

MIEMDNPI

DIRECCIÓN NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

SOLICITUD DE:

PATENTE INVENCION

PATENTE PERFECCIONAMIENTO

REVALIDA DE PATENTE

MODELO DE UTILIDAD

REVALIDA DE MODELO DE UTILIDAD

MODELO INDUSTRIAL

REVALIDA DE MODELO

INDUSTRIAL

Reservado para la Administración

NUMERO:

FECHA Y HORA DE PRESENTACION

FIRMA DEL FUNCIONARIO

SOLICITANTE

Nombre: Biolab Sanus Farmacêutica Ltda.

Nacionalidad:

BRASIL

Domicilio: Av. Paulo Ayres, 280 Vila Iasi, Taboão da Serra, São Paulo, 04071-900

País: BR

Nombre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Nacionalidad:

BRASIL

Domicilio: Av. Paulo Gama 110, Farroupilha, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 90046-900

País: BR

INVENTOR

Nombre: ADRIANA RAFFIN POHLMANN; DENISE SOLEDADE JORNADA; LUDMILA PINHEIRO DO NASCIMENTO; SILVIA STANISÇUASKI GUTERRES.

TITULO: NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA DE FINASTERIDA Y MINOXIDIL, PROCESO DE PREPARACIÓN, SUSPENSIÓN ACUOSA CONTENIENDO LA MISMA, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA, Y SU USO

AGENTE

Nombre: BACOT SILVEIRA, OSCAR TULIO

Código: 18

Domicilio: 25 DE MAYO 576

DECLARACION DE PRIORIDAD / DIVISIONAL

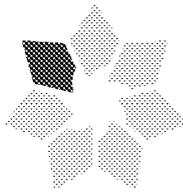
Número	Fecha	País	Clasificación Internacional
BR 10 2012 022036 9	31/08/12	BRASIL	

OTROS DATOS PARA LOS QUE NO SE REIVINDICA PRIORIDAD

Número	Fecha	País
--------	-------	------

DECLARO QUE LOS DATOS QUE ANTECEDEN CORRESPONDEN A LA REALIDAD AL DIA DE HOY.

OSCAR BACOT SILVEIRA (18)



MIEMDNPI

DIRECCIÓN NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTES

PATENTE DE INVENCION

MODELO DE UTILIDAD

MODELO INDUSTRIAL

ESPACIO RESERVADO PARA LA ADMINISTRACION

Int. Cl.

Fecha solicitud:

Número solicitud:

Fecha resolución:

Número resolución:

NOMBRE INVENTOR: ADRIANA RAFFIN POHLMANN; DENISE SOLEDADE JORNADA; LUDMILA PINHEIRO DO NASCIMENTO; SILVIA STANISQUASKI GUTERRES.

TITULO: NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA DE FINASTERIDA Y MINOXIDIL, PROCESO DE PREPARACIÓN, SUSPENSIÓN ACUOSA CONTENIENDO LA MISMA, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA, Y SU USO

SOLICITANTE

Nombre: Biolab Sanus Farmacêutica Ltda. País BR

Domicilio: Av. Paulo Ayres, 280 Vila Iasi, Taboão da Serra, São Paulo, 04071-900

Nombre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS País BR

Domicilio: Av. Paulo Gama 110, Farroupilha, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 90046-900

AGENTE

Nombre: BACOT SILVEIRA, OSCAR TULIO

Código 18

Domicilio: 25 DE MAYO 576



PRIORIDAD

O



REVALIDA

País: BRASIL

Fecha 31/08/12

Número: BR 10 2012 022036 9

OSCAR BACOT SILVEIRA (18)

NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA DE FINASTERIDA Y MINOXIDIL, PROCESO DE PREPARACIÓN, SUSPENSIÓN ACUOSA CONTENIENDO LA MISMA, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA, Y SU USO

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica, de vehiculación tópica, para el tratamiento de la alopecia, dicha composición comprende nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocapsoides, como aquí en
10 alguna parte son definidos, conteniendo dos principios activos, finasterida y minoxidil, aditivos y vehículo farmacéuticamente aceptables. La invención además incluye un proceso de preparación de las nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocapsoides de finasterida y minoxidil,
15 apropiadas para una composición de vehiculación tópica para el tratamiento de la alopecia, así como el uso de dichos nanocapsoides para la preparación de una composición farmacéutica.

20

FUNDAMENTOS DE LA INVENCION

La caída capilar, llamada también calvicie, puede manifestarse de formas variadas. La misma puede ser irreversible, en los casos clasificados como alopecias cicatriciales, donde hay destrucción del folículo capilar, o
25 reversible en los casos no cicatriciales que tienen causas variadas, pudiendo ser originaria de tratamiento farmacológico, del tipo de alimentación, de stress fisiológico o psicológico, de infección fúngica, de quimioterapia o por herencia genética. Debido a esto, son utilizados diversos

tratamientos farmacológicos y no farmacológicos (implantes y aplicaciones de láser) en el intento de revertir esta situación.

5 En la terapéutica capilar, para que un fármaco tenga la acción deseada, es necesario que el mismo alcance el folículo capital (en la epidermis), lugar donde se encuentra la encima responsable del desencadenamiento de la patología, sin permear a los capilares sanguíneos que irrigan el folículo piloso
10 (evitando una acción sistémica). Así, para que una formulación sea efectiva, es necesario que sea capaz de promover la penetración y la retención del fármaco en su lugar de acción ((DRAKE, L., *et al.*; "The effects of finasteride on scalp skin and serum androgen levels in men with androgenetic alopecia"
15 Journal of the American Academy of Dermatology, 1999, v. 41, n. 4, p. 550-554).

La alopecia androgénica es la transformación del folículo capilar maduro (terminal) en un folículo inmaduro (velus) a
20 través de sucesivos ciclos capilares con un acortamiento del tiempo de la fase anágena. De esta forma, debido a la reducción en el tiempo de crecimiento y de desarrollo del pelo, el mismo termina tornándose progresivamente más corto, más fino y, muchas veces, sin coloración (INUI, S.; ITAMI, S.;
25 "Molecular basis of androgenetic alopecia From androgen to paracrine mediators through dermal papilla". Journal Of Dermatological Science, 2011, v. 61, p.1-6). Este es el tipo de alopecia más común y que incluye principalmente a los hombres, estando ligada, entre otros factores, a la regulación

de las hormonas sexuales. Un mayor entendimiento de la calvicie androgénica se dio con los estudios de Hamilton (1942) que describió un patrón de pérdida capilar y la fisiología de un proceso ligado a una predisposición genética del folículo capilar que ocurre bajo la influencia de las hormonas andrógenas TRÜEB, R.M.; "Molecular mechanisms of androgenetic alopecia". *Experimental Gerontology*, 2002, v. 37, n. 8-9, p. 981-990). Sin embargo, no existe un correlato entre la alopecia androgénica y los niveles de testosterona, testosterona libre y de testosterona biodisponible. Es probable que las bases patogénicas de la calvicie sean medidas a través de señalizaciones intracelulares en el folículo capilar (INUI, S.; ITAMI, S.; "Molecular basis of androgenetic alopecia: From androgen to paracrine mediators through dermal papilla". *Journal Of Dermatological Science*, 2011, v. 61, p.1-6).

A través de la acción de la enzima 5α -reductasa, la testosterona se convierte en una hormona más potente, la dihidrotestosterona (DHT). Se cree que su acción es superior a la de la testosterona por dos motivos principales: (i) la DHT no puede convertirse en estrógeno por la aromatasa, permaneciendo solo su actividad puramente androgénica, (ii) estudios *in vitro* demostraron que la DHT se une con más afinidad al receptor androgénico que la testosterona (LIU, S.; YAMAUCHI, H.; "Different patterns of 5α -reductase expression, cellular distribution, and testosterone metabolism in human follicular dermal papilla cells". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 368 p.858-864). La acción de

estas hormonas andrógenas se da por la difusión de las mismas por la membrana celular con la finalidad de unirse al receptor androgénico intracelular. Con esta unión, el complejo hormona-receptor sufre cambios conformacionales, ocurriendo de este modo, una unión del complejo con el lugar promotor en el ADN, desencadenando la producción de RNAs mensajeros que transcribirán la respuesta genética (INUI, S.; ITAMI, S.; "Molecular basis of androgenetic alopecia From androgen to paracrine mediators through dermal papilla". Journal Of Dermatological Science, 2011, v. 61, p.1-6). En la unión de la DHT con el receptor androgénico presente en el folículo capilar, la respuesta desarrollada es la disminución de la fase anágena del ciclo de crecimiento capilar y, de esta forma, el cabello pasa precozmente a la fase telógena ELLIS, J. A.; HARRAP, S. B.; "The genetics of androgenetic alopecia" Clinics in Dermatology, 2001, v. 19, p. 149-154).

La alopecia androgénica presenta un patrón en la caída capilar, lo que facilita su diagnóstico y fácilmente la diferencia de los demás tipos. Como patrón se tiene inicialmente la pérdida del cabello en la parte frontal o en el vértice solamente, pudiendo expandirse a las demás regiones. El grado de alopecia puede determinarse a través de la escala Hamilton-Norwood. Esta escala apunta a tres tipos de patrones de pérdida capilar: Patrón vértice (donde la pérdida del cabello se inicia en la parte posterior), patrón anterior (donde la pérdida de cabello de inicia en la parte frontal) y el patrón normal (iniciando la pérdida tanto en la parte frontal como en la parte posterior), siendo todos los patrones

divididos en siete etapas del cabello (SINCLAIR, R.D.; "Male androgenetic alopecia". The Journal of Men's Health & Gender, 2004, v. 1, n. 4, p. 319-327).

