

ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ В S9 ФРАКЦИИ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ

Экспериментальный метод по изучению метаболической стабильности в S9 фракции печени является важным тестом панели АДМЕ. S9 фракция печени содержит микросомы и цитозоль клеток с основными метаболическими ферментами как I, так и II фаз метаболизма: цитохромы P450, флаavin-монооксигеназы, альдегид оксидазы, глутатион трансферазы, моноамин оксидазы, УДФ (уридин 5 дифосфат-глюкоронозилтрансферазы) и другие. Доступность S9 фракций, получаемых из печени различных видов млекопитающих, делает их одним из широко используемых средств для оценки метаболизма новых химических соединений: предсказание клиренса, возможных метаболитов, идентификация цитохромов, отвечающих за метаболизм исследуемого препарата. При изучении стабильности в S9 фракции печени добавляется использование таких кофакторов, как УДФГК (уридиндифосфоглюкуроновая кислота) и ФАФС (3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат, PAPS) для расширенного исследования метаболизма фазы II.

Краткое описание метода

Данный протокол описывает процедуру изучения метаболизма веществ в S9 фракции печени крыс, собак и человека. 1 мкМ тест-препаратов инкубируют с S9 фракцией печени на шейкере при 37°C в присутствии кофакторов. Реакции останавливают во временные точки 0, 10, 20, 30, 45 и 60 мин путем добавления ацетонитрила. После преципитации белков, определяют количество оставшихся тест-препаратов в супернатантах с помощью ВЭЖМС/МС. Инкубация проводится в двух повторах. По кинетике убыли тестируемого вещества в процессе инкубации рассчитывают время полураспада (T1/2), клиренс in vitro (CLint) и оставшееся количество вещества (% от начального). Контрольные вещества – верапамил и 7-гидроксикумарин.

Протокол теста на определение стабильности в S9 фракции печени

Вид S9 фракции печени	человека, крысы, собаки, мыши, примата (по требованию)
Концентрация S9 фракции	1 мг/мл
Кофактор	НАДФН, УДФГК, ФАФС
Концентрация соединения	1 мкМ (по требованию)
Число повторов	2
Концентрация ДМСО	0.01 %
Временные точки	0; 10, 20; 30, 45, 60 мин
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС
Контроли	- верапамил (I) - 7-гидроксикумарин (II) - стабильность без кофакторов
Анализируемые параметры	- t1/2, мин, время полураспада - CLint, мл/мин/кг, клиренс - оставшееся количество тестируемого соединения, %
Число соединений на один вид S9 фракции	10 + 2 контроля

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

По вопросам проведения исследований:

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