



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112017004304-1 B1



(22) Data do Depósito: 03/09/2015

(45) Data de Concessão: 08/12/2020

(54) Título: USO DE PTEROESTILBENO PARA PREPAÇÃO DE COMPOSIÇÕES TÓPICAS NO TRATAMENTO DE PERDA DE FUNÇÃO DE BARREIRA NA PELE INDUZIDAS POR UV

(51) Int.Cl.: A61Q 17/00.

(30) Prioridade Unionista: 04/09/2014 US 62/046,068.

(73) Titular(es): THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA.

(72) Inventor(es): FRANK L. MAYSKENS JR.; RYAN W. DELLINGER.

(86) Pedido PCT: PCT US2015048422 de 03/09/2015

(87) Publicação PCT: WO 2016/036999 de 10/03/2016

(85) Data do Início da Fase Nacional: 03/03/2017

(57) Resumo: É fornecido um método quimioprotetor para o tratamento, inibição ou prevenção da perda de função de barreira na pele causada por luz ultravioleta (UV) usando uma quantidade eficaz de pteroestilbeno. São fornecidas composições farmacêuticas e nutracêuticas contendo pteroestilbeno, adequadas para a administração a um indivíduo de modo a prevenir a subsequente perda de função de barreira na pele mediada por UV.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "USO DE PTEROESTILBENO PARA PREPAÇÃO DE COMPOSIÇÕES TÓPICAS NO TRATAMENTO DE PERDA DE FUNÇÃO DE BARREIRA NA PELE INDUZIDAS POR UV".

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica o benefício de Pedido Provisório No. US 62/046,068, depositado em 4 de setembro de 2014, que é por meio deste incorporado por referência aqui.

DECLARAÇÃO COM RESPEITO À PESQUISA FEDERALMENTE PATROCINADA

[002] Esta invenção foi feita com suporte do governo sob a Concessão No. P30CA62330, concedida pelo National Cancer Institute, e Concessão No. R03ES019668, concedida pelo National Institute of Environmental Health Sciences. O Governo tem certos direitos na invenção.

CAMPO DA INVENÇÃO

[003] É descrito um método quimioprotetor para tratar, inibir ou prevenir a perda de função de barreira na pele, causada por luz ultravioleta (UV) usando uma quantidade eficaz de pteroestilbeno. São descritas composições farmacêuticas e nutracêuticas contendo pteroestilbeno adequadas para administração um indivíduo a fim de prevenir subsequente perda de função de barreira na pele mediada por UV. Composições contendo pteroestilbeno podem ser usadas no cuidado ou tratamento de pele e condições da pele.

ANTECEDENTES

[004] A pele é a primeira e melhor defesa contra exposições ambientais do corpo humano, incluindo radiação ultravioleta solar (UV). Exposição à luz UV é um fator chave no desenvolvimento de distúrbios da pele, incluindo o câncer. O câncer de pele é o tipo mais predominante de câncer nos Estados Unidos, afetando um, afetando um esti-

mado de um em cada sete americanos (Ndiaye, et al., *Arch. Biochem. Biophys.* (2011) 508: 164-70).

[005] Câncer de pele não melanoma (NMSC) aumentou rapidamente nas últimas duas décadas e mais de um milhão de novos casos de câncer de pele não melanoma (NMSC) são diagnosticados anualmente nos Estados Unidos. Suspeita-se que esta estimativa seja tão baixa quanto carcinoma de célula escamosa (SCC) e carcinoma de célula basal (BCC) da pele não são obrigados a ser reportados e o número de casos reais anualmente é projetado ser de mais de 3 milhões de novos casos anualmente (Wheless, et al., "Nonmelanoma skin cancer and the risk of second primary cancers: a systematic review," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* (2010) 19: 1686-95). Com base nos Códigos IC9, estima-se que 5% do orçamento do Medicare são usados no cuidado destes pacientes (Rogers, et al., "Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006," *Arch. Dermatol.* (2010) 146: 283-7).

[006] Um estimado de 2.700 mortes este ano será o resultado de NMSC nos Estados Unidos. A maioria destas mortes é causada por SCC. A maioria de NMSC, incluindo SCC é causada por exposição ao sol (incluindo luz UV-B) com foto-carcinogênese resultante. Dados epidemiológicos também mostram um risco aumentado de outros tipos de câncer letais em indivíduos com uma história de câncer da pele. Desse modo, é vital entender os efeitos danosos que a luz UV tem sobre a pele, de modo que métodos efetivos de tratamento ou prevenção possam ser desenvolvidos.

[007] Ceratoses actínicas (AKs) são neoplasmas cutâneos precancerosos, que podem dar origem a SCC. Elas surgem como um resultado de exposição ao sol a longo prazo. Outras causas de AKs e NMSC são luz UV de cabines de bronzeamento ou soldagem a arco, irradiação-x, ou exposição a determinadas químicas. AKs são lesões

extremamente comuns e estão presente em mais de 10 milhões de americanos. Em uma população amostra, a taxa anual de progressão de uma AK para um SCC em uma pessoa em risco médio na Austrália é entre 8 e 24 por 10.000. Indivíduos em alto risco (aquele com AKs múltiplas) têm taxas de progressão tão altas quanto 12 a 30 por cento durante 3 anos. Dois por cento de SCCs originados em AKs podem metastizar, e 7 por cento de recorrência local.

[008] Ceratoses actínicas são tratadas mais comumente com nitrogênio líquido ou um agente quimioterápico tópico, tal como, por exemplo, 5-fluorouracila. Menos comumente elas são tratadas com outros agentes tópicos (diclofenaco e imiquimod), terapia fotodinâmica, *peelings* químicos ou *resurfacing* (formação de uma nova superfície) a laser ablativo. Tratamento para NMSC é geralmente cirúrgico, frequentemente resultando em cicatrizes e outras morbidades.

[009] Na presente especificação, será entendido que "ceratoses actínicas" é o distúrbio proliferativo que produz AKs.

[0010] Enquanto alguns tratamentos são conhecidos, seria desejável proativamente prevenir ou inibir a formação de ceratoses actínicas, hiperplasia, e/ou cânceres de pele a fim de reduzir os custos do tratamento, morbidade, e mortalidade. Um tempo de vida de proteção solar é um excelente método para minimizar o risco de desenvolvimento de ceratose actínica, hiperplasia, e/ou NMSC. Entretanto, uma grande percentagem de pacientes já tem fotodano extenso e mudança de comportamentos protetor solar tem se mostrado difícil.

[0011] Um agente quimioprotetivo ideal pode obter a regressão de mudanças pré-cancerosas, prevenir o desenvolvimento de NMSC e minimizar o dano associado com a luz ultravioleta com mínimo ou nenhum efeito colateral. Como observado acima, existem agentes tópicos que podem remover ceratoses actínicas, porém eles geralmente resultam em significante inflamação no sítio de tratamento. Um novo

método é requerido.