5 Actualmente, el tratamiento de la alopecia puede ser tanto tópico como sistémico. Entre los medicamentos aprobados por ANVISA (Brasil), pueden citarse: (i) como sistémico, el medicamento compuesto por finasterida (1 mg) de uso oral, comercializado bajo el nombre de la marca Propecia®, que actúa
10 como bloqueante de la hormona DHT, y (ii) como tópicos: (a) el medicamento a base de minoxidil, comercializado bajo el nombre de marca Regain®/ Rogain®, en forma de mousse al 2% (para mujeres) y al 5% (para hombres) y (b) el medicamento basado en alfaestradiol, comercializado bajo el nombre de
15 marca Avicis®, en forma de solución al 0,025%.

Los principios activos (finasterida y minoxidil) presentan diversas dificultades de estabilidad, biodisponibilidad y de formulación que son resultado de sus propiedades físico-
20 químicas y biológicas/fisiológicas. Para resolver o reducir las características negativas de los principios activos, se investigaron alternativas para "proteger contra su degradación" o para "aumentar su solubilidad".

25 El desarrollo de nuevos sistemas de liberación de fármacos ha sido objeto de perfeccionamientos que buscan la mejora en la eficacia terapéutica y la seguridad en el uso, a través de la modificación de los aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos. Entre los sistemas coloidales de liberación

de fármacos, se destacan las nanopartículas poliméricas y liposomas (Avnesh Kumari, Sudesh Kumar Yadav, Subhash C. Yadav, Biodegradable polymeric nanoparticles based drugdelivery systems, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 5 Volume 75, Issue 1, 1 January 2010, Pages 1-18; Vladimir P. Torchilin, RECENT ADVANCES WITH LIPOSOMES AS PHARMACEUTICAL CARRIERS, NATURE REVIEWS, VOLUME 4, FEBRUARY 2005, p. 145). Debido a sus potencialidades terapéuticas y a la mayor estabilidad durante el almacenamiento y en el contacto con los 10 fluidos biológicos, las nanopartículas poliméricas, constituidas por polímeros biodegradables, han atraído una mayor atención de los investigadores, cuando son comparadas con los liposomas (SCHAFFAZICK, S. H., *et al.*; "Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos 15 nanoparticulados para a administração de fármacos" Química Nova, 2003, v. 26, n. 5, p. 726-737).

Las nanopartículas poliméricas son sistemas coloidales conductores de fármacos que presentan diámetros entre 10 y 20 1000 nm, siendo divididas, conforme sus arquitecturas supramoleculares, en vesiculares o matriciales. Nanocápsulas (vesiculares) presentan un núcleo oleoso envuelto por una matriz polimérica, pudiendo el fármaco estar disperso en el núcleo y/o adsorbido a la pared polimérica. Las nanoesferas 25 (matriciales) no presentan el núcleo oleoso, solo la estructura polimérica, de esta forma el fármaco puede estar retenido o adsorbido en la matriz polimérica. Las nanopartículas constituidas de polímero biodegradable fueron preferidas por presentar mayor potencialidad terapéutica, alta

estabilidad en los fluidos biológicos y durante el almacenamiento ((SCHAFFAZICK, S. H., et al.; "Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para a administração de fármacos" Química Nova, 2003, v. 26, n. 5, p. 726-737).

Para la preparación de estos sistemas nanoparticulados, pueden ser utilizados diferentes procesos físico-químicos, tales como: (i) deposición interfacial de polímeros preformados, (b) *salting-out*, y la (c) emulsificación-difusión. Entre las principales técnicas para la preparación de nanocápsulas se destaca la deposición interfacial de polímeros preformados, propuesta por Fessi y sus colaboradores en 1989 (FESSI, H.; et al; "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement". International Journal of Pharmaceutics, 1989, v. 55, n. 1, p. R1-R4), en la cual el polímero es disuelto en solvente orgánico junto con el componente oleoso, el tensoactivo lipofílico y el fármaco o activo a encapsular. Esta fase orgánica/ oleosa es inyectada, bajo agitación moderada, sobre una fase acuosa, la cual está compuesta de agua y tensoactivo hidrofílico. Esta mezcla origina, de forma espontánea, las nanocápsulas, con diámetros promedios situados entre 200 y 500 nm. Finalmente, el solvente orgánico y el exceso de agua son removidos.

La mayoría de los productos de uso tópico disponibles para el tratamiento de la alopecia consiste en una formulación con los principios activos disueltos en una solución

hidroalcohólica. Mientras tanto, debido a la baja permeabilidad de algunos fármacos a través de la capa de queratina, únicamente una fracción de la dosis aplicada llega al lugar de acción, penetrando en los poros capilares y folículos (TSUJIMOTO, H., et al.; "Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, v. 17, p. 4771-4777). Como resultado, el crecimiento capilar con el uso de estos productos no supera las expectativas de los consumidores, llevando a la falta de adhesión al tratamiento. Estudios recientes confirmaron la hipótesis de que las nanopartículas pueden penetrar eficientemente en los folículos pilosos (LADEMANN, J., et al.; "Nanoparticles - An efficient carrier for drug delivery into the hair follicles". European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2007, v. 66, n. 2, p. 159-164) alcanzando estructuras funcionales profundas donde permanecen almacenadas por algunos días. En el caso de sustancias no-particuladas, no fueron observados en los folículos pilosos o en el estrato córneo tales efectos a largo plazo. Al principio, el estrato córneo no tiene la característica de reservorio de sustancias tópicamente aplicadas ya que tales sustancias permanecen localizadas en la superficie de la piel o en las capas celulares superiores (que son continuamente removidas por descamación). Por lo tanto, los folículos pilosos se convierten, a largo plazo, en los únicos reservorios para sustancias no-particuladas de uso tópico. Estas observaciones muestran que los folículos pilosos son importantes objetivos para la liberación de

fármacos, ya que están rodeados por una estrecha red de capilares sanguíneos y células dendríticas (células de Langerhans).

5 Por ejemplo, el efecto de las nanoesferas de poli(lactideo-co-glicolideo) (PLGA) conteniendo tres diferentes activos (Hinokitíol, ácido glicirretínico y 6-bencilaminopurina) para el crecimiento capilar fue evaluado *in vivo* (TSUJIMOTO, H., *et al.*; "Evaluation of the permeability
10 of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects". *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, v. 17, p. 4771-4777). Analizando la intensidad de la fluorescencia de estos principios activos en biopsias del cuero cabelludo humano, los
15 autores verificaron que las nanoesferas ejercieron un efecto de permeabilidad en los poros 2 a 2,5 veces mayor cuando fueron comparadas con el grupo de control de los mismos ingredientes activos en una solución tampón (PBS). Fue posible también visualizar un aumento en la actividad capilar, cuyo
20 ciclo pasó de la fase de reposo a la fase de crecimiento, sugiriendo que las nanoesferas de PLGA pueden ser prometedores vehículos de fármacos en los folículos pilosos.

Hasta el momento, pocos trabajos de literatura relatan el
25 vehículo de la finasterida en sistemas nanoparticulados. En el documento US20060204588, de titularidad de Elan Pharma International Limited, se describe una composición farmacéutica conteniendo finasterida nanoparticulada (teniendo un tamaño promedio inferior a 2000nm) y por lo menos un

estabilizador de superficie, que puede estar adsorbido o asociado con la superficie del principio activo. Respecto del método de preparación de la formulación nanoparticulada de finasterida, el mismo comprende dispersar la finasterida en un medio de dispersión líquido, y mecánicamente reducir el tamaño de la partícula.

El pedido de patente US20110117045, de titularidad de Fujifilm Corporation, trata de un producto a base de nanopartículas de proteína conteniendo un ingrediente activo para el tratamiento capilar, el producto está compuesto por nanopartículas producidas a partir de proteínas (como caseína, colágenos, gelatina, albumina, entre otras) estando presente también un ingrediente activo que promueve el crecimiento capilar, siendo incluida la finasterida y el minoxidil como uno de esos ingredientes activos.

En el documento WO2005000258, de titularidad de Amorepacific Corporation, son descritas las nanopartículas poliméricas automontadas comprendiendo un polímero anfifílico y un ingrediente fisiológicamente activo, siendo que el polímero anfifílico comprende policaprolactona como bloque hidrofóbico y *polietilenglicol* como bloque hidrofílico, y dicho ingrediente fisiológicamente activo está comprendido por el polímero anfifílico. El ingrediente fisiológicamente activo puede ser la finasterida (como es especificado en la reivindicación 10, ver también ejemplos 45-47) o el minoxidil (ver página 8, líneas 8-18). La motivación del perfeccionamiento reivindicado, es decir, el empleo de un

polímero anfifílico en la formación de nanopartículas
conteniendo un ingrediente activo fue la de reducir la
inestabilidad coloidal causante de la precipitación o
floculación que ocurre cuando se utiliza un polímero
5 hidrofóbico en la preparación de las nanopartículas.

Sin embargo, es deseable el empleo de un homopolímero que
es técnicamente menos complejo, y más simple de obtener que un
copolímero que en verdad es una estructura en bloques de
10 polímeros en que la proporción de las partes hidrofílica y
lipofílica es difícil de controlar, implicando así,
dificultades posteriores en la formación de nanopartículas,
especialmente de nanocápsulas.

15 Además de esto, el uso de copolímeros en bloque preparados
en la proporción 1:1 de las porciones hidrofílicas y
lipofílicas implica la falta de flexibilidad en el equilibrio
hidrófilo-lipófilo (EHL) lo que puede limitar la cualidad
nanotecnológica de la formulación. La posibilidad de
20 variación de la concentración del estabilizando (tensoactivo
hidrofílico o emulsionante) es una ventaja en la preparación
de nanopartículas). Los homopolímeros lipofílicos pueden ser
formulados como nanopartículas utilizando estabilizadores en
proporciones variadas en la formulación, propiciando una
25 optimización de la estabilidad física de los coloides
nanotecnológicos.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención tiene el objetivo de proporcionar una composición farmacéutica eficaz para el tratamiento tópico de la alopecia, dicha composición comprende nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides, conteniendo finasterida, aditivos y vehículo farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente, aditivos. La invención incluye también el proceso de preparación de las nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides de finasterida y minoxidil, que integran dicha composición farmacéutica.

