



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102038652 A

(43) 申请公布日 2011.05.04

(21) 申请号 201110000588.7

A61P 35/00(2006.01)

(22) 申请日 2011.01.05

(71) 申请人 武汉理工大学

地址 430070 湖北省武汉市武昌珞狮路 122 号

(72) 发明人 徐海星 许沛虎 黄志军 郑化

刘霞 姜晓晔 李冉 王玲

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限

公司 42102

代理人 崔友明

(51) Int. Cl.

A61K 9/19(2006.01)

A61K 47/02(2006.01)

A61K 47/48(2006.01)

A61K 31/198(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

一种美法仑多重靶向载药系统及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种肿瘤细胞多重靶向载药系统、载药系统的制备方法及其载药系统在抗肿瘤药物方面的利用,由 PEG-HA-MEL 组分和 Fe_3O_4 磁流体组分按重量比为 1 : 1-5 的比例混合配制而成,PEG-HA-MEL 组分的组分含量按重量份数计为:美法仑 20-100,PEG500-1500,HA100-500,DCC10-50,DMAP 1-10,丁二酸酐 100-500,EDC 10-50,亚硫酸氢钠 20-100。本发明的有益效果在于:1) 系统药物释放的智能性;2) 系统的多重靶向性和良好的逆转耐药作用;3) 系统药物释放的控释性;4) 系统良好的血液循环稳定性;5) 系统良好的隐形性;6) 系统的广泛适用性。

1. 美法仑多重靶向载药系统,其特征在于由 PEG-HA-MEL 组分和 Fe_3O_4 磁流体组分按重量比为 1 : 1-5 的比例混合配制而成,其中,PEG-HA-MEL 组分的组分含量按重量份数计为:

美法仑 20-100 份,PEG500-1500 份,HA100-500 份,DCC10-50 份,DMAP 1-10 份,丁二酸酐 100-500 份,EDC 10-50 份,亚硫酸氢钠 20-100 份。

2. 权利要求 1 所述的美法仑多重靶向载药系统的制备方法,其特征包括有以下步骤:

1) PEG-HA-MEL 组分的制备

(a) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

将 500-1500 重量份 PEG 置于带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中,加入氯仿溶解,待溶解完毕后加入 100-500 重量份丁二酸酐,加热溶解,同时加入干燥的吡啶,搅拌下回流反应 2-10 小时,停止反应后冷却至室温,反应所得混合物经减压蒸发至呈粘稠状,再加入无水乙醚沉淀得到白色产物,抽滤,再用二氯甲烷溶解产物,滤去不溶物,加入无水乙醚沉淀得到白色产物,重复数次,抽滤后真空干燥至恒重,得到端羧基聚乙二醇;

(b) PEG-HA 的制备

将步骤 (a) 得到的端羧基聚乙二醇溶解于 100-500 重量份透明质酸的水解液中,倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的三口烧瓶,加入催化剂 EDC 10-50 重量份、DMAP 0.5-5 重量份,在 60-140℃ 下反应 2-10 小时,收集 100℃ 馏分,反应结束,冷却;加入无水乙醇至无沉淀生成,过滤收集沉淀,洗涤,干燥即得 PEG-HA;

(c) BA-MEL 的制备

在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 20-100 重量份,亚硫酸氢钠 20-100 重量份和苯甲醇在磁力搅拌下进行反应,将反应后所得的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和蒸馏水洗涤,得到油状物,将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发,设定旋转蒸发的温度为 30-80℃,蒸发直到无馏出物为止,蒸发得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶,得到乳白色的固体 BA-MEL;

(d) PEG-HA-MEL 的制备

将步骤 (b) 得到的 PEG-HA、DCC 10-50 重量份和 DMAP 0.5-5 重量份溶于无水 DMSO 中,室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解,加入步骤 (c) 所得 BA-MEL 的水溶液 (pH4.7),室温避光磁力搅拌过夜,然后用 PBS 液透析 24-72h,再用双蒸水透析 24-72h,冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 0.5-15% 钨碳催化氢化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

2) 智能多重靶向纳米给药系统的制备

将步骤 1) 制得的 PEG-HA-MEL 与 Fe_3O_4 磁流体按重量比为 1 : 1-5 的比例混合,并加入 0.5-5% 的吐温 80,进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得智能多重靶向纳米给药系统冻干粉。

3. 按权利要求 2 所述的美法仑多重靶向载药系统的制备方法,其特征包括有以下步骤:
在氮气保护下,将按重量份计六水三氯化铁 50-200 份,四水二氯化铁 20-100 份溶于吐温 80 溶液中,在强力搅拌下,将 0.5-5mol/l 的氢氧化氨溶液缓慢加入铁盐混合溶液中,当溶液 pH 升高到 4-8 时,铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁晶体粒子,继续滴加 NH_4OH 至 pH = 8-10,使水解趋于完全,然后将磁铁置于该溶液的容器底部,促使黑色 Fe_3O_4 沉淀,再用蒸馏水洗涤 2-5 次,分离沉淀,弃上清,获得黑色 Fe_3O_4 凝胶,然后将 Fe_3O_4 凝

胶分散于蒸馏水中,即得 Fe_3O_4 磁流体。

4. 权利要求 1 所述的美法仑多重靶向载药系统在制备用于乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞及粒细胞白血病、恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤或肢体恶性肿瘤药物的应用。

5. 按权利要求 4 所述的应用,其特征在于所述的肢体恶性肿瘤为恶性黑色素瘤、骨肉瘤或软组织肉瘤。

一种美法仑多重靶向载药系统及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及药品领域,具体涉及一种肿瘤细胞多重靶向载药系统、该载药系统的制备方法以及该载药系统在抗肿瘤药物方面的利用。

背景技术

[0002] 目前对恶性肿瘤的治疗采用手术加化疗的综合治疗为主,其中化疗是必须使用的治疗手段,但现有的化疗药物对正常细胞与肿瘤细胞选择性差,易产生严重不良反应和易发生多药耐药 (Multi-drug resistance,MDR),致使化疗效果不理想。目前认为,任何能提高肿瘤细胞内化疗药物有效浓度的方法都是克服 MDR 的可行方法,如采用脂质体、靶向给药系统等新制剂进行治疗。因此,针对并加强该类化疗药物制剂普遍存在的细胞选择性差、毒副作用大、不良反应严重,特别是肿瘤细胞 MDR 等共性问题的基础研究,对开发化疗药物新给药系统,提高恶性肿瘤治疗效果具有重要理论和现实意义。