Dano ao mediado por UV

[0012] A luz ultravioleta (UV) desempenha um papel integral no desenvolvimento de numerosas doenças da pele, variando de envelhecimento ao câncer. Considerável evidência durante décadas tem conclusivamente demonstrado que a radiação de UV desencadeia múltiplas respostas celulares independentes. Radiação UV é conhecida penetrar a pele onde ela é absorvida pelas proteínas, lipídeos e DNA, causando uma série de eventos que resultam em progressiva deterioração da estrutura celular e função de células (Valacchi, et al., "Cutaneous responses to environmental stressors," *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (2012) 1271: 75-81). DNA é o bloco de construção de vida e sua estabilidade é de extrema importância para o funcionamento apropriado de todas as células vivas. Radiação UV é um dos mais poderosos (e comuns) fatores ambientais que podem causar uma ampla faixa de distúrbios celulares induzindo lesões de DNA mutagênicas e citotóxicas; mais notavelmente dímeros de ciclobutano-pirimidina (CPDs) e 6-4 fotoproductos (64 pps) (Narayanan, et al., "Ultraviolet radiation and skin cancer," *Int. J. Dermatol.* (2010) 49: 978-86). É importante observar que o dano ao DNA mediado por UV é um evento precoce em uma infinidade de distúrbios celulares proliferativos. Os dois principais tipos de dano ao DNA induzido por UV são os CPDs e 64pp (juntamente com seus isômeros Dewer) (Sinha, R.P. and Hader, D.P., "UV-induced DNA damage and repair: a review," *Photochem. Photobiol. Sci.* (2002) 1: 225-36; and Rastogi, et al., "Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair," *J. Nucleic Acids* (2010) 2010: 592980). Estas abundantes lesões ao DNA, se não reparadas, pode interferir com a replicação do DNA e subsequentemente causam mutações em DNA. Desse modo, estas lesões podem ser mutagênicas (potencialmente levando a distúrbios proliferativos) e/ou podem

ser citotóxicos (resultando em morte celular). 64pp ocorre em cerca de um terço da frequência de CPDs, porém é mais mutagênico (Sinha & Hader, 2002). Em uma modalidade, a prevenção destes aductos de DNA mediados por UV é primordial para proteger contra o aparecimento de diversos distúrbios proliferativos, variando de envelhecimento ao câncer.

Hiperplasia mediada por UV

[0013] Proliferação de ceratinócito aumentada, resultando em hiperplasia, é outro principal efeito prejudicial causado por exposição à UV. Este espessamento da pele é um resultado direto do corpo tentando proteger-se após exposição excessiva à luz. Entretanto, hiperplasia epidérmica também aumenta o risco de câncer de pele (Bowden, G.T., "Prevenção of non-melanoma skin cancer by targeting ultraviolet-B-light signalling," *Nat. Rev. Cancer* (2004) 4: 23-35). Em outra modalidade, prevenção de hiperplasia mediada por UV é primordial para proteger contra o início de diversos distúrbios proliferativos, variando de envelhecimento ao câncer.

Perda de função de barreira mediada por UV

[0014] A manutenção de uma barreira impermeável à água entre o organismo e o ambiente é uma função essencial da pele. Esta função de barreira serve para prevenir a desidratação; que pode levar à morte do organismo (Jiang, S.J., et al., "Ultraviolet B-induced alterations of the skin barrier and epidermal calcium gradient," *Exp. Dermatol.* (2007) 16: 985-992). A luz UV foi demonstrada romper a função de barreira da pele epidérmica de uma maneira dependente da dose (Haratake, A., et al., "UVB-induced alterations in permeability barrier function: roles for epidermal hyperproliferation and thymocyte-mediated response" *J. Invest. Dermatol.* (1997) 108: 769-775; and prev. citation). A disfunção de barreira da pele pode ser diretamente avaliada medindo-se a Perda de Água Transepídermica (TEWL), que é uma medida

de hidratação da pele (Oba, C., et al., "Collagen hydrolysate intake improves the loss of epidermal barrier function and skin elasticity induced by UVB irradiation in hairless mice," *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* (2013) 29: 204-11; e citações anteriores).

[0015] Resveratrol, um polifenol natural presente em uvas e vinho vermelho, exerce diversos efeitos benéficos incluindo antioxidante, quimiopreventivo e cardioprotetor (Park, K. and Lee, J-H., "Protective effects of resveratrol on UVB-irradiated HaCaT cells through attenuation of the caspase pathway," *Oncol. Rep.* (2008) 19: 413-7). Diversos estudos mostraram que o resveratrol previne o dano celular mediado por UV-B (incluindo hiperplasia) em pele de camundongo quando administrado oralmente ou aplicado topicalmente (Afaq, F., et al., "Prevenção of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice," *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2003) 186(1): 28-37; Reagan-Shaw, S., et al., "Modulations of critical cell cycle regulatory events during chemoprevenção of ultraviolet B-mediated responses by resveratrol in SKH-1 hairless mouse skin," *Oncogene* (2004) 23(30): 5151-60; Aziz, M.H., et al., "Prevenção of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol em pele de camundongo is mediated via modulation in survivin," *Photochem. Photobiol.* (2005) 81(1): 25-31; and Kim, K.H., et al. "Resveratrol Targets Transforming Growth Factor-beta2 Signaling to Block UV-Induced Tumor Progression," *J. Invest. Dermatol.* (2011) 131: 195-202). Resveratrol mostrou bloquear Progressão de câncer de pele induzida por UV em diversos estudos de camundongo (Athar, M., et al., "Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevenção," *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2007) 224: 274-83). Entretanto, seu uso em humanos como um agente quimiopreventivo parece ser improvável (pelo menos como um único agente) devido à pobre biodisponibilidade (Roupe, K.A., et al. "Pharmacometrics of estilbenos: seguind towards

the clinic," *Curr. Clin. Pharmacol.* (2006) 1: 81-101). Resveratrol é bem tolerado em humanos, porém é facilmente metabolizado (pelo UGTs) levando a uma meia-vida curta que dificulta sua eficácia como um agente quimiopreventivo (Cottart C.H., et al., "Resveratrol bioavailability and toxicity in humans," *Mol. Nutr. Food Res.* (2010) 54: 7-16).

SUMÁRIO

[0016] Uma composição de cuidado com a pele inclui pteroestilbeno para tratar, inibir ou prevenir perda de função de barreira mediada por UV em pele humana.

[0017] É fornecido um método de tratar, inibir ou prevenir a perda de função de barreira mediada por UV em pele humana, compreendendo administrar ao indivíduo em necessidade de tal tratamento uma quantidade eficaz do composto pteroestilbeno (por exemplo, por administração tópica).

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0018] A FIG. 1 representa o metabolismo de resveratrol e pteroestilbeno. Microssomas de fígado humano metabolizam o resveratrol muito mais rápido do que o pteroestilbeno. Ensaios de glucuronidação *in vitro* são mostrados examinar a capacidade de 100 µg de microssomas de fígado humano para glucuronidar ou 500 µM de resveratrol (RES; painel superior) ou 500 µM de pteroestilbeno (PTERO; painel inferior) em 2 horas. Cromatografias de HPLC são apresentadas representando ou o composto de origem ou o metabólito de glucuronídeo indicado. Os picos de metabólito glucuronídeo foram confirmados por subsequente tratamento com β-glucuronidase (dados não mostrados). Detecção de picos por detector de UV/VIS a 308 nm.

