



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

(21) **PI0903861-2 A2**

(22) Data de Depósito: 30/09/2009
(43) Data da Publicação: 20/07/2010
(RPI 2063)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 36/02
A61K 8/96
A61Q 7/00

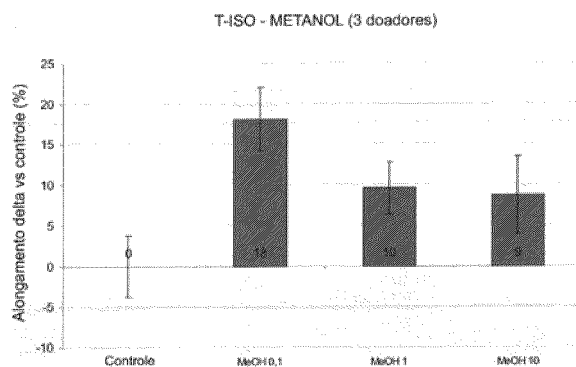
(54) Título: **EXTRATOS DE ISOCHRYSIS SP**

(30) Prioridade Unionista: 30/09/2008 US 61/101,228

(73) Titular(es): Symrise Gmbh & Co. KG

(72) Inventor(es): Holger Joppe, Lorenzo Zanella, Martina
Hermann, Paolo Pertile

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a extratos de Isochrysis sp., preferivelmente Isochrysis Taitiana, seus usos cosmético, dermatológico e/ou terapêutico e composições e produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos compreendendo tal extrato de Isochrysis sp., preferivelmente Isochrysis Taitiana.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"EXTRATOS DE ISOCHRYSIS SP"**.

A presente invenção refere-se a extratos de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, seus usos cosmético, dermatológico e/ou terapêutico e composições e produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos compreendendo tal extrato de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*.

No campo de cosmética e dermatologia, existe uma necessidade em prover agentes para influenciamento ou modificação do crescimento de cabelo humano, isto é, prover agentes para aumento da velocidade de crescimento de cabelo humano e/ou para estimulação de crescimento de cabelo a partir de folículos pilosos não-produtores. Da mesma maneira, agentes para influenciamento ou modificação de crescimento de cabelo humano que reduzem a velocidade de crescimento de cabelo humano e/ou para retirada de cabelo são buscados. Preferivelmente, o influenciamento ou modificação do crescimento de cabelo humano deve ser localmente limitado.

Por outro lado, no campo de cosméticos são buscados agentes para influenciamento ou modificação de pigmentação de pele e/ou cabelo humano, isto é, agentes para aumento da coloração de pele e/ou cabelo humano (daqui em diante também chamados "tingimento de castanho" ou "bronzamento") ou para diminuição da pigmentação da pele e/ou cabelo (daqui em diante também chamado "clareamento").

Crescimento de cabelo não é um procedimento contínuo, de acontecimento uniforme, mas ao contrário resulta da produção de material de cabelo em folículos pilosos que sofrem vários estágios de ciclo de crescimento de cabelo. Durante uma fase de descanso do folículo piloso, nenhuma quantidade significativa de material de cabelo é produzida, enquanto durante uma fase de produção de cabelo a produção de material de cabelo é iniciada ou continuada. Alguns folículos pilosos ficam em um estado aparentemente inativo, onde por um tempo aparentemente indefinido nenhum material de cabelo adicional é produzido, resultando em uma perda de cabelos.

Disposição genética bem como o processo de envelhecimento

natural e/ou doença contribuem para perda de cabelo e diminuição do crescimento de cabelo em ambos os homens e as mulheres. Aproximadamente 50% da população apresentam esta características até certo ponto por volta da idade de 50 anos, onde o afinamento do cabelo pode começar entre 12 e 40 anos de idade independente do gênero (Otberg, N. e outros, *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 2007, 36(2), 379-398 e Price V.H., *Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2003, 8(1), 24-27).

Para aumentar o crescimento de cabelo humano foi então proposto prolongar a fase de produção de material de cabelo e/ou encurtar a fase de descanso de folículos pilosos, por exemplo, através da reativação dos folículos pilosos aparentemente inativos. Então, agentes capazes de estimular o crescimento de cabelo bem como prevenir e deixar mais lenta ou reduzir perda de cabelo poderiam ser benéficos não apenas como uma cura para alopecia, mas também afetar positivamente os eventos psicossociais associados com tais distúrbios. Estudos revelam impacto psicossocial com perda de cabelo incluir falta de satisfação com a imagem do corpo associada com estereótipos negativos tal como se sentir mais velho, fraco e menos atraentes (S. Pickard-Holley, *Sem. Oncol. Nurs.* 1995, 11, 235-238).

Vários agentes para estimulação de crescimento de cabelo foram propostos. Fármacos, incluindo Minoxidil (Rogaine), Finasterina (Propecia) e Dutasterida (Avodart) são tratamentos aprovados para perda de cabelo. No entanto, eles requerem prescrição médica e são ativos apenas sobre uma certa porcentagem da população. Além disso, alguns desses fármacos não são permitidos serem usados por mulheres por causa de efeitos hormonais. Então, mulheres na pré-menopausa não tomam Finasterida devido ao risco de anormalidades em fetos masculinos quando ficam grávidas (S. Krus e outros, *J. Appl. Cosmetol.* 2007, 25, 59-74).

Minoxidil é um fármaco que é eficaz na indução de crescimento de cabelo para uma pequena porcentagem de pacientes e vai crescer cabelo novamente apenas no alto do couro cabeludo. Efeitos adversos quando tomado oralmente são taquicardia, angina peitoral e retenção de fluido. Quando aplicado topicamente efeitos adversos são principalmente dermatológi-

cos, isto é, irritação local, coceira, ressecamento e eritema (S. Krus e outros, *J. Appl. Cosmetol.* 2007, 25, 59-74).

Outros tratamentos médicos disponíveis para tratar perda de cabelo incluem técnicas cirúrgicas drásticas tal como redução de couro cabeludo, retalhos do couro cabeludo ou transplante de unidade folicular. Essas cirurgias carregam o risco de complicações tal como elevação da linha do cabelo associada com a região doadora, possibilidade de necrose e aparência não-natural da direção de crescimento do cabelo, anestesia e cuidado pós-operatório, sem mencionar custos altos.

Preparações herbais que declaram induzir crescimento de cabelo (por exemplo, *Hair Prime*) estão disponíveis em baixo custo, mas sua eficácia é frequentemente muito limitada.

Por outro lado, é algumas vezes desejável depilar partes de um corpo humano. Então, é, por exemplo, geralmente preferido ter cabelo no couro cabeludo, mas com muita frequência cabelo é indesejável em outras partes do corpo, especialmente nas pernas, debaixo dos braços e na face. Ainda, há distúrbios de crescimento de cabelo patológicos (por exemplo, hirsutismo, foliculite, pseuofoliculite barba) que requerem tratamento médico.

Vários procedimentos têm sido empregados para remover cabelo indesejado, incluindo barbeamento, eletrólise, cremes ou loções depilatórios, cera, pinça e antiandrógenos terapêuticos. Esses procedimentos convencionais geralmente têm inconvenientes associados com eles. Barbeamento, por exemplo, pode causar cortes ou machucados e pode deixar uma percepção de um aumento na taxa de novo crescimento de cabelo. Barbeamento pode também deixar um pelo eriçado indesejável. Eletrólise, por outro lado, pode manter uma área tratada livre de cabelo por períodos de tempo prolongados, mas pode ser cara, dolorosa e algumas vezes deixar cicatriz. Cremes depilatórios, embora muito eficazes, tipicamente não são recomendados para uso frequente devido ao seu alto potencial de irritação. Cera e pinça podem causar dor, desconforto e remoção pobre de cabelo curto. Finalmente, antiandrógenos, que têm sido usados para tratar hirsutismo feminino, podem ter efeitos colaterais indesejados.

Ingredientes ativos de clareamento de pele ou cabelo intervêm de uma forma ou outra no metabolismo ou catabolismo de melanina. Pigmentos de melanina, que são normalmente de cor marrom a preto, são formados nos melanócitos da pele, transferidos para os queratinócitos e dão à pele ou cabelo sua cor. Em mamíferos, as eumelaninas marrons-pretas são principalmente formadas a partir de amino ácidos aromáticos substituídos com hidróxido tais como L-tirosina e L-DOPA, as feomelaninas amarelas a vermelhas adicionalmente de moléculas contendo enxofre (*Cosmetics & Toiletries* 1996, 111 (5), 43-51). Partindo de L-tirosina, L-3,4-diidroxifenilalanina (L-DOPA) é formada pela enzima chave tirosinase contendo cobre e é por sua vez convertida pela tirosinase em dopacroma. Através de uma série de etapas catalisadas por várias enzimas, a última é oxidada para formar melanina.

Agentes de clareamento da pele são usados por várias razões: se por alguma razão os melanócitos de formação de melanina em pele humana não forem distribuídos uniformemente, pontos de pigmento acontecem que são ou mais claros ou mais escuros do que a área de pele circundante. Para resolver este problema, agentes de clareamento de pele e cabelo são vendidos que ajudam pelo menos parcialmente a equilibrar tais pontos de pigmento. Ainda, muitas pessoas têm uma necessidade de clarear sua cor de pele escura naturalmente ou prevenir pigmentação da pele. Agentes de clareamento de cabelo são úteis para clarear cabelo indesejado que cresce novamente e fazê-lo menos notável. Ainda, muitas pessoas têm o desejo de clarear sua cor de cabelo naturalmente escura. Isto requer agentes de clareamento de pele e cabelo muito seguros e eficazes. Muitos agentes de clareamento de pele e cabelo contêm mais ou menos inibidores de tirosina poderosos. Isto é apenas uma via possível com relação a clareamento de pele e cabelo, no entanto.

Ainda, substâncias de absorção de UV são também usadas para proteger contra o aumento em pigmentação da pele causada por luz UV. Este é um efeito puramente fisicamente induzido, no entanto, e deve ser distinguido da ação biológica de agentes de clareamento da pele sobre a for-

mação de melanina, que pode ser também detectada na ausência de luz de UV. Além disso, absorvedores de UV não causam um clareamento verdadeiro da pele, mas inibem apenas o aumento na pigmentação da pele causado por luz UV.

5 Hidroquinona, derivados de hidroquinona tal como, por exemplo, arbutina, vitamina C, derivados de ácido ascórbico tal como, por exemplo, palmitato de ascorbila, ácido kojic e derivados de ácido kojic tal como, por exemplo, dipalmitato de ácido kojic, são usados em particular em formulações de clareamento da pele e cabelo cosméticas ou terapêuticas comerciais.

10 Um dos clareadores de pele e cabelo mais comumente usados é hidroquinona. No entanto, este composto tem um efeito citotóxico sobre melanócitos e é irritante para a pele. Por esta razão tais preparações não são mais autorizadas para aplicações cosméticas na Europa, Japão e África do Sul, por exemplo. Ainda, a hidroquinona é muito sensível à oxidação e pode ser estabilizada apenas com dificuldade em formulações cosméticas. Arbutina é um glicosídeo de hidroquinona, que hidrolisa *in situ* para formar hidroquinona e é então tão questionável em termos toxicológicos quanto a hidroquinona.

20 Vitamina C e derivados do ácido ascórbico têm apenas um efeito inadequado sobre a pele. Ainda, eles não agem diretamente como inibidores de tirosina, mas ao invés disso reduzem os estágios intermediários coloridos de biossíntese de melanina.

25 Ácido kojic (5-hidróxi-2-hidroximetil-4-piranona) é um inibidor de tirosinase que inibe uma ação catalítica através de quelação de átomos de cobre na enzima; ele é usado em agentes de clareamento de pele e cabelo comerciais, mas tem um potencial de sensibilização alto e causa alergias de contato.

30 Por outro lado, é algumas vezes desejável bronzear partes do corpo. Agentes para tingimento castanho da pele e cabelo podem pelo menos parcialmente ajudar a equilibrar os pontos de pigmento se os melanócitos de formação de melanina não forem distribuídos uniformemente. Ainda,

5 muitas pessoas precisam pintar sua cor de pele naturalmente pálida para desenvolver pigmentação de pele sem serem expostas à radiação solar. Ainda, muitas pessoas têm o desejo de obter uma cor de cabelo mais intensa e homogênea. Por esta razão, agentes de tingimento castanho de pele e cabelo eficazes são necessários.

10 Sabe-se também que em pessoas de pele clara muita exposição ao sol pode causar a quebra do ácido fólico da vitamina B vitalmente importante. Deficiência de ácido fólico na gravidez, por exemplo, leva a deformidades severas. Ácido fólico é também necessário para síntese de DNA e é então essencial para produção de esperma. Deficiência de ácido fólico pode então levar à infertilidade. Uma proteção contra radiação UV então previne deficiência de ácido fólico.

15 Bronzeamento de pele artificial pode ser realizado cosmeticamente ou medicinalmente, as principais abordagens que seguem desempenham uma parte:

Se preparações de caroteno forem tomadas regularmente, caroteno é armazenado no tecido graxo da subcútis e a pele gradualmente se torna laranja a amarelo-marrom.

20 Preparações de maquiagem laváveis podem ser usadas para conseguir um tingimento da pele claro (por exemplo, extratos de cascas de noz verde fresca, henna).

25 Bronzeamento da pele pode ser também conseguido através de mudanças químicas no extrato córneo usando as chamadas preparações de autobronzeamento. O ingrediente ativo mais importante é diidroxiacetona. O bronzeamento da pele conseguido deste modo não sai com lavagem e é apenas removido com a descamação normal da pele (após cerca de 5 a 10 dias). Diidroxiacetona pode ser classificada como cetotriose e como um açúcar de redução ele reage com os amino ácidos na pele ou os grupos amino e imino livres em queratina através de uma série de etapas intermediárias ao longo das linhas de uma reação Maillard para formar substâncias coloridas
30 de marrom conhecidas como melanóides, que são ocasionalmente também chamados melanoidinas.

Uma desvantagem disto é que diferente da pele "bronzeadada pelo sol", o bronzeamento da pele obtido com diidroxiacetina não protege a pele contra queimadura solar. Uma desvantagem adicional de diidroxiacetona se encontra no fato de que, particularmente sob a influência de radiação ultravioleta, ela libera formaldeído, embora geralmente em pequenas quantidades. Diidroxiacetona também tem um odor químico, desagradável.

A coloração obtida com agentes de autobronzeamento é conseguida sem exposição à luz do sol. Em contraste, os chamados "produtos pré-bronzeamento" ou "promotores de bronzeamento" estão também disponíveis, os quais têm que ser aplicados antes da exposição à luz do sol. No sol essas preparações ficam então amarelas, dando origem a uma coloração marrom-amarela da epiderme que reforça mais o "bronzeamento de sol".

Outro tipo de bronzeamento artificial que não é dependente de luz UV pode ser causado através de hormônios que são geralmente também liberados no corpo como uma consequência de irradiação UV (natural) e por fim estimulam os melanócitos para síntese de melanina. Exemplos que podem ser citados nesta relação são derivados de proopiomelanocortina (POMC) tal como [alfa]-MSH (Hormônio de Estimulação de Melanócito) e variantes sintéticas (tal como [Nle(4), D- Phe(7)]-alfa-MSH), que em alguns casos mostram níveis de atividade muito maiores do que o [alfa]-MSH natural. Embora esses hormônios possam causar bronzeamento a princípio, seu uso em cosmética é proibido, uma vez que eles são substâncias farmacologicamente potentes (hormônios) que não devem ser amplamente usados sem indicações médicas. Existe então na técnica uma necessidade em prover agentes adicionais para influenciamento ou modificação do crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano.

De acordo com a invenção, é então provido um método de obtenção de uma composição para influenciamento ou modificação

- a) de crescimento de cabelo humano e/ou
 - b) pigmentação de pele e/ou cabelo humano,
- compreendendo a etapa de extração de material celular de *IsochrYSIS sp.*, preferivelmente *IsochrYSIS Taitiana*, com um extrator líquido selecionado do

grupo consistindo em hexano, acetato de etila, etanol, água, metanol, isopropanol e misturas de dois ou mais desses extratores, onde a extração compreende a) exposição do material celular ao extrator por até 24 horas em uma temperatura de não mais do que 50° C e b) remoção do material celular para obter um extrato, o extrato sendo a composição ou sendo processado mais na composição.

Microalgas foram usadas no campo de cosméticos antes. Por exemplo, a EP 1 745 794 A2 revela o uso de microalgas ou extratos de microalgas para prevenção ou tratamento de infecções por protozoários em humanos ou animais. Também, a US 5.767.095 revela composições antiinflamatórias tópicas compreendendo monogalactosil-dieicosapentanoil glicerol obtido de *Isochrysis galbana*. Células inteiras de *Isochrysis galbana* foram usadas na FR 2 801 788 e FR 2 676 454 para atingir um potencial redox estabilizado e para reconstituição de água do mar abiótica para talassoterapia. Também, vários documentos tais como EP 1 886 679, EP 918 517 B1 e WO 94/24984 descrevem processos para obtenção de substâncias específicas através da extração de células de microalgas. Nenhum dos documentos ensina ou sugere a utilidade de *Isochrysis* e particularmente de *Isochrysis Taitiana* para influenciamento ou modificação do crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano.

