천연 추출물을 이용한 화학감작제 후보물질 탐색

안희정 · 김지영¹ · 이충환¹ · 송임숙 · 유광현*

인제대학교 의과대학 약리학교실·약물유전체연구센터, ¹건국대학교 생명공학과

Received June 17, 2008 / Accepted September 22, 2008

Screening of Chemosensitizer Candidates Using Natural Extracts. Hee-Jeong Ahn, Ji Young Kim¹, Choong-Hwan Lee¹, Im Sook Song and Kwang-Hyeon Liu*. *Department of Pharmacology and Pharmacogenomics Research Center, Inje University College of Medicine, Busan, Korea, ¹Department of Biosciences and Biotechnology, IBST, Konkuk University, Seoul, Korea* - P-glycoprotein (P-gp) is a very important drug transporter, which plays an important role in drug disposition and represents an additional mechanism for the development of multidrug resistance. Flavonoids, a major class of natural compounds widely present in foods and herbal products, have been shown to be P-gp inhibitors. The objective of the present study was to identify new chemosensitizer candidates through the screening of various herbal extracts. The inhibitory effects of herbal extracts on P-gp activity were assessed by measuring accumulation of calcein AM using P-gp overexpressed L-MDR1 cells. *Curcuma longa* showed the most potent inhibition on P-gp function. The inhibitory potential of P-gp was in the order: *Curcuma longa* > *Curcuma aromatica* > *Ageratum conyzoides* > *Zanthoxylum planispinum* > *Zedoariae rhizome* > *Rakta chandan* > *Dalbergia odorifera* > *Caesalpinia Sappan* > *Aloe ferox*. To identify individual constituents with inhibitory activity, the herbal extracts were analyzed by LC/MS/MS. Several flavonoids such as curcumin, a well-known P-gp inhibitor, were identified through mass spectral library search. These in vitro data indicate that herbal extracts contain constituents that can potentially inhibit the activities of P-gp and suggest that these herbal extracts should be examined for potential chemosensitizer in vivo.

Key words : Natural extracts, flavonoids, chemosensitizer, P-glycoprotein

서 론

현재 암치료에 사용되고 있는 항암제의 대부분은 화학요법제로 암의 증상과 증후를 일시적으로 제거해주고 수명을 연장시키는 데 기여하였지만, 이들 항암제의 부작용, 항암제 내성 등의 문제점을 가지고 있다. 약제에 대한 내성은 항암제 치료 시 처음에는 항암효과를 나타내다가, 점차 효과가 줄어드는 현상으로 항암치료 실패의 가장 중요한 원인으로 알려져 있다. 특히 한 항암제 치료후, 이와 작용기전 및 화학구조가 다른 약물에 대해서도 나타나는 다약제내성(multidrug resistance, MDR) 문제는 신규 항암제 개발 및 기존 항암제의 치료효율 개선을 위해 고려하여야 할 중요한 사항으로 고려되고 있다[10]. 다약제내성 유전자 발현과 관련하여 가장 대표적인 기전은 암세포의 세포막에 항암제를 세포 밖으로 방출하는 배출펌프의 발현이 증가하는 것이다[24,8]. 현재까지 밝혀진 배출 펌프에는 P-glycoprotein (P-gp) [2,25], breast cancer related protein (BCRP) [9,14] 및 multidrug resistance-associated protein (MRP) [7,9] 등이 있다.

최근에는 다약제내성 발현의 원인으로 알려져 있는 P-gp

및 BCRP 등과 같은 약물유출펌프의 작용 저해제를 기존의 항암제와 함께 투여함으로써 항암제에 대한 내성을 감소시켜 암의 치료 효과를 증진시키고 항암제의 용량을 줄여 정상 세포에 대한 부작용을 감소시키는 약제의 개발이 다국적 제약회사를 중심으로 활발하게 이루어지고 있다[5,6,12,20]. 이러한 내성 저해물질은 항암제에 대한 내성을 극복하여 결과적으로 항암제에 대해 감수성을 보이도록 감각한다고 하여 화학감작제(chemosensitizer)라고 하며, 또 다른 이름으로는 다약제내성조절제(MDR modulator) 또는 다약제내성역전제(MDR reversing agent) 등이 있다.

