

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Ph.D. program: Gyógyszerkémia, gyógyszerkutatás
Programvezető: Prof. Dr. Fülöp Ferenc
Intézet: Gyógyszerkémiai Intézet
Témavezetők: Dr. Krajcsi Péter,
Prof. Dr. Fülöp Ferenc

Rajnai Zsuzsanna

**Toxikológiailag szignifikáns efflux transzporterek jellemzése és
azok gyógyszerekkel való kölcsönhatása**

Szigorlati Bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Dombi György
Tagok: Prof. Dr. Dux László
Prof. Dr. Janáky Tamás
Dr. Szabó Pál

Bírálni Bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Révész Piroska
Opponensek: Dr. Jemnitz Katalin
Dr. Deli Mária
Tagok: Dr. Vízler Csaba
Dr. Hunyadi Attila

Rövidítések jegyzéke

ABC -	ATP-kötő kazetta transzporter
ADME -	abszorpció-disztribúció-metabolizmus-exkrécio
ATP -	adenozin trifoszfát
BBB -	vér-agy gát
BCRP -	mellrák rezisztencia protein, (MXR, ABCP, ABCG2)
Caco-2 -	kolorektális karcinóma sejtvonala
HEK293 -	emberi embrió vese sejtek
HL60 -	humán promyelocitikus leukémia sejtvonala
HT -	nagy áteresztőképességű
K562 -	emberi mielogén leukémia sejtek
MCF7 -	emberi mell-adenocarcinoma sejtek
MDCKII -	Madin-Darby II kutya vese sejtek
MDR -	multidrog rezisztencia
MDR1 -	multidrog rezisztencia protein 1 (P-gp, ABCB1)
MRP1 -	multidrog rezisztencia asszociált protein 1 (ABCC1)
P_{app} -	apparens permeabilitási együttható
Sf9 -	<i>Spodoptera frugiperda</i> petefészek sejtek
VT -	vezikuláris transzport

1. Bevezetés és célkitűzések

A transzporterek nagymértékben befolyásolják a fiziológiás szubsztrátok, endobiotikumok homeosztázisát valamint a xenobiotikumok, gyógyszerek farmakokinetikáját vagy ADME tulajdonságait. Ezért a transzporterek alapvetően befolyásolják a különböző szubsztrátok plazma és szöveti szintjeit. A transzporterek gyógyszerközvetített gátlása tehát az endobiotikumok és xenobiotikumok szintjének növekedéséhez vezethet a plazmában és a szövetekben. A szűk terápiás indexekkel rendelkező úgynevezett "victim" vagy áldozatként résztvevő gyógyszerek különösen aggodalomra adhatnak okot, mivel a plazma- vagy szövetkoncentrációjuk növekedése mérgező hatáshoz, toxicitáshoz vezethet. A gyógyszereknek úgynevezett elkövetőként ("perpetrator") is lehetnek káros hatásai, ha a transzporterek gátlása az egyidejűleg alkalmazott gyógyszer (gyógyszer-gyógyszer kölcsönhatás) vagy endobiotikum (gyógyszer-endobiotikus kölcsönhatás) szintjének fokozódásához vezet.

Az ATP-kötő kazetta (ATP-binding cassette - ABC) transzporter szupercsalád és génjei az ismert transzmembrán fehérjék egyik legnagyobb családját képviselik. Tagjai szinte minden élő szervezetben megtalálhatók baktériumoktól az emlősökig. Emberben számos élettani folyamatban játszanak fontos szerepet, beleértve az endobiotikumok vagy xenobiotikumok fiziológiai akadályokon ("barriereken") keresztül történő permeabilitásának modulálását [1, 2].

Számos fiziológiai határfelület létezik az emberi szervezetben. A bél, a máj, a vese és a vér- vagy gát(ak) tekinthetők kulcsfontosságúnak egy gyógyszer ADE (Absorption-Distribution-Excretion, azaz felszívódás-eloszlás-kiválasztás) tulajdonságainak szempontjából. Ezek definiálják is a gyógyszerek biohasznosulását és farmakokinetikáját [3]. Meg kell jegyezni, hogy a nem célzott sejtekben / szövetekben fellépő toxicitástól eltérően a célsejttoxicitás nem mindig nemkívánatos (például toxicitás a rákos sejtekben) [1]. Ez az értekezés csak az ABCB1-et és ABCG2-t taglalja részletesebben, mivel ezek toxikológiai szempontból is figyelemre méltó szerepet játszanak.

Ez az értekezés három részből áll. Mindegyik résznél ismertetjük a gyógyszermolekulák hatását az MDR transzporterekből álló barriererekre.

