

ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ В МИКРОСОМАХ ПЕЧЕНИ

Для разработки лекарственных веществ решающее значение имеет исследование метаболизма препарата. Печень – это наиболее важное место метаболизма лекарственных препаратов в организме. Экспериментальный метод по изучению микросомальной стабильности является первостепенным тестом панели АДМЕ. Микросомы печени – субклеточная фракция, содержащая основные метаболические ферменты, такие как цитохромы Р450, монооксигеназы, трансферазы. Доступность микросом, 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. Использование пулированных микросом, полученных от нескольких доноров, позволяет исключить индивидуальную вариабельность. Свойства микросом хорошо охарактеризованы с использованием эталонных субстратов и воспроизводятся в разных партиях.

Данный протокол описывает процедуру изучения метаболизма веществ в микросомальной фракции печени (крыс, мышей, собак, обезьян, человека) в присутствии кофактора I фазы метаболизма (НАДФН) или (по требованию) с добавлением кофактора II фазы – конъюгации (УДФГК)

Краткое описание метода

0.5 мкМ тест-препаратов инкубируют с микросомальной фракцией печени на шейкере при 37°C в присутствии кофакторов. Реакции останавливают во временные точки 0, 5, 10, 15, 30 мин путем добавления ацетонитрила. После преципитации белков, определяют количество оставшихся тест-препаратов в супернатантах с помощью ВЭЖХ-МС/МС. Инкубацию проводят 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 декстрометорфан, 7-гидроксикумарин для II фазы метаболизма

Протокол теста на определение стабильности в микросомах печени

Вид микросом	Человек, крысы, собаки, мыши, приматы (по требованию)
Концентрация микросом	0.25 мг/мл
Кофактор	НАДФН (I) или НАДФН+ УДФГК (II)
Концентрация соединения	0.5 мкМ (по требованию)
Число повторов	2
Концентрация ДМСО	0.01 %
Временные точки	0; 5; 10; 15; 30 мин
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	- верапамил и декстрометорфан (I) - 7-гидроксикумарин (II) - Стабильность без кофакторов
Анализируемые параметры	- $t_{1/2}$, мин, время полураспада - CL_{int} , мл/мин/кг, клиренс - оставшееся количество тестируемого соединения, %
Число соединений на один вид микросом	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