

(11) Número de Publicação: **PT 117765 B**

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(51) Classificação Internacional:

A61P 17/06 (2006.01) **A61K 9/00** (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01) **A61K 31/135** (2006.01)
A61K 31/138 (2006.01) **A61K 31/15** (2006.01)
A61K 31/343 (2006.01) **A61K 31/4525**
(2006.01)
A61K 47/02 (2006.01) **A61K 47/10** (2017.01)

(22) Data de pedido: **2022.01.28**

(30) Prioridade(s):

(43) Data de publicação do pedido: **2023.07.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2025.04.01**
67/2025

(73) Titular(es):

**FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE
DE LISBOA**
AV. PROF. GAMA PINTO 1649-003 LISBOA PT

(72) Inventor(es):

LÍDIA MARIA DIOGO GONÇALVES PT
ANA MARGARIDA TAVARES DE BARROS SANTOS PT
MARTINS PT
HELENA MARGARIDA DE OLIVEIRA MARQUES RIBEIRO PT
JOANA MARQUES MARTO PT
SANDRA ISABEL DIAS SIMÕES PT

(74) Mandatário:

JORGE MANUEL COSTEIRA DOS SANTOS FAUSTINO
RUA TOMÁS RIBEIRO, 45 - 5º ESQ. 1050-225 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **FORMULAÇÃO TÓPICA DE FLUVOXAMINA PARA O TRATAMENTO DE PSORÍASE**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A FLUVOXAMINA PARA UTILIZAÇÃO NO TRATAMENTO DE PSORÍASE COMO UMA FORMULAÇÃO TÓPICA. A REFERIDA FORMULAÇÃO TÓPICA TEM UMA DOSE DE FLUVOXAMINA QUE VARIA NUM INTERVALO DESDE 25 MG/G A 50 MG/G.

RESUMO

"FORMULAÇÃO TÓPICA DE FLUVOXAMINA PARA O TRATAMENTO DE PSORÍASE"

A presente invenção refere-se a fluvoxamina para utilização no tratamento de psoríase como uma formulação tópica. A referida formulação tópica tem uma dose de fluvoxamina que varia num intervalo desde 25 mg/g a 50 mg/g.

DESCRIÇÃO

"FORMULAÇÃO TÓPICA DE FLUVOXAMINA PARA O TRATAMENTO DE PSORÍASE"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a fluvoxamina para utilização no tratamento de psoríase como uma formulação tópica.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Psoríase é uma doença cutânea imunomediada crónica, com uma patogénese resultante de uma combinação de fatores genéticos e ambientais. A patogénese da psoríase é conduzida pela interação entre células imunitárias inatas e adaptativas e queratinócitos, num complexo processo mediado por citocinas e outras moléculas de sinalização. Isto leva a um processo inflamatório com proliferação aumentada de células epidérmicas, neo-angiogénese, e infiltração de glóbulos brancos na pele, o que prova as placas de psoríase características.

Diversos estudos como descrito, por exemplo, em Martins, Ana M., "The Brain-Skin Connection and the Pathogenesis of Psoriasis: A Review with a Focus on the Serotonergic System", *Cells* 2020, 9, 796, sugeriram que o neurotransmissor serotonina, um mediador chave entre a pele e o sistema neuroendócrino, também desempenha um importante papel na patogénese da psoríase.

Também, a teoria da depressão relacionada com citocinas sugere que a depressão e outros distúrbios mentais têm componentes hormonais e bioquímicos e podem envolver processos de inflamação. Para o tratamento de depressão e distúrbio de ansiedade, inibidores da recaptação de serotonina seletivos (do inglês "Selective serotonin reuptake inhibitors", SSRI) são oralmente administrados nos seguintes intervalos de dosagem:

Fluoxetina - 20 a 60 mg/por dia

Paroxetina - 20 a 50 mg/por dia

Escitalopram - 10 a 20 mg/por dia

Fluvoxamina - 50 a 300 mg/por dia

Sertralina - 25 a 200 mg/por dia

Além disso, mostrou-se também que os referidos fármacos utilizados para tratar a depressão, como mencionado acima, têm efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, além disso da sua ação antidepressiva. Estes fármacos desempenham um papel indireto na psoríase visto que estes atuam sistematicamente como antidepressivos, mas estes podem ter um efeito positivo nos sintomas dermatológicos da psoríase.

Thorslund *et al.*, "Use of serotonin reuptake inhibitors in patients with psoriasis is associated with a decreased need for systemic psoriasis treatment: a population-based cohort study", *Journal of Internal Medicine*, Volume 274, Número 3, setembro de 2013, realizou um estudo de coorte baseado na população para investigar se a psoríase foi afetada pela administração oral de SSRI, nomeadamente fluoxetina, paroxetina, citalopram, escitalopram, fluvoxamina e sertralina. O estudo, onde a fluvoxamina foi utilizada a uma 40 até 90% de um 100 mg por dia (40 a 90 mg por dia), mostrou que o tratamento de doentes com

psoríase leve com SSRI reduziu a necessidade de tratamento sistémico da psoríase. Contudo, este tipo de ação e atenuação da psoríase foi apenas revelado por antidepressivos que são administrados oralmente.

A psoríase necessita frequentemente de tratamento a longo prazo, o que pode ser um fardo. Por este motivo, a escolha do tratamento é crucial para aumentar a adesão e qualidade de vida dos doentes.

Por este motivo, existe ainda a necessidade de proporcionar um tratamento alternativo da psoríase que proporcione um meio de administração fácil e eficaz em conjunto com uma melhor eficácia de tratamento.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Surpreendentemente, o problema mencionado acima foi resolvido pela presente invenção.

A presente invenção proporciona fluvoxamina para utilização no tratamento de psoríase como uma formulação tópica.

Numa forma de realização, a fluvoxamina como uma formulação tópica tem uma dose de fármaco num intervalo desde 25 mg/g a 50 mg/g, de um modo preferido, num intervalo desde 20 mg/g a 30 mg/g e, de um modo mais preferido, a formulação tópica tem uma dose de fármaco de 25 mg/g.

Noutra forma de realização, fluvoxamina como uma formulação tópica é uma emulsão óleo-em-água.

BREVE DESCRIÇÃO DOA DESENHOS

A Figura 1 mostra o efeito anti-inflamatório *in vitro* dos SSRI (cloridrato de sertralina, cloridrato de fluoxetina, maleato de fluvoxamina, cloridrato de paroxetina e oxalato de escitalopram) inicialmente estudados na redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias por células de leucemia aguda monocítica humana (THP-1) diferenciadas. O gráfico mostra as concentrações de cada solução de SSRI que pode reduzir a concentração de citocinas produzidas (interleucina 1 beta (IL-1 β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)) em 50%. Os resultados são média \pm desvio padrão, n=6.

A Figura 2 mostra o efeito anti-inflamatório de géis de maleato de fluvoxamina e oxalato de escitalopram num modelo de óleo de Croton de dermatite atópica (modelo de inflamação) em murganhos. O controlo é o placebo, *i. e.*, o veículo das formulações de ingrediente farmacêutico ativo (do inglês "active pharmaceutical ingredient", API). Os resultados são média \pm desvio padrão, n=3.

A Figura 3 mostra o efeito anti-inflamatório de géis de maleato de fluvoxamina e oxalato de escitalopram num modelo induzido por imiquimod de psoríase (modelo de inflamação) em murganhos (IMQ+Fluvx e IMQ+Escit, respetivamente). O primeiro gráfico mostra a legenda para todos os gráficos. O controlo negativo é o placebo (IMQ+placebo), *i. e.*, o veículo das formulações de fármaco, enquanto o controlo positivo é Dermovate (IMQ+Dermovate), um fármaco anti-inflamatório. Os gráficos mostram as pontuações de PASI obtidas. Os resultados são média \pm

desvio padrão, n=6. (A) Eritema; (B) Descamação; (C) Espessura; (D) Cumulativo.

A Figura 4 mostra as imagens histológicas de pele de murganhos obtidas a partir dos estudos *in vivo* do efeito anti-inflamatório de fluvoxamina e escitalopram num modelo induzido por IMQ de psoríase da Figura 3. As medições foram realizadas em lamelas scaneadas digitalmente no NanoZoomerSQ com software NDP.view2 (Hamamatsu, Japão) correspondendo ao valor médio obtido a partir de 7 a 12 pontos diferentes para camadas de epiderme e derme. O placebo (veículo das formulações de fármaco) é o controlo negativo enquanto Dermovate é o controlo positivo (anti-inflamatório). (A) Pele normal: Sem alterações (HE; ampliação 8x); (B) Pele tratada com placebo: Hiperplasia epidérmica, difusa, moderada; hiperceratose ortoqueratótica, difusa, leve (HE; ampliação 8x); (C) Pele tratada com Dermovate: Hiperplasia epidérmica, difusa, leve; hiperceratose ortoqueratótica, difusa, leve (HE; ampliação 8x); (D) Pele tratada com Fluvoxamina: Hiperplasia epidérmica, difusa, moderada; hiperceratose ortoqueratótica, difusa, leve (HE; ampliação 8x); (E) Pele tratada com Escitalopram: Hiperplasia epidérmica, difusa, moderada; hiperceratose ortoqueratótica e paraqueratótica, difusa, leve (HE; ampliação 8x); (F) Pele tratada com Escitalopram: Área focal de erosão epidérmica extensiva coberta por crosta fibrinosa serocelular com detritos necróticos e neutrófilos, moderada (HE; ampliação 10x).

A Figura 5 mostra os resultados de testes de viscosidade (análise reológica) para as emulsões finais (F1-F5) com diferentes concentrações de maleato de fluvoxamina (composições mostradas na Tabela 4). (A) Tabela de tensão de cisalhamento;

(B) Teste de rampa de tensão de rendimento; (C) Teste de rampa para cima/para baixo.

A Figura 6 mostra os resultados dos testes oscilatórios (análise reológica) para as emulsões finais (F1-F5) com diferentes concentrações de maleato de fluvoxamina (composições mostradas na Tabela 4). (A) Teste de varrimento de amplitude de tensão; (B) Teste de varrimento de frequência; (C) Tan (δ) vs. frequência.

A Figura 7 mostra o perfil de distribuição do tamanho de gotícula para as emulsões finais (F1-F5) com diferentes concentrações de maleato de fluvoxamina e placebo (composição mostrada na Tabela 4).

A Figura 8 mostra as imagens de microscopia ótica das emulsões finais (F1-F5) com diferentes concentrações de maleato de fluvoxamina (composição mostrada na Tabela 4) e placebo obtidas com ampliação de 40x, sob luz não polarizada.

