

## АННОТАЦИЯ

выпускной квалификационной работы по теме:

«Изучение время-зависимой кинетики ингибирования цитохрома CYP3A4 на модели *in vitro*»

**Исполнитель:** студентка 402 группы медико-биологического факультета Волгоградского государственного медицинского университета Анастасия Геннадиевна Киндерова, направление подготовки Биология (профиль «Биохимия»)

**Научный руководитель:** доцент кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолГМУ, к.м.н. Толкачев Борис Евгеньевич

**Научный консультант:** научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований ГБУ ВМНЦ, к.м.н. Евгений Игоревич Морковин

**Сроки выполнения:** 2017–2018 учебный год

**Цель исследования:** изучение время-зависимого ингибирования изофермента 3A4 цитохрома P450 (CYP450) препаратом ивабрадина в микросомах печени крыс, используя тестостерон в качестве модельного субстрата и мифенпристона в качестве специфического ингибитора.

**Задачи исследования:**

1. Разработать и валидировать методику хромато-масс-спектрометрического количественного определения тестостерона и его метаболита 6 $\beta$ -гидрокситестостерона.
2. Провести оптимизацию параметров инкубации тестового субстрата (ивабрадина) и модельного время-зависимого ингибитора (мифенпристона) с микросомами печени крыс.

3. Определить значения  $IC_{50}$  после предварительной инкубации ивабрадина с микросомами, содержащими фермент CYP3A4, в отсутствие и в присутствии кофермента NADPH, и вычислить отношение этих величин («сдвиг»  $IC_{50}$ ) и сделать вывод относительно возможности отнесения ивабрадина к время-зависимым ингибиторам.

#### **Дизайн исследования:**

Тестируемые вещества (ивабрадина) в шести концентрациях будут преинкубированы с микросомами крысы, полученными по оптимизированному ранее протоколу в присутствии/без NADPH в при 37 °C. После 30 минут преинкубации смесь разбавляется в 10 раз раствором, содержащим специфический субстрат (тестостерон) для измерения остаточной активности ферментов и инкубируется. Реакцию останавливают ацетонитрилом через 15 мин после добавления субстратов. Образующийся метаболит (6 $\beta$ -гидрокситестостерон) детектируют с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализа. В качестве контроля будет применён специфический ингибитор (мифенристон).

#### **Предполагаемые пути решения задач:**

Методика ВЭЖХ-МС/МС определения тестостерона и его метаболита будет разработана и валидирована с использованием хроматографической системы Agilent 1260 и масс-спектрометра Sciex QTRAP5500. В рамках оптимизации параметров инкубации будет определён диапазон концентраций тестового субстрата ивабрадина, концентрация ингибитора и время инкубации, обеспечивающее получение наиболее воспроизводимых информативных данных. Обработка данных и статистический анализ будет произведен с использованием программы GraphPad Prism 5.0.  $IC_{50}$  будет рассчитан как показатель концентрации тестового лекарственного вещества, необходимого для 50 % ингибирования тестовой реакции *in vitro*. Тестовый

субстрат, демонстрирующий «сдвиг»  $IC_{50} \geq 1.5$  в ходе in vitro эксперимента, классифицируется как время-зависимый.

**Исполнитель:**

студентка 402 группы

медико-биологического факультета ВолгГМУ,

направление подготовки

«Биология» (профиль «Биохимия»)



А. Г. Киндерова

23.10.14

**Научный руководитель:**

доцент кафедры фундаментальной медицины

и биологии ВолгГМУ, к.м.н.

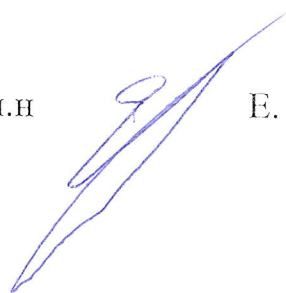


Б. Е. Толкачев

**Научный консультант:**

н. с. лаборатории геномных

и протеомных исследований ГБУ ВМНЦ, к.м.н



Е. И. Морковин