

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810049465.0

[51] Int. Cl.

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

A61K 47/44 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 8 月 27 日

[11] 公开号 CN 101249070A

[22] 申请日 2008.4.2

[21] 申请号 200810049465.0

[71] 申请人 郑州大学

地址 450001 河南省郑州市高新技术开发区
科学大道 100 号

[72] 发明人 张振中 张正全 刘 伟 郭新红
胡海英 张丽娜 宋 涵

[74] 专利代理机构 郑州天阳专利事务所
代理人 聂孟民

权利要求书 2 页 说明书 9 页

[54] 发明名称

2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂

[57] 摘要

本发明涉及 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，该乳剂是由重量体积比的 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5%、注射用油 5%~50%、乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%、pH 调节剂和余量为注射用水制成，其中 2-甲氧基雌二醇和乳化剂用有机溶剂溶解，再减压蒸干除尽有机溶剂，得到药物乳化剂的液晶态或固体分散体，再加入经过滤的注射用油或过滤的水相混合物分散，搅拌得到初乳；再通过高压乳匀机，用 pH 调节剂调 pH 值，最后加注射用水至全量；再经过滤，封装，灭菌，冲热水冷却至室温，本发明是一种适合静脉注射给药的具有缓释能力的、体内具有靶向能力的纳米乳组合物，可克服口服制剂的缺陷，安全，可靠，是医学上的一大创新，具有巨大的社会和经济效益。

1、一种 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，由重量体积比的 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5%、注射用油 5%~50%、乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%、pH 调节剂和余量为注射用水制成，其中先取 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5%和乳化剂 0.05%~5%用有机溶剂溶解，再减压蒸干除尽有机溶剂，得到药物乳化剂的液晶态或固体分散体，再加入 0.22 μm 微孔滤膜过滤的注射用油 5%~50%或 0.22 μm 微孔滤膜过滤的水相混合物 5%~50%分散，搅拌得到初乳；再通过高压乳匀机三次以上，操作压力 5k~18k psi，用 pH 调节剂调 pH 值为 5.5~8.0，最后加注射用水至全量；再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，净化氮气流保护充填封装，用旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温。

2、根据权利要求 1 所述的 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的水相混合物由重量体积比的乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%，余量为注射用水混合组成。

3、根据权利要求 1 所述的 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的注射用油可以是大豆油、橄榄油、麻油、红花油、棉籽油、藏红花油、玉米油、鸦胆子油、一些中链油等可以为静脉注射生理可接受的油中的任何一种或其两种、三种的混合物，其含量最好为组合物总体积的 15%~30%。

4、根据权利要求 1 所述的 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的乳化剂可以是磷脂或泊洛沙姆或二者的混合物，其中磷脂在组合物总体积中含量最好为 0.5%~3%；泊洛沙姆在组合物总体积中含量最好为 0.1%~1%；若乳化剂为二者混合物，其磷脂和泊洛沙姆的重量比为 10:1~1:5，最好为 5:1~2:1，含量最好为组合物总体积的 0.05%~5%。

5、根据权利要求 4 所述的 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的磷脂为大豆磷脂、蛋黄卵磷脂、大豆氢化磷脂、氢化蛋黄卵磷脂、二棕榈酰磷脂、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇-二硬脂酰乙醇胺任何一

种，也可以是单或多克隆抗体修饰的磷脂、半乳糖基修饰的磷脂、特殊肽段修饰的磷脂的任何一种，或是二种或二种以上的不同性质的磷脂的混合物。

6、根据权利要求4所述的2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的泊洛沙姆为泊洛沙姆-188、泊洛沙姆-338、泊洛沙姆-407的任何一种，最优为泊洛沙姆-188。

7、根据权利要求1所述的2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的2-甲氧基雌二醇最佳含量为组合物总体积的0.1%~0.3%。

8、根据权利要求1所述的2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的等渗调节剂是葡萄糖、山梨醇、甘油及可以静脉注射被生理接受的品种中的任何一种，以组合物总体积百分比计：葡萄糖的用量为3%~5%、山梨醇的用量为3%~6%、甘油用量为2%~3%。

9、根据权利要求1所述的2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的pH调节剂为静脉可被生理接受的盐酸或氢氧化钠。

10、根据权利要求1所述的2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂，其特征在于，所说的有机溶剂为氯仿或丙酮。