[0003] 随着医学和材料科学新的研究成果不断涌现,药物制剂理论与实践获得了迅速发展,为提高肿瘤的治疗效果、降低毒副作用、逆转 MDR 等发挥了重要作用。尤其是“靶向给药”理论与实践研究的成果,为将化疗药物选择性导向特定肿瘤细胞、解决化疗药物制剂普遍存在的选择性差等共性问题提供了新的思路,化疗药物的靶向给药有望成为治疗恶性肿瘤的新途径。靶向给药系统 (Targeting Drug Delivery System, TDDS) 具有能将药物准确送到病灶部位,提高病灶部位的药物浓度,从而提高药物治疗效果,避免或减轻药物毒副作用等优点。靶向性可分为主动靶向性和被动靶向性。主动靶向性是指该系统具有主动识别靶细胞并进入靶细胞的能力,如受体靶向给药系统等。被动靶向能力与系统的尺寸大小有关,100 纳米以下的颗粒易透过肿瘤组织的血管,使药物或基因等效应分子浓集于肿瘤细胞周围并产生作用。

[0004] 透明质酸 (Hyaluronan acid, HA) 是由重复二糖结构单元 β -D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖相互交替连接构成的线性黏多糖,具有低免疫原性、生物可降解性,是一种理想的生物医用高分子材料。有文献报道,以 HA 作为药物载体的前药具有良好的主动及被动靶向性,将抗肿瘤药物与 HA 偶合能提高药物的溶解性、稳定性、控释性;并使药物的毒性降低,达到靶向治疗肿瘤的目的。CD44 是细胞表面最重要的 HA 受体,其 N 端与 HA 非共价结合,结合部位可以延伸至 HA 的数个重复二糖单位,且其在恶性肿瘤细胞表面高度表达,因而 HA 适合用作恶性肿瘤靶向给药系统的主动靶向因子。

[0005] 分层自组装磁靶向给药系统是近年来研究的一种新的控释靶向给药系统,对一些离表皮较近的实体肿瘤如食管癌、肝癌、乳腺癌、恶性肿瘤等均显示出临床治疗的优越性,其靶向性和专一性更强、更快,从而达到高效、速效、低毒的效果。近年来已开展一系列利用该给药系统来逆转化疗药的耐药性的研究。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是针对上述现有技术提供一种美法仑 (MEL) 多重靶

向载药系统及其制备方法和应用,该载药系统在用于肿瘤化疗时具有明显的优势,其在杀伤高表达 CD44 受体的肿瘤细胞的同时,对正常组织的毒性较低,且该载药系统制备方法简单,易于实施。

[0007] 本发明解决上述技术问题所采用的技术方案:美法仑多重靶向载药系统,其特征在于由 PEG-HA-MEL 组分和 Fe_3O_4 磁流体组分按重量比为 1 : 1-5 的比例混合配制而成,其中,PEG-HA-MEL 组分的组分含量按重量份数计为:

[0008] 美法仑 20-100 份,PEG500-1500 份,HA100-500 份,DCC10-50 份,DMAP 1-10 份,丁二酸酐 100-500 份,EDC 10-50 份,亚硫酸氢钠 20-100 份。

[0009] 本发明提供的美法仑多重靶向载药系统的制备方法,其特征在于包括有以下步骤:

[0010] 1) PEG-HA-MEL 组分的制备

[0011] (a) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0012] 将 500-1500 重量份 PEG 置于带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中,加入氯仿溶解,待溶解完毕后加入 100-500 重量份丁二酸酐,加热溶解,同时加入干燥的吡啶,搅拌下回流反应 2-10 小时,停止反应后冷却至室温,反应所得混合物经减压蒸发至呈粘稠状,再加入无水乙醚沉淀得到白色产物,抽滤,再用二氯甲烷溶解产物,滤去不溶物,加入无水乙醚沉淀得到白色产物,重复数次,抽滤后真空干燥至恒重,得到端羧基聚乙二醇;

[0013] (b) PEG-HA 的制备

[0014] 将步骤 (a) 得到的端羧基聚乙二醇溶解于 100-500 重量份透明质酸的水解液中,倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的三口烧瓶,加入催化剂 EDC 10-50 重量份、DMAP 0.5-5 重量份,在 60-140℃ 下反应 2-10 小时,收集 100℃ 馏分,反应结束,冷却;加入无水乙醇至无沉淀生成,过滤收集沉淀,洗涤,干燥即得 PEG-HA;

[0015] (c) BA-MEL 的制备

[0016] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 20-100 重量份,亚硫酸氢钠 20-100 重量份和苯甲醇在磁力搅拌下进行反应,将反应后所得的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠和蒸馏水洗涤,得到油状物,将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发,设定旋转蒸发的温度为 30-80℃,蒸发直到无馏出物为止,蒸发得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶,得到乳白色的固体 BA-MEL;

[0017] (d) PEG-HA-MEL 的制备

[0018] 将步骤 (b) 得到的 PEG-HA、DCC 10-50 重量份和 DMAP 0.5-5 重量份溶于无水 DMSO 中,室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解,加入步骤 (c) 所得 BA-MEL 的水溶液 (pH4.7),室温避光磁力搅拌过夜,然后用 PBS 液透析 24-72h,再用双蒸水透析 24-72h,冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 0.5-15% 钨碳催化氢化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

[0019] 2) 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0020] 将步骤 1) 制得的 PEG-HA-MEL 与 Fe_3O_4 磁流体按重量比为 1 : 1-5 的比例混合,并加入 0.5-5% 的吐温 80 (0.5-5% 指重量比,即 100G 溶液中含 0.5-5G 吐温),进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得智能多重靶向纳米给药系统冻干粉。