현재까지 개발된 화학감작제에는 P-gp 억제제로 verapamil [17], cyclosporine A [22], PSC833 [12] 및 quinidine 등이 있고, BCRP 억제제로 fumitremorgin C [1] 및 GF120918 [1] 등이 보고되고 있다. 특히 zosuquidar (Kanaza 제약) [10]는 현재 3상 임상시험이 진행되고 있고, 국내 제약회사인 한미약품의 경우에도 P-gp 저해제를 개발하여 경구용 항암제형인 오락솔의 효능 증진 효과에 대한 1상 임상시험을 진행 중에 있다[20].

그러나 최근 tariquidar의 경우 3상 임상시험 진행중 tariquidar를 항암제와 함께 병용 투여받은 피험자 군에서 높은 세포독성이 발견되어 임상시험이 중지되는 등 또 다른 부작용 발생이 문제시되고 있다[6]. 이는 다약제내성 문제를 해결

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-6412, Fax : +82-51-893-1232

E-mail : dstlkh@inje.ac.kr

하기 위해 개발된 화학감작제가 또 다른 문제를 일으킨 것으로써, 화학합성 기법을 이용한 신약 개발의 한계점을 보여주는 중요한 예라고 할 수 있다. 따라서 화학합성이 아닌 안전성이 확보된 천연물(식물 및 생약) 및 식물이차대사산물로부터 신규 화학감작제를 탐색하는 것이 기존의 화학합성 화학감작제의 부작용을 방지할 수 있는 대안이 될 수 있을 것이다. 이와 관련하여 최근 식물이차대사산물의 하나인 플라보노이드 화합물이 BCRP를 억제하는 기전이 규명되어, 항암치료와 관련하여 식물이차대사산물의 화학감작제로서의 활용 가능성이 보고되고 있어 천연물을 이용한 화학감작제 개발의 가능성이 제기되고 있다[18,26]. 이에 본 연구에서는 약 800여 종에 이르는 천연물 추출물의 P-gp 저해 기전 연구를 통하여 기존 항암제의 항암 활성을 증진시킬 수 있는 새로운 화학감작제 후보물질을 발굴하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

P-gp 활성 저해능 평가를 위한 천연 추출물은 한국식물추출은행, 부산대, 부경대, 신라대 등에서 분양 받아 사용하였다(Table 1). 실험에 사용한 LLC-PK1, L-MDR1 및 Caco-2 세포주는 서울대에서 분양 받아 사용하였다. 세포배양에 필요한 배지 Dulbecco's Modified Eagles medium (DMEM)과 배지에 첨가하는 항생제(120 µg penicillin/ml 및 200 µg streptomycin/ml) 및 FBS (fetal bovine serum)은 Hyclone (Logan, UT) 제품을 사용하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), cyclosporine A, para-aminohippuric acid 및 calcein AM 등과 같은 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구매하여 사용하였다.

세포주 배양

천연물에 의한 P-gp 수송활성의 저해 정도를 평가하기 위하여, LLC-PK1 세포주에 P-gp 을 과발현 시킨 L-MDR1 세포주를 사용하였다. 배양은 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin, 1% 비필수 아미노산 및 4 mM L-glutamine가 첨가

되어 있는 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 24시간 배양 후, 인산완충용액으로 1회 세척하고, trypsin-EDTA 1 ml을 사용하여 플레이트 바닥에 붙어 있는 세포주를 분리하였다. 분리한 세포주를 DMEM 배지를 사용하여 회수, 원심분리한 후(1,000 rpm, 3분) 상층액을 버리고 남아있는 세포주는 DMEM 배지를 사용하여 세포수를 2×10⁴으로 조정 한 후, 96 well plate에 200 µl 씩 분주하였다. 분주한 세포주는 10% FBS와 항생제가 첨가되어 있는 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 실험에 사용하였다. Transwell culture에 사용한 Caco-2세포주는 20% FBS와 항생제가 첨가되어 있는 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

