

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0803621-7 A2**

(22) Data de Depósito: 19/09/2008

(43) Data da Publicação: 15/06/2010
(RPI 2058)



(51) *Int.Cl.:*

A61K 8/46

A61Q 19/00

A61Q 19/08

(54) Título: **USO TÓPICO DE DERIVADOS DE
TIAZOLIDINA CONTRA CONSEQUÊNCIAS DE
FADIGA OXIDANTE DA PELE**

(73) Titular(es): Exsymol S.A.M.

(72) Inventor(es): Marie-Christine Seguin

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a uma composição cosmética, idealizada de proteger a pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio geradoras de fadiga, compreendendo, em associação com quaisquer excipientes fisiologicamente compatíveis com a pele e como principal ingrediente ativo, um derivado de fórmula (I): em que X representa um átomo de oxigênio ou enxofre. A invenção, especialmente, se aplica ao segmento de proteção da pele, mais especificamente, contra as consequências cutâneas da fadiga oxidante.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "USO TÓPICO DE DERIVADOS DE TIAZOLIDINA CONTRA CONSEQUÊNCIAS DE FADIGA OXIDANTE DA PELE".

A presente invenção refere-se ao uso cosmético de derivados de tiazolidina, particularmente, no segmento de proteção da pele e, mais especificamente, no combate a fadigas oxidantes e suas consequências cutâneas.

Devido ao seu papel como um envelope externo do corpo contra a atmosfera, a pele é um órgão particularmente sensível ao ambiente ao qual a mesma é submetida. Isso pode ser de uma natureza pré-oxidante, devido à prolongada exposição aos raios ultravioleta do sol, atmosferas de fumaça ou aquelas contendo poluentes químicos atmosféricos. Essas agressões de natureza exógena geram um excesso de diversas espécies reativas, radicais ou não, com um forte potencial oxidante. Estas são, notavelmente, espécies derivadas de oxigênio molecular, as quais, normalmente, são chamadas de espécies reativas a oxigênio ou ROS, como o ânion de superóxido, $O_2^{\circ-}$, o peróxido de hidrogênio, H_2O_2 , o oxigênio único, 1O_2 , o radical hidroxila, OH° .

Essa superprodução de ROS é então responsável por alterações constituintes biológicas da pele, em particular, daquelas encontradas nas células cutâneas (DNA, proteínas, lipídeos, glicídeos). A formação de subprodutos derivados da decomposição dessas moléculas biológicas e, em particular, daqueles derivados de fosfolipídeos de membrana peroxidada pelas espécies reativas a oxigênio (ROS), é também prejudicial à pele. Finalmente, a exposição de uma pele a uma superprodução de ROS também inicia complexas reações bioquímicas, as quais se encontram na origem da produção de citocina pró-inflamatória, de metabólitos mutágenos e da morte das células cutâneas (Briganti S. e outros, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol., (2003), volume 17, páginas 663-669).

Em geral, todos esses fenômenos são prejudiciais à pele, mais particularmente, quando eles alcançam as camadas profundas, notadamente, a derme. Atualmente, é também bem estabelecido que uma perda de

controle pela pele, causada pela excessiva presença de ROS, o que ocasiona um estado comumente designado de "fadiga oxidante", é claramente envolvida no começo de em umerosos distúrbios ou anomalias cutâneas, tais como, envelhecimento induzido, imunossupressão, inflamação/eritema, carcinogênese, irritação, etc. (Bickers D.R. e outros, J. Invest. Dermatol. (2006), volume 126, páginas 2565-2575 e referências indicadas).

Fisiologicamente, e apesar da existência de sistemas de regulação e proteção antioxidantes naturais enzimáticos (superóxido dismutase, catalase, peroxidase, etc.) ou não-enzimáticos (vitaminas A, C, D ou E, carotenóides, glutathione, traços de elementos, etc.), a pele exibe uma rápida depleção de defesa, quando confrontada com um importante fluxo de radicais livres ou ROS.

