

聚乙二醇-聚(乳酸-碳酸酯)-紫杉醇纳米胶束对 SKOV3 卵巢癌的抑制作用^{*}

董 丹^{1†} 陈 凤^{1†} 付 艳^{1**} 王 瑞^{2,3} 郑勇辉² 景遐斌^{2**}

(¹吉林大学第一临床医院 长春 130021)

(²中国科学院长春应用化学研究所 高分子物理与化学国家重点实验室 长春 130022)

(³中国科学院研究生院 北京 100049)

摘 要 制备了2种两亲性生物降解嵌段共聚物聚乙二醇-聚(乳酸-碳酸酯),进而与紫杉醇和叶酸共价键合,形成高分子-紫杉醇键合物和高分子-叶酸键合物,将它们共组装成复合纳米胶束,直径约50 nm,含紫杉醇27 wt%,含叶酸1.4 wt%。培养了人卵巢癌 SKOV3 细胞,采用四氮唑(MTT)比色法、流式细胞术(FCM)证明了市售紫杉醇(Taxol)、紫杉醇胶束(M(PTX))及叶酸靶向紫杉醇胶束(FA-M(PTX))在10 μ g/mL浓度下对SKOV3 细胞生长有明显抑制作用,并且M(PTX)和FA-M(PTX)优于Taxol。构建了皮下卵巢癌 balb/c 荷瘤裸鼠动物模型,考察了Taxol,M(PTX)和FA-M(PTX)对肿瘤生长的抑制能力。在20 mg/kg的剂量下,体外测量的肿瘤体积、9天观察的瘤体重量以及动物的生存期数据都表明,Taxol,M(PTX)和FA-M(PTX)三者都能抑制SKOV3 肿瘤的生长,抑制能力的顺序为Taxol < M(PTX) < FA-M(PTX)。所以,以双亲生物降解高分子为载体的键合紫杉醇纳米胶束及其靶向制剂有望用于对SKOV3 卵巢癌的化疗。

关键词 卵巢癌, 靶向, 胶束, 聚乙二醇-聚(乳酸-碳酸酯), 叶酸, 紫杉醇

紫杉醇(paclitaxel, 商品名Taxol, 简称PTX)是从红豆杉的树皮中提取得到的一种四环二萜化合物^[1,2],1992年经美国FDA批准用于卵巢癌的化疗,目前与铂类联合应用的TC方案已成为卵巢癌化疗的首选方案^[3,4]。但由于紫杉醇资源稀缺、价格昂贵、水溶性差,并且具有神经系统毒性、血液毒性及超敏反应等副作用^[5,6],临床应用很受限制。

叶酸受体(FR)是一种跨膜单链糖蛋白,在大部分人体肿瘤细胞表面都过度表达,而在正常的细胞上很少表达或不表达^[7]。它有3种亚型: α -FR, β -FR和 γ -FR。其中, α -FR主要表达在肺癌、卵巢癌、宫颈癌等上皮组织恶性肿瘤细胞表面; β -FR和 γ -FR主要表达在大部分的白血病细胞表面^[8,9]。

双亲高分子聚合物具有亲水和疏水2种链段,在水性介质中可以自组装成纳米胶束,将药物分子包裹在其中,因而是一种新型的药物输送载体^[10-12]。对紫杉醇来说,纳米载药胶束既解决了

药物的溶解性问题,也减少了因使用聚氧乙烯蓖麻油溶媒带来的不良反应。在此基础上,将药物分子通过共价键结合在双亲高分子链上,再自组装成纳米胶束,则可避免普通胶束的初期暴释。在这样的胶束上键合叶酸作为靶向基元,如同装上“雷达”,有助于纳米胶束寻找肿瘤细胞,实现靶向输送^[12]。本文所使用的双亲高分子聚合物紫杉醇纳米胶束(M(PTX))及其靶向胶束(FA-M(PTX))正是按这种思想设计的药物输送体系。本文的目的是考察该体系对裸鼠卵巢癌模型的有效性。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

临床用紫杉醇(Taxol)注射液,购自北京四环医药科技股份有限公司(国药准字H109880066),规格30 mg/5 mL,是紫杉醇在V(聚氧乙烯蓖麻油)/V(无水乙醇)=1:1的混合溶液中的溶液,浓度6 mg/mL。紫杉醇原料购自重庆美联制药有限公司。

