



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021014683-4 A2



(22) Data do Depósito: 26/07/2021

(43) Data da Publicação Nacional: 04/10/2022

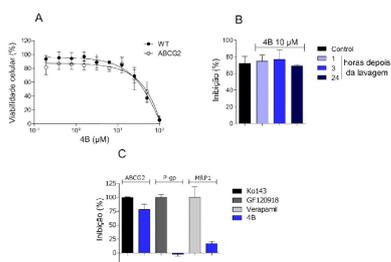
(54) Título: PORFIRINA 4B COMO INIBIDOR ESPECÍFICO DO TRANSPORTADOR ABCG2

(51) Int. Cl.: A61K 31/409; A61P 35/00.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA.

(72) Inventor(es): INGRID FATIMA ZATTONI; LAIS DANCIGUER GUANAES; DIOGO HENRIQUE KITA; GLAUCIO VALDAMERI; ALAN GUILHERME GONÇALVES; VIVIAN ROTUNO MOURE; MIGUEL DANIEL NOSEDA.

(57) Resumo: PORFIRINA 4B COMO INIBIDOR ESPECÍFICO DO TRANSPORTADOR ABCG2. Esta invenção diz respeito a um novo inibidor do transportador ABCG2: a porfirina 4B. Porfirinas são substratos clássicos de ABCG2 e 4B é a primeira da classe descrita como um inibidor verdadeiro. Esse inibidor é um candidato a medicamento para tratamento de tumores resistentes a múltiplas drogas em coadministração com a quimioterapia convencional.



PORFIRINA 4B COMO INIBIDOR ESPECÍFICO DO TRANSPORTADOR ABCG2

CAMPO DA INVENÇÃO

5 [001] A presente invenção diz respeito ao uso da porfirina 4B como novo inibidor específico do transportador ABCG2 para uso em associação com quimioterápicos no tratamento de diversos tipos de câncer.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO E ESTADO DA TÉCNICA

10 [002] Porfirinas são estruturas heterocíclicas formadas por quatro anéis pirrólicos ligados por pontes metínicas. Estas estruturas são bastante utilizadas em Terapia Fotodinâmica (*Photodynamic therapy* – PDT) devido a capacidade de geração e oxigênio singlete quando na presença de oxigênio e luz [1,2]. Essa capacidade de geração de oxigênio singlete pelas porfirinas as tornam bastante úteis no tratamento de alguns tipos de câncer, como pele e
15 bexiga, pois permite um tratamento pouco invasivo e localizado [1].

[003] As porfirinas são largamente encontradas na natureza e envolvidas em uma ampla variedade de funções fisiológicas, a citar: transporte de oxigênio aos tecidos (grupo heme) e na fotossíntese (clorofila) [3]. Estas estruturas podem ser sintetizadas em laboratório a partir de dois métodos
20 principais: método de Adler e Longo, que utiliza ácido propiônico como solvente sob refluxo (141°C) juntamente com o benzaldeído e pirrol de interesse [4]. O segundo método é o de Lindsey, que parte da formação de dipirrometanos como primeira etapa através da condensação do benzaldeído e pirrol na presença de um ácido de Lewis seguido da formação do porfirinogênio e sua
25 oxidação para formar a porfirina [5].

[004] Além de representarem uma alternativa para tratamento de tumores através da PDT, as porfirinas são também um grupo de compostos reconhecidos pela interação específica com o transportador ABCG2, um dos membros da família de transportadores ABC [6]. Os transportadores ABC são
30 uma classe importante de proteínas de membrana fisiologicamente responsáveis pela detoxificação celular e transporte de moléculas, como ácido úrico [7]. Entretanto, essas proteínas estão envolvidas na falha à quimioterapia

pela capacidade de transportar diversos quimioterápicos, reduzindo a concentração intracelular e impedindo que a quimioterapia alcance níveis suficientes para morte celular [8]. Esse fenômeno é o responsável pela resistência a múltiplas drogas apresentada por alguns tipos de câncer (Multidrug Resistance - MDR). Uma estratégia para reverter o efeito dos transportadores ABC em câncer é inibição dessas proteínas, impedindo o transporte de quimioterápico e sensibilizando as células neoplásicas, estratégia que já foi demonstrada *in vitro* com sucesso [9–13].