A Figura 9 mostra o efeito anti-inflamatório das emulsões com diferentes concentrações de fluvoxamina (composição mostrada na Tabela 4) num modelo induzido por imiquimod de psoríase em murganhos (IMQ+Flvx (5 mg/g), IMQ+Flvx (25 mg/g) e IMQ+Flvx (50 mg/g)). O gráfico mostra as pontuações cumulativas de PASI (eritema + descamação + espessura) para as diferentes amostras. Placebo (veículo das formulações de fármaco) (IMQ+Placebo) é o controlo negativo enquanto Dermovate (IMQ+Dermovate) é o controlo positivo (anti-inflamatório). Os resultados são média \pm desvio padrão, n=6.

A Figura 10 mostra as imagens histológicas de pele de murganhos obtidas a partir dos estudos *in vivo* do efeito anti-inflamatório das diferentes emulsões de fluvoxamina (5 mg/g, 25 mg/g e 50 mg/g) e num modelo induzido por IMQ de psoríase. As medições foram realizadas em lamelas scaneadas digitalmente no NanoZoomerSQ com software NDP.view2 (Hamamatsu, Japão) correspondendo ao valor médio obtido a partir de 7 a 12 pontos diferentes para camadas de epiderme e derme. O placebo (veículo das formulações de fármaco) é o controlo negativo enquanto Dermovate é o controlo positivo (anti-inflamatório). A composição das emulsões é mostrada na Tabela 4. (A) Pele normal: Sem alterações (HE; ampliação 5x); (B) Pele tratada com placebo: Hiperplasia epidérmica, difusa, marcada; hiperqueratose ortoqueratótica, difusa, leve; com erosões ocasionais cobertas por crosta serofibrinosa, e infiltração de células inflamatórias linfoplasmocíticas, moderada (HE; ampliação 5x); (C) Pele tratada com Dermovate: Hiperplasia epidérmica, difusa, mínima; hiperqueratose ortoqueratótica, difusa, mínima (HE; ampliação 5x); (D) Pele tratada com 5 mg/g de emulsão de Fluvoxamina: Hiperplasia epidérmica, difusa, marcada; hiperqueratose ortoqueratótica, difusa leve; e infiltração de células inflamatórias linfoplasmocíticas, leve (HE; ampliação 5x); (E) Pele tratada com 25 mg/g de emulsão de Fluvoxamina: Hiperplasia epidérmica, difusa, moderada; hiperqueratose ortoqueratótica e paraqueratótica (retenção nuclear), difusa, moderada; com erosões ocasionais cobertas por crosta serofibrinosa, e infiltração de células inflamatórias linfoplasmocíticas, moderada (HE; ampliação 5x); (F) Pele tratada com 50 mg/g Fluvoxamina emulsão: Hiperplasia epidérmica, difusa, moderada; hiperqueratose ortoqueratótica e paraqueratótica (retenção nuclear), difusa, moderada; com erosões ocasionais cobertas por

crosta serofibrinosa, e infiltração de células inflamatórias linfoplasmocíticas, leve (HE; ampliação 5x);

A Figura 11 mostra o perfil de libertação *in vitro* de fluvoxamina a partir das emulsões (2,5% p/p = 25 mg/g e 5% p/p = 50 mg/g) e uma solução, para comparação. Os resultados foram obtidos em estudos *in vitro* utilizando células de Franz. Os resultados são média \pm desvio padrão, n =6.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Para resolver os problemas identificados acima, a presente invenção proporciona fluvoxamina para utilização no tratamento de psoríase como uma formulação tópica.

No contexto da invenção, uma emulsão é um sistema heterogéneo composto por dois líquidos imiscíveis, no qual um dos líquidos está disperso homogeneamente no outro na forma de gotículas finas. Além disso, as emulsões da presente invenção são emulsões óleo em água (O/A).

Dentro da aceção da presente invenção, fluvoxamina inclui quaisquer seus sais farmacologicamente aceitáveis, ésteres ou solvatos. Em particular, é preferido maleato de fluvoxamina.

A dose de fármaco no contexto da presente invenção é entendida como a quantidade (mg) do fármaco por g de formulação. Em particular, a dose de fármaco é entendida como a quantidade de fluvoxamina, em mg, presente em 1 g da formulação preparada como descrito nos exemplos aqui abaixo.

As percentagens como indicadas referem-se a percentagens peso/peso a menos que especificado de outro modo.

No contexto da presente invenção, a quantidade de fluvoxamina pode ser referida em percentagem peso/peso ou em mg/g. Para facilidade de referência, 5% p/p de fluvoxamina corresponde a 50 mg/g.

Na presente invenção, uma formulação ou veículo tópico é definido como a substância que comporta um fármaco específico (ingrediente ativo), em particular fluvoxamina, em contacto com e através da pele.

No contexto da invenção, temperatura ambiente significa uma temperatura no intervalo de 20 a 30 °C±2 °C.

Surpreendentemente, verificou-se que a fluvoxamina, a qual é um antidepressivo que atua no sistema nervoso central (SNC) atua como um anti-inflamatório local em lesões cutâneas quando formulada como uma emulsão tópica. Em particular, fluvoxamina revelou ser um eficaz fármaco para administração tópica no tratamento de psoríase, o qual provoca um processo inflamatório na pele local e, por este motivo, a fluvoxamina consegue tratar esta doença e, em casos mais graves, consegue aliviar os sintomas provocados pela doença.

Além disso, fluvoxamina como formulação tópica revelou também surpreendentemente ser mais eficaz com uma dose de fármaco inferior, quando comparada com fluvoxamina oralmente administrada. A presente invenção mostra que uma concentração inferior de uma emulsão de fluvoxamina num intervalo de desde 25 mg/g a 50 mg/g, nomeadamente 25 mg/g, aliviou os sintomas

inflamatórios da psoríase *in vivo*, num modelo de psoríase induzida por IMQ em murganhos (como será descrito em detalhe aqui abaixo). Devido ao efeito de barreira na pele, especialmente devido ao estrato córneo (SC), este resultado é totalmente inesperado.

A principal barreira à absorção percutânea de fármacos aplicados topicamente é o SC. A estrutura do SC pode ser descrita por uma matriz multicamada de componentes hidrófobos e hidrófilos, que formam uma barreira à penetração de irritantes, alergénios, e microrganismos patogénicos através da pele. A integridade estrutural do SC é mantida pela presença de desmossomas modificados, denominados corneodesmossomas, os quais bloqueiam os corneócitos em conjunto e proporcionam resistência à tração para o SC resistir a forças de cisalhamento.

A natureza da barreira do SC depende criticamente dos seus constituintes únicos; ao contrário das membranas biológicas típicas compostas principalmente por fosfolípidos, os lípidos hidrófobos presentes nos espaços intercelulares do SC são ceramidas (45-50% consistem de uma esfingosina ou uma base de fitosfingosina à qual um ácido gordo não hidroxilo ou um ácido gordo alfa-hidroxilo está quimicamente ligado), colesterol (250 mg/g), ácidos gordos livres de cadeia longa, principalmente com comprimentos de cadeia C22 e C24 (150 mg/g, altamente enriquecidos em ácido linoleico), e 50 mg/g de outros lípidos, o mais importante sendo sulfato de colesterol, ésteres de colesterol, e glucosilceramidas (Pivetta, T.P. *et al.*, "Development of nanoparticles from natural lipids for topical delivery of thymol: Investigation of its anti-inflammatory properties", *Colloids Surf B Biointerfaces*, 164 (2018) 281-290). Estes lípidos, os quais estão organizados em bicamadas

multilamelares, regulam o fluxo passivo de água através do SC e são considerados muito importantes para a função de barreira da pele.

É conhecido na técnica que os fármacos devem ser administrados a concentrações mais elevadas topicamente do que sistematicamente, para obter efeitos semelhantes, e a presente invenção contradiz este facto e surpreendentemente permite uma melhor eficácia do tratamento com uma menor dose de fármaco.

Numa forma de realização, fluvoxamina como uma formulação tópica tem uma dose de fármaco num intervalo desde 25 mg/g a 50 mg/g, de um modo preferido, num intervalo desde 20 mg/g a 30 mg/g. Numa forma de realização preferida, a formulação tópica tem uma dose de fármaco de 25 mg/g.

Formulações semissólidas, tal como cremes, géis e loções, são os veículos farmacêuticos preferidos para terapia tópica devido ao facto de que estas permanecem *in situ* e normalmente proporcionam uma libertação de fármaco prolongada.

EXEMPLOS

A presente invenção é descrita mais detalhadamente e especificamente fazendo referência aos exemplos, os quais não se destinam a ser limitativos.

1. Estudos de pré-formulação

1.1 Desenvolvimento de formulações inicial

O processo de pré-formulação consistiu de estudos de solubilidade, escolha de emulsionantes, agentes espessantes e fase oleosa e a preparação e caracterização das formulações iniciais.

1.1.1 Estudos de solubilidade

Diversos solventes de emulsão pré-formulação foram utilizados em testes de solubilidade dos API os quais são 5 SSRI. Os solventes da emulsão pré-formulação foram como se segue: Emosmart™ C28 (cuja composição conhecida contém alceno C21-C28), Emosmart™ V21 (cuja composição conhecida contém alceno C18-C21), Tegosoft® CT (cuja composição conhecida contém triglicéridos caprílico/cáprico), água; outros possíveis solventes foram Tegosoft® TN (cuja composição conhecida contém benzoato de alquilo C12-15), Tegosoft® APM (cuja composição conhecida contém éter miristílico PPG-3), Tegosoft® TIS (cuja composição conhecida contém Triisoestearina), Tegosoft® XC (cuja composição conhecida contém caprilato de fenoxietilo), Massocare IPI (cuja composição conhecida contém isoestearato de isopropilo), Miristato de isopropilo, Cegesoft® C24 (cuja composição conhecida é palmitato de etil-hexilo), Transcutol® P (cuja composição conhecida é éter monoetílico de dietilenoglicol).

Os melhores resultados foram obtidos com Transcutol® P, o qual foi utilizado como um humectante e incorporado em todas as emulsões de teste.

1.1.2 Escolha de outros componentes

Os outros componentes da formulação, tal como emulsionantes, agentes espessantes e a fase oleosa, foram escolhidos destes aqui mencionados abaixo:

(i) Exploração de diferente emulsionantes (a uma concentração de 3%) para criar emulsões O/A: Abil® Care XL 80 (cuja composição conhecida contém Bis-PEG/PPG-20/5 PEG/PPG-20/5 Dimeticona, Metoxi PEG/PPG-25/4 Dimeticona, Triglicérido Caprílico/Cáprico), Abil® Care 85 (cuja composição conhecida contém Bis-PEG/PPG-16/16 PEG/PPG-16/16 Dimeticona, Triglicérido Caprílico/Cáprico, Tego® Care LTP (cuja composição conhecida contém laurato de sorbitano, laurato de poliglicerilo-4, citrato de dilaurilo), Tego® Wipe Lux (cuja composição conhecida contém citrato de dilaurilo, estearato de etil-hexilo, óleo refinado de sementes de algodão, fenoxietanol, laurato de poliglicerilo-4, laurato de sorbitano), Fluidifeel™ Easy (cuja composição conhecida contém lauril glucósido (e) miristil glucósido (e) laurato de poliglicerilo-6).