^{*} 2012-03-28 收稿,2012-04-09 修稿;国家自然科学基金(基金号21174143和51103148)资助项目。

^{**} 通讯联系人,E-mail: f_y@jlu.edu.cn; xbjing@ciac.jl.cn

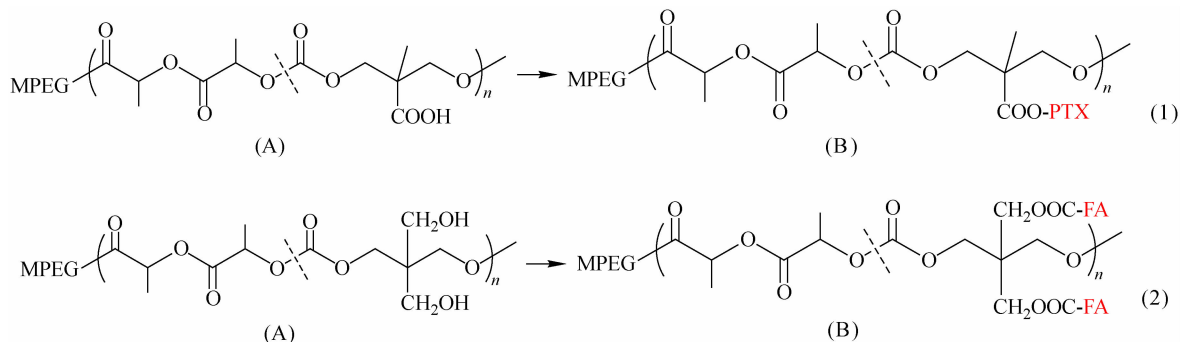
[†] 同等贡献第一作者

doi:10.3724/SP.J.1105.2012.12083

司,纯度 99.5%,未经过进一步纯化. 叶酸(FA)购自北京奥博星生物技术有限公司.

高分子键合紫杉醇胶束(M(PTX))及叶酸靶向紫杉醇胶束(FA-M(PTX))均为自制^[13-16],其步骤如下.

(1) 先制备 2 种载体聚合物,它们是聚乙二醇和聚酯碳酸酯的嵌段共聚物 MPEG-*b*-P(LA-co-



(2) 将紫杉醇和叶酸分别键合到载体高分子链上,形成对应的键合物 MPEG-*b*-P(LA-co-MCC/PTX) (式(1),B) 和 MPEG-*b*-P(LA-co-DHC/FA) (式(2),B). 在键合物中,PTX 的含量为 30 wt%, FA 的含量为 14 wt%.

(3) 以上 PTX 键合物溶解在二氯甲烷中,滴加 5 倍体积双蒸水,渗透法除去二氯甲烷,获得 PTX 胶束 M(PTX) 溶液,冻干成固体备用. 其中 PTX 含量 30 wt%.

(4) 以上 PTX 键合物和 FA 键合物按 9:1 的重量比混合,按(3)所述方法在二氯甲烷/水体系中自组装成纳米复合胶束 FA-M(PTX). 胶束呈球形,平均直径约 50 nm,其中 PTX 含量 27 wt%,FA 含量 1.4 wt%.

人卵巢癌细胞株 SKOV3 购自美国 Memorial Sloan Kettering Cancer Center. 培养基,1640 (美国 Sigma 公司) + 10 vol% 热灭活胎牛血清 (Gibco/BRL, 美国) + 青霉素 100 U/mL + 链霉素 100 μ g/mL, pH 值 7.0 ~ 7.2, 0.22 μ m 滤器过滤除菌. 青霉素、链霉素由华北制药厂生产;磷酸盐缓冲液 (PBS), 配置浓度为 0.01 mol/L (pH = 7.2); 双蒸水购自长春应用化学研究所; 25% 胰酶、5 mg/mL MTT、二甲基亚砜均购自美国 Sigma 公司. Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自上海炎彬化工科技有限公司.

1.2 MTT 实验

将消化好的对数生长期 SKOV3 细胞制成 4×10^4 细胞/mL 的悬液,接种于 96 孔板,每孔 100 μ L

MCC) (式(1),A) 和 MPEG-*b*-P(LA-co-DHC) (式(2),A),其中亲水段 MPEG 的分子量为 5 kDa,疏水段 P(LA-co-MCC) 或 P(LA-co-DHC) 的分子量约 2.5 kDa,其中 LA 表示左旋丙交酯单元, MCC 和 DHC 表示带侧基的碳酸丙二酯单元, MCC 带侧羧基 (COOH), DHC 带 2 个侧羟基 (OH).

(4×10^3 细胞),贴壁生长 24 h 后,吸弃培养基,分别加入 200 μ L PTX 质量浓度为 10, 1, 0.1 和 0.01 μ g/mL 的 Taxol, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 的 RPMI1640 溶液,以 RPMI1640 培养液为对照,分别培养 24, 48 和 72 h,采用 MTT 法检测各组细胞的抑制率. 由于含 PTX 10.0 μ g/mL 的胶束药物 72 h 作用效果最好,因此在流式细胞仪 (FCM) 检测中选用 10.0 μ g/mL 这个浓度及 72 h 这个时间点.