Durante muitos anos, a concepção de sistemas capazes de limitar os efeitos prejudiciais dessa superprodução de espécies reativas, ou mesmo de capturar ou de aprisionar as mesmas, se tornou um principal tópico de pesquisa. Assim, de modo a aliviar as insuficiências fisiológicas da pele, foram desenvolvidas e propostas em umerosas moléculas naturais ou sintéticas (extratos de plantas ou de animais) na forma de suplementos antioxidantes ou anti-radicaais, administrados oralmente ou mediante aplicação tópica (Darvin M. e outros, Skin Pharmacol. Physiol., (2006), volume 19, páginas 238-247).

Entretanto, de acordo com a invenção, uma eficiente proteção contra estas assim chamadas ROS de primeira geração, é mostrada para um determinado número de moléculas antioxidantes ou anti-radicaais pertencentes ao estado da técnica. A expressão "ROS de primeira geração" é necessária para o entendimento das espécies derivadas da redução do oxigênio molecular ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , 1O_2 , $OH^{\bullet}$, $ONOO^-$, etc.). Por outro lado, a ação relativa aos subprodutos de oxidação ou os chamados produtos de segunda geração (aldeídos tóxicos, produtos finais derivados da peroxidação de lipídeos, etc.), que são também tóxicos e que resultam em reações de cadeia de espécies primárias com os componentes bioquímicos da célula, raramente, é mais justificada.

Em geral, permanece como sendo real que a seleção de uma substância antioxidante, dita como sendo "eficiente", notadamente, para administração humana, é difícil. Também deve ser observado que isso é normalmente considerado como um benefício *in vitro*, o qual, raramente, é claramente confirmado como *in vivo* ((Bickers D.R. e outros, J. Invest. Dermatol. (2006), volume 126, páginas 2565-2575).

De fato, além da complexidade estrutural de múltiplas camadas da pele humana e, em consequência, de uma fadiga oxidante que expressa isto diferentemente, a substância antioxidante previamente mencionada deve combinar:

- uma ação de eficiência dirigida à listagem maior possível de espécies reativas a oxigênio e, em consequência, possuindo um amplo espectro de propriedades "antifadiga";
- uma ação de eficiência dirigida a subprodutos tóxicos de fadiga antioxidante;
- uma ação de reatividade em contato com as ROS, de modo a não causar a formação de produto de rearranjo tóxico;
- uma penetração cutânea favorável (e, consequentemente, uma biodisponibilidade), a fim de alcançar diferentes locais de tecidos cutâneos; e
- finalmente, uma resistência a sistemas hidrolíticos da pele (e, dessa forma, uma resistência à sua metabolização), o que é uma garantia de sua atividade *in situ*.

A presente invenção foi desenvolvida no presente contexto para satisfazer a atual demanda de produtos ou preparações capazes de se opor aos efeitos destrutivos da fadiga oxidante e seus subprodutos tóxicos o mais eficientemente possível, notadamente, nas camadas profundas da pele.

Assim, a escolha do presente Requerente recai sobre os derivados heterocíclicos de tiazolidina, em particular, o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina. As razões para essa seleção são múltiplas.

Em primeiro lugar, a estrutura e propriedades mostradas pelo composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina constituíram uma vantajosa resposta a diferentes critérios citados anteriormente, o que é ilustrado por:

- uma favorável penetração cutânea revelada pela obtenção de um valor logarítmico de coeficiente de separação ("Log P") comparável a um valor de compostos permeáveis à trans-camada córnea da epiderme (Arct J. e outros, SOFW-J. (2003), volume 129, páginas 2-9) (vide o Teste 1, apresentado abaixo);

- uma atividade antioxidante excepcional com relação a sua capacidade de reagir dentro de uma grande listagem de moléculas de espécies reativas a oxigênio (ROS) (com $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , e OH° produzidos graças ao par oxidante oxidase/hipoxantina xantina) (vide o Teste 2 apresentado abaixo);

- uma capacidade imprevista de neutralizar espécies eletrofílicas altamente tóxicas derivadas da peroxidação de lipídeos, de 4-hidroxinonenal ou aldeído "4-HNE" (vide os testes 3 e 4, apresentados abaixo).