(ii) Testagem de agentes espessantes acrilados (duas concentrações diferentes, 1,5% e 2%): Sepinov® EMT 10 (cuja composição conhecida contém copolímero de acrilato de hidroxietilo/taurato de acriloldimetilo sódico) e Sepiplus® 400 (cuja composição conhecida contém poliacrilato-13 (e) poliisobuteno (e) polissorbato 20).

(iii) A fase oleosa foi composta por Emosmart™ V21, Emosmart™ C28, e Tegosoft® CT. Os estudos de pré-formulação incluíram aumento da fase oleosa de 9% para 15%.

Os testes de pré-formulação conduziram a 23 formulações diferentes (sem API).

1.1.3 Preparação e caracterização das emulsões

Emulsões óleo em água (O/A) foram preparadas através de um processo a frio, realizado a temperaturas ambiente como divulgado em Cox, R., "Cold processing of emulsions", Cosmet. Toliletries, 2013, pp. 1-8. O processo consistiu na preparação separada de uma fase aquosa e uma oleosa. Após as duas fases serem manualmente homogeneizadas, estas foram emulsionadas à temperatura ambiente com mistura de elevado cisalhamento a uma taxa de cerca de 10000 rpm/min (IKA T25 Ultra Turrax) durante cerca de 1 minuto. As formulações desenvolvidas foram testadas para: (i) pH, (ii) análise organolética macroscópica (viscosidade e separação de fases), (iii) teste de estabilidade física (centrifugação), (iv) tipo de emulsão, (v) caracterização física (análise do tamanho de gotícula, análise microscópica, e estudos reológicos). Foi aplicado um método de validação/exclusão.

1.2 Escolha de conservantes

Cinco diferentes conservantes foram testados, nomeadamente: Geogard Ultra® (1,5%) (cuja composição conhecida contém Gluconolactona, Benzoato de Sódio), Álcool benzílico (1%), Nipagin™ M Sódico (0,18%) (cuja composição conhecida contém Metilparabeno sódico) e Nipasol M Sódico™ (0,02%) (cuja composição conhecida contém Propilparabeno sódico), Dermosoft® OMP (3%) (cuja composição conhecida contém Metilpropanodiol, caprililglicol, fenilpropanol), e SymCalmin® (2%) (cuja composição conhecida contém Butilenoglicol, pentilenoglicol,

ácido hidroxifenilpropamidobenzóico). A seleção do conservante foi baseada em estabilidade física acelerada, tamanho de gotícula, aspeto ao microscópio da emulsão, e características reológicas. A adição de conservantes requereu a adição adicional de um agente espessante, Lecigel™ (cuja composição conhecida contém copolímero de acrilatos de sódio (e) lecitina).

Os resultados obtidos conduziram à escolha da combinação Nipagin™ M Sódico (0,18%) e Nipasol M Sódico™ (0,02%) como o conservante.

1.3 Composição da formulação final

Após preparação e testagem das 23 emulsões como descrito anteriormente, foi escolhida uma formulação final com uma composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição da emulsão obtida nos estudos de pré-formulação (formulação sem API).

COMPOSIÇÃO			
	NOME QUÍMICO	% (p/p)	FUNÇÃO
FASE AQUOSA	Água purificada	Até 100	Veículo aquoso
	Éter Monoetílico de Dietilenoglicol	5,0	Humectante
	Copolímero de Acrilatos de Sódio, Lecitina	1,0	Agente espessante

(Continuação)

COMPOSIÇÃO			
	NOME QUÍMICO	% (p/p)	FUNÇÃO
	Copolímero de Acrilato de Hidroxietilo/ Acriloíldimetil- taurato de Sódio	2,0	
	Metilparabeno Sódico	0,18	Conservantes
	Propilparabeno Sódico	0,02	
	Bis-PEG/PPG-20/5 PEG/PPG-20/5 Dimeticona, Metoxi PEG/PPG-25/4 Dimeticona, Triglicérido Caprílico/Cáprico	3,0	Emulsionante
FASE OLEOSA	Alcano C18-C21	5,0	Emoliente
	Alcano C21-C28	5,0	
	Triglicéridos Caprílico/Cáprico	5,0	

2. Seleção de fármaco

2.1. Citotoxicidade In vitro e estudos anti-inflamatórios

Os cinco SSRI (sertralina, fluoxetina, paroxetina, escitalopram, fluvoxamina) foram testados *in vitro* na linha celular HaCaT de queratinócitos humanos (CLS, Alemanha) e na linha celular THP-1 monocítica humana (ATCC TIB-202™). THP-1,

macrófagos derivados de THP-1 (diferenciação induzida por 100 ng/mL de *E. coli* LPS e 100 nM de PMA durante 24 h (como divulgado em Lund, M.E. *et al.*, "The choice of phorbol 12-myristate 13-acetate differentiation protocol influences the response of THP-1 macrophages to a proinflammatory stimulus", *J Immunol Methods*, 430 (2016) 64-70), e células HaCaT foram expostas a meio contendo diferentes concentrações de fármaco durante 24 h.

A citotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio de resazurina, o qual quantifica células metabolicamente ativas como divulgado em Nociari, M.M. *et al.*, "novel one-step, highly sensitive fluorometric assay to evaluate cell-mediated cytotoxicity", *J Immunol Methods*, 213 (1998) 157-167. As concentrações inibidoras (IC₅₀) foram calculadas utilizando o software Gnumeric Prism v5.0. Os resultados de IC₅₀ obtidos para as diferentes células são mostrados na Tabela 2. Sertralina é o fármaco mais citotóxico, enquanto fluvoxamina e escitalopram mostram baixa citotoxicidade.

Tabela 2. Concentração de SSRI que reduziu a viabilidade celular para 50% após 24 h de incubação. THP-1 und. - células indiferenciadas, THP-1 dif. - células diferenciadas com 100 ng/mL de LPS e 100 nM de PMA. Os resultados são média±DP, n=6.

Fármaco	IC ₅₀ (µM)		
	HaCaT	THP-1 und.	THP-1 dif.
Sertralina	36±3	34±5	28±6
Fluoxetina	48±10	50±2	53±1
Fluvoxamina	> 200	> 200	> 200

Paroxetina	48±8	28±6	31±2
Escitalopram	> 200	> 200	> 200

A ação anti-inflamatória foi testada por ensaios de diferenciação celular e determinação de imunoensaio de citocinas. Monócitos THP-1 foram tratados com diferentes concentrações de cada fármaco durante 2 h antes da indução da sua diferenciação com LPS e PMA (24 h). Alíquotas de sobrenadante foram depois recuperadas e armazenadas a -80 °C até determinação de citocina. As células não diferenciadas não aderentes foram separadas daquelas diferenciadas aderentes e, em ambos os casos, as células viáveis foram quantificadas utilizando o ensaio de resazurina como descrito em Nociari, M.M. *et al.* (1998). As células não tratadas expostas a LPS e PMA foram utilizadas como controlos de diferenciação de 100%, enquanto células não estimuladas foram utilizadas como controlos de branco. As citocinas pró-inflamatórias IL1- β e TNF- α foram determinadas com os Kits de Elisa DuoSet (R&D Systems), de acordo com os protocolos do fabricante. A determinação de citocinas pró-inflamatórias mostrou que fluvoxamina é o fármaco mais eficaz na redução da produção de citocinas por células THP-1 diferenciadas (Figura 1).

Os estudos de citotoxicidade e anti-inflamatórios levaram à escolha de fluvoxamina e escitalopram como os SSRI promissores para proceder para estudos adicionais.

2.2. Estudos in vivo - efeito anti-inflamatório num modelo de murganhos de dermatite atópica

Foram realizados ensaios *in vivo* ensaios num modelo de dermatite atópica (AD) (Croton Óleo Método) desenvolvidos em murganhos NMRI, como descrito em Nociari, M.M. *et al.* (1998). Géis de fluvoxamina e escitalopram foram formulados com água, álcool isopropílico e polímero, a concentrações adequadas, aplicados a uma das orelhas dos murganhos (n=3 murganhos por formulação) e deixados a secar. Uma das orelhas foi deixada por tratar e um grupo de murganhos (n=3) foi tratado com placebo (formulação sem API). Após 16 h, a espessura da orelha foi determinada com um micrómetro Mitutoya® como uma medida do edema.

Os estudos preliminares realizados utilizando o modelo de AD mostrou desvios padrão elevados e nenhuma diferenças significativas entre os dois SSRI testados, por este motivo, foram realizados estudos *in vivo* adicionais utilizando um modelo de murganhos de psoríase.

2.3. Estudos de solubilidade - adição de ciclodextrinas

Estudos de solubilidade foram necessários antes da incorporação do fármaco na formulação. Além da utilização de Transcutol-P como o melhor solvente (secção 1.1.1), duas ciclodextrinas (di-metil- β -ciclodextrina e γ -ciclodextrina) foram também testadas para a sua capacidade de complexação dos fármacos, numa solução de água purificada, Transcutol® P a 5% e 50 mg/g de fármaco.

Tabela 3. Percentagens mínimas de ciclodextrinas (CyD) necessárias para a solubilização total dos SSRI em água e 50 mg/g de Transcutol® P.

	Oxalato de escitalopram	Maleato de fluvoxamina
Di-metil-β-CyD*	>3%	12%
γ-CyD*	5%	>25%

* os resultados de CyD são representados como "% de CyD no total da formulação"

Os resultados da Tabela 3 mostraram que foram necessários 12% de di-metil- β -CyD para solubilizar totalmente maleato de fluvoxamina, enquanto oxalato de escitalopram solubilizou totalmente na presença de 5% de γ -CyD. Por este motivo, 12% de di-metil- β -CyD foi escolhido para ser utilizado nas formulações.

2.4. Estudos in vivo - Estudos anti-inflamatórios e de histologia em psoríase induzida por IMQ desenvolvida em murganhos

De modo a selecionar o API para incorporação na formulação de placebo desenvolvida (Tabela 1), foram realizados testes de atividade antipsoriática *in vivo* para os dois SSRI selecionados nos testes anteriores *in vitro* e *in vivo* (fluvoxamina e escitalopram) utilizando um modelo de psoríase induzida por Imiquimod (IMQ) (como descrito em Pivetta, T.P. et al., "Development of nanoparticles from natural lipids for topical delivery of thymol: Investigation of its anti-inflammatory properties", *Colloids Surf B Biointerfaces*, 164 (2018) 281-290).