Una primer concretización de la invención habla respecto de una composición farmacéutica de uso tópico comprendiendo una cantidad terapéuticamente eficaz de nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides conteniendo finasterida y minoxidil, establemente dispersos en un vehículo farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente conteniendo aditivos.

20

En una segunda concretización, dichas nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides, son formadas por medio de la preparación de las fases orgánica y acuosa, en que:

- 25 - la Fase orgánica comprende: (a) un polímero hidrofóbico, (b) un aceite fijo, (c) por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, (d) un solvente, y (e) finasterida, y
- la Fase acuosa comprende: (a) por lo menos un tensoactivo hidrofílico, (b) minoxidil, y (c) agua.

En una tercer concretización, la invención comprende el uso de nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la alopecia.

5

El proceso de preparación de la composición de la invención comprende dos etapas. La primera etapa, referente a la preparación de las nanopartículas poliméricas, preferentemente las nanocápsoides, de la invención comprende 10 las etapas de: (i) preparación de la fase orgánica por la disolución del polímero hidrofóbico y de la finasterida, un aceite fijo, por lo menos un tensoactivo de bajo EHL, en un solvente orgánico y un co-solvente; (ii) preparación de la fase acuosa por la disolución de minoxidil, de por lo menos un 15 tensoactivo hidrofílico, preferentemente neutro, en agua; (iii) inyección de la fase orgánica en la fase acuosa para permitir la formación de la emulsión primaria de nanopartículas en la interface de dos fases, siendo la mezcla mantenida bajo agitación por un tiempo suficiente para el 20 encapsulamiento adecuado de los ingredientes activos, (iv) remoción del solvente orgánico para permitir la recuperación de la fase acuosa conteniendo las nanocápsulas.

Luego de la preparación de las nanopartículas, las mismas 25 son suspendidas en un vehículo adecuado, opcionalmente, conteniendo aditivos, tales como, dispersantes, hidratantes, agentes emolientes, espesantes, secuestrantes, conservantes, antioxidantes, fragancias y similares.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la comparación entre el perfil granulométrico de los nanocapsoides de finasterida 0,20% y minoxidil 0,20% (n=3) [Gráfico 1] y de las nanocápsulas de finasterida 0,25% (n=3) [Gráfico 2].

La Figura 2 muestra una microscopia electrónica de transmisión de nanocapsoides de finasterida 0,1%.

10

La Figura 3 muestra fotografías de los animales en el primer día (foto 1), 15 días (foto 2) y 23 días (foto 3) de tratamiento para los grupos tratados con: (A) Nanocápsulas de finasterida 0,25%), (B) Nanocapsóides de finasterida 0,20% y minoxidil 0,20% y (C) Pilexil[●].

La Figura 4 ilustra el análisis histopatológico de la piel retirada del dorso de los animales luego de 23 días de tratamiento con (A) Nanocapsóides de finasterida 0,20% y minoxidil 0,20% y (B) Pilexil[●].

La Figura 5 muestra el número promedio de folículos maduros por campo histológico analizado (n=12) para los animales tratados con: (A) Nanocápsulas de finasterida 0,25%), (B) Nanocapsóides de finasterida 0,20% y minoxidil 0,20% y (C) Pilexil[●].

25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica eficaz en el tratamiento tópico de la alopecia, dicha composición comprendiendo sistemas nanoparticulados, preferentemente nanocápsoides de finasterida y minoxidil, vehículos farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente conteniendo aditivos.

El término nanocápsóide, como es utilizado aquí, significa nanocápsulas poliméricas preparadas por un proceso de nanoencapsulación en que es utilizado, en la fase orgánica, un solvente y un co-solvente.

La invención incluye también el proceso de preparación de las nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides de finasterida y minoxidil, que integran dicha composición.

La finasterida es un azo-esteroide sintético con potente acción antagonista selectiva sobre la enzima 5α -reductasa del tipo 2. La finasterida actúa por la unión irreversible a la enzima, impidiendo la conversión de la testosterona a su metabolito activo, la dihidrotestosterona (DHT). El uso de la finasterida fue inicialmente aprobado para la reducción del tamaño de la próstata con obstrucción urinaria asociada (hiperplasia benigna de próstata), visto que la DHT en hombres, a pesar de ser responsable por el desarrollo de la próstata, puede estar involucrada en el desarrollo de la hiperplastía. Sin embargo, se observó que los pacientes que

hacían uso de este fármaco presentaban también una reversión del cuadro de alopecia. Por este motivo, comenzaron a desarrollarse estudios para investigar el potencial de la finasterida en el tratamiento de la calvicie (SINCLAIR, R. D.;
5 "Male androgenetic alopecia: part II". *The Journal of Men's Health & Gender*, 2005, v. 2, n. 1, p. 38-44). Un estudio realizado por Kaufman y colaboradores (2008), con 1553 hombres entre 18 y 41 años, evaluó la acción de la finasterida en la dosis de 1 mg por día frente a un placebo, durante cinco años.
10 Como resultado el tratamiento con finasterida llevó a una disminución en la probabilidad de la pérdida visible del cabello, comparado con el aumento de la probabilidad de pérdida visible de cabello en los pacientes tratados con placebo. En este estudio, al final de 5 años, el 75% de los
15 pacientes tratados con placebo desarrollaron calvicie y solo 10% de los pacientes tratados con finasterida desarrollaron la patología. Una revisión sobre la seguridad y la eficacia de la utilización de la finasterida para el tratamiento de la alopecia androgénica en mujeres mostró, como conclusión, que
20 este fármaco puede ser utilizado de forma segura y eficaz en los casos en que el tratamiento tópico con minoxidil no sea efectivo STOUT, S. M.; STUMPF, J. L.; "Finasteride Treatment of Hair Loss in Women". *The Annals of Pharmacotherapy*, 2010, v. 44, n. 6, p.1090-1097).

25

El minoxidil fue introducido en la terapéutica en 1965 para el tratamiento de la hipertensión, sin embargo, se observó que el minoxidil administrado oralmente causaba hipertrichosis. A partir de esta evidencia y de estudios

subsiguientes, el minoxidil fue aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) para el tratamiento de la alopecia androgenética en hombres (en la concentración de 5%) y en mujeres (en la concentración del 2%). Sin embargo, si bien la
5 solución tópica de minoxidil presenta comprobada seguridad y efectividad, pueden ocurrir efectos adversos a su uso. FRIEDMAN y colaboradores (2002) relataron casos de alergia de contacto, que incluían prurito, eritema y resecaimiento del cuero cabelludo. Algunos pacientes presentaron sensibilidad al
10 minoxidil, pero principalmente al propilenglicol, componente presente en la solución tópica como co-solvente y promotor de absorción (FRIEDMAN, E. S.; et al;. "Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: Etiology and treatment". *Journal of American Academy of Dermatology*, 2002,
15 v. 46, n. 2, p. 309-312).

La presente invención evita desventajas y efectos adversos asociados con la administración sistémica de finasterida y tópica de finasterida y minoxidil para el tratamiento de la
20 alopecia con reducción de los efectos colaterales causados por estos dos principios activos.

La invención de basa en la elaboración de nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocapsóides, de finasterida y minoxidil, por medio de un método de deposición interfacial de
25 polímero preformado, en el cual es primero hecha la disolución de la finasterida, de un polímero hidrofóbico, de por lo menos un aceite fijo y de por lo menos un tensoactivo de bajo EHL (Equilibrio Hidrófilo Lipófilo), en un solvente orgánico y co-solvente, para formar la fase orgánica, y la disolución de

minoxidil y de por lo menos un tensoactivo hidrofílico, preferentemente neutro, en agua, para formar la fase acuosa.

Si bien las nanopartículas, término que incluye
5 nanoesferas, nanocápsulas y nanocapsóides, pueden ser ventajosamente producidas por la presente invención, preferentemente, la invención está particularmente dirigida a la preparación de nanocapsóides realizada, preferentemente, por el método de deposición interfacial. Sin embargo, debe
10 quedar claro que otros métodos pueden ser usados para la producción de las nanocápsulas de la invención.

Dichas nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsóides, están formadas a partir de las fases orgánicas
15 y acuosa, siendo que:

- la Fase orgánica comprende: (a) un polímero hidrofóbico, (b) un aceite fijo, (c) por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, (d) un solvente, y (e) finasterida, y

- la Fase acuosa comprende: (a) por lo menos un
20 tensoactivo hidrofílico, (b) minoxidil, y (c) agua.

Dicho polímero utilizado para encapsular la finasterida es un polímero hidrofóbico seleccionado del grupo consistiendo de polímeros vinílicos, poliésteres, poliamidas, poliuretanas, y policarbonatos. Preferentemente, el polímero hidrofóbico
25 empleado es un polímero biodegradable del grupo de los poliésteres teniendo punto de fusión menor a 120°C. Con mayor preferencia, el polímero hidrofóbico biodegradable delo grupo de los poliésteres es un poli(lactído), un poli(glicolído), copolímeros de poli(lactido-co-glicolido), una

policaprolactona, un copolímero de policaprolactona con un poliéster, con una poliamida, con una poliuretana o con un polímero vinílico, y con aún mayor preferencia, es la poli(ϵ -caprolactona).