[0019] A FIG. 2 representa a maneira na qual o pteroestilbeno previne o dano induzido por UV-B na pele de camundongos de SKH-1. Os camundongos foram tratados topicalmente com o veículo apenas ('+'')

acetona), resveratrol ou pteroestilbeno 30 minutos antes da exposição a 180 mJ/cm² de UV-B. O tratamento foi repetido a cada dois dias durante 14 dias. Fotografias mostram camundongos representativos após o 4º tratamento.

[0020] A FIG. 3 representa a maneira em que o pteroestilbeno previne a perda de função de barreira da pele mediada por UV em camundongos SKH-1 após exposição à radiação de UV-B como descrito acima para a Fig. 2. As medições de TEWL são expressas em g/m²•h (e rotuladas 'Perda de Água TD'). VEH = veículo, RES = resveratrol, e PTERO = pteroestilbeno. * é p<0,01 e NS é não significante.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0021] Foi desenvolvido um método quimioprotetor para tratar, inibir ou prevenir a perda de função de barreira na pele causada por luz ultravioleta (UV) usando uma quantidade eficaz de pteroestilbeno. São descritas composições farmacêuticas e nutracêuticas contendo pteroestilbeno adequado para a administração a um indivíduo a fim de prevenir subsequente perda de função de barreira na pele mediada por UV.

[0022] O termo "quantidade eficaz" é usado aqui para referir-se a uma quantidade de pteroestilbeno que é suficiente para tratar, inibir ou prevenir a perda de função de barreira mediada por UV em qualquer grau, por exemplo, como avaliado por quaisquer métodos descritos aqui ou conhecidos na técnica (por exemplo, perda de água transepidermica [TEWL], como descrito aqui). Uma quantidade eficaz para tratamento (isto é, uma quantidade terapeuticamente eficaz) é a quantidade que tipicamente produz qualquer melhora em uma condição, tal como função de barreira, com relação àquela condição antes do início do tratamento. "Inibição" ou "prevenção" pode ser determinada com relação aos resultados observados em um indivíduo de controle que não é tratado com pteroestilbeno. O indivíduo de controle é aquele que

é combinado com um indivíduo tratado como é o padrão na técnica (por exemplo, como ilustrado nos exemplos descritos abaixo). Em várias modalidades, uma quantidade eficaz é uma quantidade suficiente para tratar, inibir ou prevenir TEWL, Dano de DNA mediado por UV e/ou hiperplasia em pelo menos: 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, ou 100%, quando comparado a um controle. Uma quantidade eficaz é tipicamente determinada antes dos métodos quimioprotetores descritos aqui serem realizados.

[0023] Em algumas modalidades, "um indivíduo em necessidade de tratamento para, inibição de, ou prevenção de, perda de função de barreira na pele" exclui indivíduos que foram tratados com pteroestilbeno para um diferente propósito.

[0024] Pteroestilbeno (3,5-dimetóxi-4'-hidróxi-trans-estilbeno) é um composto oralmente biodisponível, com uma meia-vida $t_{1/2}$ de cerca de 105 minutos em sangue. Ao contrário, resveratrol tem pobre biodisponibilidade, e é facilmente metabolizado por UGTs levando a uma meia vida muito menor ($t_{1/2}$ cerca de 14 minutos no sangue), que impede sua eficácia como um agente quimiopreventivo.

[0025] Pteroestilbeno é um produto natural encontrado em uvas e bagas. Quimicamente ele é um análogo dimetilado de ocorrência natural de resveratrol, porém tem uma meia vida mais longa (Figura 1) mais provavelmente devido aos grupos de metila dramaticamente reduzindo seu metabolismo por UGTs (Hougee, S., et al., "Selective COX-2 inhibition by a Pterocarpus marsupium extract characterized by pteroestilbeno, and its activity in healthy human volunteers," *Planta Med.* (2005) 71: 387-92). 2005) 71(5): 387-92). Pteroestilbeno mostrou ser igualmente ou significantemente mais potente do que o resveratrol em diversos ensaios biológicos em camundongos, incluindo a inibição de ativação de NF- κ B, AP-1 e iNOS em pele de camundongo. De modo importante, o pteroestilbeno mostrou prevenir a ativação de COX-2

e a formação de tumor induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) em epiderme de camundongo *in vivo* (Cichocki, M., et al., "Pteroestilbene is equally potent as resveratrol in inhibiting 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate activated NFkappaB, AP-1, COX-2, and iNOS in mouse epidermis," Mol. Nutr. Food Res. (2008) 52 Suppl 1: S62-70).

[0026] Aqui é descrito um processo usando pteroestilbeno para inibir, tratar ou prevenir a perda de função de barreira na pele mediada por UV na pele, ou outros danos de DNA em pele associada com a exposição à UV. A perda de função de barreira aumenta um risco de desidratação do indivíduo, bem como a exposição a estresse ambiental, incluindo carcinógenos. Menos perda de água (como medido por TEWL) indica menos desidratação de tecido da pele.

[0027] Em determinadas modalidades, pteroestilbeno exibe características quimioprotetoras prevenindo a perda de função de barreira induzida por UV em pele de camundongo (Figuras 2 e 3). Foi mostrado aqui que o pteroestilbeno previne TEWL após exposição à UV (Figura 3). De modo interessante, pteroestilbeno foi mais efetivo do que o resveratrol em todos os casos (Figuras 2 e 3). De fato, apenas o pteroestilbeno preveniu a perda de função de barreira mediada por UV. Resveratrol foi ineficaz. Desse modo, acredita-se que o pteroestilbeno será efetivo na prevenção de numerosos danos mediados por UV, incluindo distúrbios proliferativos celulares de pele humana. xxxxx

[0028] Pteroestilbeno recebeu certificação GRAS (geralmente reconhecido como seguro) em maio de 2011 e foi um nutracêutico comercialmente disponível comercializado como um suplemento dietético em forma de pílulas desde então. Clinicamente, pteroestilbeno foi "primeiro em humanos" em dezembro de 2010 na University of Mississippi com colesterol, pressão sanguínea e estresse oxidativo como finalidades (clinicaltrials.gov identifier number NCT01267227). Neste

estudo, uma redução em pressão sanguínea total foi observada junto com nenhuma toxicidade reportada em pacientes tomando 125 mg de pteroestilbeno oralmente duas vezes ao dia (Riche, D.M., et al., "Analysis of safety from a human clinical trial with pteroestilbeno," *J. Toxicol.* (2013) 2013: 463595). Desse modo, o pteroestilbeno é um agente ideal para prevenir dano da pele mediado por UV com base em seu perfil de segurança humano.

[0029] (Exemplo A) O pteroestilbeno é mais biodisponível do que o resveratrol *in vitro*.

