

Inhibitori P-glikoproteina kao modulatori rezistencije na antikancerogene lekove

Erić Slavica^{1*}, Ilić Katarina²

Katedra za farmaceutsku hemiju¹ i Katedra za farmakologiju²
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode Stepe 450,
11000 Beograd, Srbija

Kratak sadržaj

Multipla rezistencija na lekove (*multidrug resistance*, MDR) predstavlja značajnu prepreku u primeni efektivne terapije za mnoge pacijente koji su oboleli od različitih tipova kancera. Mada rezistencija na antikancerogene lekove može da nastane usled dejstva različitih mehanizama, klasična multipla rezistencija je uglavnom povezana sa povećanom ekspresijom P-glikoproteina (P-gp) koji deluje kao pumpa za izbacivanje (engl. *efflux pump*) različitih supstrata iz ćelije, što dovodi do smanjenja koncentracije antikancerogenih lekova u tumorskoj ćeliji. Inhibicija P-gp kao mogućnost prevazilaženja rezistencije je dosta proučavana poslednjih godina. U ovom radu prikazan je razvoj P-gp inhibitora od prve do treće generacije. Upotreba prve generacije inhibitora, kao što su ciklosporin A i verapamil, ograničena je zbog njihove toksičnosti, dok je druga generacija inhibitora, kojoj pripadaju valspodar i birikodar, pokazala smanjenu toksičnost, ali i neočekivane farmakokinetičke interakcije sa antikancerogenim lekovima, kao i sa drugim transportnim proteinima. Treća generacija inhibitora (tarikvidar, zosukvidar, lanikvidar i ONT-093) pokazala je veliku aktivnost i specifičnost za P-gp. Dalji razvoj ovih lekova predstavlja značajan terapijski potencijal za prevazilaženje rezistencije na antikancerogene lekove.

Ključne reči: multipla rezistencija, antikancerogeni lekovi,
inhibitori P-glikoproteina

* Autor za korespondenciju: seric@pharmacy.bg.ac.rs

Uvod

Mnogi lekovi koji se koriste u terapiji kancera postaju neefikasni usled razvoja rezistencije kancerogenih ćelija, koje različitim mehanizmima sprečavaju ili smanjuju njihovo dejstvo. Kancerogene ćelije mogu da postanu rezistentne na jedan lek, ili da razviju ukrštenu rezistenciju i na druge lekove koji se razlikuju po strukturi ili mehanizmu dejstva. Ovaj fenomen je poznat kao multipla rezistencija na lekove (engl. *multidrug resistance*, MDR) i predstavlja jednu od glavnih prepreka u hemoterapiji kancera [1, 2].

Rezistencija na antikancerogene lekove može da bude intrinzička (prisutna u kancerogenoj ćeliji pre primene leka) ili stečena nakon primene leka [3, 4]. Citotoksični lekovi, na koje se najčešće razvija rezistencija, su hidrofobni prirodni proizvodi, kao što su taksani (paklitaksel, docetaksel), vinka alkaloidi (vinorelbin, vinkristin, vinblastin), antraciklini (doksorubicin, daunorubicin, epirubicin), epipodofilotoksini (etopozid, tenipozid), topotekan, daktinomicin i mitomicin C [5, 6].

Kancerogene ćelije mogu da razviju rezistenciju na hemioterapeutike različitim mehanizmima: a) produkcijom nove varijante ciljnog proteina (proteina na koji lek deluje) koji je rezistentan na lek; b) razvijanjem alternativnih procesa razvoja kancerogene ćelije; c) povećanom ekspresijom transportera koji učestvuju u transportu leka iz kancerogene ćelije; d) povećanom produkcijom enzima koji učestvuju u detoksifikaciji ćelije, sintezi ili reparaciji oštećene dezoksiribonukleinske kiseline (DNK); e) promenama u procesu apoptoze, itd. [7].