5

Dicho aceite fijo utilizado en la fase orgánica de la preparación de las nanopartículas poliméricas de la invención es seleccionado del grupo que consiste en aceite de canola, aceite de soja, aceite de oliva, triglicéridos de la cadena
10 media, siendo preferentemente utilizados los triglicéridos de la cadena media. Entre los triglicéridos de la cadena media seccionado del grupo de triglicéridos de los ácidos cáprico y caprílico, dicaprilocaprato de propilenglicol, magrocolglicéridos de oleila, lauroila y linoleico. Con mayor
15 preferencia aún, el uso como aceite fijo, de los triglicéridos de cadena media, el triglicérido de los ácidos cáprico y caprílico.

Dicho tensoactivo lipofílico empleado en la fase orgánica
20 de preparación de las nanopartículas poliméricas de la invención es un tensoactivo de bajo EHL, preferentemente con un valor en la franja de 3 a 6, siendo líquidos o sólidos, preferentemente sólido, seleccionado del grupo que consiste en monoestearato de sorbitano, diestearato de sorbitano,
25 triestearato de sorbitano, macrocolglicéridos caprilocaproílico, lauratos de propilenglicol, caprilatos de propilenglicol, monoestearato de glicerila, oleatos de poliglicerila, o sus mezclas. Preferentemente, el tensoactivo

lipofílico utilizado en la fase orgánica de la invención es el monoestearato de sorbitano.

El solvente utilizado en la fase orgánica de preparación
5 de las nanopartículas poliméricas de la presente invención es un solvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, N-metilpirrolidona, dioxano, acetonitrila, metiletilcetona, u otro solvente que presente propiedades físico-químicas de
10 interacción intermolecular con el agua. En una concretización preferida de la invención el solvente orgánico es preferentemente la acetona.

Dicho co-solvente utilizado en la fase orgánica de la
15 preparación de nanopartículas poliméricas de la presente invención es seleccionado del grupo que consiste en de metanol, etanol, propanol, e isopropanol, u otro alcohol, mono-, di-, tri-, o polihidroxilado, glicerol, sorbitol, polietilenglicol, manitol, propilenglicol. En una
20 concretización preferida de la invención el co-solvente es preferentemente el etanol. El uso de etanol en la fase orgánica como co-solvente, propicia la formación de nanocapsoides con calidad nanotecnológica inesperada, ya que el polímero poli(ϵ -caprolactona) es insoluble en metanol o
25 etanol. Sin embargo, para tener granulometría nanoscópica, los componentes de la fase orgánica deben ser solubles y utilizados por debajo de la concentración de saturación.

La fase acuosa contiene por lo menos un tensoactivo hidrofílico para la preparación de las nanopartículas de la invención siendo de preferencia un emulsionante como polímeros polioxigenados, o un tensoactivo iónico, como lecitina, o un
5 tensoactivo neutro seleccionado del grupo consistiendo en polisorbato 20, 60 o 80, estearato de macrogol, cetoestearil éter de macrogol, lauril éter de macrogol, oleil éter de macrogol, oleato de macrogol, polioxil aceite de papaya, polioxil aceite de papaya hidrogenado, o sus mezclas.
10 Preferentemente es utilizado el polisorbato, y con mayor preferencia aún es elegido el polisorbato 80, para la fase acuosa de la preparación de las nanopartículas de la invención.

15 La suspensión acuosa de nanopartículas poliméricas comprende:

- en la fase orgánica: (a) de 0,001% a 80,0% (p/p) de finasterida, (b) de 0,01% a 30,0% (p/p) de un polímero hidrofóbico, (c) de 0,01% a 50,0% (p/p) de un aceite fijo, (d)
20 de 0,01% a 50,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, preferentemente sólido, y (e) de 10% a 80% (p/p) de un solvente orgánico; y (f) de 0,001% a 50% (p/p) de un co-solvente; y

- en la fase acuosa (a) de 0,01% a 80,0% (p/p) de
25 minoxidil, (b) de 0,05% a 20,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo hidrofílico, y (c) de 10% a 90% (p/p) de agua.

En una formulación preferencial de la suspensión acuosa, las nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocápsoides, comprenden:

- en la fase orgánica: (a) de 0,005% a 50,0% (p/p) de finasterida; (b) de 0,05% a 20,0% (p/p) de un polímero hidrofóbico, preferentemente poli(ϵ -caprolactona); (c) de 0,05% a 20,0% (p/p) de un aceite fijo, preferentemente triglicéridos de cadena media; (d) de 0,05% a 20,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo lipofílico, preferentemente el monoestearato de sorbitano; (e) de 10% a 80% (p/p) de un solvente orgánico, preferentemente la acetona; y (f) de 0,001% a 50% (p/p) de un co-solvente, preferentemente etanol; y
- 10 - en la fase acuosa: (a) de 0,005% a 50,0% (p/p) de minoxidil, (b) de 0,05% a 20,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo hidrofílico, preferentemente polisorbato y (c) de 10% a 90% (p/p) de agua.

15 La composición farmacéutica para el tratamiento de la alopecia contiene: (A) los nanocapsóides de la presente invención, comprendiendo (a) de 0,01% a 2,5% (p/p) de finasterida; (b) de 0,01% a 10,0% (p/p) de minoxidil; (c) de 0,1% a 10,0% (p/p) de un polímero hidrofóbico, preferentemente la poli(ϵ -caprolactona); (d) de 0,1% a 5,0% (p/p) de un aceite fijo, preferentemente triglicéridos de cadena media; (e) de 0,1% a 5,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, preferentemente el monoestearato de sorbitano; (f) de 0,001% a 10% (p/p) de un tensoactivo hidrofílico,

25 preferentemente el polisorbato 80; y (B) un vehículo farmacéuticamente aceptable, siendo que las cantidades de los componentes de los nanocapsóides están en porcentaje de la formulación final y dichos nanocapsóides están dispersos en dicho vehículo farmacéuticamente aceptable.

Una composición farmacéutica preferencial para el tratamiento de la alopecia de la presente invención comprende de 0,01 a 1,0% (p/p) de finasterida y 0,01% a 2,0% (p/p) de minoxidil, en forma de nanopartículas poliméricas, preferentemente en forma de nanocápsoides, dispersos en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica para el tratamiento de la alopecia contiene, opcionalmente, aditivos tales como dispersantes, tensoactivos, agentes hidratantes, agentes emolientes, espesantes, secuestrantes, conservantes, antioxidantes, fragancias y similares.

A continuación son presentadas concretizaciones específicas de la invención. Sin embargo, debe entenderse que tales ejemplos son provistos únicamente para fines ilustrativos y que varias modificaciones o cambios, en vista de las concretizaciones aquí presentadas serán sugeridas a los especialistas en la técnica y deben incluirse dentro del espíritu y el alcance de esta descripción y alcance de las reivindicaciones que la acompañan.

25

EJEMPLO 1 Preparación de los nanocapsóides de la invención conteniendo 0,20% de finasterida y 0,20% de minoxidil.

EJEMPLO 1.1: Preparación de los nanocapsóides de finasterida y minoxidil

Las suspensiones de nanocapsóides de finasterida fueron preparadas a partir de una solución orgánica de una mezcla de acetona y etanol conteniendo poli(ϵ -caprolactona), triglicérido de cadena media (Triglicéridos de ácidos cáprico y caprílico),
 5 monoestearato de sorbitano y la finasterida empleándose la composición descripta en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición de las suspensiones de nanocapsóides de poli(ϵ -caprolactona) conteniendo 0,20% de finasterida y 0,20%
 10 de minoxidil basado en la formulación final

Fase orgánica	Cantidad
<i>Triglicéridos de ácidos cáprico e caprílico</i>	3,30 ml
Monoestearato de sorbitano	770 mg
Poli(ϵ -caprolactona)	1.000 mg
Acetona	200 ml
Etanol	50 ml
Finasterida	200 mg
Fase acuosa	Cantidad
Polisorbato 80	770 mg
Minoxidil	200 mg
Agua destilada	500 ml

El polímero (Poli(ϵ -caprolactona)) fue solubilizado en la fase orgánica junto con la finasterida, los triglicéridos de ácido cáprico y caprílico y el tensoactivo de bajo EHL (monoestearato de sorbitano), bajo calentamiento moderado
 15 entre 20°C y 40°C, preferentemente a 40°C, empleando acetona

como solvente y etanol como co-solvente. El tensoactivo neutro (polisorbato) y el minoxidil fueron disueltos en agua para formar la fase acuosa. Luego de la solubilización de todos los componentes de la fase orgánica y de la fase acuosa, la fase oleosa fue inyectada, con ayuda de un embudo, sobre la fase acuosa.

Luego de la formación de la emulsión primaria de nanocápsóides de la invención, la misma se mantuvo bajo agitación moderada durante 10 minutos y, entonces, concentrada a un volumen final de 100 mL, en evaporador rotatorio bajo presión reducida en baño termostatzado en el balón de evaporación entre 10°C y 80°C, preferentemente entre 30°C y 45°C para la eliminación del solvente y co-solvente orgánicos y del exceso de agua, para ajuste de la concentración final de la finasterida y minoxidil.

EJEMPLO 1,2: Caracterización de la formulación

A. Determinación de pH

La determinación del pH se realizó en potenciómetro calibrado con solución tampón pH 4,0 y 7,0, directamente en las suspensiones, a través del promedio de tres repeticiones.

25

B. **Determinación del diámetro de partícula e índice de polidispersión por esparcimiento múltiple de luz.**

Para la determinación del diámetro y del índice de polidispersión de las nanopartículas en suspensión a través de

esparcimiento de luz dinámico se utilizó el equipo Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern, EUA. Para ello, las muestras fueron diluidas en agua MilliQ® (filtrada en filtro 0,45 µm, Millipore Millex-HP) 500 veces a temperatura ambiente y los resultados determinados a través del promedio de tres repeticiones.