Az első rész a BBB és a **seliciclib** közötti interakcióról szól. Ebben a részben az volt a cél, hogy i) azonosítsuk a seliciclib alacsony agyi expozíciójáért felelős transzportert, és ii) jellemezzük a seliciclib kölcsönhatását az ABCB1 transzporterrel.

A második részben a **klorotiazid** kölcsönhatásaira koncentráltunk, valamint ennek a diuretikumnak a vese által alkotott határfelületre (barrier) gyakorolt hatására. Megvizsgáltuk, hogy i) vajon a három fő apikálisan elhelyezkedő bél efflux transzporter, az ABCB1, az ABCG2 vagy az ABCC2 modulálja-e a klorotiazid permeabilitását, továbbá ii) az esetleges kölcsönhatás(ok) hatását a fent említett efflux transzporterekkel és nem utolsósorban iii) a klorotiazid hatását ABCG2 által közvetített urát transzportra.

Végezetül, a harmadik rész Dr. Tóth Gábor professzor úr Szegedi Tudományegyetem Orvosi Vegytani Tanszéken található laborjával együttműködésben jött létre. Észterkötést amiddel vagy alkil-láncokkal helyettesített szintetizált **FTC-Ko analógok** specifikusságát és szerkezet-aktivitási viszonyait vizsgáltuk.

2. Anyagok, módszerek

A humán ABCB1, ABCC2 és ABCG2 transzportereket expresszáló membrán vezikula készítmények közül az MDR1-Sf9, MRP2-Sf9 és BCRP-HAM-Sf9 membránok baculovírussal fertőzött Sf9 sejtekből készülnek, míg a BCRP-M-et ABCG2-t túltermelő emlős sejtekből, annak kontrollját (M-Ctrl) ABC transzportereket nem túltermelő emlős sejtekből állítják elő.

A sejteket kiegészített tápfolyadékokban tartottuk és standard körülmények között tenyésztettük 5% CO₂-n és 37°C-n.

A tesztelt gyógyszermolekulák és az aktuálisan vizsgált transzporter közötti kölcsönhatást membrán-alapú ATPáz és vezikuláris transzport esszéekben végeztük.

A festék efflux inhibíciós vizsgálatok (CalceinAM és Hoechst 33342) segítettek annak kimutatásában, hogy a vizsgált hatóanyag kölcsönhatásba lép-e a vizsgált transzporterrel vagy sem.

A vizsgált fehérjék jelenlétének igazolását western blottal végeztük.

A sejtek túlélését válaszul a vizsgált hatóanyag különböző koncentrációival történő inkubációra citotoxicitási kísérletekben vizsgáltuk.

A tesztelendő gyógyszerek bazolaterális kompartmentből apikális kompartmentbe történő és visszirányú transzportját egy „barrier”-t imitáló szorosan összenőtt sejtrétegen keresztül, monolayer vektoriális transzport rendszerben végeztük.

A fumitremogin analógok szilárd- vagy oldatfázisú szintézisét részletesen Szolomajer-Csikós Orsolya által 2013-ban írt cikk írja le [III].

3. Eredmények és megbeszélésük - Alkalmazások a gyógyszerkutatásban és fejlesztésben

3.1. ABCB1 / Seliciclib / Vér-agy gát

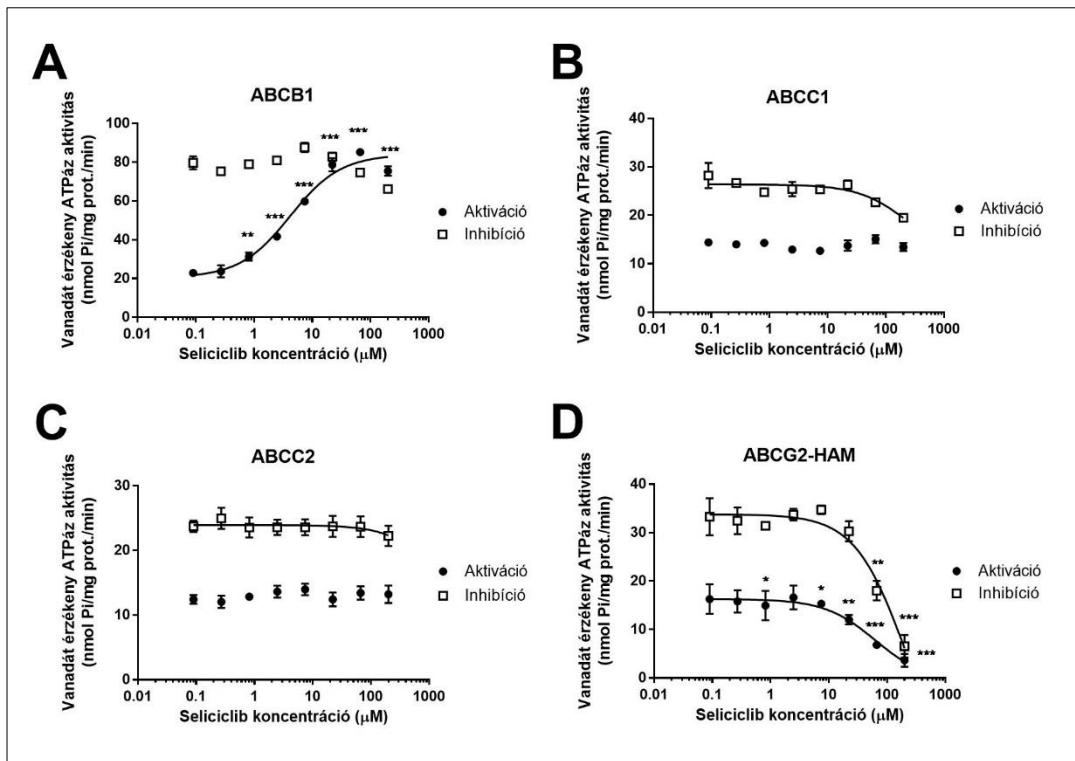
A seliciclib az ABCB1 szelektív szubsztrátja, mégsem okoz rezisztenciát