1.3 流式细胞仪检测肿瘤细胞凋亡

将消化好的对数生长期 SKOV3 细胞制成 5×10^4 细胞/mL 悬液,接种于 6 孔板,每孔 2 mL (1×10^5 细胞),贴壁生长 24 h 后,吸弃培养基,分别加入 PTX 质量浓度为 10 μ g/mL 的 Taxol, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 培养 72 h,离心收集悬浮细胞,1000 r/min 离心 5 min,弃培养基,冷 PBS 洗涤两次 (1000 r/min, 5 min),用 400 μ L 1 倍结合缓冲液悬浮细胞,加入 5 μ L Annexin V-FITC,混匀后于 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 避光条件下孵育 15 min,加入 10 μ L PI 后轻轻混匀,于 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 避光条件下孵育 5 min. 在 1 h 内用流式细胞仪检测. 用 Cellquest 软件获取数据,用 ModFit 软件进行数据分析.

1.4 动物实验

1.4.1 荷瘤裸鼠肿瘤模型建立及分组

将消化好的对数生长期 SKOV3 细胞,用生理盐水调整细胞浓度为 1×10^7 细胞/mL,每只健康裸鼠左前腋下接种 0.1 mL (1×10^6 细胞),正常饲养 9 ~ 14 天,当局部发现肉眼可见的肿瘤,说明动物接种肿瘤成功. 选取肿瘤长径 5 ~ 8 mm 的裸鼠

120 只,4 组用于肿瘤抑制实验,包括空白对照组(A 组),Taxol 组(B 组),键合紫杉醇组(C 组),叶酸靶向紫杉醇组(D 组),每组 10 只;4 组用于生存实验,包括空白对照组(E 组),Taxol 组(F 组),键合紫杉醇(G 组),叶酸靶向紫杉醇组(H 组),每组 20 只。

1.4.2 荷瘤裸鼠的给药

给药组裸鼠经尾缘静脉给药,给药总量为紫杉醇(PTX)质量浓度 20 mg/kg·只(每只动物用药总量平均分成 3 等份,以 0.9% 生理盐水稀释为 0.2 mL,0.2 mL/次·天,连续注射 3 天)。从第一次注射开始计算时间。空白对照 A 组、E 组每天尾静脉注入 0.9% 生理盐水 0.2 mL。

1.4.3 荷瘤裸鼠肿瘤体积及生存时间

给药后每日观察各组裸鼠生存状况,定期用游标卡尺测量肿瘤长径、短径,计算肿瘤体积(瘤体积 = 长径 × (短径)²/2)和体积抑制率,记录生存时间。肿瘤体积抑制率 = (1 - 给药组平均瘤体积/对照组平均瘤体积) × 100%。

1.4.4 肿瘤抑制观察

用于肿瘤抑制试验的小鼠,给药后每隔一天测量一次瘤径,计算体积抑制率。于用药后第 9 天,脱颈牺牲各组荷瘤裸鼠,完整分离皮下肿瘤组织,照相,测量肿瘤重量,计算瘤重抑制率,并行统计学处理。瘤重抑制率 = (1 - 药物组平均瘤重/对照组平均瘤重) × 100%。

1.4.5 组织流式细胞仪分析肿瘤细胞凋亡

取第 9 天处死动物的新鲜肿瘤组织,研磨,过滤,冷 PBS 1000 r/min,5 min 条件下离心收集细胞,弃上清,冷 PBS 洗涤细胞 2 次(1000 r/min,5 min)。1 倍结合缓冲液悬浮细胞(1×10^6 细胞/mL),加入 5 μ L Annexin V-FITC,轻轻混匀后于 2 ~ 8℃ 避光条件下孵育 15 min。加入 10 μ L PI 后轻轻混匀,于 2 ~ 8℃ 避光条件下孵育 5 min·1 h 内流式细胞仪检测。Cellquest 软件获取数据,ModFit 软件数据分析。

1.5 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计软件包进行数据统计学分析,多组间比较采用 ONE-WAY ANOVA 方差分析,两组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

卵巢癌是妇女生殖系统三大恶性肿瘤之一,

发病率居第三位,死亡率居第一位。卵巢上皮性癌占卵巢恶性肿瘤的 85% ~ 90%,故对于晚期卵巢上皮性癌的治疗效果很大程度上决定着所有卵巢癌的治疗效果。紫杉醇是卵巢癌化疗的一线用药,但临床用注射液采用聚氧乙萘麻油/无水乙醇(体积比为 1:1)溶液作为溶剂,以静脉点滴的方式给药,直接作用于肿瘤部位的药物浓度很低,还常引起低血压、过敏等不良反应,且存在耐药性。加大用药剂量可以增加疗效,但带来更严重的毒副作用。因此,我们利用纳米胶束的长时间缓释作用及叶酸的靶向作用,来提高药物的生物利用度,增加疗效,减小毒性。SKOV3 是卵巢浆液性乳头状囊腺癌,属于卵巢上皮性癌,故选择这种细胞来考察胶束靶向药物对它的杀灭作用。

