

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: **Helena Zálešáková**

Školitel: **PharmDr. Marie Vopršálová, CSc.**

Název diplomové práce: ***In vitro* metody pro predikci penetrace látek přes HEB**

Tato diplomová práce se zabývá korelací mezi dvěma *in vitro* modely simulujícími hematoencefalickou bariéru (HEB, z angl. hematoencephalic barrier) a jejich porovnáním z hlediska praktického využití. Jedná se o metodu PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay) a metodu využívající MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) buněčnou linii, což jsou modely pro screening látek potenciálně penetrujících do centrálního nervového systému (CNS, z angl. central nervous system). V rámci této práce byl změřen set šestnácti standardních léčiv. Vlastní provedení bylo podobné u obou metod s cílem získat informaci o tom, jaké množství testovaných látek prostoupí přes membránu z donorové části destičky do akceptorové. Koncentrace v donorové části byla změřena pomocí UV-VIS spektrofotometrie. Hlavní odlišností mezi metodami je membrána, přes kterou látky prostupují. V případě PAMPA se používá fosfolipid, který byl izolován z mozku vepře (PBL, z angl. polar brain lipid). Tento lipid simuluje fosfolipidovou membránu endotelu mozkových kapilár. U MDCK modelu je membrána tvořena monovrstvou MDCK buněk, které jsou pěstovány na mikroporézní membráně umístěné mezi donorovou a akceptorovou částí systému. Detekovaná donorová koncentrace byla převedena na permeabilitní koeficienty a metody byly porovnány mezi sebou a také s *in vivo* prostupností získanou z literatury. Bylo zjištěno, že u třinácti léčiv výsledky z obou metod odpovídají *in vivo* situaci a že nejlepší korelace je u látek, které prostupují přes HEB pasivní difuzí. V PAMPA modelu byla zjištěna chybná predikce pro látky využívající aktivní transportní mechanismy, kterou model využívající MDCK buněčnou linii z velké části eliminoval. MDCK model sice obsahuje aktivní transportéry, ale všechny nemají stejnou substrátovou specifitu jako v HEB. Navíc některé transportéry přítomné v HEB zde zcela chybí. Proto MDCK model chybně určuje prostup látek, které podléhají některým transportérům specifickým pro HEB. Metoda PAMPA je v porovnání s MDCK modelem rychlá, levná a vhodná pro screening větších setů látek. Dílčím cílem bylo zjištění vlivu dimethylsulfoxidu (DMSO) použitého jako kosolventu při rozpouštění vzorků s výsledkem, že v koncentracích použitých za tímto účelem spolehlivost metody PAMPA neovlivňuje.

Klíčová slova: hematoencefalická bariéra, *in vitro*, PAMPA, MDCK linie, DMSO