Western blot 분석

실험에 사용한 세포주(LLC-PK1 및 L-MDR1)에서의 P-gp 발현 정도를 확인하기 위하여 western blot 분석을 수행하였다. 배양된 세포를 인산완충용액으로 세척한 후, RIPA 완충용액(150 mM NaCl, 1% Nonidet P-40 (NP-40), 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mM Tris-HCl (pH 7.5)) 100 µl를 넣고 4°C에서 20분간 반응시켰다. 4°C에서 반응시키는 중간에 5분 간격으로 vortex 를 실시하였다. 4°C, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 새 tube로 옮기고 이것을 이용하여 단백질을 정량하였다. 단백질 정량은 Bradford 방법을 이용하였고[19], 표준 단백질로는 bovine serum albumin (BSA)를 사용하였다. 동일량의 단백질(30 µg)을 sodium dodecyl sulfate-polyacryl amide gel electrophoresis로 분리한 후, Bio-Rad kit을 이용하여 PVDF membrane으로 옮겼다. 이후, 5% skim milk를 함유한 Tris buffered saline-Tween (TBS-T: 1X Tris buffer saline, 0.1% Tween 20)으로 1시간 반응시켜 비 특이적 단백질에 대한 반응성을 차단한 후, MDR 항체와 24 시간 반응시킨 후, 2차 항체로 1시간 반응시켰다. 각 반응 사이에 TBS-T로 20분간 3회씩 세척하였다. 그 후 암실에서 ECL solution에 PVDF을 30초간 적서준 후, OH 필름 판 사이에 PVDF을 끼워서 10초에서 20초 정도 방치하여 OH필름에서 P-gp 단백질 밴드를 확인하였다.

천연 추출물의 p-glycoprotein 기능 저해 연구

천연 추출물을 DMSO에 용해한 후, 0.5 µM calcein AM이 포함되어 있는 DMEM 배지로 희석하여 500 µg/ml 농도로 조제하였다(단, 최종 용액 중 DMSO 함량은 0.5% 미만으로 조제하였다). 제조한 용액을 L-MDR1 세포가 배양되어 있는 96 well plate에 각각 100 µl 씩 첨가한 후, 37°C 수조에서 30 분간 흔들어 주면서 세포 내로 화합물이 흡수되도록 하였다. 세포 내로 calcein AM과 화합물을 30분 동안 흡수시킨 후, 차가운 인산완충용액으로 2회 세척하고, 1% triton-X-100을 함유한 인산완충용액으로 10분간 세포를 lysis 하였다. Lysis

Table 1. Natural extracts used in the screening of P-gp inhibitory effect

No.	Natural extracts	Sale organs	Quantity
1	Crude drug extracts	Plant extract bank	400
2	Foreign plant extracts	Plant extract bank	136
3	Microorganism metabolite	Pusan Univ.	80
4	Korea edibility sea algae	Silla Univ.	40
5	Cheju sea natural products	Cheju national Univ.	125
6	East sea natural products	Gangneung KIST	30
7	Herbs extracts	Pharmacy	18
Total			866

시킨 세포는 Victor 3 (Perkin Elmer, Waltham, USA)를 이용하여 1초 간격으로 scan하여 형광도를 측정하였다(Ex 485 nm, Em 520 nm). 용매 대조군으로 0.5% DMSO, 양성 대조군으로 P-gp 수송활성 저해능을 가지고 있는 cyclosporine A (5 μ M) 및 curcumin (50 μ M)을, 음성 대조군으로 P-gp 수송활성 저해능이 없는 para-aminohippuric acid (100 μ M)를 각각 사용하였다.