[0030] Usando microssomas de fígado humano agrupados ($n=20$) foi demonstrado pela primeira vez que o resveratrol é metabolizado muito mais rápido do que o pteroestilbeno (Veja, a Figura 1). Especificamente, ensaios de glucuronidação *in vitro* foram realizados como previamente descrito em um trabalho do co-inventor (Dellinger, R.W., et al., "Glucuronidation of PhIP and N-OH-PhIP by UDP-glucuronosyltransferase 1A10," *Carcinogenesis* (2007) 28: 2412-8; Dellinger, R.W., et al., "Importance of UDP-glucuronosyltransferase 1A10 (UGT1A10) in the detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons: decreased glucuronidative activity of the UGT1A10Lys isoform," *Drug Metab. Dispos.* (2006) 34: 943-9; Chen, G., Dellinger, R.W., et al., "Glucuronidation of tobacco-specific nitrosamines by UGT2B10," *Drug Metab. Dispos.* (2008) 36: 824-30) usando 100 µg de microssomas de fígado humano agrupados para ensaiar as taxas relativas de glucuronidação de resveratrol vs. pteroestilbeno. Após 2 horas, o resveratrol foi quase completamente convertido em seus glucuronídeos (Figura 1; painel superior), enquanto o pteroestilbeno é apenas 20% metabolizado (Figura 1; painel inferior) indicando que o pteroestilbeno terá uma meia vida significantemente maior em seres humanos. Consistente com relatos anteriores, a posição 3-OH de resveratrol é o sítio preferido de glucuronidação, enquan-

to que a posição é metilada (e desse modo não pode ser glucuronida-
da) em pteroestilbeno (Aumont, V., et al., "Regioselective and stereos-
pecific glucuronidation of trans- and cis-resveratrol in human," *Arch.
Biochem. Biophys.* (2001) 393: 281-9).

[0031] Além disso, biodisponibilidade aumentada de pteroestilbeno
foi demonstrada conclusivamente em ratos, onde o pteroestilbeno
mostrou biodisponibilidade 5 vezes aumentada em comparação com o
resveratrol (Kapetanovic, I.M., et al., "Pharmacokinetics, oral bioavaila-
bility, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog,
pteroestilbeno, in rats," *Cancer Chemother. Pharmacol.* (2011) 68:
593-601).

[0032] O raciocínio geral para estudar o câncer da pele não melano-
ma (NMSC), particularmente carcinoma de célula escamosa (SCC)
e seus precursores (incluindo dano ao DNA de células da pele), ema-
na de sua elevada e crescente frequência como as idades da popula-
ção, facilidade relativa de acessibilidade de tecido humano, morbidade
e mortalidade crescentes em indivíduos imunocomprometidos; SCC da
pele também serve como um modelo potencial para entender a biolo-
gia de muitos outros cânceres epiteliais.

[0033] Desse modo, os métodos descritos acima podem ser tam-
bém entendidos em conexão com os seguintes exemplos adicionais.

[0034] **Reagentes.** Resveratrol e pteroestilbeno foram obtidos de
ChromaDex Inc. (Irvine, California). Camundongos sem pelos SKH-1
fêmeas de seis semanas de idade foram adquiridos de Charles River
Labs (Wilmington, Massachusetts). Anticorpos anti-CPD (clone TDM2) e
anti-64 PP (clone 64M-2) adquiridos de CosmoBio USA (Carlsbad,
California).

[0035] Exposição à UV-B. Os camundongos foram expostos a uma
única dose de 180 mJ/cm² de radiação UVB liberada por meio de lâm-
padas UVB de banda larga (TL 40W/12 RS; Philips) emitindo 290–350

nm de luz com uma emissão de pico a 312 nm. A irradiação foi medida usando um sensor de termopilha (818P-001-12; Newport Inc., Irvine, California) e medidor de energia (842-PE; Newport Inc.).

[0036] **ELISAS.** DNA foi isolado de pele do dorso inteiro congelada instantaneamente, usando minikit Qiagen QIAamp Blood (cat # 51104) de acordo com as instruções do fabricante. Os ELISAs foram realizados em DNA purificado com anticorpos anti-CPD (clone TDM2) e anti-64 PP (clone 64M-2) usando o protocolo do fabricante e leitura usando uma leitora de placa DTX 800 Multimode Detector (Beckman Coulter) usando as configurações padrões de detecção colorimétrica. Quatro réplicas técnicas foram usadas e as cavidades sem DNA foram usadas como controle negativo.

[0037] **Medição de TEWL.** Para perda de água transepidermica (TEWL) um dispositivo de câmara de medição fechado (VapoMeter, Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finland) medindo a densidade do fluxo (gram/m²•h) foi usado aplicando o sensor com pressão uniforme e constante à pele dorsal por um único operador, de acordo com as instruções do fabricante.

[0038] **Estatísticas.** Todas as análises estatísticas foram realizadas usando CRAN R, versão 3.0.0, um programa código aberto de The R Foundation for Statistical Computing. Modelos de efeito misto lineares foram ajustados para cada finalidade com um efeito aleatório para o camundongo e efeitos fixos para exposição à UV, grupo de tratamento, e sua interação.

EXEMPLO 1

[0039] O tratamento com pteroestilbeno prevenindo dano mediado por UV-B nocivo, incluindo perda de água transepidermica (TEWL) na pele de camundongos SKH-1.

[0040] Camundongos SKH-1 sem pelo foram usados para avaliar a eficácia de pteroestilbeno na prevenção de dano na pele mediado

por UV. O modelo SKH-1 é idealmente adaptado para este propósito e é comumente usado em estudos preclínicos e produziu valiosos resultados. Previamente, o resveratrol foi demonstrado prevenir alterações aberrantes em pele de camundongo (Reagan-Shaw, S., et al., 2004). Para verificar se o pteroestilbeno poderia também prevenir essas alterações moleculares, replicamos estes experimentos. Especificamente, 15 camundongos SKH-1 (sem pelo) fêmeas adultos foram submetidos à radiação UV-B (180 mJ/cm^2) 30 minutos após aplicação tópica de veículo (acetona), resveratrol ou pteroestilbeno (5 camundongos cada grupo), sobre sua pele dorsal. Para todos os tratamentos tópicos 200 μl de volume total foram aplicados à pele do dorso do camundongo. Para o grupo de acetona, 200 μl de acetona foram aplicados. Para os grupos de resveratrol e pteroestilbeno o apropriado estilbeno foi aplicado em uma concentração de 10 $\mu\text{mol}/0,2 \text{ mL}$ de acetona/camundongo. Estes camundongos foram tratados a cada 2 dias para o total de 7 tratamentos. Como um controle, 15 camundongos foram tratados com veículo tópico, resveratrol ou pteroestilbeno, porém não expostos à UV-B (5 camundongos cada grupo). 24 horas após o último tratamento, os camundongos foram eutanizados, medições duas vezes da pele tiradas e peles do dorso coletadas. Como mostrado nas Figuras 2 e 3, pteroestilbeno previu o dano induzido por UV-B em pele de camundongo. Visualmente, pteroestilbeno claramente previu a vermelhidão (queimadura solar) sobre a pele dorsal quando comparado ao tratado com veículo + UV-B (Figura 2; comparar o painel à direita com o painel à esquerda). De fato, nenhuma vermelhidão foi observada sobre qualquer dos 5 camundongos no grupo de pteroestilbeno + UV-B. Além disso, enquanto o resveratrol foi capaz de limitar a quantidade de vermelhidão observada no dorso, ele não a previu como o pteroestilbeno o fez (Figura 2; comparar o painel à direita com o painel mediano). Esta prevenção de dano da pele visual

por pteroestilbeno correlacionada bem como com a prevenção de perda de função de barreira. Especificamente, o pteroestilbeno preveniu a TEWL mediada por UV quando comparado ao veículo + UV-B (Figura 3). Em comparação, o resveratrol não preveniu a TEWL (Figura 3). Portanto, o pteroestilbeno preveniu a perda de função de barreira induzida por UV da pele de camundongos SKH-1. Esta é a primeira demonstração de que o pteroestilbeno foi efetivo na prevenção de perda de função de barreira na pele. De modo interessante, pteroestilbeno foi mais efetivo do que o resveratrol em todos os casos.