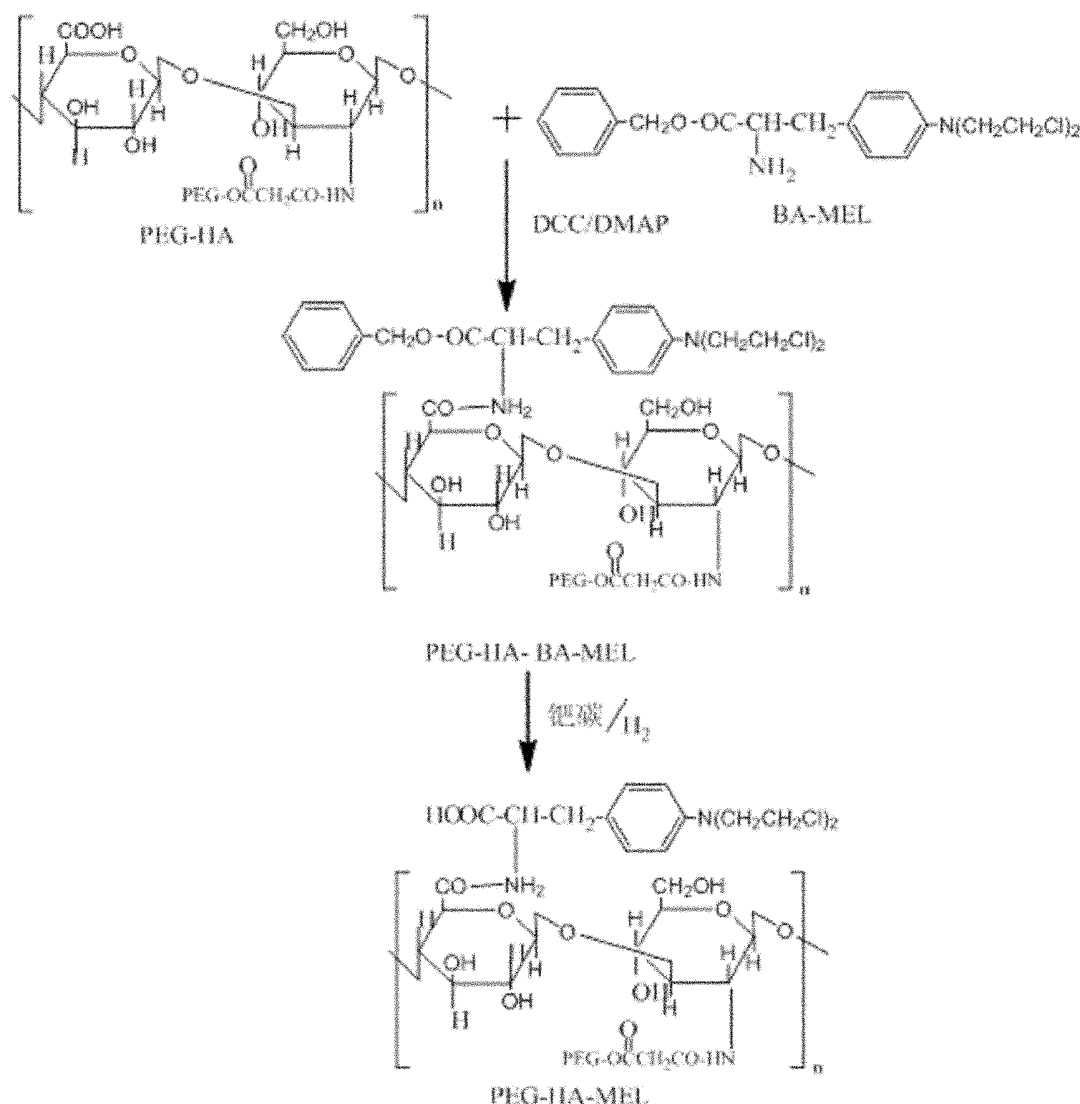
[0021] 按上述方案,所述的 Fe_3O_4 磁流体的制备方法是:在氮气保护下,将按重量份计六水三氯化铁 50-200 份,四水二氯化铁 20-100 份溶于吐温 80 溶液中,在强力搅拌下,将

0.5-5mol/l 的氢氧化氨溶液缓慢加入铁盐混合溶液中,当溶液 pH 升高到 4-8 时,铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁晶体粒子,继续滴加 NH_4OH 至 $\text{pH} = 8-10$,使水解趋于完全,然后将磁铁置于该溶液的容器底部,促使黑色 Fe_3O_4 沉淀,再用蒸馏水洗涤 2-5 次,分离沉淀,弃上清,获得黑色 Fe_3O_4 凝胶,然后将 Fe_3O_4 凝胶分散于蒸馏水中,即得 Fe_3O_4 磁流体;

[0022] 从上述分散液中取出部分溶液,烘干后称重,计算出四氧化三铁 (Fe_3O_4) 在溶液中的含量。取原液 1mL 稀释成 5-20 倍,在 4°C 超声分散仪中分散 5-30 分钟,用激光粒度分析仪检测 Fe_3O_4 粒子的粒径,原子力显微镜观察其形貌。将装有 Fe_3O_4 纳米粒的小玻璃瓶和混悬液的透明培养瓶分别置于 4250 高斯永磁铁旁或上,测试其磁响应性。

[0023] 本发明的 PEG-HA-MEL 的制备工艺如下:

[0024]



[0025] 本发明的有益效果在于:

[0026] 1) 系统药物释放的智能性

[0027] 本发明的靶向纳米给药系统在血液中由于较高 pH 使透明质酸酶失活及 PEG 酯键的作用使 HA 保持稳定,可避免药物释放于血液之中;而当系统一旦经 CD44 介导进入靶细胞之中,在低 pH 作用下,PEG 酯键断开从 HA 上脱落,同时,透明质酸酶降解 HA,使药物释放,实现智能释放;

[0028] 2) 系统的多重靶向性和良好的逆转耐药作用

[0029] 首先, 由于给药系统的表面带有 HA, 卵巢癌细胞上的 CD44 受体能特异性识别, 并在给药系统的磁靶向协同作用下实现给药系统的主动靶向性; 其次, 调节交联纳米粒的粒径大小, 可赋予其被动靶向性, 因此发明的纳米给药系统具有多重靶向性能;

