

## ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЙ РАСТВОРИМОСТИ

Термодинамическая растворимость определяется как концентрация вещества в насыщенном растворе, когда достигнуто термодинамическое равновесие между растворенным веществом и растворителем. На практике, истинное термодинамическое равновесие может быть измерено посредством длительной инкубации (24-72 часа) навески препарата в растворителе - метод встряхивания флакона (shake-flask).

Подход встряхивания флакона используется для измерения термодинамической растворимости в воде, буферах с различным рН. Насыщенный раствор образуется в течение 24ч инкубации, на что указывает избыток нерастворенного материала. Затем образец фильтруется и определяется концентрация соединения в фильтрате. Риск получения сверхнасыщенного раствора является низким и определяется растворимость стабильной формы соединения.

### Краткое описание метода

В методе встряхивания флакона тестируемое соединение встряхивается в интересующем растворителе до тех пор, пока не образуется стойкая нерастворенная форма соединения. Соединение добавляется в избытке (1-20 мг) к 1 мл универсального буфера (УБ) рION с желаемым рН (рН 2, 4 и рН 7) в стеклянном флаконе и получившая суспензия инкубируется на вращающемся смесителе при комнатной температуре до достижения равновесия (24ч), затем фильтруется через 96-луночный планшетный фильтр Millipore's MultiScreen Solubility Filter. Опционально, соединение может быть растворено в фосфатносолевом буфере, рН 7,4, в УБ рION рН 7,4 или в деионизованной воде. Фильтрат разводится соответствующий буфером для анализа. Для количественного определения растворимости с помощью ВЭЖХ-МС/МС или спектрофотометрии, строится стандартная калибровка тестируемого соединения.

Диапазон концентраций калибровочной кривой включает в себя 8 точек: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 и 0 мкМ (для измерения методом спектрофотометрии) 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0,03125, 0.016 и 0 мкМ (для измерения методом ВЭЖХМС/МС).

Процент ДМСО – 2% (для измерения методом спектрофотометрии) или 0,2% (для измерения методом ВЭЖХ-МС/МС). Контрольные соединения: гидрокортизон, дипиридамола и диклофенак (по выбору).

**Протокол теста на определение термодинамической растворимости**

<b>Среда растворения</b>	буферы с разным значением pH, вода (по требованию)
<b>Концентрация соединения</b>	1-20 мг/мл
<b>Число повторов</b>	2 (аликвоты фильтрата)
<b>Концентрация ДМСО</b>	< 2 %
<b>Калибровочная кривая (8 точек)</b>	0-200 мкМ (метод спектрофотометрии) 0-1 мкМ (ВЭЖХ-МС/МС)
<b>Метод анализа</b>	ВЭЖХ-МС/МС; спектрофотометрия (диапазон 240-400 нм)
<b>Контроли</b>	гидрокортизон, дипиридамо́л и диклофенак (по выбору)
<b>Анализируемые параметры</b>	Растворимость (мг/мл, мкМ)
<b>Формат</b>	1) 14 + 2 контроля в 1 буфере 2) 3 + 2 контроля в 3 буферах

Подробнее: <https://chemrar.ru/invitro-metabolizm-adme/>По вопросам проведения исследований:  
Кони́на Да́рья Оле́говна  
Менеджер по развитию исследовательских сервисов,  
ООО «НИИ ХимПар»  
E-mail: [konina@chemrar.ru](mailto:konina@chemrar.ru)  
Тел.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(521)