

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ С БЕЛКАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Экспериментальный метод по изучению связывания с белками плазмы крови входит в панель тестов АДМЕ. Цель исследования - определение связанной и свободной фракции тестируемого соединения в плазме в процессе равновесного диализа. Степень связывания соединений с белками плазмы крови критическим образом влияет на объем распределения, клиренс и время полужизни исследуемого препарата. Так, соединения с высокими значениями связывания в меньшей степени депонируются в органах, не подвержены интенсивному метаболизму, однако в этом случае необходимо вводить большие дозы лекарственного средства, возрастает вероятность токсических эффектов. С другой стороны, низкие значения связывания соответствуют большим концентрациям свободной лекарственной формы и, как следствие, возможно достичь более высоких значений объема распределения, однако такие вещества в большей степени подвержены системному метаболизму в основном цитохромами печени, что в большинстве случаев приводит к снижению времени полезной экспозиции рецептора и необходимости более частого применения препарата. Таким образом, изучение связывания с белками плазмы крови необходимо для оценки и прогнозирования фармакокинетических параметров лекарственных кандидатов.

Краткое описание метода

Для определения связывания с белками используют пулированные образцы плазмы крови, разбавленные фосфатным буфером до 50%. Тест проводится в 48-луночной плашке с тефлоновым покрытием, предназначенной для диализа. Каждая лунка содержит две отдельных камеры, разделенные вертикальной полупроницаемой диализной мембраной с порами 8 кДа. Образец плазмы с 1 мкМ тестируемого соединения вводится в одну из камер, в другую камеру помещают буферный раствор с pH=7,2. С течением времени при 37°C и покачивании происходит пассивная диффузия несвязанного соединения и через 4 ч достигается состояние равновесия между камерами с плазмой и с буферным раствором. Количество свободной фракции оценивается с помощью ВЭЖХ-МС/МС после преципитации белков ацетонитрилом. В ходе исследования также по массовому балансу оценивается стабильность вещества в течение 4 ч и пассивная проницаемость через диализную мембрану в буфере. Контрольное соединение – варфарин. По требованию клиента в протоколе могут быть использованы 50% или неразбавленная плазма различных видов (человек, крыса, мышь, собака, обезьяна или кролик) и дополнительные контрольные соединения.

Протокол определения связывания с белками плазмы крови

Плазма	человека, крысы, собаки, мыши, примата или кролика (по требованию)
Концентрация плазмы	50%, 100% (по требованию)
Концентрация соединения	1 мкМ (по требованию)
Число повторов	2
Концентрация ДМСО	0,01 %
Временные точки	4 ч (по требованию)
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	варфарин
Анализируемые параметры	% связывания с белками плазмы извлечение (стабильность 4ч)
Число соединений	7+ контроль

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

По вопросам проведения исследований:

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