[0030] 给药系统的靶向性使药物主要在病灶部位聚集, 增加在靶细胞部位的治疗浓度, 具有较好的逆转耐药性, 同时减少药物对正常细胞的毒副作用, 降低了不良反应的发生率。

[0031] 3) 系统药物释放的控释性

[0032] 系统药物释放药物只有在较低 pH 环境中, 有透明质酸酶的作用下才能发生, 从而实现了药物的控制释放; 通过调节纳米粒的结构参数、粒径与分布, 也能实现药物控制释放;

[0033] 4) 系统良好的血液循环稳定性

[0034] 透明质酸酶在血液中活性丧失, HA 在血液中不被降解, 同时直链轴上单糖之间氢键的作用, 使得 HA 分子在空间上呈刚性的螺旋柱, 柱的内侧由于存在大量的羟基而产生强烈的亲水性; 同时羟基的连续定向排列, 又在分子链上形成高度的憎水区, HA 分子的亲水和憎水特性, 使得 HA 能自组装形成连续的三维蜂窝状网状结构从而使药物被束缚在 HA 载体中, PEG 与 HA 的交联及药物与 HA 之间通过氢键形成的自组装网络使给药系统结构稳定, 从而避免药物在血液循环过程被释放;

[0035] 5) 系统良好的隐形性

[0036] 本发明的靶向纳米给药系统因其表面被亲水性 PEG 所覆盖而不易被网状内皮系统的吞噬细胞发现, 提高了药物隐形性;

[0037] 6) 系统的广泛适用性

[0038] 本发明的靶向纳米给药系统可通过 HA 活性基团连接含 $-NH_2$ 或 $-COOH$ 等反应基团的不同活性物质, 如抗肿瘤单抗、抗肿瘤化疗药和吸附基因等, 从而进一步扩大其运用范围, 具有广泛适用性。

具体实施方式

[0039] 为了更好地理解本发明, 下面结合实施例进一步阐明本发明的内容, 但本发明的内容不仅仅局限于下面的实施例。

[0040] 实施例 1

[0041] 1. PEG-HA-MEL 组分的制备

[0042] (1) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0043] 将 10g (5mmol) PEG-2000 置于 250mL 带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中, 加入 100mL 氯仿 (CaH_2 存在下蒸出) 溶解, 待溶解完毕后加入 2.5g (25mmol) 丁二酸酐, 加热溶解, 同时加入 2mL 干燥的吡啶, 搅拌下回流反应 6 小时, 停止反应后冷却至室温, 反应所得混合物减压蒸发至呈粘稠状, 残余物加入大量无水乙醚沉淀出白色产物, 抽滤, 用 30mL 二氯甲烷溶解产物, 滤去不溶物, 加入无水乙醚沉淀出白色产物, 重复几次。抽滤后真空干燥至恒重, 得到端羧基聚乙二醇, 称重;

[0044] (2) PEG-HA 的制备

[0045] 将步骤 (1) 得到的 0.500g 端羧基聚乙二醇溶解于透明质酸水解液中, 倒入装有刺

形分馏柱和搅拌器的 100mL 三口烧瓶中,加入催化剂 EDC 0.250g、DMAP 0.020g,100℃水浴下反应 6 小时,收集 100℃馏分,反应结束,溶液呈棕色,冷却,加入无水乙醇至无沉淀生成;过滤收集沉淀,洗涤,干燥即得 PEG-HA;

[0046] (3) BA-MEL 的制备

[0047] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 0.585g,苯甲醇 10ml,亚硫酸氢钠 0.394g 在磁力搅拌下进行反应。将反应后的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠、蒸馏水洗涤,得到油状物。将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发,除去混合物中存在的带水剂甲苯和未反应的苯甲醇等,设定旋转蒸发的温度为 60℃,蒸发直到无馏出物为止,得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶,得到乳白色的固体 BA-MEL。

[0048] (4) PEG-HA-MEL 的制备

[0049] 将步骤 (2) 得到的 PEG-HA300mg、DCC 260mg,0.05mmol 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于无水 DMSO 15mL 中,室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解 (约 1 小时)。加入 5mg/mL BA-MEL 水溶液 (pH4.7) 30mL,室温避光磁力搅拌过夜。用 PBS 液透析 3 天,再用双蒸水透析 3 天。冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 5% 钨碳氢催化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

[0050] 2. Fe_3O_4 磁流体的制备

[0051] 采用化学共沉淀法进行制备 Fe_3O_4 磁流体。称取六水三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.85g,四水二氯化铁 ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 0.39g,在氮气 (氦气、氢气) 保护下将上述铁盐溶于 200mL 0.1% 吐温 80 溶液中。在强力搅拌下,将 1.5mol/L 的氢氧化氨 (NH_4OH) 溶液缓慢加入铁盐混合溶液中,当溶液 pH 升高到 6-7 时,铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁 (Fe_3O_4) 晶体粒子,继续滴加 NH_4OH 至 pH = 8,使水解趋于完全。将磁铁置于该溶液的容器底部,促使黑色 Fe_3O_4 沉淀,再用蒸馏水洗涤 3 次,分离沉淀,弃上清,获得黑色 Fe_3O_4 凝胶。然后将 Fe_3O_4 凝胶分散于 20mL 蒸馏水中,从上述分散液中取除部分溶液,烘干后称重,计算出四氧化三铁 (Fe_3O_4);

[0052] 3. 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0053] 将 PEG-HA-MEL 与磁性纳米粒 (Fe_3O_4 磁流体) 按重量比 1 : 1 的比例混合,并加入 1% 的吐温 80,进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得冻干粉。

[0054] 4. 智能多重靶向纳米给药系统的 MTT 实验 (卵巢癌 SKOV₃ 细胞)

[0055] (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化后配制成浓度为 $1-10 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液,经过准确的细胞技术后按 500 个细胞 / 孔接种于 96 孔板,每孔加 100 μL 。

[0056] (2) 将平板置 37℃、5% CO_2 湿度培养箱中 24 小时后,加入各个细胞样品对应的药物血清、生理盐水血清、以及已稀释好的药物,每个样本浓度设平行的三个孔,对照组加不含样本的培养液 100 μL ,再放入培养箱中孵育 72 小时。