A US 2006/269497 revela o uso de astaxantina como agentes tricógenos e também indica que astaxantina pode ser encontrada em microalgas. *Isochrysis* e particularmente *Isochrysis Taitiana* não é mencionada.

A JP 2002-068943 A geralmente revela o uso de extratos de várias espécies e gêneros de microalgas para inibição de testosterona-5-alfa-redutase. A ordem *Isochrysis* é geralmente mencionada. No entanto, o documento também menciona que cultura especial é necessária para obtenção de células de microalga, e condições culturais diferentes são requeridas para cada espécie de microalga. O documento não revela condições de cultura para o gênero *Isochrysis*.

A FR 2657012 A1 revela no exemplo 8 um extrato de alga *Isochrysis* obtido através da introdução das algas em etanol aquoso (água : eta-

nol = 19:1 (v/v)) e desintegração das ditas algas com um *mixer* tendo forças de cisalhamento altas (Ultra Turrax). Após desintegração, extração foi realizada por 24 horas a 20° C. As algas rompidas foram subsequentemente separadas através de filtragem. Em contraste com isso, no contexto da presente invenção as microalgas não são desintegradas antes da extração. Ao invés disso, o material celular está substancialmente ou completamente intacto ou seco por congelamento. Extratos obtidos ou obteníveis da alga *Isochrysis* rompida claramente diferem daqueles obtidos de acordo com a presente invenção. De acordo com a presente invenção, material celular é considerado substancialmente ou completamente intacto se a membrana celular de 90% das células de uma amostra compreendendo 100 ou mais células estiver intacta, preferivelmente conforme determinado através de tingimento com iodeto de propídio e inspeção óptica.

Então, no contexto da presente invenção, "material celular de *Isochrysis* sp." e particularmente "material celular de *Isochrysis* Taitiana" refere-se a uma composição de células secas por congelamento, substancialmente ou completamente intactas ou misturas das mesmas, onde as células são células de *Isochrysis* sp. ou células de *Isochrysis* Taitiana, respectivamente. O material celular pode compreender um meio carreador, contanto que o teor total de células rompidas seja menos do que 10% de todas as células, preferivelmente conforme determinado como tingimento de iodeto de propídio. Em suma, o que é extraído de acordo com a presente invenção não é uma massa homogeneizada ou substancialmente rompida de células. Ao contrário, o material de célula de acordo com a presente invenção é preferivelmente obtido através de um método consistindo nas etapas que seguem:

1. Cultivo de células *Isochrysis* sp. e/ou preferivelmente de células de *Isochrysis* Taitiana,
2. Coleta das células para obter material celular completamente ou substancialmente intacto,
3. Opcionalmente lavagem do material celular da etapa 2 uma vez ou várias vezes, para obter material celular lavado, substancialmente ou

completamente intacto.

4. Opcionalmente secagem por congelamento do material celular da etapa 2 e/ou etapa 3.

Sabe-se geralmente que espécies biológicas diferentes compreendem substâncias diferentes. Então, efeitos obteníveis através do uso de uma espécie de microalga não podem ser usados para prever os efeitos obteníveis através do uso de uma espécie de microalga diferente. Ainda, como será mostrado daqui em diante, os efeitos obteníveis pelos extratos de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, dependem muito das condições de extração exatas e podem até mesmo ser revertidos quando da modificação do método de extração usado.

Foi então surpreendente que extratos de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, sejam úteis para influenciamento ou modificação de crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano. Também, os extratos da presente invenção permitem favoravelmente a produção de composições eficazes através de métodos simples e confiáveis partindo de materiais biológicos, isto é, material de célula de microalga.

Isochrysis sp., preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, é empregada para obtenção de extratos e composições de acordo com a presente invenção. *Isochrysis Taitiana* é uma linhagem de *Isochrysis* coletável em Mataiva (Tahiti). De acordo com a presente invenção, a linhagem CS 177 obtível da Australian CSIRO collection (também registrada como CCMP1324 no Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine; NEPCC601 no Canadian Center for the Culture of Microorganisms) é preferivelmente usada. Esta linhagem foi isolada por K. Haines em 1977 em Mataiva, Tahiti.

De acordo com a presente invenção, o material celular de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, é extraído com um extrator líquido selecionado do grupo consistindo em hexano, acetato de etila, etanol, água, metanol. O extrator pode ser também uma mistura de dois ou mais dos extratores acima mencionados tal como, por exemplo, uma mistura de hexano/acetato de etila 1:1 (v/v). Esses extratores proveram melhores resul-

tados para influenciamento ou modificação de crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano.

Para extração, o material celular é na etapa a) contatado com o extrator líquido por até 24 horas em uma temperatura de não mais do que 50° C, preferivelmente em uma temperatura de 16-40° C e com mais preferivelmente em uma temperatura de 20-30° C. Também, exposição do material celular ao extrator preferivelmente dura até 24 horas, mais preferivelmente por 1-10 horas e mais preferivelmente por 2-6 horas. Para todas as condições de extração descritas aqui, melhores resultados foram conseguidos quando a extração foi realizada no escuro. Também, durante contato do material celular com o extrator o material é preferivelmente agitado, preferivelmente rodopiando.

Preferivelmente, a razão (p:v) de material celular para extrator líquido PE 200 mg : 1 ml a 1 mg : 1 ml, mais preferivelmente 140 mg : 1 ml a 5 mg : 1 ml e mais preferivelmente 80 mg : 1 ml a 10 mg : 1 ml quando usando materiais celulares secos por congelamento conforme detalhado abaixo.

Após extração, na etapa b) um extrato é obtido através da remoção do material celular, preferivelmente através de centrifugação, filtração ou decantação ou outros métodos adequados. Um sobrenadante livre de partícula de acordo com inspeção visual é então obtido, tipicamente de cor amarelo-esverdeado e marrom-esverdeado. O extrato pode ser usado como uma composição para influenciamento ou modificação de crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano ou, mais preferivelmente, é processado mais em tal composição conforme detalhado abaixo.

O material celular removido do extrato na etapa b) pode ser usado para outra exposição ao extrator na etapa a), tipicamente por alguns minutos, preferivelmente até 1 hora. A extração então compreende preferivelmente repetição das etapas a) e b) uma vez, duas vezes, três vezes ou quatro vezes, preferivelmente uma vez ou duas vezes, e em cada etapa a) o material celular removido na respectiva etapa anterior b) é usado, e os extra-

tos das etapas b) são combinados. Desta maneira, um extrato continuado com composição reproduzível e rendimento alto de ingredientes ativos extraídos pode ser obtido.

5 Em um método preferido de acordo com a presente invenção, o material celular usado em uma etapa a) da extração é obtido na etapa b) de uma extração anterior com um extrator diferente. Então, dois extratos ou composições são providos, e o método pode ser repetido para prover extratos ou composições adicionais.

10 Particularmente preferidos são extratos e composições obteníveis ou obtidos através das extrações que seguem:

1. Extração com acetato de etila, seguido por extração com etanol, seguido por extração com água ou extração com acetato de etila seguido por extração com etanol aquoso 30% ou com água

15 2. Extração com metanol ou etanol, seguido por extração com água

3. Extração com hexano, seguido por extração com acetato de etila, seguido por extração com etanol, seguido por extração com água

20 4. Extração com metanol ou etanol, seguido por extração com uma mistura de hexano/acetato de etila 1:1 (v/v), hexano ou acetato de etila seguido por extração com água.

25 A fototoxidez dos extratos e composição é preferivelmente ajustada para um índice de fototoxidez de menos do que 5 de acordo com o *Official Journal of the European Communities*, diretivo 2000/33/EG da comissão de 25/04/2000, apêndice II, B. 41 e o OECD Guideline 432. Em um índice de fototoxidez de menos do que 5, a composição não é mais considerada possuir potencial fototóxico.

30 Para ajuste da fototoxidez o extrato opcionalmente combinado – não em forma sólida – é preferivelmente tratado com carbono ativado em uma razão de extrato seco:carbono ativado de 3:1 a 1:20 (p/p), preferivelmente 1:1 a 1:12 (p/p). O termo ‘extrato seco’ de acordo com a presente invenção refere-se ao peso livre de extrator de um extrato de acordo com a presente invenção, por exemplo, conforme obtenível através de remoção

completa do extrator. Este tratamento pode resultar em uma perda menor de atividade para influenciamento ou modificação do crescimento de cabelo humano e/ou pigmentação de pele e/ou cabelo humano. No entanto, o tratamento remove confiavelmente ingredientes fototóxicos de outro modo compreendidos no extrato. Um benefício adicional deste tratamento é uma redução de cor da maioria dos extratos.

Para preparação da composição, o extrator é preferivelmente removido do – opcionalmente combinado – extrato, preferivelmente através de evaporação ou outros processos adequados, para obter o extrato em forma concentrada ou seca (extrato seco), o último preferivelmente como uma suspensão, um líquido viscoso, um pó ou como grânulos. A forma concentrada contém preferivelmente 50-80% em peso de matéria seca e 50-20% em peso de extrator residual.

A composição é então formada adicionando opcionalmente um carreador sólido cosmeticamente e/ou dermatologicamente e/ou terapeuticamente aceitável ao extrato em forma concentrada ou seca (extrato seco) e então opcionalmente secagem da mistura através de processos adequados. Neste contexto, tal sólido que é pelo menos não-tóxico para os organismos nos quais ele deve ser usado é cosmeticamente, dermatologicamente ou terapeuticamente aceitável. Sólidos preferidos são hidrocolóides tal como amidos, amidos degradados ou quimicamente ou fisicamente modificados (em particular dextrinas e maltodextrina), lactose, celulosas modificadas, goma arábica, goma ghatti, goma tragacanto, karaya, carragenana, pululano, curdlan, goma xantano, goma gelano, goma guar, goma de alfarroba, algina-
tos, ágar, pectina, inulina ou glicose e misturas de dois ou mais desses sólidos.

A composição pode ser também formada opcionalmente através da adição de um solvente cosmeticamente e/ou dermatologicamente e/ou terapeuticamente aceitável ao extrato em forma concentrada ou seca (extrato seco) e então opcionalmente secagem da mistura através de processos adequados. Neste contexto, tal sólido que é pelo menos não-tóxico para os organismos nos quais ele deve ser usado é cosmeticamente, dermatologi-

camente ou terapeuticamente aceitável. Sólidos preferidos são hidrocolóides tal como amidos, amidos degradados ou quimicamente ou fisicamente modificados (em particular dextrinas e maltodextrina), lactose, celulosas modificadas, goma arábica, goma ghatti, goma tragacanto, karaya, carragenana, pululano, curdlan, goma xantano, goma gelano, goma guar, goma de alfarroba, alginatos, ágar, pectina, inulina ou glicose e misturas de dois ou mais desses sólidos.

A composição pode ser também formada adicionando opcionalmente um solvente cosmeticamente e/ou dermatologicamente e/ou terapeuticamente aceitável, tais como, por exemplo, óleo neutro, óleo mineral, óleo de silicone, óleos de planta, triglicerídeos, álcoois graxos, ésteres de ácido graxo, ésteres de ácido graxo poliol, tal como PEG-7 gliceril cocoato disponível, por exemplo, como Cetiol HE da Cognis, etanol, 1,2-propileno glicol, 1,3-butileno glicol, dipropileno glicol, citrato de trietila, 1,2-pentanodiol ou outros 1,2-alcanodióis, glicerina e água e misturas de dois ou mais desses solventes ao extrato em forma concentrada ou seca (extrato seco) e opcionalmente remover completamente o extrato residual através de um processo adequado. Tais composições preparadas de acordo com a invenção são prontamente processáveis mais em particular para propósitos cosméticos. Essas composições podem ser opcionalmente preparadas com a adição de um agente de solubilização, preservativo ou antioxidante.

Mais preferivelmente, 1,2-pentanodiol ou 1,2-hexanodiol ou uma mistura de um ou mais desses dióis e um ou mais dos solventes acima mencionados, por exemplo, uma mistura de água e 1,2-diol, é selecionado como solvente. Os dióis não possuem apenas propriedades de solubilização muito boas, mas exibem também atividade de aumento de biodisponibilidade e umidificação. Ainda, dependendo da concentração do 1,2-diol nenhuma preservação ou apenas níveis reduzidos de preservativos são necessários para proteger a composição de crescimento microbiano. Antioxidantes tal como, por exemplo, tocoferol e misturas de tocoferol, acetato de tocoferol, BHT ou outros antioxidantes adequados são também facilmente incorporados.

Para extratos muito lipofílicos tais como, por exemplo, extratos

de hexano ou acetato de etila, óleo neutro, óleo mineral, óleo de silicone, óleos de planta, triglicerídeos, álcoois graxos, ésteres de ácido graxo, ésteres de ácido graxo poliol, dipropilenoglicol, citrato de trietila e etanol e misturas de dois ou mais desses solventes são preferidos.

5 O extrato ou a composição líquida ou sólida compreendendo o extrato pode ainda ser também processado mais através de encapsulação com um material de casca sólida, que é preferivelmente escolhido de amidos, amidos degradados ou quimicamente ou fisicamente modificados (em particular dextrinas ou maltodextrinas), gelatinas, materiais de cera, lipossomas, goma arábica, agar-agar, goma ghatti, goma gelano, celuloses modifi-
10 cadas e não-modificadas, pululano, curdlan, carragenanas, ácido algíco, alginatos, pectina, inulina, goma xantano e misturas de duas ou mais das substâncias mencionadas.

O material de casca sólido é preferivelmente selecionado de ge-
15 latina (gelatinas de porco, boi, ave e/ou peixe e misturas das mesmas são vantajosas, preferivelmente incluindo pelo menos uma gelatina tendo um valor Bloom maior do que ou igual a 200, preferivelmente tendo um valor Bloom maior do que ou igual a 240), maltodextrina (preferencialmente obtida a partir de milho, trigo, tapioca ou batata, maltodextrinas preferidas mostran-
20 do um valor DE na faixa de a partir de 10 a 20), celulose modificada (por exemplo, éter de celulose), alginatos (por exemplo, alginato de Na), carragenana (beta-, iota-, lambda- e/ou kappa carragenana), goma arábica, curdlan e/ou agar-agar. Gelatina é usada em particular por causa de sua boa disponibilidade em vários valores Bloom. Produção pode acontecer conforme
25 descrito, por exemplo, na EP 0 389 700 A, JP 7 196 478, US 4.251.195, US 6.214.376, WO 03/055587 ou WO 2004/050069.

A composição em forma líquida, sólida (outra que não extrato seco) ou encapsulada obtenível ou obtida de acordo com a presente invenção compreende 0,01 a 20% em peso, preferivelmente 0,01 a 10% em peso
30 e mais preferivelmente 0,1-5% em peso, de extrato seco com relação à composição total.

De acordo com a invenção, uma composição para estimulação

de crescimento de cabelo humano sem ou com apenas atividade baixa em influenciamento de pigmentação de pele e/ou cabelo humano é provida, a composição sendo ou compreendendo um extrato obtido usando metanol como extrator. Foi surpreendentemente constatado que extraíndo diretamente *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, material celular, particularmente material seco por congelamento, com metanol, os efeitos acima mencionados podem ser obtidos.

Ainda de acordo com a invenção, uma composição para estimulação de crescimento de cabelo humano e aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano é provida, onde a composição é ou compreende um extrato obtido através do uso de acetato de etila como extrator. Foi surpreendentemente constatado que extraíndo diretamente *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, material celular, particularmente material seco por congelamento, com acetato de etila, os efeitos acima mencionados podem ser obtidos.

Ainda de acordo com a invenção, uma composição para estimulação de crescimento de cabelo humano e aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano é provida, onde a composição é ou compreende um extrato obtido usando mistura de hexano/acetato de etila 1:1 (v/v) após primeiro extração da biomassa com metanol como extrator. Foi surpreendentemente constatado que ao extrair *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, material celular, particularmente material seco por congelamento, com metanol seguido por extração com hexano/acetato de etila 1:1 (v/v), os efeitos acima mencionados podem ser obtidos. Um benefício adicional deste extrato é cor amarelo muito claro. Também de acordo com a invenção, uma composição para aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano sem atividade ou com atividade apenas baixa em estimulação de crescimento de cabelo humano, onde a composição é ou compreende um extrato obtido usando água como extrator. Foi surpreendentemente constatado que ao extrair *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, material celular com água, preferivelmente após extração anterior de material seco por congelamento com metanol, etanol, acetato de etila e/ou hexano ou misturas de dois

ou mais desses solventes, os efeitos acima mencionados podem ser obtidos.

Para inibição de crescimento de cabelo humano enquanto aumentando pigmentação de pele e/ou cabelo humano, é provida uma composição de acordo com a invenção que é ou compreende um extrato obtido usando etanol como extrator em material celular obtido após extração com acetato de etila ou com hexano seguido por extração com acetato de etila. Novamente surpreendentemente, tal composição permite obter os efeitos acima mencionados.

