STRESZCZENIE

Leki przeciwpasożytnicze odgrywają istotną rolę w ochronie zdrowia zwierząt, należąc do najczęściej stosowanych grup terapeutycznych w weterynarii. W związku z narastającym problemem oporności pasożytów na dotychczas stosowane substancje czynne poszukiwane są nowe związki o odmiennym mechanizmie działania i korzystnym profilu farmakologicznym. Pochodne izoksazolin stanowią nową i dynamicznie rozwijającą się grupę leków przeciwpasożytniczych, której zastosowanie rozszerzyło się w ostatnich latach ze zwierząt towarzyszących również na wybrane gatunki zwierząt gospodarskich, w tym kury nioski. Pomimo że europejski patent EP3878281B1 obejmuje możliwość zastosowania u drobiu fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru, dostępne dane farmakokinetyczne dotyczą tylko fluralaneru. W konsekwencji farmakokinetyka pozostałych pochodnych izoksazolin u kur niosek pozostawała dotychczas nieznana. Nie wyjaśniono również, czy transportery wypływowe, w tym glikoproteina-P (P-gp/ABCB1) oraz białko oporności raka piersi (BCRP/ABCG2) uczestniczą w farmakokinetyce pochodnych izoksazolin, mimo że ich udział wykazano w odniesieniu do wielu ksenobiotyków, w tym wielu leków charakteryzujących się znaczną lipofilnością. W związku z powyższym w pracy postawiono trzy cele badawcze: (1) poznanie farmakokinetyki wybranych pochodnych izoksazolin, tj. fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru, u kur niosek oraz ustalenie, czy u tego gatunku występują istotne różnice w zakresie właściwości farmakokinetycznych tych leków; (2) ocena udziału P-gp i BCRP w farmakokinetyce fluralaneru u kur z wykorzystaniem elakrydaru jako inhibitora oraz oksytetracykliny jako substratu tych transporterów, poprzez analizę zmian profilu stężenie–czas fluralaneru; (3) optymalizacja i rewalidacja autorskiej metody z zastosowaniem ultrawysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (UPLC-MS/MS) umożliwiającej jednoczesne i precyzyjne oznaczanie wybranych pochodnych izoksazolin w osoczu. Badania przeprowadzono na kurach nioskach linii ISA Brown, którym podawano fluralaner, sarolaner, lotilaner i afoksolaner drogą dożylną (IV) oraz doustną (PO) w ujednoliconym modelu doświadczalnym, co umożliwiło bezpośrednie porównanie ich parametrów farmakokinetycznych. Wpływ transporterów wypływowych P-gp i BCRP na farmakokinetykę fluralaneru oceniono po zastosowaniu elakrydaru, tj. inhibitora P-gp i BCRP oraz oksytetracykliny, będącej substratem tych transporterów. Oznaczenia stężeń badanych związków w osoczu wykonano metodą UPLC-MS/MS, a analizę farmakokinetyczną przeprowadzono z wykorzystaniem podejścia niekompartmentowego. Bezpośrednie

porównanie fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru wykazało istotne różnice w ich profilach farmakokinetycznych po podaniu IV oraz PO. Spośród badanych związków sarolaner charakteryzował się najwyższą ekspozycją ogólnoustrojową (AUC) oraz najdłuższym czasem uzyskania ostatniego oznaczalnego stężenia (t_{last}) po podaniu PO. Natomiast po podaniu IV lotilaner wykazywał najwyższą wartość klirensu (Cl) oraz najwyższą wartość stałej szybkości eliminacji (k_{el}). Zastosowanie elakrydaru prowadziło do zwiększenia wartości AUC oraz dostępności biologicznej (F) fluralaneru. Podanie oksytetracykliny wywoływało zmiany o analogicznym, lecz mniej nasilonym charakterze. W ramach części metodycznej zoptymalizowano i zrewalidowano wieloskładnikową metodę UPLC-MS/MS umożliwiającą jednoczesne oznaczanie fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru w osoczu kur niosek, spełniającą wymagania EMA i FDA dotyczące metod bioanalitycznych. Po raz pierwszy przeprowadzono bezpośrednie porównanie farmakokinetyki fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru u kur w ujednoliconych warunkach eksperymentalnych. Wyniki tych badań pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków: (1) fluralaner, sarolaner, lotilaner i afoksolaner, mimo bliskiego pokrewieństwa strukturalnego, nie stanowią u kur niosek jednorodnej grupy farmakokinetycznej, lecz różnią się w zakresie wchłaniania, dystrybucji i eliminacji. Sarolaner wykazuje największą ekspozycję ogólnoustrojową i najdłuższy średni czas przebywania w organizmie, natomiast lotilaner charakteryzuje się najszybszą eliminacją; (2) uzyskane wyniki wskazują, że mechanizmy transportu wypływowego mogą uczestniczyć w kształtowaniu dostępności biologicznej i profilu farmakokinetycznego fluralaneru; (3) zwalidowana wieloskładnikowa metoda UPLC-MS/MS umożliwia jednoczesne oznaczanie fluralaneru, sarolaneru, lotilaneru i afoksolaneru w osoczu kur niosek, co pozwala na prowadzenie porównawczych badań farmakokinetycznych tych związków.