2.1 四氮唑(MTT)比色法

采用了四氮唑比色法考察 Taxol, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 胶束对 SKOV3 细胞生长的抑制作用。初始 100 μ L 细胞悬液中含 SKOV3 细胞 4×10^3 个,贴壁生长 24 h 后加入 200 μ L 胶束药物/1640 培养基溶液,PTX 的质量终浓度分别为 10, 1, 0.1 和 0.01 μ g/mL,在培养 24, 48 和 72 h 后行 MTT 检测,结果见表 1。可见,随着药物用量的增加和作用时间的延长,SKOV3 细胞生长的抑制率增加明显。经统计学处理,各给药组与空白对照组之间有显著差异($P < 0.05$),各给药组之间无明显差异($P > 0.05$,见图 1)。

Table 1 Inhibition rate (%) of SKOV3 cells determined by MTT

Time and groups		PTX equivalent concentration (μ g/mL)				
		10	1	0.1	0.01	0.001
24 h	Taxol	36.0	35.4	31.7	26.8	5.4
	M(PTX)	25.8	25.4	7.0	2.5	1.1
	FA-M(PTX)	35.6	35.0	26.8	5.4	0.1
48 h	Taxol	73.3	71.1	68.0	53.8	34.5
	M(PTX)	68.3	59.4	40.9	4.9	1.1
	FA-M(PTX)	62.7	53.2	33.8	2.6	1.3
72 h	Taxol	80.7	80.4	73.9	63.6	44.2
	M(PTX)	78.4	70.7	54.9	13.8	7.2
	FA-M(PTX)	78.3	70.2	44.1	12.3	10.8

2.2 流式细胞仪分析 SKOV3 细胞的凋亡

用流式细胞仪(FCM)检测了卵巢癌 SKOV3 细胞经生理盐水和 Taxol, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 3 种药物(折合 PTX 质量浓度 10 μ g/mL)处理 72 h 的细胞凋亡情况。图 2 给出了双参数(Annexin V-FITC 和 PI 荧光计数)显示图,由试验数据计算出的各组细胞凋亡率(CAR)分别为

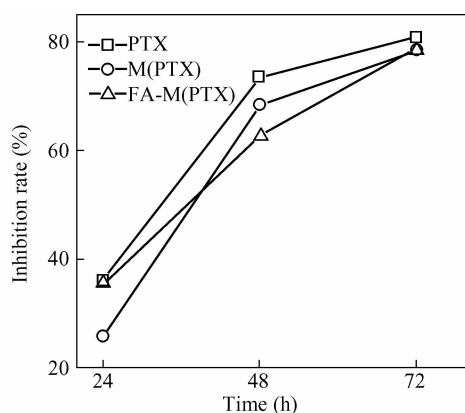


Fig. 1 Inhibition rate as a function of incubation time at a dose of 10 $\mu\text{g/mL}$

$19.2 \pm 0.9, 26.2 \pm 2.7, 37.1 \pm 5.7$ 和 42.6 ± 4.1 . 可见各给药组与对照组之间有显著差异 ($P < 0.05$), 3 个给药组中, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 与 Taxol 组之间有显著差异 ($P < 0.05$), 但 M(PTX) 组与 FA-M(PTX) 组之间无明显差异 ($P > 0.05$), 即 $\text{Taxol} < \text{M(PTX)} \leq \text{FA-M(PTX)}$. 换言之, 3 种化疗药物均显著促进 SKOV3 细胞的凋亡, 在促进凋亡的程度上, M(PTX) 和 FA-M(PTX) 优于 Taxol.

我们注意到上述 MTT 方法和 FCM 方法所使用的细胞的培养条件和时间大体相同, 但两种方法给出的结果并不完全一致, 可能的原因是 MTT 方法测得的是活细胞的相对多少, 而 FCM 方法测得的是凋亡细胞在细胞总数中的比例.