천연 추출물 내 존재하는 플라보노이드 동정

천연 추출물 중 P-gp 저해 활성을 보인 울금, 강황, 취호초, 봉출, 강진향, 소목, 노회, Mentrasto 및 Rakta chandan을 대상으로 LC/MS/MS 분석 및 기존에 구축되어 있는 플라보노이드 MS DB를 이용하여 각각의 추출물 내에 함유되어 있는 플라보노이드 동정을 시도하였다. LC/MS/MS 분석 조건은 다음과 같다. LC/MS/MS는 Varian 212 HPLC 시스템 (Varian Inc., USA)과 Varian 500-MS ion trap spectrometer로 구성하였고, HPLC 컬럼으로는 Chromsep HPLC 컬럼 (150×2.0 mm)을 사용하였다. 이동상 A는 0.1% 포름산을 함유한 물을, 그리고 이동상 B는 0.1% 포름산을 함유한 아세토니트릴을 사용하여, 아래와 같은 gradient 조건으로 0.2 ml/min 유속으로 흘려주었다. 즉, 2분간 10% B에서 유지한 후, 30분까지 100% B로 유기용매 조성을 증가시킨 후 5분 동안 유지하였다. 메스 스펙트럼은 음이온 이온화모드에서 전기분무이온화법(electrospray ionization, ESI)을 이용하여 아래의 조건에서 얻었다. 질량 스캔 범위는 m/z 100-1000으로 하였고, spray needle 전압은 5 kV, capillary 전압은 80 V, 온도는 220°C, 건조 가스(질소) 압력은 10 psi, 분무 가스(공기) 압력은 35 psi로 조정하였고, 충돌 가스는 헬륨을 사용하였다. 탠덤 질량 분석은 scan type turbo data dependent scanning (DDS)를 이용하여 수행하였다.

데이터 해석

천연 추출물 및 플라보노이드에 의한 P-gp 기능의 저해 정도는 대표적인 P-gp 기질약물인 calcein AM의 세포 내 축적 정도를 아래 식을 이용하여 비교함으로써 측정하였다.

$$\% \text{ of control activity} = (F_{\text{sample}} - F_{\text{control}}) / F_{\text{control}} \times 100$$

여기서, F_{sample} 은 천연 추출물이나 약물 처리 후 얻은 형광광도, F_{control} 은 0.5% DMSO 처리 후 얻은 형광광도를 나타낸다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 다약제 내성 발현에 관여하고 있는 가장 대표적인 약물수송단백질의 하나인 P-gp [25] 활성 저해제 탐색을 통하여 기존 항암제의 효능을 증가시킬 수 있는 화학감작제 후보물질을 선별하고자 하였다. 이를 위하여 천연 추

Fig. 1. The protein expression of P-gp in LLC-PK1 (control) and L-MDR1 cells. β -actin was used as a loading control.

출물(생약 추출물, 식용 해조류, 해양 천연물, 한약 추출물 등, Table 1) 829종의 P-gp 수송활성 저해능을 P-gp이 과발현되어있는 세포주인 L-MDR1을 이용하여 측정하였다. 본 실험에 사용한 L-MDR1 세포의 P-gp과발현 여부를 평가하기 위하여 LLC-PK1 세포주와 L-MDR1 세포주를 이용 western blot 분석을 수행한 결과, L-MDR1 세포주에서 LLC-PK1과 달리 약 170kD에 해당하는 MDR1 밴드를 확인할 수 있어 (Fig. 1), L-MDR1 세포주가 P-gp 기능 활성 평가에 적합하다는 것을 확인할 수 있었다.