EXEMPLO 2

[0041] Em outra modalidade, a eficácia de pteroestilbeno oral na prevenção de SCC mediado por UV em camundongos SKH-1 pode ser demonstrada.

[0042] Os dados acima claramente demonstraram que o pteroestilbeno pode prevenir o dano mediado por UV (incluindo perda de função de barreira) na pele de camundongos SHK-1. Para determinar se o pteroestilbeno é eficaz na prevenção de SCC, a capacidade do pteroestilbeno prevenir SCC induzido por UV em camundongos SKH-1 será examinada. Camundongos SKH-1 serão usados aqui, isto que este modelo é particularmente suscetível à carcinogênese induzida por UV (Dickinson S.E., et al., "p38 MAP kinase plays a functional role in UVB-Induced mouse skin carcinogenesis," *Mol. Carcinog.* (2011) 50(6): 469-478). Oitenta camundongos SKH-1 fêmeas (6 semanas de idade) serão obtidos da University of California – Irvine (UCI) **p. 10mouse core facility e deixados aclimatar durante 15 dias antes de iniciar os experimentos. Os camundongos serão alojados ali de acordo com os padrões estabelecidos pelo Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) at UC Irvine. Aos camundongos serão permitidos alimento e água livremente. Quarenta camundongos SKH-1 fêmeas (6 semanas de idade) serão aleatoriamente divididos em dois grupos. O

primeiro grupo de animais receberá pteroestilbeno (em uma solução a 0,5% de metilcelulose) por gavagem oral três vezes por semana (200 mg/Kg de peso corporal). O segundo grupo de animais receberá veículo oral (solução a 0,5% de metilcelulose) por gavagem oral e servirá como controles não tratados comparados pela idade. Duas semanas após o primeiro tratamento os camundongos serão expostos à irradiação UV usando um simulador solar com anteriormente descrito (Papazoglou, E., et al., "Noninvasive assessment of UV-induced skin damage: comparison of optical measurements to histology and MMP expression," *Photochem. Photobiol.* (2010) 86: 138-45). Tratamentos com UV serão realizados semanalmente durante 25 semanas. A dose inicial será de 0,9 kJ/m² UV-B e aumentada a cada semana em 25% até a dose final dose ser atingida a 2,75 kJ/m² UV-B, que será continuada durante a duração do experimento. Tumores da pele serão contados e medidos usando compasso de calibre digital semanalmente. Na conclusão das 25 semanas os grupos de teste de camundongos serão sacrificados. Peles do dorso e tumores serão excisados para análise posterior. O tempo de aparecimento do tumor, número e tamanho de tumores, bem como o tempo de vida de sobrevivência serão registrados para camundongos individuais para avaliar a eficácia de tratamentos comparados ao correspondente grupo de controle.

[0043] **Avaliação de biomarcadores em pele normal e SCC de camundongos SKH-1.** Para examinar o efeito de pteroestilbeno sobre a sinalização AA em nossos exemplos modelo, mudanças em níveis de expressão de pele normal e tumores dos camundongos de controle serão avaliados e comparados à pele normal e tumores de camundongos tratados com pteroestilbeno. Concentrações de 12-HETE e PGE₂ serão avaliadas em pele normal e tumores dos camundongos de controle e comparadas à pele normal e tumores de camundongos tratados com pteroestilbeno após o período de tratamento de 25 semanas

usando cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massa quad triplo (LC/MS/MS) como anteriormente descrito (Maskrey, B.H., et al. "Analysis of eicosanoids and related lipid mediators using mass spectrometry," *Biochem. Soc. Trans.* (2008) 36: 1055-9). As concentrações de pteroestilbeno em pele de camundongo serão também avaliadas por LC/MS/MS como anteriormente descrito (Kapetanovic, I.M., et al., 2011) para garantir a liberação eficaz de pteroestilbeno para a pele. Os níveis de proteína de COX-2, 12-LOX, UGT e 15-PGDH serão medidos semiquantitativamente por mancha do Oeste. Proteínas de resposta ao dano de DNA (por exemplo, p53 and H2AX) e angiogênese (por exemplo, VEGF) serão também avaliadas em tecido normal e de tumor. Detecção de dano de DNA (a longo prazo) será também avaliada (ambos CPD e 64 pp).

[0044] Os modelos de camundongo como descrito aqui indicam que o pteroestilbeno será eficaz na prevenção ou tratamento de câncer de pele mediado por UV. Além disso, os dados gerados aqui suportam o uso de pteroestilbeno (por exemplo, aplicado topicalmente) para tratar, inibir ou prevenir a perda de função de barreira na pele mediada por UV em mamíferos, incluindo indivíduos humanos.

[0045] Mais especificamente, visto que demonstramos que o pteroestilbeno é efetivo na prevenção de perda de função de barreira na pele como avaliado prevenindo a TEWL, o pteroestilbeno é acreditado ser útil no tratamento ou prevenção (e potencialmente reparo) da perda de função de barreira em lesões de queimadura em pele de mamíferos (por exemplo, ser humano). O controle da perda de água é um componente crítico no cuidado de vítimas de queimadura e novos tratamentos efetivos são urgentemente necessários.

[0046] Em outras modalidades, o pteroestilbeno pode ser usado em uma formulação cosmética para tratar, inibir ou prevenir Dano mediado por UV em pele humana. Por exemplo, uma composição con-

tendo pteroestilbeno pode ser usada para tratar, inibir ou prevenir rugas de pele induzidas por UV, estrias, e similares.

[0047] As células da pele, como descrito, são suscetíveis ao dano induzido por luz UV, dano ao DNA, hiperplasia, e carcinogênese. Além disso, envelhecimento normal em combinação com dano induzido por UV pode contribuir para a formação de rugas, manchas da idade, perda de elasticidade da pele, e outros sinais de envelhecimento, incluindo rugas superficiais, uma ruga profunda áspera, poros alargados, fotodano, escamação, rachaduras, ressecamento, e flacidez na pele, inchaço na pele em torno dos olhos, inchaço na pele em torno da papada, perda da firmeza da pele, perda de firmeza da pele, perda de retesamento da pele, perda de recuperação da pele de deformação, descoloração, manchas, palidez, hiperpigmentação, queratose, hiperqueratinização, elastose ou desgaste do colágeno e celulite, ou combinações destes.

[0048] Portanto, em uma modalidade, os métodos de tratamento compreendendo administração de pteroestilbeno podem ser usados como segue: para melhorar determinados sinais de envelhecimento induzidos por UV, incluindo rugas superficiais, uma ruga profunda áspera, poros alargados, mancha da idade, fotodano, escamação, rachaduras, ressecamento, e flacidez na pele, inchaço na pele em torno dos olhos, inchaço na pele em torno da papada, perda da firmeza da pele, perda de firmeza da pele, perda de retesamento da pele, perda de recuperação da pele de deformação, descoloração, manchas, palidez, hiperpigmentação, queratose, hiperqueratinização, elastose ou desgaste do colágeno e celulite, ou combinações destes.

