



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104755075 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 01

(21) 申请号 201380057183. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 08. 30

A61K 9/51(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 9/14(2006. 01)

102012022036-9 2012. 08. 31 BR

A61K 9/10(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/58(2006. 01)

2015. 04. 30

A61K 31/497(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 17/14(2006. 01)

PCT/BR2013/000335 2013. 08. 30

B82Y 5/00(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/032152 PT 2014. 03. 06

(71) 申请人 生物实验萨纽斯药物有限公司

地址 巴西圣保罗

申请人 南里奥格兰德州联邦大学 -UFRGS

(72) 发明人 A·R·波尔曼 D·S·霍尔纳达

L·P·D·纳西门托

S·S·古特雷斯

(74) 专利代理机构 北京市路盛律师事务所

11326

代理人 冯云 王桂玲

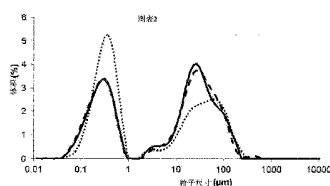
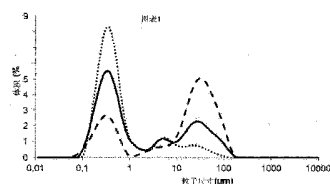
权利要求书3页 说明书15页 附图4页

(54) 发明名称

非那雄胺和米诺地尔聚合物纳米粒子、其制备方法、含有前述聚合物纳米粒子的水悬液、药物组合物及其用途

(57) 摘要

本发明涉及一种局部施用以治疗脱发的药物组合物,所述组合物包含含有两种有效成分即非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地纳米囊,以及药学上可接受的添加物和载体。本发明进一步包括一种用于制备适于局部施用以治疗脱发的组合物的非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选纳米囊的方法,以及所述纳米囊用于制备药物组合物的用途。



1. 包含有效成分非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述纳米粒子从制备有机相和水相形成,其中:

(a) 有机相包含:(i) 疏水聚合物,(ii) 不挥发性油,(iii) 至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂,(iv) 有机溶剂,(v) 共溶剂,(vi) 非那雄胺;以及

(ii) 水相包含:(vii) 至少一种亲水性表面活性剂,(viii) 米诺地尔,和 (ix) 水。

2. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述聚合物纳米粒子处于纳米类衣壳形式。

3. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述疏水聚合物选自乙烯基聚合物、聚酯、聚酰胺、聚氨酯和聚碳酸酯所组成的组。

4. 根据权利要求 3 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述疏水聚合物是来自具有小于 120°C 熔点的聚酯类的生物可降解聚合物。

5. 根据权利要求 4 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,来自具有小于 120°C 熔点的聚酯类的所述生物可降解聚合物选自聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)共聚物、聚己内酯,和聚己内酯与聚酯、与聚酰胺、与聚氨酯或与乙烯基聚合物的共聚物所组成的组。

6. 根据权利要求 5 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述聚己内酯是聚(ϵ -己内酯)。

7. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述不挥发性油选自芥花油、大豆油、橄榄油、中等链长甘油三酯及它们的混合物所组成的组所组成的组。

8. 根据权利要求 7 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述中等链长甘油三酯选自由癸酸和辛酸的甘油三酯、丙二醇二辛酰癸酸酯(dicaprilocaprato de propilenoglicol)、油酸聚乙二醇甘油酯、月桂酸聚乙二醇甘油酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯(macrogolglycerídeos de oleíla, lauroíla, linoleoíla) 及它们的混合物所组成的组。

9. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述低 HLB 亲脂性表面活性剂具有 3 至 6 范围内的 HLB 值并且选自山梨糖醇酐单硬脂酸酯、山梨糖醇酐二硬脂酸酯、山梨糖醇酐三硬脂酸酯、辛酰癸酰基聚乙二醇甘油酯(macrogolglycerídeos caprilocaproílico)、丙二醇月桂酸酯、丙二醇辛酸酯、甘油单硬脂酸酯、聚甘油基油酸酯及它们的混合物。

10. 根据权利要求 9 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述低 HLB 亲脂性表面活性剂是山梨糖醇酐单硬脂酸酯。

11. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述有机溶剂是具有与水发生分子间相互作用的物理化学特性并且所述溶剂选自丙酮、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二噁烷、乙腈、甲乙酮及它们的混合物所组成的组。

12. 根据权利要求 11 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述有机溶剂是丙酮。

13. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述共溶剂选自甲醇、乙醇、丙醇和异丙醇或其他醇、单羟化、二羟化、三羟化或多羟化的甘油、山梨醇、聚乙二醇、甘露醇和丙二醇所组成的组。

14. 根据权利要求 13 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述共溶剂是乙醇。

15. 根据权利要求 1 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述亲水性表面活性剂选自聚氧化聚合物、离子型表面活性剂和中性表面活性剂。

16. 根据权利要求 15 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述亲水性表面活性剂是选自聚山梨醇酯 20、60 或 80、聚乙二醇硬脂酸酯、聚乙二醇鲸蜡硬脂基醚、聚乙二醇月桂基醚、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇油酸酯、聚氧乙烯蓖麻油、氢化聚氧乙烯蓖麻油及它们的混合物所组成的组的中性亲水性表面活性剂。

17. 根据权利要求 15 所述的聚合物纳米粒子,其特征在于,所述中性亲水性表面活性剂是聚山梨醇酯 80。

18. 根据权利要求 1 至 17 中任一项所限定的聚合物纳米粒子的水悬液,所述悬液包含:

- (i) 有机相,包含 (a) 0.001% 至 80.0% (w/w) 的非那雄胺,
- (b) 0.01% 至 30.0% (w/w) 的疏水聚合物,
- (c) 0.01% 至 50.0% (w/w) 的不挥发性油,
- (d) 0.01% 至 50.0% (w/w) 的至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂,
- (e) 10% 至 80% (w/w) 的有机溶剂,和
- (f) 0.001% 至 50% (w/w) 的共溶剂;以及
- (ii) 水相,含有
 - (g) 0.001% 至 80.0% (w/w) 的米诺地尔,
 - (h) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的至少一种亲水性表面活性剂,和
 - (i) 10% 至 90% (w/w) 的水。

19. 根据权利要求 18 所述的聚合物纳米粒子的水悬液,所述悬液包含:

- (i) 有机相,其包含:
 - (a) 0.005% 至 50.0% (w/w) 的非那雄胺;
 - (b) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的聚(ϵ -己内酯);
 - (c) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的中等链长甘油三酯;
 - (d) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的山梨糖醇酐单硬脂酸酯;
 - (e) 10% 至 80% (w/w) 的丙酮;和
 - (f) 0.001% 至 50% (w/w) 的乙醇;以及
- (ii) 水相,其包含:
 - (g) 0.005% 至 50.0% (w/w) 的米诺地尔;
 - (h) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的聚山梨醇酯 80;和
 - (i) 10% 至 90% (w/w) 的水。

20. 一种用于治疗脱发的药物组合物,其包含:

- (A) 根据权利要求 1 至 17 中任一项所限定的纳米类衣壳,所述纳米类衣壳包含
 - (a) 0.01% 至 2.5% (w/w) 的非那雄胺;
 - (b) 0.01% 至 10.0% (w/w) 的米诺地尔;
 - (c) 0.1% 至 10.0% (w/w) 的疏水聚合物;
 - (d) 0.1% 至 5.0% (w/w) 的不挥发性油;
 - (e) 0.1% 至 5.0% (w/w) 的至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂;

(f) 0.001% 至 10% (w/w) 的亲水性表面活性剂; 以及

(B) 药学上可接受的载体, 其中纳米类衣壳的组分的量是最终制剂的百分数并且所述纳米类衣壳分散于所述药学上可接受的载体中。

21. 根据权利要求 20 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述疏水聚合物是聚(ϵ -己内酯), 所述不挥发性油是中等链长甘油三酯, 所述低 HLB 亲脂性表面活性剂是山梨糖醇酐单硬脂酸酯, 并且所述亲水性表面活性剂是聚山梨醇酯 80。

22. 根据权利要求 20 或 21 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述组合物包含纳米类衣壳, 所述纳米类衣壳分散于含有 0.01% 至 1.0% (w/w) 的非那雄胺和 0.01% 至 2.0% (w/w) 的米诺地尔的药学上可接受的载体中。

23. 根据权利要求 20 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物用于局部施用并且处于溶液剂、凝胶或洗剂形式。

24. 根据权利要求 20、21、22 或 23 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物还包含添加物, 其选自分散剂、表面活性剂、润湿剂、软化剂、增稠剂、掩蔽剂(sequestering agents)、防腐剂、抗氧化剂、芳香剂等。

25. 制备根据权利要求 1 至 17 中任一项所限定的聚合物纳米粒子的方法, 其特征在于, 所述方法包括步骤:

(i) 通过在有机溶剂和共溶剂中溶解疏水聚合物和非那雄胺、不挥发性油和至少一种低 HLB 表面活性剂, 制备有机相;

(ii) 在水中溶解米诺地尔、至少一种优选中性的亲水性表面活性剂, 制备水相;

(iii) 在水相中注入有机相以引起纳米粒子的主乳液在两个相的界面上形成, 维持混合物处于搅拌下持续足够使有效成分充分囊化的时间;

