



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ С БЕЛКАМИ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ ( $F_u$ Міс)

Цель исследования - определение свободной фракции тестируемого соединения в микросомах ( $F_u$ Міс) в процессе равновесного диализа. Степень связывания соединений с белками микросом существенно влияет на клиренс и время полужизни исследуемого препарата, учитывается при расчете печеночного клиренса *in vivo*. Таким образом, данные  $F_u$ Міс необходимы для прогнозирования фармакокинетических параметров лекарственных кандидатов.

### Краткое описание метода

Для определения связывания с белками микросом используют пулированные фракции микросом в фосфатном буфере. Тест проводится в 48-луночной планшете с тефлоновым покрытием, предназначенном для диализа. Каждая лунка содержит две отдельные камеры, разделенные вертикальной полупроницаемой диализной мембраной с порами 8 кДа. Суспензия микросом в концентрации 0,25 мг/мл с тестируемым соединением в концентрации 0,5 мкМ вводится в одну из камер, в другую камеру помещают буферный раствор с pH=7,4. С течением времени при 37°C и покачивании происходит пассивная диффузия несвязанного соединения и через 4 ч достигается состояние равновесия между камерами с микросомами и с буферным раствором. Количество свободной фракции оценивается с помощью ВЭЖХ-МС/МС после преципитации белков ацетонитрилом. Несвязанная фракция ( $F_u$ ) вычисляется как отношение концентрации на стороне буфера к концентрации на стороне микросом. В ходе исследования также по массовому балансу оценивается стабильность вещества в течение 4 ч и пассивная проницаемость через диализную мембрану в буфере. Контрольные соединения – пропранолол (среднее связывание), варфарин (низкое связывание), нелфинавир (высокое связывание). По требованию клиента в протоколе могут быть использованы микросомы различных видов (человек, крыса, мышь, собака, обезьяна или кролик) и дополнительные контрольные соединения.

### Протокол исследования связывания с микросомами

<b>Микросомы</b>	Человек, крысы, собаки, мыши, приматы или кролик (по требованию), XenoTech
<b>Концентрация микросом</b>	0,25 мг/мл (по требованию)
<b>Концентрация соединения</b>	0,5 мкМ (по требованию)
<b>Число повторов</b>	3
<b>Метод</b>	4 ч равновесный диализ

<b>Анализ</b>	ВЭЖХ-МС/МС
<b>Контроли</b>	- Пропранолол (среднее связывание), - Варфарин (низкое связывание), - Нелфинавир (высокое связывание) - Стабильность
<b>Анализируемые параметры</b>	- Свободная фракция в микросомах $F_u^{Mic}$ , %, - Проницаемость, % - Извлечение, %
<b>Формат</b>	5 соединений + 3 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@iibr.ru](mailto:tira@iibr.ru)