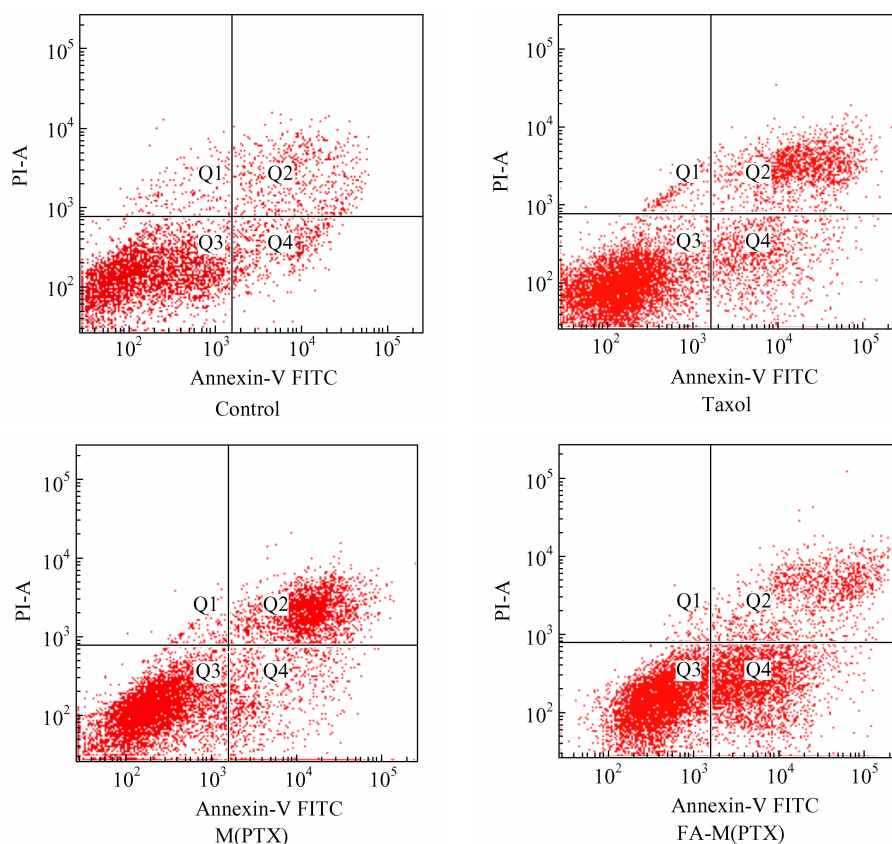


Fig. 2 FCM results of the SKOV3 cells treated by saline, Taxol, M(PTX) and FA-M(PTX) for 72 h

2.3 荷瘤裸鼠肿瘤生长抑制

给药前各组动物初始平均瘤体积为 $61 \sim 63 \text{ mm}^3$, 各组之间无明显差异. A 组注射生理盐水, B、C、D 组分别注射 Taxol, M(PTX) 和 FA-M(PTX), 连续 3 天注射, PTX 总剂量 20 mg/kg . 首次注射后 9 天的肿瘤体积变化见图 3(a). 可见

从第 3 天开始, 3 个药物组的肿瘤出现负增长, 即肿瘤不断缩小, 表明三者对肿瘤的生长具有明显的抑制作用. 第 9 天按体积计算的肿瘤抑制率 (TIR) 分别为 42%, 44% 和 61%, FA-M(PTX) 组的肿瘤体积比其它两组小. 由肿瘤的照片 (图 4(a)) 可以看出, 每个实验组的肿瘤大小很不均

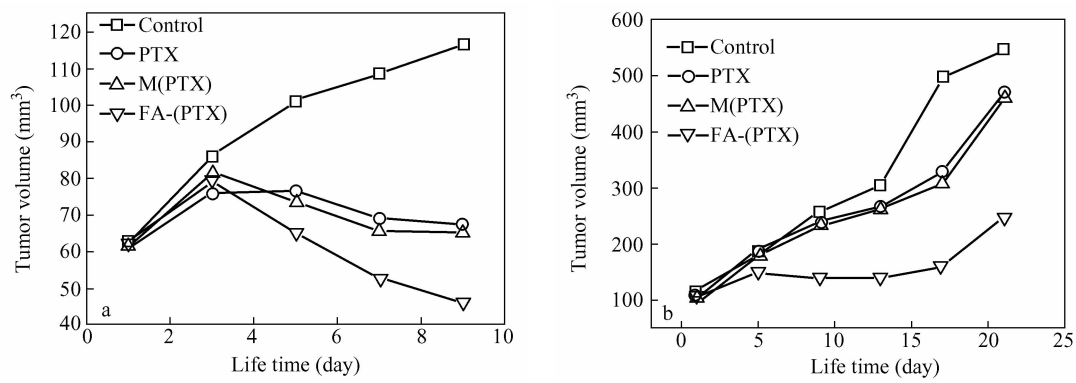


Fig. 3 Tumor volume versus time curves starting from small (a) and large (b) tumor sizes

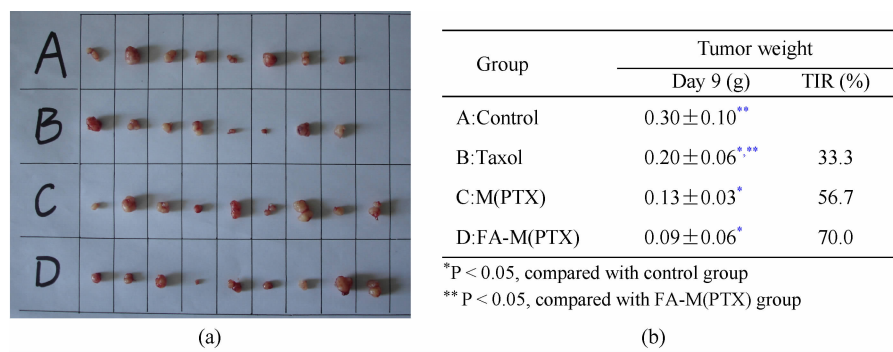


Fig. 4 Tumor photographs (a) and weight inhibition rates (TIR) (b) on the 9th day post administration

匀,形状各异,一些肿瘤内部还有空洞,所以体积测量误差相对较大.按剥离后瘤体重量计算的肿瘤抑制率分别为33%、57%、70%(图4(b)).3个给药组的顺序是Taxol < M(PTX) ≤ FA-M(PTX).与体外瘤体大小测量的结果大体一致,说明3种药物形式都具有抑瘤效果.

