

# Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: **Mgr. Jakub Hofman**

Školitel: **Prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.**

Název dizertační práce: **Interakce inhibitorů cyklin-dependentních kináz s ABC lékovými transportéry *in vitro* a *in situ***

V této práci jsme se zaměřili na studium farmakokinetických interakcí inhibitorů cyklin-dependentních kináz (CDKi) s lékovými efluxními transportéry breast cancer resistance proteinem (BCRP) a P-glykoproteinem (P-gp). Pomocí akumulčních a transportních metod jsme na buněčném modelu MDCKII-ABCG2 prokázali, že purinové CDKi purvalanol A, olomoucín II, bohemin a roskovitin inhibují BCRP. S využitím akumulčních metod a buněk MDCKII-ABCB1 jsme dále ukázali, že purvalanol A silně inhibuje P-gp a částečná inhibice byla zaznamenána i u ostatních studovaných CDKi (olomoucín II, roskovitin, flavopiridol, SNS-032). Stejně buněčné modely jsme použili pro studium substrátové afinity vybraných CDKi a pomocí transportní metody jsme určili olomoucín II jako duální substrát P-gp a BCRP. Substrátová afinita purvalanolu A k P-gp ani k BCRP nebyla prokázána. Tato zjištění jsme potvrdili s využitím stanovení ATPázové aktivity P-gp, které dále odhalilo skutečnost, že roskovitin je substrátem P-gp a flavopiridol a SNS-032 nejsou P-gp substráty nebo jsou pouze substráty s velmi nízkou afinitou. V další části práce jsme ověřili předchozí *in vitro* výsledky na orgánové úrovni pomocí metody duální perfúze potkaní placenty. Potvrdili jsme inhibici potkaního Bcrp pomocí purvalanolu A, olomoucínu II, boheminu i roskovitinu a substrátovou afinitu olomoucínu II k potkanímu P-gp i Bcrp. Zároveň jsme vyloučili substrátovou afinitu purvalanolu A k oběma testovaným transportérům. V závěrečné části studie jsme testovali naši hypotézu, že CDKi, které inhibují lékové transportéry, mohou zvýšit akumulaci současně podaných cytotoxických substrátů a zároveň potencovat jejich účinek svou vlastní antiproliferativní a cytotoxickou aktivitou. Pro tento účel jsme využili metody „combination index method of Chou-Talalay“. Synergistický či alespoň aditivní efekt

byl pozorován v kombinaci olomoucínu II a purvalanolu A s mitoxantronem, známým substrátem BCRP, na třech liniích přirozeně exprimujících značná množství BCRP. Naši hypotézu jsme dále potvrdili při kombinaci purvalanolu A, roskovitinu a olomoucínu II s daunorubicinem (substrát P-gp), kdy jsme sledovali výrazně vyšší synergistický efekt těchto kombinací na linii MDCKII-ABCB1 ve srovnání s parentními buňkami. S ohledem na naše výsledky můžeme očekávat značný vliv testovaných CDKi na farmakokinetické i farmakodynamické chování současně podaných léčiv, která jsou substráty BCRP nebo P-gp. Tuto skutečnost je třeba mít na zřeteli v případě možného zavedení CDKi do klinické praxe. Náš přístup kombinující CDKi, které inhibují lékové transportéry, s cytotoxickými substráty těchto transportérů, by alespoň částečně mohl pomoci překonat mnohočetnou lékovou rezistenci, která představuje jednu z největších překážek v chemoterapii.