C. **Determinación de la distribución de tamaño de partícula por difracción de láser.**

Para evaluar si existe la presencia concomitante de población micrométrica fueron realizados análisis de tamaño de partículas por difracción de láser (Mastersizer 2000, Malvern, UK). Los análisis se realizaron por adición de una muestra de la formulación en el accesorio de dispersión conteniendo cerca de 100 mL de agua destilada. El monto adicionado fue el suficiente para alcanzar un oscurecimiento entre 0,02 y 0,10. Para evitar interferencias la señal de fondo (del agua) fue medida antes de la adición de la muestra.

D. **Potencial zeta**

El potencial zeta de las suspensiones de nanopartículas se determinó a través de la metodología de electroforesis en el equipo Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600 (Malvern, EUA). La determinación se realizó a partir de diluciones de 500 veces en solución NaCl 10 mM (filtrada en filtro 0,45 µm, Millipore Millex-HP) y los resultados fueron obtenidos a través del promedio de tres determinaciones.

E. **Viscosidad**

La viscosidad de las suspensiones se midió utilizando un viscosímetro vibracional (SV-10, A&D Company, Japón). Para ello, la viscosidad se midió directamente en las suspensiones, durante 30 segundos con recolección de datos cada 5 segundos,

5 a una temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

F. Dosificación de Finasterida en la formulación

Para la dosificación de finasterida, la suspensión de nanopartículas poliméricas fue tratada con acetonitrila en ultrasonido (por 30 minutos) ocasionando la extracción del fármaco de la formulación. La dosificación del fármaco fue entonces realizada a través de cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE).

15 El análisis fue realizado en cromatógrafo Perkin Elmer Series 200, siendo utilizado detector ultravioleta visible (con λ de 210 nm para la finasterida), columna LiChrospher 100 RP-18 (5 μm , 250 x 4 mm), precolumna del mismo material (5 μm) y fase móvil isocrática de acetonitrila: agua (75:25), flujo de 1 mL.min⁻¹ y volumen de inyección de 100 μL .

G. Dosificación de Minoxidil en la formulación

La dosificación del minoxidil fue realizada en espectrofotómetro. Para ello la suspensión de nanopartículas poliméricas fue tratada con metanol en ultrasonido (por 30 minutos) ocasionando la extracción del fármaco de la formulación. Luego las muestras fueron leídas en

espectrofotómetro, en largo de onda de 245nm, siendo utilizado como haz referencia una formulación de nanocapsóides blancos (preparada de la misma forma, sin la presencia de los fármacos).

5

H. Verificación de la presencia de cristales

Para verificar la eventual presencia simultánea de cristales (fármaco disperso en la fase acuosa), se realizó, inicialmente, la cuantificación del fármaco por CLAE de una formulación recién preparada. Luego, esa formulación fue dividida en dos muestras: La primera fue dejada en reposo y la segunda fue agitada antes de la dosificación, la que fue nuevamente realizada luego de 30 días. De la muestra mantenida en reposo se tomó solo una alícuota del sobrenadante (evitando cualquier movimiento), de la otra muestra, se tomó una alícuota (referente al 20% del sobrenadante) luego de la agitación en vortex por 15 segundo.

I. Ensayo in vivo para la determinación de la capacidad de recuperación capilar

La técnica utilizada fue una modificación de la descripta por Matias y colaboradores (1989), aprobada por el Comité de Ética de la Universidad Federal de Rio Grande do Sul.

Para los experimentos fueron utilizados ratones-hembras, híbridos B6CBAF1, provenientes de bioterio de la Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI). Los animales quedaron bajo condiciones convencionales de temperatura y humedad relativa durante el experimento, con ciclo claro y oscuro de 12 horas

cada uno. Todos los animales recibieron inyecciones subcutáneas de testosterona 1%, dispersa en una mezcla de polisorbato 80 en agua ($100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), en la dosis de 1 mg/día. Fueron aplicadas 5 inyecciones por semana durante 4 semanas.

5

En la primer semana los animales recibieron solo las inyecciones de testosterona. El primer día de la segunda semana de experimento, todos los animales tuvieron el dorso depilado con crema depilatoria Veet® para la total remoción de los pelos. Luego de la depilación, se mantuvieron las inyecciones diarias de testosterona, siendo incrementada en el tratamiento una aplicación tópica diaria de formulación, conforme el grupo de tratamiento (placebo, tratamiento, controles). Para los grupos de tratamiento se utilizó la formulación optimizada conteniendo nanocapsóides de la presente invención, la cual fue comparada con los resultados de la formulación de finasterida al 0,25% revelada en pedido de patente co-pendiente de la misma Depositante del presente pedido de patente. Además fueron testeadas la formulación para el tratamiento tópico de la alopecia androgénica, disponible en el mercado bajo el nombre de marca Pilexil® (extracto de *Serenoa serrulada* 22,0%, Velant).

10
15
20

Para el seguimiento del crecimiento del pelo, fueron tomadas fotografías en los días 1, 15 y 23. N° 24 día los animales fueron sacrificados por dislocación de cervicales. Una muestra de piel del dorso de 4 animales de cada grupo fue removida y evaluada microscópicamente. Para ello las láminas fueron enviadas al Laboratorio Zanol, donde fueron preparadas

25

y coloridas con hematoxilina-eosina. Se procedió entonces al análisis en microscopio de luz (Zeiss - Primo Star acoplado a la cámara fotográfica Canon Power Shot, PC1250) para determinar la fase de crecimiento en la cual los pelos se encontraban (MATIAS, J. R., et al.; "Animal models of androgen-dependent disorders of the pilosebaceous apparatus. 1. The androchronogenetic alopecia (AGA) mouse as a model for male-pattern baldness. Archives of Dermatological Research, v. 281, p. 247-253, 1989).

10

Para cuantificar los datos obtenidos por histología, se procedió al conteo de los folículos maduros (con pigmentación e insertados en el tejido adiposo) de cada una de las láminas histológicas de cada grupo. Para ello, se analizaron 4 láminas por grupo, siendo que el conteo se realizó en base a 3 focos diferentes de la misma lámina, totalizando 12 campos analizados por grupo. Para la comparación entre los grupos se procedió al análisis estadístico por ANOVA ($\alpha=0,05$).

20 J. **Ensayo in vivo para la determinación de la capacidad de recuperación capilar**

Los análisis fueron realizados en microscopio electrónico de transmisión (Jeol, JEM 1200 Ex11, Centro de Microscopía Electrónica- UFRGS), operando a 80 kV. Las suspensiones diluidas fueron depositadas en películas de soporte de carbono en grids, negativamente coloradas con solución de acetato de uranila (2% m/v) y observados en magnitud de 250.000 veces.

EJEMPLO 1,3: Caracterización físico-química de la formulación de nanocapsóides conteniendo 0,20% de finasterida y 0,20% de minoxidil.

La Tabla 2 presenta los valores de diámetro (por
5 esparcimiento múltiple de luz), índice de polidispersión, potencial zeta, pH y viscosidad para la formulación de nanocapsóides conteniendo la asociación de finasterida y minoxidil de la invención.

10 **Tabla 2.** Caracterización físico-química de la formulación de nanocapsóides conteniendo la asociación de finasterida y minoxidil (0,20% de finasterida y 0,20% de minoxidil) de la invención, comparada con la caracterización de la formulación de finasterida 0,25% (como revelada en pedido co-pendiente de
15 la misma depositante del presente pedido de patente)

Análisis	Formulación 0,20% finasterida y 0,20% de minoxidil	Formulación 0,25% de finasterida
Diámetro promedio (nm)	255 ± 2	221 ± 3
Índice de polidispersión	0,22 ± 0,02	0,14 ± 0,03
Potencial zeta (mV)	-11,7 ± 1,2	-14.9 ± 2,7
pH	6,4 ± 0,1	4,6 ± 0,1
Viscosidad (mPa.s)	1,25 ± 0,19	1,21 ± 0,07

Esta formulación conteniendo dos ingredientes activos, finasterida y minoxidil, presentó características físico-

químicas próximas a las de la formulación conteniendo únicamente finasterida (nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) conteniendo 0,25% del ingrediente activo), como, por ejemplo, el diámetro y el potencial zeta. Sin embargo, el pH se
5 presentó más próximo al valor neutro, probablemente debido a la presencia de minoxidil en solución en la fase acuosa externa.

La Figura 1 presenta una comparación entre el perfil
10 granulométrico de las nanocapsóides de finasterida y minoxidil (0,20% de finasterida y 0,20% de minoxidil) de la invención y el de las nanocápsulas de finasterida (0,25% de finasterida). Conforme lo observado, los nanocapsóides de la invención conteniendo la asociación presentan la población micrométrica
15 levemente disminuida en relación a la nanométrica. Para facilitar esta visualización los perfiles del triplicado del lote de cada formulación fueron presentados en forma separada en la Figura 1.

20 Para una mejor evaluación de las características morfológicas de la formulación se procedió al análisis de microscopia electrónica de transmisión como es mostrado en la Figura 2.

25 **EJEMPLO 1,4 Ensayo para la determinación de la capacidad de recuperación capilar de nanocapsóides de finasterida y minoxidil de la invención**

La mejora en la eficacia en la capacidad de recuperación capilar por el uso de la formulación de nanocapsóides

conteniendo la asociación de los fármacos finasterida y minoxidil de la invención fue averiguada por medio de un ensayo in vivo con esta formulación de nanocápsulas que contienen 0,25% de finasterida y con el uso de una formulación
5 disponible en el mercado, que tiene indicación de acción antiandrogénica para el tratamiento de la alopecia: Pilexil® (Valeant), teniendo como activo el extracto de *Serenoa serrulata*.