[0049] Adicionalmente, os dados aqui fornecem suporte para a capacidade de pteroestilbeno para tratar, inibir ou prevenir uma ampla disposição de distúrbios proliferativos celulares humanos, incluindo, porém não limitados a, hiperplasia benigna (tal como Psoríase), for-

mação de queijoide, formação de AK, NMSC, bem como câncer de pele (por exemplo, BCC, ou SCC).

[0050] Portanto, em outras modalidades do método, o pteroestilbeno pode ser administrado por qualquer rotina de administração descrita aqui (por exemplo, tópica) para tratar, inibir ou prevenir distúrbios proliferativos, incluindo, porém não limitado a, hiperplasia benigna (tal como Psoríase), formação de queijoide, formação de AK, NMSC, bem como o câncer de pele (por exemplo, BCC, ou SCC) em mamíferos, incluindo seres humanos.

[0051] Quando o pteroestilbeno é usado em um método quimio-preventivo, a pele suscetível é tratada antes de qualquer condição visível afetando aquela pele (ou, em algumas modalidades, qualquer outra evidência de perda de função de barreira) em um indivíduo particular. Quando o pteroestilbeno é usado para inibir quaisquer das condições descritas acima, o pteroestilbeno pode ser aplicado à pele que exibe evidência de uma ou mais destas condições ou pele que não exibe nenhuma das tais evidências. Quando o pteroestilbeno é usado para tratar quaisquer das condições descritas acima, o pteroestilbeno pode ser aplicado à pele que exibe evidência de uma ou mais destas condições. O tratamento de toda a pele pode ser obtido por administração sistêmica.

[0052] As dosagens terapêuticas úteis de pteroestilbeno podem variar, porém não estão limitadas a, de cerca de 1 mg a cerca de 1000 mg em um indivíduo humano. Outra faixa de dose adequada é de cerca de 5 mg a cerca de 500 mg. Outra faixa de dose adequada é de cerca de 20 mg a cerca de 250 mg. O pteroestilbeno pode ser formulado como uma composição farmacêutica ou nutracêutica, incluindo um veículo farmaceuticamente ou nutraceuticamente aceitável, respectivamente. Em uma modalidade de uma composição farmacêutica contendo pteroestilbeno, um nível adequado de pteroestilbeno pode

variar de cerca de 0,1% por peso a cerca de 10% por peso, com base no peso total da composição.

[0053] As composições cosméticas ou cosmecêuticas da presente invenção podem ser administradas em combinação com um veículo nutraceuticamente aceitável. Os ingredientes ativos em tais formulações podem compreender de 1% em peso a 99% em peso, ou alternativamente, 0,1% em peso a 99,9% em peso. Alternativamente, os ingredientes ativos podem variar de cerca de 5% em peso a cerca de 75% em peso, ou de cerca de 10% em peso a cerca de 75% em peso. "Veículo nutraceuticamente aceitável" significa qualquer veículo, diluente ou excipiente que é compatível com os outros ingredientes da formulação e não prejudicial ao usuário. Excipientes úteis incluem celulose microcristalina, estearato de magnésio, estearato de cálcio, qualquer açúcar aceitável (por exemplo, manitol, xilitol), e para uso cosmético uma base oleosa é preferida.

[0054] Em determinadas modalidades, os métodos descritos aqui reduzem a perda de função de barreira na pele como indicado por decréscimo na perda de água transepidermica (TEWL). Em métodos terapêuticos, esta redução pode ser determinada medindo a TEWL antes e após iniciar o tratamento. A TEWL (por exemplo, de indivíduos humanos) pode ser medida por qualquer método, incluindo aquele descrito aqui.

[0055] As composições farmacêuticas (por exemplo, tópica) da presente invenção podem ser administradas em combinação com um veículo farmaceuticamente aceitável. Os ingredientes ativos em tais formulações podem compreender de 1% em peso a 99% em peso, ou alternativamente, 0,1% em peso a 99,9% em peso. "Veículo farmaceuticamente aceitável" significa qualquer veículo, diluente ou excipiente que é compatível com os outros ingredientes da formulação e não prejudicial ao usuário.

[0056] De acordo com determinadas modalidades, as composições farmacêuticas tópicas descritas aqui podem ser fornecidas na forma de um unguento, creme, loção, gel ou outros sistema de liberação transdérmica como descrito em L.V. Allen, Jr., et al., *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9^a Ed., pp. 272-293 (Filadélfia, Pensilvânia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011) que é aqui incorporado por referência.

[0057] Unguentos, como usado aqui, se referem a preparações semissólidas, incluindo uma base de unguento tendo um ou mais ingredientes ativos incorporados ou fundidos (isto é, derretidos junto com outros componentes da formulação e resfriadas com constante agitação para formar uma preparação congelada) aqui. A base de unguento pode ser na forma de: uma base oleaginosa ou de hidrocarboneto (por exemplo, petrolato ou uma combinação de petrolato/cerawax combinação); uma base de absorção que permite a incorporação de solução aquosa, resultando na formação de uma emulsão de água em óleo (por exemplo, petrolato hidrofílico) ou que é uma emulsão de água em óleo que permite a incorporação de quantidades adicionais de soluções aquosas (por exemplo, lanolina); uma base removível com água que é emulsão de óleo em água que pode ser diluída com água ou soluções aquosas (por exemplo, unguento hidrofílico, USP); ou uma base solúvel em água que não contém componentes oleaginosos (por exemplo, formulações de polietileno glicol (PEG) que combinam PEGs tendo um peso molecular médio abaixo de 600 com um PEG tendo um peso molecular médio acima de 1.000); e similares.

[0058] Cremes, como usado aqui, se referem a preparações semissólidas contendo um ou mais agentes ativos ou medicinais dissolvidos ou dispersos em ou uma emulsão de água em óleo ou uma emulsão de óleo em água ou em outro tipo de base lavável com água. Geralmente, cremes são diferenciados de unguentos pela facilidade

com que eles são aplicados/espalhados sobre uma superfície, tal como a pele, e a facilidade com a qual eles são removidos de uma superfície tratada.

[0059] Loções, como usado aqui, se referem a suspensões de materiais sólidos em um veículo aquoso. Geralmente, loções têm um caráter não gorduroso e dispersão aumentada em grandes áreas da pele, do que unguentos, cremes, e géis.

[0060] Géis, como usado aqui, se referem a sistemas semissólidos, incluindo uma dispersão de pequenas e/ou grandes moléculas em um veículo líquido aquoso que é tornado gelatinoso pela adição de um agente gelificante. Agentes gelificantes adequados incluem, porém não estão limitados a, macromoléculas sintéticas (por exemplo, polímeros de carbômero), derivados de celulose (por exemplo, carboximetilcelulose e/ou hidroxipropil metilcelulose), e gomas naturais (por exemplo, goma tragacanto, carragenina, e similares). Preparações de gel podem ser na forma de um gel de única fase em que os ingredientes ativos ou medicinais são uniformemente dispersos em todo o veículo líquido sem limites visíveis ou um gel de duas fases em que os floculantes ou partículas distintas pequenas do ingrediente ativo ou medicinal são dispersos no veículo líquido.