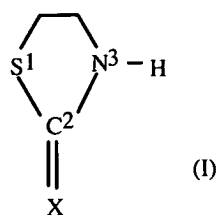
Em segundo lugar, e constituindo um outro importante aspecto da presente invenção, durante o acompanhamento do heterocíclico de 2-oxo-1,3-tiazolidina em um meio oxidante aquoso com ROS, especialmente, peróxido de hidrogênio (uma das ROS mais tóxicas para o tecido vivo), o presente Requerente descobriu, surpreendentemente, com relação a uma evolução quase que quantitativa e na ausência de formas intermediárias oxidadas, que esse heterocíclico gerou facilmente o estável e último produto de oxidação, a taurina, tão logo o heterocíclico foi colocado sob condições oxidantes (vide o Teste 5 apresentado abaixo). Tal comportamento é bastante útil pelo fato de garantir uma total ausência de toxicidade dos subprodutos de reação de 2-oxo-1,3-tiazolidina com H_2O_2 . A taurina é, atualmente, um aminoácido naturalmente presente na pele. Além disso, o interesse cutâneo para formar a taurina é ainda mais reforçado nos dias de hoje, uma vez que o mesmo é recentemente considerado como um osmólito essencial na homeostase de queratinócitos submetidos à fadiga "induzida por UV" (Jancke G. e outros, J. Invest. Dermatol. (2003), volume 121, páginas 354-361).

O composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, como tal, não é um novo produto. No estado da técnica, pode ser constatada a sua síntese, a partir de aminoetanotiol e carbonatos de difenila, de acordo com um processo e particulares condições, as quais normalmente proporcionam uma reatividade

química típica do fosgênio, a diversos policarbonatos cíclicos derivados de novo tratamento plástico (Hata S. e outros, J. Appl. Polym. Sci. (2003), volume 90, páginas 2959-2968). Por outro lado, com relação ao estado da técnica trazido à atenção do Requerente, nenhuma aplicação cosmética ou dermatológica é conhecida para esse específico heterocíclico sulfurado "2-oxo", como, também, nenhuma ou diversas propriedades relativas à fadiga oxidante para esse análogo "tione" na posição 2, no qual o Requerente também observou a formação da taurina nas condições oxidantes (vide o Teste 5 apresentado abaixo).

Entretanto, deve ser sinalizada a existência do ácido 2-oxotiazolidino-4-carboxílico. Esse composto, por outro lado, na forma de um éster ou derivado de amida, é objeto de diversos e em umerosos interesses em cosmética e dermatologia: fotoproteção (Patentes FR 2.877.004 e FR 2.854.160), combate à perda de cabelo (Patente EP 0.656.201), agentes de despigmentação (Patentes US 6.063.389 e US 6.007.827) ou agentes de escamação (Patente FR 2.816.838), etc. Ao se ler a literatura concernente à proteção da pele de uma maneira geral, existe apenas um benefício cutâneo decorrente de uma ação de estimulação das defesas naturais da célula, particularmente, de uma ação de estimulação da síntese intracelular da glutati-
ona. Além disso, esse composto não é precursor da taurina. Pelo menos, esse composto é estruturalmente diferente do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, de modo que o dito composto não prenuncia os efeitos mencionados para o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina.

Portanto, de acordo com um primeiro aspecto e tendo em vista essa dimensão plurifuncional "antifadiga" representada pelo comportamento do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina em um ambiente favorável à oxidação, tal como, uma pele submetida a uma fadiga oxidante, a presente invenção tem como objeto o uso de um derivado de fórmula geral (I) como ingrediente ativo em uma composição cosmética:



onde X representa um átomo de oxigênio ou enxofre, o dito derivado da dita composição sendo idealizado para proteção da pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio de geração de fadiga.

O composto preferido de fórmula (I) acima é tal que X representa um átomo de oxigênio.