[005] Já são conhecidos vários compostos com capacidade de inibir o transportador ABCG2. O primeiro inibidor descrito foi a fumitremorgina C, uma micotoxina capaz de reverter a resistência promovida por ABCG2 em células de cólon selecionadas para MDR [14,15]. Compostos mais potentes foram sintetizados a partir da fumitremorgina C, com destaque ao Ko143, porém, o desenvolvimento foi descontinuado devido a toxicidade apresentada por estes compostos [16,17].

[006] Outras classes de compostos foram testadas como inibidores de ABCG2, entre eles, os inibidores da tirosina quinase, porém, estes inibidores falharam ao alcançar os desfechos clínicos almejados [18–20]. Até o momento, não há nenhum inibidor de ABCG2 testado clinicamente, tornando imperativo o desenvolvimento de inibidores com potencial clínico.

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO

[007] A relação entre porfirinas e ABCG2 foi descrita pela primeira vez em 2002. Jonker e colaboradores mostraram que clorinas (compostos estruturalmente relacionados às porfirinas), mais especificamente o Pheophorbide a são substratos de ABCG2, ou seja, são transportados para fora do ambiente extracelular assim como os quimioterápicos [21]. Entretanto, diferente dos quimioterápicos (que podem ser reconhecidos e transportados por outros transportadores ABC), o Pheophorbide a é transportado apenas por ABCG2. Isso significa que o Pheophorbide a é um substrato específico de ABCG2, uma característica única quando comparado com os demais substratos. Esse reconhecimento específico foi observado também em outras porfirinas (e derivados clorinas) como metil éster pirophorbide a e clorina

e6 [6]. Dessa forma, a interação entre porfirinas e o transportador ABCG2 é ímpar já que é o único substrato específico conhecido de um transportador ABC até o momento.

[008] Uma das estratégias para o desenvolvimento de novos
5 inibidores é aproveitar a estrutura química dos substratos reconhecidos por tais proteínas. Como produto desta estratégia temos as classes químicas representadas pelos estilbenos e inibidores da tirosina quinase, que foram desenvolvidos tendo como base compostos relacionados que funcionavam como substratos, mas posteriormente convertidos em inibidores [22–27]. Com
10 base nisso, porfirinas sintéticas com diferentes substituintes nas suas posições meso e beta foram testadas e uma delas, a porfirina 4B (FIGURA 1), foi capaz de inibir o transportador ABCG2 depois de 24 horas de incubação com as células que superexpressam ABCG2.

[009] Em seguida, a capacidade de inibição da porfirina 4B com
15 diferentes substratos foi verificada. 4B apresentou um valor de IC_{50} (concentração que inibe 50% da atividade do transportador) de 1.6 μ M com os substratos mitoxantrona e hoescht 33342, como mostra a FIGURA 2A-D. A inibição foi confirmada por imagens de microscopia confocal. Células HEK293 ABCG2 tratadas com 4B a 10 μ M por 24 horas mostraram o mesmo padrão de
20 acúmulo quando comparado com Ko143 (inibidor de referência), como mostra FIGURA 2E.

[010] A citotoxicidade é um parâmetro importante na avaliação preliminar de um inibidor, uma vez que é possível avaliar se o composto é transportado por ABCG2, além da toxicidade intrínseca do composto. A
25 porfirina 4B não se comporta como substrato de ABCG2, contrariando o que se conhece até o momento, uma vez que porfirinas eram conhecidas como substratos específicos de ABCG2 (FIGURA 3A). Além disso, a ligação dessa porfirina ao transportador é de alta afinidade. Células foram tratadas por 24 horas com 4B e, passado esse tempo, a solução de 4B foi retirada e as células
30 permaneceram sem o composto por mais 1, 3 e 24 horas. Em nenhum momento, a inibição foi perdida, mostrando que, mesmo depois de 24 horas na ausência de 4B em solução, a inibição se mantém no seu nível máximo.

Portanto, essa inibição foi mantida pelo composto que estava inicialmente ligado à proteína (FIGURA 3B).

[011] A seletividade frente à Glicoproteína-P e MRP1 também foi avaliada. Inibidores seletivos são valorizados pelo fato dos transportadores ABC participarem de funções fisiológicas e a seletividade diminuiria os riscos de possíveis efeitos indesejados pela interrupção de funções importantes. A porfirina 4B mostrou-se seletiva frente à glicoproteína-P e MRP1, apresentando este atributo importante para candidatos a ensaios clínicos (FIGURA 3C).