(iv) 移除至少一种有机溶剂并回收含有纳米类衣壳的水相。

26. 根据权利要求 25 所述的方法, 其特征在于, 所述疏水聚合物选自乙烯基聚合物、聚酯、聚酰胺、聚氨酯和聚碳酸酯所组成的组。

27. 根据权利要求 26 所述的方法, 其特征在于, 所述聚酯具有低于 120°C 的熔点并且选自聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)的共聚物、聚己内酯、聚己内酯与聚酯、与聚酰胺、与聚氨酯或与乙烯基聚合物的共聚物所组成的组。

28. 根据权利要求 25 所述的方法, 其特征在于, 通过预聚物界面沉积法获得非那雄胺和米诺地尔纳米类衣壳(nanocapsoids), 即在第一步骤中, 使非那雄胺、疏水聚合物、不挥发性油和至少一种低 HLB 表面活性剂在有机溶剂和共溶剂的混合物中溶解以形成有机相; 并且在第二步骤中, 在水中溶解米诺地尔和至少一种亲水性表面活性剂以形成水相。

29. 根据权利要求 1 至 17 中任一项所限定的纳米类衣壳的用途, 其特征在于, 其用于制备用于治疗脱发的药物组合物。

非那雄胺和米诺地尔聚合物纳米粒子、其制备方法、含有前述聚合物纳米粒子的水悬液、药物组合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于局部施用以治疗脱发的药物组合物,所述组合物包含如本文定义的含有两种有效成分即非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳(nanocapsoids),及药学上可接受的添加物和载体。本发明还包括一种用于制备非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地其纳米类衣壳的方法,其中所述聚合物纳米粒子适于用于治疗脱发的局部施用的组合物,以及所述纳米类衣壳用于制备药物组合物的用途。

背景技术

[0002] 掉发,也称作脱发,可以表现出许多形式。它可能是不可逆的,如在划归为存在毛囊破坏的瘢痕性脱发的病例中;或是可逆的,如在非瘢痕性病例中,非瘢痕性病例具有几种原因并可能源自药物治疗、膳食、生理或心理应激、真菌性感染、化疗或基因遗传。因为这个原因,在使用几种药物治疗和非药物治疗(植入和激光应用)以尝试逆转这种情况。

[0003] 在毛细血管疗法中,为了使药物具有所需的作用,药物需要抵达造成引起疾病的酶所在的(表皮中的)毛囊,而不渗透向毛囊供血的毛细血管(避免全身性作用)。因此,为了制剂有效,制剂需要能够促进药物的渗透和在其作用部位停留(DRAKE, L. 等人;"The effects of finasteride on scalp skin and serum androgen levels in men with androgenetic alopecia. (非那雄胺对头皮和血清雄激素水平与男性雄激素性脱发的影响)"Journal of the American Academy of Dermatology(美国科学院皮肤学报),1999年,第41卷,第4期,第550-554页)。

[0004] 雄激素源性脱发是成熟毛囊(末梢)通过一系列毛细血管循环转化成不成熟毛囊(柔毛),同时生长期时间缩短。因此,归因于生长和毛干形成的时间缩短,毛发变得逐渐更短、更稀疏并且经常无颜色(INUI, S. ;ITAMI, S. ;"Molecular basis of androgenetic alopecia:From androgen to paracrine mediators through dermal papilla(雄激素性脱发的分子基础:通过真皮乳头雄激素以旁分泌调解)."Journal of Dermatological Science(皮肤学科学杂志),2011,第61卷,第1-6页)。这是最常见类型的脱发并且它主要影响男性,连同其它因素一起与性激素的调节相关。对雄激素源性秃顶的更充分理解来自Hamilton(1942年)的研究,Hamilton描述了掉发的模式和作为与毛囊遗传倾向相关的过程的生理学,所述过程在雄激素影响下出现(Trueb, RM;"Molecular mechanisms of androgenetic alopecia(雄激素性脱发的分子机制)."Experimental Gerontology(实验老年学),2002年,第37卷,第8-9期,第981-990页)。然而,在雄激素源性脱发和睾酮水平、游离睾酮水平和生物可利用睾酮水平之间不存在相关性。秃顶的致病基础可能通过毛囊中的细胞内信号传导来介导(INUI, S. ;ITAMI, S. ;"Molecular basis of androgenetic alopecia:From androgen to paracrine mediators through dermal papilla(雄激素性脱发的分子基础:通过真皮乳头雄激素以旁分泌调解)."Journal of Dermatological Science(皮肤学科学杂志),2011年,第61卷,第1-6页)。

[0005] 通过 5 α -还原酶的作用, 睾酮转化成更强有力的激素二氢睾酮 (DHT)。出于两个主要原因, 认为二氢睾酮的作用大于睾酮: (i) DHT 不能由芳香酶转化成雌激素, 仅维持其纯粹雄激素的活性, (ii) 体外研究显示 DHT 以比睾酮更高的亲和力结合至雄激素受体 (LIU, S.; YAMAUCHI, H.; "Different patterns of 5 α -reductase expression, cellular distribution, and testosterone metabolism in human follicular dermal papilla cells (人卵泡乳头细胞中 5 α -还原酶表达、细胞分布和睾酮代谢的不同的方式). "Biochemical and Biophysical Research Communications (生物化学和生物物理研究通讯), 2008, 368 第 858-864 页)。这些雄激素通过它们穿过细胞膜散布而发生作用, 旨在与细胞内雄激素受体结合。作为这种结合的结果, 激素-受体复合体经历构象变化, 因此使复合体与 DNA 中的启动子位点结合, 触发产生将转录遗传响应的信使 RNA (INUI, S.; ITAMI, S.; "Molecular basis of androgenetic alopecia: From androgen to paracrine mediators through dermal papilla (雄激素性脱发的分子基础: 通过真皮乳头雄激素以旁分泌调解). "Journal of Dermatological Science (皮肤学科学杂志), 2011 年, 第 61 卷, 第 1-6 页)。在 DHT 与毛囊中存在的雄激素受体结合的情况下, 该响应是毛发生长周期的生长阶段减少, 因此使毛发进入早休止期 (ELLIS, JA; HARRAP, SB; "The genetics of androgenetic alopecia (雄激素性脱发的遗传学). "Clinics in Dermatology (皮肤科临床), 2001 年, 第 19 卷, 第 149-154 页)。

[0006] 雄激素源性脱发是掉发的一种模式, 这促进诊断并且使其与其他类型容易区分。默认情况下, 毛干的丢失初始出现在额部分上或仅出现在头顶上, 并且可以扩展至其他区域。可以通过诺伍德-汉密尔顿 (Norwood-Hamilton) 量表确定脱发程度。该量表确定三个类型的掉发模式: 头顶模式 (其中毛干的丢失始于脑后)、额头模式 (其中毛干的丢失始于额头) 和正常模式 (在额头和脑后同时开始丢失), 全部模式均分成 7 个掉发阶段 (Sinclair, RD; "Male androgenetic alopecia (男性雄激素性脱发). "The Journal of Men's Health & Gender (男性健康与性别杂志), 2004 年, 第 1 卷, 第 4 期, 第 319-327 页)。

[0007] 目前, 脱发治疗可以是局部的和全身性的。在巴西卫生监督局 (ANVISA) (巴西) 批准的药物当中, 可以提到以下: (i) 作为全身性药物, 由非那雄胺 (1mg) 制成的口服使用药物, 以商标名 Propecia® 销售, 其充当二氢睾酮 (DHT) 激素的阻滞剂; 和 (ii) 作为局部用药物: (a) 基于米诺地尔的药物, 以商标名 Regain®/Rogain® 摩丝销售, 含 2% 的米诺地尔 (用于女性) 和 5% 的米诺地尔 (用于男性), 和 (b) 基于 α -雌二醇的药物, 以商标名 Avicis® 销售, 处于 0.025% 的溶液形式。

[0008] 有效成分 (非那雄胺和米诺地尔) 带来几项稳定性、生物利用度和配制难题, 这因其物理化学和生物学/生理学特性所致。为了解决或减少有效成分的不利特征, 研究替代物以“保护它们免遭降解”或“增加它们的溶解度”。

[0009] 增强其治疗功效和使用安全性方面的改进目标在于通过改变药代动力学方面和药效动力学方面来开发新的给药系统。在胶态给药系统当中, 存在聚合物纳米粒子和脂质体 (Avnesh Kumari, Sudesh Kumar Yadav, Subhash C. Yadav, Biodegradable polymeric nanoparticle based drug delivery systems (基于生物降解的聚合物纳米颗粒的药物递送系统), Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (胶体和表面 B: 生物界面),

第 75 卷, 第 1 期, 2010 年 1 月, 第 1-18 页; Vladimir P. Torchilin, RECENT ADVANCES WITH LIPOSOMES AS PHARMACEUTICAL CARRIERS(脂质体作为药物载体最近进展), NATURE REVIEWS(自然综述), 第 4 卷, 2005 年 2 月, 第 145 页)。因为它们的治疗潜能和在储存期间和与生物流体接触时增强的稳定性, 与脂质体相比, 由生物可降解聚合物形成的聚合物纳米粒子已经吸引研究者日益增加的注意力 (SCHAFFAZICK, SH 等人; "Characterization and physicochemical stability of nanoparticle polymeric systems for drug delivery(纳米颗粒的聚合物系统的用于药物递送的特征和物理化学稳定性)". "New Chemistry(新化学), 2003 年, 第 26 卷, 第 5 期, 第 726-737 页)。