O uso acima mencionado é preferivelmente mantido contra uma fadiga, a qual é escolhida como sendo proveniente de poluição atmosférica, contato com xenobióticos químicos ou atmosferas de fumaça e, mais especificamente, radiação ultravioleta. A presente invenção tem por objetivo evitar e combater os sinais cutâneos resultantes de tal fadiga, notadamente, contra diversos eventos correlacionados ao envelhecimento da pele. A invenção se aplica, especialmente, ao segmento da proteção solar, com relação:

- ao provado envolvimento atual do composto de 4-hidroxinonenal ou "4-HNE" na apoptose de célula submetida à UV-A (Yang Y. e outros (2003), volume 278, páginas 41-380-41388), combinado com a forte eficiência do composto acima de 2-oxo-1,3-tiazolidina em capturar esse aldeído tóxico;

- à relatada existência de uma fadiga "induzida por "UV-A" na derme da pele como sendo prejudicial aos constituintes de proteína da matriz extracelular (Wondrak G.T. e outros, J. Invest. Dermatol. (2003), volume 121, páginas 578-586), combinada com a disponibilidade tópica do dito composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina nessas mesmas camadas dérmicas e, além disso, às suas características intrínsecas: ausência de funções químicas ionizáveis para o pH fisiológico da pele, insensibilidade a hidrolases da pele e baixo peso molecular;

- a avaliação experimental recentemente realizada pela depositante acerca da eficácia do composto 2-oxo-1,3-tiazolidina sobre a tensão "induzida por UVA (Teste 6 abaixo).

Teste 6: demonstração do efeito protetor da 2-oxo-1,3-tiazolidina, na presença de tensão “induzida por UVA”.

O estudo foi realizado de acordo com as condições experimentais idênticas (semear) àquelas apresentadas acima para os Testes 3 e 4, mas com uma exposição das células V79 à radiação UV (λ 315-400nm), com uma dose moderada de 5J.cm^{-2} (tensão “induzida por UVA”).

A formação de ROS intracelular é medida com a sonda “CMDCF” fluorescente permeante derivada de fluoresceína ($10\mu\text{m}$, 15min de incubação).

Os percentuais de células de CMDCF resultaram em “positivo” (células com formação intracelular de ROS estão apresentadas abaixo na Tabela 6, em comparação com células não irradiadas, e, então, com células tratadas com N-acetil-cisteína (molécula de referência) e diferentes concentrações do composto 2-oxo-1,3-tiazolidina.

Tabela 6

	% de células CMDCF positivas
Células não irradiadas	3
Células irradiadas	30
Células irradiadas + N-acetil-cisteína 5mM	4
Células irradiadas + 2-oxo-1,3-tiazolidina 0,625mM	24,7
Células irradiadas + 2-oxo-1,3-tiazolidina 1,25mM	15,3
Células irradiadas + 2-oxo-1,3-tiazolidina 2,5mM	12
Células irradiadas + 2-oxo-1,3-tiazolidina 5mM	7,3

A 2-oxo-1,3-tiazolidina de acordo com a invenção apresentou uma habilidade dose-dependente de proteção de células submetidas à tensão “induzida por UVA” e similar àquela da molécula de referência.

De acordo com um segundo aspecto, a presente invenção também abrange uma composição cosmética, a qual compreende em associação com qualquer excipiente compatível fisiologicamente com a pele, e co-

mo principal ingrediente ativo, o derivado de fórmula (I) conforme definido anteriormente, a dita composição sendo idealizada de proteger a pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio geradoras de fadiga.

- 5 Mais preferivelmente, a dita composição é idealizada de proteger a pele contra uma fadiga "induzida por UV" e o derivado de fórmula geral (I) é tal que X representa um átomo de oxigênio.

Vantajosamente, a quantidade do dito derivado de fórmula (I) na composição acima mencionada compreende entre 0,01 e 10% em peso, em
10 relação ao peso total da composição, preferivelmente, entre 0,05 e 5% em peso, ainda mais preferivelmente, entre 0,5 e 5% em peso.

Exemplos de excipientes fisiologicamente compatíveis com a pele a serem mencionados incluem, um tensoativo, um conservante, uma gordura do corpo, um corante, um emulsificante, um agente de gelificação,
15 um agente emoliente, um agente de umidificação, um pigmento, ou quaisquer outros coadjuvantes normalmente usados nos cosméticos.