[012] As características apresentadas por 4B são de bastante interesse científico. A porfirina 4B é a primeira porfirina não transportada por ABCG2 e possui características interessantes de inibidor que podem trazer respostas em relação ao funcionamento do transportador ABCG2.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[013] Os testes iniciais de inibição foram conduzidos com células HEK293 transfectadas de maneira estável para superexpressar ABCG2. Células HEK293 ABCG2 foram plaqueadas em placas de 24 poços e mantidas em estufa a 37°C por 24 horas para adesão. Depois, uma solução de 10 µM de porfirina 4B foi adicionado ao poço e o tratamento foi mantido por 24 horas. Passado esse tempo, o tratamento foi retirado e mitoxantrona (10 µM) foi adicionado ao poço por 30 minutos. O tratamento foi retirado, as células foram lavadas com PBS e removidas da placa com tripsina. Por fim, 300 µL de PBS gelado foi utilizado para ressuspender as células para leitura por citometria de fluxo (FACS Calibur, laser 488 nm, filtro FL-4). Em paralelo, o controle positivo foi feito usando Ko143 a 1 µM e mitoxantrona 10 µM (tratamento simultâneo de 30 minutos) com HEK293 ABCG2. Neste ensaio verificou-se que 4B inibia o transporte em 78%.

[014] Em seguida, a curva de inibição foi feita para determinar o IC₅₀ (concentração capaz de inibir 50% da atividade máxima). Este ensaio foi feito somente com as células que superexpressam ABCG2. O ensaio foi feito nas mesmas condições descritas acima, alterando apenas as concentrações da porfirina 4B com concentração máxima de 10 µM. Os substratos utilizados foram mitoxantrona 10 µM e hoescht 33342 6 µM. A leitura foi feita utilizando

citômetros FACS Calibur, laser 488 nm, filtro FL-4 para mitoxantrona e FACS Celesta, laser ultravioleta, filtro 450-50 nm para hoescht 33342. Neste ensaio verificou-se que o IC₅₀ era de 1.6 µM para ambos os substratos.

[015] O ensaio de lavagem foi feito para verificar a inibição de 4B
5 mesmo depois de cessar o tratamento. Para isso, células foram plaqueadas em placa de 24 poços e deixadas por 24 para aderir. Depois, o tratamento com 10 µM de 4B foi feito por 24 horas. Passado este tempo, o tratamento foi retirado, o tapete celular foi lavado com PBS e meio novo (sem 4B) foi adicionado aos poços. As leituras foram feitas em citômetro de fluxo depois de 1, 3 e 24 horas
10 depois de retirar o tratamento. Este ensaio mostra que a inibição permanece por, pelo menos 24 horas, mesmo depois de retirado o tratamento.

[016] Para o ensaio de seletividade, células de fibroblasto NIH 3T3, HEK293 e BHK-21 transfectadas de maneira estável para superexpressar os transportadores P-gp, ABCG2 e MRP1, respectivamente, foram semeadas
15 em placas de 24 poços e incubadas em estufa durante 24 horas para adesão. Essas células foram tratadas com 10 µM da porfirina 4B e incubadas por mais 24 horas. Após esse período, o tratamento foi retirado e as células foram tratadas com rodamina 123 (5 µM), mitoxantrona (10 µM) e daunorubicina (10 µM), respectivamente, durante 30 minutos a 37°C. Em paralelo, as células
20 foram tratadas com inibidores de referência, tais como GF120918 (1 µM) para P-gp, Ko143 (1 µM) para ABCG2 e verapamil (30 µM) para MRP1 como controles positivos. Após esse tempo, o tratamento foi removido, o tapete celular foi lavado com PBS e as células foram ressuspensas com tripsina e 300 µL de PBS gelado. A inibição foi avaliada por citometria de fluxo (FACS
25 Calibur) utilizando laser 488 nm e 635 nm, filtros FL-1 para rodamina, FL-4 para mitoxantrona. Para MRP1, a leitura foi feita por citometria de fluxo (FACS Celesta) utilizando o filtro B 610-20. Para o cálculo foram consideradas as medianas da fluorescência das células transfectadas tratadas com seus respectivos inibidores de referência. Neste ensaio, verificou-se que a inibição
30 de 4B acontece de forma seletiva.