2.4 荷瘤裸鼠肿瘤流式细胞仪检测

应用FCM技术对活体肿瘤进行细胞凋亡的检测.结果见图5.由图5数据计算出的对照、Taxol,M(PTX)和FA-M(PTX)各组的细胞凋亡百分比分别为(17.4 ± 5.0)%, (41.7 ± 4.0)%, (46.6 ± 2.3)%和(49.7 ± 2.0)%.给药组同对照组相比有明显差异(P < 0.05),2种胶束药物同Taxol相比也有明显差异(P > 0.05),两者之间无明显差异(P < 0.05),即Control < Taxol < M(PTX) ≤ FA-M(PTX).换言之,2种胶束载体药物同Taxol一样促进了肿瘤细胞的凋亡,并且促凋亡的效果优于Taxol.该结果同以上瘤重抑制率的结果一致.

2.5 荷瘤裸鼠生存状态及生存时间

对比观察各组荷瘤裸鼠的生存情况,并计算存活率.在裸鼠尾源静脉给药的过程中发现,注射

了胶束药物M(PTX)和FA-M(PTX)的裸鼠同注射生理盐水的裸鼠一样,无不良反应,而注射临床用Taxol的裸鼠出现尖叫、撕咬、抽搐、躁动的现象,且该组动物在给药后3~4天内出现食欲不振、体重减轻等不良反应.说明胶束载体明显降低了毒副作用.

图6是各组裸鼠经药物处理后的生存曲线,从中可以观察到,药物治疗组的生存时间明显高于空白对照组,并且经FA-M(PTX)处理的裸鼠生存时间明显高于M(PTX)组、Taxol组和空白对照组.这个结果同前面的肿瘤抑制实验及流式细胞实验结果相一致,进一步说明胶束载体药物M(PTX)和FA-M(PTX)的生物利用度高于临床用Taxol,并且主动靶向的FA-M(PTX)与M(PTX)相比具有更大的优势.

以上生存试验开始时的肿瘤体积比抑瘤试验大,平均体积分别是107 mm³和62 mm³.在试验的过程中每4天记录一次瘤体积,结果见图3(b).两组试验的用药量相同,由于初始肿瘤体积不同,结果稍有区别.抑瘤试验中3个用药组在9天内瘤体积逐步缩小,而生存试验中瘤体积一直在增大,特别是Taxol组和M(PTX).由于这种变