Este estudo utilizou 36 murganhos BALB/c fêmea com idade de 6 semanas (Charles River Laboratories, França) e todas as experiências foram realizadas de acordo com o órgão de bem-estar animal da Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, aprovado pela autoridade nacional competente (Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária - DGAV) e de acordo com a Diretiva da UE (2010/63/EU), leis Portuguesas (DL 113/2013, 2880/2015, 260/2016 e 1/2019) e toda a legislação relevante. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno individuais à temperatura ambiente (20-24 °C), humidade relativa (55 ± 5%), ciclo luz/escuro durante 12 horas, e receberam uma ração padrão e água *ad libitum*. Os 36 murganhos foram aleatoriamente atribuídos a seis grupos diferentes: Grupo 1 (n = 6) - animais tratados com 60 mg de Dermovate® (contendo 0,5 mg/g de propionato de clobetasol) como um controlo positivo de inibição da inflamação; Grupo 2 (n = 6) - animais tratados com 60 mg de gel placebo; Grupo 3 (n = 6) - animais tratados com 60 mg de maleato de fluvoxamina 50 mg/g de gel; Grupo 4 (n = 6) - animais tratados com 60 mg de oxalato de escitalopram 50 mg/g de gel; Grupo 6 (n = 6) - grupo naïve.

A composição dos géis foi baseada na formulação selecionada nos estudos de pré-formulação e testes de solubilidade. Primeiro, 12% de di-metil- β -CyD foram solubilizados em água purificada, seguido pela adição de 50 mg/g do fármaco (maleato de fluvoxamina, cloridrato sertralina) sob agitação magnética. No segundo passo 0,18% de metilparabeno e 0,02% de propilparabeno foram adicionados em conjunto com 5% de Transcutol® P. O polímero HPMC foi adicionado no final e a mistura foi agitada no Ultra Turrax durante cerca de 4 minutos, até ser observada a aparência gelificada.

O estudo foi realizado durante 6 dias consecutivos, com os tratamentos aplicados todos os dias. Primeiro, todos os murganhos foram rapados na área dorsal e mantidos em gaiolas individuais. Os tratamentos foram aplicados à área rapada e, 5 horas após o tratamento, 60 mg de creme Aldara® contendo 50 mg/g de IMQ foram aplicados, para induzir psoríase. Após o primeiro dia, todos os murganhos foram visualmente examinados diariamente, após o tratamento, e a espessura da pele e peso foram medidos. Os critérios de avaliação de psoríase-inflamação foram avaliados de acordo com a pontuação clínica de PASI: eritema, descamação, e espessamento foram pontados de 0 até 4 (0: nenhum; 1: ligeiro; 2: moderado; 3: marcado; 4: muito marcado). Os resultados são resumidos na Figura 3.

Os animais foram eutanasiados no sexto dia e o tecido da pele do dorso foi fixo com uma solução de formalina a 10%. Os tecidos foram cortados em secções longitudinais de 4 µm e depois embebidos em parafina e corados com hematoxilina e eosina. A avaliação foi realizada por um patologista oculo para grupos experimentais. As medições foram realizadas em lamelas scaneadas digitalmente no NanoZoomerSQ com software NDP.view2 (Hamamatsu, Japão) correspondendo ao valor médio obtidos a partir de 7 a 12 pontos diferentes para camadas de epiderme e derme. Os resultados são mostrados na Figura 4.

Os resultados proporcionam evidência de que o tratamento com maleato de fluvoxamina levou à melhoria dos sintomas provocados pela aplicação anterior do IMQ, com a pele apresentando sintomas mais leves e alterações menos estruturais na epiderme em comparação com os outros tratamentos. Além disso, a análise estatística sugere que o tratamento com maleato de fluvoxamina apresenta resultados mais próximos do controlo

positivo do que o placebo. Em resumo, estes resultados levam à escolha de maleato de fluvoxamina para avançar para estudos adicionais.

3. Desenvolvimento e caracterização das emulsões contendo fármaco

3.1. Preparação e composição

Após escolher o maleato de fluvoxamina para ser incorporado nas emulsões de placebo, as fases aquosas e oleosas foram preparadas separadamente, à temperatura ambiente, e subsequentemente foram emulsionadas. Contudo, a incorporação do fármaco provocou alterações nas características da emulsão, nomeadamente uma perda de estrutura e consistência, o que tornou a formulação líquida. Por este motivo, foi necessário otimizar a preparação da fase aquosa adicionando o polímero HPMC, com um intervalo testado de concentrações de 0,75% a 2%. A adição de HPMC conferiu consistência às formulações desenvolvidas, mas a sua estabilidade química permaneceu baixa, com separação de fase após cada estudo de estabilidade acelerada (3 ciclos de centrifugação a 5000 rpm, 5 min cada, temperatura ambiente, realizada 1 dia após a preparação). Para impedir isto, a adição de 2% de um agente espessante e estabilizador, Sepineo™ P600, foi testada. A composição das formulações finais a serem testadas é mostrada na Tabela 4. Cada composto da formulação desempenha uma diferente e importante função que é definida como se segue: água, solvente; di-metil- β -ciclodextrina, molécula de complexação; Éter Monoetílico de Dietilenoglicol (Transcutol P), humectante; Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e Acrilamida/ Copolímero de Acriloíldimetiltaurato de Sódio/Iso-hexadecano &

Polissorbato 80 (Sepineo P 600), agentes espessantes; Bis-PEG/PPG-20/5 PEG/PPG-20/5 Dimeticona (e) Metoxi PEG/PPG-25/4 Dimeticona (e) Triglicérido Cáprico (Abil Care XL 80), tensioativo; Metilparabeno sódico (Nipagin) e Propilparabeno Sódico (Nipazol), conservantes; Alcano C18-21 (Emosmart V21), Alcano C21-28 (Emosmart C28) e Triglicéridos Caprílicos/Cápricos (Tegosoft CT), emolientes.

Tabela 4. Composição de emulsões contendo fármaco (F1-F5) e placebo.

COMPOSIÇÃO							
	NOME QUÍMICO	COMPOSIÇÃO QUANTITATIVA (% , p/p)					
		Placebo	F1	F2	F3	F4	F5
FASE AQUOSA	Água (Aqua)	até 100	até 100	até 100	até 100	até 100	até 100
	Di-metil- β -ciclodextrina	12,0	12,0	12,0	4,0	12,0	0,5
	Maleato de fluvoxamina	--	5,0	2,5	2,5	0,5	0,5
	Éter Monoetílico de Dietilenoglicol	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
	Hidroxipropil metilcelulose	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Acrilamida/ Copolímero de Acriloíldimetil Taurato de Sódio/Isohexadecano & Polissorbato 80	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

(Continuação)

COMPOSIÇÃO							
	NOME QUÍMICO	COMPOSIÇÃO QUANTITATIVA (% p/p)					
	Bis-PEG/PPG-20/5						
	PEG/PPG-20/5	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
	Dimeticona (e)						
	Metoxi PEG/PPG-25/4						
	Dimeticona (e)						
	Triglicérido Cáprico						
	Metilparabeno sódico	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
	Propilparabeno Sódico	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
FASE OLEOSA	Alcano C18-21	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
	Alcano C21-28	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
	Triglicéridos Caprílicos/ Cápricos	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Estas seis emulsões foram caracterizadas e utilizadas para testes *in vivo* adicionais.

3.2. Caracterização

3.2.1. Análise reológica

A análise de reologia é utilizada para caracterizar e estudar as alterações que ocorrem na estrutura física das emulsões quando existem variações em parâmetros físicos ou na

composição das emulsões. Diversos testes reológicos foram utilizados para caracterizar fisicamente as emulsões descritas na Tabela 4, para identificar alterações estruturais devido à presença de diferentes concentrações de di-metil- β -ciclodextrina e fluvoxamina. Os testes foram realizados num Reómetro Malvern Kinexus (Malvern Instruments, Worcestershire, RU) utilizando uma geometria de placa de cone (ângulo de cone truncado 4° e raio 40 mm), a 25 °C.

(i) Primeiro, foram realizados testes relacionados com a viscosidade das amostras: tabela da taxa de cisalhamento, rampa de tensão de rendimento e testes de rampa para cima/rampa para baixo (Figura 5.A).

A tabela do teste reológico da taxa de cisalhamento foi utilizada para caracterizar o tipo de fluido e o seu comportamento dentro de um dado intervalo de taxa de cisalhamento. Neste teste todas as formulações mostraram comportamentos semelhantes, com uma diminuição gradual na viscosidade com taxas de cisalhamento crescentes, típicas de fluidos não Newtonianos com um comportamento de pseudoplasticidade. Um modelo de Lei da Potência foi ajustado para os dados experimentais e os parâmetros obtidos (dados não mostrados) mostra que as emulsões F2, F5 e o placebo são mais viscosos, com uma rede estrutural mais estável do que as outras. Os parâmetros obtidos a partir do ajuste também apoiam que todas as emulsões têm um comportamento de pseudoplasticidade.

O teste de rampa de tensão de rendimento foi também realizado (Figura 5.B) e o modelo de Herschel-Bulkley foi ajustado aos dados experimentais. As conclusões a partir dos parâmetros obtidos (dados não mostrados) concordam com aquelas

do teste anterior, com valores típicos de fluidos não Newtonianos.

O teste de rampa para cima/rampa para baixo estudou o comportamento das emulsões durante o aumento dos valores da taxa de cisalhamento (cima) e depois disso durante a diminuição dos valores da taxa de cisalhamento (baixo) (Figura 5.C). Os resultados mostram que as emulsões têm uma resposta histerética, visto que a alteração no comportamento dos fluidos depende do aumento/diminuição na taxa de cisalhamento, também indicando que ambos os fluidos são tixotrópicos (como foi confirmado adicionalmente pelos resultados tixotrópicos).

(ii) Segundo, as amostras foram submetidas a testes oscilatórios: testes de varrimento de amplitude de tensão e varrimento de frequência.

O teste de varrimento de amplitude de tensão (γ^* (%) vs. G'/G'' (Pa)) foi realizado para definir a percentagem de tensão de cisalhamento correspondente à região linear de cada amostra (Fig. 6.A), a qual foi depois utilizada para definir os parâmetros do teste de varrimento de frequência (Fig. 6.B). Os resultados obtidos neste teste mostram $G' > G''$ para todas as emulsões, *i. e.*, o módulo elástico é superior ao módulo viscoso. O gráfico de $\tan(\delta)$ vs. frequência (Fig. 6.C) foi depois definido para a análise das propriedades líquidas ou sólidas de cada amostra. Os resultados variam dependendo da frequência, contudo todos os valores de $\tan(\delta)$ variam entre 0,1-1 para o intervalo de frequência estabelecido, significando que as emulsões têm mais propriedades sólidas do que líquidas.