Multipla rezistencija najčešće nastaje usled povećane ekspresije P-glikoproteina (P-gp) i proteina odgovornog za multiplu rezistenciju (engl. *multidrug resistance-associated protein*, MRP1). Oba proteina pripadaju familiji membranskih kasetnih transportnih proteina (engl. *ATP-binding cassette proteins*, ABC proteini) koji koriste energiju dobijenu hidrolizom adenozin trifosfata (ATP) za direktan transport supstrata nasuprot koncentracionom gradijentu, pri čemu dolazi do smanjenja intracelularne koncentracije leka [8]. Mnogi lekovi, uključujući i antikancerogene lekove, su substrati i za P-gp i za citohrom P450 3A enzim. Kod ljudi, CYP3A4 je glavni enzim uključen u hepatični metabolizam lekova. Pored antikancerogenih lekova, P-gp takođe učestvuje u transportu drugih egzogenih agenasa, kao što su digoksin, opijati, policiklični aromatični ugljovodonici, tehnecijum (^{99m}Tc) i rodamin (Rh 123). Tehnecijum (^{99m}Tc) i rodamin 123 su korišćeni u ispitivanju funkcije P-gp u normalnim i tumorskim ćelijama [9, 10]. Kod nekih tumora, ekspresija P-gp je povećana u odnosu na normalne ćelije, zbog čega dolazi do rezistencije na neke hemioterapeutike i pre njihove primene. Kod drugih tumora ekspresija P-gp

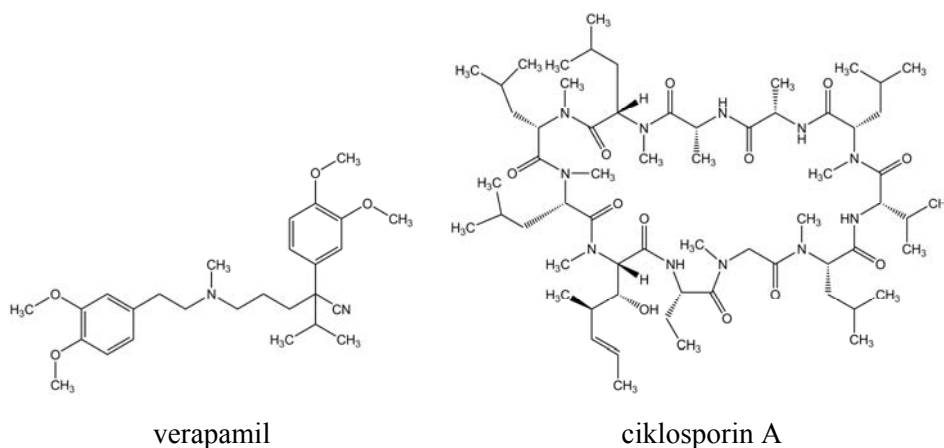
može biti niska u vreme dijagnoze, ali se može povećavati nakon izlaganja hemioterapeutcima, što dovodi do razvoja multiple rezistencije [4].

Inhibicija P-gp kao način prevazilaženja multiple rezistencije je ispitivana poslednjih 20 godina. Identifikovani su mnogi agensi koji moduliraju funkciju P-gp, uključujući blokatore kalcijumovih kanala, kalmodulin-antagoniste, steroidne agense, inhibitore protein kinaze C, imunosupresive, antibiotike i surfaktante [11]. Prvi P-gp inhibitori pokazivali su značajne toksične efekte i dovodili do nepredvidivih farmakokinetičkih interakcija. Zbog toga je njihov dalji razvoj usmeren na dizajniranje selektivnijih i manje toksičnih modulatora rezistencije. Razvijene su tri generacije ovih inhibitora koje su značajno doprinele razjašnjavanju mehanizma rezistencije na antikancerogene lekove [12]. Ovi lekovi deluju tako što povećavaju intraćelijsku koncentraciju hemioterapeutika, a samim tim povećavaju osetljivost ćelije na hemioterapeutike, odnosno deluju kao „hemiosenziteri”. Nekoliko lekova koji inhibiraju P-gp su u fazi kliničkih ispitivanja. U ovom radu prikazan je razvoj P-gp inhibitora, sa posebnim osvrtom na razlike u mehanizmu dejstva na molekularnom nivou, selektivnost i toksičnost pojedinih generacija P-gp inhibitora.