[017] O cálculo da porcentagem de inibição das células transfectadas foi determinada pela comparação direta da mediana de

fluorescência das células tratadas com a porfirina 4B e o controle de inibição com os inibidores de referência através do seguinte cálculo:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{fluorescência teste 4B} - \text{fluorescência controle efluxo}}{\text{fluorescência controle inibição} - \text{fluorescência controle efluxo}} \times 100$$

5 Fluorescência teste 4B: Célula resistente tratada com 4B e substrato.

Fluorescência controle efluxo: Célula resistente tratada apenas com substrato.

Fluorescência controle inibição: Célula resistente tratada com inibidor de referência e substrato.

[018] A microscopia confocal foi feita também com células HEK293 ABCG2. Neste caso, as células foram plaqueadas em placa de 24
10 poços que continham lamínulas redondas de microscopia no fundo dos poços. Após 24 horas de adesão, o tratamento com 4B a 10 µM foi feito por mais 24 horas. Depois desse tempo, o tratamento foi retirado e hoescht 33342 1 µM foi adicionado aos poços por 30 minutos. As lamínulas foram coletadas, lavadas com PBS e colocadas em lâmina para microscopia com glicerina. As imagens
15 foram feitas em microscópio Confocal na objetiva de 40x. As imagens feitas evidenciaram que o padrão de fluorescência de 4B e do controle positivo Ko143 eram similares.

[019] O ensaio de viabilidade foi feito com células HEK293 ABCG2 e WT. As células foram plaqueadas em placa de 96 poços e incubadas
20 por 24 horas para adesão. Depois, as células foram tratadas com concentrações crescentes de 4B (0.09 µM até 100 µM) por 72 horas. O ensaio foi revelado pelo método do MTT. A partir deste teste, observou-se o mesmo padrão de morte para ambas as células, sugerindo a ausência de transporte.

[020] Os dados coletados por estes experimentos evidenciam a
25 capacidade inibitória da porfirina 4B frente ao transportador ABCG2 (ativamente envolvido na resistência a múltiplas drogas) e sua atesta sua viabilidade quanto ao desenvolvimento de um medicamento para associação à quimioterapia convencional. Além disso, as características únicas apresentadas pelo composto podem ser úteis para explorar o funcionamento do transportador
30 ABCG2. Esses resultados demonstram que a porfirina apresentou um comportamento inédito na literatura (inibidor do transportador ABCG2) e que foge da sua utilização mais clássica, a terapia fotodinâmica.

DESCRIBÇÃO DAS FIGURAS

[021] A FIGURA 1 representa a estrutura da porfirina 4B.

[022] A FIGURA 2 mostra as curvas de IC₅₀ com o substrato mitoxantrona (A) e o histograma fornecido pelo citômetro de fluxo, evidenciando a inibição de 4B a 10 µM (histograma azul) em comparação com o inibidor de referência Ko143 (linha pontilhada) (B). Em seguida, a curva de IC₅₀ com hoescht 33342 (C) e o histograma evidenciando a inibição (histograma azul) em comparação ao inibidor de referência Ko143 (linha pontilhada). Por fim, as imagens do ensaio de confocal comparando as células tratadas apenas com o substrato hoescht 33342, células tratadas com 4B e substrato e células tratadas com Ko 143 e substrato (E).

[023] A FIGURA 3 mostra os ensaios de viabilidade celular (A), ensaio de lavagem, que demonstra inibição de 4B mesmo depois da solução de inibidor ser retirada (B) e o ensaio de seletividade (C).

15

REFERENCIAS

- [1] S.B. Brown, E.A. Brown, I. Walker, The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment., *Lancet. Oncol.* 5 (2004) 497–508. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(04\)01529-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(04)01529-3).
- [2] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelyk, J. Moan, Q. Peng, Photodynamic Therapy, *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 90 (1998) 889–905. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.12.889>.
- [3] H. Abrahamse, M.R. Hamblin, New photosensitizers for photodynamic therapy., *Biochem. J.* 473 (2016) 347–364. <https://doi.org/10.1042/BJ20150942>.
- [4] A.D. Adler, F.R. Longo, J.D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine, *J. Org. Chem.* 32 (1967) 476. <https://doi.org/10.1021/jo01288a053>.
- [5] J.S. Lindsey, I.C. Schreiman, H.C. Hsu, P.C. Kearney, A.M. Marguerettaz, Rothmund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions, *J. Org. Chem.* 52

30

(1987) 827–836. <https://doi.org/10.1021/jo00381a022>.