Também de acordo com a invenção é provida uma composição para inibição de crescimento de cabelo humano e diminuição da pigmentação de pele e/ou cabelo humano, onde a composição é ou compreende um extrato obtido usando etanol como extrator. Foi surpreendentemente constatado que ao extrair diretamente *Isochrysis sp.*, preferencialmente *Isochrysis Taitiana*, material celular, particularmente material seco por congelamento, com etanol, os efeitos acima mencionados podem ser obtidos.

A composição da presente invenção pode favoravelmente ser parte de um produto cosmético, dermatológico ou terapêutico. Em tal produto a composição está preferivelmente presente em uma quantidade suficiente para obter os efeitos acima mencionados quando da aplicação do produto à pele humana e/ou cabelo ou após consumo oral.

A concentração da composição em um produto cosmético, dermatológico ou terapêutico (para aplicação tópica ou oral) é preferivelmente

- pelo menos 0,001 ppm, preferivelmente pelo menos e 0,01 ppm e mais preferivelmente pelo menos 0,1 ppm, e
- no máximo 100 ppm, preferivelmente no máximo 50 ppm e mais preferivelmente no máximo 10 ppm extrato seco do produto total.

Os produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos de acordo com a invenção são produzidos através de processos convencionais conhecidos *per se*, de modo que o extrato ou a composição de extrato é incorporado a produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos que podem ter uma composição convencional e que em adição aos efeitos acima

mencionados podem também ser usados para o tratamento, cuidado e limpeza da pele ou cabelo.

Campos essenciais de uso para extrato ou composições de extrato de acordo com a invenção são produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos que (exceto pela presença do extrato de acordo com a invenção) servem para proteção leve cosmética ou dermatológica, para tratamento, cuidado e limpeza da pele e/ou cabelo ou como um produto de maquiagem em cosméticos decorativos. Tais produtos podem então estar presentes, por exemplo, como uma composição de limpeza, tal como, por exemplo, sabão, *syndet*, sabão líquido, preparação para chuveiro e banheira, composição de cuidado da pele, tal como, por exemplo, emulsão (como uma solução, dispersão, suspensão; creme, loção ou leite da emulsão A/O, O/A ou múltipla, emulsão PIT, espuma de emulsão, micro- ou nanoemulsão, tipo emulsão Pickering, dependendo do processo de preparação e constituintes), unguento, pasta, gel (incluindo hidro-, hidrodispersão-, óleo-gel), solução alcoólica ou aquosa/alcoólica, óleo, *toner*, bálsamo, soro, pó (por exemplo, pó facial, pó para o corpo), líquido de embebedimento para lenços, *Eau de Toilette*, *Eau de Cologne*, perfume, cera, incluindo a forma de apresentação como uma máscara, *mousse*, bastão, lápis, *roll-on*, *spray* (bomba), aerossol (espumante, não-espumante ou pós-espuma), composição de cuidado da pele (conforme acima descrito) como uma composição de cuidado para o pé (incluindo queratolíticos, desodorante), como uma composição repelente de inseto, como uma composição de proteção solar, como uma composição de autobronzeamento e/ou preparação pós-sol, composição de cuidado da pele como uma composição de barbear ou pós-barba, como uma composição de remoção de cabelo, como uma composição de cuidado da pele, tal como, por exemplo, xampú (incluindo xampú para cabelo normal, para cabelo oleoso, para cabelo seco, estressado (danificado), xampú 2 em 1, xampú anti-caspa, xampú para bebê, xampú para um couro cabeludo seco, concentrado de xampú), condicionador, remédio para tratamento de cabelo, tônico capilar, loção para o cabelo, enxágue para o cabelo, creme para estilização, pomada, composições de onda e fixação permanentes, composição para ali-

samento de cabelo (composição de alisamento, relaxante), composição para fazer cachos em cabelo, auxiliar de estilização (por exemplo, gel ou cera); composição para clarear cabelo, composição para coloração de cabelo, tal como, por exemplo, composição de coloração de cabelo temporária, diretamente absorvida, semipermanente, composição de coloração de cabelo permanente), composição de cuidado da pele como uma composição de cuidado para o corpo decorativa, tal como, por exemplo, composição de cuidado da unha (esmalte de unha ou removedor de esmalte de unha), cosmético decorativo (por exemplo, pó, sombra para o olho, lápis kaja, batom, máscara), maquiagem, removedor de maquiagem, composição de cuidado da pele como um desodorante e/ou antiperspirante.

É também vantajoso administrar o extrato ou composição de extrato oralmente, por exemplo, na forma de comprimidos, drágeas, cápsulas, sucos, soluções e grânulos ou em forma de produtos oralmente consumíveis usados para alimentação que em adição à sua função como gênero alimentício proveem beleza a partir de dentro.

As composições de acordo com a presente invenção podem ser vantajosamente combinadas, em particular em produtos cosméticos, com componentes convencionais adicionais, tal como, por exemplo:

preservativos, em particular aqueles descritos na US 2006/0089413, agentes antimicrobianos, tal como, por exemplo, agentes antibacterianos ou agentes para tratar levedura e mofo, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes antiacne e de redução de sebo, em particular aqueles descritos no WO 2008/046791, compostos contra envelhecimento da pele, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes anticaspa, em particular aqueles descritos no WO 2008/046795, antiirritantes (agentes anti-inflamatórios, agentes de prevenção de irritação, agentes de inibição de irritação), em particular aqueles descritos no WO 2007/042472 e na US 2006/0089413, antioxidantes, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, materiais carreadores, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes de quelação, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes desodorizantes e antiperspirantes, em particular a-

queles descritos no WO 2005/123101, reguladores de umidade (agentes de
doação de umidade, substância umectante, substâncias de retenção de u-
midade), em particular aquelas descritas no WO 2005/123101, osmólitos, em
particular aqueles descritos no WO 2005/123101, solutos compatíveis, em
5 particular aqueles descritos no WO 01/76572 e no WO 02/15868, proteínas e
hidrolisatos de proteína, em particular aqueles descritos no WO 2005/12301
e no WO 2008/046676, agentes de clareamento da pele, em particular aque-
les descritos no WO 2007/110415, agentes de bronzeamento da pele, em
particular aqueles descritos no WO 2006/045760, agentes de esfriamento,
10 em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes de esfriamen-
to da pele, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes de
aquecimento, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes
de absorção de UV, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101,
filtros de UV, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, compos-
15 tos benzilideno-beta-dicarbonila de acordo com o WO 2005/107692 e nitrilas
do ácido alfa-benzoil-cinâmico de acordo com o WO 2006/015954, repelen-
tes de inseto, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, partes
de planta, extratos de planta, em particular aqueles descritos no WO
2005/123101, vitaminas, em particular aquelas descritas no WO
20 2005/123101, emulsificantes, em particular aqueles descritos no WO
2005/123101, agentes de geleificação, em particular aqueles descritos no
WO 2005/123101, óleos, em particular aqueles descritos no WO
2005/123101, ceras, em particular aquelas descritas no WO 2005/123101,
gorduras, em particular aquelas descritas no WO 2005/123101, fosfolipí-
25 deos, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, ácidos graxos
saturados e mono- ou poliinsaturados e α -hidróxi ácidos e ácido poliidroxi-
graxos e ésteres de ácidos alcano carboxílicos ramificados e/ou não-
ramificados saturados e/ou insaturados, em particular aqueles descritos no
WO 2005/123101, substâncias tensoativas (tensoativos), em particular aque-
30 las descritas no WO 2005/123101, agentes de reparo da pele compreenden-
do colesterol e/ou ácidos graxos e/ou ceramidas e/ou pseudoceramidas, em
particular aqueles descritos no WO 2006/053912, corantes e colorantes e

pigmentos, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, agentes químicos de aroma e aromatizantes e fragrâncias, em particular aqueles descritos em S. Arctander, *Perfume and Flavor Chemicals*, private publishing house, Montclair, N.J., 1969 e Surburg, Panten, *Common Fragrance and Flavor Materials*, 5ª Edição, Wiley-VCH, Weinheim 2006, preferencialmente

5 aqueles explicitamente mencionados na US 2008/0070825, álcoois e polióis, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, solventes orgânicos, em particular aqueles descritos no WO 2005/123101, silicones e óleos de silicone e derivados de silicone em particular aqueles descritos no WO

10 2008046676, virucidas, abrasivos, agentes anticelulite, adstringentes, agentes antissépticos, antiestáticos, ligantes, tampões, estimulantes de célula, agentes de limpeza, agentes de cuidado, agentes depilatórios, amaciantes, enzimas, óleos essenciais, em particular aqueles descritos na US 2008/0070825, fibras, agentes de formação de película, fixadores, agentes

15 de formação de espuma, estabilizadores de espuma, substância para prevenção de espumação, reforçadores de espuma, agentes de formação de gel, ativadores de crescimento de cabelo, inibidores de crescimento de cabelo, agentes de cuidado de cabelo, agentes para fazer cacho em cabelo, agentes de alisamento de cabelo, alisante para o cabelo, agentes de alveja-

20 mento, agentes de reforço, agentes de remoção de mancha, agentes de abrillantamento óptico, agentes de impregnação, agentes repelentes de sujeira, agentes de redução de fricção, lubrificantes, agentes opacificantes, agentes plastificantes, agentes de cobertura, cera, agentes de brilho, polímeros, em particular aqueles descritos no WO2008046676, pós, peptídeos, mono-,

25 di- e oligossacarídeos, agentes de reaplicação de óleo, agentes de abrasão, agentes de suavização da pele, agentes de limpeza da pele, agentes de cuidado da pele, agentes de cicatrização da pele, agentes de proteção da pele, agentes de amaciamento da pele, agentes de alisamento da pele, agentes de nutrição, agentes de aquecimento da pele, estabilizadores, detergentes,

30 agentes de condicionamento de tecido, agentes de suspensão, espessantes, extratos de levedura, extratos de alga ou microalgas, extratos animais, liquificadores, agentes de proteção da cor, anticorrosivos e eletrólitos.

Substâncias e aditivos auxiliares podem ser incluídos em quantidades de 5 a 99,99% em peso, preferivelmente 10 a 80% em peso, com base no peso total do produto. As quantidades de agentes e aditivos auxiliares cosméticos ou dermatológicos e perfume a serem usadas em cada caso podem ser facilmente determinadas pela pessoa versada na técnica através de simples tentativa e erro, dependendo da natureza do produto particular.

Os produtos podem também conter água em uma quantidade de até 99,99% em peso, preferivelmente 5 a 80% em peso, com base no peso total do produto.

Produtos de acordo com a invenção podem conter um ou mais agentes de modulação de crescimento de cabelo adicionais. Uma modulação de crescimento de cabelo rápida baseada em parte em efeitos sinérgicos pode ser conseguida desta maneira.

Agentes para estimular crescimento de cabelo são, por exemplo, derivados de pirimidina tais como 2,4-diaminopirimidino-3-óxido (Aminexil), 2,4-diamino-6-piperidinopirimidino-3-óxido (Minoxidil) e derivados dos mesmos, 6-amino-1,2-diidro-1-hidróxi-2-imino-4-piperidinopirimidina e seus derivados, cloridrato de piridoxina, alcalóides de xantina tais como cafeína, teobromina e teofilina e derivados dos mesmos, 6-(benzilamino)purina também conhecida como citocina B, ácido pantotênico e seus derivados, quercetina e derivados, diidroquercetina (taxifolin) e derivados, abridores de canal de potássio, agentes antiandrogênicos, inibidores de 5-redutase sintéticos ou naturais, ésteres do ácido nicotínico tal como tocoferil nicotinato, benzil nicotinato e C1-C6 alquil nicotinato, proteínas tais como, por exemplo, o tripeptídeo Lys-Pro-Val, difencipreno, hormônios, finasterina, dutasterida, flutamida, bicalutamida, derivados de pregnana, progesterona e seus derivados, acetato de ciproterona, espironolactona e outros diuréticos, inibidores de calcineurina tais como FK506 (Tracrolimus, Fujimicina) e seus derivados, Ciclosporina A e derivados da mesma, gliceril monopentanodecanoato ou outros promotores de produção de ATP em folículos pilosos, mononitro guaiacol, biotina, cloreto de caprônio, tocoferol e seus derivados, cefarantina, enxofre, vitamina B6, ácido glicirretínico e seus derivados, inositol, hinoquitíol, metioni-

na, serina, treonina, zinco e sais de zinco, polifenóis, pró-cianidinas, proantocianidinas, fitoesteróis tais como, por exemplo, beta-sitosterol, biotina, eugenol, ($\pm$)-beta-citronelol, pantenol, glicogênio, por exemplo, de mexilhões, kankohso, extrato de placenta, extrato de geléia real, extrato de Duku, extra-

5 tos de microorganismos, algas, microalgas ou plantas e partes de planta do, por exemplo, gênero dandelion (*Leontodon* ou *Taraxacum*), *Orthosiphon*, *Vitex*, *Coffea*, *Paullinia*, *Theobroma*, *Asiasarum*, *Cucurbita*, *Swertia*, *Capsicum* ou *Styphnolobium*, *Serenoa repens* (saw palmetto), *Sophora flavescens*, *Pygeum africanum*, *Panicum miliaceum*, *Cimicifuga racemosa*, *Glycine*

10 *Max*, *Eugenia caryophyllata*, *Excrementum bombycis*, *Cotinus coggygia*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis*, *Polygonum multiflorum*, licorice, uva, ginseng, ginkgo, maçã, cevada ou lúpulo e/ou hidrolisatos de arroz ou trigo.

Agentes para inibir crescimento de cabelo são, por exemplo, ac-

15 tivina, derivados de activina ou agonistas de activina, inibidores de ornitina descarboxilase tal como alfa-difluormetilomitina ou triterpenos pentacíclicos tal como, por exemplo, ácido ursólico, betulina, ácido betulínico, ácido olea-

nóico e derivados do mesmo, inibidores de ornitina amino transferase, serina proteases, inibidores de 5-alfa-redutase, inibidores de 5-lipoxigenase, inibi-

20 dores de ciclooxigenase, inibidores da proteína tirosina cinase, inibidores da proteína cinase C, inibidores de sulfotransferase, inibidores de sintetase do óxido nítrico, inibidores de fosfatase alcalina, inibidores de enzima do tipo elastase, inibidores de endopeptidase neutros, inibidores de metaloproteína-

se de matriz, inibidores de uma enzima do curso de cisteína, antagonistas de

25 receptor de androgênio, inibidores de S-adenosilmetionina descarboxilase, inibidores de gama-glutamil transpeptidase, inibidores de transglutaminase, moduladores de VEGF, compostos que bloqueiam a transferência de glicose através da membrana das células de folículos pilosos tal como floretina, ini-

bidores de serina protease derivados de soja, extratos de microorganismos,

30 alga, microalga ou plantas e partes de planta da, por exemplo, família *Leguminosae*, *Solanaceae*, *Graminae*, *Asclepiadaceae* ou *Cucurbitacea*, os gêneros *Chondrus*, *Gloiopeltis*, *Ceramium*, *Durvillea*, *Glycine Max*, *Sanguisorba*

officinalis, *Calendula officinalis*, *Hamamelis virginiana*, *Arnica Montana*, *Salix Alba*, *Hypericum perforatum* ou *Gymnema sylvestre*.

A quantidade dos exemplos acima mencionados de ingredientes ativos adicionais para a modulação de crescimento de cabelo (um ou mais compostos) nas formulações de acordo com a invenção é então preferivelmente 0,00001 a 30% em peso, preferivelmente 0,0001 a 20% em peso, particularmente preferivelmente 0,001 a 5% em peso, com base no peso total do produto.

Os produtos de acordo com a invenção podem preferivelmente também conter outros ingredientes ativos que modulam a pigmentação da pele e/ou cabelo e que são adequados para aplicações cosméticas (por exemplo, dermatológica) e/ou terapêuticas. Uma modulação mais rápida de pigmentação da pele e/ou cabelo com base em parte em efeitos sinérgicos pode ser conseguida desta maneira.

