

## ТЕСТ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ В ГЕПАТОЦИТАХ

Для разработки лекарственных веществ решающее значение имеет исследование метаболизма препарата. Печень – это наиболее важное место метаболизма лекарственных препаратов в организме.

Для оценки метаболизма в печени используется тест по экспериментальному определению стабильности в культуре гепатоцитов, которая представляет собой модельную систему для изучения фармакокинетического профиля лекарственных препаратов *in vitro*. В первичной культуре криоконсервированные гепатоциты, как и свежесыводенные, сохраняют полную энзиматическую активность (фазы I и II), характерную для интактных клеток печени.

Исследования метаболической стабильности позволяют *in vitro* классифицировать соединения в зависимости от периода полураспада или внутреннего клиренса и предотвращают более дорогостоящие исследования *in vivo* для неустойчивых соединений. Использование гепатоцитов разных видов млекопитающих может быть использовано для выявления межвидовых различий.

### Краткое описание метода

Тестируемые соединения в конечной концентрации 1 мкМ инкубируются с пулом криоконсервированных гепатоцитов, полученных из печени разных видов млекопитающих, при осторожном перемешивании во влажной атмосфере при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Реакцию останавливают добавлением холодного ацетонитрила в 6-ти временных точках в течение 4-х часов (0, 0.5, 1, 2, 3 и 4 ч), затем из проб отбираются аликвоты, которые анализируются методом ВЭЖХ-МС/МС. Для каждого из тестируемых соединений инкубацию проводят в трех повторах в каждой временной точке. По кинетике убыли тестируемого вещества в процессе инкубации рассчитывают время полураспада (T<sub>1/2</sub>), клиренс *in vitro* (Cl<sub>int</sub>) и оставшееся количество вещества (% от начального). Контрольные вещества – пропранолол (фаза I метаболизма) и 7-гидроксикумарин (фаза II метаболизма). Также, включен контроль стабильности соединений в инкубационной среде при отсутствии энзиматической активности гепатоцитов. Финальная концентрация ДМСО - 0.2%.

### Протокол теста на определение стабильности в гепатоцитах

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Клетки                  | криоконсервированные гепатоциты (Celsis, Invitrogen)  |
| Вид                     | человек, крысы, собаки, мыши, приматы (по требованию)   |
| Концентрация соединения | 1 мкМ (по требованию)   |
| Число повторов          | 3   |
| Концентрация ДМСО       | 0.2 %   |
| Временные точки         | 0; 0.5; 1, 2, 3 и 4 ч   |
| Метод анализа           | ВЭЖХ-МС/МС  |
| Контроли                | - пропранолол (фаза I) и 7-гидроксикумарин (фаза II) -<br>4ч стабильность в среде без клеток  |
| Анализируемые параметры | - t <sub>1/2</sub> , мин, время полураспада<br>- Cl <sub>int</sub> , мл/мин/кг, клиренс<br>- оставшееся количество тестируемого соединения, % |

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](mailto:konina@chemrar.ru)  
Тел.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(521)