

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 смешивателе 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, дипиридабол и диклофенак (по выбору).

Протокол теста на определение термодинамической растворимости

Среда растворения	буферы с разным значением pH, вода (по требованию)
Концентрация соединения	1-20 мг/мл
Число повторов	2 (аликвоты фильтрата)
Концентрация ДМСО	< 2 %
Калибровочная кривая (8 точек)	0-200 мкМ (метод спектрофотометрии) 0-1 мкМ (ВЭЖХ-МС/МС)
Метод анализа	ВЭЖХ-МС/МС; спектрофотометрия (диапазон 240-400 нм)
Контроли	гидрокортизон, дипиридамом и диклофенак (по выбору)
Анализируемые параметры	Растворимость (мг/мл, мкМ)
Формат	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 Дарья Олеговна
Менеджер по развитию исследовательских сервисов,
ООО «НИИ ХимПар»
E-mail: konina@chemrar.ru
Тел.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(521)