ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidátka: Mgr. Lucie Zemčíková

Školitel: doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.

Název dizertační práce: Vliv přírodních látek na transport lékovými OATP transportéry

Membránové transportéry ze skupiny OATP (organic anion-transporting polypetides) patří mezi přenašeče odpovědné za transport některých léčiv (např. hypolipidemik ze skupiny statinů) a dalších xenobiotik přes biologické membrány a bariéry v organismu. Tyto transportní proteiny tedy hrají důležitou úlohu při farmakokinetických procesech jako je absorpce, distribuce a eliminace. Potenciální modulace jejich transportní funkce přírodními látkami běžně se vyskytujícími v potravě rostlinného původu či potravních doplňcích může mít za následek změny koncentrací jejich substrátů (léčiv) v buňkách a tělních tekutinách, což může ovlivnit účinek i toxicitu těchto léčiv.

Cílem práce bylo získat údaje o interakci vybraných přírodních látek s lidskými transportéry OATP2B1 a OATP1A2, které se podílejí na uptake léčiv na významných farmakokinetických bariérách organismu, a o jejich schopnosti ovlivnit transport lékových substrátů těmito transportéry. Pro studium byly vybrány přírodní látky ze skupiny flavonoidů a isoflavonů. Společnou charakteristikou zkoumaných flavonoidů (fisetin, galangin, chrysin, myricetin, pinobanksin, pinocembrin) je výskyt ve včelím medu; studované isoflavony (daidzin, daidzein, genistin, genistein, glycitin, glycitein, biochanin A, formononetin) jsou obsaženy především v sóji a sójových produktech. U isoflavonů byla zkoumána i interakce nejvýznamnějších metabolitů vznikajících v GIT (*S*-equol, *O*-desmethylangolensin) s těmito transportéry. Modelovým lékovým substrátem OATP transportérů bylo široce používané hypolipidemikum rosuvastatin.

Jako experimentální model byly v práci použity vybrané buněčné linie přechodně transfekované příslušným OATP transportérem s ověřenou vysokou expresí sledovaného

transportéru. S těmito modely byly provedeny inhibiční studie zkoumající vliv vybraných flavonoidů a isoflavonů na transportní funkci studovaných transportérů. Ke kvantitativní charakteristice inhibičního efektu byly použity standardní parametry IC_{50} a K_i. Jako komparátor sloužil flavonoid quercetin, jehož inhibiční aktivita vůči studovaným OATP transportérům již byla popsána dříve. U látek byla provedena rovněž analýza mechanismu inhibice zkoumaných transportérů. Potence ovlivnit transport lékového substrátu byla studována sledováním vlivu vybraných flavonoidů na uptake radioaktivně značeného rosuvastatinu. Pro nepřímé zjištění, zda jsou zkoumané flavonoidy potenciálními substráty transportérů, byla porovnána jejich cytotoxicita u buněk exprimujících a neexprimujících sledované transportéry.

Výsledky inhibičních studií na buněčných modelech *in vitro* ukázaly, že chrysin, galangin a pinocembrin mohou inhibovat OATP2B1, resp. OATP1A2 v nižších či srovnatelných koncentracích jako quercetin. Galangin, chrysin a pinocembrin účinně inhibovaly uptake rosuvastatinu prostřednictvím OATP2B1 s IC_{50} v rozmezí 1-10 μM. Inhibice transportu rosuvastatinu prostřednictvím OATP1A2 těmito flavonoidy byla méně intenzivní. V případě sójových isoflavonů byla prokázána schopnost statisticky významně inhibovat přenos transportérem OATP2B1 u zkoumaných aglykonů a hlavního biologicky aktivního metabolitu *S*-equolu s hodnotami K_i 1–20 μM. Naopak, glukosidové formy neměly významný vliv na akumulaci standardního substrátu pomocí OATP2B1. Kinetickou analýzou bylo zjištěno, že mechanismus inhibice OATP zkoumanými přírodními látkami není uniformní, i když, hlavně u isoflavonů, převažoval mechanismus kompetitivní. Transport zkoumaných flavonoidů do buněk zprostředkovaný OATP transportéry nebyl cytotoxickým testem prokázán.

Získaná data ukazují na významnou schopnost řady zkoumaných přírodních látek inhibovat transport prostřednictvím transportéru OATP2B1 a/nebo OATP1A2 *in vitro*, což naznačuje potenci pro ovlivnění transportu a modifikaci farmakokinetiky léčiv transportovaných OATP přes biologické membrány i *in vivo*.