- [6] R.W. Robey, K. Steadman, O. Polgar, S.E. Bates, ABCG2-mediated transport of photosensitizers: Potential impact on photodynamic therapy, *Cancer Biol. Ther.* 4 (2005) 187–194. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.2.1440>.
- [7] N.M.I. Taylor, I. Manolaridis, S.M. Jackson, J. Kowal, H. Stahlberg, K.P. Locher, Structure of the human multidrug transporter ABCG2., *Nature*. 546 (2017) 504–509. <https://doi.org/10.1038/nature22345>.
- [8] W. Mo, J.-T. Zhang, Human ABCG2: structure, function, and its role in multidrug resistance., *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* 3 (2012) 1–27.
- [9] G.J. Gozzi, Z. Bouaziz, E. Winter, N. Daflon-Yunes, M. Honorat, N. Guragossian, C. Marminon, G. Valdameri, A. Bollacke, J. Guillon, N. Pinaud, M. Marchivie, S.M. Cadena, J. Jose, M. Le Borgne, A. Di Pietro, Phenolic indeno[1,2-b]indoles as ABCG2-selective potent and non-toxic inhibitors stimulating basal ATPase activity, *Drug Des. Devel. Ther.* 9 (2015) 3481–3495. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S84982>.
- [10] G. Valdameri, E. Genoux-Bastide, B. Peres, C. Gauthier, J. Guitton, R. Terreux, S.M.B. Winnischofer, M.E.M. Rocha, A. Boumendjel, A. Di Pietro, Substituted chromones as highly-potent nontoxic inhibitors, specific for the breast cancer resistance protein., *J. Med. Chem.* (2011). <https://doi.org/10.1021/jm201404w>.
- [11] G. Valdameri, C. Gauthier, R. Terreux, R. Kachadourian, B.J. Day, S.M.B. Winnischofer, M.E.M. Rocha, V. Frachet, X. Ronot, A. Di Pietro, A. Boumendjel, Investigation of Chalcones as selective inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein: Critical Role of Methoxylation in both inhibition potency and cytotoxicity, *J. Med. Chem.* 55 (2014) 3193–3200. <https://doi.org/10.1021/jm2016528>.Investigation.
- [12] L.C. Vesga, T. Kronenberger, A.K. Tonduru, D.H. Kita, I.F. Zattoni, C.C. Bernal, A.R.R. Bohórquez, S.C. Mendez-Sánchez, S. V Ambudkar, G. Valdameri, A. Poso, Tetrahydroquinoline/4,5-dihydroisoxazole molecular hybrids as novel inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)., *ChemMedChem.* (2021).

<https://doi.org/10.1002/cmdc.202100188>.

- [13] D.H. Kita, N. Guragossian, I.F. Zattoni, V.R. Moure, F.G. de M. Rego, S. Lusvarghi, T. Moulenat, B. Belhani, G. Picheth, S. Bouacida, Z. Bouaziz, C. Marminon, M. Berredjem, J. Jose, M.B. Gonçalves, S. V Ambudkar, G. Valdameri, M. Le Borgne, Mechanistic basis of breast cancer resistance protein inhibition by new indeno[1,2-b]indoles, *Sci. Rep.* 11 (2021) 1788. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79892-w>.
- [14] S.K. Rabindran, H. He, M. Singh, E. Brown, K.I. Collins, T. Annable, L.M. Greenberger, Reversal of a novel multidrug resistance mechanism in human colon carcinoma cells by fumitremorgin C., *Cancer Res.* 58 (1998) 5850–5858.
- [15] M. Wiese, BCRP/ABCG2 inhibitors: a patent review (2009-present), *Expert Opin. Ther. Pat.* 25 (2015) 1229–1237. <https://doi.org/10.1517/13543776.2015.1076796>.
- [16] C.O. Puentes, P. Höcherl, M. Kühnle, S. Bauer, K. Bürger, G. Bernhardt, A. Buschauer, B. König, Solid phase synthesis of tariquidar-related modulators of ABC transporters preferring breast cancer resistance protein (ABCG2), *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 21 (2011) 3654–3657. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.094>.
- [17] S.M. Jackson, I. Manolaridis, J. Kowal, M. Zechner, N.M.I. Taylor, M. Bause, S. Bauer, R. Bartholomaeus, G. Bernhardt, B. Koenig, A. Buschauer, H. Stahlberg, K.H. Altmann, K.P. Locher, Structural basis of small-molecule inhibition of human multidrug transporter ABCG2, *Nat. Struct. Mol. Biol.* 25 (2018) 333–340. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0049-1>.
- [18] A. Carrato, A. Swieboda-Sadlej, M. Staszewska-Skurczynska, R. Lim, L. Roman, Y. Shparyk, I. Bondarenko, D.J. Jonker, Y. Sun, J.A. la Cruz, J.A. Williams, B. Korytowsky, J.G. Christensen, X. Lin, J.M. Tursi, M.J. Lechuga, E. Van Cutsem, Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan Plus Either Sunitinib or Placebo in Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized, Phase III Trial, *J. Clin. Oncol.* 31 (2013) 1341–1347. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.1930>.