[0057] (3) 每孔加入用按 5mg/mL 新鲜配制的 MTT 溶液 50 μL ,温育 4 小时,使 MTT 还原为甲瓚,当在倒置显微镜下看到孔板内的细胞周围出现丝状紫色结晶时倒掉上清液,每孔加 DMSO (二甲基亚砷) 200 μL ,用平板摇床摇匀后,使用酶标仪测定光密度值 (OD) (检测波长 570nm),以溶剂对照处理细胞为对照组,按公式计算化合物对细胞的抑制率。

[0058] MTT 实验结果

	时 间 浓度	时		
		24 h	48 h	72 h
[0059]	0ug/ml	0.00%	0.00%	0.00%
	6.25ug/ml	7.98%	9.79%	12.57%
	12.5ug/ml	14.33%	15.89%	28.99%
	25ug/ml	20.82%	21.21%	39.50%
	50ug/ml	35.55%	37.82%	56.28%
	100ug/ml	48.41%	59.98%	75.61%

[0060] 5. 该给药系统应用范围

[0061] 美法仑还叫米尔法兰、L- 溶肉瘤素, 英文名 :Melphalan 或 Alkeran Melphalanum, 用于乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞和粒细胞白血病、恶性淋巴瘤及多发性骨髓瘤等, 动脉灌注还可以治疗肢体恶性肿瘤, 如恶性黑色素瘤、骨肉瘤及软组织肉瘤等。

[0062] 实施例 2

[0063] 1. PEG-HA-MEL 组分的制备

[0064] (1) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0065] 将 20g (5mmol) PEG-2000 置于 500mL 带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中, 加入 200mL 氯仿 (CaH₂ 存在下蒸出) 溶解, 待溶解完毕后加入 5g (50mmol) 丁二酸酐, 加热溶解, 同时加入 4mL 干燥的吡啶, 搅拌下回流反应 6 小时, 停止反应后冷却至室温, 反应所得混合物减压蒸发至呈粘稠状, 残余物加入大量无水乙醚沉淀出白色产物, 抽滤, 用 60mL 二氯甲烷溶解产物, 滤去不溶物, 加入无水乙醚沉淀出白色产物, 重复几次。抽滤后真空干燥至恒重, 得到端羧基聚乙二醇, 称重;

[0066] (2) PEG-HA 的制备

[0067] 将步骤 (1) 得到的 1.0g 端羧基聚乙二醇溶解于透明质酸水解液中, 倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的 200mL 三口烧瓶中, 加入催化剂 EDC 0.50g、DMAP 0.040g, 100℃ 水浴下反应 6 小时, 收集 100℃ 馏分, 反应结束, 溶液呈棕色, 冷却, 加入无水乙醇至无沉淀生成; 过滤收集沉淀, 洗涤, 干燥即得 PEG-HA;

[0068] (3) BA-MEL 的制备

[0069] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 117g, 苯甲醇 20mL, 亚硫酸氢钠 0.788g 在磁力搅拌下进行反应。将反应后的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠、蒸馏水洗涤, 得到油状物。将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发, 除去混合物中存在的带水剂甲苯和未反应的苯甲醇等, 设定旋转蒸发的温度为 60℃, 蒸发直到无馏出物为止, 得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶, 得到乳白色的固体 BA-MEL;

[0070] (4) PEG-HA-MEL 的制备

[0071] 将步骤 (2) 得到的 PEG-HA 600mg、DCC 520mg, 0.1mmol 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于无水 DMSO 30mL 中, 室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解 (约 1 小时)。加入 5mg/mL BA-MEL 水溶液 (pH4.7) 30mL, 室温避光磁力搅拌过夜。用 PBS 液透析 3 天, 再用双蒸水透析

3 天。冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 5% 钨碳氢催化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

[0072] 2. Fe_3O_4 磁流体的制备

[0073] 采用化学共沉淀法进行制备 Fe_3O_4 磁流体。称取六水三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1.7g, 四水二氯化铁 ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 0.78g, 在氮气 (氮气、氢气) 保护下将上述铁盐溶于 400mL 0.1% 吐温 80 溶液中。在强力搅拌下,将 1.5mol/L 的氢氧化氨 (NH_4OH) 溶液缓慢加入铁盐混合溶液中,当溶液 pH 升高到 6-7 时,铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁 (Fe_3O_4) 晶体粒子,继续滴加 NH_4OH 至 pH = 8,使水解趋于完全。将磁铁置于该溶液的容器底部,促使黑色 Fe_3O_4 沉淀,再用蒸馏水洗涤 3 次,分离沉淀,弃上清,获得黑色 Fe_3O_4 凝胶。然后将 Fe_3O_4 凝胶分散于 20mL 蒸馏水中,从上述分散液中取除部分溶液,烘干后称重,计算出四氧化三铁 (Fe_3O_4)

[0074] 3. 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0075] 将 PEG-HA-MEL 与磁性纳米粒按重量比 1 : 2 的比例混合,并加入 1% 的吐温 80, 进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得冻干粉。

[0076] 4. 智能多重靶向纳米给药系统的 MTT 实验 (卵巢癌 SKOV₃ 细胞)

[0077] (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化后配制成浓度为 $1-10 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液,经过准确的细胞技术后按 500 个细胞 / 孔接种于 96 孔板,每孔加 100 μ l。

[0078] (2) 将平板置 37℃、5% CO_2 湿度培养箱中 24 小时后,加入各个细胞样品对应的药物血清、生理盐水血清、以及已稀释好的药物,每个样本浓度设平行的三个孔,对照组加不含样本的培养液 100 μ l,再放入培养箱中孵育 72 小时。

[0079] (3) 每孔加入用按 5mg/ml 新鲜配制的 MTT 溶液 50 μ l,温育 4 小时,使 MTT 还原为甲瓚,当在倒置显微镜下看到孔板内的细胞周围出现丝状紫色结晶体时倒掉上清液,每孔加 DMSO (二甲基亚砷) 200 μ l,用平板摇床摇匀后,使用酶标仪测定光密度值 (OD) (检测波长 570nm),以溶剂对照处理细胞为对照组,按公式计算化合物对细胞的抑制率。