[0061] Preparações transdérmicas podem ser formadas de um unguento, creme, ou gel que foi combinado com um realçador de penetração e são designadas para liberar um ingrediente ativo ou medicinal sistematicamente. Os intensificadores de penetração incluem, por exemplo, dimetil sulfóxido, etanol, propileno glicol, glicerina, PEG, ureia, dimetil acetamida, sódio lauril sulfato, poloxâmeros, Spans, Tweens, lecitina, e/ou terpenos entre outros.

[0062] Outras formas semissólidas adequadas para uso como composições farmacêuticas cosméticas e/ou tópicas incluem pastas (preparações contendo uma maior proporção de material sólido tor-

nando-as mais duras do que os ungamentos) e glicerogelatinas (massas plásticas contendo gelatina, glicerina, água, e um ingrediente ativo ou medicinal).

[0063] Em outras modalidades as composições tópicas e/ou cosméticas podem ser preparadas de acordo com formas de dosagem como descrito em *Sample Preparation of Pharmaceutical Dosage Forms*, B. Nickerson, Ed. (Nova Iorque: Springer, 2011) aqui incorporado por referência.

[0064] Dosagens tópicas diárias úteis de pteroestilbeno podem variar, porém não estão limitadas a, de cerca de 1 mg a cerca de 1000 mg em um indivíduo humano. Outra faixa de dose tópica diária adequada é de cerca de 5 mg a cerca de 500 mg. Outra faixa de dose tópica diária adequada é de cerca de 20 mg a cerca de 250 mg. Pteroestilbeno pode ser fornecido em dosagens tópicas diárias de cerca de 10 mg a cerca de 250 mg, em um paciente humano, por exemplo. Outra faixa de dosagem tópica adequada é de cerca de 50 mg a cerca de 150 mg diariamente. Outra faixa de dosagem tópica adequada é de cerca de 50 mg a cerca de 100 mg diariamente. Uma dosagem particularmente adequada é de cerca de 100 mg administradas diariamente.

[0065] Para administração oral, o pteroestilbeno pode ser combinado com um ou mais ingredientes inativos sólidos para preparação de comprimidos, cápsulas, pílulas, pós, grânulos ou outras formas de dosagem adequadas. Por exemplo, o agente ativo pode ser combinado com pelo menos um excipiente, tal como cargas, aglutinantes, umectantes, agentes de desintegração, retardantes da solução, aceleradores de absorção, agentes umectantes, absorventes, ou agentes lubrificantes. Outros excipientes úteis incluem estearato de magnésio, estearato de cálcio, manitol, xilitol, adoçantes, amido, carboximetilcelulose, celulose microcristalina, sílica, gelatina, dióxido de silício, e simi-

lares.

[0066] Em algumas modalidades, composições úteis nos métodos descritos aqui podem incluir, além do pteroestilbeno, outro agente ativo útil para o tratamento, inibição ou prevenção dos efeitos indesejados de UV, tal como a perda de função de barreira na pele. Por exemplo, pteroestilbeno pode ser administrado em uma composição também contendo qualquer tipo de protetor solar, por exemplo, em composições tópicas e/ou cosméticas.

Vias de Administração

[0067] Os compostos podem ser administrados por qualquer rotina, incluindo, porém não limitados à administração oral, sublingual, bucal, ocular, pulmonar, retal, e parenteral, ou como um spray oral ou nasal (por exemplo, inalação de vapores, gotículas, ou partículas sólidas nebulizados). A administração parenteral inclui, por exemplo, administração intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intraperitoneal, intranasal, intravaginal, intravesical (por exemplo, à bexiga), intradérmica, transdérmica, tópica, ou subcutânea. É também contemplada dentro do escopo da invenção a instilação de pteroestilbeno no corpo do paciente em uma formulação controlada, com liberação sistêmica ou local do fármaco para ocorrer em um momento posterior. Por exemplo, o fármaco pode ser localizado em um depósito para liberação controlada para a circulação, ou para liberação para um sítio local de crescimento de tumor.

[0068] O tratamento pode ser realizado durante um período tão longo quanto necessário, ou em uma única sessão ininterrupta, ou em sessões discretas. O médico que realiza o tratamento saberá como aumentar, diminuir, ou interromper o tratamento com base na resposta do paciente. De acordo com uma modalidade, o tratamento é realizado durante cerca de quatro a cerca de doze semanas. O esquema de tratamento pode ser repetido como requerido.

[0069] Embora na especificação anterior, esta invenção tenha sido descrita com relação a determinadas modalidades da mesma, e muitos detalhes tenham sido apresentados para o propósito de ilustração, será evidente para aqueles versados na técnica que a invenção é suscetível a modalidades adicionais e que alguns dos detalhes descritos aqui podem ser variados consideravelmente sem afastar-se dos princípios básicos da invenção.

[0070] Todas as referências citadas aqui são incorporadas por referência em sua totalidade. A presente invenção pode ser representada em outras formas específicas, sem afastar-se do espírito ou atributos essenciais da mesma e, consequentemente, a referência deve ser feita às reivindicações anexas, em vez de à especificação anterior, como indica o escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma quantidade eficaz do composto pteroestilbeno, caracterizado pelo fato de que é para preparação de uma composição farmacêutica para tratamento ou prevenção da perda de função de barreira em uma queimadura na pele de mamíferos.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o composto pteroestilbeno é fornecido em uma composição compreendendo um veículo farmaceutica ou nutraceuticamente aceitável.

4. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que a quantidade eficaz de pteroestilbeno para uma dose total está em uma faixa de 0,1% em peso a 10% em peso, com base no peso total da composição.

5. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a quantidade eficaz de pteroestilbeno para uma dose diária total está em uma faixa de 1 mg a 1000 mg.

6. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a via de administração do composto é selecionada do grupo que consiste em oral, tópica, intradérmica, transdérmica e subcutânea.

7. Uso, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o composto pteroestilbeno é administrado topicamente à superfície da pele de um indivíduo.

8. Uso, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o composto pteroestilbeno é provido em uma composição compreendendo um veículo farmaceuticamente aceitável.

9. Uso, de acordo com a reivindicação 7 ou 8, caracterizado pelo fato de que o dano à pele, incluindo perda de função de barreira

na pele indicado pela perda de água transepidérmica [TEWL], é diminuído.

10. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o dito tratamento inclui adicionalmente a medição de TEWL antes e depois do início do tratamento com pterostilbeno.