[0010] 聚合物纳米粒子是具有 10nm 至 1000nm 的直径并且根据其超分子构造分成囊泡或基体的胶态药物载体系统。纳米囊(囊泡)具有聚合物基体包围的油质芯部, 这允许药物分散于该芯部中和/或吸附在聚合物壁内。纳米球(基体)不具有油质芯, 仅具有聚合物结构, 从而药物可以吸附或保留在聚合物基体中。优选的是由生物可降解聚合物制成的纳米粒子, 原因在于它们具有更大的治疗潜能, 以及在生物流体中和储存期间的高稳定性 (SCHAFFAZICK, SH 等人; "Characterization and physicochemical stability of nanoparticle polymeric systems for drug delivery(纳米颗粒的聚合物系统的用于药物递送的特征和物理化学稳定性)". "New Chemistry(新化学), 2003 年, 第 26 卷, 第 5 期, 第 726-737 页)。

[0011] 不同的物理化学方法可以用于制备这些纳米粒子体系, 如: (i) 预聚物的界面沉积、(b) 盐析和 (c) 乳化-扩散。在用于制备纳米囊的主要技术当中, 应当强调 1989 年 Fessi 等人提出的预聚物界面沉积法 (FESSI, H. 等人; "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement(通过界面聚合物沉积然后排量溶剂形成纳米胶囊)". "International Journal of Pharmaceutics(药剂学国际期刊), 1989 年, 第 55 卷, 第 1 期, 第 R1-R4 页), 其中将聚合物连同油质组分、亲脂性表面活性剂和待囊化的药物或有效成分一起溶解于有机溶剂中。将这种有机相/油相在温和搅拌下加注在由水和亲水性表面活性剂组成的水相上。这种混合物自发地产生平均直径在 200nm 至 500nm 之间的纳米囊。最后, 移除有机溶剂和过量的水。

[0012] 用溶解于水-醇溶液中的有效成分来配制可用于治疗脱发的大多数局部用产品。但是, 由于一些药物通过角蛋白层的低渗透性, 仅部分所施用的剂量渗透毛孔和毛囊抵达作用部位 (TSUJIMOTO, H. 等人; "Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects(评价 PLGA 纳米球包封的头发生长成分对毛囊的渗透性和头发生长的影响)". "Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters(生物有机和药物化学快报), 2007 年, 第 17 卷, 第 4771-4777 页)。作为结果, 使用这些产品时的毛发生长未超过顾客期望, 导致缺少对治疗的依从性。最近的研究已经证实纳米粒子可以有效渗透到毛囊中的假设 (Lademann, J. 等人; "Nanoparticles-An efficient carrier for drug delivery into the hair follicles(纳米粒子——一个有效的药物递送入毛囊的载体)". "European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics(欧洲药剂学与生物药剂学杂志), 2007 年, 第卷 66, 第 2 期, 第 159-164 页), 纳米粒子抵达深部功能性结构, 并且在其中保持储存一些天。在非颗粒物质的情况下, 这类长期作用尚未在毛囊中或角质层中观察到。原

则上,角质层缺少用于局部所施用物质的储器特性,因为这些物质仅局部保持在皮肤表面上或仅保留在上细胞层中(该层因剥落被连续移除)。因此,在长期上,毛囊变成局部使用的非颗粒物质的唯一储器。这些观察结果显示,毛囊是给药的重要靶,因为它们被致密的毛细血管网和树突细胞(朗格汉斯细胞)包围。

[0013] 例如,体内评估了含有用于毛发生长的三种不同有效成分(桉木醇、甘草次酸和6-苄氨基嘌呤)的聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)的纳米球的效果(TSUJIMOTO, H. 等人; "Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects(评价PLGA纳米球包封的头发生长成分对毛囊的渗透性和头发生长的影响)。"Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters(生物有机和药物化学快报),2007年,第17卷,第4771-4777页)。分析这些有效成分在人头皮活组织检查样品中的荧光强度,作者发现与缓冲溶液(PBS)中相同有效成分的对照组相比时,纳米球在孔中具有2至2.5倍的更高的渗透作用。还可能观察到毛细血管活动性增加,所述毛细血管的循环从休止期变成生长期,表明PLGA纳米球可能是用于毛囊中药物的有前景载体。

[0014] 迄今,文献中存在报告在纳米粒子体系中携带非那雄胺的少数论文。伊兰制药国际有限公司(Elan Pharma International Limited)拥有的文献US20060204588公开了一种药物组合物,所述药物组合物含有纳米颗粒状非那雄胺(具有小于2000nm的平均尺寸)和至少一种可以由有效成分表面吸附或与之结合的表面稳定剂。关于制备纳米颗粒状非那雄胺制剂的方法,这种方法在于分散非那雄胺于液体分散介质中并且用机械方式降低其粒度。

[0015] 富士胶卷公司(Fujifilm Corporation)拥有的专利申请US 20110117045是一种含有毛发治疗用有效成分的基于蛋白质纳米粒子的产品;该产品由从蛋白质(如酪蛋白、胶原蛋白、明胶、白蛋白等)产生的纳米粒子组成,还含有促进毛发生长的有效成分,并且包含非那雄胺和米诺地尔作为这些有效成分之一。

[0016] 爱茉莉太平洋集团(Amorepacific Corporation)拥有的文献W02005000258描述了包含两亲聚合物和生理活性成分的自装配聚合物纳米粒子;其中两亲聚合物包含聚己内酯和聚乙二醇作为疏水性嵌段和亲水性嵌段,并且生理活性成分由所述两亲聚合物组成。该生理活性成分可以是非那雄胺(根据权利要求10中所述;还参见实施例45-47)或米诺地尔(参见第8页,第8-18行)。要求保护的改善的动机,即在形成含有有效成分的纳米粒子时使用两亲聚合物,是旨在降低造成沉淀或絮凝的胶态不稳定性,其中制备纳米粒子中使用疏水聚合物时,所述沉淀或絮凝出现。

[0017] 但是,需要使用一种均聚物,所述均聚物比实际上作为聚合物嵌段结构的共聚物在技术上更不复杂且更简单地获得,在共聚物中难以控制亲水部分和亲脂部分的比例,因此在后续形成纳米粒子、特别是纳米囊时造成问题。

[0018] 另外,使用按亲水部分和亲脂部分的1:1比率制备的嵌段共聚物造成缺乏亲水-亲脂平衡值(HLB)的灵活性,这会限制纳米技术制剂的品质。能够改变稳定剂(亲水性乳化剂或表面活性剂)的浓度是制备纳米粒子的优点。可以通过在制剂中使用不同比例的稳定剂,将亲脂性均聚物配制为纳米粒子,这允许优化纳米技术胶体的物理稳定性。

发明内容

[0019] 本发明旨在提供用于局部治疗脱发的有效药物组合物,所述组合物包含含有非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳、药学上可接受的载体;和可选的添加物。本发明还包括制备由所述药物组合物组成的聚合物纳米粒子、优选地非那雄胺和米诺地尔纳米类衣壳。

[0020] 本发明的第一实施方案涉及一种局部用药物组合物,所述局部用药物组合物包含治疗有效量的稳定分散于药学上可接受的载体中的含有非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳;并且可选地含有添加物。

[0021] 在第二实施方案中,所述聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳通过制备有机相和水相形成,其中:

[0022] - 有机相包含:(a) 疏水聚合物、(b) 不挥发性油、(c) 至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂、(d) 溶剂、(e) 共溶剂和 (f) 非那雄胺;和

[0023] - 水相包含:(a) 至少一种亲水性表面活性剂、(b) 米诺地尔和 (c) 水。

[0024] 在第三实施方案中,本发明包含聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳用于制备用于治疗脱发的药物组合物的用途。

[0025] 用于制备本发明组合物的方法包括两个阶段。第一阶段涉及制备本发明的聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳,包括步骤:

[0026] (i) 通过在有机溶剂和共溶剂中溶解疏水聚合物和非那雄胺、不挥发性油、至少一种低 HLB 表面活性剂,制备有机相;

[0027] (ii) 通过在水中溶解米诺地尔、至少一种亲水性表面活性剂、优选地中性亲水性表面活性剂,制备水相;

[0028] (iii) 在水相中注入有机相以引起纳米粒子的主乳液在两个相的界面上形成,维持混合物处于搅拌下持续足够使有效成分充分囊化的时间;

[0029] (iv) 移除至少一种有机溶剂并回收含有纳米囊的水相。

[0030] 在制备纳米粒子后、它们悬浮于合适的载体中、所述载体可选地含有添加物如分散剂、保湿剂、软化剂、增稠剂、掩蔽剂、防腐剂、抗氧化剂、芳香剂等。

附图说明

[0031] 图 1 显示 0.20% 的非那雄胺和 0.20% 米的诺地尔的纳米类衣壳 ($n = 3$) [图表 1] 和 0.25% 的非那雄胺纳米类衣壳 ($n = 3$) 的物理分布图对比 [图表 2]。

[0032] 图 2 显示 0.1% 的非那雄胺纳米类衣壳的透射电子显微照片。

[0033] 图 3 显示用以下治疗的几组动物的在治疗第 1 日 (照片 1), 第 15 日 (照片 2) 和第 23 日 (照片 3) 的照片:(A) 0.25% 的非那雄胺纳米囊;(B) 0.20% 的非那雄胺、0.20% 的米诺地尔的纳米类衣壳;和 (C) Pilexil®。