A Seliciclib (R-roscovitine) egy ciklin-függő kináz inhibitor és kemoterápiás gyógyszerjelölt molekula. A Seliciclib gyorsan kiválik a plazmából és eloszlik a szervekbe. Agyi szintje körülbelül 20 %-a volt a plazmában mért értéknek, míg újszülött patkányokban, akik agyában a vér-agy gát még éretlen, 100 % [4]. Ez a különbség egy felnőtt és egy éretlen agy transzport profil különbségeiből eredhet. A BBB-ben expresszálandó efflux transzporterek szerepet játszhatnak.

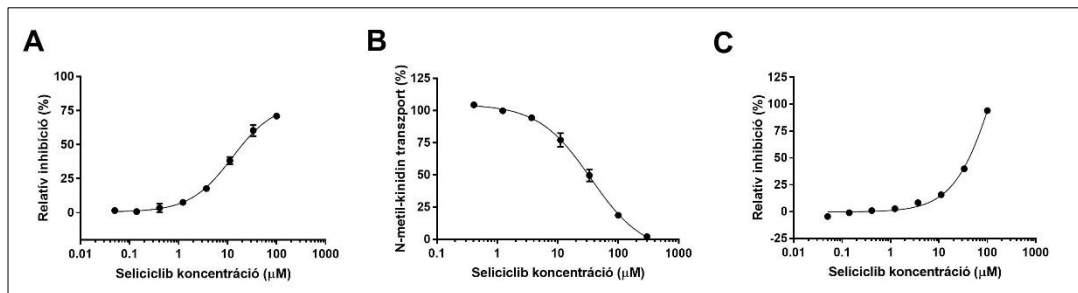
Az értekezés tárgyát képező munka egy része annak meghatározása volt, hogy az efflux transzporterek, amelyekről úgy gondolják, hogy korlátozzák a gyógyszerek agyi expozícióját, vajon szerepet játszanak-e a seliciclib agyi expozíciójának korlátozásában. A seliciclib kölcsönhatását négy transzporterrel teszteltük. Ezek az ABCB1, ABCG2, ABCC1 és ABCC2 voltak.

A seliciclib és a BBB-ben jelenlévő efflux transzporterek interakcióinak vizsgálatára ATPáz esszé mérések készültek. Az eredmények azt mutatják, hogy a seliciclib kölcsönhatásba lép az ABCB1, ABCC1 és ABCG2 transzporterekkel, azonban ABCC2-vel nem (1. ábra). A seliciclib ABCB1 aktivátor, de az ABCC1-nek és ABCG2-nek inhibitora.

Annak ellenőrzésére, hogy lássuk a seliciclib vajon kölcsönhatásba lép-e az ABCB1-gyel, vezikuláris transzport (VT) és calcein vizsgálatokat végeztünk (2. ábra). A seliciclib gátolta a próba szubsztrát N-metil-kinidin (NMQ) transzportját a VT kísérletben.



1. ábra (A) *MDR1-Sf9*, (B) *MRP1-Sf9*, (C) *MRP2-Sf9* és (D) *BCRP-HAM-Sf9* membránkészítmények vanadát érzékeny ATPáz aktivitása aktiválási (folyamatos vonalak) és gátlási (szaggatott vonal) kísérletben seliciclib jelenlétében.