P-gp inhibitori prve generacije

U prvu generaciju P-gp inhibitora spadaju jedinjenja razvijana u druge terapijske svrhe, koja su pokazala aktivnost u modulaciji rezistencije kada su bila primenjivana u kombinaciji sa antikancerogenim lekovima. Predstavnici ove grupe su: verapamil, ciklosporin A (**Slika 1**), tamoksifen, nekoliko kalmodulin antagonista i dr. Mnogi inhibitori prve generacije su supstrati za P-gp i takmiče se sa citotoksičnim lekovima za P-gp protein koji izbacuje agense iz ćelije. S obzirom da se radi o kompetitivnoj inhibiciji P-gp, potrebna je velika doza inhibitora da bi se dobila odgovarajuća intraćelijska koncentracija koja može da istisne antikancerogeni lek na mestu vezivanja za P-gp [6, 11]. Zbog velike koncentracije potrebnog inhibitora, povećan je rizik od toksičnih efekata. Neki od ovih inhibitora pokazali su neželjene efekte u koncentracijama neophodnim za inhibiciju P-gp, kao što je verapamil (blokator kalcijumovih kanala) i ciklosporin A (imunosupresiv). Postoje velike strukturne razlike između inhibitora prve generacije. Pretpostavlja se da različite strukture mogu da se vezuju za ista aktivna mesta P-gp ali na različit način [4]. Mnogi inhibitori prve generacije takođe predstavljaju supstrate za druge transportere i enzimske sisteme, zbog čega dolazi do nepredvidivih farmakokinetičkih interakcija u prisustvu hemioterapeutika. Da bi se prevazišla ograničenja u primeni ovih inhibitora, dizajnirani su novi analozi inhibitora prve generacije, u cilju

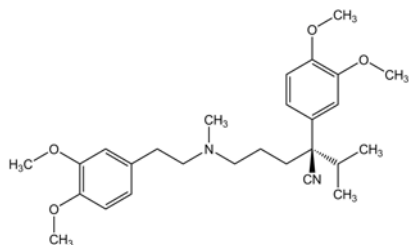
dobijanja P-gp modulatora sa manjom toksičnošću i većim afinitetom vezivanja za P-gp.



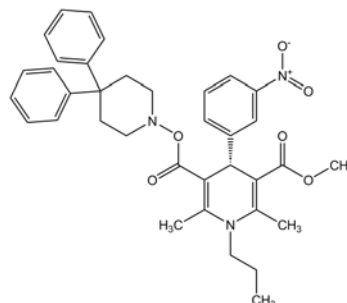
Slika 1 P-gp inhibitori prve generacije: verapamil, ciklosporin A
Figure 1 First generation of P-gp inhibitors: Verapamil, Cyclosporin A

P-gp inhibitori druge generacije

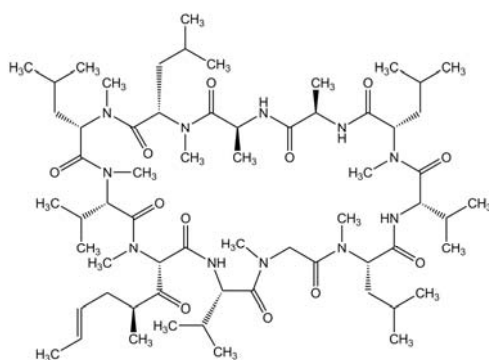
U drugu generaciju P-gp inhibitora spadaju modifikovani analozi P-gp inhibitora prve generacije: deksverapamil, deksniguldipin, valspodar (PSC 833) i birikodar (VX-710) (Slika 2). P-gp inhibitori druge generacije su aktivniji i manje toksični u odnosu na svoje prethodnike. Na primer, (R) izomer verapamila, deksverapamil, ne pokazuje toksične efekte verapamila, pri čemu je njegova sposobnost da inhibira P-gp zadržana, dok je valspodar strukturni analog ciklosporina C koji ne ispoljava imunosupresivno dejstvo. Od svih agenasa druge generacije inhibitora najviše je proučavan valspodar, derivat ciklosporina D, koji nema imunosupresivno dejstvo i koji inhibira P-gp pokazujući 20–30 puta veću aktivnost u odnosu na ciklosporin A [13-20].



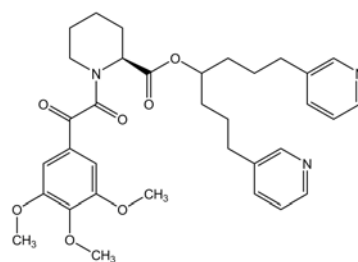
deksverapamil



deksniguldipin



valsopodar
(PSC 833)



birikodar
(VX-710)

Slika 2 P-gp inhibitori druge generacije: deksverapamil, deksniguldipin, valsopodar (PSC 833), birikodar (VX-710)

Figure 2 Second generation of P-gp inhibitors: dexverapamil, dexniguldipine, valsopodar (PSC 833), biricodar (VX-710)

Druga generacija P-gp inhibitora ima bolji farmakokinetički profil u odnosu na prvu generaciju, ali oni nisu dovoljno selektivni, što ograničava njihovu kliničku upotrebu. Na primer, valsopodar inhibira P-gp i membranski kasetni transporter MRP2, ali i druge proteine ABC superfamilije. Klinički značaj valsopodara je diskutabilan, jer je specifičnost ovog supstrata za P-gp slična kao za citohrom P450. Citohrom P-450 enzimi su uključeni, zajedno sa ABC familijom transportera, u metabolizam citotoksičnih lekova. Kompeticija citotoksičnih agenasa i P-gp modulatora za citohrom P450 dovodi do

ne očekivanih farmakokinetičkih interakcija. Na primer, valsopodar inhibira citohrom P-450 A4 i utiče na metabolizam paklitaksela i vinblastina, što dovodi do povećane koncentracije citotoksičnih agenasa u plazmi i predstavlja rizik za pacijente koji su dugotrajno izloženi ovim citotoksičnim lekovima [21].