[0034] 图 4 显示皮肤的组织病理学分析,所述皮肤取自用 (A) 0.20% 的非那雄胺 0.20% 的米诺地尔的纳米类衣壳,和 (B) Pilexil® 治疗 23 天后的动物的背部。

[0035] 图 5 显示通过动物的组织学标本 ($n = 12$) 所分析的成熟毛囊的平均数目,所述动物用以下治疗:(A) 0.25% 的非那雄胺纳米囊;(B) 0.20% 的非那雄胺、0.20% 的米诺地尔

的纳米类衣壳 ;和 (C) Pilexil®。

具体实施方式

[0036] 本发明涉及一种有效用于局部治疗脱发的药物组合物,所述组合物包括纳米粒子体系,优选地包括含有非那雄胺和米诺地尔的纳米类衣壳、药学上可接受的载体 ;并且可选地含有添加物。

[0037] 如本文所用,术语“纳米类衣壳”意指通过在有机相中使用溶剂和共溶剂的通过纳米囊化 (nanoencapsulation) 方法制备的聚合物纳米囊。

[0038] 本发明还包括一种用于制备由所述组合物组成的聚合物纳米粒子、优选地非那雄胺和米诺地尔的纳米类衣壳的方法。

[0039] 非那雄胺是对 5 α -还原酶 2 型酶具有强力选择性拮抗作用的合成性偶氮类固醇 (synthetic azosteroid)。非那雄胺通过与该酶不可逆结合而发挥作用,阻止睾酮转化为其活性代谢物二氢睾酮 (DHT)。非那雄胺的用途最初经批准用于减小与尿路阻塞相关的前列腺尺寸 (良性前列腺增生),由于虽然 DHT 在男性中负责前列腺发育,但是它可能参与增生的形成。但是,已经观察到服用这种药物的患者还表现出脱发症状的逆转。出于这个原因,调查非那雄胺在治疗秃顶方面潜力的研究已经开始形成 (Sinclair, RD, "Male androgenetic alopecia:Part II (男性雄激素性脱发:第二部分)." *The Journal of Men's Health&Gender*, 2005, 第 2 卷, 第 1 期, 第 38-44 页)。Kaufmann 等人 (2008 年) 对 1553 位年龄在 18 岁至 41 岁之间的男性的研究评价了按每日 1mg 的剂量持续 5 年时,非那雄胺相对于安慰剂的作用。与安慰剂治疗的患者中明显掉发的可能性增加相比,非那雄胺治疗的结果导致明显掉发的概率下降。在这项研究中,在 5 年结束时,75% 的用安慰剂治疗的患者形成秃顶,并且仅 10% 的用非那雄胺治疗的患者出现病情。评审使用非那雄胺治疗女性雄激素源性脱发的安全性和有效性,得出以下结论:在用米诺地尔局部治疗无效的病例中,可以安全 and 有效地使用这种药物 (Stout, SM ;STUMPF, JL ;"Finasteride Treatment of Hair Loss in Women (非那雄胺治疗女性的脱发)." *The Annals of Pharmacotherapy (药物治疗年报)*, 2010, 第 44 卷, 第 6 期, 第 1090-1097 页)。

[0040] 在 1965 年引入了米诺地尔作为治疗高血压的疗法 ;然而,观察到口服施用的米诺地尔造成多毛症。由于来自这项研究和后续研究的证据,美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准米诺地尔用于治疗男性 (以 5% 浓度) 和女性 (以 2% 浓度) 的雄激素源性脱发。然而,虽然米诺地尔的局部用溶液剂呈现出经证明的安全性和有效性,但是不良反应可能随其使用出现。Friedman 和同事 (2002 年) 报道了接触过敏病例,这包括头皮的瘙痒、红斑和干燥。一些患者对米诺地尔显示出敏感性,但是主要地对局部用溶液剂中作为共溶剂和吸收促进剂存在的丙二醇组分敏感 (Friedman, ES 等人, "Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: Etiology and treatment (过敏性接触性皮炎外用米诺地尔溶液:病因和治疗)." *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2002, 第 46 卷, 第 2 期, 第 309-312 页)。

[0041] 本发明避免了与非那雄胺的全身性施用和局部用米诺地尔相关的缺点和不良反应,并且提出用于治疗脱发的非那雄胺和米诺地尔的局部施用组合物,同时减少了这两种有效成分引起的副作用。

[0042] 本发明基于通过预聚物的界面沉积,制备非那雄胺和米诺地尔的聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳,其中首先在有机溶剂和共溶剂中溶解非那雄胺、疏水聚合物、不挥发性油和至少一种低 HLB(亲水亲脂平衡值)的表面活性剂以形成有机相;并且在水中溶解米诺地尔和至少一种亲水性表面活性剂,优选地中性亲水性表面活性剂以形成水相。

[0043] 尽管可以通过本发明有利地产生纳米粒子(一个包括纳米球、纳米囊和纳米类衣壳的术语),但是本发明优选地特别涉及纳米类衣壳的制备,优选地通过界面沉积法实施。但是,应当清楚其他方法也可以用来产生本发明的纳米囊。

[0044] 所述聚合物纳米粒子,优选地纳米类衣壳从如下有机相和水相形成:

[0045] - 有机相包含:(a) 疏水聚合物、(b) 不挥发性油、(c) 至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂、(d) 溶剂、(e) 共溶剂和 (f) 非那雄胺;和

[0046] - 水相包含:(a) 至少一种亲水性表面活性剂、(b) 米诺地尔和 (c) 水。

[0047] 用来囊化非那雄胺的所述聚合物是疏水聚合物,其选自乙烯基聚合物、聚酯、聚酰胺、聚氨酯和聚碳酸酯所组成的组。优选地,所用的疏水聚合物是来自具有小于 120°C 熔点的聚酯类的生物可降解聚合物。更优选地,生物可降解疏水聚合物来自聚酯类,即聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)的共聚物、聚己内酯、聚己内酯与聚酯、与聚酰胺、与聚氨酯或与乙烯基聚合物的共聚物,并且最优选地,它是聚(ϵ -己内酯)。

[0048] 在制备本发明的聚合物纳米粒子的有机相中使用的所述不挥发性油选自芥花油(*canola oil*)、大豆油、橄榄油和中等链长甘油三酯所组成的组;优选地使用中等链长甘油三酯。其中,中等链长甘油三酯选自由癸酸和辛酸的甘油三酯、丙二醇二辛酰癸酸酯(*dicaprilocaprato de propilenoglicol*)、油酸聚乙二醇甘油酯、月桂酸聚乙二醇甘油酯、亚油酸聚乙二醇甘油酯(*macrogolglycerídeos de oleíla, lauroíla, linoleoíla*)及它们的混合物所组成的组。仍然更优选地,作为不挥发性油使用的中等链长甘油三酯是癸酸和辛酸的甘油三酯。

[0049] 在制备本发明的聚合物纳米粒子的所述有机相中使用的亲脂性表面活性剂是低 HLB 的、优选地具有 3 至 6 范围内的值的表面活性剂,所述表面活性剂为固态或液态,优选地为固态,选自山梨糖醇酐单硬脂酸酯、山梨糖醇酐二硬脂酸酯、山梨糖醇酐三硬脂酸酯、辛酰癸酰基聚乙二醇甘油酯(*macrogolglycerídeos caprilocaproílico*)、丙二醇月桂酸酯、丙二醇辛酸酯、甘油单硬脂酸酯、聚甘油油酸酯或它们的混合物。优选地,在本发明有机相中使用的亲脂性表面活性剂是山梨糖醇酐单硬脂酸酯。

[0050] 在制备本发明的聚合物纳米粒子的有机相中使用的溶剂是选自以下的有机溶剂:丙酮、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二噁烷、乙腈、甲乙酮、或呈现与水发生分子间相互作用的物理化学特性的其他溶剂。在本发明的一个优选实施方案中,有机溶剂优选地是丙酮。

[0051] 在制备本发明的聚合物纳米粒子的有机相中使用的所述共溶剂选自甲醇、乙醇、丙醇和异丙醇或其他醇、单羟化、二羟化、三羟化或多羟化的甘油、山梨醇、聚乙二醇、甘露醇或丙二醇所组成的组。在本发明的一个优选实施方案中,共溶剂优选地是乙醇。有机相中使用乙醇作为共溶剂促进了形成具有出乎意料的纳米技术品质的纳米类衣壳,原因是聚合物聚(ϵ -己内酯)不溶于甲醇或乙醇中。但是,为了具有纳米级的粒度分析,有机相的组分应当是水溶性的并且在饱和浓度以下使用。

[0052] 水相含有用于制备本发明的纳米粒子的至少一种亲水性表面活性剂,优选地是乳化剂(如多氧取代的聚合物),或离子型表面活性剂(如卵磷脂),或中性表面活性剂,其选自聚山梨醇酯 20、60 或 80、聚乙二醇硬脂酸酯、聚乙二醇鲸蜡硬脂基醚、聚乙二醇月桂基醚、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇油酸酯、聚氧乙烯蓖麻油、氢化聚氧乙烯蓖麻油或其混合物。优选地,使用聚山梨醇酯,和更优选地,使用聚山梨醇酯 80,用于制备本发明纳米粒子的水相。