De acordo com uma modalidade da invenção, e com o objetivo de reforçar a atividade antioxidante ou anti-radical, a dita composição é suscetível de compreender, além disso, outros elementos ativos escolhidos dentre agentes antioxidantes, anti-radicais e/ou antipoluição encontrados no
20 mercado, de tal modo que o efeito intrinsecamente fixado para as composições de acordo com a invenção não seja alterado pela adição considerada. Esses agentes antioxidantes, anti-radicais ou antipoluição comumente encontrados no mercado podem ser:

- 25 - vitaminas, tais como, vitaminas C, E e D;
- enzimas, tais como, superóxido dismutases, catalases e peroxidases, com origem, por exemplo, sintética, de plantas, animal, bacteriana ou recombinante;
- os compostos fenólicos, tais como, polifenóis (epigallocatequina-3-galato) em notadamente, ácido ferúlico, silimarina, genisteína, apigenina e
30 flavanóides de resveratrol.

Ainda de um modo opcional, a composição acima mencionada

pode também associar um protetor solar de UV-A ou UV-B, ou de sua mistura, de natureza orgânica (derivados de benzofenona) ou inorgânica (óxidos metálicos) ou ainda um ingrediente ativo cosmético com um efeito secundário, tal como, um agente umidificador, um agente amaciante, um agente de pigmentação, um agente estimulante da síntese de macromoléculas epidérmicas e dérmicas, ao mesmo tempo em que se mantém que o dito ingrediente ativo cosmético e sua quantidade estão presentes de uma maneira que as propriedades da composição de acordo com a invenção não sejam alteradas pela adição considerada.

As composições de acordo com a invenção são adaptadas para uma administração cutânea tópica e apresentadas sob todas as formas típicas usadas para tal tipo de administração. Em uma modalidade preferida da invenção, elas são formuladas sob a forma, por exemplo, de emulsões, cremes, leites, géis, loções, etc.

Como ilustração, são aqui mencionados alguns exemplos da formulação de composição cosmética conforme a invenção, contendo os compostos acima mencionados heterocíclicos de 2-oxo-1,3-tiazolidina ou 2-tiono-1,3-tiazolidina:

Fórmula A (creme):

2-oxo-1,3-tiazolidina	1%
Poliisobuteno hidrogenado	7%
Miristato de isobutila	3%
Palmitato de cetila	7%
Monoestearato de etilenoglicol	5%
Laurato de sorbitana	2%
Polissorbato 20	2%
Carbômero (copolímero de acrilato/acrilamida e óleo mineral)	0,3%
Fenoxietanol	0,5%
Água	Qsp 100%

Fórmula B (gel):

2-tiono-1,3-tiazolidina	0,5%
Carbômero (copolímero de acrilato/acrilamida e óleo mineral)	0,3%
Benzoato de sódio	0,2%
Ácido sórbico	1%
1,3-butanodiol	10%
Glicerina	5%
Carbonato de sódio	0,13%
Fenoxietanol	0,9%
Água	Qsp 100%

Finalmente, de acordo com um último aspecto, a presente invenção concerne um processo de tratamento cosmético, o qual objetiva combater a fadiga oxidante da pele e suas conseqüências. O processo é usado mediante aplicação das composições anteriormente definidas, preferi-

5 usado mediante aplicação das composições anteriormente definidas, preferi-

velmente, com uma composição que compreende o derivado de 2-oxo-1,3-tiazolidina.

Preferivelmente, e com o objetivo de reforçar o dito processo, este pode também ser usado simultaneamente com a suplementação oral de uma substância antioxidante, tipicamente, encontrada no mercado, por exemplo, como uma daquelas referidas acima. Para tal fim, o dito processo pode compreender também a administração oral de uma substância antioxidante individualmente a uma pessoa, para a qual o tratamento cosmético é idealizado. A administração na pele de uma composição de acordo com a invenção e a administração oral de uma substância antioxidante ocorrem,

10 uma substância antioxidante, tipicamente, encontrada no mercado, por exemplo, como uma daquelas referidas acima. Para tal fim, o dito processo pode compreender também a administração oral de uma substância antioxidante individualmente a uma pessoa, para a qual o tratamento cosmético é idealizado. A administração na pele de uma composição de acordo com a invenção e a administração oral de uma substância antioxidante ocorrem,

15 invenção e a administração oral de uma substância antioxidante ocorrem, preferivelmente, ao mesmo tempo.

A título de mera ilustração, a invenção é ilustrada a seguir pelos seguintes testes mencionados acima para a invenção (Testes 1 a 6). É também para sinalizar que os primeiros resultados de um estudo *in vitro* no homem podem ilustrar o uso de derivados de tiazolidina, de acordo com a presente invenção.

