

## ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ В S9 ФРАКЦИИ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ

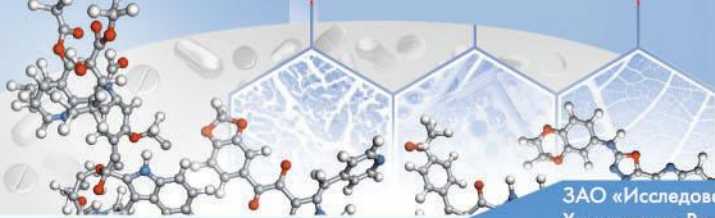
Экспериментальный метод по изучению метаболической стабильности в S9 фракции печени является важным тестом панели АДМЕ. S9 фракция печени содержит микросомы и цитозоль клеток с основными метаболическими ферментами как I, так и II фаз метаболизма: цитохромы P450, флаavin-монооксигеназы, альдегид оксидазы, глутатион трансферазы, моноамин оксидазы, УДФ (уридин 5 дифосфат-глюкорозилтрансферазы) и другие. Доступность S9 фракций, получаемых из печени различных видов млекопитающих, делает их одним из широко используемых средств для оценки метаболизма новых химических соединений: предсказание клиренса, возможных метаболитов, идентификация цитохромов, отвечающих за метаболизм исследуемого препарата. При изучении стабильности в S9 фракции печени добавляется использование таких кофакторов, как УДФГК (уридин-дифосфоглюкуроновая кислота) и ФАФС (3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат, PAPS) для расширенного исследования метаболизма фазы II.

### Краткое описание метода

Данный протокол описывает процедуру изучения метаболизма веществ в S9 фракции печени крыс, собак и человека. 1 мкМ тест-препаратов инкубируют с S9 фракцией печени на шейкере при 37°C в присутствии кофакторов. Реакции останавливают во временные точки 0, 10, 20, 30, 45 и 60 мин путем добавления ацетонитрила. После преципитации белков, определяют количество оставшихся тест-препаратов в супернатантах с помощью ВЭЖХ-МС/МС. Инкубация проводится в двух повторах. 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 – верапамил и 7-гидроксикумарин.

$T_{1/2}$  (мин) – период, за который метаболизируется половина тестируемого вещества;

$CL_{int}$  (мкл/мин/мг) – клиренс – скорость метаболизма вещества *in vitro* в расчете на мг белка S9 фракции



### Протокол теста на определение стабильности в S9 фракции микросом печени

<b>Вид S9 фракции микросом</b>	Человек, крысы, собаки, мыши, приматы (по требованию)
<b>Концентрация S9 фракции</b>	1 мг/мл (по требованию)
<b>Кофакторы</b>	НАДФН, УДФГК, ФАФС
<b>Концентрация соединения</b>	1 мкМ (по требованию)
<b>Число повторов</b>	2
<b>Концентрация ДМСО</b>	0.01 %
<b>Временные точки</b>	0; 10, 20; 30, 45, 60 мин
<b>Метод анализа</b>	ВЭЖХ-МС/МС
<b>Контроли</b>	- верапамил (фаза I) и 7-гидроксикумарин (фаза II) - стабильность без кофакторов
<b>Анализируемые параметры</b>	- t <sub>1/2</sub> , мин, время полураспада - CL <sub>int</sub> , мл/мин/кг, внутренний клиренс - оставшееся количество тестируемого соединения, %
<b>Число соединений на один вид S9 фракции</b>	10 + 2 контроля

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@ihr.ru