[0053] 聚合物纳米粒子的水悬液包含:

[0054] - 有机相

[0055] (a) 0.001% 至 80.0% (w/w) 的非那雄胺,

[0056] (b) 0.01% 至 30.0% (w/w) 的疏水聚合物,

[0057] (c) 0.01% 至 50.0% (w/w) 的不挥发性油,

[0058] (d) 0.01% 至 50.0% (w/w) 的至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂,优选地为固态,

[0059] (e) 10% 至 80% (w/w) 的有机溶剂,和

[0060] (f) 0.001% 至 50% (w/w) 的共溶剂;和

[0061] - 水相

[0062] (a) 0.001% 至 80.0% (w/w) 的米诺地尔,

[0063] (b) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的至少一种亲水性表面活性剂,

[0064] (c) 10% 至 90% (w/w) 的水。

[0065] 在水悬液的优选制剂中,聚合物纳米粒子、优选地纳米类衣壳,包含:

[0066] - 有机相中

[0067] (a) 0.005% 至 50.0% (w/w) 的非那雄胺;

[0068] (b) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的疏水聚合物,优选地聚(ϵ -己内酯);

[0069] (c) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的不挥发性油,优选地中等链长甘油三酯;

[0070] (d) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的至少一种亲脂性表面活性剂,优选地山梨糖醇酐单硬脂酸酯;

[0071] (e) 10% 至 80% (w/w) 的有机溶剂,优选地丙酮;和

[0072] (f) 0.001% 至 50% (w/w) 的共溶剂,优选地乙醇;和

[0073] - 水相中

[0074] (a) 0.005% 至 50.0% (w/w) 的米诺地尔;

[0075] (b) 0.05% 至 20.0% (w/w) 的至少一种亲水性表面活性剂,优选地聚山梨醇酯;和

[0076] (c) 10% 至 90% (w/w) 的水。

[0077] 用于治疗脱发的药物组合物含有:

[0078] (A) 本发明的纳米类衣壳,包含

[0079] (a) 0.01% 至 2.5% (w/w) 的非那雄胺;

[0080] (b) 0.01% 至 10.0% (w/w) 的米诺地尔;

[0081] (c) 0.1% 至 10.0% (w/w) 的疏水聚合物,优选地聚(ϵ -己内酯);

[0082] (d) 0.1% 至 5.0% (w/w) 的不挥发性油,优选地中等链长甘油三酯;

[0083] (e) 0.1% 至 5.0% (w/w) 的至少一种低 HLB 亲脂性表面活性剂,优选地山梨糖醇酐单硬脂酸酯;

[0084] (f) 0.001%至 10% (w/w) 的亲水性表面活性剂, 优选地聚山梨醇酯 80 ;和

[0085] (B) 药学上可接受的载体, 其中纳米类衣壳组分的量是最终制剂的百分数并且所述纳米类衣壳分散于所述药学上可接受的载体中。

[0086] 本发明用于治疗脱发的优选药物组合物包含处于聚合物纳米粒子形式、优选地处于纳米类衣壳形式、分散于药学上可接受的载体中的 0.01%至 1.0% (w/w) 的非那雄胺和 0.01%至 2.0% (w/w) 的米诺地尔。

[0087] 用于治疗脱发的药物组合物可选地含有添加物, 如分散剂、表面活性剂、润湿剂、软化剂、增稠剂、掩蔽剂、防腐剂、抗氧化剂、芳香剂等。

[0088] 以下是本发明的具体实施方案。然而, 应当理解仅出于示意性目的提供这类实施例, 并且根据本文中公开的实施方案, 多种修改或变化可由本领域技术人员得出并且必须纳入本公开的精神和范围内和后续权利要求的范围内。

[0089] 实施例 1: 制备含有 0.20%的非那雄胺和 0.20%的米诺地尔的本发明的纳米类衣壳

[0090] 实施例 1.1: 非那雄胺和米诺地尔纳米类衣壳的制备

[0091] 使用表 1 中描述的组成, 从丙酮和乙醇混合物的有机溶液制备非那雄胺纳米类衣壳的悬液, 所述非那雄胺纳米类衣壳含有聚(ϵ -己内酯)、中等链长甘油三酯(癸酸和辛酸的甘油三酯)、山梨糖醇酐单硬脂酸酯和非那雄胺。

[0092] 表 1: 基于最终制剂含有 0.20%的非那雄胺和 0.20%的米诺地尔的聚(ϵ -己内酯)纳米类衣壳的悬液的组成

[0093]

有机相	量
癸酸和辛酸的甘油三酯	3.30ml
山梨糖醇酐单硬脂酸酯	770mg
聚(ϵ -己内酯)	1000mg
丙酮	200ml
乙醇	50ml
非那雄胺	200mg
水相	量
聚山梨醇酯 80	770mg
米诺地尔	200mg
蒸馏水	500ml

[0094] 将聚合物(聚(ϵ -己内酯))随非那雄胺、辛酸和癸酸的甘油三酯以及低 HLB 表

面活性剂（山梨糖醇酐单硬脂酸酯）一起在 20℃ 至 40℃ 之间、优选地在 40℃ 温和加热下溶解于有机相中，使用丙酮作为溶剂并使用乙醇作为共溶剂。将中性表面活性剂（聚山梨醇酯）和米诺地尔溶解于水中以形成水相。在溶解有机相和水相的全部组分后，使用漏斗，将有机相加注在水相上。

[0095] 在形成本发明纳米类衣壳的主乳液后，将它在中速搅拌下维持 10 分钟，并且随后在恒温槽中旋转蒸发器内蒸发烧瓶中在 10℃ 至 80℃ 之间，优选地 30℃ 至 45℃ 之间在降低的压力下浓缩至最终体积 100ml，以消除有机溶剂和共溶剂及过量的水，旨在调节非那雄胺和米诺地尔的最终浓度。

[0096] 实施例 1.2：制剂的表征

[0097] A. pH 的测定

[0098] 直接在悬液中，在用 pH 4.0 和 7.0 的缓冲液校准的电位计中进行 pH 测定，取三次重复的平均数。

[0099] B. 通过多重光散射测定粒径和多分散指数

[0100] 为了通过动态光散射测定纳米粒子悬液的直径和多分散指数，使用美国马尔文公司 (Malvern, US) 的 Zetasizer® 纳米 - 装置 ZEN 3600ZS 型。对于这两种情况，将样品在室温于 MilliQ® 水（经 Millipore Millex-HP 0.45 微米滤器过滤）中稀释 500 倍，并且通过三次重复的平均数确定结果。

[0101] C. 通过激光衍射测定确定粒度分布

[0102] 为了评估是否有伴随存在的微米级群体，通过激光衍射进行粒度的分析 (Mastersizer 2000, Malvern, 英国)。通过在含有约 100ml 的蒸馏水的辅助分散体中添加制剂的样品来实施分析。添加的量足以实现 0.02 至 0.10 之间的遮蔽。为了防止（来自水的）背景信号的干扰，在添加样品之前对水进行测量。

[0103] D. ζ 电位

[0104] 采用 ZEN 3600 型 Zetasizer® nano-ZS 装置 (Malvern, 美国)，通过电泳方法测定纳米粒子悬液的 ζ 电位。使用 500 倍稀释度在 10mM 的 NaCl 溶液（经 Millipore Millex-HP 0.45 微米滤器过滤）中实施测定，并且由三次测定的平均数获得结果。

[0105] E. 粘度

[0106] 使用振动式粘度计 (SV-10, 爱安德公司 (A&D Company), 日本) 测量悬液的粘度。为实现这种测量，在 25 ± 1.0℃ 温度于悬液中直接测量粘度 30 秒，每隔五秒采集数据。

[0107] F. 制剂中非那雄胺的分析

[0108] 为了分析非那雄胺，将聚合物纳米粒子的悬液用乙腈按超声法处理 (30 分钟)，导致从制剂中提取药物。随后通过高效液相色谱法 (HPLC) 进行药物分析。

[0109] 使用紫外 - 可见光检测器（对于非那雄胺，λ = 210nm），LiChrospher 100 RP-18 柱 (5 μm, 250x 4mm)、相同材质的前置柱 (5um) 和等强度流动相乙腈 : 水 (75 : 25)，流速 1mL min⁻¹，进样量 100 μL，在珀金埃尔默 (Perkin Elmer) 色谱系列 200 上进行分析。

[0110] G. 制剂中米诺地尔的分析

[0111] 在分光光度计中实施米诺地尔的分析。对于两者，将聚合物纳米粒子悬液用甲醇按超声法处理 (30 分钟)，从而提取药制剂。此后不久，使用白色纳米类衣壳的制剂（以

相同方式制备而不含有药物)作为参考光束,在分光光度计中以 248nm 波长读取样品。

[0112] H. 检验晶体的存在

[0113] 为了验证任何同时存在的晶体(分散于水相中的药物),通过 HPLC 初步对新鲜制备的药物制剂进行定量分析。此后,将这种制剂分成两份样品:允许第一份样品静置并且在分析前搅拌第二份样品,30 天后再进行搅拌。从保持静置的样品,仅收集到一个等分试样(aliquot)的上清液(防止任何运动)。从另一份样品,涡旋混合 15 秒后收集等分试样(对应于 20%的上清液)。

