

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ С БЕЛКАМИ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ

Цель исследования - определение свободной фракции тестируемого соединения в микросомах (FuMic) 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 FuMic 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 (Fu) 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 определения связывания с белками микросом печени

Микросомы	человека, крысы, собаки, мыши, примата или кролика (по требованию)
Концентрация микросом	50%, 100% (по требованию)
Концентрация соединения	1 мкМ (по требованию)
Число повторов	2
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	- пропранолол (среднее связывание), - варфарин (низкое связывание), - нелфинавир (высокое связывание)
Анализируемые параметры	- свободная фракция в микросомах FuMic, % - проницаемость, % - извлечение, %
Число соединений	5 соединений + 3 контроля

Подробнее: <https://chemrar.ru/invitro-metabolizm-adme/>

По вопросам проведения исследований:
Конина Дарья Олеговна
Менеджер по развитию исследовательских сервисов,
ООО «НИИ ХимПар»
E-mail: konina@chemrar.ru
Тел.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(521)