(iii) Por fim, o teste de tixotropia foi realizado sob duas condições de taxa de cisalhamento diferentes: o intervalo de taxa de cisalhamento mais elevado ($0,1-50 \text{ s}^{-1}$) correspondendo à mimetização da tensão aplicada ao produto quando este é espalhado na pele, e o intervalo de taxa de cisalhamento mais curto ($0,1-2 \text{ s}^{-1}$) que mimetiza a tensão aplicada ao produto quando este sai da embalagem de armazenamento. Os resultados obtidos (não mostrados) mostram que todas as emulsões têm uma recuperação próxima de ou 90%. Para todas as emulsões exceto o placebo, os valores da viscosidade de cisalhamento obtidos para os dois intervalos aplicados foram bastante semelhantes, sugerindo que as emulsões são estruturalmente estáveis, mantendo a sua viscosidade com a aplicação de diferentes taxas de cisalhamento. As emulsões F2 e F5 tiveram viscosidade maior do que as outras formulações, para ambos os intervalos de cisalhamento. Em relação aos tempos de recuperação, todas as emulsões exceto F2, F3 e F5, tiveram tempos de recuperação maiores para uma taxa de cisalhamento maior, o que indica que estas demoram mais tempo a recuperar a sua estrutura após serem aplicadas na pele e menos tempo após aplicação da tensão na embalagem onde estas estão armazenadas. Contudo, o oposto foi observado para o placebo, F3 e F4, e estes resultados não são o que seria desejado para emulsões.

3.2.2. Tamanho de gotícula e análise de microscopia

O estudo do tamanho de gotícula procurou obter mais informação acerca da estabilidade de cada formulação, determinando o tamanho das gotículas formadas pela fase dispersa. Os estudos foram realizados em Malvern MasterSizer (Malvern Instruments, Worcestershire, RU) ligado a um acessório Hydro S com uma câmara aquática, com uma agitação de 1750 rpm, a 25 °C.

Os resultados (Figura 7, Tabela 5) mostram que o placebo, emulsões F4 e F5, são mais homogêneas, com apenas um pico definido que representa o tamanho de gotícula predominante, com um intervalo de tamanho desde 1 a 10 μm . As emulsões F1 e F3 têm perfis semelhantes, com um intervalo de tamanho maior (0,1-50 μm), o que significa menor homogeneidade do que as amostras anteriores. A emulsão F2 também revelou dois picos, mas com um volume maior de gotículas mais pequenas (~2 μm) do que gotículas maiores (~8 μm).

Tabela 5. Resultados da distribuição do tamanho de gotícula D (0,1), D (0,5), D (0,9) e Largura da Distribuição para as formulações contendo placebo e fluvoxamina (média \pm DP, n=3).

Formulação	Distribuição do tamanho de gotícula (μm)			
	Largura da Distribuição	D (0,1)	D (0,5)	D (0,9)
Placebo	1,00	1,62 \pm 0,01	2,62 \pm 0,02	4,25 \pm 0,004
F1	0,04	1,52 \pm 0,08	6,72 \pm 0,38	15,3 \pm 1,17
F2	0,38	1,29 \pm 0,03	4,09 \pm 0,86	15,0 \pm 3,72
F3	0,80	1,70 \pm 0,05	6,43 \pm 0,20	13,3 \pm 0,34
F4	0,00	1,31 \pm 0,01	2,11 \pm 0,01	3,44 \pm 0,08
F5	0,84	1,31 \pm 0,004	2,46 \pm 0,02	5,83 \pm 0,13

A caracterização microscópica das emulsões foi realizada utilizando um microscópio ótico (Nikon Y-TV55 Eclipse Ci) a ampliação 4x e 20x (Figura 8) e as imagens foram analisadas utilizando o software *ToupView*. As imagens permitiram o estudo e

comparação dos diferentes tamanhos e distribuição das gotículas nas diferentes emulsões.

As emulsões F1 e F4 apresentam visualmente um tamanho de gotícula mais pequeno e uma distribuição mais uniforme em comparação com as outras emulsões. As emulsões F3 e F4 também têm gotículas pequenas, mas com uma distribuição menos uniforme, com uma variação de tamanho maior. No caso do placebo e emulsão F5, é observado um tamanho de gotícula relativamente maior, embora a distribuição seja mais uniforme para o placebo do que para a emulsão F5.

4. Estudos anti-inflamatórios e histológicos *in vivo*

Estes estudos *in vivo* foram semelhante àqueles descritos em 2.4, mas estes procuraram testar a eficiência anti-inflamatória do placebo e emulsões desenvolvidos (Tabela 4) num modelo de psoríase induzida por IMQ. O controlo positivo da inibição da inflamação foi o tratamento com Dermovate® (contendo propionato de clobetasol a 0,05%) e o controlo negativo foi o tratamento com a formulação de placebo. As formulações de fluvoxamina foram 5, 25 e 50 mg/g com 12% de CyD.

Os resultados para a Pontuação PASI (cumulativa) são mostrados na Figura 9. Após 5 dias de tratamento, ambas as emulsões com 25 mg/g e 50 mg/g de fluvoxamina mostraram as pontuações cumulativas mais baixas, com apenas o tratamento com Dermovate mostrando uma pontuação mais baixa.

Por esse motivo, as formulações tópicas de fluvoxamina da presente invenção revelaram ser um eficaz anti-inflamatório no

tratamento de psoríase por administração de uma dose inferior àquela administrada oralmente.

Estes resultados foram apoiados adicionalmente por estudos de histologia como mostrado na Figura 10.

Visto que não existem diferenças significativas nos resultados obtidos com as duas concentrações de fármaco mais elevadas, a emulsão com 25 mg/g de fluvoxamina foi escolhida para ser utilizada como a formulação final.

5. Estudos de libertação e permeação *in vitro*

Foram realizados estudos de libertação e permeação/penetração na pele utilizando células de difusão de Franz verticais (área de difusão de 1,0 cm²) com membranas de polissulfona hidrófilas de 0,45 µm (Tuffryn®; Pall Corporation, Port Washington, NI, EUA) e pele de porco fresca, respetivamente, após a sua saturação na fase recetora durante 30 minutos. A fase recetora, composta por 0,01 M de PBS pH 7,4:etanol (70:30 % v/v), foi previamente estudada, para garantir as condições de afundamento. Doses infinitas de amostras de fluvoxamina foram aplicadas no compartimento dador sob condições oclusivas e protegidas da luz. As células de Franz foram mantidas a 32-37 °C com agitação a 300 rpm (Termóstato Julabo U3 e Agitador Multimagnético SBS®; Labexchange, Paris, França). As amostras do compartimento recetor foram recolhidas em pontos temporais predefinidos de acordo com as diretrizes internacionais, e o mesmo volume foi substituído com fase recetora fresca mantida à mesma temperatura. Para o estudo de permeação, após 24 horas a pele foi cuidadosamente limpa e cortada em pedaços pequenos.

Tetra-hidrofurano (1 mL) foi adicionado aos pedaços de pele e agitado durante 1 min num misturador vertical (29000 rpm) e sonicado durante 20 minutos, para obter a lise celular. Após filtração (0,45 µm), o sobrenadante deste ensaio e as amostras da fase recetora foram injetados no HPLC e a concentração de fluvoxamina foi determinada. Os dados (n=6) foram expressos como quantidade cumulativa de fluvoxamina libertada e permeada através das membranas sintéticas e biológicas utilizadas, respetivamente, e a quantidade de fármaco cumulativa retida nas camadas de pele, considerando a quantidade total como a dose ativa ensaiada em cada formulação. Os dados obtidos (resumidos na Figura 11 e Tabela 6) foram computados utilizando DDSolver (módulo Excel-plugin) e ajustados a diferentes modelos cinéticos.

Tabela 6. Resultados da permeação e retenção.

Amostra	Massa permeada		Massa retida	
Emulsão de 25 mg/g de Fluvoxamina	6,62±0,74	50,44±2,13	5,98±1,58	45,26±9,01
Emulsão de 50 mg/g de Fluvoxamina	0,31±0,04	52,40±4,60	1,77±0,96	301,40±161,25
Solução de 50 mg/g de Fluvoxamina	0,53±0,08	86,09±7,36	5,77±1,60	86,09±7,36

Em resumo, estes resultados demonstram a eficácia da fluvoxamina no tratamento de psoríase como uma formulação tópica, mesmo quando se aplica uma dose menor de fármaco quando comparada

com a administração oral. Em particular, mostrou-se que a fluvoxamina como uma formulação tópica é eficaz num modelo animal psoriático *in vivo*.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação tópica de fluvoxamina para uso no tratamento de psoríase, caracterizada por ter uma dose de fluvoxamina num intervalo desde 25 mg/g, inclusive a 50 mg/g, inclusive.
2. Formulação tópica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a ter uma dose de fluvoxamina num intervalo desde 20 mg/g a 30 mg/g.
3. Formulação tópica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada por ter uma dose de fluvoxamina de 25 mg/g.
4. Formulação tópica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser uma emulsão óleo-em-água.