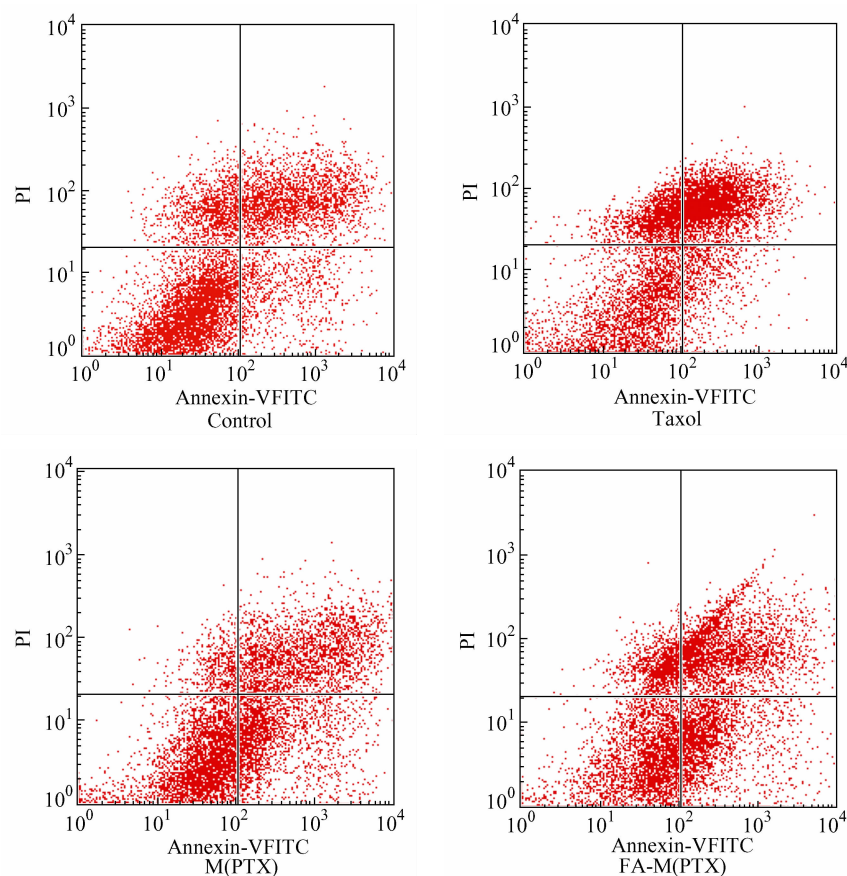


Fig. 5 FCM results of the tumor cells

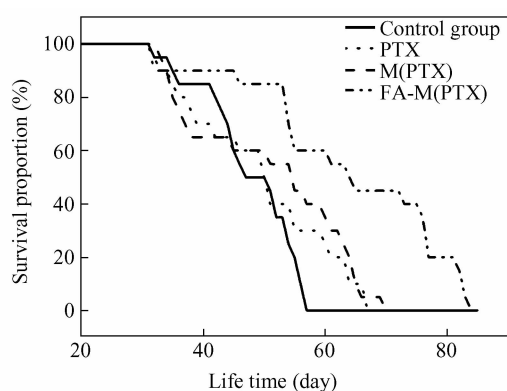


Fig. 6 Survival curves of the mice models

化趋势的不同,3 个药物组相对于对照组的抑瘤率也发生变化,例如第 9 天的体积抑制率,分别是 7%、10% 和 46%,区别于图 3(a) 中的 42%、44% 和 61%。可见初始肿瘤体积对治疗效果有很大影响。这是可以理解的。它提示我们,对癌症要及早发现,及早治疗。当然,即使在这样的条件下,从动物生存时间的长短,也看出了 FA-M(PTX) 优于 M(PTX) 和 Taxol 的抑瘤效果。

以上体外和动物体内试验结果说明,FA-M(PTX) 和 M(PTX) 胶束中的 PTX 分子化学结合在 高分子链上,并且包裹在胶束的内核之中,因而过敏反应和全身的毒副作用比市售 Taxol 低得

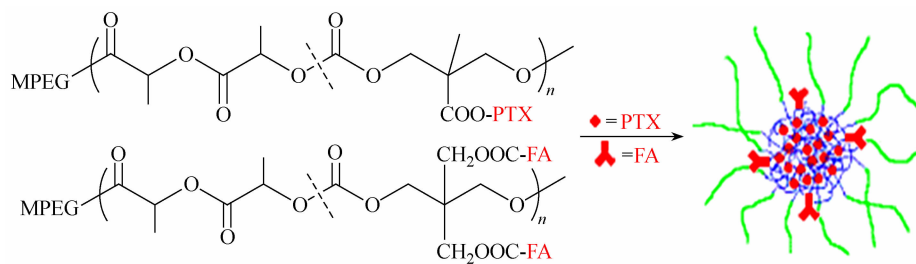


Fig. 7 FA moieties located on the surface of the inner core of the micelle and accessible to FA receptors

多.但经过细胞内吞、内涵体和/或溶酶体逃逸和药物释放等步骤,起到了杀灭癌细胞和抑制肿瘤生长的作用.这里值得一提的是,本文采用的叶酸靶向基元是键合在嵌段共聚物的疏水段,在整个纳米胶束中只占 1.4 wt%,但靶向胶束 FA-M(PTX)依然表现出较好的抑瘤效果,甚至比 M(PTX)更好一些.这说明叶酸靶向基元在起作用,也就是说,纳米胶束中的叶酸可以与肿瘤细胞表面的叶酸受体发生了识别和相互作用.由此推论,叶酸分子并不是完全包裹在胶束的内核中.由于叶酸分子结构毕竟不同于聚酯聚碳酸酯主链,高分子微相分离的结果,使叶酸处在胶束内核的表面,有机会与叶酸受体接触,如图 7 所示.

3 结论

本文从两亲性生物降解嵌段共聚物聚乙二醇-聚(乳酸-碳酸酯)出发,合成聚乙二醇-聚(乳

酸-碳酸酯/紫杉醇)和聚乙二醇-聚(乳酸-碳酸酯/叶酸)2 种键合物,通过自组装技术,制成键合药胶束 M(PTX)和叶酸靶向胶束 FA-M(PTX),以生理盐水和市售 Taxol 为对照,在细胞和动物模型两个层次上研究了它们对人卵巢癌 SKOV3 细胞和 balb/c 裸鼠皮下移植 SKOV3 卵巢癌的抑制作用.采用 MTT 法和 FCM 证明了 Taxol、M(PTX)及 FA-M(PTX)在 10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下对 SKOV3 细胞生长有明显抑制作用,并且 M(PTX)和 FA-M(PTX)优于 Taxol.在 20 mg/kg 的剂量下,体外测量的肿瘤体积、9 天观察的瘤体重量以及动物的生存期数据都表明, Taxol、M(PTX)和 FA-M(PTX)三者都能抑制 SKOV3 肿瘤的生长,抑制能力的顺序为 Taxol < M(PTX) < FA-M(PTX).所以,以双亲生物降解高分子为载体的键合紫杉醇纳米胶束及其靶向制剂有望用于对 SKOV3 卵巢癌的化疗.