20 mem podem ilustrar o uso de derivados de tiazolidina, de acordo com a presente invenção.

Teste 1: coeficiente de separação do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina

Os valores do coeficiente de separação (Log P) de n-

octanol/água foram experimentalmente obtidos em conformidade com o protocolo descrito nas diretrizes da OECD Nº 107 (adotadas em 27/07/1995) para os testes em produtos químicos.

- 5 O Log P do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina de acordo com a invenção é comparado ao valor obtido para a cafeína e etanol (Tabela 1 abaixo).

Tabela 1

Composto	Log P
Etanol	- 0,31
Cafeína	- 0,07
2-oxo-1,3-tiazolidina	- 0,27

- 10 O resultado do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina é comparável ao obtido para o composto conhecido permeável à trans-camada córnea da epiderme.

Teste 2: demonstração do efeito antioxidante do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina.

a) *medição da atividade de seqüestro do radical hidroxila ($OH^\bullet$).*

- 15 O método, descrito por Rehman A. e outros (British J. Pharmacol. (1997), volume 122, páginas 1702-1706) é usado para a determinação da velocidade de seqüestro constante do radical hidroxila [$K_s(OH^\bullet)$], o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina de acordo com a invenção sendo comparado a uma molécula de referência, por exemplo, a taurina.

- 20 Experimentalmente, a substância testada é dissolvida em um meio tampão de pH 7,4, ao qual é adicionado um meio gerador de $OH^\bullet$. Depois de uma hora de incubação sob a temperatura de 37°C, a reação é interrompida com a ajuda de ácido tricloroacético. Após a adição de um revelador colorimétrico, ácido tiobarbitúrico, a absorbância é medida em 532 nm, para diferentes concentrações, depois, a $K_s(OH^\bullet)$ relativa é calculada para cada
25 uma das substâncias. Os resultados são relatados abaixo na Tabela 2a.

Tabela 2a

Composto	$K_s(OH^\bullet)$ ($10^9 \cdot M^{-1} \cdot s^{-1}$)
Taurina	5,32
2-oxo-1,3-tiazolidina	13,52

Os resultados, tomando os valores intermediários obtidos de cinco experimentos independentes destacam uma capacidade acentuadamente superior ao da captura do radical hidroxila ($OH^\bullet$) para o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, quando comparado à taurina, superior até ao ácido ascórbico (vitamina C), para o qual a literatura relata uma $K_s(OH^\bullet)$ de $10,1 \text{ Gigas} \cdot M^{-1} \cdot s^{-1}$ (Cabelli D.E., J. Phys. Chem. (1983), volume 87, páginas 1809-1812).

b) medição da força antioxidante "global"

O sistema de produção de ROS, descrito por Nowak D. e outros (Biomed. Biochem. Acta (1991), volume 50, páginas 265-272) que envolve o par oxidase/hipoxantina xantina, é usado para a determinação da força antioxidante "global". Esta é caracterizada pela soma dos efeitos contra o ânion de superóxido, $O_2^{\bullet-}$, peróxido de hidrogênio, H_2O_2 , e radical hidroxila, $OH^\bullet$, sendo expressa pelo acompanhamento da percentagem de proteção de uma molécula de "detecção", a desoxirribose.

O composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, de acordo com a invenção, é também comparado à taurina. Experimentalmente, a substância testada é dissolvida em um meio tampão sob um pH de 7,5, suplementado com NaCl, $MgCl_2$ e $CaCl_2$. Após sua incubação sob a temperatura de $37^\circ C$, na presença do par oxidase/hipoxantina xantina, EDTA e desoxirribose, a reação é interrompida com a ajuda do ácido tricloroacético. Após a adição de ácido tiobarbitúrico, é realizada uma medição da densidade óptica a 532 nm, expressa posteriormente como percentagem de proteção de desoxirribose (após a comparação com um controle). Os resultados são apresentados na Tabela 2b, seguinte.