Birikodar citrat (VX-710), derivat pipekolinata, takođe je ispitivan u mnogim kliničkim studijama. Ovo jedinjenje interferira u izbacivanju lekova iz ćelije tako što se sa velikim afinitetom vezuje direktno za P-gp pumpu, a takođe inhibira i ABC transporter MRP1 [22-25]. Kada se birikodar primenjuje u intravenskoj infuziji, značajno se smanjuje klirens paklitaksela. Pretpostavlja se da su ove interakcije nastale usled inhibicije citohroma P450 3A4 i interferencijom u metabolizmu paklitaksela. Najčešći način da se saniraju efekti farmakokinetičkih interakcija je smanjenje doze citotoksičnih lekova. S obzirom da su interakcije između modulatora i citotoksičnih agenasa nepredvidive, smanjenje doze može da dovede do subdoziranja ili predoziranja kod značajnog broja pacijenata. Zbog nepredvidivosti efekata druge generacije P-gp modulatora na metabolizam lekova u kome učestvuje citohrom P-450 3A4, teško je odrediti bezbednu, ali efektivnu dozu citotoksičnog leka koji se primenjuje zajedno sa modulatorom i to ograničava upotrebu druge generacije modulatora u terapiji kancera kod kojih je razvijena multipla rezistencija [26].

P-gp inhibitori treće generacije

Treća generacija P-gp inhibitora je dizajnirana u cilju razvoja modulatora koji su specifičniji i aktivniji u odnosu na prethodne generacije inhibitora [6]. Ovi inhibitori pokazuju manje neželjenih efekata od prethodnih generacija koje inhibiraju dva ili više transportera čije se funkcije preklapaju.

P-gp protein ima nekoliko aktivnih mesta za koje se vezuju ligandi i u zavisnosti od mesta vezivanja ligandi deluju različitim mehanizmima [27, 28, 29]. Postoje značajne razlike u mehanizmu dejstva druge i treće generacije P-gp inhibitora. Inhibitori druge generacije se vezuju direktno za P-gp pumpu i takmiče se sa supstratom za transport. S obzirom da je direktno vezivanje za P-gp kompetitivno, potrebna je određena koncentracija inhibitora da bi se supstrat istisnuo sa mesta vezivanja za transporter. Da bi se postigla potrebna koncentracija neophodno je inhibitor primeniti u većoj dozi, u kojoj on deluje nespecifično i potencijalno uzrokuje neželjene reakcije. Za razliku od inhibitora druge generacije, inhibitori treće generacije, kao što je tarikvidar (XR9576), vezuju se specifično i nekompetitivno za alosterno mesto na pumpi za koje supstrat ima veoma mali afinitet. Nije utvrđeno da li se tarikvidar vezuje za aktivno mesto za ATP, ali je pokazano da se njegovim vezivanjem inhibira aktivnost P-gp ATPaze [30, 31].

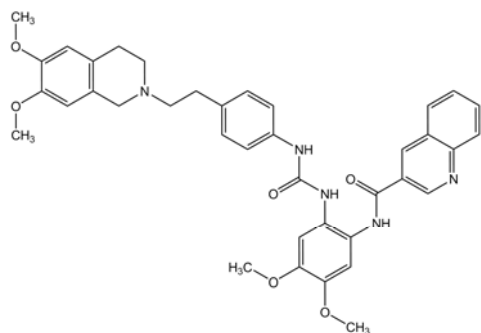
Treća generacija specifičnih P-gp inhibitora dizajnirana je primenom analize strukture i dejstva prethodnih generacija modulatora, kao i primenom kombinatorijalne hemije, u cilju prevazilaženja ograničenja druge generacije P-gp modulatora. Modulatori treće generacije ne utiču na funkciju citohroma P450 3A4 u primenjivanim koncentracijama i smatra se da ne inhibiraju ni druge ABC transportere. Zahvaljujući specifičnosti za P-gp pumpu, smanjen je uticaj modulatora treće generacije na bioraspoloživost ili ekskreciju hemioterapeutika. U toku su klinička ispitivanja modulatora treće generacije, koja su do sada pokazala da ni jedan od predstavnika nije uzrokovao značajne promene u farmakokinetici istovremeno primenjenih citotoksičnih lekova. Iz tih razloga nije bilo potrebe za smanjenjem doze hemioterapeutika.

