

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmakologie a toxikologie

Kandidát: Mgr. Alice Nová

Školitel: Doc. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D.

Název dizertační práce: Interakce léčiv s nukleárními receptory při regulaci biotransformačních enzymů a lékových transportérů

Biotransformační enzymy metabolizující xenobiotika hrají klíčovou roli v metabolismu, eliminaci a detoxifikaci xenobiotik, která se dostanou do kontaktu s organismem a chrání tak organismus před potenciálními škodlivými účinky xenobiotik, i některých endobiotik. Ve většině tkání se nacházejí biotransformační enzymy fáze I, II i lékové transportéry, které jsou exprimovány na bazální úrovni nebo jsou inducibilní a jejich exprese se zvyšuje po vystavení organismu xenobiotikům. Ovlivnění exprese a aktivity biotransformačních enzymů a lékových transportérů může vyústit v nepředvídatelnou tkáňovou a systémovou distribuci podaných léčiv, nežádoucí účinky nebo selhání terapie.

Indukce biotransformačních enzymů a lékových transportérů je zprostředkována především orphan nukleárními receptory - pregnanovým X receptorem (PXR) a konstitutivním androstanovým receptorem (CAR), a transkripčním faktorem aryl hydrokarbonovým receptorem AhR.

Tato dizertační práce předkládá výsledky tří studií, zabývajících se studiem genové regulace léčiv metabolizujících enzymů a lékových transportérů prostřednictvím nukleárních receptorů.

V první části dizertační práce se zabýváme studiem stereoselektivních interakcí enantiomerů warfarinu s PXR a ovlivněním regulace genové exprese nejdůležitějších biotransformačních enzymů cytochromu P450. Warfarin, široce používané antikoagulans, je v praxi dostupný jako racemická směs R a S enantiomerů, přičemž S-warfarin vykazuje asi 5x vyšší antikoagulační aktivitu, než R-warfarin. V této studii jsme ukázali, že R-warfarin interaguje s PXR a jeho prostřednictvím indukuje expresi *CYP3A4* a *CYP2C9* mRNA v primárních lidských hepatocytech a ve střevní adenokarcinomové buněčné linii LS174T, zatímco S-warfarin vykazoval nižší schopnost transaktivovat cílové geny prostřednictvím

PXR. Navíc jsme zjistili, že 4'- a 10-hydroxywarfariny jsou také ligandy PXR a indukují *CYP3A4* a *CYP2C9* mRNA v lidských hepatocytech a tím pádem by 4'- a 10-hydroxymetabolity R-warfarinu mohly být aktivními ligandy PXR. Tyto výsledky nabízejí otázku, zda by použití S-warfarinu společně s genotypizací VKORC1 a CYP2C9 bylo bezpečnější variantou antikoagulační terapie v souvislosti s nežádoucími farmakokinetickými lékovými interakcemi, než současné používání racemátu warfarinu.

Ve druhé části této dizertační práce, zabývající se studiem regulace organického kationtového transportéru OCT1 jsme zjistili, že OCT1 je transaktivován prostřednictvím indukce HNF4 $\alpha$  glukokortikoidním receptorem (GR) v primárních lidských hepatocytech, ale ne v modelových hepatomových liniích HepG2 a MZ-Hep1. Tyto rozdíly mohou být způsobeny ovlivněním transkripčních faktorů podílejících se na regulaci OCT1 vlivem odlišných signálních kaskád v normálních hepatocytech a hepatokarcinomových buněčných liniích. V 1,7 kb promotorové sekvenci jsme nenašli žádný funkční GR responzivní element a OCT1 tedy s největší pravděpodobností není přímo transaktivován GR, ale nelze vyloučit přítomnost GR responzivního elementu v jiných pozicích promotoru OCT1

Poslední část dizertační práce se zabývá hledáním nových ligandů CAR ze skupiny chinazolinových derivátů. Z 20 nově nasyntetizovaných derivátů chinazolinu jsme u tří látek, CHP4, CHP5 a CHP6 popsali jejich interakci s vazebnou doménou CARu. Ukázali jsme, že tyto tři látky transaktivují pBREM/2B6 promotor prostřednictvím sestřihových variant CARu CAR1 i CAR3 v buněčné linii COS-1. Interakce s CAR3 variantou jsou schopny pouze přímé aktivátory. CHP4, CHP5 i CHP6 signifikantně potencovaly interakci mezi C- a N-terminálními regiony CAR ligand vazebné domény, čehož jsou schopné pouze přímé aktivátory CARu. Testované látky také transaktivovaly *CYP2B6* mRNA v lidských hepatocytech a buněčné linii HepG2. Nalezení modelového ligandu CAR by mohlo pomoci detailněji prostudovat funkce tohoto receptoru, jehož role v organismu není v současné době zcela objasněná.