

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ ЦИТОХРОМОВ (СУБСТРАТНЫЙ МЕТОД)

Цель исследования - изучение ингибирования 6-ти изоферментов цитохрома P450 (CYP450) в микросомах печени человека, используя традиционные субстраты и ВЭЖХМС/МС анализ. Тестируемые вещества в концентрации 0,005-10 мкМ инкубируются с микросомами человека (0,25 мг/мл, BD Gentest) в присутствии НАДФН и смеси из 7 специфических субстратов в 96-луночных планшетах. Реакцию останавливают через 20 мин путем добавления ацетонитрила. Образующиеся метаболиты детектируют с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа. В результате определяют значения IC50 для цитохромов 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2C8 и 3A4 (2 субстрата). В качестве контролей применяются известные специфические ингибиторы.

Протокол исследования ингибирования цитохромов (субстратный метод)

Изоформы CYP450	1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2C8, 3A4 (по требованию панель изоформ может быть расширена)
Концентрация соединения	0-10 мкМ (6 концентраций)
Число повторов	1
Кофактор	НАДФН
Субстраты	Фенацетин (1A2), мидазолам и тестостерон (3A4), толбутамид (2C9), амодиахин (2C8), s-мефенитоин (2C19), декстрометорфан (2D6). По требованию панель субстратов может быть изменена
Метаболиты	Ацетоминофен, 1-ОН-мидазолам, 6β-ОН-тестостерон, 4-ОНтолбутамид, N-десетил амодиахин, 4-ОН-мефенитоин, декстрофан.
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	мин - 100% ингибирования (смесь субстратов и кофактора без микросом); макс - 0% ингибирования (смесь субстратов, кофактора и микросом); бланк – контроль растворителя; специфические ингибиторы (6 концентраций): кетоконазол (3A4) 0-5 мкМ, хинидин (2D6) 0-1 мкМ, анаптофлавон (1A2) 0-2,7 мкМ, флувоксамин (1A2, 2C19) 0-50 мкМ, кверцетин (2C8) 0-30 мкМ; сульфафеназол (2C9) - 0-10 мкМ.
Анализируемые параметры	-% ингибирования; -IC50 - концентрация, при которой активность фермента снижается на 50%
Число соединений в плашке	18 + 6 контролей

Изоформа СУР	Субстрат	Концентрация субстрата, мкМ	Ингибитор	Метаболит
1A2	Фенацетин	60	Флувоксамин	Ацетоминофен
1A2	Фенацетин	60	а-Нафтофлавон	Ацетоминофен
3A4	Мидазолам	3	Кетоконазол	1-ОН-мидазолам
3A4	Тестостерон	60	Кетоконазол	6β-ОН-тестостерон
2C9	Толбутамид	100	Сульфафеназол	4-ОН-толбутамид
2C8	Амодиахин	6	Кверцетин	N-десетил амодиахин
2C19	S-мефенитоин	50	Флувоксамин	4-ОН-мефенитоин
2D6	Декстрометорфан	3	Хинидин	Декстрофан

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

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