

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Univerzita Východního Finska v Kuopiu, Škola Farmacie

Katedra farmaceutické chemie

Kandidát: Lenka Rejšková

Školitel: doc. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Konzultant: Prof. Seppo Auriola

Název diplomové práce: **Stanovení isoenzymů cytochromu P450 pomocí UHPLC-MS/MS v modifikovaných buněčných liniích C3A, CACO2 a v lidských jaterních mikrosomech**

Isoenzymy cytochromu P450 (CYP) hrají podstatnou roli v metabolismu léčiv. Mohou být zodpovědné za selhání terapie, vedlejší nebo toxické účinky a za interakce léčiv. Modifikované C3A a CACO2 buněčné linie s exprimovaným konstitutivním androstanovým receptorem (CAR) a pregnanovým X receptorem (PXR) by mohly být použity pro *in vitro* biotransformační a absorpční studie místo klasických primárních buněčných linií. Isoenzymy CYP by v těchto liniích měly být neustále exprimovány. Tato studie je zaměřena na vytvoření kvantitativní metody pro stanovení nejběžnějších isoenzymů CYP u člověka: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1, CYP3A5 a CYP3A4 v uvedených buněčných liniích a v lidských jaterních mikrosomech. Absolutní kvantitativní stanovení isoenzymů CYP bylo provedeno na UHPLC přístroji spojeném s tandemovým hmotnostním detektorem pracujícím v dynamickém MRM módu. Software Skyline 2.6 byl použit pro vyhodnocení dat. V modifikovaných buněčných liniích CACO2 a C3A nebyly isoenzymy CYP detekovány. V lidských jaterních mikrosomech byly isoenzymy CYP detekovány. Průměrné hodnoty jsou od 0.6 pmol/mg do 21.5 pmol/mg celkového proteinu v mikrosomech. Nejnižší detekovaná množství proteinů CYP ve stokrát naředěném vzorku lidských jaterních mikrosomů byly 0.006 – 0.210 pmol/mg celkového proteinu v mikrosomech. Tyto výsledky poukazují na možnost, že koncentrace isoenzymů CYP v modifikovaných C3A a CACO2 buněčných liniích byly zřejmě pod limitem detekce.

Klíčová slova: Cytochrom P450, CACO2 a C3A modifikované buněčné linie, Lidské jaterní mikrosomy, Standardy peptidů, UHPLC-MS/MS, MRM, Software Skyline 2.6