[0080] MTT 实验结果

	时 间 浓度			
		24 h	48 h	72 h
[0081]	0ug/ml	0.00%	0.00%	0.00%
	6.25ug/ml	7.88%	9.89%	12.67%
	12.5ug/ml	14.13%	15.99%	29.09%
	25ug/ml	21.12%	21.31%	39.60%
[0082]	50ug/ml	35.75%	37.62%	56.38%
	100ug/ml	48.51%	59.78%	75.71%

[0083] 5. 该给药系统应用范围

[0084] 美法仑还叫米尔法兰、L- 溶肉瘤素,英文名 :Melphalan 或 Alkeran Melphalanum, 用于

[0085] 乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞和粒细胞白血病、恶性淋巴瘤及多发性骨髓瘤等，动脉灌注还可以治疗肢体恶性肿瘤，如恶性黑色素瘤、骨肉瘤及软组织肉瘤等。

[0086] 实施例 3

[0087] 1. PEG-HA-MEL 组分的制备

[0088] (1) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0089] 将 40g (5mmol) PEG-2000 置于 1000mL 带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中，加入 400mL 氯仿 (CaH₂ 存在下蒸出) 溶解，待溶解完毕后加入 10g (100mmol) 丁二酸酐，加热溶解，同时加入 8mL 干燥的吡啶，搅拌下回流反应 6 小时，停止反应后冷却至室温，反应所得混合物减压蒸发至呈粘稠状，残余物加入大量无水乙醚沉淀出白色产物，抽滤，用 120mL 二氯甲烷溶解产物，滤去不溶物，加入无水乙醚沉淀出白色产物，重复几次。抽滤后真空干燥至恒重，得到端羧基聚乙二醇，称重；

[0090] (2) PEG-HA 的制备

[0091] 将步骤 (1) 得到的 1.0g 端羧基聚乙二醇溶解于透明质酸水解液中，倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的 500mL 三口烧瓶中，加入催化剂 EDC 1.0g、DMAP 0.080g，100℃ 水浴下反应 6 小时，收集 100℃ 馏分，反应结束，溶液呈棕色，冷却，加入无水乙醇至无沉淀生成；过滤收集沉淀，洗涤，干燥即得 PEG-HA；

[0092] (3) BA-MEL 的制备

[0093] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 2.34g，苯甲醇 40mL，亚硫酸氢钠 1.576g 在磁力搅拌下进行反应。将反应后的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠、蒸馏水洗涤，得到油状物。将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发，除去混合物中存在的带水剂甲苯和未反应的苯甲醇等，设定旋转蒸发的温度为 60℃，蒸发直到无馏出物为止，得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶，得到乳白色的固体 BA-MEL；

[0094] (4) PEG-HA-MEL 的制备

[0095] 将步骤 (2) 得到的 PEG-HA 1.2g、DCC 1.04g，0.2mmol 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于 60mL 无水 DMSO 中，室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解 (约 1 小时)。加入 20mg/mL BA-MEL 水溶液 (pH 4.7) 30mL，室温避光磁力搅拌过夜。用 PBS 液透析 3 天，再用双蒸水透析 3 天。冷冻干燥得反应物粉末，将其于叔丁醇中通过 10% 钨碳氢催化脱除苯甲醇，即得产物 PEG-HA-MEL；

[0096] 2. Fe₃O₄ 磁流体的制备

[0097] 采用化学共沉淀法进行制备 Fe₃O₄ 磁流体。称取六水三氯化铁 (FeCl₃·6H₂O) 3.4g，四水二氯化铁 (FeCl₂·4H₂O) 1.56g，在氮气 (氦气、氢气) 保护下将上述铁盐溶于 800mL 0.1% 吐温 80 溶液中。在强力搅拌下，将 1.5mol/L 的氢氧化氨 (NH₄OH) 溶液缓慢加入铁盐混合溶液中，当溶液 pH 升高到 6-7 时，铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁 (Fe₃O₄) 晶体粒子，继续滴加 NH₄OH 至 pH = 8，使水解趋于完全。将磁铁置于该溶液的容器底部，促使黑色 Fe₃O₄ 沉淀，再用蒸馏水洗涤 3 次，分离沉淀，弃上清，获得黑色 Fe₃O₄ 凝胶。然后将 Fe₃O₄ 凝胶分散于 80mL 蒸馏水中，从上述分散液中取除部分溶液，烘干后称重，计算出四氧化三铁 (Fe₃O₄)；

[0098] 3. 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0099] 将 PEG-HA-MEL 与磁性纳米粒按重量比 1 : 3 的比例混合，并加入 1% 的吐温 80，

进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得冻干粉。

[0100] 4. 智能多重靶向纳米给药系统的 MTT 实验 (卵巢癌 SKOV₃ 细胞)

[0101] (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化后配制成浓度为 $1-10 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液,经过准确的细胞技术后按 500 个细胞 / 孔接种于 96 孔板,每孔加 100 μ l。

[0102] (2) 将平板置 37℃、5% CO₂ 湿度培养箱中 24 小时后,加入各个细胞样品对应的药物血清、生理盐水血清、以及已稀释好的药物,每个样本浓度设平行的三个孔,对照组加不含样本的培养液 100 μ l,再放入培养箱中孵育 72 小时。

[0103] (3) 每孔加入用按 5mg/ml 新鲜配制的 MTT 溶液 50 μ l,温育 4 小时,使 MTT 还原为甲瓚,当在倒置显微镜下看到孔板内的细胞周围出现丝状紫色结晶体时倒掉上清液,每孔加 DMSO (二甲基亚砷) 200 μ l,用平板摇床摇匀后,使用酶标仪测定光密度值 (OD) (检测波长 570nm),以溶剂对照处理细胞为对照组,按公式计算化合物对细胞的抑制率。

[0104] MTT 实验结果

	时 间 浓度	时		
		24 h	48 h	72 h
[0105]	0ug/ml	0.00%	0.00%	0.00%
	6.25ug/ml	7.98%	9.79%	12.57%
	12.5ug/ml	14.33%	15.89%	28.99%
	25ug/ml	20.82%	21.21%	39.50%
	50ug/ml	35.55%	37.82%	56.28%
	100ug/ml	48.41%	59.98%	75.61%