10 Para la realización del ensayo, los análisis de linaje B6CBAF1 fueron tratados por una semana con inyecciones subcutáneas de testosterona y, en la segunda semana, tuvieron el dorso depilado para el tratamiento y la determinación, así, de la capacidad de recuperación capilar de las formulaciones
15 testeadas. La Figura 3 presenta esta comparación de tratamientos, a través de las fotos de los animales más representativos de cada grupo en los días 1, 15 y 23, tratados con: (A) formulación de nanocápsulas conteniendo 0,25% de finasterida, como es revelado en el pedido co-pendiente de la
20 misma Depositante del presente pedido; (B) formulación de la invención conteniendo nanocapsóides comprendiendo 0,20% de finasterida y 0,20% de minoxidil; y (C) Pilexil®.

Conforme lo observado, la formulación de la presente
25 invención presentó un resultado visual bastante superior al del producto del mercado para el tratamiento de la alopecia androgénica (Pilexil®).

Cuando es comparada con la formulación de nanocápsulas conteniendo 0,25% de finasterida, el resultado fue levemente superior. Este resultado puede ser mejor constatado cuando todos los animales de los grupos son analizados en conjunto.

5 Se puede observar un recubrimiento más completo de pelos en todos los animales del grupo tratado con la formulación de la presente invención. A su vez, en el grupo tratado con la formulación de nanocápsulas conteniendo 0,25% de finasterida, algunos animales además presentaron algunas áreas sin

10 recubrimiento total por el nuevo pelaje.

El análisis histopatológico, ilustrado en la Figura 4, y el conteo de células, ilustrado en la Figura 5, a partir de las imágenes de las láminas mostraron diferencias

15 significativas entre los grupos (ANOVA, $\alpha = 0,05$).

La formulación de nanocapsóides con asociación de los fármacos finasterida y minoxidil de la presente invención presentó un número de folículos por campo significativamente

20 superior al de la formulación de Pilexil®, siendo similar al presentado por la formulación de nanocápsulas conteniendo 0,25% de finasterida (ANOVA, $\alpha = 0,05$).

Si bien los resultados visuales, a través de las

25 fotografías de seguimiento del crecimiento de los pelos utilizando la formulación de nanocapsóides conteniendo finasterida y minoxidil de la presente invención, se han demostrado levemente superiores en comparación a los presentados con el uso de la formulación de nanocápsulas

conteniendo 0,25% de finasterida, los resultados del conteo de células mostraron similitudes entre estas dos formulaciones. Con esto, se puede concluir que la adición de minoxidil ayuda en la aceleración del crecimiento de los pelos (renacimiento),
 5 sin favorecer, sin embargo a la evolución (maduración) de los mismos. Es decir, el minoxidil acelera el crecimiento de los pelos, pero no revierte el cuadro de involución capilar que ocurre en la alopecia androgénica, reversión esta que es propiciada por la finasterida.

10 **EJEMPLO 2 Composiciones farmacéuticas comprendiendo los nanocapsóides de finasterida y minoxidil.**

Ejemplo 2.A - Formulación en forma de solución tópica

Se prepara nanocapsóides de finasterida y minoxidil como es descrito en el Ejemplo 1.1. La solución tópica es
 15 preparada dando como resultado la formulación de la Tabla 3.

Tabla 3: Formulación en forma de solución tópica conteniendo la suspensión de nanocapsóides conteniendo 0,025% de finasterida y 0,20% de minoxidil.

20

Componentes	Porcentaje
Triglicéridos de ácidos cáprico e caprílico	3,23
Monoestearato de sorbitano	0,77
Poli(ϵ -caprolactona)	1,00
Finasterida	0,025
Polisorbato 80	0,77
Minoxidil	0,20
Agua destilada	94,005

Ejemplo 2.B - Formulación en forma de gel tópico

Se prepara nanocapsóides de finasterida y minoxidil como es descrito en el Ejemplo 1.1.

5

Las suspensiones de nanocapsóides preparadas como se describe en el Ejemplo 2.A, fueron espesadas con 0,2% de Carbopol 940®. Trietanolamina q.s. fue adicionada hasta la obtención de viscosidad adecuada para la aplicación tópica. El gel resultante tiene la formulación presentada en la Tabla 4.

Tabla 4: Formulación en forma de gel tópico conteniendo la suspensión de nanocapsóides conteniendo 0,05% de finasterida y 0,25% de minoxidil.

15

Componentes	Porcentaje
Triglicéridos de ácidos cáprico e caprílico	3,23
Monoestearato de sorbitano	0,77
Poli(ε-caprolactona)	1,00
Finasterida	0,05
Polisorbato 80	0,77
Carbopol 940	0,20
Agua destilada	93,73
Trietanolamina	q.s.

EJEMPLO 2.C: Formulación en forma de loción tópica

Inicialmente se prepara la fase 1 conforme lo descrito en el Ejemplo 2.A, utilizando la composición de la fase 1 de

la Tabla 5. En forma separada, fundir los componentes de la fase 2 en baño de agua a 50°C y retirar del calor luego de la fusión. Adicionar la fase 3 a la fase 1 y dispersar bajo agitación magnética constante. Adicionar esta mezcla de las 5 fases 1 y 3 a la fase 2 fundida y enfriada a 40°C bajo agitación mecánica moderada para evitar la incorporación de aire.

Tabla 5: Formulación en forma de loción tópica conteniendo la 10 suspensión de nanocapsóides conteniendo 0,1 % de finasterida y 0,3 % de minoxidil.

Componentes Fase 1	Porcentaje (%)
Triglicéridos de ácidos cáprico e caprílico	3,23
Monoestearato de sorbitano	0,77
Poli(ε-caprolactona)	1,00
Finasterida	0,10
Polisorbato 80	0,77
Minoxidil	0,30
Agua destilada	89,53
Componentes Fase 2	Porcentaje (%)
Grasa de coco	2,0
propilparabeno	0,2
Metilparabeno	0,1
Componentes Fase 3	Porcentaje (%)
Salcare SC91 (INCI: Poliacrilamida, e Isoparafina C13-14, y	2,0

Laureth-7)	
------------	--

Todas las publicaciones y pedidos de patente mencionados en la presente descripción son indicativos del nivel de los especialistas en la técnica a la cual se refiere la invención.

5 Todas las publicaciones y pedidos de patente son aquí incorporados a título de referencia en la misma extensión como si cada publicación individual o cada pedido de patente fuera específicamente e individualmente indicado para ser incorporado a título de referencia.

10

A pesar de haber sido descritas ciertas concretizaciones, las mismas fueron presentadas como un modo ejemplificativo únicamente, y no hay intención de limitar el alcance de la invención. De hecho, las nuevas concretizaciones aquí
15 descritas pueden ser concretadas en una variedad de otras formas, más que eso, pueden realizarse varias omisiones, reemplazos y cambios en la forma de las concretizaciones aquí descritas sin alejarse del espíritu de la invención. Las reivindicaciones que acompañan esta descripción y sus
20 equivalentes son consideradas como cubriendo tales formas o modificaciones en la medida en que ellas pueden estar dentro del alcance y espíritu de la invención.

25

REIVINDICACIONES

1. Nanopartícula polimérica caracterizada por comprender los principios activos finasterida y minoxidil, siendo que dicha nanopartícula es formada a partir de la preparación de una
5 fase orgánica y una fase acuosa, en que:

- (a) la Fase orgánica comprende: (i) un polímero hidrofóbico, (ii) un aceite fijo, (iii) por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, (iv) un solvente orgánico, (v) un co-solvente y (vi) finasterida, y
- 10 (ii) la Fase acuosa comprende: (vii) por lo menos un tensoactivo hidrofílico, (viii) minoxidil, y (ix) agua.

2. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de estar en forma de
15 nanocapsóide.

3. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de que dicho polímero hidrofóbico es seleccionado del grupo que consiste en
20 polímeros vinílicos, poliésteres, poliamidas, poliuretanas y policarbonatos.

4. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizada por el hecho de que dicho polímero
25 hidrofóbico es un polímero biodegradable del grupo de los poliésteres teniendo punto de fusión menor a 120°C.

5. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada por el hecho de que dicho polímero biodegradable del grupo de los poliésteres con punto de fusión menor a 120°C es seleccionado del grupo que consiste en un poli(lactido), un poli(glicolido), copolímeros de poli(lactido-co-glicolido), una policaprolactona, y copolímero de policaprolactona con un poliéster, con una poliamida, con una poliuretana o con un polímero vinílico.

10

6. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada por el hecho de que dicha policaprolactona es la poli(ϵ -caprolactona).

15 7. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de dicho aceite fijo ser seleccionado del grupo que consiste en aceite de canola, aceite de soja, aceite de oliva, triglicéridos de cadena media, y sus mezclas.

20

8. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada por el hecho de que dichos triglicéridos de cadena media son seleccionados del grupo que consiste en triglicéridos de los ácidos cáprico y caprílico, dicaprilcaprato de propilenoglicol, macroglicéridos de oleila, lauroila, linoleoila y sus mezclas.

25

9. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de que dicho tensoactivo lipofílico de bajo EHL tiene un valor en la franja de 3 a 6 y es seleccionado del grupo que consiste en monoestearato de sorbitano, diestearato de sorbitano, triestearato de sorbitano, macroglicéridos caprilcaproílico, lauratos de propileno glicol, caprilatos de propileno glicol, monoestearato de glicerila, oleatos de poliglicerila, y sus mezclas.

10

10. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada por el hecho de que dicho tensoactivo lipofílico de bajo EHL es el monoestearato de sorbitano.

11. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de que dicho solvente orgánico es un solvente que presenta propiedades físico-químicas de interacción intermolecular con el agua y es seleccionado del grupo que consiste en acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, N-metilpirrolidona, dioxano, acetonitrilo, metiletilcetona, y sus mezclas.

12. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizada por el hecho de que dicho solvente orgánico es acetona.

13. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por el hecho de que dicho co-solvente ser

seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, e isopropanol, u otro alcohol, mono-, di-, tri-, o polihidroxilado, glicerol, sorbitol, polietilenoglicol, manitol, y propilenoglicol.

5 14. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizada por el hecho de dicho co-solvente es el etanol.

15. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación
10 1, caracterizada por el hecho de que dicho tensoactivo hidrofílico es seleccionado del grupo que consiste en polímeros polioxigenados, tensoactivo iónico y tensoactivo neutro.

15

16. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizada por el hecho de que dicho tensoactivo hidrofílico es un tensoactivo neutro seleccionado del grupo que consiste de polisorbato 20, 60 o 80, estearato de
20 macrogol, cetoestearil éter de macrogol, lauril éter de macrogol, oleil éter de macrogol, oleato de macrogol, polioxil aceite de papaya, polioxil aceite de papaya hidrogenado, y sus mezclas.

25 17. Nanopartícula polimérica de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizada por el hecho de dicho tensoactivo hidrofílico neutro es polisorbato 80.

18. Suspensión acuosa de nanopartículas poliméricas como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, dicha suspensión se caracteriza por el hecho de comprender:

- 5 (i) Una fase orgánica conteniendo: (a) de 0,001% a 80,0% (p/p) de finasterida, (b) de 0,01% a 30,0% (p/p) de un polímero hidrofóbico, (c) de 0,01% a 50,0% (p/p) de un aceite fijo, (d) de 0,01% a 50,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL, (e) de 10% a 80% (p/p) de solvente orgánico, y (f) de 10 0,001% a 50% (p/p) de un co-solvente; y
- (ii) una fase acuosa conteniendo (g) de 0,001% a 80,0% (p/p) de minoxidil, (h) de 0,05% a 20,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo hidrofílico y (i) de 10% a 90% (p/p) de agua.

15

19. Suspensión acuosa de nanopartículas poliméricas de acuerdo con la reivindicación 18, dicha suspensión se caracteriza por el hecho de comprender:

- 20 (i) Una fase orgánica conteniendo: (a) de 0,005% a 50,0% (p/p) de finasterida; (b) de 0,05% a 20,0% (p/p) de poli(ϵ -caprolactona); (c) de 0,05% a 20,0% (p/p) de triglicéridos de cadena media; (d) de 0,05% a 20,0% (p/p) de monoestearato de sorbitano; (e) de 10% a 80% (p/p) de acetona; e (f) de 0,001% a 50% (p/p) de 25 etanol; y
- (ii) Una fase acuosa conteniendo: (g) de 0,005% a 50,0% (p/p) de minoxidil; (h) de 0,05% a 20,0% (p/p) de polisorbato 80; y (i) de 10% a 90% (p/p) de agua.

20. Composición farmacéutica para el tratamiento de la alopecia caracterizada por comprender:

5 (A) nanocapsóides como son definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, dichos nanocapsóides comprendiendo (a) de 0,01% a 2,5% (p/p) de finasterida; (b) de 0,01% a 10,0% (p/p) de minoxidil; (c) de 0,1% a 10,0% (p/p) de un polímero hidrofóbico; (d) de 0,1% a 5,0% (p/p) de un aceite fijo; (e) de
10 0,1% a 5,0% (p/p) de por lo menos un tensoactivo lipofílico de bajo EHL; (f) de 0,001% a 10% (p/p) de un tensoactivo hidrofílico; y

(B) un vehículo farmacéuticamente aceptable, siendo que las cantidades de los componentes de los nanocapsóides
15 están en porcentaje de la formulación final y dichos nanocapsóides están dispersos en dicho vehículo farmacéuticamente aceptable.

21. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación
20 20, caracterizada por el hecho de: dicho polímero hidrofóbico ser la poli(ϵ -caprolactona), dicho aceite fijo ser triglicéridos de cadena media, dicho tensoactivo lipofílico de bajo EHL ser monoestearato de sorbitano y dicho tensoactivo hidrofílico ser polisorbato 80.

25

22. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación
20 o 21, caracterizada por el hecho de comprender

nanocapsoides dispersos en un vehículo farmacéuticamente aceptable conteniendo de 0,01 a 1,0% (p/p) de finasterida y de 0,01 a 2,0% (p/p) de minoxidil.

5 23. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, caracterizada por el hecho de ser de administración tópica y de estar en forma de solución, gel o de loción.

24. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación
10 20, 21, 22 o 23, caracterizada por el hecho de comprender adicionalmente aditivos seleccionados de dispersantes, tensoactivos, agentes hidratantes, agentes emolientes, espesantes, secuestrantes, conservantes, antioxidantes, fragancias y similares.

15

25. Proceso de preparación de nanopartículas poliméricas definidas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, dicho proceso siendo caracterizado por el hecho de comprender las etapas de:

20 (i) Preparación de una fase orgánica por la disolución del polímero hidrofóbico y de la finasterida, un aceite fijo, por lo menos un tensoactivo de bajo EHL, en un solvente orgánico y un co-solvente,

(ii) preparación de la fase acuosa por la disolución de
25 minoxidil de por lo menos un tensoactivo hidrofílico preferentemente neutro, en agua,

- 5 (iii) Inyección de la fase orgánica en la fase acuosa para permitir la formación de la emulsión primaria de nanopartículas en la interface de dos fases, siendo la mezcla mantenida bajo agitación por un tiempo suficiente para el encapsulamiento adecuado de los ingredientes activos,
- (iv) Remoción de por lo menos un solvente orgánico y recuperación de la fase acuosa conteniendo los nanocapsoides.

10

26. Proceso de acuerdo con la reivindicación 25, caracterizado por el hecho de que dicho polímero hidrofóbico es seleccionado del grupo que consiste en polímeros vinílicos, poliésteres, poliamidas, poliuretanas y policarbonatos.

15

27. Proceso de acuerdo con la reivindicación 26, caracterizado por el hecho de que dicho poliéster con punto de fusión menor a 120°C es seleccionado del grupo que consiste en un poli(lactido), un poli(glicolído), copolímeros de 20 poli(lactido-co-glicolído), una policaprolactona, un copolímero de policaprolactona con un poliéster, con una poliamida, con una poliuretana o con un polímero vinílico.

28. Proceso de acuerdo con la reivindicación 25, caracterizado 25 por el hecho de que las nanocapsoides de finasterida y minoxidil se obtienen por el método de deposición interfacial de polímero preformado, siendo que en una primera etapa se

realiza por disolución de la finasterida, del polímero hidrofóbico, del aceite fijo o la mezcla de aceites y de por lo menos un tensoactivo de bajo EHL en una mezcla del solvente orgánico y del co-solvente para formar la fase orgánica, y en 5 una segunda etapa se realiza la disolución del minoxidil y de por lo menos un tensoactivo hidrofílico en agua para formar la fase acuosa.

10 29. Uso de las nanocapsoides como es definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 caracterizado por el hecho de ser para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la alopecia.

15

20

25

30

RESUMEN

**NANOPARTÍCULA POLIMÉRICA DE FINASTERIDA Y MINOXIDIL, PROCESO
DE PREPARACIÓN, SUSPENSIÓN ACUOSA CONTENIENDO LA MISMA,
5 COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA, Y SU USO**

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica, de vehiculación tópica, para el tratamiento de la alopecia, dicha composición comprende nanopartículas
10 poliméricas, preferentemente nanocapsoides, conteniendo dos principios activos, finasterida y minoxidil, aditivos y vehículo farmacéuticamente aceptables. La invención además incluye un proceso de preparación de las nanopartículas poliméricas, preferentemente nanocapsoides de finasterida y
15 minoxidil, apropiadas para una composición de vehiculación tópica para el tratamiento de la alopecia, así como el uso de dichos nanocapsoides para la preparación de una composición farmacéutica.