2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂

一、技术领域

本发明涉及医药领域，特别是一种水难溶性抗癌药 2-甲氧基雌二醇和静脉能被生理接受的辅料构成的纳米乳组合物：2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂。

二、背景技术

2-甲氧基雌二醇（1，3，5-三烯-2，3，17 β -三羟基-2-甲醚甾醇）是雌二醇在体内的一生理代谢产物（Schumacher G 等. J Cancer Res Clin Oncol. 127:405~410, (2001)），具有明显的抗肿瘤活性，其抗癌机理可能是诱导肿瘤和内皮细胞凋亡（Lin HL 等. Cancer. 92:500~509 (2001)），也有抗肿瘤血管形成（Figg WD 等. Invest New Drug. 20: 183~194(2002)）以及其能抑制肿瘤细胞的增生有关（Kumar AP 等. Carcinog. 31:111~124(2001)）。有学者在研究 2-甲氧基雌二醇对骨髓瘤细胞的作用中也发现了 2-甲氧基雌二醇是以时间剂量依赖的方式抑制细胞增殖，其在 10 μ mol/L 时抑制作用最强（Dingli D 等. Clin Cancer Res. 8:3948~3954(2002)），这就要求 2-甲氧基雌二醇在用于临床时一方面需要达到一个有效的血药浓度，同时要求在体内能够长时间维持一个有效的血药浓度。但是 2-甲氧基雌二醇的 I 期临床研究结果表明 2-甲氧基雌二醇口服无规律，药代动力学参数和剂量之间缺乏相关性（James J 等, Invest New Drugs, 25:41 - 48(2006)）。所以 2-甲氧基雌二醇注射给药形式可解决其口服制剂的缺陷。

2-甲氧基雌二醇是一种水中难溶性药物，水中溶解度小于 5mg/L, 对该类药物的注射液一是可采用注射混悬剂，这种注射液要求药物具有较高的药理活性，即有较小的给药剂量，并且只能肌肉和皮下注射，但 2-甲氧基雌二醇的常规给药剂量需要达到 400mg 以上；二是以有机溶剂为溶剂、或采用乙醇为溶剂加入聚氧乙烯氢化蓖麻油为增溶剂组成，使用有机溶剂及表面活性剂增溶的注射液的致命缺陷是容易引起溶血和过敏反应，且缺乏缓释和靶向性，如已经上市产品 TAXOL®明确规定在临床使用前需要使用皮质激素、抗组胺药

先进行脱敏处理，即使这样 TAXOL®在使用过程中还是出现较高的临床过敏反应，使临床治疗的顺应性差。

三、发明内容

针对上述情况，为克服其不足，本发明之目的就是将水难溶性药物 2-甲氧基雌二醇和生物可接受的辅料一起构成可供静脉注射给药的、具有较好的生物相容性的、有一定的缓释能力和靶向性的 2-甲氧基雌二醇静脉纳米乳剂。其解决的技术方案是：本发明由重量体积比的 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5% (W/V)、注射用油 5%~50%、乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%、pH 调节剂和余量为注射用水制成 [重量体积比是指固体物用克 (g) 计，液体物用毫升 (ml) 计，即 W/V，以下同]，其中先取 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5% 和乳化剂 0.05%~5% 用有机溶剂溶解，再减压蒸干除尽有机溶剂，得到药物乳化剂的液晶态或固体分散体，再加入 0.22 μm 微孔滤膜过滤的注射用油 5%~50% 或 0.22 μm 微孔滤膜过滤的水相混合物 5%~50% (水相混合物由重量体积比的乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%，余量为注射用水混合组成) 分散，搅拌得到初乳；再通过高压乳匀机三次以上 (通过高压乳匀机的次数和最后得到的纳米乳大小和均匀性有关)，操作压力 5k~18k psi，用 pH 调节剂调 pH 值为 5.5~8.0，最后加注射用水至全量；再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，净化氮气流保护充填封装，121℃ 高压灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得本发明。本发明经试验表明是一种适合静脉注射给药的具有缓释能力的、体内具有靶向能力的纳米乳组合物，可克服口服制剂的缺陷，安全，可靠，其研制成功，是医学上的一大创新，具有巨大的社会和经济效益。

四、具体实施方式

以下结合实施例对本发明的具体实施方式作详细说明。

本发明组合物纳米乳剂由重量体积比 (W/V) 的 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5% (W/V)、注射用油 5%~50%、乳化剂 0.05%~5%、等渗调节剂 2%~6%、pH 调节剂和余量为注射用水制成，其中先取 2-甲氧基雌二醇 0.05%~0.5% 和