[0106] 5. 该给药系统应用范围

[0107] 美法仑还叫米尔法兰、L- 溶肉瘤素,英文名 :Melphalan 或 Alkeran Melphalanum,用于乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞和粒细胞白血病、恶性淋巴瘤及多发性骨髓瘤等,动脉灌注还可以治疗肢体恶性肿瘤,如恶性黑色素瘤、骨肉瘤及软组织肉瘤等。

[0108] 实施例 4

[0109] 1. PEG-HA-MEL 组分的制备

[0110] (1) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0111] 将 80g (5mmol) PEG-2000 置于 2000mL 带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中,加入 800mL 氯仿 (CaH₂ 存在下蒸出) 溶解,待溶解完毕后加入 20g (200mmol) 丁二酸酐,加热溶解,同时加入 16mL 干燥的吡啶,搅拌下回流反应 6 小时,停止反应后冷却至室温,反应所得混合物减压蒸发至呈粘稠状,残余物加入大量无水乙醚沉淀出白色产物,抽滤,用 240mL 二氯甲烷溶解产物,滤去不溶物,加入无水乙醚沉淀出白色产物,重复几次。抽滤后真空干燥至恒重,得到端羧基聚乙二醇,称重;

[0112] (2) PEG-HA 的制备

[0113] 将步骤 (1) 得到的 4.0g 端羧基聚乙二醇溶解于透明质酸水解液中,倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的 100mL 三口烧瓶中,加入催化剂 EDCI 2.0g、DMAP 0.16g,100℃ 水浴下反应

6 小时,收集 100℃馏分,反应结束,溶液呈棕色,冷却,加入无水乙醇至无沉淀生成;过滤收集沉淀,洗涤,干燥即得 PEG-HA;

[0114] (3) BA-MEL 的制备

[0115] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 4.68g,苯甲醇 80ml,亚硫酸氢钠 3.152g 在磁力搅拌下进行反应。将反应后的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠、蒸馏水洗涤,得到油状物。将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发,除去混合物中存在的带水剂甲苯和未反应的苯甲醇等,设定旋转蒸发的温度为 60℃,蒸发直到无馏出物为止,得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶,得到乳白色的固体 BA-MEL;

[0116] (4) PEG-HA-MEL 的制备

[0117] 将步骤 (2) 得到的 PEG-HA300mg、DCC 2.08g,0.4mmol 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于无水 DMSO 120mL 中,室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解(约 1 小时)。加入 5mg/mL BA-MEL 水溶液 (pH4.7) 240mL,室温避光磁力搅拌过夜。用 PBS 液透析 3 天,再用双蒸水透析 3 天。冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 15% 钨碳氢催化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

[0118] 2. Fe_3O_4 磁流体的制备

[0119] 采用化学共沉淀法进行制备 Fe_3O_4 磁流体。称取六水三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 6.8g,四水二氯化铁 ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 3.12g,在氮气(氦气、氢气)保护下将上述铁盐溶于 1600mL 0.1% 吐温 80 溶液中。在强力搅拌下,将 1.5mol/L 的氢氧化氨 (NH_4OH) 溶液缓慢加入铁盐混合溶液中,当溶液 pH 升高到 6-7 时,铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁 (Fe_3O_4) 晶体粒子,继续滴加 NH_4OH 至 pH = 8,使水解趋于完全。将磁铁置于该溶液的容器底部,促使黑色 Fe_3O_4 沉淀,再用蒸馏水洗涤 3 次,分离沉淀,弃上清,获得黑色 Fe_3O_4 凝胶。然后将 Fe_3O_4 凝胶分散于 160mL 蒸馏水中,从上述分散液中取除部分溶液,烘干后称重,计算出四氧化三铁 (Fe_3O_4)

[0120] 3. 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0121] 将 PEG-HA-MEL 与磁性纳米粒按重量比 1 : 4 比例混合,并加入 1% 的吐温 80,进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液,冷冻干燥即得冻干粉。

[0122] 4. 智能多重靶向纳米给药系统的 MTT 实验 (卵巢癌 SKOV₃ 细胞)

[0123] (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化后配制成浓度为 $1-10 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液,经过准确的细胞技术后按 500 个细胞 / 孔接种于 96 孔板,每孔加 100 μL 。

[0124] (2) 将平板置 37℃、5% CO_2 湿度培养箱中 24 小时后,加入各个细胞样品对应的药物血清、生理盐水血清、以及已稀释好的药物,每个样本浓度设平行的三个孔,对照组加不含样本的培养液 100 μL ,再放入培养箱中孵育 72 小时。

[0125] (3) 每孔加入用按 5mg/ml 新鲜配制的 MTT 溶液 50 μL ,温育 4 小时,使 MTT 还原为甲瓚,当在倒置显微镜下看到孔板内的细胞周围出现丝状紫色结晶体时倒掉上清液,每孔加 DMSO (二甲基亚砷) 200 μL ,用平板摇床摇匀后,使用酶标仪测定光密度值 (OD) (检测波长 570nm),以溶剂对照处理细胞为对照组,按公式计算化合物对细胞的抑制率。

[0126] MTT 实验结果

	时 间 浓度	24 h	48 h	72 h
[0127]	0ug/ml	0.00%	0.00%	0.00%
	6.25ug/ml	7.98%	9.79%	12.57%
	12.5ug/ml	14.33%	15.89%	28.99%
	25ug/ml	20.82%	21.21%	39.50%
	50ug/ml	35.55%	37.82%	56.28%
	100ug/ml	48.41%	59.98%	75.61%

[0128] 5. 该给药系统应用范围

[0129] 美法仑还叫米尔法兰、L- 溶肉瘤素, 英文名 :Melphalan 或 Alkeran Melphalanum, 用于乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞和粒细胞白血病、恶性淋巴瘤及多发性骨髓瘤等, 动脉灌注还可以治疗肢体恶性肿瘤, 如恶性黑色素瘤、骨肉瘤及软组织肉瘤等。