Tabela 2b

Composto	% de Proteção
Taurina (20 mM)	19
2-oxo-1,3-tiazolidina (10 mM)	19
2-oxo-1,3-tiazolidina (20 mM)	25

Para o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, é observada uma proteção de desoxirribose superior à proteção da taurina (proteção idêntica para uma concentração duas vezes menor).

- 5 Teste 3: demonstração da capacidade do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina em neutralizar a citotoxicidade do composto de 4-hidroxinonenal.

A pesquisa experimental foi realizada em uma linha fibroblástica do criceto chamado V79, mantida em uma atmosfera úmida sob a temperatura de 37°C e 5% de CO₂, depois semeada em placas de 96 poços a uma velocidade de 0,5.10⁴ células por poço. As células são depois submetidas a um estado de fadiga tóxica, com substituição do meio de cultura por um meio contendo 4-hidroxinonenal (ou 4-HNE) em uma concentração de 6 ppm, um meio para o qual é simultaneamente adicionado o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, de acordo com a invenção.

- 15 A viabilidade celular dos fibroblastos é medida pelo método de incorporação ao brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ou MTT). Os resultados, tomando os valores intermediários obtidos de três experimentos independentes, são apresentados abaixo na Tabela 3, em comparação com aqueles do composto de N-acetil-cisteína, em uma concentração de 2 mM, escolhido como uma molécula de referência positiva (recuperação total da viabilidade celular com relação a um controle e células não estressadas com 4-HNE).

Tabela 3

	Viabilidade celular (%)
Controle	100
HNE (6 ppm)	34
N-acetil-cisteína (2 mM)	126
2-oxo-1,3-tiazolidina (0,1 mM)	40

	Viabilidade celular (%)
2-oxo-1,3-tiazolidina (1 mM)	58
2-oxo-1,3-tiazolidina (2,5 mM)	100

De acordo com a invenção, os resultados da Tabela 3 destacam para o composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina uma viabilidade celular dependente da dose, juntamente com uma idêntica capacidade, como a referência para proteção das células submetidas a uma fadiga por 4-HNE.

- 5 Teste 4: demonstração do efeito anticlastogênio do composto de 2-oxo-1,3-tiazolidina, na presença de uma concentração genotóxica de 4-hidroxinonenal.

- 10 A pesquisa foi realizada conforme as condições experimentais idênticas (semeadura) às apresentadas no teste 3 acima referido, com exposição da célula a um estado de "fadiga por 4-HNE", em uma concentração genotóxica de 1 ppm, conforme descrito (Eckel P.M., Molecular Aspects of Medicine (2003), volume 24, páginas 161-165), como geradora de quebras de DNA celular e formação de micronúcleos (efeito clastogênio).

- 15 O número de células do micronúcleo é contado após a leitura das lâminas com microscópio de epifluorescência, em 2000 células e após a marcação com acridina laranja (corante de DNA). Os resultados, tomando os valores intermediários obtidos de dois experimentos independentes, são apresentados abaixo na Tabela 4, em comparação com aqueles do composto de N-acetil-cisteína, em uma concentração de 2 mM, escolhido como uma
- 20 molécula de referência positiva (número de células de micronúcleo próximas ao controle não-exposto).

Tabela 4

	Número de células com micronúcleo/2000 células
Controle	19
HNE-causador de fadiga (1 ppm)	58
N-acetil-cisteína (2 mM)	27
2-oxo-1,3-tiazolidina (5 mM)	21

Assim, se observa a capacidade de prevenir a formação de célu-

la de micronúcleo induzida por uma fadiga genotóxica causada por 4-HNE.

Teste 5: demonstração "in tubo" da formação de taurina, quando em contato com uma solução de H_2O_2 .

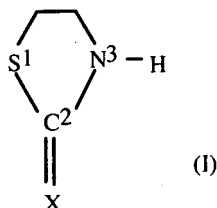
A uma solução aquosa a 10% de derivados de 2-oxo-1,3-tiazolidina ou 2-tiono-1,3-tiazolidina, de acordo com a invenção, tamponadas em um pH de 7,4 e sob uma temperatura de 37°C, são adicionados 4 equivalentes de uma solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), dessa forma, um pequeno excesso de espécies oxidantes, comparado aos equivalentes teóricos necessários para uma conversão completa (100%) da taurina. A evolução da reação do meio é seguida de cromatografia líquida (HPLC dotado de detector de UV a 254 nm), proporcionando os resultados mostrados abaixo na Tabela 5 e a demonstração de uma formação quase exclusiva e quantitativa da taurina, após a reação dos derivados de 2-oxo-1,3-tiazolidina ou 2-tiono-1,3-tiazolidina em contato com H_2O_2 .