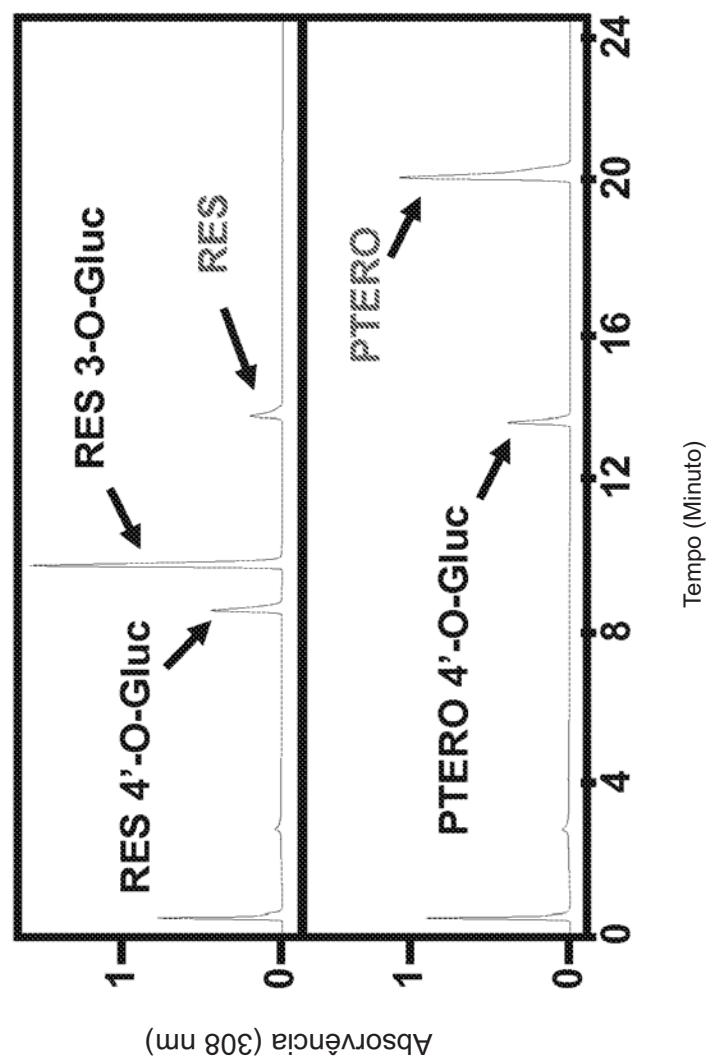


FIG. 1

2/3

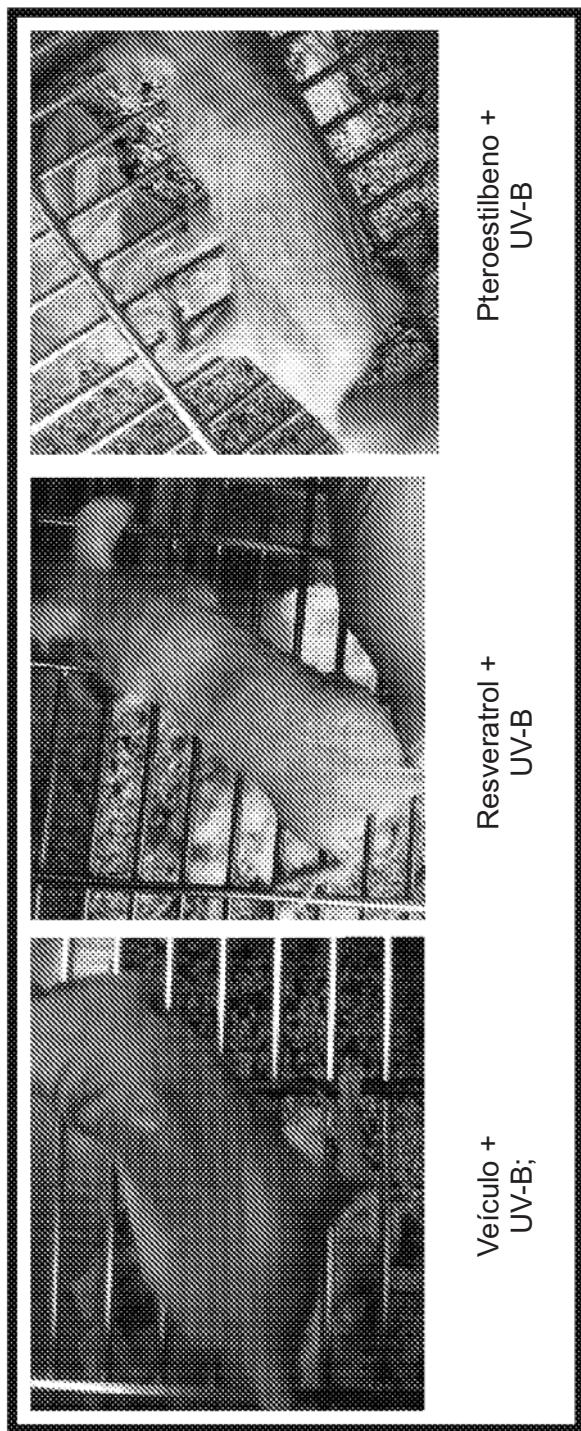


FIG. 2

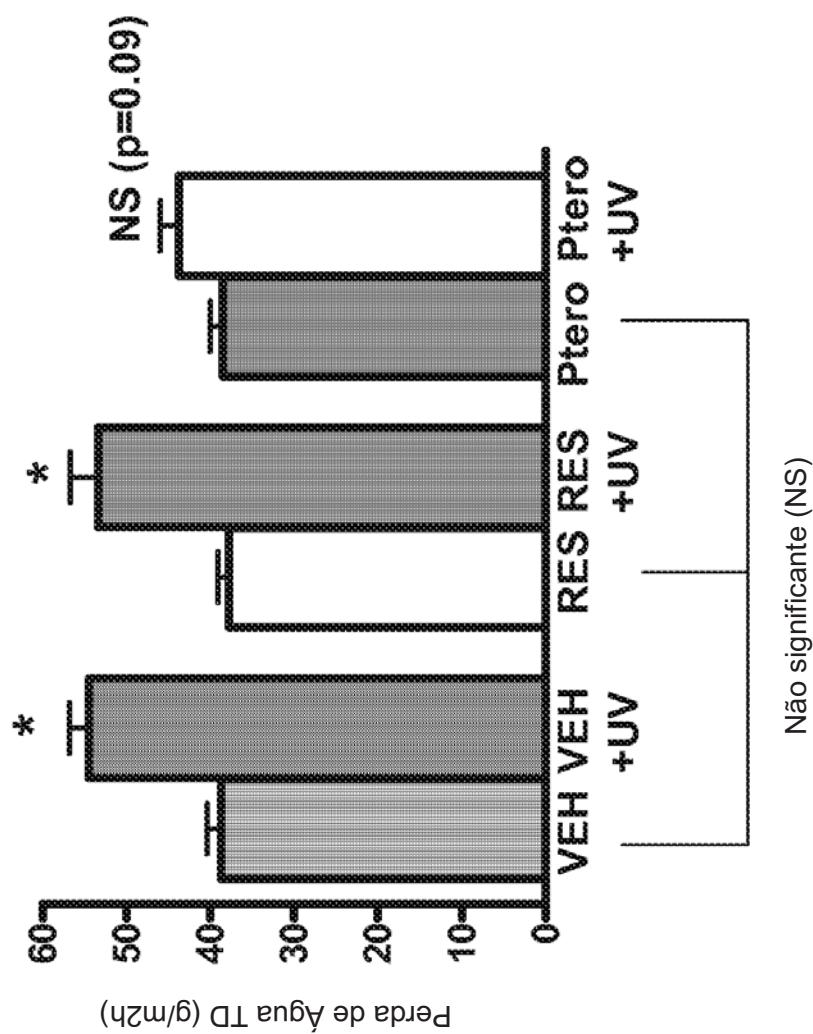


FIG. 3