[0130] 实施例 5

[0131] 1. PEG-HA-MEL 组分的制备

[0132] (1) 端羧基聚乙二醇的合成及纯化

[0133] 将 200g (100mmol) PEG-2000 置于 5000mL 带有冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中, 加入 2000mL 氯仿 (CaH₂ 存在下蒸出) 溶解, 待溶解完毕后加入 50g (500mmol) 丁二酸酐, 加热溶解, 同时加入 40mL 干燥的吡啶, 搅拌下回流反应 6 小时, 停止反应后冷却至室温, 反应所得混合物减压蒸发至呈粘稠状, 残余物加入大量无水乙醚沉淀出白色产物, 抽滤, 用 600mL 二氯甲烷溶解产物, 滤去不溶物, 加入无水乙醚沉淀出白色产物, 重复几次。抽滤后真空干燥至恒重, 得到端羧基聚乙二醇, 称重;

[0134] (2) PEG-HA 的制备

[0135] 将步骤 (1) 得到的 10.0g 端羧基聚乙二醇溶解于透明质酸水解液中, 倒入装有刺形分馏柱和搅拌器的 2000mL 三口烧瓶中, 加入催化剂 EDC 5.0g、DMAP 0.4g, 100℃ 水浴下反应 6 小时, 收集 100℃ 馏分, 反应结束, 溶液呈棕色, 冷却, 加入无水乙醇至无沉淀生成; 过滤收集沉淀, 洗涤, 干燥即得 PEG-HA;

[0136] (3) BA-MEL 的制备

[0137] 在装有温度计、分水器的三颈烧瓶中加入美法仑 11.7g, 苯甲醇 200ml, 亚硫酸氢钠 7.88g 在磁力搅拌下进行反应。将反应后的混合液依次用蒸馏水、饱和碳酸氢钠、蒸馏水洗涤, 得到油状物。将洗涤后得到的油状物用旋转蒸发仪进行蒸发, 除去混合物中存在的带水剂甲苯和未反应的苯甲醇等, 设定旋转蒸发的温度为 60℃, 蒸发直到无馏出物为止, 得到的物质用乙醇-乙醚进行重结晶, 得到乳白色的固体 BA-MEL。

[0138] (4) PEG-HA-MEL 的制备

[0139] 将步骤 (2) 得到的 PEG-HA 6g、DCC 5.2g, 1.0mmol 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于无水 DMSO 300mL 中, 室温避光磁力搅拌至 PEG-HA 全部溶解 (约 1 小时)。加入 5mg/mL BA-MEL 水溶液 (pH4.7) 600mL, 室温避光磁力搅拌过夜。用 PBS 液透析 3 天, 再用双蒸水透

析 3 天。冷冻干燥得反应物粉末,将其于叔丁醇中通过 5% 钨碳氢催化脱除苯甲醇,即得产物 PEG-HA-MEL;

[0140] 2. Fe_3O_4 磁流体的制备

[0141] 采用化学共沉淀法进行制备 Fe_3O_4 磁流体。称取六水三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 17g, 四水二氯化铁 ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 7.8g, 在氮气 (氮气、氢气) 保护下将上述铁盐溶于 4000mL 0.1% 吐温 80 溶液中。在强力搅拌下, 将 1.5mol/L 的氢氧化氨 (NH_4OH) 溶液缓慢加入铁盐混合溶液中, 当溶液 pH 升高到 6-7 时, 铁盐水解产生大量黑色四氧化三铁 (Fe_3O_4) 晶体粒子, 继续滴加 NH_4OH 至 pH = 8, 使水解趋于完全。将磁铁置于该溶液的容器底部, 促使黑色 Fe_3O_4 沉淀, 再用蒸馏水洗涤 3 次, 分离沉淀, 弃上清, 获得黑色 Fe_3O_4 凝胶。然后将 Fe_3O_4 凝胶分散于 20mL 蒸馏水中, 从上述分散液中取除部分溶液, 烘干后称重, 计算出四氧化三铁 (Fe_3O_4);

[0142] 3. 智能多重靶向纳米给药系统的制备

[0143] 将 PEG-HA-MEL 与磁性纳米粒按重量比 1 : 5 的比例混合, 并加入 1% 的吐温 80, 进行自组装配成智能多重靶向纳米给药系统混悬液, 冷冻干燥即得冻干粉。

[0144] 4. 智能多重靶向纳米给药系统的 MTT 实验 (卵巢癌 SKOV₃ 细胞)

[0145] (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化后配制成浓度为 $1-10 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液, 经过准确的细胞技术后按 500 个细胞 / 孔接种于 96 孔板, 每孔加 100 μL 。

[0146] (2) 将平板置 37℃、5% CO₂ 湿度培养箱中 24 小时后, 加入各个细胞样品对应的药物血清、生理盐水血清、以及已稀释好的药物, 每个样本浓度设平行的三个孔, 对照组加不含样本的培养液 100 μL , 再放入培养箱中孵育 72 小时。

[0147] (3) 每孔加入用按 5mg/ml 新鲜配制的 MTT 溶液 50 μL , 温育 4 小时, 使 MTT 还原为甲瓚, 当在倒置显微镜下看到孔板内的细胞周围出现丝状紫色结晶体时倒掉上清液, 每孔加 DMSO (二甲基亚砷) 200 μL , 用平板摇床摇匀后, 使用酶标仪测定光密度值 (OD) (检测波长 570nm), 以溶剂对照处理细胞为对照组, 按公式计算化合物对细胞的抑制率。

[0148] MTT 实验结果

时 间 浓度	24 h		72 h	
	48 h			
	0ug/ml	0.00%	0.00%	0.00%
[0149]	6.25ug/ml	7.98%	9.79%	12.57%
	12.5ug/ml	14.33%	15.89%	28.99%
	25ug/ml	20.82%	21.21%	39.50%
	50ug/ml	35.55%	37.82%	56.28%
	100ug/ml	48.41%	59.98%	75.61%

[0150] 5. 该给药系统应用范围

[0151] 美法仑还叫米尔法兰、L-溶肉瘤素, 英文名: Melphalan 或 Alkeran Melphalanum, 用于乳腺癌、卵巢癌、慢性淋巴细胞和粒细胞白血病、恶性淋巴瘤及多发性骨髓瘤等, 动脉灌注还可以治疗肢体恶性肿瘤, 如恶性黑色素瘤、骨肉瘤及软组织肉瘤等。