Ingredientes ativos de clareamento de pele e cabelo vantajosos com relação a isso são ácido kojic (5-hidróxi-2-hidroximetil-4-piranona), derivados do ácido kojic, por exemplo, dipalmitato do ácido kojic, arbutina, ácido ascórbico, derivados do ácido ascórbico, hidroquinona, derivados de hidroquinona, resorcinol, moléculas contendo enxofre tal como, por exemplo, glutatona ou cisteína, alfa-hidróxi ácidos (por exemplo, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico) e derivados dos mesmos, N-acetil tirosina e derivados, undecenoil fenilalanina, ácido glucônico, 4-alquil resorcinóis, 4-(1-feniletil)-1,3-diidroxibenzeno, derivados de cromona tais como aloesina, flavonóides, derivados de timol, ácido 1-aminoetil fosfínico, derivados de tiouréia, ácido elágico, nicotinamida (niacinamida), sais de zinco tal como, por exemplo, cloreto ou gluconato de zinco, thujaplicin e derivados, triterpenos tal como ácido maslínico, esteróis tal como ergosterol, benzofuranonas tal como senkynolida, vinil e etil guaiacol, ácidos diônicos tais como ácido octadeceno diônico e ácido azeláico, inibidores de síntese de óxido de nitrogênio, tal como, por exemplo, L-nitroarginina e derivados da mesma, 2,7-dinitroindazol ou tiocitrulina, quelantes de metal (por exemplo, ácidos alfa-hidróxi ácidos, ácido palmítico, ácido fítico, lactoferrina, ácido húmico, ácido de bile, extratos

de bile, bilirrubina, biliverdina, EDTA, EGTA e derivados dos mesmos), retinóides, leite de soja e extrato, inibidores de serina protease ou ácido lipóico ou outros ingredientes ativos sintéticos ou naturais para clareamento da pele e cabelo, o último sendo também usado na forma de um extrato de plantas, tais como, por exemplo, extrato de *bearberry*, extrato de arroz, extrato de mamão, extrato de raiz de liquorice ou constituintes concentrados a partir dele, tal como glabridin ou licochalcona A, extrato de artocarpus, extrato de espécies *rumex* e *ramulus*, extratos de espécie de pinho (*pinus*) e extratos de espécie *vitis* ou derivados de estilbeno concentrados a partir deles, extrato de *saxifrage*, amora (*mulberry*), solidéu (*scutelleria*) e/ou uvas.

Ingredientes ativos de tingimento de cabelo de castanho e bronzeamento da pele vantajosos com relação a isso são substratos ou análogos de substrato de tirosinase tais como L-tirosina, N-acetil tirosina, L-DOPA ou L-diidroxifenilalanina, alcalóides de xantina tais como cafeína, teobromina e teofilina e derivados dos mesmos, peptídeos de propiomelanocortina tais como ACTH, alfa-MSH, análogos de peptídeo dos mesmos e outras substâncias que se ligam ao receptor de melanocortina, peptídeos tal como Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly, Lys-Ile-Gly-Arg-Lys ou Leu-Ile-Gly-Lys, purinas, pirimidinas, ácido fólico, sais de cobre tais como gluconato de cobre, cloreto ou pirrolidonato, 1,3,4-oxadiazol-2-tióis tal como 5-pirazin-2-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiol, curcumina, diglicinato de zinco ($Zn(Gly)_2$), complexos de bicarbonato de manganês(II) ("pseudocatalases") conforme descrito, por exemplo, na EP 0 584 178, derivados de cicloexeno tetrassubstituídos conforme descrito, por exemplo, no WO 2005/032501, isoprenóides conforme descrito no WO 2005/102252 e no WO 2006/010661, derivados de melanina tais como Melasyn-100 e MelanZe, diacil gliceróis, dióis alifáticos ou cíclicos, psoralenos, prostaglandinas e análogos das mesmas, ativadores de adenilato ciclase e compostos que ativam a transferência de melanossomas para queratinócitos tais como serina proteases ou agonistas do receptor PAR-2, extratos de plantas e partes de planta da espécie *chrysanthemum*, espécies *sanguisorba*, extratos de nozes, extratos de urucum, extratos de ruibarbo, trealose, eritrulose e diidroxiacetona. Flavonóides que causam tingimento ou bronze-

amento da pele ou cabelo (por exemplo, quercetina, ramnetina, kaempferol, fisetina, genisteína, daidzeína, crisina e apigenina, epicatequina, diosmina e diosmetina, morina, quercetina, naringenina, hesperidina, floridzina e floretina) podem ser também usadas.

5 A quantidade dos exemplos acima mencionados de ingredientes ativos adicionais para a modulação de pigmentação da pele e cabelo (um ou mais compostos) nos produtos de acordo com a invenção é então preferivelmente 0,00001 a 30% em peso, preferivelmente 0,0001 a 20% em peso, particularmente preferivelmente 0,001 a 5% em peso, com base no peso
10 total da preparação.

 Produtos de acordo com a presente invenção na forma de produtos cosméticos e/ou dermatologicamente ativos são aplicados à pele e/ou cabelo em uma quantidade suficiente da maneira convencional para cosméticos e dermáticos. Neste contexto, produtos cosméticos e dermatológicos
15 de acordo com a presente invenção que adicionalmente agem como produtos de proteção solar oferecem vantagens particulares. Esses produtos (formulações) vantajosamente compreendem pelo menos um filtro de UVA e/ou pelo menos um filtro de UVB e/ou pelo menos um pigmento inorgânico. Neste contexto, os produtos podem estar em várias formas como são conven-
20 cionalmente empregados, por exemplo, para formulações de protetor solar. Eles podem ser, por exemplo, uma solução, uma emulsão do tipo água-em-óleo (A/O) ou do tipo óleo-em-água (O/A) ou uma emulsão múltipla, por exemplo, o tipo água-em-óleo-em-água (A/O/A), um gel, uma hidrodispersão, um bastão sólido ou também um aerossol.

25 Conforme mencionado, produtos de acordo com a presente invenção podem vantajosamente ser combinados com substâncias que absorvem radiação UV, a quantidade total das substâncias filtro sendo, por exemplo, 0,01 a 40% em peso, preferivelmente 0,1 a 10% em peso, em particular 1,0 a 5,0% em peso, com base no peso total das formulações, a fim de pro-
30 ver produtos cosméticos que protegem o cabelo ou pele de radiação ultravioleta.

 Produtos preferidos da presente invenção são formulações de

proteção solar na forma de emulsões aquosas, preferivelmente do tipo água-em-óleo (A/O) ou do tipo óleo-em-água (O/A) ou uma emulsão múltipla, por exemplo, do tipo água-em-óleo-em-água (A/O/A), mais preferivelmente do tipo óleo-em-água (O/A).

5 Formulações de proteção solar preferidas (produtos) da presente invenção compreendem uma quantidade total de filtros de UV orgânicos maior do que 10% em peso, preferivelmente na faixa de a partir de 12 a 40% em peso, mais preferido na faixa de a partir de 15 a 35% em peso, com base no peso total da formulação de proteção solar.

10 Neste contexto filtros UV orgânicos vantajosos são:

- ácido p-aminobenzóico
- etil éster do ácido p-aminobenzóico (25 moles) etoxilado
- 2-etilexil éster do ácido p-dimetilaminobenzóico
- etil éster do ácido p-aminobenzóico (2 moles) N-propoxilado
- 15 • glicerol éster do ácido p-aminobenzóico
- homometil éster do ácido salicílico (homosalatos) (Neo Heliopan[®] HMS)

- 2-etilexil éster do ácido salicílico (Neo Heliopan[®] OS)
- salicilato de trietanolamina
- 20 • 4-isopropil benzil salicilato
- metil éster do ácido antranílico (Neo Heliopan[®] MA)
- etil éster do ácido diisopropil cinâmico
- 2-etilexil éster do ácido p-metoxicinâmico (Neo Heliopan[®] AV)
- metil éster do ácido diisopropil cinâmico

25 • isoamil éster do ácido p-metoxicinâmico (Neo Heliopan[®] E 1000)

- sal de dietanolamina do ácido p-metoxicinâmico
- isopropil éster do ácido p-metoxicinâmico
- 2-etilexil-2-ciano-3,3'-difetil acrilato (Neo Heliopan[®] 303)
- 30 • etil-2-ciano-3,3'-difetil acrilato
- ácido 2-fenilbenzimidazol sulfônico e sais (Neo Heliopan[®] Hydro)

- 3-(4'-trimetilamonio)benzilideno bornan-2-ona metil sulfato
 - ácido tereftalideno dibornano sulfônico e sais (Mexoryl®SX)
 - 4-t-butil-4'-metoxidibenzoil metanol (avobenzona) / (Neo Heliopan®357)
- 5
- ácido β -imidazol-4(5)-acrílico (ácido urocânico)
 - 2-hidróxi-4-metoxibenzofenona (Neo Heliopan®BB)
 - ácido 2-hidróxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfônico
 - diidróxi-4-metoxibenzofenona
 - 2,4-diidroxibenzofenona
- 10
- tetraidroxibenzofenona
 - 2,2'-diidróxi-4,4'-dimetoxibenzofenona
 - 2-hidróxi-4-n-octoxibenzofenona
 - 2-hidróxi-4-metóxi-4'-metil benzofenona
 - 3-(4'-sulfo)benzilideno bornan-2-ona e sais
- 15
- 3-(4'-metil benzilideno)-d,l-canfor (Neo Heliopan®MBC)
 - 3-benzilideno-d,l-canfor
 - 4-isopropil dibenzoil metano
 - 2,4,6-trianilino-(p-carbo-2'-etilexil-1'-óxi)-1,3,5-triazina
 - sal de dissódio do ácido fenileno bis-benzimidazil tetrassulfônico (Neo Heliopan®AP)
- 20
- ácido 2,2'-(1,4-fenileno)-bis-(1H-benzimidazol-4,6-dissulfônico), sal de monossódio
 - polímero N-[(2 e 4)-[2-(oxoborn-3-ilideno)metil]benzil]acrilamida
- 25
- fenol, -(2H-benzotriazol-2-il-4-metil-6-(2-metil-3-(1,3,3,3-tetrametil-1-(trimetilsilil)óxi)disiloxianil)propil), (Mexoryl®XL)
 - ácido 4,4'-[(6-[4-(1,1-dimetil)aminocarbonil]fenilamino)-1,3,5-triazino-2,4-diil]diimino]-bis-(benzóico-2-etilexil éster) (Uvasorb®HEB)
 - 2,2'-metileno bis-(6-(2H-benzotriazol-2-il)-4,1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol), (Tinosorb®M)
- 30
- 2,4-bis-[4-(2-etilexilóxi)-2-hidroxifenil]-1,3,5-triazina
 - polissiloxana de benzilideno malonato (Parsol®SLX)

- dimetoxicinamato de gliceril etilexanoato
- dissódio-2,2'-diidróxi-4,4'-dimetóxi-5,5'-dissulfobenzofenona
- salicilato de dipropileno glicol
- sulfonato de hidroximetoxibenzofenona de sódio
- 5 • tris(2-etilexil éster) do ácido 4,4',4'-(1,3,5-triazino-2,4,6-triiltriimino)-tris-benzóico (Uvinul®T150)
 - 2,4-bis-[[{4-(2-etilexilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(4-metoxifenil)-1,3,5-triazina (Tinosorb®S)
 - sal de sódio de 2,4-bis-[[{4-(3-sulfonato)-2-hidroxipropilóxi)-2-
 - 10 hidróxi}fenil]-6-(4-metoxifenil)-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{3-(2-propilóxi)-2-hidroxipropilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(4-metoxifenil)-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{4-(2-etilexilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-[4-(2-metoxieilcarbonil)fenilamino]-1,3,5-triazina
 - 15 • 2,4-bis-[[{4-(3-(2-propilóxi)-2-hidroxipropilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-[4-(2-etilcarboxil)fenilamino]-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{4-(2-etilexilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(1-metilpirrol-2-il)-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{4-tris-(trimetilsiloxisililpropilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(4-
 - 20 metoxifenil)-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{4-(2"-metilpropenilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(4-metoxifenil)-1,3,5-triazina
 - 2,4-bis-[[{4-(1',1',1',3',5',5',5'-heptametilsilóxi-2"-metilpropilóxi)-2-hidróxi}fenil]-6-(4-metoxifenil)-1,3,5-triazina
 - 25 • hexil éster do ácido 2-(4-dietilamino-2-hidroxibenzoil)benzóico (Uvinul® A Plus)
 - compostos indanilideno de acordo com o WO 02/38537.

Filtros de UV orgânicos que são particularmente preferidos em produtos da presente invenção (em particular se eles estiverem na forma de uma formulação de proteção solar), preferivelmente em uma quantidade mencionada (acima), são:

- ácido p-aminobenzóico

- metil sulfato de 3-(4'-trimetilamonio)benzilideno boranan-2-ona
- homometil éster do ácido salicílico (Neo Heliopan®HMS)
- 2-hidróxi-4-metoxibenzofenona (Neo Heliopan®BB)
- ácido 2-fenilbenzimidazol sulfônico (Neo Heliopan®Hydro)
- 5 • ácido tereftalilideno dibornano sulfônico (Mexoryl®SX)
- 4-terc-butil-4'-metoxidibenzoil metanol (Neo Heliopan®357)
- 3-(4'-sulfo)benzilideno bornan-2-ona e sais
- acrilato de 2-etilexil-2-ciano-3,3-difenila (Neo Heliopan®303)
- polímero de N-[(2 e 4)-[2-(oxoborn-3-
- 10 ilideno)metil]benzil]acrilamida
- 2-etilexil éster do ácido p-metoxicinâmico (Neo Heliopan®AV)
- etil éster do ácido p-aminobenzóico (25 moles) etoxilado
- isoamil éster do ácido p-metoxicinâmico (Neo Helio-
- pan®E1000)
- 15 • 2,4,6-trianilino-(p-carbo-2'-etilexil-1'-óxi)-1,3,5-triazina (Uvi-
- nil®T150)
- fenol, 2-(2H-benzotriazol-2-il)-4-metil-6-(2-metil-3(1,3,3,3-
- tetrametil-1-(trimetilsilil)óxi)dissiloxianil)propila), (Mexoryl®XL)
- 4,4'-[(6-[4-(1,1-dimetil)aminocarbonil]fenilamino)-1,3,5-triazino-
- 20 2,4-diil]diimino]-bis-(ácido benzóico-2-etilexil éster) (Uvasorb HEB)
- 3-(4'-metil benzilideno)-d,l-canfor (Neo Heliopan®MBC)
- 3-benzilideno canfor
- 2-etilexil éster do ácido salicílico (Neo Heliopan®OS)
- 2-etilexil éster do ácido 4-dimetilaminobenzóico (Padimate O)
- 25 • ácido hidróxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfônico e sal de Na
- 2,2'-metileno bis-(6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-1,1,3,3-
- tetrametilbutil)fenol) (Tinosorb®(M)
- sal de dissódio do ácido fenileno bis-benzimidazil tetrassulfôni-
- co (Neo Heliopan®AP)
- 30 • 2,4-bis-[[4-(2-etilexilóxi)-2-hidróxi]fenil]-6-(4-metilfenil)-1,3,5-
- triazina, (Tinosorb®S)
- polissiloxana de benzilideno malonato (Parsol®SLX)

- metil antranilato (Neo Heliopan[®]MA)
- hexil éster do ácido 2-(4-dietilamino-2-hidroxibenzoil)benzóico (Uvinul[®] A Plus)
- compostos indanilideno de acordo com o WO 02/38537.

5 Produtos de acordo com a presente invenção na forma de formulações de proteção solar preferivelmente têm um SPF (fator de proteção solar) igual a ou maior do que 15, preferivelmente igual a ou maior do que 20, mais preferivelmente igual a ou maior do que 30.

10 Produtos preferidos da presente invenção na forma de formulações de proteção solar compreendem 4-(1,1-dimetiletil)-4'-metoxidibenzoilmetano (4-t-butil-4'-metoxidibenzoil metano; avobenzona), preferivelmente em uma quantidade na faixa de a partir de 0,2-10% em peso, mais preferido na faixa de a partir de 0,5-5% em peso, com base no peso total da formulação de proteção solar.

15 Em formulações de proteção solar preferidas compreendendo os componentes (a) e (b) o valor do pH está na faixa de a partir de pH 4 a 8, preferivelmente de pH 4 a 6,5.

20 Produtos de acordo com a presente invenção podem compreender um ou mais solutos compatíveis. Solutos compatíveis preferidos são descritos no WO 01/76572, a saber fosfato de dimio-inositol (DIP), fosfato de diglicerina (DGP), fosfato de di-mio-inositol (DIP), 2,3 difosfoglicerato cíclico (cDPG), 1,1-di-glicerol fosfato (DGP), beta-manosil glicerato (firoína), beta-manosil gliceramida (foroína-A) e di-manosil-di-inositol fosfato (DMIP) e ectoína e derivados de ectoína, conforme descrito na EP 0 553 884 A, na EP 0 671 161 A e no WO 94/15923, em particular (ácido (S)-1,4,5,6-tetraidro-2-metil-4-pirimidinocarboxílico) e hidroxiectoína (ácido (S,S)-1,4,5,6-tetraidro-5-hidróxi-2-metil-4-pirimidinocarboxílico).

25 Preferivelmente, a quantidade total de solutos compatíveis está na faixa de a partir de 0,05 a 10% em peso, preferivelmente 0,1 a 5% em peso, com base no peso total do produto de acordo com a presente invenção.