乳化剂 0.05%~5%用有机溶剂溶解，再减压蒸干除尽有机溶剂，得到药物乳化剂的液晶态或固体分散体，再加入 0.22 μm 微孔滤膜过滤的注射用油 5%~50%或 0.22 μm 微孔滤膜过滤的水相混合物 5%~50%分散，搅拌得到初乳；再通过高压乳匀机三次以上（通过高压乳匀机的次数和最后得到的纳米乳大小和均匀性有关），操作压力 5k~18k psi，用 pH 调节剂调 pH 值为 5.5~8.0，最后加注射用水至全量；再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，净化氮气流保护充填封装，用旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，灭菌完毕，冲热水逐步冷却至室温，即得本发明。

本发明中所说的注射用油可以是大豆油、橄榄油、麻油、红花油、棉籽油、藏红花油、玉米油、鸦胆子油、一些中链油等可以为静脉注射生理可接受的油中的任何一种或其两种、三种的混合物，其在组合物中的含量为组合物总体积的 5%~50%，优选 15%~30%。

本发明中所说的乳化剂可以是磷脂或泊洛沙姆或二者的混合物，在组合物中的含量为重量体积的 0.05%~5%，优选 0.5%~4%，其中磷脂在组合物总体积中含量为 0.05%~5%，优选 0.5%~3%；泊洛沙姆在组合物总体积中的含量为 0.05%~5%，优选 0.1%~1%；若是二者混合物，其磷脂和泊洛沙姆的重量比为 10:1~1:5，优选 5:1~2:1，含量为组合物总体积的 0.05%~5%。

本发明中所说的磷脂包括天然磷脂、半合成磷脂和人工全合成磷脂，可以是大豆磷脂、蛋黄卵磷脂、大豆氢化磷脂、氢化蛋黄卵磷脂、二棕榈酰磷脂、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇-二硬脂酰乙醇胺等任何一种，以及通过特殊修饰的磷脂，如单（多）克隆抗体修饰的磷脂、半乳糖基修饰的磷脂、特殊肽段修饰的磷脂等的任何一种，也可以是二种或二种以上的不同性质的磷脂的混合物，如大豆磷脂和长循环功能的聚乙二醇-二硬脂酰乙醇胺的混合物，大豆氢化磷脂和长循环功能的聚乙二醇-二硬脂酰乙醇胺的混合物。

所说的磷脂和长循环功能的磷脂比例为 1%~99%:1%~99%，以 80%~98%:20%~2%较好，优选 90%~95%:10%~5%。

所说的泊洛沙姆包括多种型号，如泊洛沙姆-188、泊洛沙姆-338、泊洛沙姆-407 等可以作为静脉生理可接受的型号，其中以泊洛沙姆-188 最优。

发明中所说的 2-甲氧基雌二醇为目标药物，在组合物中的量为重量体积的 0.05%~0.5% (W/V)，优选 0.1%~0.3% (W/V)。

本发明中所说的等渗调节剂可以是葡萄糖、山梨醇、甘油及可以静脉注射被生理接受的品种中的任何一种，其用量需根据组合物中的渗透压大小进行调解，以组合物总体积重量百分比计：葡萄糖的用量一般为 3%~5%、山梨醇的用量一般为 3%~6%、甘油用量一般为 2%~3%。

本发明中所说的 pH 调节剂为静脉可被生理接受的酸碱，可以是盐酸或氢氧化钠，用于调节组合物纳米乳剂的 pH 值，用量以使其 pH 值达到 5.5~8.0 为准。

本发明中所说的有机溶剂，可以是氯仿或丙酮，用量以完全溶解 2-甲氧基雌二醇和乳化剂为宜。

本发明的组合物中含有磷脂，由于众所周知的原因，本组合物在制备过程中最好都有净化氮气流保护，灭菌温度尽可能低、灭菌时间尽可能短。

本发明的组合物纳米乳粒径大小和采用的乳化剂用量、品种及通过高压乳匀机的次数有关，一般通过高压乳匀机一次平均粒径在 600nm 左右，连续通过三次后平均粒径小于 300nm，得到的终产品平均粒径小于 300 nm，大于 1 μ m 的粒子小于 1%，未检出大于 5 μ m 的粒子；本组合物根据使用乳化剂的用量和品种不同有 -5mV~-50 mV 表面电位（又称 Zeta 电位）；本组合物室温放置乳滴大小稳定、Zeta 电位稳定，本组合物 4 $^{\circ}$ C~10 $^{\circ}$ C 放置乳滴大小、Zeta 电位稳定，本组合物 0 $^{\circ}$ C~-20 $^{\circ}$ C 条件下放置乳滴粒径变大、Zeta 电位降低；本组合物的 pH 值大小根据使用注射用油的品种和用量、乳化剂的品种和用量不同略有差异，但一般在 5.5~8.0 的范围，适合静脉注射，最高 pH 值也不得超 9.0。