2. ábra *K562-MDR* sejtekből származó (A) *calcein AM* efflux gátlása, (B) *ATP-függő NMQ* transzport *MDR1-K* kifordított vezikulákba és (C) *Hoechst 33342* festék efflux *PLB985-BCRP* sejtől különböző koncentrációjú seliciclib jelenlétében.

Miután bemutattuk, hogy a seliciclib az ABCB1 transzportált szubsztrátja, ez a transzport *calcein* efflux vizsgálatban is megerősítést nyert MDCKII-MDR1 sejteken.

A vad típusú MDCKII és MDCKII-MDR1 sejtekkel vektoriális transzportvizsgálatok is készültek. Az efflux arány a körülbelül 8-ról 1,2-re csökkent, amikor LY335979 is volt alkalmazva.

Ezután annak kiderítése következett, hogy az ABCB1 túlzott expressziója rezisztenciát eredményez-e a seliciclib ellen. Az eredmények azt mutatják, hogy az ABCB1 megnövekedett jelenléte nem okoz seliciclib-rezisztenciát. Ezek alapján kijelenthetjük, hogy habár a seliciclib az ABCB1 transzportált szubsztrátja, ez nem biztosít védelmet a gyógyszer ellen, még akkor sem, ha az ABCB1 túltermelődik. Az ABCB1 védő hatásának hiánya a sejtek halálával szemben egyszerűen csak a gyógyszer passzív permeabilitásával magyarázható. Vannak olyan vegyületek, amelyeket ABCB1-inverznek neveznek, mert amikor ezeket alkalmazzák, az ABCB1 jelenléte szenzitivizálja a sejteket citotoxicitásra [5]. Tehát valószínű, hogy az ABCB1 kettős szereppel bír a vizsgált sejtekben. Egyrészt csökkenti az intracelluláris hatóanyag-koncentrációt, másrészt érzékenyebbé teszi a sejteket a seliciclibbel szemben. A két ellentétes hatás lehet hatékonyan kiütötte egymást a jelen tanulmányban alkalmazott sejtvonalakban.

A seliciclib az ABCG2-vel is kölcsönhatásba lép, leginkább gátló módon, de ez a kölcsönhatás valószínűleg klinikailag nem releváns.

Összefoglalva, a seliciclib az ABCB1 nagy affinitású, szelektív szubsztrátja. Ez a kölcsönhatás valószínűleg befolyásolja a gyógyszer diszpozícióját a szervezetben. Ugyanakkor az ABCB1 túltermelődés nem vezet seliciclib-rezisztenciához. Ez azt jelenti, hogy a gyógyszer ígéretes jelölt lehet az ABCB1 transzporter-túltermelő daganatok kezelésére.

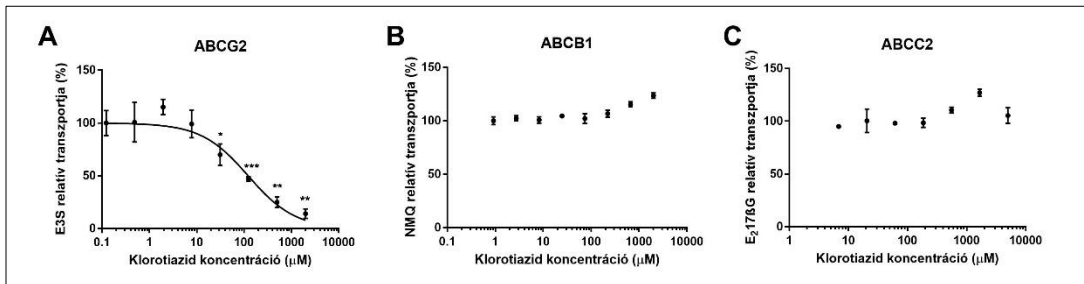
3.2. ABCG2 / Klorotiazid

A klorotiazid, mint jóváhagyott ABCG2 próba jelölt szabályozási vizsgálatokhoz

Szájon át történő bevételt követően a klorotiazid, egy tiazid típusú diuretikum, gyorsan felszívódik, azonban metabolikusan stabil [6]. A metabolizálódás helyett a veséken keresztül gyorsan eliminálódik az emberi testből [7]. Mivel ez egy BCS/BDDCS IV-es osztályú gyógyszer, a transzporter fehérjék jelentősen befolyásolhatják ADE tulajdonságait. A klorotiazid biológiai hasznosulása 20-50% körüli. Mindezek jelzik az apikálisan elhelyezkedő efflux transzporterek potenciális szerepét, amelyek korlátozhatják a vegyület