São também preferidos produtos de acordo com a presente in-

venção compreendendo um ou mais agentes de esfriamento selecionados do grupo consistindo em: mentol, preferivelmente l-mentol, mentona glicerina acetal (nome comercial: Frescolat[®]MGA), lactato de metila (preferivelmente lactato de l-mentila, em particular l-mentil-l-lactato, nome comercial: Frescolat[®]ML), amida do ácido metil-3-carboxílico substituído (por exemplo, N-etilamida do ácido metil-3-carboxílico), 2-isopropil-N-2,3-trimetilbutanamida, amida do ácido cicloexano carboxílico substituído, 3-metoxipropano-1,2-diol, 2-hidroxietilmetilcarbonato, 2-hidroxipropilmetilcarbonato, N-acetil glicino metil éster, Isopulegol, éster do ácido metil hidroxicarboxílico (por exemplo, metil-3-hidroxibutirato), monometilsuccinato, 2-mercaptociclododecanona, carboxilato de metil-2-pirrolidina-5-ona, 2,3-diidróxi-p-metano, 3,3,5-trimetil cicloexano glicerina cetil, 3-metil-3,6-di- e -trioxa icanoato, 3-metilmetóxi acetato, N-(4-cianometilfenil)-p-metanocarboxamida, N-(4-cianofenil)-p-metanocarboxamina e l-cilina.

Agentes de esfriamento preferidos são: l-mentol, mentona glicerina acetal (nome comercial: Frescolat[®]MGA), metil lactato (preferivelmente l-metil lactato, em particular l-metil-l-lactato, nome comercial: Frescolat[®]ML), 3-metóxi propano-1,2-diol, 2-hidroxietil metil carbonato, 2-hidroxipropil metil carbonato, preferência particular sendo para p-metil-l-lactato.

Produtos de acordo com a presente invenção podem compreender um ou mais agentes anticelulite bem como agentes que aumentam ou reforçam a atividade de agentes anticelulite.

Agentes anticelulite e agentes lipolíticos são preferivelmente selecionados do grupo consistindo naqueles descritos no WO 2007/077541 e agonistas do receptor beta-adrenérgico tal como sinefrina e seus derivados.

Agentes de aumento ou reforço da atividade de agentes anticelulite, em particular agentes que estimulam e/ou despolarizam fibras de nervo C, são preferivelmente selecionados do grupo consistindo em capsaicina e derivados da mesma, vanilil-nonilamida e derivados da mesma, L-carnitina, co-enzima A, isoflavonóides, extratos de soja, extrato de ananás e ácido linoléico conjugado.

Para certos produtos de acordo com a presente invenção são

preferidos aqueles que em adição compreendem um, dois ou mais compostos do grupo consistindo em: glicerol, 1,2-propanodiol, 1,3-propanodiol, 1,2-butanodiol, 1,3-butanodiol, 1,4-butanodiol, 2,3-butanodiol, 1,2-pentanodiol, 1,5-pentanodiol, 1,2-hexanodiol, 1,6-hexanodiol, 1,2-octanodiol, 1,8-octanodiol, 2-metilpentano-2,4-diol, 2,5-hexanodiol, 3,6-octanodiol, 2-etil-1,3-hexanodiol, 1,3-octanodiol, 1,2-decanodiol, 1,3-decanodiol, 1,2-dodecanodiol, 1,2-tetradecanodiol.

Produtos da presente invenção podem ainda compreender antimicrobianos conhecidos tal como quitosana, totarol, farnesol, glicerol monolaurato, álcoois de arilalquila, tal como, por exemplo, 4-metil-4-fenil-2-pentanol e seus derivados (DE 101 43 434, em particular 4-metil-4-fenil-2-pentanol), álcool muguet (2,2-dimetil-3-fenilpropanol), outros álcoois de arilalquila (por exemplo, conforme revelado na DE 44 47 361, DE 103 30 697, US 4.110.430 ou EP 1 157 687), ácido 2-butiloctanóico, ácido 2-hexiloctanóico, ácido p-anísico, óleos essenciais com propriedades antimicrobianas e isolatos de óleos essenciais com propriedades antimicrobianas tal como, por exemplo, timol ou eugenol, óleos de perfume ou agentes químicos de aroma único com atividade antimicrobiana, poliglicerol éster, tal como, por exemplo, poligliceril 3-caprilatos, ou combinações das substâncias mencionadas, que são geralmente empregadas, *inter alia*, contra odor nas axilas, odor no pé, acne ou formação de caspa.

Em produtos da presente invenção uma combinação com quelantes (metal) é vantajosa em alguns casos. Quelantes (metal) que devem ser preferivelmente empregados aqui são, *inter alia*, ácido α -hidróxi ácidos, ácido fítico, lactoferrina, α -hidróxi ácidos, tais como, *inter alia*, ácido cítrico, ácido láctico e ácido maléico e ácidos húmicos, ácidos de bile, extratos de bile, bilirrubina, biliverdina ou EDTA, EGTA e derivados dos mesmos.

A invenção é descrita ainda pelas figuras e exemplos que seguem, sem limitação do escopo das reivindicações.

Exemplo de Extração 1: preparação de "extratos diretos"

Isochrysis Taitiana CS 177 foi usada para preparar extratos através das etapas que seguem:

1. Preparar uma suspensão de material celular de *Isochrysis* seca por congelamento em pó no extrator selecionado em uma razão (peso seco/volume) de 10 mg:1ml;

2. agitar a suspensão no escuro em temperatura ambiente por
5 16 horas;

3. centrifugar a suspensão a 2000 g por 15 minutos para recuperar um sobrenadante e um pélete de material celular;

4. ressuspender o pélete em 0,5 ml do extrator selecionado acima mencionado para cada ml usado na etapa 1;

10 5. imediatamente centrifugar a suspensão a 2000 g por 15 minutos para recuperar um sobrenadante e um pélete de material celular;

6. repetir as etapas 4 e 5 mais uma vez;

7. combinar os sobrenadantes para formarem o "extrato direto" do respectivo extrator.

15 O extrato foi escolhido de água, metanol, etanol, isopropanol, acetato de etila e hexano.

Tabela 1: Razão de extrato/biomassa seco (peso seco) com extratores diferentes

Extrator	% da biomassa seca
Água	54
Metanol	47
Etanol	38
Iso-propanol	24
Acetato de etila	20
Hexano	12

Exemplo de Extração 2: preparação de "extratos sequenciais"

20 Para preparação de "extratos sequenciais", primeiro um extrato direto foi preparado. Após a etapa 6, o pélete do material celular foi ressuspense em um extrator adicional selecionado e as etapas 3 a 7 foram então realizadas novamente com os extratores adicionais selecionados.

25 Uma série de extrações sequenciais foi produzida de acordo com a tabela 2:

Tabela 2: Extratos sequenciais e razão relacionada de extrato/biomassa em peso seco

Versão	Protocolo sequencial	Extrator	Símbolo do extrato	Razão % de extrato/biomassa seco
1	Acetato de etila seguido por etanol 30%	Acetato de etila etanol 30%	dir-EtAc seq. 30% EtOH	20
2	Metanol seguido por água	metanol água	dirMeOH seq água2	47 15
3	Hexano seguido por Acetato de etila seguido por etanol seguido por água	Hexano Acetato de etila Etanol Água	dir-Hex seq-EtAc Seq-EtOH Seq-Água	12 6 17 31
4	Acetato de etila seguido por etanol seguido por água	Acetato de etila Etanol Água	dir-EtAc seq-EtOH2 seq-Água3	20 18 30
5	Metanol seguido por hexa- no/Acetato de etila 1:1 (v/v) seguido por água	metanol hexano/Acetato de etila 1:1 (v/v) água	dir-MeOH seq- Hex/EtAc Seq-Água4	47 3 7

Exemplos de Efeitos 1-3: Modulação de crescimento de folículo piloso por dir-MeOH

- 5 Esses exemplos demonstram a influência do "extrato de metanol direto" de acordo com o exemplo de extração 1 sobre metabolismo do folículo piloso.

Para cada experimento e o controle 9-12 folículos foram usados,

plaqueados na densidade de 3 folículos pilosos/cavidade em placas de 24 cavidades. Os folículos pilosos foram obtidos da cabeça do couro cabeludo e transferidos para cultivo em placas de 24 cavidades estéreis usando um Meio E de William modificado. Cultivo aconteceu por nove dias, seguido por 5 18 horas de pré-incubação realizada a fim de selecionar folículos pilosos adequados para serem mantidos em cultura. Apenas aqueles folículos mostrando um estágio vital bom e crescimento de não menos do que 0,2 mm foram usados.

As performances de crescimento observadas nos folículos pilosos tratados foram comparadas com um grupo controle, que foi cultivado no mesmo meio de cultura, mas livre de suplemento de extrato.

A elaboração experimental consistia em tratamentos com extrato dir-MeOH em três concentrações finais correspondendo a 0,1, 1 e 10 µg/ml; as concentrações foram calculadas em termos de biomassa seca por congelamento extraída. A fim de obter esses meios suplementados, a quantidade 15 requerida de extrato dir-MeOH foi submetida à evaporação de solvente e então redissolvida em DMSO. A concentração final deste extrato dissolvido em DMSO foi ajustada a fim de suplementar os meios experimentais com a quantidade de extrato desejada, obtendo ao mesmo tempo uma concentração 20 final em DMSO igual a 0,05%. A mesma concentração de DMSO foi também usada no meio para a cultura do grupo controle.

A atividade do tratamento com microalga é demonstrada pelo aumento de crescimento de folículo piloso expresso como variação de porcentagem em comparação com o alongamento realizado pelo grupo controle. Os experimentos foram terminados após 10 dias de cultivo (9 dias de tratamento). O crescimento dos folículos pilosos foi estudado através de micro- 25 fotografia e subsequentemente determinado através de análise de imagem. Todos os folículos pilosos foram fotografados a cada dois dias.

O experimento descrito foi replicado três vezes adotando folículos pilosos obtidos de 3 doadores diferentes. Os resultados foram agrupados e combinados na Tabela 3 e na Figura 1, onde o alongamento do folículo piloso é expresso como razão de porcentagem entre os grupos experimen- 30

tais e o controle não-tratado:

Tabela 3: Crescimento de folículos pilosos no dia 10 de cultura – Dados agrupados a partir de três réplicas

Alongamento [%] da performance de controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	No. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio de DHA % em peso	Teor do meio de PUFA % em peso
0	Controle	100	3,8	28		-	-
1	dir-MeOH extr. 0,1 µg/ml	118,1	3,9	25	P < 0,01	0	0,01
2	dir-MeOH extr. 1 µg/ml	109,6	3,3	24	n.s.	0,02	0,06
3	dir-MeOH extr. 10 µg/ml	108,7	4,8	24	n.s.	0,24	0,56

- 5 DHA: ácido docosaexaenóico, C22:6, o ácido graxo poliinsaturado mais proeminente (PUFA)

PUFAs: DHA (C22:6), EPA (C20:5), ácido estearidônico (C18:4), ácido linolênico (C18:3) e linólico (C18:2)

Os resultados são também mostrados na Figura 1.

- 10 Os resultados indicam que a adição do extrato de dir-MeOH leva a um aumento significativo em crescimento dos folículos pilosos, variando de 9 a 18% em comparação com o grupo não-tratado. A resposta mais significativa foi obtida no tratamento abaixo que resulta altamente significativa também em uma base estatística ($P < 0,01$).

- 15 Exemplos de Efeitos 4-5: Modulação de crescimento de cabelo por dir-EtOH

O mesmo protocolo experimental descrito para os Exemplos 1-3 foi repetido para investigar a atividade do extrato de etanol direto com a ex-

ceção que todos os grupos experimentais e o controle foram preparados compreendendo 12-18 folículos.

Os dados que seguem foram obtidos tratando folículos pilosos obtidos de três doadores diferentes. A Tabela 4 e a Figura 2 sumarizam os resultados.

Tabela 4: Crescimento de folículos pilosos no dia 10 de cultura – Dados agrupados a partir de três réplicas

Alongamento em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	N. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio de DHA % em peso	Teor de Meio de PUFA's* (% em peso)
0	Controle	100	2,4	44		-	-
4	dir-EtOH extr. 0,1 μ g/ml	91,9	4,2	30		0	0,01
5	dir-EtOH extr. 10 μ g/ml	81,2	2,4	31	P < 0,01	0,28	0,87

*DHA (C22:6), EPA (C20:5), ácido estearidônico (C18:4), ácidos linolênico (C18:3) e linólico (C18:2)

Os resultados indicam que a adição do extrato de EtOH leva a uma redução significativa em crescimento de folículos pilosos, variando de 8 a 19% em comparação com o grupo não-tratado. A resposta mais significativa foi obtida no tratamento com 10 μ g/ml, que resulta altamente significativa também em uma base estatística ($P < 0,01$).

Exemplos de Efeitos 6-8: Modulação de crescimento de cabelo por dir-EtAc

O mesmo protocolo experimental descrito para os Exemplos de efeitos 1-3 foi repetido para investigar a atividade do extrato de acetato de etila direto.

A Tabela 5 e a Figura 3 resumam os resultados obtidos por três experimentos em réplica usando doadores diferentes.

Tabela 5: Crescimento de folículos pilosos no dia 10 de cultura – Dados agrupados a partir de três réplicas

5 Alongamento em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	N. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio DHA % em peso	Teor de Meio de PUFA's* (% em peso)
0	Controle	100	3,8	28		-	-
6	Dir-EtAc extrato 0,1 μ g/ml	95,3	4,6	26	n.s.	0	0,01
7	Dir-EtAc extrato 1 μ g/ml	112,2	4,4	25	P < 0,05	0,03	0,07
8	Dir-EtAc extrato 10 μ g/ml	105,9	4,5	26	n.s.	0,31	0,7

* DHA (C22:6), EPA (C20:5), ácido estearidônico (C18:4), ácidos linolênico (C18:3) e linólico (C18:2)

Os dados mostram a eficácia do extrato para modulação do crescimento de folículo piloso. O tratamento em concentração média (1 μ g/ml) produziu uma estimulação significativa (P<0,05) de crescimento de folículo piloso igual a 12%, enquanto aumentando ou reduzindo a intensidade do tratamento a modulação não se tornou significativa.

Exemplos de Efeitos 9-20: Modulação de crescimento de cabelo por extratos sequenciais

15 "Extratos sequenciais" foram preparados conforme descrito no

- Exemplo de extração 2. Quatro extratos foram preparados (dir-HEX seguido por seq-EtAc seguido por seq-EtOH seguido por seq-Água) e três tratamentos de dose foram testados para cada um deles. O experimento foi repetido três vezes usando folículos pilosos obtidos de doadores diferentes e os dados foram agrupados para representar a resposta média dos três doadores.

A Tabela 6 e a Figura 4 resumizam os resultados:

Tabela 6: Crescimento de folículos pilosos no dia 10 de cultura – Dados agrupados a partir de três réplicas

Alongamento em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	N. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio de DHA % em peso	Teor de Meio de PUFA's* (% em peso)
0	Controle	100	3,6	35		-	-
9	Dir-Hex extrato 0,1 µg/ml	92,5	3,6	34	n.s.	0	0,01
10	Dir-Hex extrato 1 µg/ml	97,6	3,6	34	n.s.	0,03	0,06
11	Dir-Hex extrato 10 µg/ml	108,0	4,0	34	n.s.	0,25	0,58
12	Seq-EtAc extrato 0,1 µg/ml	98,3	3,6	34	n.s.	0	0
13	Seq-EtAc extrato 1 µg/ml	100,3	3,6	31	n.s.	0	0,01
14	Seq-EtAc extrato 10 µg/ml	98,9	3,5	30	n.s.	0,04	0,09

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	N. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio de DHA % em peso	Teor de Meio de PUFA's* (% em peso)
15	Seq-EtOH extrato 0,1 µg/ml	99,2	3,6	32	n.s.	0	0
16	Seq-EtOH extrato 1 µg/ml	96	3,1	34	n.s.	0	0
17	Seq-EtOH extrato 10 µg/ml	88,6	2,9	30	P < 0,05	0,02	0,03
18	Seq-Água extrato 0,1 µg/ml	94,4	4,7	32	n.s.	0	0
19	Seq-Água extrato 1 µg/ml	95,8	3,1	32	n.s.	0	0
20	Seq-Água extrato 10 µg/ml	99	5,3	28	n.s.	0	0

* DHA (C22:6), EPA (C20:5), ácido estearidônico (C18:4), ácidos linolênico (C18:3) e linólico (C18:2)

Os experimentos mostram que duas classes de compostos ativos sobre crescimento de cabelo foram separadas nos extratos sequenciais: o primeiro foi extraído através de hexano e ele produziu uma modulação do crescimento de cabelo mudando da inibição para estimulação em resposta à intensidade alta de tratamento, enquanto o segundo é mais hidrofílico e foi extraído através de seq-etanol. Este último produziu uma inibição significativa do crescimento de folículo piloso ($P < 0,05$) a $10 \mu\text{g/ml}$.