1차 스크리닝 결과, 울금, 강황, 취호초, 봉출, 강진향, 소목, 노회, Rakta chandan, Mentrasto 등의 식물 추출물에서 P-gp 활성 저해능을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 특히, 강황 및 울금에서는 용매 대조군인 0.5% DMSO 처리시료에 비해 15 배 이상 높은 강한 P-gp 활성 저해능이 관찰되었다. 상기의 결과는 P-gp의 활성을 저해한다고 잘 알려져 있는 curcumin이라는 식물 polyphenol 성분이[6] 강황 및 울금 등에 많이 함유되어있다는[21] 사실을 고려하면 당연한 결과라고 할 수 있다. 또한, 노회(알로에)의 경우에도 최근 Jin 등에 의하면 알로에에서 발견된 성분중의 하나인 aloenine 유도체들이 암

Fig. 2. The inhibitory effect of natural extracts on p-glycoprotein activity.

Table 2. Identification of herbal extracts which have P-gp inhibitory activity using LC/MS/MS analysis

No.	Compounds	M.W	Natural products
1	8-Hydroxyquercetin	318	Dalbergia odorifera
3	3'-Methoxy-4',5,7-trihydroxyflavone	300	Dalbergia odorifera
4	4',7-Dihydroxyflavanone	256	Dalbergia odorifera
5	7,4'-Dihydroxy-6-methoxyisoflavone	284	Dalbergia odorifera
6	3,7-Dihydroxy-3',4'-Dimethoxyflavone	314	Dalbergia odorifera
7	3'-Methoxyquercetin	316	Dalbergia odorifera
8	7-Hydroxy-4'-Methoxyflavone	268	Dalbergia odorifera
9	6,7-Dimethoxy-5,3',4'-Trihydroxyflavone	330	Dalbergia odorifera
10	5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxyflavone	300	Dalbergia odorifera
11	3,3',4',7-Tetrahydroxyflavone	286	Caesalpinia Sappan
12	3,3',4',5,6,7-Hexahydroxyflavone	318	Caesalpinia Sappan
13	2',4',6-Trihydroxyflavanone	272	Caesalpinia Sappan
14	3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone	302	Caesalpinia Sappan
15	7,4'-Dihydroxy-6-methoxyisoflavone	284	Caesalpinia Sappan
16	3,3',4',7-Tetrahydroxyflavone	286	Caesalpinia Sappan
17	6,7-Dimethoxy-5,3',4'-trihydroxyflavone	330	Ageratum conizoids
18	6,7-Dihydroxyflavone	254	Pterocarpus santalinus
19	6,7-Dimethoxy-5,3',4'-trihydroxyflavone	330	Pterocarpus santalinus
20	Curcumin	368	Curcuma aromatica
21	Curcumin	368	Zedoariae rhizome
22	Curcumin	368	Curcuma longa

세포에서의 다약제 내성 문제를 극복하는 데 이용될 수 있음이 규명되어[11] 본 연구 결과와 일치하였다.

1차 스크리닝에서 강한 P-gp 저해 활성을 보인 천연 추출물 속에 함유되어 있는 성분을 확인하기 위하여 LC/MS/MS 분석을 수행하였다. LC/MS/MS 분석 결과, 울금, 강황 및 봉출에서는 P-gp의 강력한 저해제인 curcumin 성분이 확인되었고[16,21], 강진향, 소목, 취호초 등에서는 플라보노이드 성분이 기존에 구축된 플라보노이드 데이터베이스 검색을[15] 통하여 확인되었다. 대표적인 물질로 강진향에서 3'-methoxy-4',5,7-trihydroxyflavone, 7,4'-dihydroxy-6-methoxyflavone, 3'-methoxyquercetin, 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone 등이, 소목에서 2',4',6-trihydroxyflavanone, 3,3',4',7-tetrahydroxyflavone 등이, 취호초에서 6,7-dimethoxy-5,3',4'-trihydroxyflavone이, rakta chandan에서 6,7-dimethoxy-5,3',4'-trihydroxyflavone 등이 플라보노이드 DB에서 유사성 검정을 통하여 확인되었다(Table 2).