本发明还可由以下实施例给出，但不仅限于实施例。

实施例 1

称取 2-甲氧基雌二醇 200mg、大豆卵磷脂 2.0g，用 5 ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的大豆油 20g，振摇使液晶膜分散，加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的 4 % 葡萄糖溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 17k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 值为 5.5~8.0，0.45 μm 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，用旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

本实施例产品，经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 240nm，Zeta 电位 -35mV；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 3ml/kg、高剂量组 9 ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象；体外释放结果见表 1，表明具有缓释能力；小鼠体内分布结果见表 2，表明具有靶向能力。

实施例 2

称取 2-甲氧基雌二醇 150mg、泊洛沙姆-188 0.9g，用 5 ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成 2-甲氧基雌二醇和泊洛沙姆的固体分散体，再加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的橄榄油 20g，振摇使固体分散体分散，加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的 2.5% 甘油溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 15k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 5.5~8.0，0.45 μm 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

本实施例产品，经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 290nm，Zeta 电位 -38mV；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 4ml/kg、高剂量组 12ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象；体外释放结果见表 1，表明具

有缓释能力；小鼠体内分布结果见表2，表明具有靶向能力。

实施例3

称取2-甲氧基雌二醇250mg、蛋黄卵磷脂2.0g，用5ml氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经0.22 μ m微孔滤膜过滤的大豆油30g，振摇使液晶膜分散，加入经0.22 μ m微孔滤膜过滤的含0.5%泊洛沙姆和5%山梨醇的溶液至100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力16k psi，用0.1mol/L盐酸或0.1mol/L氢氧化钠调节pH 5.5~8.0，0.45 μ m的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器121℃，灭菌20分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

本实施例产品，经激光散射微粒测定仪测定平均粒径190nm，Zeta电位-41mV；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组2.4ml/kg、高剂量组7.2ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在3小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象；体外释放结果见表1，表明具有缓释能力；小鼠体内分布结果见表2，表明具有靶向能力。

实施例4

称取2-甲氧基雌二醇300mg、大豆氢化磷脂2.0g，用5ml氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经0.22 μ m微孔滤膜过滤的橄榄油30g，振摇使液晶膜分散，加入经0.22 μ m微孔滤膜过滤的含0.5%泊洛沙姆和2.5%甘油的溶液至100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力18k psi，用0.1mol/L盐酸或0.1mol/L氢氧化钠调节pH 5.5~8.0，0.45 μ m的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器121℃，灭菌20分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

本实施例产品，经激光散射微粒测定仪测定平均粒径180nm，Zeta电位-42mV；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组2ml/kg、高剂量组6ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在3小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象；体外释放结果见表1，表明具有

缓释能力；小鼠体内分布结果见表2，表明具有靶向能力。

上述实施例列表如下：

表1 各实施例体外释放结果（%）

时间(h) 编号	0.5	1	2	3	4	6	8	12
实施例1	5	9.8	21.2	30.1	45.8	54.5	66.5	75
实施例2	4.5	8.5	16.8	25	39.9	48	60.4	70.5
实施例3	5.2	10.2	22.2	32.5	49.8	58.1	68.9	78.5
实施例4	6.1	12.4	24.5	35.8	54	62.2	73.1	81.2

表2 各实施例小鼠体内分布靶向性评价

靶器官 r_e 编号	r_e 肝	r_e 脾	r_e 肺	r_e 肾	r_e 乳腺	r_e 骨髓
实施例1	13.5	15.1	4.5	3.4	2.1	5.1
实施例2	10.7	11.5	6.4	4.3	2.5	3.2
实施例3	12.5	14.8	4.2	3.7	2.7	5.6
实施例4	14.6	13.1	4.7	3.9	3.2	5.9