Exemplos de Efeitos 21-26: Modulação de crescimento de cabelo por extratos de hexano diretos

Extrato de hexano direto foi preparado conforme descrito no Exemplo de Extração 1 para investigar a atividade do extrato direto obtido usando hexano em comparação com a atividade de DHA puro (ácido docosaexaenóico, C22:6). O objetivo do experimento era verificar que a ação de dir-Hex é reproduzível através de tratamento com DHA que é altamente representado dentre os PUFA's sintetizados por *Isochrysis sp.*, em particular *Isochrysis Taitiana*. Uma vez que foi detectado que o extrato dir-Hex é constituído de DHA em cerca de 20%, foi estimado que um tratamento com dir-Hex a $0,1 \mu\text{g/ml}$ corresponde a tratar folículos pilosos com $0,02 \mu\text{g/ml}$ de DHA. A fim de reproduzir um tratamento equilibrado em torno deste valor três grupos de folículos pilosos foram cultivados em cultura de meio suplementado com DHA variando de $0,003$ a $0,3 \mu\text{g/ml}$ e eles foram comparados com outros tratados com dir-Hex variando de a partir de $0,1$ a $10 \mu\text{g/ml}$, como usual. A fim de suplementar o meio de cultura com DHA, ácido docosaexaenóico foi dissolvido em DMSO em concentrações adequadas para chegar no teor final de DMSO $0,05\%$ no meio. O experimento foi repetido duas vezes e os resultados agrupados são sumarizados na Tabela 7 e Figura 5.

Tabela 7: Crescimento de folículos pilosos no dia 10 de cultura – Dados agrupados a partir de dois doadores

Alongamento em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento experimental	Crescimento (%)	Erro padrão	N. de folículos pilosos	Teste ANOVA	Teor do meio de DHA % em peso	Teor do Meio de PU-FAs* (% em peso)
0	Controle	100	3,3	30		-	-
21	DHA 0,003 µg/ml	99,5	3,6	19			
22	DHA 0,03 µg/ml	93,5	4,7	18			
23	DHA 0,3 µg/ml	89,3	3,5	19	P<0,05		
24	Dir-Hex extrato 0,1 µg/ml	88,4	3,2	19	P<0,05	0	0,01
25	Dir-Hex extrato 1 µg/ml	98	4,3	19		0,03	0,06
26	Dir-Hex extrato 10 µg/ml	110,1	4,8	19		0,25	0,58

Os resultados mostram que DHA produziu uma dose-resposta inibidora, enquanto o dir-Hex inibiu crescimento de folículo piloso em concentração baixa (isto é, DHA baixo) e estimulou o crescimento em concentrações maiores (isto é, aumentando teor de DHA). Esses dados confirmam que tratamentos com DHA e dir-Hex produzem efeitos diferentes sobre crescimento de folículo piloso e a atividade de dir-Hex não pode ser explicada pelo teor de DHA.

Exemplos de Efeitos 27-30: Modulação de pigmentação de cabelo por dir-EtAc e seq-EtOH 30%

A atividade sobre pigmentação de ambos os extratos lipofílicos (dir-EtAc) (seq-EtOH 30%) obtidos a partir de *Isochrysis Taitiana* foi estudada através da realização de um experimento com uma amostra biológica obtida de um doador único. Os meios de cultura para os tratamentos experimentais foram preparados de acordo com os Exemplos de Extração anteriores, a fim de obter os tratamentos experimentais que seguem:

- 1) dir-EtAc = 0,1 µg/ml e 1 µg/ml;
- 2) seq-EtOH 30% = 0,1 µg/ml e 10 µg/ml.

A cultura dos folículos pilosos foi terminada após 5 dias de cultivo (4 de tratamento). Subsequentemente, os folículos pilosos foram submetidos à análise histológica através da preparação de seções tingidas de acordo com a técnica Fontana Masson. O teor de melanina dos tecidos circundando as dermopapilas foi detectado através de análise de imagem e os resultados são mostrados na Tabela 8 e na Figura 6.

Tabela 8: Teor de melanina dos folículos pilosos no dia 5 de cultura – Dados de doador único

Teor de melanina em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de Melanina (%)	Erro Padrão	N. de amostras	Teste ANOVA
0	Controle	100	21,5	12	
27	dir-EtAc 0,1 µg/ml	112,3	18,7	12	
28	dir-EtAc 1 µg/ml	149,8	36,8	12	
29	seq-30%EtOH 0,1 µg/ml	111,4	22,8	12	
30	seq-30%EtOH 10 µg/ml	223,5	45,7	12	P<0,01

Os resultados indicam claramente que o tratamento de folículos

pilosos com os extratos de microalga aumentou o teor de melanina após 4 dias de tratamento. A intensidade da resposta varia com a dose. No entanto, as respostas mais intensas foram detectadas através do tratamento com extrato seq-EtOH 30% a 10 µg/ml (altamente significativa; $P < 0.01$) e extrato dir-Et-Ac a 1 µg/ml.

Exemplos de Efeitos 31-42: Modulação de pigmentação de cabelo pelos extratos sequenciais

O experimento em pigmentação de folículo piloso foi repetido usando extratos sequências de quatro etapas (hexano seguido por acetato de etila seguido por etanol seguido por água) preparado através de tratamento da biomassa de *Isochrysis* conforme previamente descrito no Exemplo de Extração 2.

As técnicas de cultura e análise histológica foram as mesmas descritas para os Exemplos de Efeitos 27-39.

Os meios de cultura para os tratamentos experimentais foram preparados de acordo com as descrições anteriores, a fim de obter os tratamentos experimentais que seguem.

1) dir-Hexano = 0,1 – 1 – 10 µg/ml;

2) seq-EtAc = 0,1 – 1 – 10 µg/ml;

3) seq-EtOH = 0,1 – 1 – 10 µg/ml;

4) seq-água = 0,1 – 1 – 10 µg/ml.

Os resultados são mostrados na Tabela 9 e Figura 7:

Tabela 9: Teor de melanina de folículos pilosos no dia 5 de cultura – Dados a partir de doador único

Teor de melanina em [%] da performance de controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de Melanina (%)	Erro Padrão	N. de amostras	Teste ANOVA
0	Controle	100	13,3	12	
31	dir-Hex 0,1 µg/ml	93,7	14,5	12	
32	dir-Hex 1 µg/ml	125	13,3	12	
33	dir-Hex 10 µg/ml	114,8	13,8	12	

34	seq-EtAc 0.1 µg/ml	115,4	17,8	12	
35	seq-EtAc 1 µg/ml	113,6	18,9	12	
36	seq-EtAc 10 µg/ml	153,3	6,8	12	P<0,05
37	seq-EtOH 0,1 µg/ml	117,6	18,3	12	
38	seq-EtOH 1 µg/ml	115,3	14,3	12	
39	seq-EtOH 10 µg/ml	108,1	16	12	
40	seq-Água 0,1 µg/ml	136	14,6	12	
41	seq-Água 1 µg/ml	112,8	9	12	
42	seq-Água 10 µg/ml	163,2	9,8	12	P<0,01

Os resultados apontam para um aumento de pigmentação geral em resposta a tratamentos experimentais, com resultados estatisticamente significantes para 10 µg/ml seq-EtAc (ANOVA = P<0,05) e 10 µg/ml de seq-água (ANOVA = P<0,01).

5 Exemplos de Efeitos 43-50: Modulação de pigmentação da pele através de extratos sequenciais

Cultura de órgão de pele humana de espessura integral foi realizada partindo de uma amostra de pele, excisando pedaços de cerca de 4x4 mm e cultivando-os até o dia 6. O meio de cultura foi um William-E modificado e foi mudado no dia 3.

Amostras dos extratos sequenciais conforme descrito pelo Exemplo de Extração 2 foram secas ao ar e então redissolvidas em uma quantidade de DMSO adequada para obter uma concentração final de 1 e 10 µg/ml. Os tratamentos experimentais foram replicados diariamente aplicando 5 ul de extrato, dissolvidos em DMSO puro, sobre a superfície das amostras de pele cultivadas.

Após seis dias de cultura de órgão, seção histológica foi preparada a partir de amostras de pele e as mudanças quantitativas de teor de melanina foram investigadas seguindo a técnica de tingimento Fontana-Masson. A quantificação de melanina foi obtida através de análise de imagem de microfotografias de cada seção de pele histológica. A Tabela 10 e a Figura 8 resumizam os resultados:

Tabela 10: Teor de melanina de pele no dia 6 de cultura – Dados de doador único

Teor de melanina em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de melanina (%)	Erro Padrão	N. de Amostras	Teste ANOVA
0	Controle	100	4,8	12	
43	dir-Hex 1 $\mu\text{g/ml}$	131,1	6,3	12	$P<0,05$
44	dir-Hex 10 $\mu\text{g/ml}$	147,6	6,3	12	$P<0,01$
45	seq-EtAc 1 $\mu\text{g/ml}$	140,6	8,8	12	$P<0,05$
46	seq-EtAc 10 $\mu\text{g/ml}$	163,9	15,1	12	$P<0,01$
47	seq-EtOH 1 $\mu\text{g/ml}$	129,2	12	12	$P<0,05$
48	seq-EtOH 10 $\mu\text{g/ml}$	149,7	6	12	$P<0,01$
49	seq-Água 1 $\mu\text{g/ml}$	153	7,5	12	$P<0,01$
50	seq-Água 10 $\mu\text{g/ml}$	126,3	7,3	12	$P<0,05$

- 5 Neste experimento todos os tratamentos produziram um aumento significativo (ANOVA = $P<0,05$) do teor de melanina na pele. Os tratamentos com dir-Hex 10 $\mu\text{g/ml}$, seq-EtAc 1-10 $\mu\text{g/ml}$, seq – EtOH 10 $\mu\text{g/ml}$ e seq-Água 1 $\mu\text{g/ml}$ estimularam respostas estatisticamente altamente significantes (ANOVA = $P>0,01$).

- 10 Os efeitos resultaram em geral em pigmentação mais intensa do que em folículos pilosos, no entanto, também neste caso as respostas mais relevantes foram registradas através de tratamento do tecido com extratos seq-EtAc (10 $\mu\text{g/ml}$) e seq-Água (1 $\mu\text{g/ml}$).

Exemplos de Efeitos 51-54: Modulação de pigmentação da pele por dir-EtOH

- 15 O mesmo protocolo descrito para os Exemplos 43-50 anteriores foi adotado no experimento que segue planejado para investigar a atividade sobre pigmentação da pele relacionada com extrato dir-EtOH de acordo com o Exemplo de Extração 1.

- 20 A preparação do extrato foi realizada usando duas amostras de biomassa de *Isochrysis Taitiana*, obtidas de dois cultivos diferentes da mesma linhagem de alga. A fim de comparar a performance de dois extratos, eles foram marcados como dir-EtOH1 e dir-EtOH2. A Tabela 11 e a Figura 9

mostram os resultados:

Tabela 11: Teor de melanina de pele no dia 6 de cultura – Dados de único doador

Teor de melanina em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de melanina (%)	Erro Padrão	N. de Amostras	Teste ANOVA
0	Controle	100	10,8	8	
51	dir-EtOH1 1 μ g/ml	70,9	9,2	6	
52	dir-EtOH1 10 μ g/ml	67,1	9,1	8	P<0,05
53	dir-EtOH2 1 μ g/ml	57,8	4,4	8	P<0,01
54	dir-EtOH2 10 μ g/ml	83,8	12,1	8	

- 5 Os resultados mostram que ambos os extratos dir-EtOH inibiram a pigmentação, em contraste com a estimulação detectada usando os extratos obtidos com extratores diferentes. Ambas as amostras de *Isochrysis* Taitiana mostraram os mesmos efeitos apesar delas terem se originado de culturas diferentes. Todas as repostas foram inibição e dir-EtOH1 a 10 μ g/ml produziu uma resposta significativa em base estatística (P<0,05) enquanto
- 10 dir-EtOH2 deu uma resposta muito significativa em 1 μ g/ml (P<0,01).

Isto significa que ativos diferentes estão presentes em biomassa de *Isochrysis* sp., preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, e eles podem ser separados escolhendo o solvente apropriado.

- 15 Exemplos de Efeitos 55-62: Modulação de pigmentação da pele por dir-EtOH e "extratos sequenciais"

- O mesmo protocolo descrito para os Exemplos de Efeitos 51-54 anteriores foi adotado em um experimento elaborado para comparar a atividade de dir-EtOH com alguns "extratos sequenciais" de acordo com o Exemplo de Extração 2. O objetivo do experimento foi também confirmar a
- 20 presença de ativos diferentes em biomassa de *Isochrysis* Taitiana e a possibilidade de separá-los usando solventes diferentes.

Os extratos incluídos no experimento e resultados obtidos são mostrados na Tabela 12 e Figura 10:

Tabela 12: Teor de melanina de pele no dia 6 de cultura – Dados a partir de doador único

Teor de melanina em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento	Experi- mental	Teor de me- lanina (%)	Erro Pa- drão	N. de A- mostras	Teste ANOVA
0	Controle		100	22,3	8	
55	dir-EtOH	1 μ g/ml	90,3	11,5	8	
56	dir-EtOH	10 μ g/ml	90,7	10	8	
57	seq-EtAc	1 μ g/ml	92,7	11,2	8	
58	seq-EtAc	10 μ g/ml	164,9	22,1	8	P< 0,01
59	seq-EtOH	1 μ g/ml	131,5	10,5	8	
60	seq-EtOH	10 μ g/ml	157,3	21,6	8	P< 0,05
61	seq-Água	1 μ g/ml	138,8	20,5	8	
62	seq-Água	10 μ g/ml	111,2	21	8	

Os resultados estão de acordo com as expectativas: dir-EtOH tendeu a inibir pigmentação, enquanto seq-EtOH produziu uma estimulação significativa (P<0,05). Seq-EtAc (P<0,01) e seq-Água novamente estimularam a síntese de melanina conforme esperado (vide Exemplos de Efeitos 45-50).

Exemplos de Efeitos 63-65: Modulação de crescimento de cabelo por extra-
tos sequenciais

Um "extrato sequencial" foi preparado conforme descrito no Exemplo de Extração 2. Dois extratos foram preparados (dir-MeOH seguido por seq-Hex/EtAc) e um tratamento de três doses foi testado quanto ao extrato seq-Hex/EtAc. O experimento foi repetido quatro vezes usando folículos pilosos obtidos de 4 doadores diferentes e os dados foram agrupados para representar a resposta média dos quatro doadores. A Tabela 13 sumariza os resultados do extrato seq-Hex/EtAc:

Tabela 13: Crescimento de folículos pilosos no dia 9 de cultura – Dados agrupados a partir de quatro réplicas

Alongamento em [%] da performance do controle $\pm$ erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Crescimento (%)	Erro Padrão	Nº de Foliculos pilosos	Teste ANOVA
0	Controle	100	2,6	62	
63	Seq-Hex/EtAc 0,1 µg/ml	104,4	2,6	43	n.s.
64	Seq-Hex/EtAc 1 µg/ml	112,0	3,0	44	P < 0,01
65	Seq-Hex/EtAc 10 µg/ml	101,9	3,4	41	n.s.

- Os resultados atestam que a adição do extrato seq-Hex/EtAc leva a um aumento significativo no crescimento de foliculos pilosos, em comparação com o grupo não-tratado. A resposta mais significativa foi obtida através de tratamento na dosagem de 1 µg/ml que resulta altamente significativa também em uma base estatística (P<0,01).

O extrato seco seq-Hex/EtAc continha apenas quantidades traço de PUFA's (<0,2% em peso).

Exemplos de Efeitos 66-67: Modulação de pigmentação da pele pelos "extratos sequenciais"

- O mesmo protocolo descrito para os Exemplos de Efeitos 51-54 anteriores foi adotado em um experimento elaborado para determinar a atividade de um "extrato sequencial" de acordo com o Exemplo de Extração 2. Dois extratos foram preparados (dir-MeOH seguido por seq-Hex/EtAc) e um tratamento de três doses de extrato de seq-Hex/EtAc foi testado.

- Os resultados são mostrados na Tabela 14:

Tabela 14: Teor de melanina de pele no dia 6 de cultura – Dados a partir de um doador único

Teor de melanina em [%] da performance do controle ± erro padrão

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de Melanina (%)	Erro Padrão	N. de Amostras
0	Controle	100	13,7	8
66	Seq-Hex/EtAc 1 µg/ml	131,3	13,0	8

Ex.	Tratamento Experimental	Teor de Melanina (%)	Erro Padrão	N. de Amostras
67	Seq-Hex/EtAc 10 µg/ml	110,1	11,4	8

Neste experimento, ambos os tratamentos produziram um aumento do teor de melanina. O tratamento com 1 µg/ml levou a um aumento de cerca de 30% no teor de melanina.