- [19] E. Samalin, O. Bouché, S. Thézenas, E. Francois, A. Adenis, J. Bennouna, J. Taieb, F. Desseigne, J.F. Seitz, T. Conroy, M.P. Galais, E. Assenat, E. Crapez, S. Poujol, F. Bibeau, F. Boissière, P. Laurent-Puig, M. Ychou, T. Mazard, Sorafenib and irinotecan (NEXIRI) as second- or later-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer and KRAS-mutated tumours: a multicentre Phase I/II trial., *Br. J. Cancer*. 110 (2014) 1148–1154. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.813>.
- [20] D. Westover, F. Li, New trends for overcoming ABCG2/BCRP-mediated resistance to cancer therapies, *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 34 (2015) 159. <https://doi.org/10.1186/s13046-015-0275-x>.
- [21] J.W. Jonker, M. Buitelaar, E. Wagenaar, M.A. Van der Valk, G.L. Scheffer, R.J. Scheper, T. Plösch, F. Kuipers, R.P.J. Oude Elferink, H. Rosing, J.H. Beijnen, A.H. Schinkel, T. Plosch, F. Kuipers, R.P.J.O. Elferink, H. Rosing, J.H. Beijnen, A.H. Schinkel, The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (2002) 15649–15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.202607599>.
- [22] G. Valdameri, L. Pereira Rangel, C. Spatafora, J. Guitton, C. Gauthier, O. Arnaud, A. Ferreira-Pereira, P. Falson, S.M.B. Winnischofer, M.E.M. Rocha, C. Tringali, A. Di Pietro, Methoxy Stilbenes as Potent, Specific, Untransported, and Noncytotoxic Inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein, *ACS Chem. Biol.* 7 (2012) 322–330. <https://doi.org/10.1021/cb200435y>.
- [23] H.C. Cooray, T. Janvilisri, H.W. van Veen, S.B. Hladky, M.A. Barrand, Interaction of the breast cancer resistance protein with plant polyphenols., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 317 (2004) 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.040>.
- [24] L.N. Eadie, T.P. Hughes, D.L. White, Interaction of the Efflux Transporters ABCB1 and ABCG2 With Imatinib , Nilotinib , and Dasatinib, *Clin. Pharmacol. Ther.* 95 (2014). <https://doi.org/10.1038/clpt.2013.208>.
- [25] S. Shukla, A.P. Skoumbourdis, M.J. Walsh, A.M.S. Hartz, K.L. Fung, C. Wu, M.M. Gottesman, C.J. Thomas, S. V Ambudkar, Synthesis and

Characterization of a BODIPY Conjugate of the BCR-ABL Kinase Inhibitor Tasigna (Nilotinib): Evidence for Transport of Tasigna and Its Fluorescent Derivative by ABC Drug Transporters, *Mol. Pharm.* (2011) 1292–1302. <https://doi.org/10.1021/mp2001022>.