15 Tabela 5

	Taurina (% de formação a partir de 2-oxo-1,3-tiazolidina)	Taurina (% de formação a partir de 2-tiono-1,3-tiazolidina)
3 horas	38	30
7 horas	56	50
24 horas	82	77
48 horas	93	89

REIVINDICAÇÕES

1. Composição cosmética, idealizada para proteção da pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio geradoras de fadiga, compreendendo, em associação com um excipiente fisiologicamente compatível com a pele e como principal ingrediente ativo, um derivado de fórmula (I):



em que X representa um átomo de oxigênio ou enxofre.

2. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o derivado de fórmula (I) é tal que X representa um átomo de oxigênio.

3. Composição cosmética, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que o derivado de fórmula (I) está presente em uma quantidade compreendendo entre 0,01 e 10% em peso, em relação ao peso total da composição.

4. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que a quantidade do dito derivado de fórmula (I) está compreendida entre 0,05 e 5% em peso, em relação ao peso total da composição.

5. Composição cosmética, de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de compreender ainda outro elemento ativo escolhido dentre agentes antioxidantes, anti-radicais e/ou antipoluição.

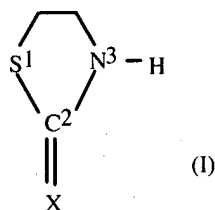
6. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o dito outro elemento ativo é escolhido dentre vitaminas, enzimas e compostos fenólicos.

7. Composição cosmética, de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 6, caracterizada pelo fato de poder associar um protetor solar orgânico ou inorgânico de UV-A ou UV-B, ou sua mistura ou mesmo um in-

grediente ativo cosmético com um efeito secundário, tal como, um agente umidificador, um agente amaciante, um agente de pigmentação ou um agente de estimulação da síntese de macromoléculas epidérmicas e dérmicas.

8. Composição cosmética, de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 7, caracterizada pelo fato de que a mesma é formulada na forma de emulsões, cremes, leites, géis, loções.

9. Uso de um derivado de fórmula geral (I), como ingrediente ativo em uma composição cosmética como definido em quaisquer das reivindicações 1 a 8:



10 em que X representa um átomo de oxigênio ou enxofre, o dito derivado da dita composição sendo idealizado para proteger a pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio geradoras de fadiga.

10. Uso, de acordo com a reivindicação 9, em que a dita fadiga causada é escolhida dentre radiação a raios ultravioleta, poluição atmosférica, contato com xenobióticos químicos ou atmosferas de fumaça.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 10, em que a dita fadiga é causada por radiação a raios ultravioleta.

12. Processo de tratamento cosmético, com o objetivo de combater a fadiga oxidante da pele e suas conseqüências, consistindo na aplicação sobre a pele de uma composição como definida em quaisquer das reivindicações 1 a 8.

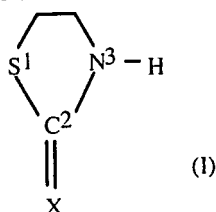
13. Processo de tratamento cosmético, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de compreender ainda a administração oral de uma substância antioxidante.

PI 0803621-7

RESUMO

Patente de Invenção: "USO TÓPICO DE DERIVADOS DE TIAZOLIDINA CONTRA CONSEQÜÊNCIAS DE FADIGA OXIDANTE DA PELE".

- 5 A presente invenção refere-se a uma composição cosmética, idealizada de proteger a pele contra quaisquer radicais livres ou espécies reativas a oxigênio geradoras de fadiga, compreendendo, em associação com quaisquer excipientes fisiologicamente compatíveis com a pele e como principal ingrediente ativo, um derivado de fórmula (I):



em que X representa um átomo de oxigênio ou enxofre.

- 10 A invenção, especialmente, se aplica ao segmento de proteção da pele, mais especificamente, contra as conseqüências cutâneas de fadiga oxidante.