Exemplos de Produto 1-11: Cuidado da Pele

5 Na Tabela 1 significa

1 = Emulsão "água-em-óleo" de bronzeamento da pele

2 = Emulsão "óleo-em-água" de bronzeamento da pele com proteção de ampla de UVA/B

10 3 = Creme "óleo-em-água" de bronzeamento da pele e inibição de crescimento de cabelo

4 = Espuma aerossol de inibição de crescimento de cabelo com proteção UVA/B

5 = Creme O/A de bronzeamento da pele e inibição de crescimento de cabelo

15 6 = Bálsamo umectante de bronzeamento da pele

7 = Spray O/A de corpo de bronzeamento da pele

8 = Gel de clareamento da pele e inibição de crescimento de cabelo

20 9 = Líquido de embebição de bronzeamento da pele e inibição de crescimento de cabelo para lenços

10 = Spray de bomba antiperspirante de inibição de crescimento de cabelo e clareamento de cabelo

11 = Espuma não-aerossol de clareamento da pele

Tabela 1:

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	PPM										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Extrato seco de <i>Isochrysis</i> Taitiana	Extrato de <i>Isochrysis</i>						10	25				
Extrato de <i>Isochrysis</i> Taitiana (teor de extrato seco 1% em peso)	Maltodextrina. Extrato de <i>Isochrysis</i>			50	500						100	

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	PPM										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Extrato de <i>Isochrysis</i> (teor de extrato seco 0,2% em peso)	Glicerina, Água (Aqua), Pentileno Glicol, Extrato de <i>Isochrysis</i>		500						100			150
Extrato de <i>Isochrysis</i> Taitiana (teor de extrato seco 1% em peso)	1,2-Pentilenoglicol, Extrato de <i>Isochrysis</i>	10				200				300		

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% em PESO										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Abil 100® (Goldschmidt)	Dimeticona			2,0		0,5						1,0
Alugel 34 TH (Baerlocher)	Estearato de Alumínio	1,0										
alfa-Bisabolol (Symrise)	Bisabolol	0,1			0,1		0,2	0,1		0,1	0,1	0,1
Aristoflex AVC	Copolímero de						0,8					

NOME DA MATÉRIA- PRIMA (FORNECE- DOR)	INCI	% EM PESO										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Dragocid Líquido(Symrise)	Fenoxietanol (e) Metilparabe- no (e) Etilpara- beno (e) Butilpa- rabeno (e) Pro- pilparabeno (e) Isobutilparabeno	1,0	0,3	0,8	0,3							0,3
Dragosan A/O P (Symrise)	Isostearato de Sorbitano, Óleo de Rícino Hidro- genado, Ceresi- na, Cera de abe- lha (Cera Alba)	7,0										
Dracorin CE	Citrato de Estea- rato de Glicerila					5,0						
Dracorin GMS (Symri- se)	Estearato de Glicerina			2,0	2,0							
Dracorin GOC (Symri- se)	Citrato de Oleato de Glicerila, Tri- glicerídeo Caprí- lico/Cáprico							2,0				
Drago-Oat- Active	Água (Aqua), Butileno Glicol, Extrato de Se- mente de Avena Sativa (Aveia)							1,0				
Dragoxat 89 (Symrise)	Etilexil Isonona- noato						5,0	3,0		2,0		
Dragoxat EH (Symrise)	Etilexil Etilexanoato			3,0		3,0						
Edeta BD® (BASF)	Dissódio-EDTA		0,1		0,1	0,1	0,1					0,1
Emulgade PL	Cetearil Glicosí- deo, Álcool Cetearílico			0,5								

NOME DA MATÉRIA- PRIMA (FORNECE- DOR)	INCI	% EM PESO										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Emulsiphos (Symrise)	Cetilfosfato, Glicerídeos de Palma Hidrogenados			2,0	1,5							
Etanol (96 %)	Álcool Desnat.					2,0				60,0		
Extrapone Aloe Vera (Symrise)	Glicerina, Água (Aqua), Extrato de Folha de Aloe Barbadensis	3,0							0,5			
Extrapone Camomila (Symrise)	Glicerina, Água (Aqua), Extrato de Folha de Camomilla Recutica (Matricaria),			0,5								
Extrapone Chá Verde (Symrise)	Glicerina, Água (Aqua), Extrato de Folha de Camellia Sinensis			0,2								
Extrapone Rosemary (Symrise)	Glicerina, Água (Aqua), Extrato de Folha de Rosmarinus Officinalis (Rosemary)			0,3								
Extrapone Witch Hazel (Symrise)	Propileno Glicol, Água de Hamamelis Virginiana (Witch Hazel), Água (Aqua), Extrato de Hamamelis Virginiana (Witch Hazel)	1,0										
Fragrância	Perfume (Fragrância)	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,5	1,0	0,2
Glicerina 99 %	Glicerina	2,0	4,0	2,0	3,0	1,5			5,0			4,0

[illegible]

NOME DA MATÉRIA- PRIMA (FORNECE- DOR)	INCI	% EM PESO										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
(Merck)												
Óleo Mineral	Parafina Líquida							4,0				
Solução a- quosa 10 % NaOH	Hidróxido de Sódio		0,2		2,9			0,4	1,0			0,6
Neo Helio- pan® AP (Symrise), 15 % como sal de sódio	Fenildibenzimi- dazoltetrassulfo- nato de dissódio		6,7									
Neo Helio- pan® AV (Symrise)	Etilexilmetóxi- cinamato				6,0							2,0
Neo Helio- pan® BB (Symrise)	Benzofenona-3						0,25					
Neo Helio- pan® 357 (Symrise)	Butil Metoxdi- benzol-metano		0,6		1,5							1,5
Neo Helio- pan® E 1000 (Symrise)	Isoamil-p- metoxicinamato											6,0
Neo Helio- pan® HMS (Symrise)	Homosalato		9,5									
Neo Helio- pan® Hydro (solução a- quosa 15% neutralizada com NaOH) (Symrise)	Ácido Fenilben- zimidazol Sulfô- nico		6,7		13,3							
Neo Helio- pan® 4- MBC (Symrise)	4-Metilbenzilideno- canfor				4,0							3,0
Neo-PCL N solúvel em	Trideceth-9, PEG-5 Etilexa-								1,0		2,0	

[illegible]

NOME DA MATÉRIA- PRIMA (FORNECE- DOR)	INCI	% EM PESO										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Óleo de A- mêndoa Do- ce (H. Erhard Wagner)	Prunus Dulcis	5,0										
SymDeo MPP (Symri- se)	Dimetil Fenil 2- Butanol										0,5	
Symdiol 68 (Symrise)	1,2-Hexanodiol, Álcool Caprílico		0,5						0,5			
SymGlucan (Symrise)	Água, Glicerina, Beta-Glicano			0,3								
SymWhite 377 (Symri- se)	Feniletil Resorci- nol					0,2						
Tegosoft TN® (Golds- chmidt)	C12-C15 Alquil- benzoato		2,0		2,0							
Texapon N 70 (Cognis)	Laureth Sulfato de Sódio				0,1	0,5						0,5
Acetato de Vitamina E (DSM Nutriti- onal Pro- ducts)	Acetato de Toco- ferila	3,0	0,5		0,5							0,5
Palmitato de vitamina A em óleo (1 Mol/g) (DSM Nutritional Products)	Palmitato de Retinila	0,2										
Água, desmi- neralizada	Aqua (Água)	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Exemplos de Produto 12-20: Cuidado do Cabelo

Na Tabela 2 significa

12 = Tônico de estimulação de crescimento de cabelo

13 = Xampú 2 em 1 pós-sol com propriedades de tingimento

castanho do cabelo

14 = Condicionador de tingimento castanho do cabelo com proteção UVB/UVA

5 15 = Espuma de bomba para cabelo líquida, sem enxágue com propriedades de estimulação de crescimento de cabelo

16 = Gel de estilização de estimulação de crescimento de cabelo

17 = Espuma de inibição de crescimento de cabelo e clareamento de cabelo

10 18 = Máscara com propriedades de estimulação de crescimento de cabelo e de tingimento castanho do cabelo

19 = Xampú anticasca de estimulação de crescimento de cabelo

20 = Condicionador de cabelo sem enxágue de inibição de crescimento de cabelo

15 21 = Xampú de estimulação de tingimento castanho do cabelo e crescimento de cabelo

Tabela 2

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	PPM									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Extrato seco de <i>Isochrysis</i> Taitiana	Extrato de <i>Isochrysis</i>		25,0							10,0	
Extrato de <i>Isochrysis</i> (teor de extrato seco 0,5% em peso)	Maltodextrina, Extrato de <i>Isochrysis</i>					20		100			
Extrato de <i>Isochrysis</i> (teor de extrato seco 2% em peso)	Propileno Glicol, Água (Aqua), PEG-40 Óleo de Ricino Hidrogenado, Trideceth-9, Extrato de <i>Isochrysis</i>	25		500					150		
Extrato de <i>Isochrysis</i>	1,2-				100		200				500

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	PPM									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
hrysis Taitiana (teor de extrato seco 1% em peso)	Pentileno-glicol, Água (Aqua), Extrato de <i>Isochrysis</i>										

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Abil B 9950 (Evonic Goldschmidt)	Dimeticona Propil Pg-Betaina				0,2						
Abil-Quat 3272 (Evonic Goldschmidt)	Quatérnio-80				0,5						
Actipone Alpha-Pulp (Symrise)	Água (Aqua), Butileno Glicol, Ácido Málico, Suco de Ftuta de Actinidia Chinnensis (Kiwi), Suco de Citrus Aurantium Dulcis (Laranja), Suco de Citrus Paradisi (Toronja), Suco de Pyrus Malus (Maçã), Trideceth-9, Extrato				0.75						

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	de Semente de Prunus Amygdalus Dulcis (Amêndoa Doce)										
Concentrado de Gel de Aloe Vera 10/1 (Symrise)	Água (Aqua), Suco da Folha de Aloe Barbadensis		0,5							0,5	
-(-Alfa)-Bisabolol, natural (Symrise)	Bisabolol								0,1		
Aminexil	Óxido de diaminopirimidi-na	0,3									
Antil 141 Líquido (Evonic Goldschmidt)	Propilene Glicol, PEG-55 Diestearato de Propileno Glicol		1,0								
Antil 171 (Evonic Goldschmidt)	PEG-18 Gliceril Oleato/Cocoato								2,0		
Cafeína	Cafeína	0,5		0,1							0,3
Carbopol Ultrez-10 (Noveon)	Carbômero					0,7					
Celquat L-200 (National Starch & Chemical)	Poliquatérnio-4				1,0						
CeramideBio	N-(1-Hexade-		0,2								

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	canoil)-4-hidróxi-L-prolin-(1-hexadecil - éster										
Solução de Ácido Cítrico 10%	Ácido Cítrico			1,3	1,6						q.s.
Cor (Symrise)	Cor								0,2		
Crinipan AD (Symrise)	Climbazol								0,5		
Crotein Q (Cro-da)	Colágeno Hidrolisado com Hidroxipropil Trimônio			1,0							
Dehyquart A CA (Cognis)	Cloreto de Cetrimônio	0,2	1,0		4,0					4,0	
Dehyquart SP (Cognis)	Quatérnio-52			0,5							
Dehyton K (Cognis)	Cocamidopropil Betaína		8,0				0,5				2,0
Dermossacarídeos GY (Impag)	Água (Aqua), Glicerina, Glicogênio				1,0						
D-Pantenol 75L (DSM Nutritional)	Pantenol	0,5	1,0		0,5						
Fluido Dow Corning 245	Ciclopentassiloxano							5,0			
Auxiliar de Formulação Dow Corning 5225C	Ciclopentassiloxano, PEG/PPG-18/18 Di-							1,0			

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	lus Lupulus (Lúpulo), Glicose										
Extrapone Citronela (Symrise)	Propileno Glicol, Água (Água), PEG-40 Óleo de Rícino Hidrogenado, Tri-deceth-9, Óleo da Folha de Cymbopogon Citratus, Ácido Láctico	0.4								1.0	
Extrapone Rosmary GW (Symrise)	Glicerina, Água (Água), Extrato da Folha de Rosmarinus officinalis (Rosmary)		0.3								
Fragrância (Symrise)	Fragrância	0,5	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5		0,5	0,3	0,4
Frescolat ML (Symrise)	Metil Lactato	0,5				0,8			0,5		
Glicerina, 99,5%	Glicerina					10,0					
Hydrolite-5 (Symrise)	Pentileno Glicol				0,5						
Keltrol T (Calgon)	Goma Xantano							0,15			
Lanette 18	Álcool Es-							2,0			

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
(Cognis)	tearílico										
Lanette O (Cognis)	Álcool Cetearílico			2,5						3,5	
Luviskol K 30 (BASF)	PVP				2,0						
Luviskol K 30 Pó (BASF)	PVP/Polivinilpirrolidona					3,0		4,0			
Luviskol VA 64 Pó (BASF)	Copolímero de PVP/VA						4,0				
MBD 210 Dispersão 20%	Negro de Fumo, Água (Aqua)							5,0			
Minoxidil	Minoxidil					0,5					
Merquat 550 (Ondeo)	Poliquatérnio-7		1,0								
Mulsifan RT 203/80 (Z&S)	C12-15 Pareth-12					4,0					
Neo Heliopan 357 (Symrise)	Butil Metoxidibenzoilmetano			0,5							
Neo Heliopan BB (Symrise)	Benzofenona-3	0,1	0,2						0,3		
Neo Heliopan E 1000 (Symrise)	Isoamil-p-metóxi - cinamato			2,0							
N solúvel em água Neo-PCL (Symrise)	Trideceth-9, PEG-5 Etilexanoato, Água (Aqua)				1,0						
Neutrol (BASF)	TE Tetraidroxipropil Etilenodi-					1,4					

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	amina										
Niacinamida	Niacinamida	0,2									
Permetil 104A (Cesham)	Poliisobuteno C68							1,0			
Plantacare 1200 UP (Cognis)	Lauril glicosídeo										10.0
Polímero JR 400 (Nordmann, Rassmann)	Poliquatérnio-10							0.2			
Polyquart H 81 (Cognis)	PEG-15 Coco Poliamina									3.0	
Sorbato de Potássio	Sorbato de Potássio				0,2						
Prestige Sparkling Pure Gold (Eckart)	Mica, Dióxido de Titânio, Óxidos de Ferro							3,0			
Propano Butano 4,2 Bar	Propano - Butaneó						10,0				
1,2-Propilenoglicol	Propileno Glicol							2,0			
Rose CL forte (Symrise)	Água (Aqua), Glicerina, PEG-40 Óleo de Rícino Hidrogenado, Óleo de Flor Rosa Damascena		0,5								
Seanamin FP LS 5988 (Impag)	Actina Hidrolisada, Água				1,0						

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	(Aqua), Glicerina, Extrato de Fucus Vesiculosus										
Benzoato de Sódio	Benzoato de Sódio				0,5						
Cloreto de Sódio	Cloreto de Sódio		0,5						2,0	2,0	
Hidróxido de Sódio, sol. 10%	Hidróxido de Sódio		0,1								
Solubilizador (Symrise)	PEG-40 Óleo de Rícino Hidrogenado, Tri-decethe-9, Água (Aqua)	1.0									
Ácido Esteárico (Cognis)	Ácido Esteárico							2,0			
Tego Betain 810 (Evonic Goldschmidt)	Capril/Capramidopropil Betaina				0.5						
Texapon K 14 S Special (Cognis)	Mireth Sulfato de Sódio								12,0		
Texapon N 70 (Cognis)	Laureth sulfato de sódio		10,0						12,0		
Trietanolamina	Trietanolamina							0,5			
Veegum HV	Silicato de Alumínio de Magnésio							0,55			
Água, desmineralizada	Água (Aqua)	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	ad	Ad	Ad	Ad

NOME DA MATÉRIA-PRIMA (FORNECEDOR)	INCI	% EM PESO									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
realizada	qua)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Exemplos de Produto 22-34: Beleza a partir de dentro

Cápsula de gelatina para consumo direto

NOME DA MATÉRIA-PRIMA	% EM PESO		
	22	23	24
Casca da gelatina:			
Glicerina	2,014	2,014	2,014
Gelatine 240 Bloom	7,91	7,91	7,91
Sucralose	0,065	0,065	0,065
Vermelho Allura	0,006	0,006	0,006
Azul Brilhante	0,005	0,005	0,005
Composição do núcleo:			
Triglicerídeo de óleo de planta (fração de óleo de coco)	ad 100	ad 100	ad 100
Aroma B	9,95	12,0	12,0
Extrato seco de <i>Isochrysis</i> Taitiana		0,005	0,01
Extrato de <i>Isochrysis</i> (triglicerídeo de óleo de planta:extrato seco 95:5 (p/p)	0,02		

O aroma B tinha a composição que segue (Figuras em % em peso): pó de neotame 0,1%, aspartame 0,05%, óleo de hortelã-pimenta arvensis 29,3%, óleo de piperita de hortelã-pimenta Willamette, sucralose 2,97%, triacetina 2,28%, dietil tartrato 5,4%, óleo de hortelã-pimenta yakima 12,1%, etanol 0,7%, 2-hidroxietil metil carbonato 3,36%, 2-hidroxipropil metil carbonato 3,0%, vanilina 0,27%, D-limoneno 5,5%, L-metil acetato 5,67%.

A cápsula de gelatina adequada para consumo direto (produzida de uma maneira análoga ao WO 2004/050069) tinha um diâmetro de 5 mm e

a razão em peso de material de núcleo para material de casca era 90:10. A cápsula abriu na boca em menos de 10 segundos e dissolveu completamente em menos de 50 segundos.