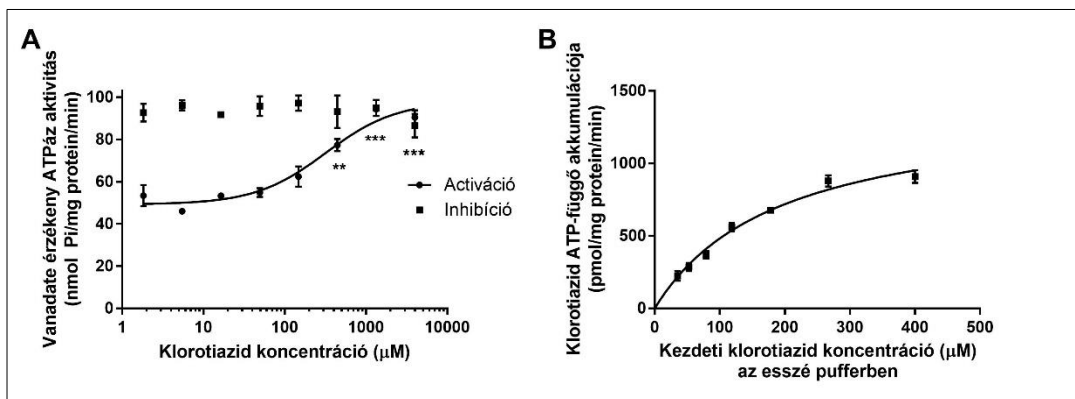
biológiai hasznosulását. Ezek alapján kipróbáltuk, hogy a klorotiazid kölcsönhatásba lépett-e az enterocitákban található három legfontosabb, apikálisan elhelyezkedő efflux ABC transzporterrel, amelyek: ABCB1, ABCG2 és ABCC2.

Sem az ABCB1, sem az ABCC2 nem mutatott kölcsönhatást klorotiaziddal, mindazonáltal specifikus interakciót tapasztaltunk ABCG2-vel (3. ábra).



3. ábra [3H] ösztron-3-szulfát, [3H] N-metil-kinidin és [3H] ösztradiol-17-β-D-glükuronid ATP-függő transzportja (A) BCRP-HAM-Sf9, (B) MDR1-Sf9 és (C) MRP2-Sf9 vezikulákba az ábrán jelzett koncentrációjú klorotiazid jelenlétében.

A klorotiazid és az ABCG2 kölcsönhatásának további jellemzésére ATPáz- és VT-vizsgálatok készültek (4. ábra). Ezek a kísérletek megerősítették, hogy ez a vizelethajtó az ABCG2-nek transzportált szubsztrátja.



4. ábra Az ABCG2-t túlexpresszázó BCRP-M membránok növekvő klorotiazid koncentrációja (A) vanadát érzékeny ATPáz aktivitás függvényében, aktivált (teli körökben) illetve gátlási módban (teli négyzetek), valamint (B) kifordított membránvezikulákba történő ATP-függő klorotiazid-transzport függvényében.

A sejtes monolayer tesztek megerősítették, hogy az ABCG2-vel való kölcsönhatás befolyásolhatja a klorotiazid ADME tulajdonságait. Mindkét alkalmazott monolayer tesztrendszer alaposan karakterizált, továbbá ezek a leggyakrabban használt *in vitro* eszközök az orálisan beadott gyógyszerek felszívódási tulajdonságainak előrejelzésére. Ezek a kísérletek megerősítették, hogy az ABCG2, amely a bél egyik apikális efflux transzportere, valószínűleg korlátozza a klorotiazid felszívódását, hozzájárulva annak alacsony biológiai hasznosulásához. Az ABCG2 a vesék proximális tubulus sejtjeiben is expresszálódik, így hozzájárulhat a gyógyszer vesén keresztüli szekréciójához is.

Továbbá monolayer efflux kísérletekben igazoltuk, hogy a klorotiazid az ABCG2 transzportált szubsztrátja. Mind az MDCKII-BCRP, mind a Caco-2 sejtek transzportértékében láttuk a különbséget Ko143, egy ABCG2-specifikus inhibitor jelenlétében vagy hiányában.

Az eddigieket összegezve, megvizsgáltuk, hogy a három fő, apikálisan elhelyezkedő, intesztinális efflux transzporter - ABCB1, ABCG2 vagy ABCC2 - bármelyike *in vitro* befolyásolja-e a gyógyszer permeabilitását. Az ABCG2 modulálta a klorotiazid permeabilitását mindhárom vizsgált kísérleti rendszerben. Mivel a jelen vizsgálatban alkalmazott kísérleti rendszerek megfelelnek a jelenlegi szabályozási iránymutatásoknak, az eredmények azt sugallják, hogy a klorotiazid egy jogos ABCG2 próba jelölt a szabályozó vizsgálatokhoz. Továbbá az ABCG2-mediált urát transzport potenciális gátlása állhat a klorotiazid hiperurikémiás aktivitásának hátterében.