[0114] I. 确定毛发恢复能力的体内分析

[0115] 所用的是 Matias 等人(1989)所描述技术的改良技术,由南里奥格兰德联邦大学(Federal University of Rio Grande do Sul)伦理委员会批准。

[0116] 对于本实验,使用来自塔雅伊谷大学(University of Vale do Itajaí,UNIVALI)动物饲养室的 B6CBAF1 杂交雌性小鼠。动物在整个实验期间处于标准条件的温度和相对湿度下,昼夜循环各 12 小时。全部动物均以剂量 1mg/日接受皮下注射 1%睾酮,所述睾酮分散于在水中的聚山梨醇酯 80 混合物中($100\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。每周注射 5 次持续 4 周。

[0117] 在第一周中,动物仅接受睾酮注射。在实验第二周的第一天,将全部动物均用 Veet[®]脱毛乳膏剂从其背部移除毛发,以便总体移除毛发。在移除毛发后,维持每日注射睾酮,并且根据治疗组(安慰剂组、治疗组、对照组)在治疗方法中添加每日局部施用制剂。对于治疗组,使用含有本发明纳米类衣壳的优化制剂,这与本专利申请的相同申请人的共同待决专利申请中所公开的 0.25%的非那雄胺制剂的结果比较。还测试了按商标名 Pilexil[®](锯叶棕(*Serenoa serrulata*)提取物 22.0%,瓦兰特(Valeant))市售的用于局部治疗雄激素源性脱发的制剂。

[0118] 为了监测毛发的生长,在第 1 日、第 15 日和第 23 日拍照。在第 24 日,通过颈椎脱臼法处死动物。从每个组 4 只动物的背部取下皮肤样品并进行显微镜下评价。为此目的,将经制备并用苏木精-伊红染色的切片送至 Zanol 实验室。随后我们继续用光显微镜(与照相机 Canon Power Shot, PC1250 连接的 Zeiss-Primo Star)分析以确定毛发处在哪个生长阶段。(MATIAS, JR 等人;"Animal models of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous apparatus(皮脂腺装置的雄激素依赖性疾病的动物模型). 1. The androchronogenetic alopecia(AGA)mouse as a model for male-pattern baldness(雄性激素起源脱发(AGA)小鼠作为男性型秃发模型). Archives of Dermatological Research(皮肤科研究手册),第 281 卷,第 247-253 页,1989 年)。

[0119] 为了定量通过组织学获得的数据,继续对来自每个组的每个组织学切片进行成熟毛囊(具有色素沉着并插入在脂肪组织中)计数。因此,我们分析 4 个切片/组,并且计数基于相同切片的 3 个不同灶点(foci),每组总计分析 12 个视域。为了组间比较,通过 ANOVA($\alpha = 0.05$)进行统计分析。

[0120] J. 确定毛发恢复能力的体内分析

[0121] 采用在 80kV 运行的透射电子显微镜(JEOL, JEM 1200Ex11, 电子显微术中心-UFRGS)进行分析。将稀释的悬液沉积在网格中的碳支持膜上,用乙酸双氧铀溶液(2% w/v)负染并且使用 250000 倍的倍率观察。

[0122] 实施例 1.3 :含有 0.20%的非那雄胺和 0.20%的米诺地尔的纳米类衣壳制剂的物理化学表征。

[0123] 表 2 显示含有非那雄胺和米诺地尔组合的本发明纳米类衣壳制剂的直径值(多重光散射)、多分散指数、 ζ 电位、pH 和粘度。

[0124] 表 2. 与 0.25%的非那雄胺的制剂的表征(如本申请的相同申请人共同待决的申请中所公开)相比,含有非那雄胺和米诺地尔组合(0.20%的非那雄胺和 0.20%的米诺地尔)的本发明纳米类衣壳制剂的物理化学表征

[0125]

分析	0.20%非那雄胺和 0.20%米诺地尔制剂	0.25%非那雄胺制剂
平均直径 (nm)	255 ± 2	221 ± 3
多分散指数	0.22 ± 0.02	0.14 ± 0.03
ζ 电位 (mV)	-11.7 ± 1.2	-14.9 ± 2.7
pH	6.4 ± 0.1	4.6 ± 0.1
粘度 (mPa · s)	1.25 ± 0.19	1.21 ± 0.07

[0126] 含有两种有效成分(非那雄胺和米诺地尔)的这种制剂,呈现出与仅含有非那雄胺(含有 0.25%有效成分的聚(ϵ -己内酯)的纳米囊)的制剂接近的物理化学特征,例如,直径和 ζ 电位。然而,显示出更靠近中性值的 pH,这可能归因于外部水相中存在米诺地尔溶液。

[0127] 图 1 显示本发明的非那雄胺和米诺地尔(0.20%非那雄胺和 0.20%米诺地尔)的纳米类衣壳和非那雄胺(非那雄胺 0.25%)的纳米囊的粒度分析曲线之间的比较。如所示,与纳米相比,含有这种组合的本发明纳米类衣壳具有略微减少的微米级群体。为有助于展示这个观点,图 1 中分别展示三份的每种制剂。

[0128] 为了更好地评价制剂的形态特征,执行如图 2 中所显示的电子显微术透射的分析。

[0129] 实施例 1.4 :确定本发明的非那雄胺和米诺地尔的纳米类衣壳的毛细血管恢复能力的分析

[0130] 采用体内测定法、用这种制剂评估因使用含有本发明的非那雄胺和米诺地尔的药物组合的纳米类衣壳制剂而改善毛细血管恢复能力的效率,并且与使用含有 0.25%的非那雄胺的纳米囊制剂和使用适用于治疗脱发的具有抗雄激素作用的市售制剂 Pilexil® (Valeant)(有效成分为锯叶棕提取物)所得的结果比较。

[0131] 为了进行试验, B6CBAF1 谱系的动物用皮下注射睾酮处理 1 周,并且在第二周,进行背部脱毛以便治疗,并因此测定所测试制剂的毛细血管恢复能力。图 3 通过在第 1 日、第 15 日和第 23 日来自每个组的代表性动物的照片显示治疗的比较;这些动物用以下制剂治疗:

[0132] (A) 如本申请的相同申请人的待决申请中公开,含有 0.25%的非那雄胺的纳米囊

制剂；

[0133] (B) 含有包含 0.20% 非那雄胺和 0.20% 米诺地尔的纳米类衣壳的本发明制剂；和

[0134] (C) Pilexil®。

[0135] 如所示，本发明的制剂提供完全优于市场上用于治疗雄激素源性脱发的产品 (Pilexil®) 的可视结果。

[0136] 与含有非那雄胺 0.25% 的纳米囊制剂相比时，该结果略微地更高。当一起分析各组的全部动物时，可以最佳地观察到这个结果。可以在本发明制剂治疗的全部动物上观察到更完整的毛发覆盖。反而，在用含有 0.25% 的非那雄胺的纳米囊制剂治疗的组中，一些动物仍显示未完全被新毛覆盖的一些区域。

[0137] 来自切片图像的组织病理学分析 (图 4 中显示) 和细胞计数 (图 5 中显示) 显示组间显著差异 (ANOVA : $\alpha = 0.05$)。

[0138] 含有非那雄胺和米诺地尔的本发明的药物组合的纳米类衣壳制剂显示比 Pilexil® 制剂显著更高的毛囊数目 / 视域，类似于含有 0.25% 的非那雄胺的纳米囊制剂示出的毛囊数目 / 视域 (ANOVA : $\alpha = 0.05$)。

[0139] 借助随附的照片，与通过使用含有 0.25% 的非那雄胺的纳米囊制剂所展示的那些目视结果相比，虽然使用含有本发明的米诺地尔和非那雄胺的纳米类衣壳制剂时毛发生长的目视结果略微较高，但是这两种制剂的细胞计数结果之间显示相似性。因此，可以得出结论：添加米诺地尔辅助毛发生长加速 (更生)，然而不促进其发育 (成熟)。即，米诺地尔在加速毛发生长，但是不逆转雄激素源性脱发中的毛细血管萎缩；这种逆转由非那雄胺提供。

[0140] 实施例 2：包含米诺地尔和非那雄胺纳米类衣壳的药物组合物

[0141] 实施例 2.A- 局部用溶液形式的制剂

[0142] 如实施例 1.1 中所述制备非那雄胺和米诺地尔的纳米类衣壳。制备局部用溶液，产生表 3 中的制剂。

[0143] 表 3：含有包含 0.025% 的非那雄胺和 0.20% 的米诺地尔的纳米类衣壳悬液的局部用溶液形式的制剂。

[0144]

组分	百分数
癸酸和辛酸的甘油三酯	3.23
山梨糖醇酐单硬脂酸酯	0.77
聚 (ε-己内酯)	1.00
非那雄胺	0.025
聚山梨醇酯 80	0.77
米诺地尔	0.20

蒸馏水	94.005
-----	--------

[0145] 实施例 2. B- 局部用凝胶形式的制剂

[0146] 如实施例 1. 1 中所述制备非那雄胺和米诺地尔的纳米类衣壳。

[0147] 如实施例 2. A 中所述的制备纳米类衣壳悬液, 用 0. 2% 的卡波普 (Carbopol) ®940 增稠。添加适量三乙醇胺以获得用于局部施用的合适粘度。所得到的凝胶具有表 4 中显示的配方。