Trećoj generaciji P-gp inhibitora koji su u fazi kliničkih ispitivanja pripadaju derivati antranilamida – tarikvidar (XR9576) [32], derivati ciklopropildibenzosuberona – zosukvidar (LY335979) [33] i lanikvidar (R101933) [34], kao i supstituisani diarilimidazoli - ONT-093 [35] (**Slika 3**). Iako se razlikuju po hemijskoj strukturi i poreklu, ovi modulatori pokazuju visok afinitet i specifičnost za P-gp transporter.

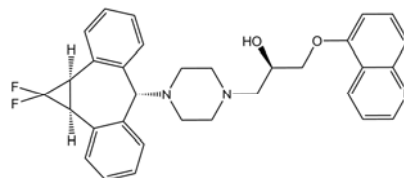
Jedan od najperspektivnijih P-gp inhibitora treće generacije, tarikvidar, pokazuje visok afinitet za P-gp transporter i inhibira njegovu aktivnost. Inhibitorski efekat tarikvidara na P-gp pumpu je znatno veći u odnosu na prvu i drugu generaciju P-gp modulatora, u smislu potencije i dužine delovanja. Tarikvidar nije pokazao efekte na farmakokinetiku paklitaksela, vinorelbina, ili doksorubicina, kada je primenjivan zajedno sa ovim hemioterapeuticima u terapiji čvrstih tumora. Zbog toga nije bilo potrebno smanjivati standardne doze ovih hemioterapeutika. Tarikvidar je trenutno u IV fazi kliničkih ispitivanja [36].

Zosukvidar je jedan od najpotentnijih P-gp inhibitora [37]. U ispitivanjima je pokazano da zosukvidar ne pokazuje značajne farmakokinetičke interakcije sa doksorubicinom, etopozidom, daunorubicinom, vinkristinom, ili paklitakselom [38]. Kao i kod primene tarikvidara, nije potrebno smanjiti doze hemioterapeutika koji se primenjuju u kombinaciji sa ovim P-gp modulatorom [39].

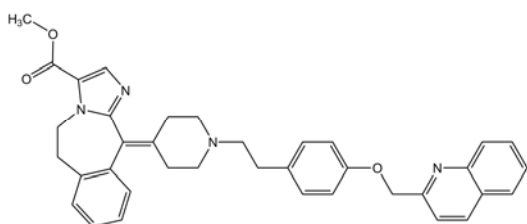
Lanikvidar i ONT-093 [40] su još dva P-gp inhibitora treće generacije. Pokazano je da ova dva inhibitora efikasno i selektivno inhibiraju P-gp bez efekata na farmakokinetiku docitaksela i paklitaksela. Zadovoljavajuća selektivnost za P-gp čini ih dobrim kliničkim kandidatima za modulatore multiple rezistencije. Lanikvidar je potencijalno oralni preparat koji je u Fazi II kliničkih ispitivanja kod metastatskih tumora dojke u kombinaciji sa taksolom. Drugi P-gp inhibitori, koji su u ranim kliničkim istraživanjima kao modulatori multiple rezistencije, jesu SN-22995, etakrinska kiselina i irofulven.



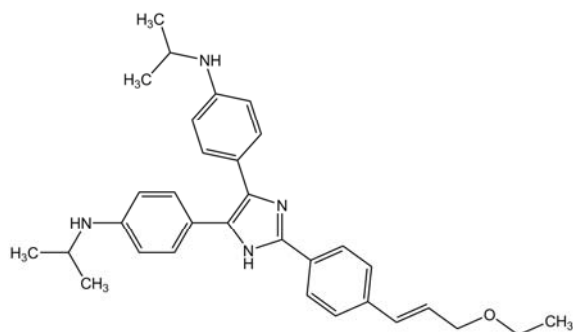
tarikvidar
(XR9576)



zosukvidar
(LY335979)



lanikvidar
(R101933)