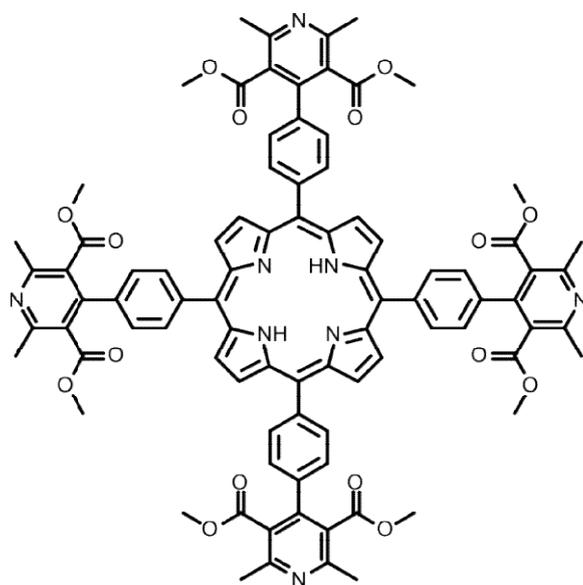
- 5 [26] Y. Inoue, T. Morita, M. Onozuka, K.-I. Saito, K. Sano, K. Hanada, M. Kondo, Y. Nakamura, T. Kishino, H. Nakagawa, Y. Ikegami, Impact of Q141K on the Transport of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors by ABCG2., *Cells.* 8 (2019). <https://doi.org/10.3390/cells8070763>.
- 10 [27] P. Breedveld, D. Pluim, G. Cipriani, F. Dahlhaus, M.A.J. van Eijndhoven, C.J.F. de Wolf, A. Kuil, J.H. Beijnen, G.L. Scheffer, G. Jansen, P. Borst, J.H.M. Schellens, The Effect of Low pH on Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2)-Mediated Transport of Methotrexate, 7-Hydroxymethotrexate, Methotrexate Diglutamate, Folic Acid, 15 Mitoxantrone, Topotecan, and Resveratrol in In Vitro Drug Transport Models, *Mol. Pharmacol.* 71 (2007) 240 LP – 249. <https://doi.org/10.1124/mol.106.028167>.

REIVINDICAÇÕES

PORFIRINA 4B COMO INIBIDOR ESPECÍFICO DO TRANSPORTADOR ABCG2

- 1) **Uso da porfirina 4B** caracterizado por ser para preparar um medicamento para o tratamento do câncer pela inibição do transportador ABCG2.