[0148] 表 4 : 含有 0. 05% 的非那雄胺和 0. 25% 的米诺地尔的纳米类衣壳悬液的局部用凝胶形式的制剂。

[0149]

组分	百分数
癸酸和辛酸的甘油三酯	3. 23
山梨糖醇酐单硬脂酸酯	0. 77
聚 (ϵ - 己内酯)	1. 00
非那雄胺	0. 05
聚山梨醇酯 80	0. 77
卡波普 940	0. 20
蒸馏水	93. 73
三乙醇胺	适量

[0150] 实施例 2. C : 局部用洗剂形式的制剂

[0151] 起初, 如实施例 2. A 中所述制备第 1 相, 并且使用来自表 5 中第 1 相的组合物。分别将来自第 2 相的组分在水浴中在 50°C 合并, 且在融合后从热源上移走。接下来, 添加第 3 相至第 1 相并且在恒定磁力搅拌下分散。在熔融的第 2 相中添加第 3 相和第 1 相的这种混合物并且在避免掺入空气的中速机械搅拌下冷却至 40°C。

[0152] 表 5 : 含有包含 0. 1% 的非那雄胺和 0. 3% 的米诺地尔的纳米类衣壳悬液的局部用洗剂形式的制剂。

[0153]

组分相 1	百分数 (%)
癸酸和辛酸的甘油三酯	3.23
山梨糖醇酐单硬脂酸酯	0.77
聚(ϵ -己内酯)	1.00
非那雄胺	0.10
聚山梨醇酯 80	0.77
米诺地尔	0.30
蒸馏水	89.53
组分相 2	百分数 (%)
椰油	2.0
尼泊金丙酯	0.2
尼泊金甲酯	0.1
组分相 3	百分数 (%)
Salcare SC91 (INCI: 聚丙烯酰胺和 C13-14 异链烷烃和月桂醇聚醚-7 (Laureth-7))	2.0

[0154] 本说明书中提到的全部出版物及专利申请表示的是本发明相关领域的技术人员的水平。全部出版物及专利申请通过引用的方式以相同程度并入本文,如同通过引用方式专门且独自地分别并入每份单独的出版物或专利申请。

[0155] 尽管已经描述一些实施方案,它们仅以实施例模式展示并且不意在限制本发明的范围。实际上,本文所述的新实施方案可以按多种其他方式实施;除此之外,可以不偏离本发明精神的情况下做出对本文所述实施方案形式的各种省略、替换和变化。本发明书后附的权利要求及其等同物视为覆盖这类形式或修改,因为它们可以处于本发明的精神和范围内。

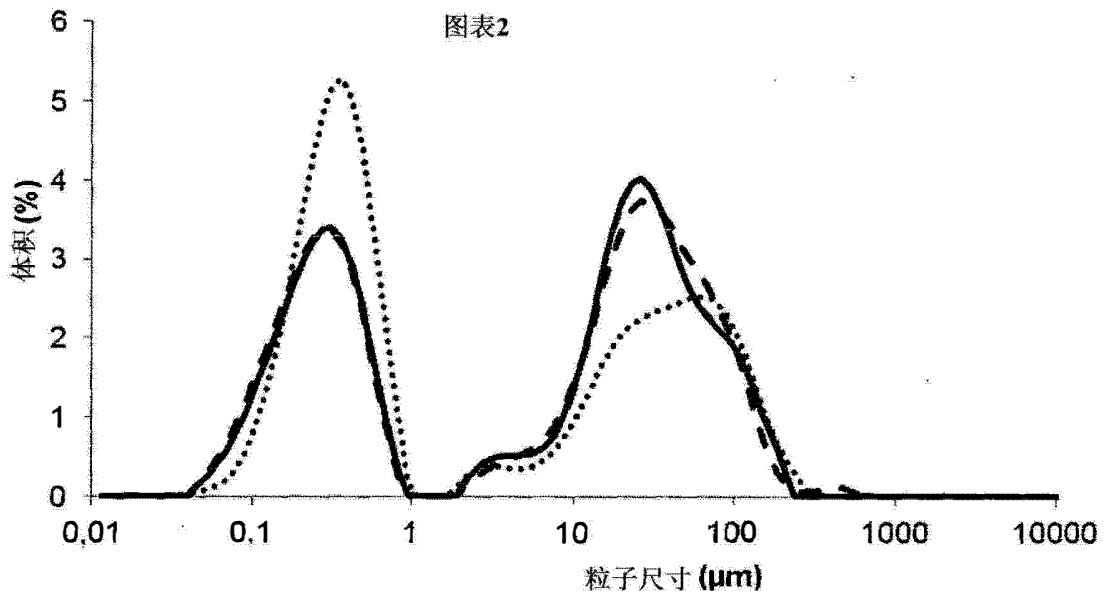
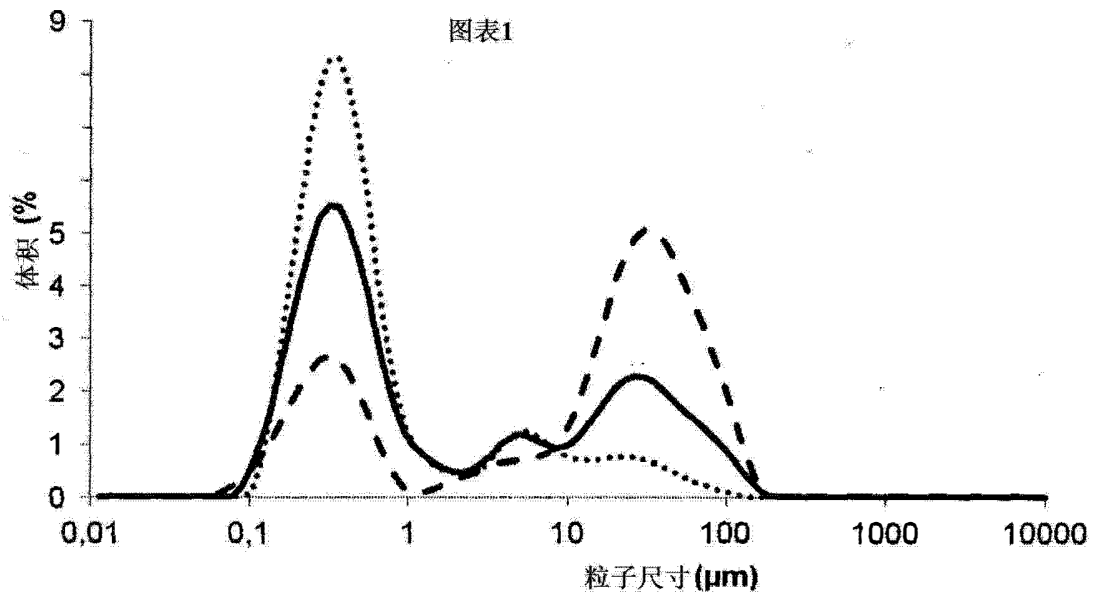