REFERENCES

- 1 Adams J D, Flora K P, Goldspiel B R, Wilson J W, Arbuck S G, Finley R. J Natl Cancer I, 1993, (15): 141 ~ 147
- 2 Wani M C, Taylor H L, Wall M E, Coggon P, McPhail A T. J Am Chem Soc, 1971, 93(9): 2325 ~ 2327
- 3 McGuire W P, Hoskins W J, Brady M F, Kucera P R, Partridge E E, Look K Y, Clarke-Pearson D L, Davidson M. New Engl J Med, 1996, 334(1): 1 ~ 6
- 4 Bookman M A, Greer B E, Ozols R F. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13(2): 149 ~ 155
- 5 Bernstein B J. Ann Pharmacother, 2000, 34(11): 1332 ~ 1335
- 6 Groesen E, Siitari E, Larrison E, Tiggelaar C, Roecker E. Lancet, 2000, 355(9200): 288 ~ 289
- 7 Reddy J A, Allagadda V M, Leamon C P. Curr Pharm Biotechnol, 2005, 6(2): 131 ~ 150
- 8 Leamon C P, Reddy J A. Adv Drug Deliver Rev, 2004, 56(8): 1127 ~ 1141
- 9 Garin-Chesa P, Campbell I, Saigo P E, Lewis J L, Jr, Old L J, Rettig W J. Am J Pathol, 1993, 142(2): 557 ~ 567
- 10 Burta H M, Zhang X, Toleikis P, Embree L, Hunter W L. Colloid Surface B: Biointerfaces, 1999, 16: 161 ~ 171
- 11 Kim S C, Kim D W, Shim Y H, Bang J S, Oh H S, Kim S W, Seo M H. J Control Release, 2001, 72(1-3): 191 ~ 202
- 12 Hu X, Jing X. Expert Opin Drug Del, 2009, 6(10): 1079 ~ 1090
- 13 Zhang X, Li Y, Chen X, Wang X, Xu X, Liang Q, Hu J, Jing X. Biomaterials, 2005, 26(14): 2121 ~ 2128
- 14 Xie Z, Lu T, Chen X, Lu C, Jing X. J Appl Polym Sci, 2007, 105(4): 2271 ~ 2279
- 15 Xie Z, Lu C, Chen X, Chen L, Wang Y, Hu X, Shi Q, Jing X. J Polym Sci Part A: Polym Chem, 2007, 45(9): 1737 ~ 1745
- 16 Wan Y, Zheng Y, Song X, Hu X, Liu S, Tong T, Jing X. J Biom Sci, Polym Ed, 2011, 22(9): 1131 ~ 1146

INHIBITION OF SKOV3 OVARIAN CANCER BY NANOMICELLES CONSTRUCTED FROM POLY(ETHYLENE GLYCOL)-*b*- POLY(LACTIDE-*co*-CARBONATE/PACLITAXEL) CONJUGATES

Dan Dong¹, Feng Chen¹, Yan Fu¹, Rui Wang^{2,3}, Yong-hui Zheng², Xia-bin Jing²

(¹ The First Hospital, Jilin University, Changchun 130021)

(² State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

(³ Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract Two amphiphilic biodegradable block copolymers, poly(ethylene glycol)-*b*-poly(lactide-*co*-carbonate), were prepared and then conjugated with paclitaxel (PTX) and folic acid (FA), respectively, to form polymer-PTX conjugate and polymer-FA conjugate. These two conjugates were co-assembled into composite nanomicelles with an average diameter of *ca.* 50 nm, a PTX content of 27 wt% and a FA content of 1.4 wt%. Human ovarian cancer SKOV3 cells were cultured. MTT assay and flow cytometry analysis showed that Taxol, M(PTX) and FA-M(PTX) could inhibit the growth of SKOV3 cells at a PTX concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$, M(PTX) and FA-M(PTX) were more efficient than Taxol. Xenograft subcutaneous SKOV3 cancer models were constructed in balb/c mice. Inhibition of the tumor growth by Taxol, M(PTX) and FA-M(PTX) was examined. At a dosage of 20 mg/kg, the tumor volume measurement, the tumor weight measurement on the 9th day and the survival curve all showed that Taxol, M(PTX) and FA-M(PTX) could inhibit the growth of the SKOV3 cancers, in the order of Taxol < M(PTX) < FA-M(PTX). Therefore, the amphiphilic biodegradable polymer-PTX conjugate nanomicelles and the targeted formulations are expected to be used in chemotherapy of ovarian cancers.

Keywords Ovarian cancer, Targeting, Poly(ethylene glycol)-*b*-poly(lactide-*co*-carbonate), Folic acid, Paclitaxel