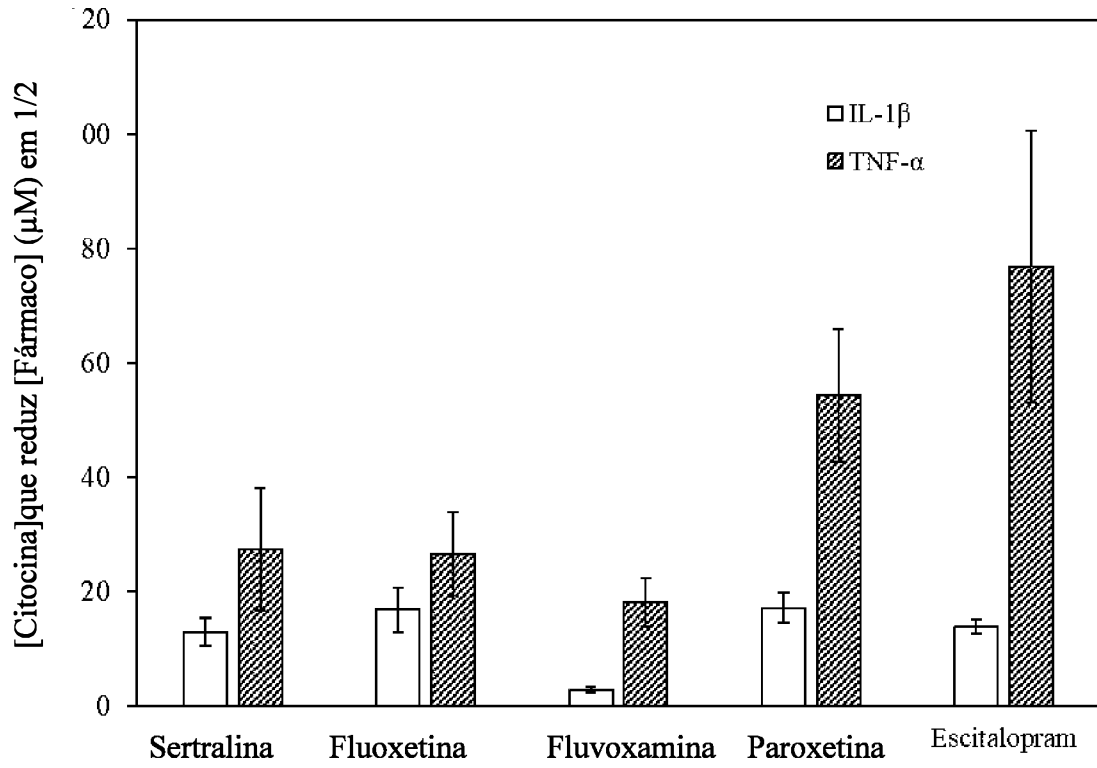


Figura 1

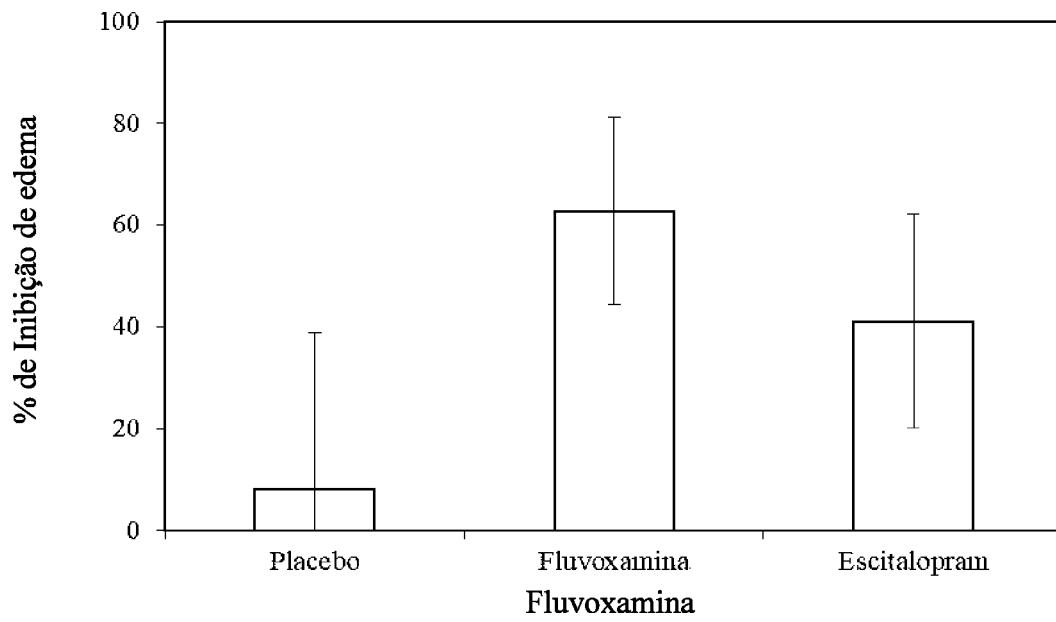


Figura 2

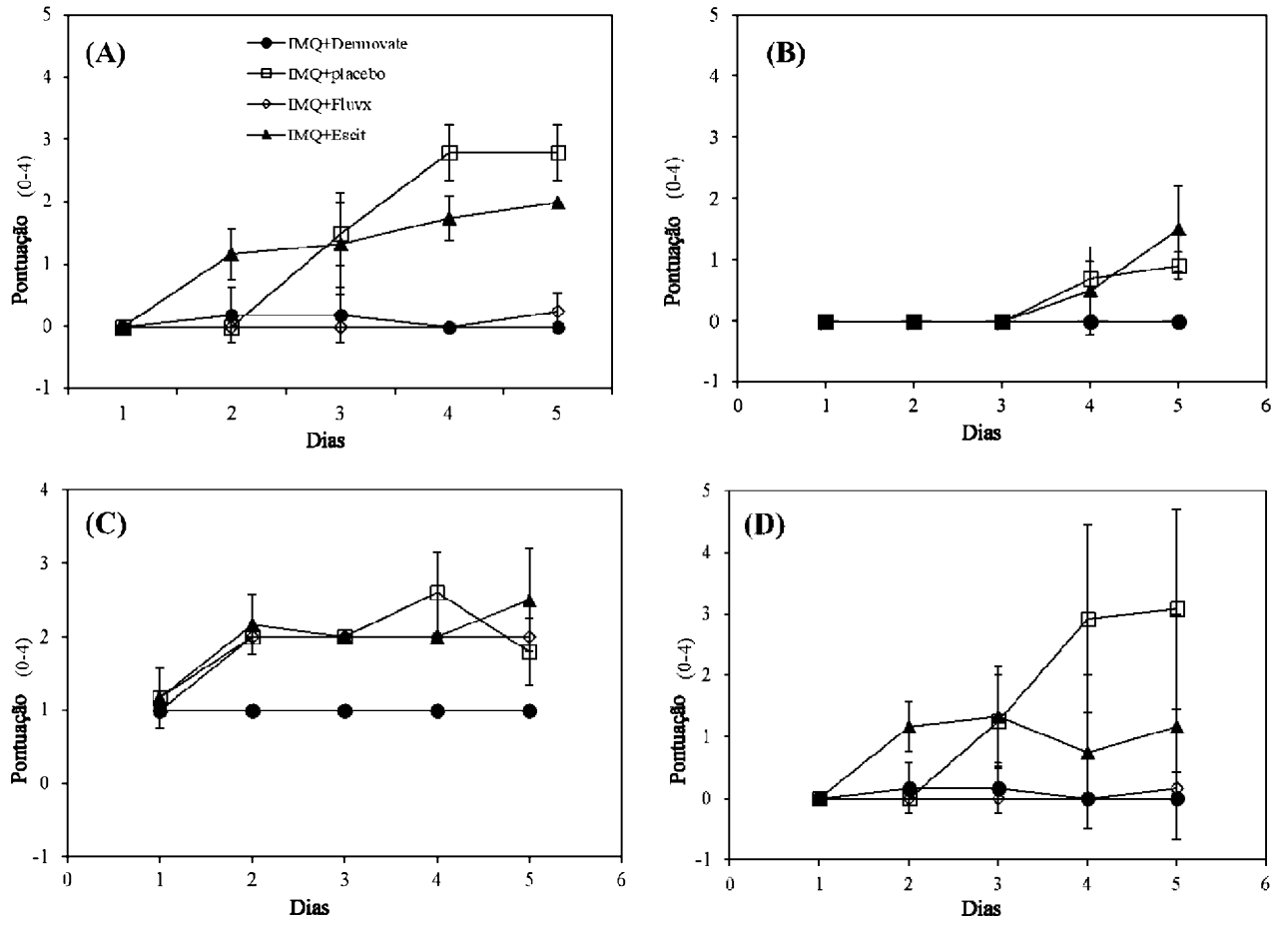


Figura 3

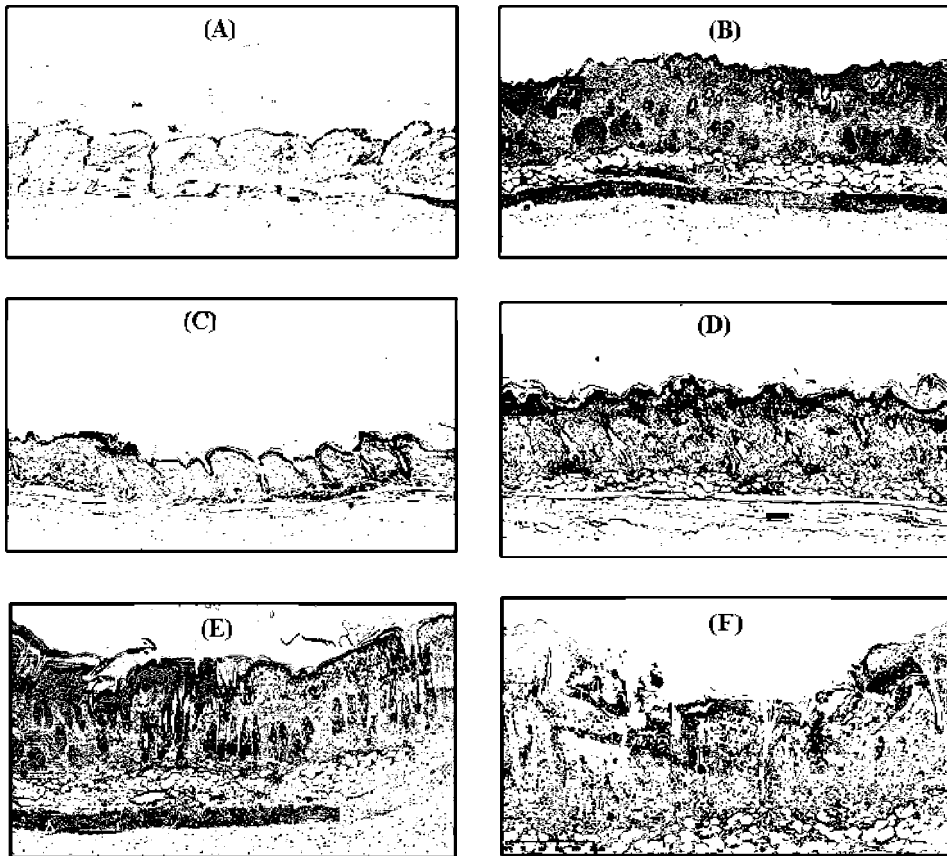