图 1

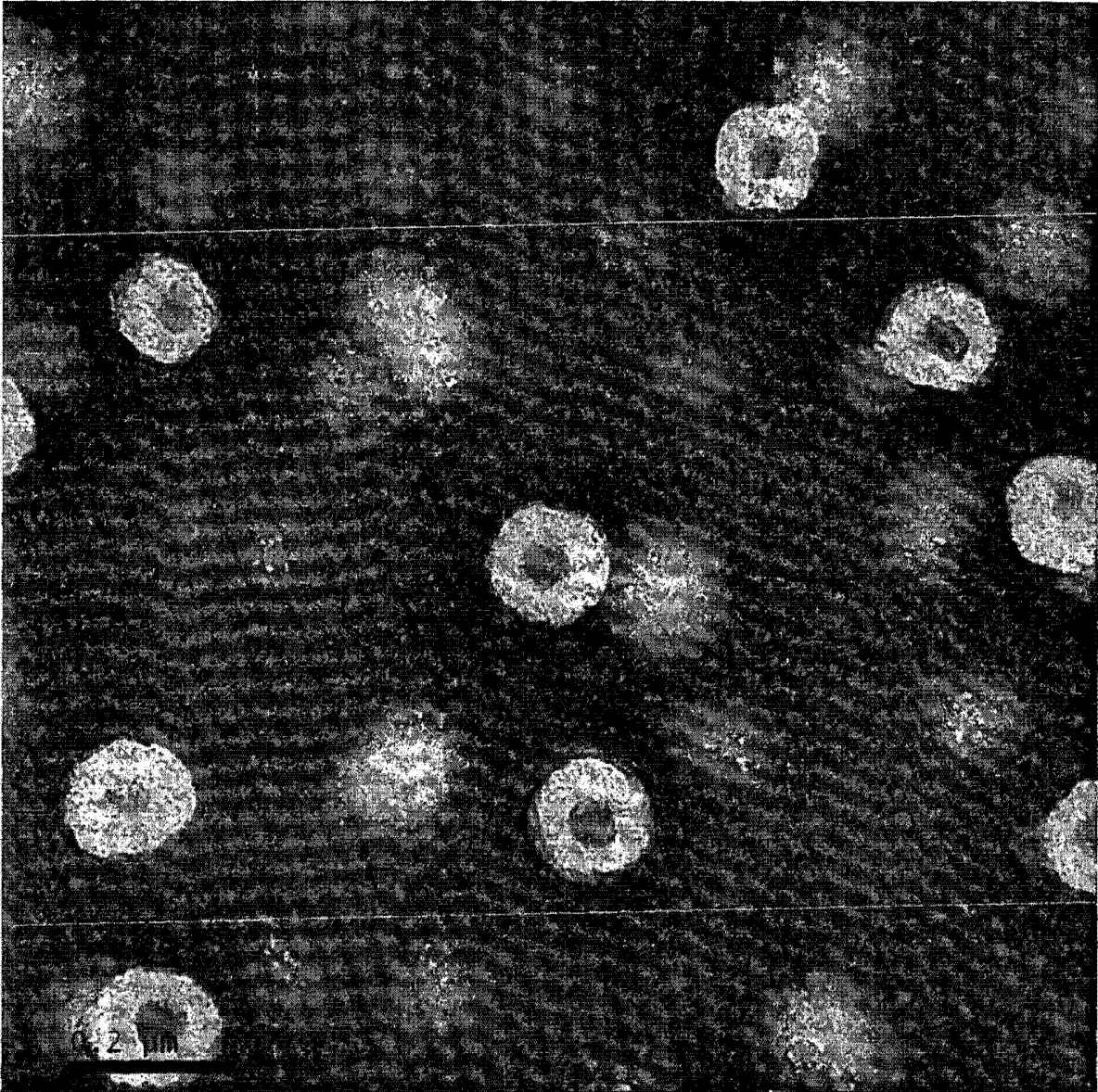


图 2

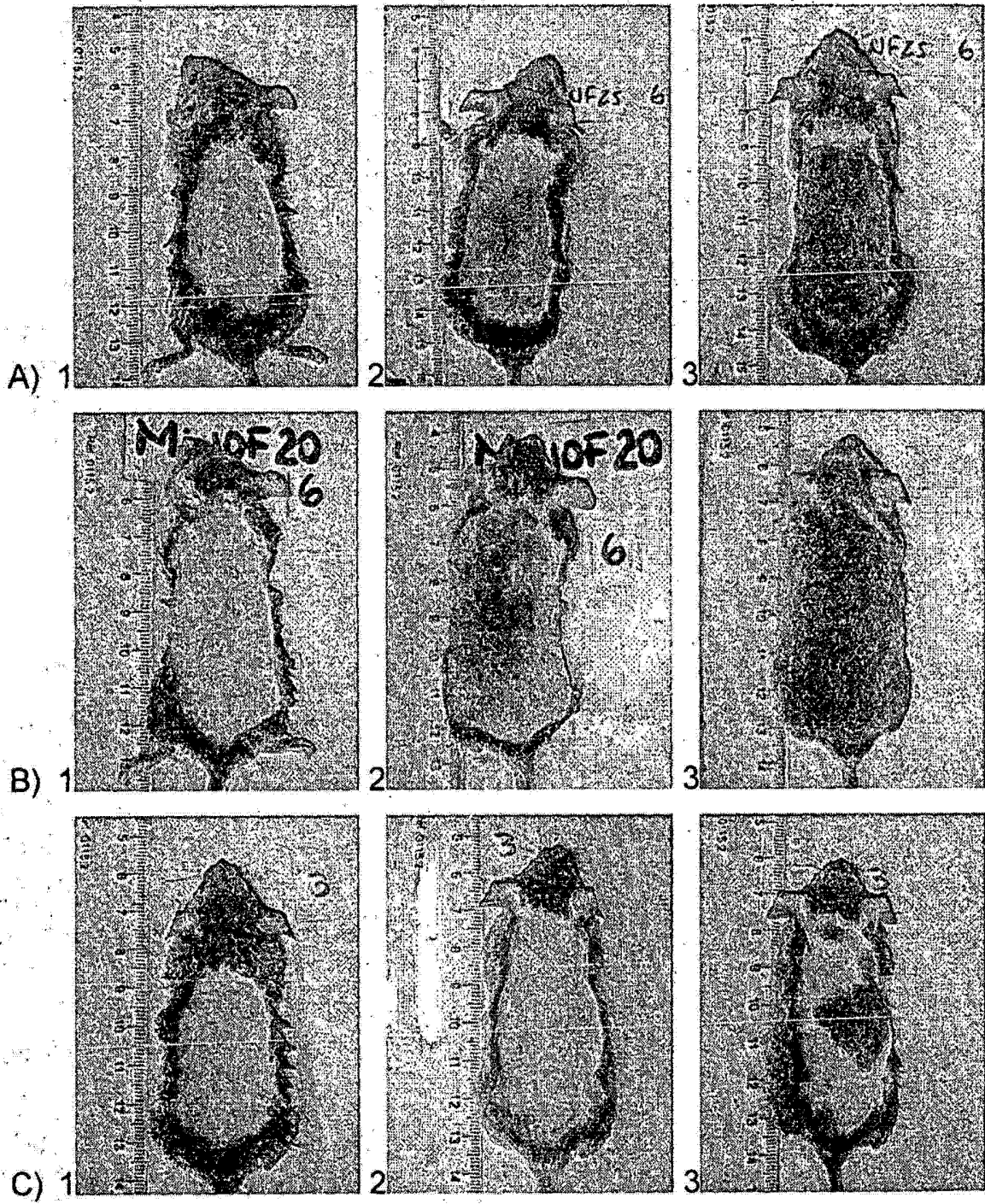


图 3

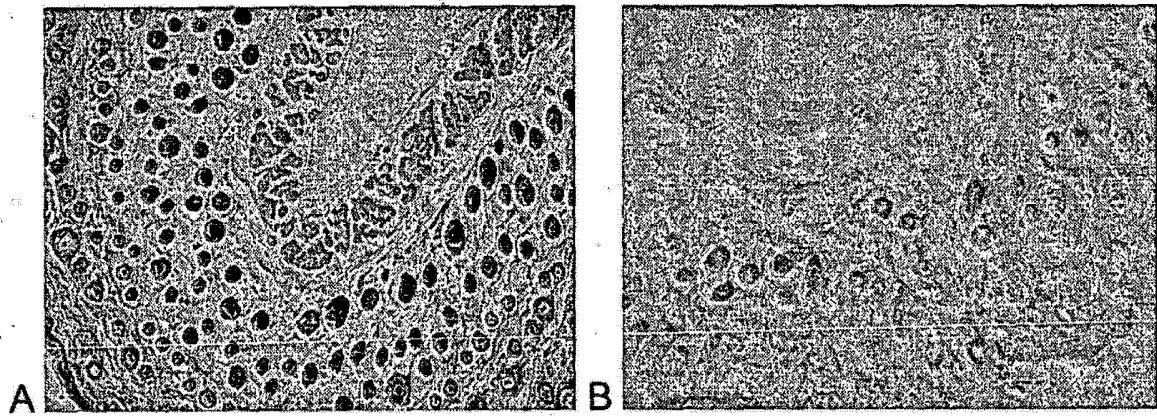


图 4

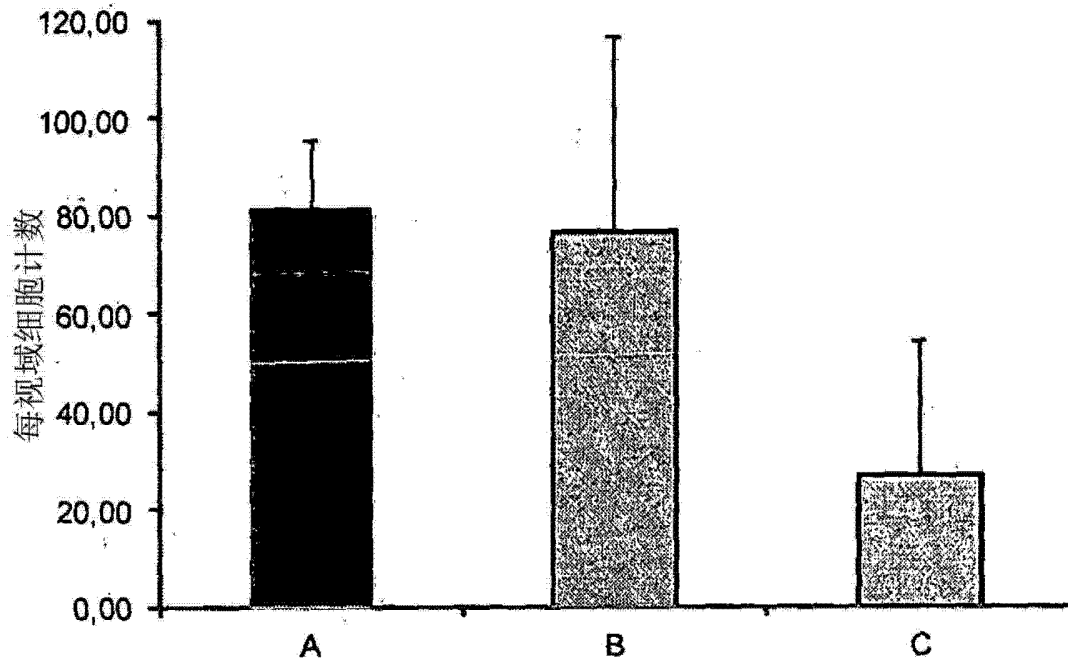


图 5