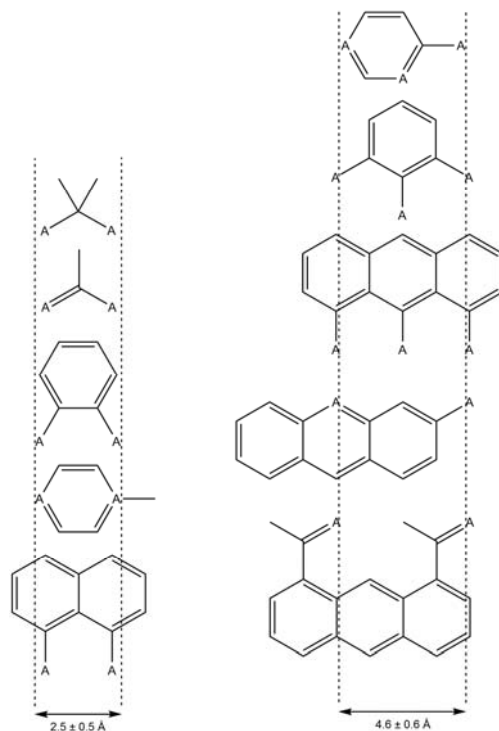
ONT-093

Slika 3 P-gp inhibitori treće generacije: tarikvidar (XR9576), zosukvidar (LY335979), lanikvidar (R101933), ONT-093

Figure 3 Third generation of P-gp inhibitors: tariquidar (XR9576), zosuquidar (LY335979), laniquidar (R101933), ONT-093

Analizom odnosa strukture i dejstva više od 100 različitih supstrata za P-gp, definisani su osnovni strukturni elementi potrebni za interakcije sa P-gp, koji se uglavnom baziraju na sposobnosti formiranja vodoničnih veza [41]. Identifikovana su dva tipa strukturnih elemenata: a) tip I, koji sadrži dve grupe koje su akceptori vodoničnih veza na rastojanju od $2.5 \pm 0.5 \text{ \AA}$ i b) tip II, koji sadrži tri grupe koje su akceptori vodoničnih veza na rastojanju od $4.6 \pm 0.6 \text{ \AA}$,

ili dve grupe koje su akceptori vodoničnih veza na istom rastojanju (**Slika 4**) [42]. Svi molekuli koji sadrže bar jedan od ova dva tipa strukturnih elemenata mogu da budu supstrati za P-gp. Broj i jačina vodoničnih veza određuju afinitet za protein, što je razumljivo s obzirom da transmembranske sekvence P-glikoproteina koje su uključene u vezivanje supstrata sadrže veliki broj grupa koje imaju potencijal stvaranja vodoničnih veza sa supstratom, kao što su hidroksilne (OH) grupe aminokiselina serina (Ser), treonina (Thr) i tirozina (Tyr), ili amino (NH₂) grupe aminokiseline glutamina (Gln), indolne (NH) grupe triptofana (Trp) i sulfhidrilne (SH) grupe cisteina (Cys). Takođe je pokazano da je lipofilnost najznačajniji fizičko-hemijski parametar za interakcije sa membranskim P-gp, tako da efektivan P-gp modulator mora da ima log P veći od 2.9 [43]. Na osnovu ovih analiza mogu se optimizirati ili dizajnirati novi molekuli koji će biti potentniji i selektivniji P-gp inhibitori.



Slika 4 Pretpostavljeni strukturni elementi značajni za vezivanje za P-glikoprotein

Figure 4 Proposed structural elements significant for P-glycoprotein binding

Zaključak

Treća generacija P-gp inhibitora, zbog specifičnosti za P-gp transportere i odsustva interakcija sa citohromom P450 3A4, pruža znatne prednosti u odnosu na prvu i drugu generaciju P-gp inhibitora. Rezultati kliničkih istraživanja pokazuju da jedinjenja treće generacije P-gp inhibitora kao što su tarikevidar, zosukvadar, lanikvidar i ONT-093 mogu da se primenjuju u kombinaciji sa punim dozama citotoksičnih agenasa zbog minimalne interferencije u farmakokinetici citotoksičnih agenasa. Mada su različiti mehanizmi nastajanja rezistencije, kao i toksičnost i interferencije modulatora prve i druge generacije doveli u pitanje klinički značaj ovih lekova, očekuje se da će upotreba optimiziranih modulatora treće generacije dovesti do značajnih poboljšanja u hemioterapiji kancera. Dalji razvoj ovih lekova može da predstavlja pravi terapijski potencijal za prevazilaženje rezistencije na antikancerogene lekove.