Figura 4

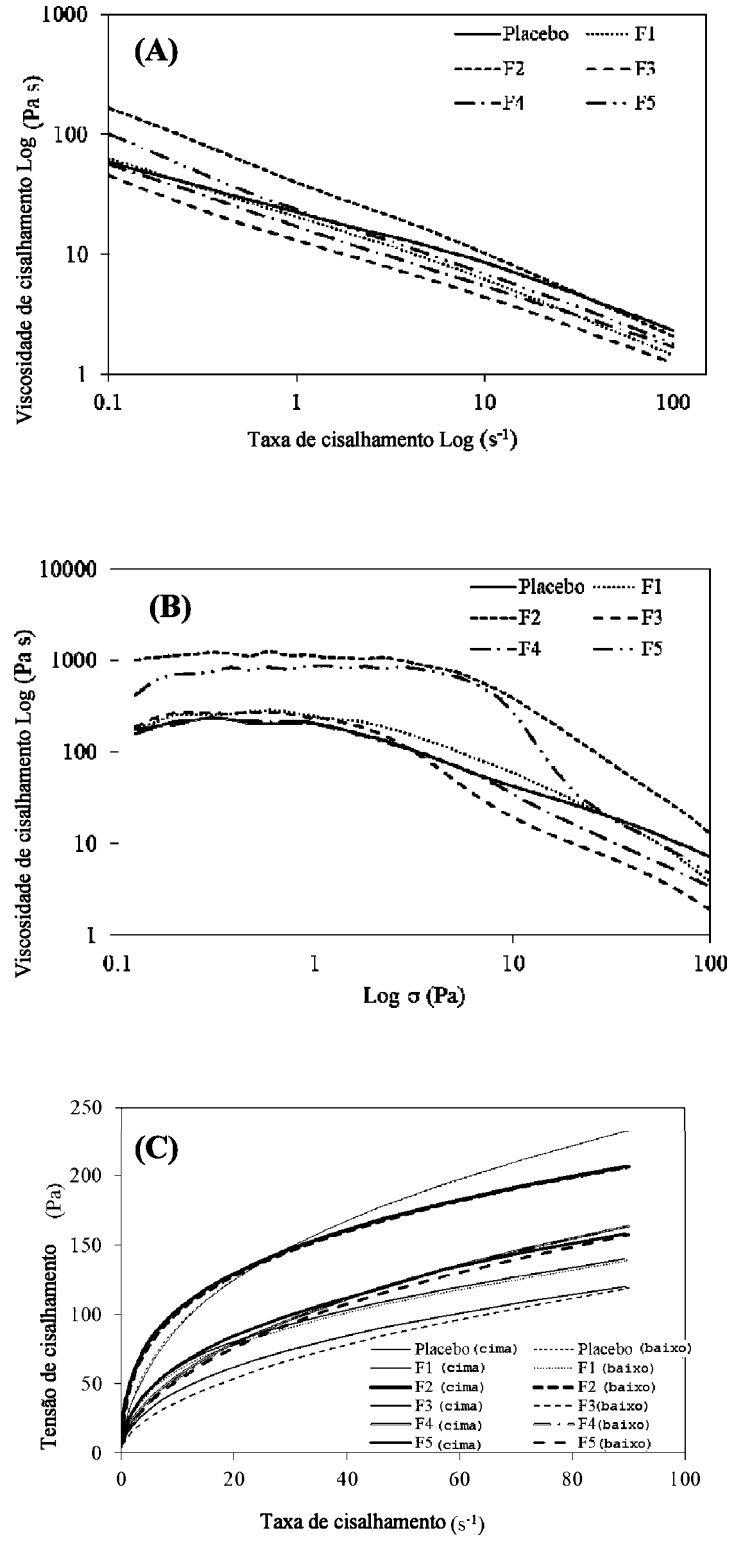


Figura 5

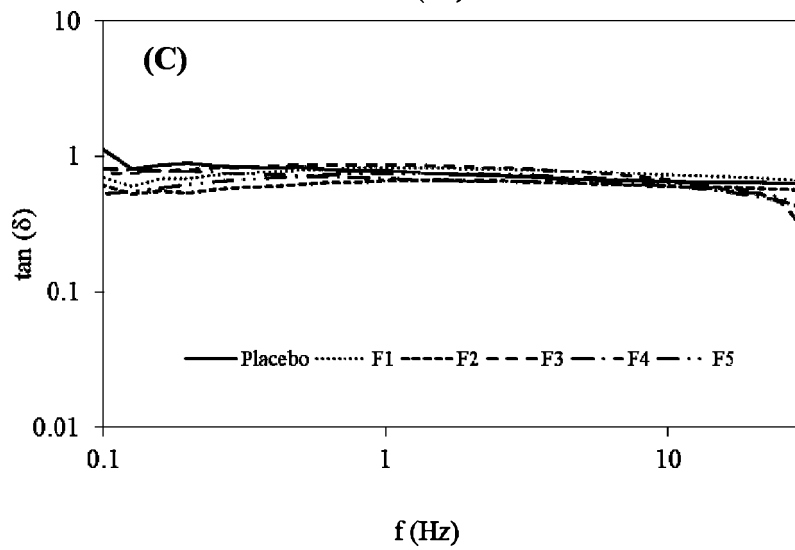
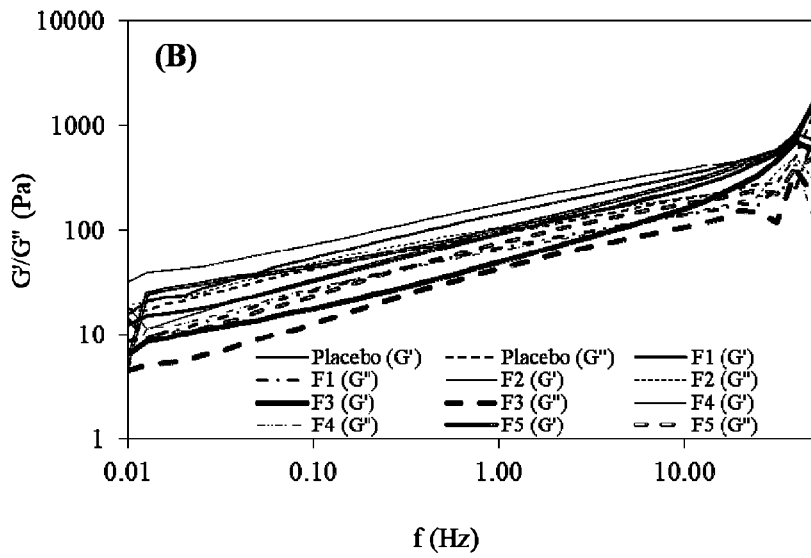
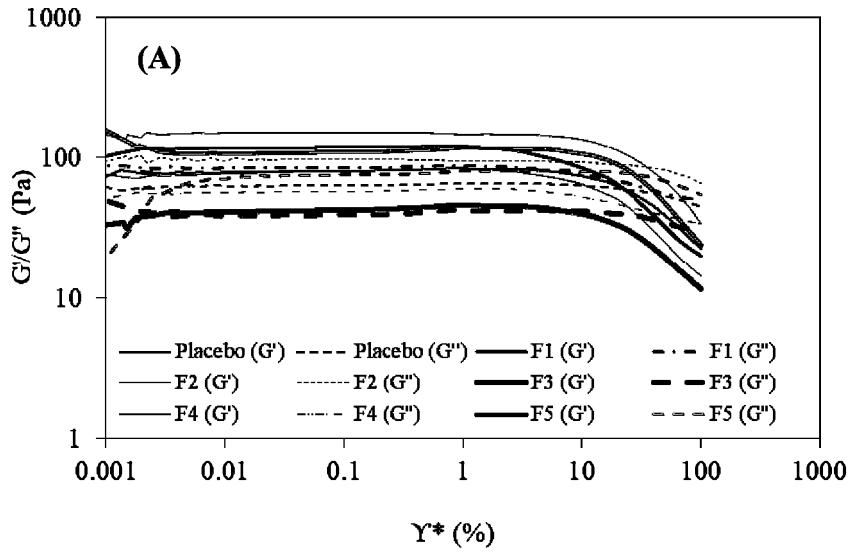