FIGURAS



5

FIGURA 1

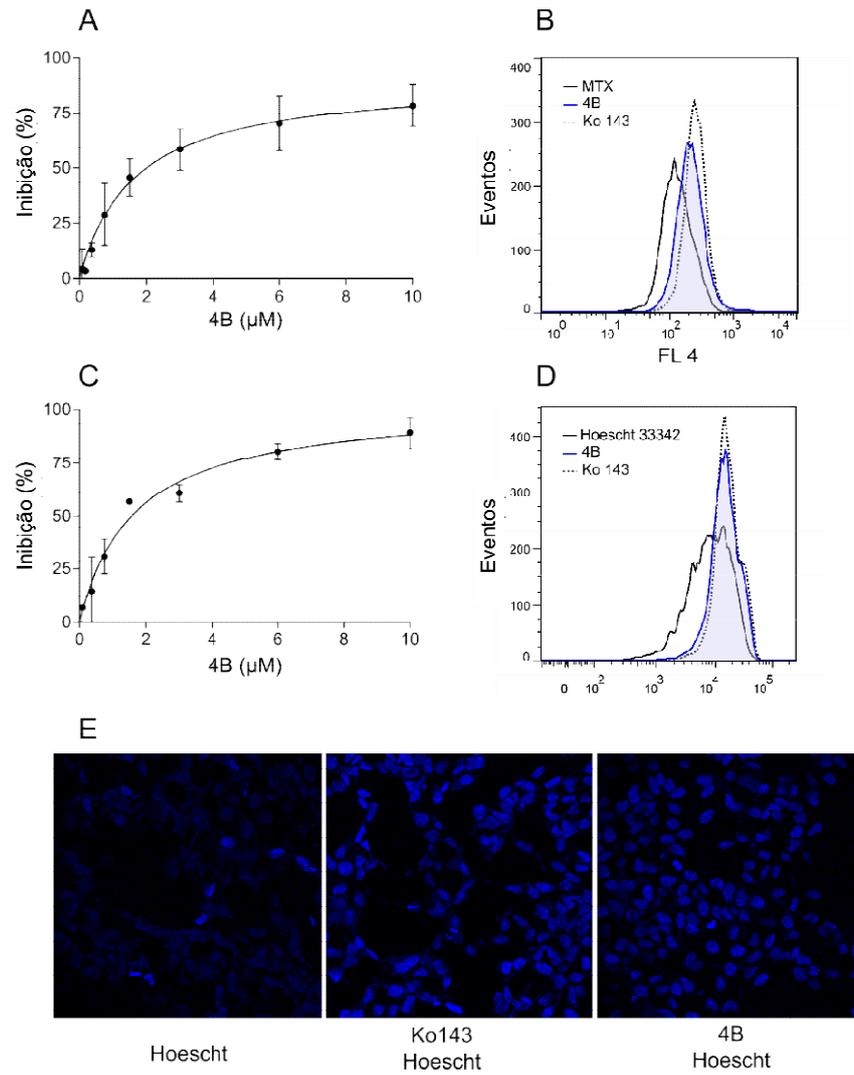


FIGURA 2

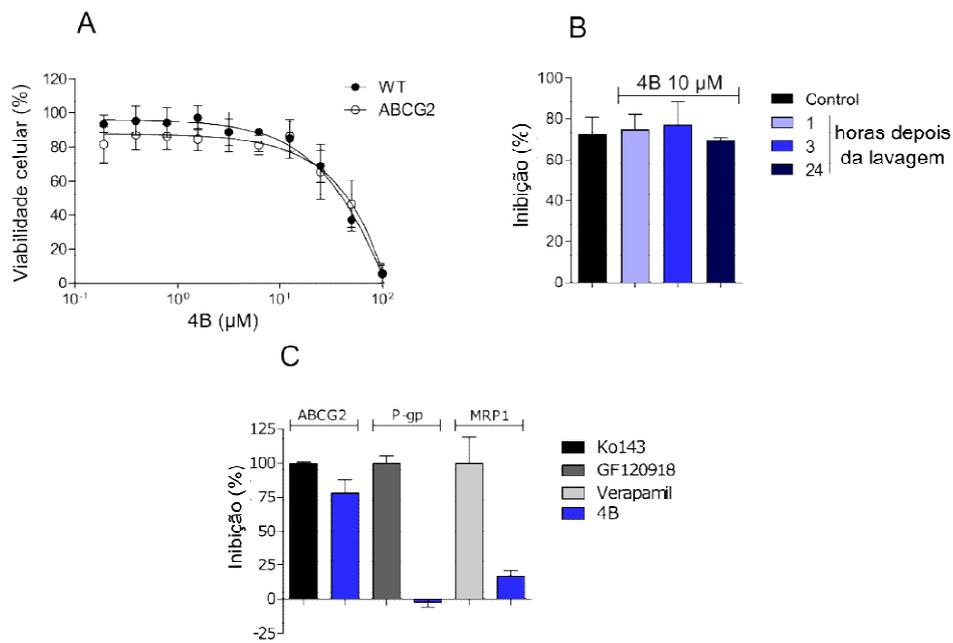


FIGURA 3

RESUMO

PORFIRINA 4B COMO INIBIDOR ESPECÍFICO DO TRANSPORTADOR ABCG2

O presente invento diz respeito ao uso da porfirina 4B (FIGURA 1) como um inibidor seletivo do transportador ABCG2. O transportador ABCG2 é um dos principais responsáveis pela resistência ao tratamento quimioterápico em câncer. A porfirina 4B inibiu o efluxo de um substrato quimioterápico mediado pelo transportador ABCG2, a mitoxantrona. A inibição foi confirmada com outro substrato do transportador, o hoescht 33342. Para ambos os substratos o valor de IC₅₀ de inibição promovido pela porfirina 4B foi de 1.6 µM. Além disso, foi observada que a porfirina 4B não é transportada pelo transportador ABCG2, feito inédito para porfirinas até o momento. Ainda, a porfirina 4B foi seletiva em inibir o transportador ABCG2 já que não apresentou inibição frente aos transportadores P-gp e MRP1. Dentre as porfirinas, a porfirina 4B é a primeira a se comportar como um inibidor verdadeiro e sem ser transportada por ABCG2. A porfirina 4B pode ser considerada uma poderosa ferramenta para o estudo do funcionamento do transportador ABCG2, bem como ser avaliada em ensaios clínicos subsequentes para uso no tratamento do câncer.