Literatura

1. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:48-58.
2. Bredel M, Anticancer drug resistance in primary human brain tumors. *Brain Research Reviews* 2001; 35:161-204.
3. Larsen A, Escargueil A, Skladanowski A, Resistance mechanisms associated with altered intracellular distribution of anticancer agents. *Pharmacology & Therapeutics* 2000; 85:217-229.
4. Fardel O, Lecreur V, Guillouzo A. The P-glycoprotein multidrug transporter. *Gen Pharmacol* 1996; 27:1283-1291.
5. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, et al. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39:361-398.
6. Krishna R, Mayer LD. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11:265-283.
7. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:48-58.
8. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res* 2001; 11:1156-1166.

9. Witherspoon SM, Emerson DL, Kerr BM, et al. Flow cytometric assay of modulation of P-glycoprotein function in whole blood by the multidrug resistance inhibitor GG918. *Clin Cancer Res* 1996; 2:7-12.
10. Cayre A, Cachin F, Maublant J, et al. Single static view ^{99m}Tc-sestamibi scintimammography predicts response to neoadjuvant chemotherapy and is related to MDR expression. *Int J Oncol* 2002; 20:1049-1055.
11. Ferry DR, Traunecker H, Kerr DJ. Clinical trials of P-glycoprotein reversal in solid tumours. *Eur J Cancer* 1996; 32A:1070-1081.
12. Thomas H. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glycoprotein. *Cancer Contr* 2003; 10:159-165.
13. te Boekhorst PA, van Kapel J, Schoester M, et al. Reversal of typical multidrug resistance by cyclosporin and its non-immunosuppressive analogue SDZ PSC 833 in Chinese hamster ovary cells expressing the MDR1 phenotype. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992; 30:238-242.
14. Twentyman PR, Bleehen NM. Resistance modification by PSC-833, a novel non-immunosuppressive cyclosporin. *Eur J Cancer* 1991; 27:1639-1642.
15. Advani R, Fisher GA, Lum BL, et al. A phase I trial of doxorubicin, paclitaxel, and valspodar (PSC 833), a modulator of multidrug resistance. *Clin Cancer Res* 2001; 7:1221-1229.
16. Baekelandt M, Lehne G, Trope CG, et al. Phase I/II trial of the multidrug-resistance modulator valspodar combined with cisplatin and doxorubicin in refractory ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19:2983-2993.
17. Fracasso PM, Brady MF, Moore DH, et al. Phase II study of paclitaxel and valspodar (PSC 833) in refractory ovarian carcinoma: a gynecologic oncology group study *J Clin Oncol* 2001; 19:2975-2982.
18. Advani R, Saba HI, Tallman MS, et al. Treatment of refractory and relapsed acute myelogenous leukemia with combination chemotherapy plus the multidrug resistance modulator PSC 833 (Valspodar). *Blood* 1999; 93:787-795.
19. Dorr R, Karanes C, Spier C, et al. Phase I/II study of the P-glycoprotein modulator PSC 833 in patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2001; 19:1589-1599.
20. Fracasso PM, Westervelt P, Fears CL, et al. Phase I study of paclitaxel in combination with a multidrug resistance modulator, PSC 833 (Valspodar), in refractory malignancies. *J Clin Oncol* 2000;18: 1124-1134.
21. Bates S, Kang M, Meadows B, et al. A phase I study of infusional vinblastine in combination with the P- glycoprotein antagonist PSC 833 (valspodar). *Cancer* 2001; 92:1577-1590.
22. Germann UA, Shlyakhter D, Mason VS, et al. Cellular and biochemical characterization of VX-710 as a chemosensitizer: reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in vitro. *Anticancer Drugs* 1997; 8:125-140.
23. Germann UA, Ford PJ, Shlyakhter D, et al. Chemosensitization and drug accumulation effects of VX-710, verapamil, cyclosporin A, MS-209 and