Figura 6

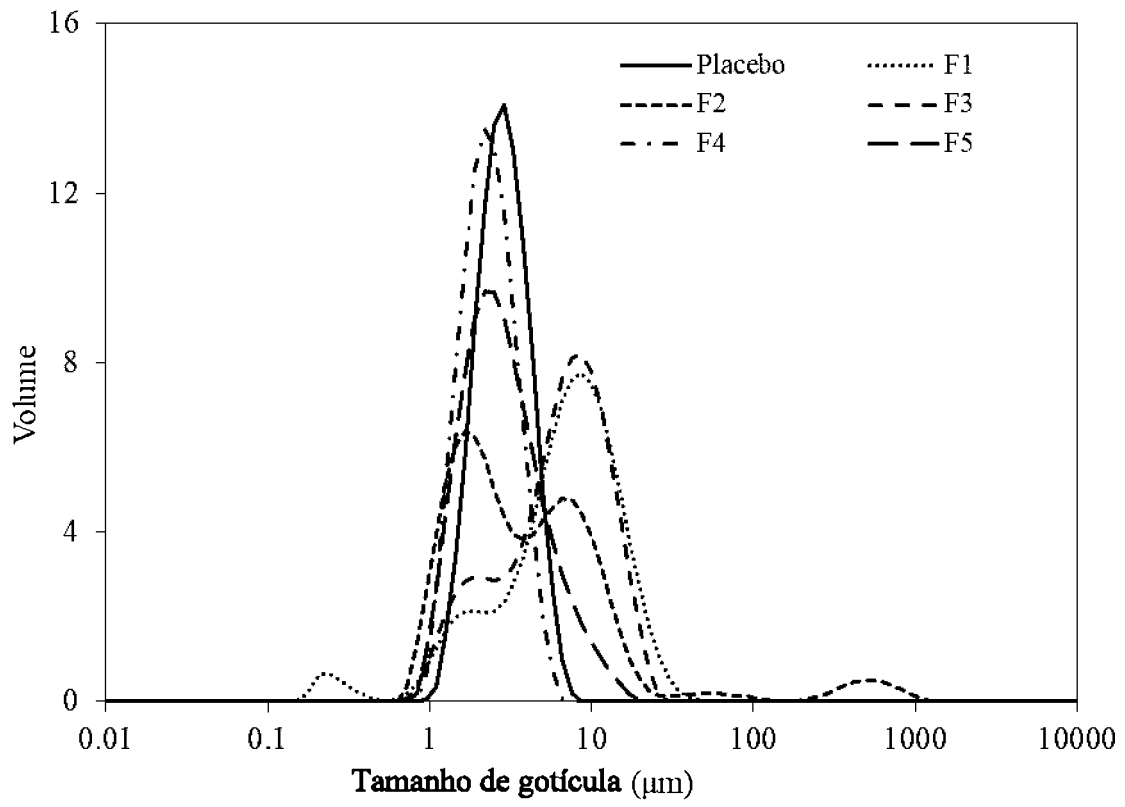


Figura 7

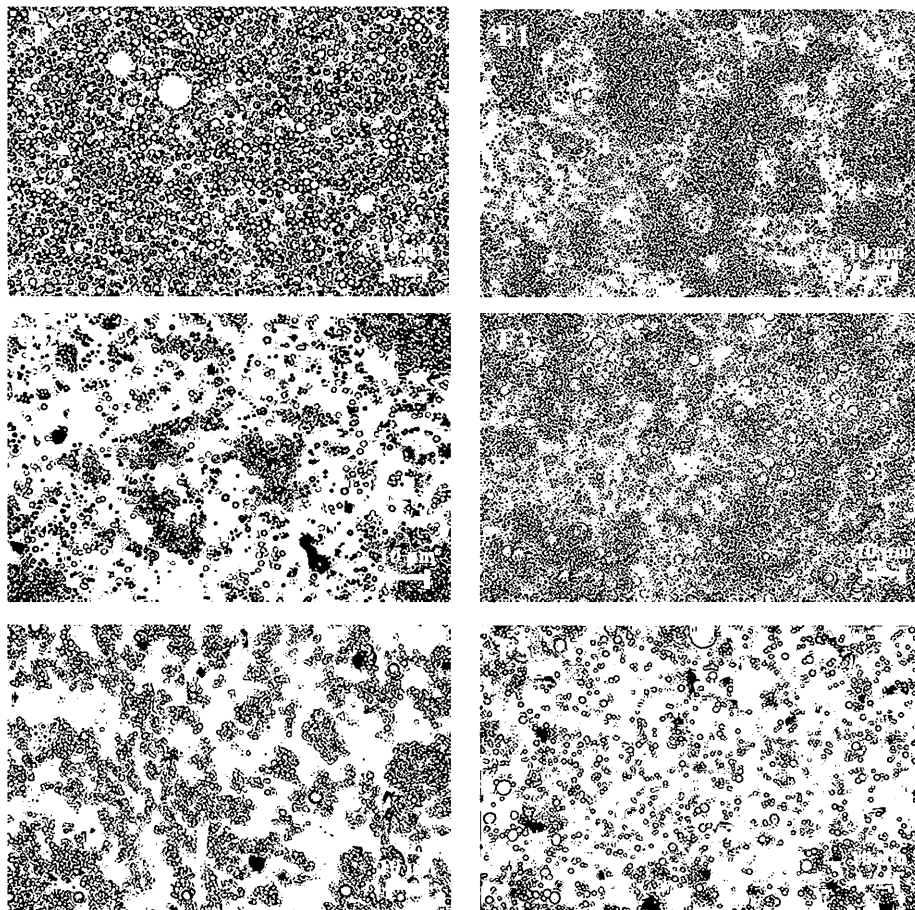


Figura 8

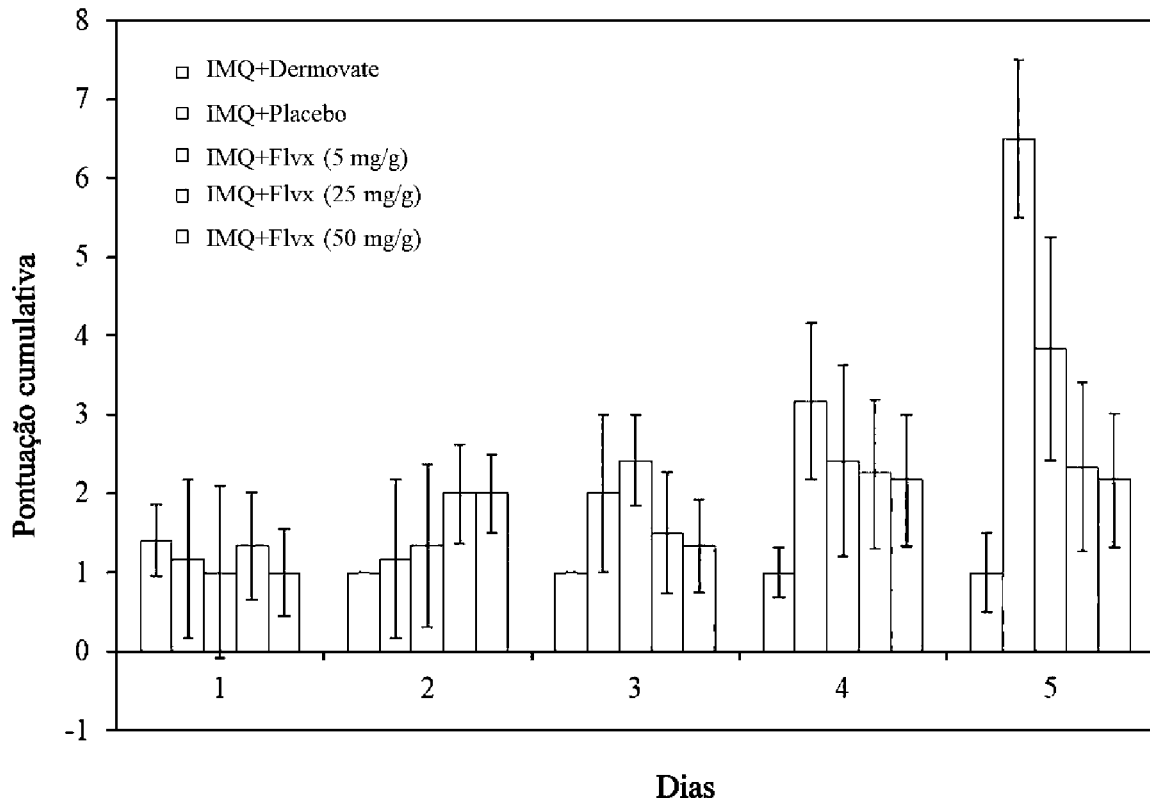


Figura 9

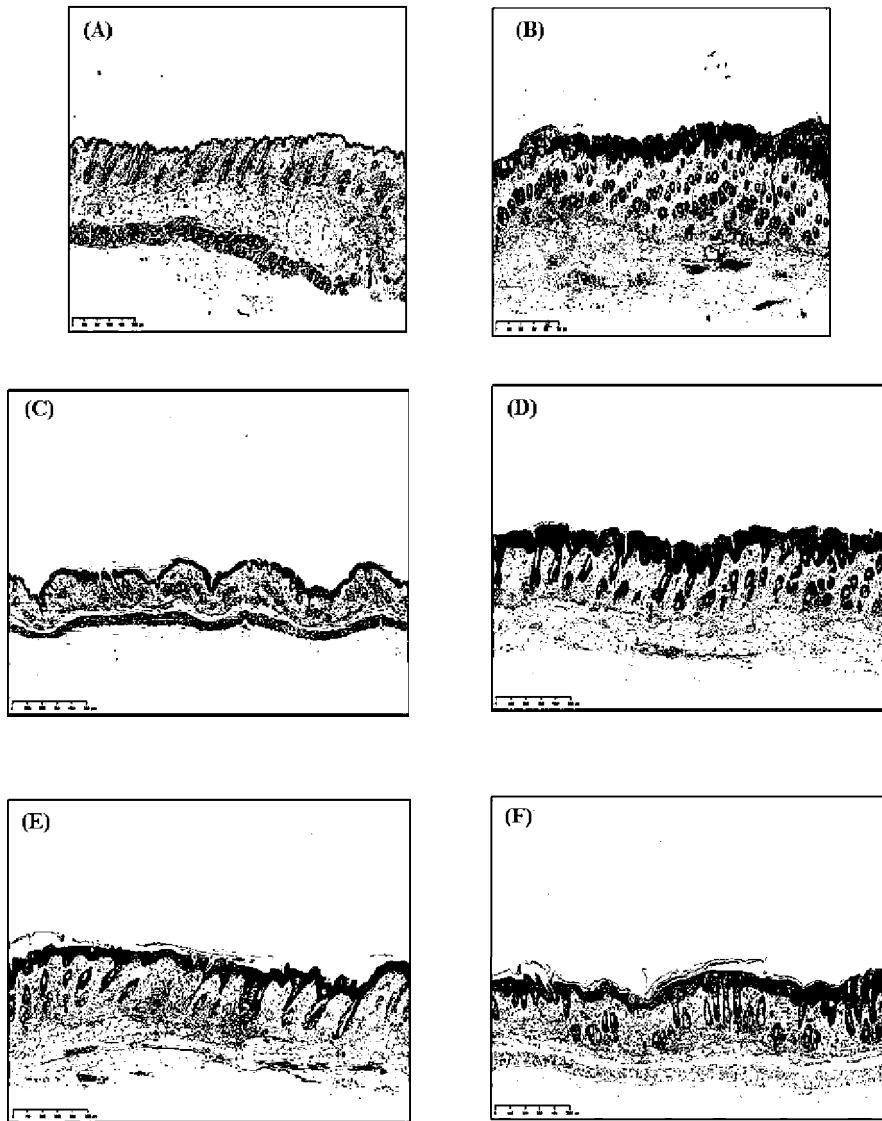


Figura 10

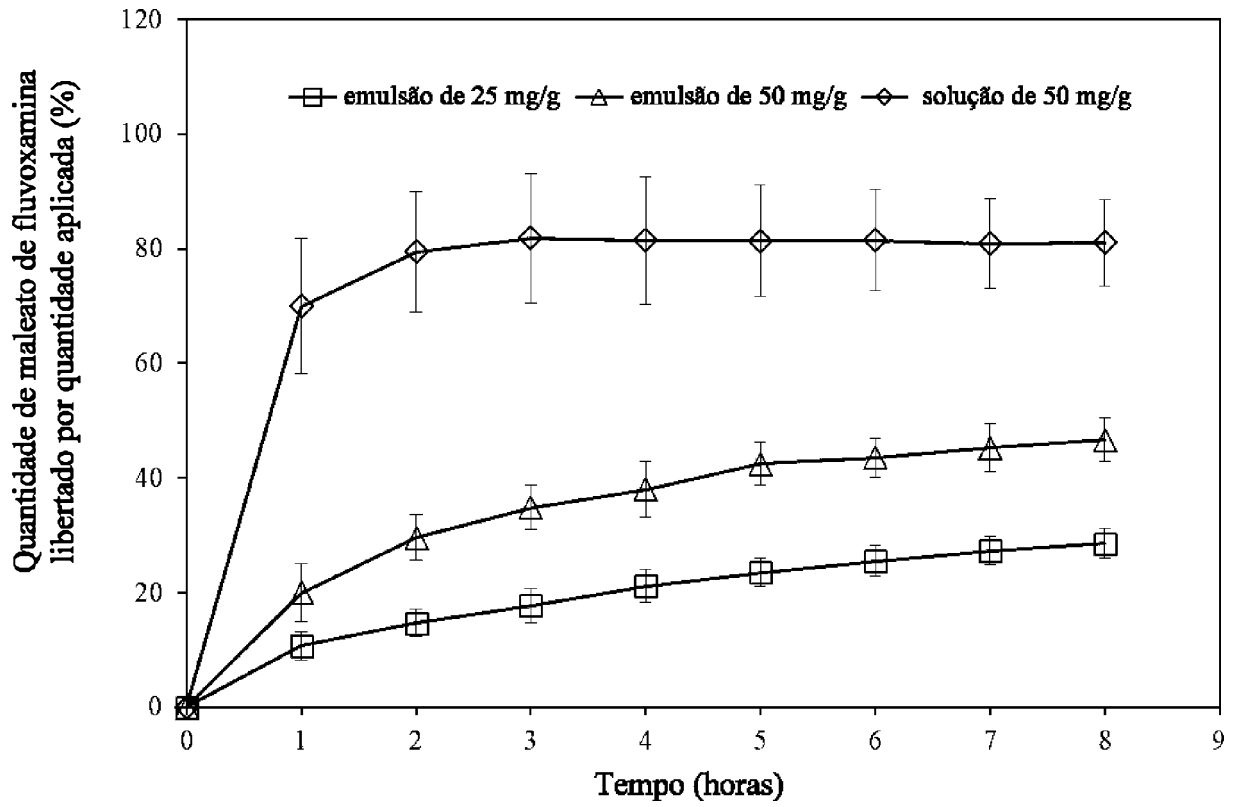


Figura 11