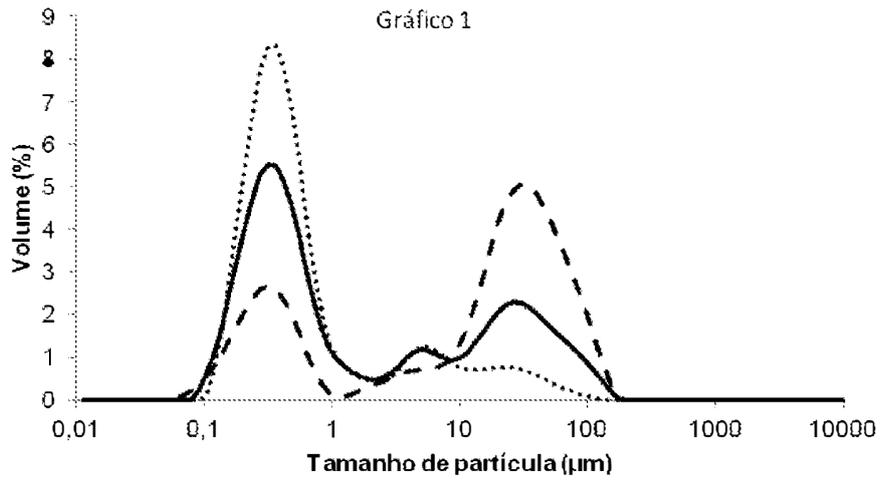
20

25

30

Figura 1

5



10

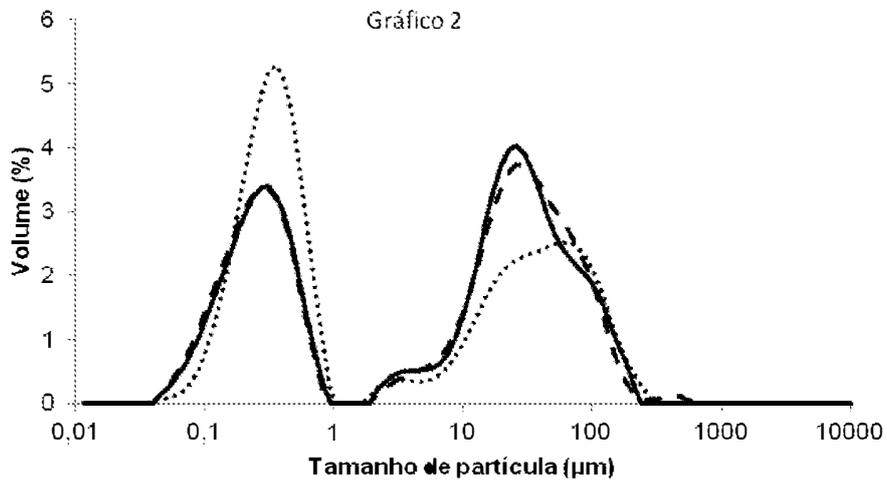


Figura 2

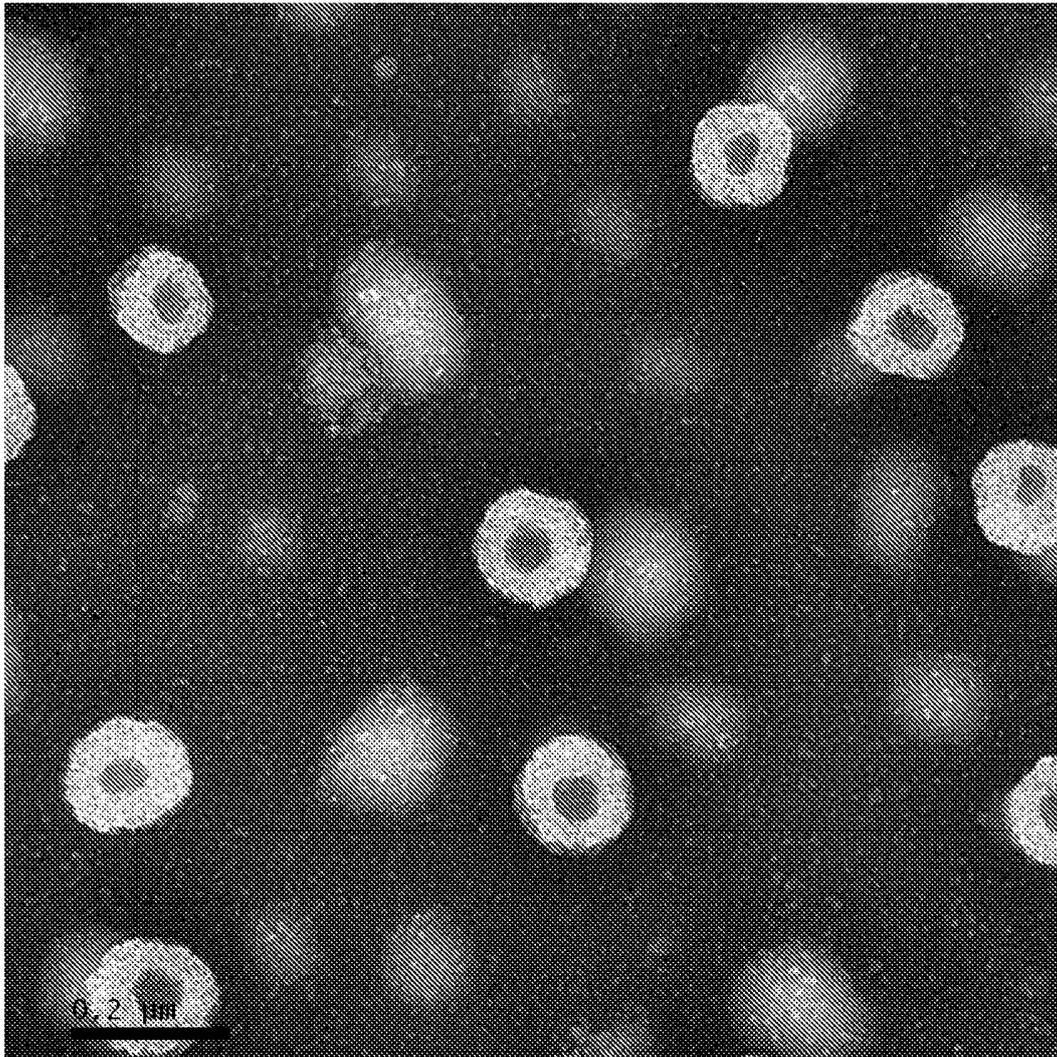
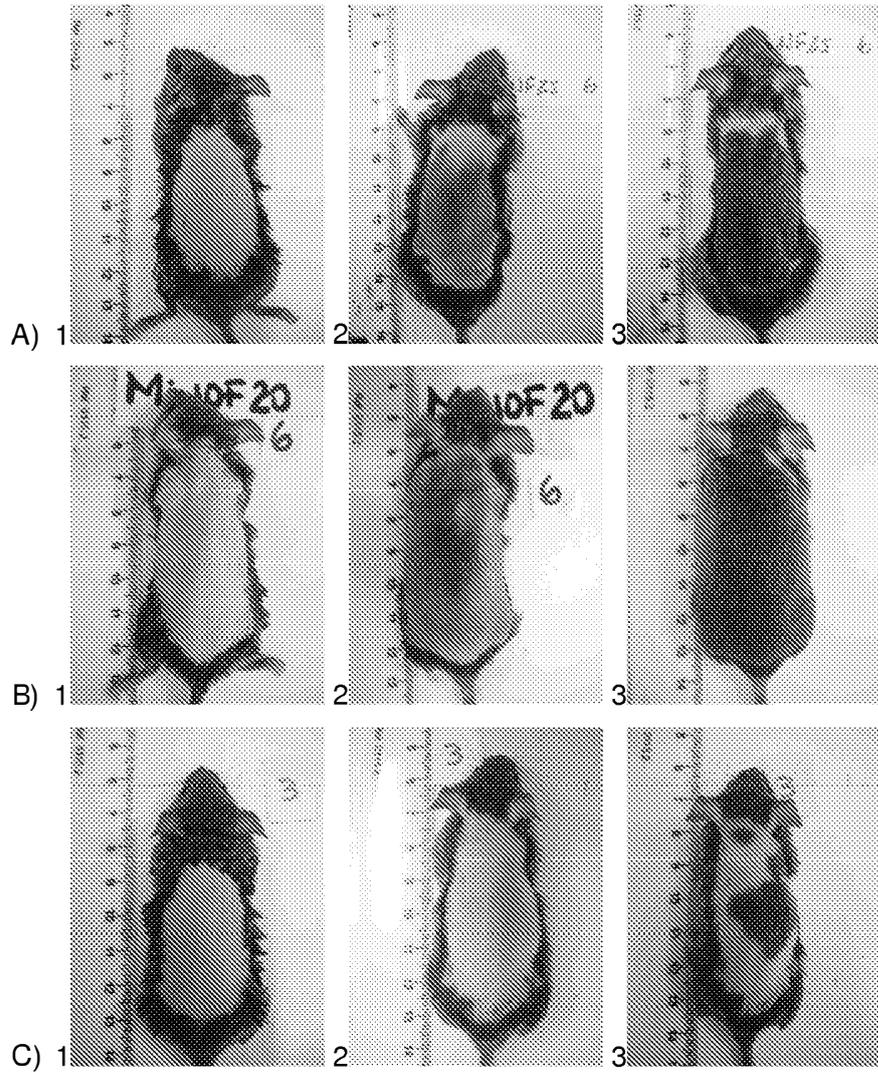
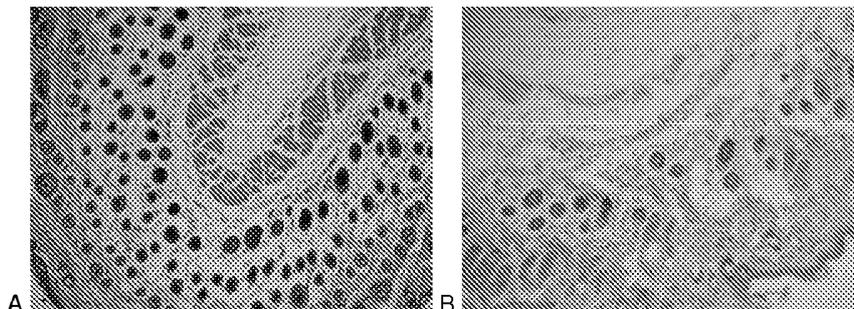


Figura 3



5

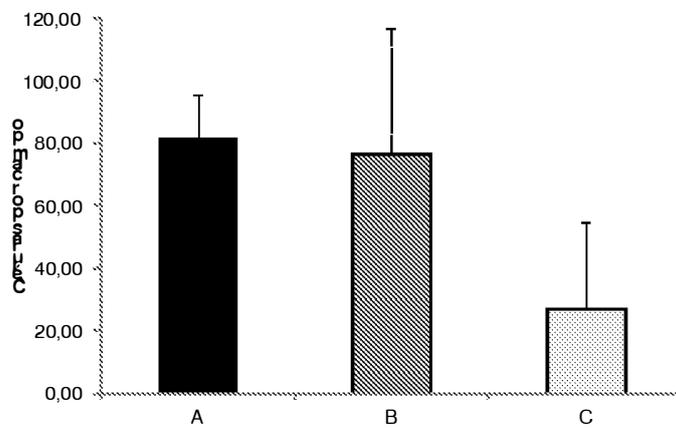
Figura 4



5

10

Figura 5



15

20