

**BINARY COMBINATIONS OF HPMA COPOLYMER BOUND
ANTICANCER DRUG CONJUGATES**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHARMACEUTICS)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2008**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การเพิ่มฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของมะเร็ง โดยการให้ยาเชื่อมต่อพอลิเมอร์
HPMA สองตัวร่วมกัน

(BINARY COMBINATIONS OF HPMA COPOLYMER BOUND ANTICANCER
DRUG CONJUGATES)

จารุณี หงส์พิพัฒน์ 4537354 PYPT/D

ปร.ค. (เภสัชการ)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สมพล ประคองพันธ์, Ph.D., JINDŘICH KOPEČEK,
Ph.D., พิมลพรรณ พิทยานุกุล, Ph.D.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเซลล์มะเร็งรังไข่
OVCAR-3 ของการให้ยาตัวเดียวและ 2 ตัวและปฏิกริยาระหว่างยาเมื่อให้ยา 2 ตัวแบบต่อเนื่องกัน
โดยการให้ยา SOS thiophene (SOS) และ mesochlorin e₆ monoethylenediamine (Mce₆) ในรูปแบบ
ยาอิสระ, ยาเชื่อมต่อพอลิเมอร์ N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide (HPMA) และยาเชื่อมต่อพอลิ
เมอร์ HPMA กับชิ้นส่วนแอนติบอดี Fab' ซึ่งมาจากแอนติบอดี OV-TL16 ซึ่งมีความสามารถในการ
จับกับ CD47 บนเซลล์มะเร็งรังไข่ ผลการศึกษาพบว่าการให้ยาแบบเดี่ยวและแบบต่อเนื่อง
SOS+Mce₆ ในรูปแบบยาอิสระและยาเชื่อมต่อพอลิเมอร์ HPMA สามารถต้านการเจริญเติบโตของ
เซลล์มะเร็งรังไข่และยาทั้งสองเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันตลอดระดับการต้านการเจริญเติบโตของ
เซลล์ (5-95%) รวมทั้งการให้ยาแบบต่อเนื่อง SOS+Mce₆ ในรูปแบบยาเชื่อมต่อพอลิเมอร์ HPMA
กับชิ้นส่วนแอนติบอดี Fab' สามารถเสริมฤทธิ์กันในระดับ 5-90% แต่สามารถรวมฤทธิ์กันในระดับ
95% นอกจากนี้การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและปฏิกริยาระหว่างยาเมื่อให้ยา 2 ตัวแบบพร้อมกันใน
การต้านเซลล์มะเร็งรังไข่ A498 โดยการให้ยา SOS, Mce₆ และ doxorubicin (DOX) ในรูปแบบยา
อิสระและยาเชื่อมต่อ HPMA ผลการศึกษาพบว่าการให้ยา SOS หรือ SOS เชื่อมต่อ HPMA ตัวเดียว
สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งรังไข่ได้ดีกว่ายา Mce₆ และ DOX ทั้งในสองรูปแบบและ
การให้ยา SOS+DOX รวมกันก็สามารถเสริมฤทธิ์กันได้ตลอดระดับการต้านการเจริญเติบโตของ
เซลล์ รวมทั้งการให้ยาพร้อมกันของ SOS+Mce₆ และ DOX+Mce₆ ในรูปแบบยาอิสระ และยา
เชื่อมต่อ HPMA แสดงฤทธิ์แบบเสริมกันในระดับประมาณ 5-90% และแสดงฤทธิ์รวมกันในระดับ
95% การศึกษาทั้งสองนี้แสดงให้เห็นว่าการให้ ยาเชื่อมต่อ HPMA แบบ 2 ตัวที่ใช้ในการทดลองนี้
ควรได้รับเลือกในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในสัตว์ทดลองต่อไป

BINARY COMBINATIONS OF HPMA COPOLYMER BOUND ANTICANCER DRUG CONJUGATES

JARUNEE HONGRAPIPAT 4537354 PYPT/D

Ph.D. (PHARMACEUTICS)

THESIS ADVISORS: SOMPOL PRAKONGPAN, Ph.D., JINDŘICH KOPEČEK, Ph.D., PIMOLPAN PITHAYANUKUL, Ph.D.

ABSTRACT

The main goal of this study was to determine the biological activities and the drug interactions in anticancer effect toward (A) human ovarian carcinoma OVCAR-3 cells by single agents and sequential combinations of SOS thiophene (SOS) and mesochlorin e_6 monoethylenediamine (Mce₆) in the form of free drugs, non-targeted *N*-(2-hydroxypropyl)methacrylamide (HPMA) copolymer-drug conjugates, and Fab'-targeted HPMA copolymer-drug conjugates; and (B) human renal carcinoma A498 cells by single agents and binary simultaneous combinations of free SOS, doxorubicin (DOX), and Mce₆ and their HPMA copolymer-drug conjugates. The cytotoxic activities were determined using a modified MTT assay. The median-effect analysis and the determination of the combination index (CI) were used to describe the drug interaction and quantify the synergism, antagonism, or additivity in anticancer effects. The results of experiment (A) showed that (i) the sequential combinations toward OVCAR-3 cells of free drugs SOS+Mce₆ and non-targeted HPMA copolymer-drug conjugates P-GFLG-SOS+P-GFLG-Mce₆ (P is the HPMA copolymer backbone and GFLG is the glycyphenylalanylleucylglycine spacer) displayed very strong synergism to synergism in the entire range of cell inhibition levels ($f_a = 0.5-0.95$); and (ii) the Fab'-targeted HPMA copolymer-drug conjugates (Fab' from OV-TL16 antibodies complementary to CD47) P-(GFLG-SOS)-Fab'+P-(GFLG-Mce₆)-Fab' exhibited a strong synergism for f_a values up to about 0.85, but showed synergistic effect and nearly additive effect at $f_a = 0.9$ and 0.95, respectively. The results of experiment (B) demonstrated that (i) as single agents SOS and P-GFLG-SOS were significantly more effective than the other agents evaluated; (ii) the combination of SOS+DOX proved to be synergistic over all cell growth inhibition levels; (iii) the SOS+Mce₆ and P-GFLG-SOS+P-GFLG-Mce₆ combinations displayed synergism up to f_a values of about 0.8 and reached slight antagonism and nearly additive effect at $f_a = 0.95$, respectively; (iv) all other combinations exhibited synergism in a wide range of drug effect levels up to $f_a < 0.9$ and were additive at higher f_a values. The observations from both experiments support the continuation of *in vivo* investigations of these conjugates for the treatment of ovarian and renal cancers.

KEY WORDS: *N*-(2-HYDROXYPROPYL)METHACRYLAMIDE COPOLYMER/
2,5-bis(6-HYDROXYMETHYL-2-THIENYL) FURAN/
MESOCHLORIN e_6 MONOETHYLENEDIAMINE/
DOXORUBICIN/ COMBINATION INDEX

115 P.