетического профиля лекарственных препаратов *in vitro*. В первичной культуре криоконсервированные гепатоциты, как и свежесыводенные, сохраняют полную ферментатическую активность (фазы I и II), характерную для интактных клеток печени.

Исследования метаболической стабильности позволяют *in vitro* классифицировать соединения в зависимости от периода полуэлиминации или внутреннего клиренса и предотвращают более дорогостоящие исследования *in vivo* для неустойчивых соединений. Использование гепатоцитов разных видов млекопитающих может быть использовано для выявления межвидовых различий.

Краткое описание метода

Тестируемые соединения в конечной концентрации 1 мкМ инкубируются с пулом криоконсервированных гепатоцитов, полученных из печени разных видов млекопитающих, при осторожном перемешивании во влажной атмосфере при 37°C и 5% CO₂. Реакцию останавливают добавлением холодного ацетонитрила в 6-ти временных точках в течение 4-х часов (0, 0.5, 1, 2, 3 и 4 ч), затем из проб отбираются аликвоты, которые анализируются методом ВЭЖХ-МС/МС. Для каждого из тестируемых соединений инкубацию проводят в трех повторах в каждой временной точке. По кинетике убыли тестируемого вещества в процессе инкубации рассчитывают время полураспада (T_{1/2}), клиренс *in vitro* (CL_{int}) и оставшееся количество вещества (% от начального). Контрольные вещества – пропранолол (фаза I метаболизма) и 7-гидроксикумарин (фаза II метаболизма). Также, включен контроль стабильности соединений в инкубационной среде при отсутствии ферментатической активности гепатоцитов. Финальная концентрация ДМСО - 0.2%.

Протокол теста на определение стабильности в гепатоцитах

Клетки	Криоконсервированные гепатоциты (Celsis, Invitrogen)
Вид	Человек, крысы, собаки, мыши, приматы (по требованию)
Концентрация соединения	1 мкМ (по требованию)
Число повторов	3
Концентрация ДМСО	0.2 %
Временные точки	0; 0.5; 1, 2, 3 и 4 ч
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	- пропранолол (фаза I) и 7-гидроксикумарин (фаза II) - 4ч стабильность в среде без клеток
Анализируемые параметры	- $t_{1/2}$, мин, время полураспада - CL_{int} , мл/мин/кг, внутренний клиренс - оставшееся количество тестируемого соединения, %

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.(507)
 E-mail: tira@ihr.ru