- GF120918 in multidrug resistant HL60/ADR cells expressing the multidrug resistance-associated protein MRP. *Anti-cancer Drugs* 1997; 8:141-155.
24. Yanagisawa T, Newman A, Coley H, et al. Biricodar (VX-710; Incel): an effective chemosensitizer in neuroblastoma. *Br J Cancer* 1999; 80:1190-1196.
 25. Toppmeyer D, Seidman AD, Pollak M, et al. Safety and efficacy of the multidrug resistance inhibitor incel (biricodar; VX-710) in combination with paclitaxel for advanced breast cancer refractory to paclitaxel. *Clin. Cancer Res.* 2002; 8: 670–678.
 26. Chico I, Kang MH, Bergan R, et al. Phase I study of infusional paclitaxel in combination with the P-glycoprotein antagonist PSC 833. *J Clin Oncol* 2001; 19:832-842.
 27. Garrigues A, Loiseau N, Delaforge M, et al. Characterization of Two Pharmacophores on the Multidrug Transporter P-Glycoprotein. *Mol. Pharmacol* 2002; 62:1288-1298.
 28. Maki N, Hafkemeyer P, Dey S. Allosteric modification of Human P-glycoprotein. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:18132-18139.
 29. Martin C, Berridge G, Higgis CF, et al. R. Communication between Multiple Drug Binding Sites on P-glycoprotein. *Mol. Pharmacol.* 2000; 58:624-632.
 30. van Zuylen L, Nooter K, Sparreboom A, et al. Development of multidrug-resistance convertors: sense or nonsense? *Invest New Drugs* 2000; 18:205-220.
 31. Martin C, Berridge G, Mistry P, et al. The molecular interaction of the high affinity reversal agent XR9576 with P-glycoprotein. *Br J Pharmacol* 1999; 128:403-411.
 32. Roe M, Folkes A, Ashworth P, et al. Reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by novel anthranilamide derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 1999; 9:595-600.
 33. Starling JJ, Shepard RL, Cao J, et al. Pharmacological characterization of LY335979: a potent cyclopropyldibenzosuberane modulator of P-glycoprotein. *Adv Enzyme Regul* 1997; 37:335-347.
 34. van Zuylen L, Nooter K, Sparreboom A, et al. Development of multidrug-resistance convertors: sense or nonsense? *Invest New Drugs* 2000; 18:205-220.
 35. Newman MJ, Rodarte JC, Benbatoul KD, et al. Discovery and characterization of OC144-093, a novel inhibitor of P-glycoprotein mediated multidrug resistance. *Cancer Res* 2000; 60:2964-2972.
 36. Sorbera LA, Castañer J, Silvestre JS, et al. Zosuquidar Trihydrochloride. Multidrug resistance modulator, P-glycoprotein (MDR-1) inhibitor. *Drugs Future* 2003; 28:125-136.
 37. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/gui/show/NCT00028873>
 38. Dantzig AH, de Alwis DP, Burgess M. Considerations in the design and development of transport inhibitors as adjuncts to drug therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55:133-150.

39. Guns ES, Denyssevyeh T, Dixon R, et al. Drug interaction studies between paclitaxel (Taxol) and OC144-093 - a new modulator of MDR in cancer chemotherapy. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2002; 27:119-126.
40. Seelig A, Gatlik-Landwojtowicz E. Inhibitors of Multidrug Efflux Transporters: Their Membrane and Protein Interactions. *Mini Rev Med Chem* 2005; 5:135-151.
41. Seelig A. A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein. *Eur J Biochem* 1998; 251:252-261.
42. Avendaño C, Menéndez JC. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2008:442.
43. Seelig A, Landwojtowicz E, Fischer et al. Estimation of Solubility, Permeability and Absorption. In: Van de Waterbeemd H, Lennernäs H, Artursson P. eds. *Drug Bioavailability*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2003: 461–492.

P-gp inhibitors as modulators of multidrug resistance on anticancer drugs

Erić Slavica^{1*}, Ilić Katarina²

Department of Pharmaceutical Chemistry¹ and Department of Pharmacology² Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia

Summary

Multidrug resistance (MDR) is a significant obstacle to providing effective chemotherapy to many patients suffering from different types of cancer. Although resistance to anticancer drugs may be developed by different mechanisms, one of the underlying mechanisms of classical MDR is cellular overexpression of P-glycoprotein (P-gp) which acts as an efflux pump for different substrates in cells, resulting in decreased concentration of anticancer drugs in cancer cells. Inhibiting P-gp as a method to reverse MDR in cancer patients has been studied extensively. The development of P-gp inhibitors from first to third generation is presented in this work. First-generation inhibitors (eg. cyclosporin A, verapamil) are limited by their toxicity, whereas second-generation inhibitors (eg. valsopodar, biricodar) showed reduced toxicity but were confounded by unpredictable pharmacokinetic interactions with anticancer drugs as well as interactions with other transporter proteins. Third-generation inhibitors (tariquidar, zosuquidar, laniquidar and ONT-093) show high potency and specificity for P-gp. The continued development of these agents may establish the true therapeutic potential of P-gp-mediated MDR reversal.

Key words: multidrug resistance, anticancer drugs, P-glycoprotein inhibitors

*corresponding author: seric@pharmacy.bg.ac.rs