3.3. Fumitremorgin C analógok / ABCG2 gátlási specifikussága

FTC-Ko analógok: a specifitás egyetlen királis központra korlátozódik - a C-6 és a 3S, 6S, 12aS konfiguráció elengedhetetlen

ABC transzporterek működését gátló molekulák javíthatják a rákellenes szerek hatékonyságát. Mindezeket figyelembe véve, az ABCG2 által közvetített transzport megfordítása ígéretes kutatási terület.

Dr. Tóth Gábor professzor csoportja a Szegedi Tudományegyetem Orvos Vegytan Tanszékén 16 triciklusos és 28 tetraciklusos új analógot szintetizált észterkötések nélkül. Ezeket teszteltük ABCG2 gátló hatásra és specifikusságra. A szintetizált vegyületek ABCG2-gátló aktivitásának mérésére Hoechst próbát alkalmaztunk. Pozitív kontrollként

Ko134-et, az ABCG2 egy jól ismert specifikus inhibitorát alkalmaztuk. Vizsgálatunkban 100 %-os gátlást 1 μ M Ko134 gátlás jelentett.

A triciklikus analógok, a IIIa-III d vegyületek között nem tapasztaltunk gátló hatást, nem úgy, mint a tetraciklusos származékok között, amelyeknél egyes tetraciklusos származékok és a diasztereomer elegyek gátló képességei összehasonlíthatóak voltak a Ko134-ével. A sztereokémiailag tiszta vegyületek ebben a csoportban a 3S, 6S, 12aS abszolút konfigurációjúak voltak. A diasztereoiszomer társaik (3S, 6R, 12aS) egy kivétellel nem mutattak gátló hatást. Továbbiakban még egy 3S, 6S, 12aS abszolút konfigurációjú vegyület mutatott részleges aktivitást.

Ezután olyan vegyületekre koncentráltunk, amelyek ABCG2 hatékony gátlását mutatták és IC₅₀-értékeket számoltunk (1. táblázat). A 3e2 (R), 3e5 (R) és 3e6 (R) közül, csak a 3e5 (R) bizonyult gátlónak, mégpedig 16-szoros különbséggel.

Molekula száma	ABCG2 gátlás	ABCG2 gátlás	ABCB1 gátlás	ABCC1 gátlás
Vegyület	10 μ M (%)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ M)
1c (3S,6S,12aS)	118	0.05 \pm 0.03	0.75 \pm 0.02	0.82 \pm 0.04
2c (3S,6S,12aS)	113	0.06 \pm 0.24	0.84 \pm 0.07	0.92 \pm 0.08
3e1 (3S,6R,12aS)	0	>100	>100	86.0 \pm 7.07
3e1 (3S,6S,12aS)	113	1.73 \pm 0.01	>100	83.5 \pm 8.91
3e2 (3S,6R,12aS)	7	>100	40.3 \pm 5.94	37.6 \pm 15.4
3e2 (3S,6S,12aS)	131	0.41 \pm 0.28	33.4 \pm 20.9	4.16 \pm 0.82
3e3 (3S,6R,12aS)	1	>100	>100	>100
3e3 (3S,6S,12aS)	59	24.7 \pm 4.4	>100	52.3 \pm 10.7
3e4 (3S,6R,12aS)	4	>100	28.8 \pm 6.21	33.6 \pm 0.74
3e4 (3S,6S,12aS)	110	0.14 \pm 0.03	8.74 \pm 2.08	2.66 \pm 0.32
3e5 (3S,6R,12aS)	101	7.49 \pm 1.12	28.6 \pm 14.0	42.9 \pm 6.27
3e5 (3S,6S,12aS)	121	0.45 \pm 0.12	13.1 \pm 2.40	12.1 \pm 2.02
3e6 (3S,6R,12aS)	42	16.1 \pm 2.25	0.99 \pm 0.23	1.34 \pm 0.25
3e6 (3S,6S,12aS)	117	0.14 \pm 0.06	2.58 \pm 1.19	0.88 \pm 0.09
4d (3S,6S,12aS)	110	0.32 \pm 0.24	8.38 \pm 1.56	6.21 \pm 3.81
1c'(3S,6S,12aS; 3S,6S,12aS)	88	5.50 \pm 4.10	1.79 \pm 0.35	2.99 \pm 0.25
2c'(3S,6S,12aS; 3S,6S,12aS)	96	3.00 \pm 2.20	2.75 \pm 0.53	3.53 \pm 0.44
KO134	111	0.06 \pm 0.03	2.04 \pm 0.06	5.51 \pm 0.88
KO143	118	0.06 \pm 0.01	8.74 \pm 0.29	9.13 \pm 1.07