최근 5,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone [3], 5,7,3',4',5'-pentamethoxyflavone [4], leteolin [23], quercetin [13], chrysin [27] 등과 같은 플라보노이드 화합물이 BCRP 수송단백 저해, heat shock factor 저해 및 P-gp 저해 등과 같은 다양한 기전을 통하여 다약제 내성을 극복할 수 있는 화학감작제 후보물질로 사용될 수 있다는 결과가 보고되고 있다. 따라서 본 연구를 통하여 발견된 다양한 플라보노이드 화합물의 경우에도 상기 화합물처럼 화학감작제 후보물질로 개발될 가능성이 있을 것이다. 그러나, 이를 위해서는 상기 화합물에 대해 P-gp

활성 저해 효과, 기존 항암제와의 병용 처리에 따른 세포독성 증가 효과 등과 같은 추가 실험이 더 필요할 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 다양한 천연 추출물의 P-gp 저해능의 고속 탐색을 통하여 새로운 화학감작제 후보물질을 발굴하고자 하였다. P-gp 활성에 대한 천연 추출물의 저해능은 P-gp이 과발현된 L-MDR1 세포주를 이용하여 대표적인 P-gp 기질 약물인 calcein AM의 세포 내 축적 정도를 측정함으로써 평가하였다. 강황 및 울금은 가장 강력한 P-gp 기능 저해를 나타내었고, 이외에도 Mentrasto, 취호초, 봉출, Rakta chandan, 강진향, 소목, 노회 등의 순으로 P-gp 기능 저해능을 보였다. 이들 추출물에서 P-gp 저해능을 보이는 성분을 확인하기 위하여 LC/MS/MS 분석을 수행한 결과, 기존에 P-gp 활성을 저해한다고 잘 알려진 curcumin 이외에, 다양한 플라보노이드 화합물이 질량 스펙트럼 DB 검색을 통하여 확인되었다. In vitro 연구 결과를 통하여 상기의 천연 추출물이 P-gp 활성을 저해하는 성분을 함유하고 있음을 확인하였다. 향후 이들 천연 추출물의 화학감작제 후보물질로의 사용 가능성에 대한 in vivo 연구가 필요할 것이다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 한국과학재단 특정기초연구지원사업

사업(R01-2007-000-10734-0) 및 2006년도 인제대학교 학술연구조성비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