实施例5

称取 2-甲氧基雌二醇 50mg、大豆氢化磷脂 0.5g，用 3ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤的大豆油 5g，振摇使液晶膜分散，加入经 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤的 2.5%甘油的溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 17k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 5.5~8.0， $0.45\mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器 121°C ，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 290nm，Zeta 电位 -37mV；产品 4°C ~ 10°C 放置稳定；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 2ml/kg、高剂量组 6ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象。

实施例 6

称取 2-甲氧基雌二醇 500mg、大豆氢化磷脂 5g，用 10ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的大豆油 50g，振摇使液晶膜分散，加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的内含 3% 葡萄糖的溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 17k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 5.5~8.0，0.45 μm 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 260nm，Zeta 电位 -37mV；产品 4℃~10℃ 放置稳定，产品黏度较高；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 1ml/kg、高剂量组 3ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象。

实施例 7

称取 2-甲氧基雌二醇 50mg、大豆氢化磷脂 0.5g，用 3ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的大豆油 5g，振摇使液晶膜分散，加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的内含 0.1% 泊洛沙姆和 3% 甘油的溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 16k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 5.5~8.0，0.45 μm 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 220nm，Zeta 电位 -39mV；产品 4℃~10℃ 放置稳定；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 3ml/kg、高剂量组 9ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象。

实施例 8

称取 2-甲氧基雌二醇 500mg、大豆氢化磷脂 4.5g，用 15 ml 氯仿溶解，用旋转薄膜蒸发减压蒸干除尽氯仿，形成药物液晶膜，再加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的橄榄油 5g，振摇使液晶膜分散，加入经 0.22 μm 微孔滤膜过滤的内含 0.5% 泊洛沙姆和 3% 山梨醇的溶液至 100ml，搅拌形成初乳，再经微射

流高压乳匀机乳匀三次，操作压力 17k psi，用 0.1Mol/L 盐酸或 0.1Mol/L 氢氧化钠调解 pH 5.5~8.0，0.45 μm 的微孔滤膜过滤、净化氮气流保护充填封装，旋转高压灭菌器 121℃，灭菌 20 分钟，冲热水逐步冷却至室温，即得。

经激光散射微粒测定仪测定平均粒径 205nm，Zeta 电位-40mV；产品 4℃~10℃放置稳定；产品黏度较高；豚鼠进行全身主动性过敏反应测定，静脉低剂量组 3ml/kg、高剂量组 9ml/kg，测定结果均为阴性；用红细胞悬液测定其溶血性，供试品在 3 小时内均未见红细胞溶血和红细胞凝聚现象。

本发明组合物的利用豚鼠进行全身主动性过敏研究中，令人惊奇的发现其高低剂量组过敏反应均为阴性。其中静脉低剂量组剂量为 6mg/kg，静脉高剂量组为 18mg/kg。

本发明组合物在兔红细胞溶血反应研究中也取得理想结果，按新药研究指导原则，取兔红细胞悬液，供试品以 0.9%生理盐水稀释至药物 0.5mg/ml 进行试验，供试品在 3 小时内未见溶血和红细胞凝聚现象。

本发明组合物用 0.9%的生理盐水为释放介质，将供试品置于透析袋中，用中国药典的转蓝法进行体外释放研究，结果表明体外释放具有缓释能力，刚好能满足 2-甲氧基雌二醇的时间剂量动力学治疗需求。

本发明组合物用小白鼠进行尾静脉给药体内分布研究，采用 2-甲氧基雌二醇的聚氧乙烯氢化蓖麻油乙醇溶液为对照，用相对摄取率 $r_e = \frac{(AUC_i)_p}{(AUC_i)_s}$ 评价其靶向率（ r_e 表示样品靶器官药时曲线下面积和对照样品靶器官药时曲线下面积的比值），结果表明 2-甲氧基雌二醇易浓集于肝、脾、肺、肾、乳腺、骨髓等器官。

本发明经试验表明是一种适合静脉注射给药的具有缓释能力的体内具有靶向能力的纳米乳组合物，可克服口服制剂的缺陷，安全，可靠，解决了人们一直渴望解决的 2-甲氧基雌二醇 400mg 大剂量的用药技术难题，本发明是一种抗癌活性成分，也包括以含有 2-甲氧基雌二醇构成该发明组合物用于其它医疗目的，2-甲氧基雌二醇还可以通过一定的结构改造，得到的与 2-甲氧基雌二醇具有类似的理化性质的新化合物。其研制成功，是医学上的一大创新，具有巨大的社会和经济效益。