1. táblázat *Festék efflux gátlás. Az adatok átlag értékek \pm standard deviáció.*

A festék efflux calcein vizsgálatok segítettek az ABCG2 gátlás ABCB1 és ABCC1 feletti specifikusságának meghatározásában. Az ABCG2 gátlásánál megfigyelt figyelemre méltó

sztereospecifikusság (3S, 6S, 12aS kontra 3S, 6R, 12aS) az ABCB1 és az ABCC1 gátlásánál teljesen hiányzik. Ezenkívül az ABCB1 és ABCC1 feletti ABCG2-specifitást nem találtuk a 3S, 6R, 12aS konfigurációjú vegyületek esetében. A várt módon [8] az 1c' (S+R) és a 2c' (S+R) racemátvegyületek, amelyek a C-6-os pozícióban fenil- vagy benzilcsoportot tartalmaznak izobutil-oldallánc helyett nem gátolták specifikusan az ABCG2-t ABCB1 és ABCC1 felett.

Mivel a IIIa-IIIId triciklikus analógok nem mutattak aktivitást a Hoechst esszében, nyilvánvalóvá vált, hogy az FTC-típusú diketo-piperazin gyűrűszerkezet alapvető az aktivitás szempontjából. A C-6 és a 3S, 6S, 12aS konfiguráció elengedhetetlen. A 3S, 6R, 12aS konfigurációjú vegyületek várt módon inaktívak [8]. A 3e6 (3S,6R,12aS) lehet az egyetlen kivétel a részleges aktivitásával. De még ebben az esetben is a 3e6 (3S,6S,12aS) diasztereoizomer pár több mint 115-szer erősebb volt. Figyelemre méltó, hogy az ABCG2 esetében a sztereospecifikus (3S, 6S, 12aS kontra 3S, 6R, 12aS) gátlás hiányzik mind ABCB1-nél mind pedig ABCC1-nél. Ezenkívül az ABCG2-specifitását 3S, 6R, 12aS konfigurációjú vegyületek esetében nem figyeltük meg az ABCB1 és az ABCC1 felett. Az a tény, hogy a 6-os pozícióban a konfiguráció önmagában biztosítsa az ABCG2 specifitását az ABCB1 és az ABCC1 fölött még nem írták le korábban. Figyelembe véve a fent említett ABC transzporterek széles és átfedő szubsztrát-specifitását, meglepő és egészen váratlan, hogy ez a specifitás egyetlen királis központra korlátozódik [9, 10].

A fumitremorgin C analógok Ko családja hatékony és szelektív ABCG2 inhibitorokat tartalmaz. Azonban a leghatásosabb Ko vegyületek észterkötést hordoznak az oldalláncukban, ami kémiai és metabolikusan kevésbé teszi őket stabillá. 16 újonnan szintetizált triciklusos és 28 újonnan szintetizált tetraciklusos analógot teszteltünk ABCG2 gátló hatékonyságra és specifikusságra. A tetraciklikus analógok közül hatékony ABCG2-gátló vegyületeket fedeztünk fel. A 3S, 6S, 12aS konfigurációjú vegyületek sztereospecifitást mutattak. A 3S, 6R, 12aS konfigurációjú diasztereoizomer párok legalább 18-szor kevésbé hatásos gátlást mutattak. Ilyen sztereospecifikusság ABCB1 és ABCC1 gátlásában nem volt

4. Referenciák

1. Glavinas, H., Krajcsi, P., Cserepes, J., and Sarkadi, B., The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity, *Curr Drug Deliv*, 1:27-42, 2004.
2. Dean, M., Hamon, Y., and Chimini, G., The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily, *J Lipid Res*, 42:1007-1017, 2001.
3. Szakacs, G., Varadi, A., Ozvegy-Laczka, C., and Sarkadi, B., The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox), *Drug Discov Today*, 13:379-393, 2008.
4. Vita, M., Abdel-Rehim, M., Olofsson, S., Hassan, Z., Meurling, L., Siden, A., Siden, M., Pettersson, T., and Hassan, M., Tissue distribution, pharmacokinetics and identification of roscovitine metabolites in rat, *Eur J Pharm Sci*, 25:91-103, 2005.
5. Szakacs, G., Annereau, J. P., Lababidi, S., Shankavaram, U., Arciello, A., Bussey, K. J., Reinhold, W., Guo, Y., Kruh, G. D., Reimers, M., Weinstein, J. N., and Gottesman, M. M., Predicting drug sensitivity and resistance: profiling ABC transporter genes in cancer cells, *Cancer Cell*, 6:129-137, 2004.
6. Novello, F. C., and Sprague, J. M., Benzothiadiazine dioxides as novel diuretics, *J. Am. Chem. Soc.*, 79:2028-2029, 1957.
7. Kirkendall, W. M., Clinical evaluation of chlorothiazide, *Circulation*, 19:933-941, 1959.
8. van Loevezijn, A., Allen, J. D., Schinkel, A. H., and Koomen, G. J., Inhibition of BCRP-mediated drug efflux by fumitremorgin-type indolyl diketopiperazines, *Bioorg Med Chem Lett*, 11:29-32, 2001.
9. Matsson, P., Englund, G., Ahlin, G., Bergstrom, C. A., Norinder, U., and Artursson, P., A global drug inhibition pattern for the human ATP-binding cassette transporter breast cancer resistance protein (ABCG2), *J Pharmacol Exp Ther*, 323:19-30, 2007.
10. Matsson, P., Pedersen, J. M., Norinder, U., Bergstrom, C. A., and Artursson, P., Identification of novel specific and general inhibitors of the three major human ATP-binding cassette transporters P-gp, BCRP and MRP2 among registered drugs, *Pharm Res*, 26:1816-1831, 2009.