References

- Allen, J. D., A. van Loevezijn, J. M. Lakhai, M. van der Valk, O. van Tellingen, G. Reid, J. H. Schellens, G. J. Koomen and A. H. Schinkel. 2002. Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter *in vitro* and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C. *Mol. Cancer Ther.* **1**, 417-425.
- Bebawy, M. and D. M. Sze. 2008. Targeting P-glycoprotein for effective oral anti-cancer chemotherapeutics. *Curr. Cancer Drug Targets* **8**, 47-52.
- Choi, C. H., K. H. Sun, C. S. An, J. C. Yoo, K. S. Hahm, I. H. Lee, J. K. Sohng and Y. C. Kim. 2002. Reversal of p-glycoprotein-mediated multidrug resistance by 5,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone (Sinensetin). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **295**, 832-840.
- Choi, C. H., J. H. Kim and S. H. Kim. 2004. Reversal of p-glycoprotein-mediated MDR by 5,7,3',4',5'-pentamethoxyflavone and SAR. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **30**, 672-679.
- Dantzig, A. H., K. L. Law, J. Cao and J. J. Starling. 2001. Reversal of multidrug resistance by the p-glycoprotein modulator, LY335979, from the bench to the clinic. *Curr. Med. Chem.* **8**, 39-50.
- Fox, E. and S. E. Bates. 2007. Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **7**, 447-459.
- Gerk, P. M. and M. Vore. 2002. Regulation of expression of the multidrug-associated protein 2 (MRP2) and its role in drug disposition. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **302**, 407-415.
- Gottesman, M. M., T. Fojo and S. E. Bates. 2002. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 48-58.
- Gradhand, U. and R. B. Kim. 2008. Pharmacogenomics of MRP transporters (ABCC1-5) and BCRP (ABCG2). *Drug Metab. Rev.* **40**, 317-354.
- Higgins, C. F. 2007. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters. *Nature* **446**, 749-757.
- Jin, G. Z., H. J. Quan, J. Koyanagi, K. Takeuchi, Y. Miura, F. Komada and S. Saito. 2005. 4'-O-Alkyaloenin derivatives and their sulfates directed toward overcoming multidrug resistance in tumor cells. *Cancer Lett.* **218**, 15-20.
- Jonsson, B., K. Nilsson, P. Nygren and R. Larsson. 1992. SDZ PSC-833-a novel potent *in vitro* chemosensitizer in multiple myeloma. *Anticancer Drugs* **3**, 641-646.
- Kim, S. H., G. S. Yeo, Y. S. Lim, C. D. Kang, C. M. Kim and B. S. Chung. 1998. Suppression of multidrug resistance via inhibition of heat shock factor by quercetin in MDR cells. *Exp. Mol. Med.* **30**, 87-92.
- Kuo, M. T. 2007. Roles of multidrug resistance genes in breast cancer chemoresistance. *Adv. Exp. Med. Biol.* **608**, 23-30.
- Lee, J. S., D. H. Kim, K. H. Liu, T. K. Oh and C. H. Lee. 2005. Identification of flavonoids using liquid chromatography with electrospray ionization and ion trap tandem mass spectrometry with an MS/MS library. *Rapid Commun. Mass Spectrom* **19**, 3539-3548.
- Limtrakul, P. 2007. Curcumin as chemosensitizer. *Adv. Exp. Med. Biol.* **595**, 269-300.
- Miller, T. P., T. M. Grogan, W. S. Dalton, C. M. Spier, R. J. Scheper and S. E. Salmon. 1991. P-glycoprotein expression in malignant lymphoma and reversal of clinical drug resistance with chemotherapy plus high-dose verapamil. *J. Clin. Oncol.* **9**, 17-24.
- Morris, M. E. and S. Zhang. 2006. Flavonoid-drug interactions: effects of flavonoids on ABC transporters. *Life Sci.* **78**, 2116-2130.
- Naz, R. K., C. R. Bradford and A. C. Menge. 1984. Isoantigenicity of rabbit sperm, testis, and their extracts as demonstrated by Western blot enzyme immunobinding procedure. *Arch Androl.* **13**, 279-287.
- Paek, I. B., H. Y. Ji, M. S. Kim, G. Lee and H. S. Lee. 2006. Metabolism of a new p-glycoprotein inhibitor HM-30181 in rats using liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20**, 1457-1462.
- Pilarski, L. M., R. W. Yatscoff, G. F. Murphy and A. R. Belch. 1998. Drug resistance in multiple myeloma: cyclosporine A analogues and their metabolites as potential chemosensitizers. *Leukemia* **12**, 505-509.
- Rudrappa, T. and H. P. Bais. 2008. Curcumin, a known phenolic from *Curcuma longa*, attenuates the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in whole plant and animal pathogenicity models. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 1955-1962.
- Shi, R., Q. Huang, X. Zhu, Y. B. Ong, B. Zhao, J. Lu, C. N. Ong and H. M. Shen. Luteolin sensitizes the anticancer effect of cisplatin via c-Jun NH2-terminal kinase-mediated p53 phosphorylation and stabilization. *Mol. Cancer Ther.* **6**, 1338-1347.
- Silverman, J. A. 1998. Multidrug-resistance transporters. *Pharm. Biotechnol.* **12**, 353-386.
- Vaalburg, W., N. H. Hendrikse, P. H. Elsinga, J. Bart and A. van Waarde. 2005. P-glycoprotein activity and biological response. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **207**, 257-260.
- Zhang, S., X. Yang, R. A. Coburn and M. E. Morris. 2005. Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships for the flavonoid-mediated inhibition of breast cancer resistance protein0. *Biochem. Pharmacol.* **70**, 627-639.
- Zhang, S., X. Yang and M. E. Morris. 2004. Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Mol. Pharmacol.* **65**, 1208-1216.