Publikációk

A tézishez kapcsolódó cikkek¹

- I. Rajnai, Z., Méhn, D., Beéry, E., Okyar, A., Jani, M., Tóth, G. K., Fülöp, F., Lévi, F. and Krajcsi, P.: ATP-binding cassette B1 transports seliciclib (R-roscovitine), a cyclin-dependent kinase inhibitor, *Drug Metab. Dispos.*, 38:2000-2006, 2010.
- II. Beéry, E., Rajnai, Z., Abonyi, T., Makai, I., Bánsághi, S., Erdő, F., Sziráki, I., Herédi-Szabó, K., Kis, E., Jani, M., Márki-Zay, J., Tóth, G. K. and Krajcsi, P.: ABCG2 modulates chlorothiazide permeability *in vitro* - characterization of the interaction, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 27:349-353, 2012.
- III. Szolomajer-Csikós, O., Beéry, E., Kósa, L., Rajnai, Z., Jani, M., Hetényi, A., Jakab, K. T., Krajcsi, P and Tóth, G. K.: Synthesis and ABCG2 inhibitory activity of novel fumitremorgin C analogs - Specificity and structure activity correlations, *Med. Chem.*, 9:494-509, 2013.

A tézishez nem kapcsolódó cikkek

- IV. Kis, E., Rajnai, Z., Ioja, E., Herédi-Szabó, K., Nagy, T., Méhn, D. and Krajcsi, P.: Mouse Bsep ATPase assay: a nonradioactive tool for assessment of the cholestatic potential of drugs, *J. Biomol. Screen.*, 14:10-15, 2009.
- V. Kis, E., Ioja, E., Rajnai, Z., Jani, M., Méhn, D., Herédi-Szabó, K. and Krajcsi, P.: BSEP inhibition: in vitro screens to assess cholestatic potential of drugs, *Toxicol. In Vitro*, 26:1294-1299, 2012.
- VI. Sziráki, I., Erdő, F., Trampus, P., Sike, M., Molnár, P. M., Rajnai, Z., Molnár, J., Wilhelm, I., Fazakas, Cs., Kis, E., Krizbai, I. and Krajcsi, P.: The use of microdialysis techniques in mice to study P-gp function at the blood-brain barrier, *J. Biomol. Screen.*, 18:430-440, 2013.
- VII. Fekete, Z., Rajnai, Z., Nagy, T., Jakab, K. T., Kurunczi, A., Gémes, K., Herédi-Szabó, K., Fülöp, F., Tóth, G. K., Czerwinski, M., Loewen, G. and Krajcsi, P.: Membrane assays to characterize interaction of drugs with ABCB1, *J. Membr. Biol.*, 248:967-977, 2015.
- VIII. Sáfár, Z., Vaskó, B., Ritchie, T. K., Imre, G., Mogyorósi, K., Erdő, F., Rajnai, Z., Fekete, Z., Szerémy, P., Muka, L., Zolnerciks, J. K., Herédi-Szabó, K., Ragueneau-Majlessi, I. and Krajcsi, P.: Investigating ABCB1-mediated drug-drug interactions: considerations for *in vitro* and *in vivo* assay design, *Curr. Drug Metab.*, 17:430-455, 2016.

A tézishez kapcsolódó konferencia absztrakt

- IX. Rajnai, Z., Méhn, D., Beéry, E., Okyar, A., Jani, M., Fülöp, F., Lévi, F. and Krajcsi, P.: The CDK inhibitor roscovitine (Seliciclib) is a selective substrate of human P-glycoprotein (P-gp/ABCB1/MDR1) *Drug Metab. Rev.* 42:299-300, 2010.

¹A kéziratban ezeket a cikkeket római számok jelölik