Comprimidos prensados

NOME DA MATÉRIA-PRIMA	% EM PESO		
	25	26	27
Estearato de magnésio (como lubrificante)	0,9	0,9	0,9
Ácido cítrico	0,2	0,2	0,2
Extrato seco de <i>Isochrysis</i>	0,01	0,005	0,001
Dextrose	Ad 100	Ad 100	Ad 100

- 5 Instruções de preparação: Misturar todos os constituintes e pressionar para um produto prensado em uma máquina adequada.

Gomas de mascar

NOME DA MATÉRIA-PRIMA	% EM PESO	
	28	29
Base de goma de mascar	21,0	30,0
Glicerina	0,5	1,0
Aroma de Menta Mentol	1,0	0,7
Xarope de Glicose	16,5	
Açúcar cristalizado	Ad 100	
Extrato seco de <i>Isochrysis</i> Taitiana		0,01
Extrato de <i>Isochrysis</i> (maltodextrina:extrato seco 99:1 (p/p))	0,5	
Sorbitol, pó		Ad 100
Palatinita		9,5
Xilitol		2,0
Manitol		3,0
Aspartame		0,1
Acessulfame K		0,1
Emulgum / emulsifier		0,3
Sorbitol 70%, em água		14,0

Na Tabela 3 significa

30 = Mistura de bebida instantânea

31 = Mistura de bebida instantânea sem açúcar

32 = Refrigerante carbonado

33 = Bebida de soja-fruta

34 = Iogurte com pouca gordura

5

Tabela 3:

NOME DA MATÉRIA-PRIMA	% EM PESO				
	30	31	32*	33	34
Extrato seco de <i>Isochrysis</i> Taitiana		0,005	0,007		0,01
Extrato de <i>Isochrysis</i> (mal-todextrina:extrato seco 95:5 (p/p))	0,2			0,02	
Açúcar (sacarose)	ad 100				
Ácido cítrico	4,00	33,33	0,2		
Citrato de trissódio	0,26				
Fosfato de tricálcio	0,22				
Ácido ascórbico (vitamina C)	0,24	0,44			
Agente de nebulosidade e dióxido de titânio (E 171)	0,20				
Goma xantana (E 415)	0,072				
Carboximetil celulose de sódio (E 467)	0,064				
Pectina (E 440)	0,04				
Aroma de abacaxi seco por pulverização, incluindo corante amarelo tartrazina	0,40				
Aroma de framboesa seco por pulverização, inclu-		11,50			

indo corante vermelho					
Aroma de limão e lima			0,01		
D-Limoneno			0,005		
Maltodextrina (pó)		ad 100			
Aspartame		3,30			
Sacarose			8,0	6,0	5,0
Hesperetina (1% em peso em 1,2-propileno glicol)			0,05		
Floretin (1% em peso em 1,2-propileno glicol)			0,05		
Etilidroximetilfuranona			0,01 ppb		
Aroma de baunilha				0,10	0,125
Baunilha			15 ppb		
Maltol			350 ppb		
2,5-Dimetil-4-hidróxi-2H-furan-3-ona			3 ppb		
1,2-Propileno glicol			0,1		
Mistura de concentrados de suco de fruta				45,0	
Pó de soja				5,0	
logurte (1,5% em peso de gordura)					ad 100
Água			ad 100	ad 100	

*Carbonado após enchimento em garrafas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de obtenção de uma composição para influenciamento ou modificação
 - a) do crescimento de cabelo humano e/ou
 - b) pigmentação de pele e/ou cabelo humano,
- 5 compreendendo a etapa de extrair material celular de *Isochrysis sp.*, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*, com um extrator líquido selecionado do grupo consistindo em hexano, acetato de etila, etanol, água, metanol, isopropanol e misturas de dois ou mais desses extratores,
- 10 onde a extração compreende a) exposição do material celular ao extrator por até 24 horas em uma temperatura de não mais do que 50° C e b) remoção do material celular para obter um extrato, o extrato sendo a composição ou sendo processado mais para a composição, e onde preferivelmente o material celular de *Isochrysis sp.* e/ou *Isochrysis Taitiana* é obtível ou obtido
- 15 através de um método consistindo nas etapas:
 - 1) Cultivo de células de *Isochrysis sp.* e/ou preferivelmente de células de *Isochrysis Taitiana*,
 - 2) Coleta das células para obter material celular completamente ou substancialmente intacto,
 - 20 3) Opcionalmente lavagem do material celular da etapa 2 uma vez ou múltiplas vezes, para obter material celular lavado, substancialmente ou completamente intacto.
 - 4) Opcionalmente secagem por congelamento do material celular da etapa 2 e/ou etapa 3.
- 25 2. Método de acordo com a reivindicação 1, onde a extração compreende repetição das etapas a) e b) uma vez, duas vezes, três ou quatro vezes, e onde em cada etapa a) o material celular removido na respectiva etapa b) anterior é usado e os extratos das etapas b) são combinados.
- 30 3. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2 compreendendo ainda a etapa de ajuste da fototoxidez da composição para um índice de fototoxidez de menos do que 5.
4. Método de acordo com a reivindicação 3, onde para ajuste da

fototoxidez o extrato é tratado com carbono ativado em uma razão de extrato seco:carbono ativado de 3:1 a 1:20, preferivelmente 1:10 a 1:12, todos os pesos dados como pesos secos.

5 4, onde para extração material de célula é obtido na etapa b) de uma extração anterior com um extrator diferente.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, onde a composição compreende 0,001 a 20% em peso, preferivelmente 0,01 a 10% em peso e mais preferivelmente 0,1-5% em peso, de extrato seco da composição total.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações a 1 a 6, onde o material celular usado na primeira etapa a) é *Isochrysis sp.* seca por congelamento, preferivelmente *Isochrysis Taitiana*.

8. Composição para influenciamento ou modificação
15 a) do crescimento de cabelo humano e/ou
b) pigmentação de cabelo humano e/ou
c) pigmentação de pele humana,

a dita composição sendo obtível ou obtida através de um método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7.

20 9. Composição de acordo com a reivindicação 8

- para estimulação de crescimento de cabelo humano sem aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano, caracterizada pelo fato de que a composição é ou compreende um extrato obtido usando metanol como extrator, ou

25 - para estimulação do crescimento de cabelo humano e aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano, caracterizada pelo fato de que a composição é ou compreende um extrato obtido usando acetato de etila como extrator ou usando uma mistura de hexano/acetato de etila como extrator em material celular obtido após extração com metanol, ou

30 - para aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano sem estimulação do crescimento de cabelo humano, caracterizada pelo fato de que a composição é ou compreende um extrato obtido usando água co-

mo extrator, ou

- para inibição de crescimento de cabelo humano enquanto aumentando a pigmentação de pele e/ou cabelo humano, caracterizada pelo fato de que a composição é ou compreende um extrato obtido usando etanol como extrator em material celular obtido após extração com acetato de etila ou com hexano seguido por extração com acetato de etila, ou

- para inibição do crescimento de cabelo humano e diminuição da pigmentação de pele e/ou cabelo humano, caracterizado pelo fato de que a composição é ou compreendendo um extrato obtido usando etanol como extrator.

10. Produto cosmético, dermatológico ou terapêutico compreendendo uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 8 e 9, onde o produto é uma composição de cuidado da pele, tais como, por exemplo, emulsão, unguento, pasta, gel, solução alcoólica ou aquosa/alcoólica, óleo, *toner*, soro, pó, líquidos de embebedimento para lenços, incluindo a forma de apresentação como uma máscara, *mousse*, bastão, lápis, *roll-on*, *spray*, aerossol, composição de cuidado da pele (conforme acima descrito) como, por exemplo, composição de proteção solar, composição de autobronzeamento e/ou preparação pós-sol, composição de barbear ou pós-barba, desodorante e/ou antiperspirante, composição de remoção de cabelo, composição de cuidado do cabelo, tais como, por exemplo, xampú, condicionador, remédio de tratamento de cabelo, tônico para o cabelo, loção para o cabelo, enxágue para o cabelo, creme de estilização, composição para fazer cachos no cabelo, auxiliar de estilização, composição de clareamento, composição de coloração de cabelo, cosmético decorativo como, por exemplo, máscara, composição para aplicação oral tal como, por exemplo, na forma de comprimidos, drágeas, cápsulas, sucos, soluções, grânulos e gênero alimentício que provê beleza a partir de dentro.

11. Uso de uma composição sendo ou compreendendo um extrato de *Isochrysis* Taitiana para influenciamento ou modificação:

- a) de crescimento de cabelo humano e/ou
- b) pigmentação de cabelo humano e/ou

c) pigmentação de pele humana

onde o extrato é obtível ou obtido através de um método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7.

12. Uso de acordo com a reivindicação 11

- 5 - para estimulação de crescimento de cabelo humano sem aumento da pigmentação da pele e/ou cabelo humano,
- para estimulação do crescimento de cabelo humano e aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano,
- para estimulação de crescimento de cabelo humano e diminuição da pigmentação de pele e/ou cabelo humano,
- 10 - para aumento da pigmentação de pele e/ou cabelo humano sem estimulação de crescimento de cabelo humano,
- para inibição de crescimento de cabelo humano e aumento de pigmentação de pele e/ou cabelo humano, ou
- 15 - para inibição de crescimento de cabelo humano sem aumento de pigmentação de pele e/ou cabelo humano, ou
- para inibição de crescimento de cabelo humano e diminuição da pigmentação de pele e/ou cabelo humano.

T-ISO - METANOL (3 doadores)

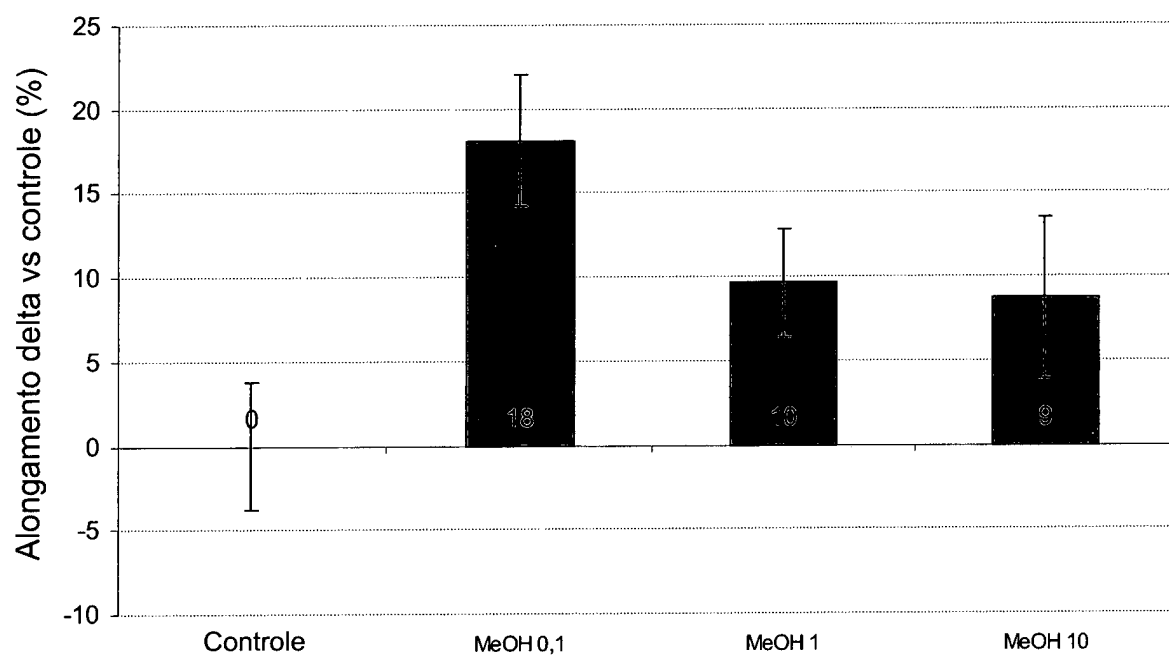


FIG. 1

2/7

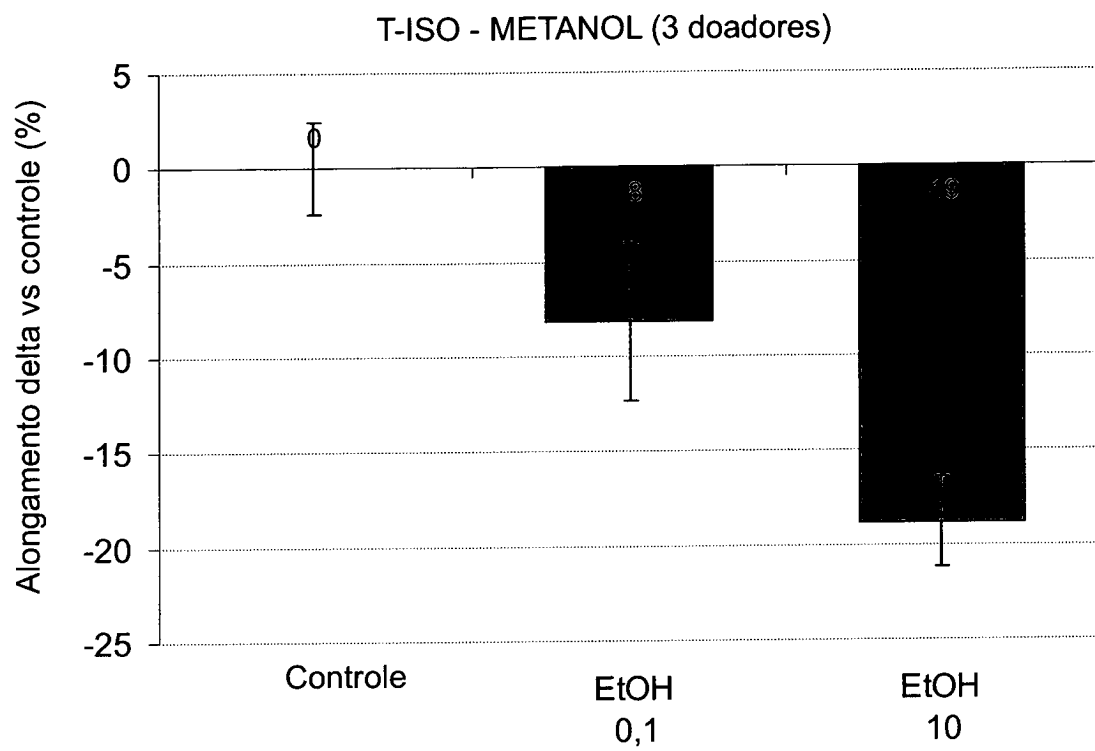


FIG. 2

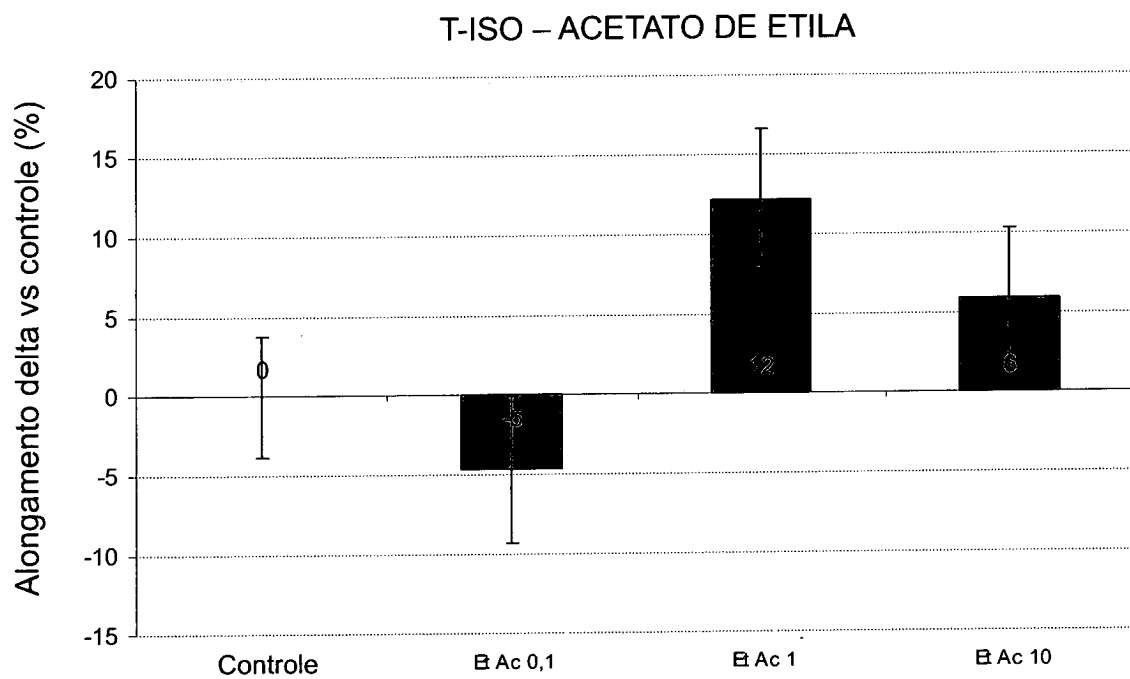


FIG. 3

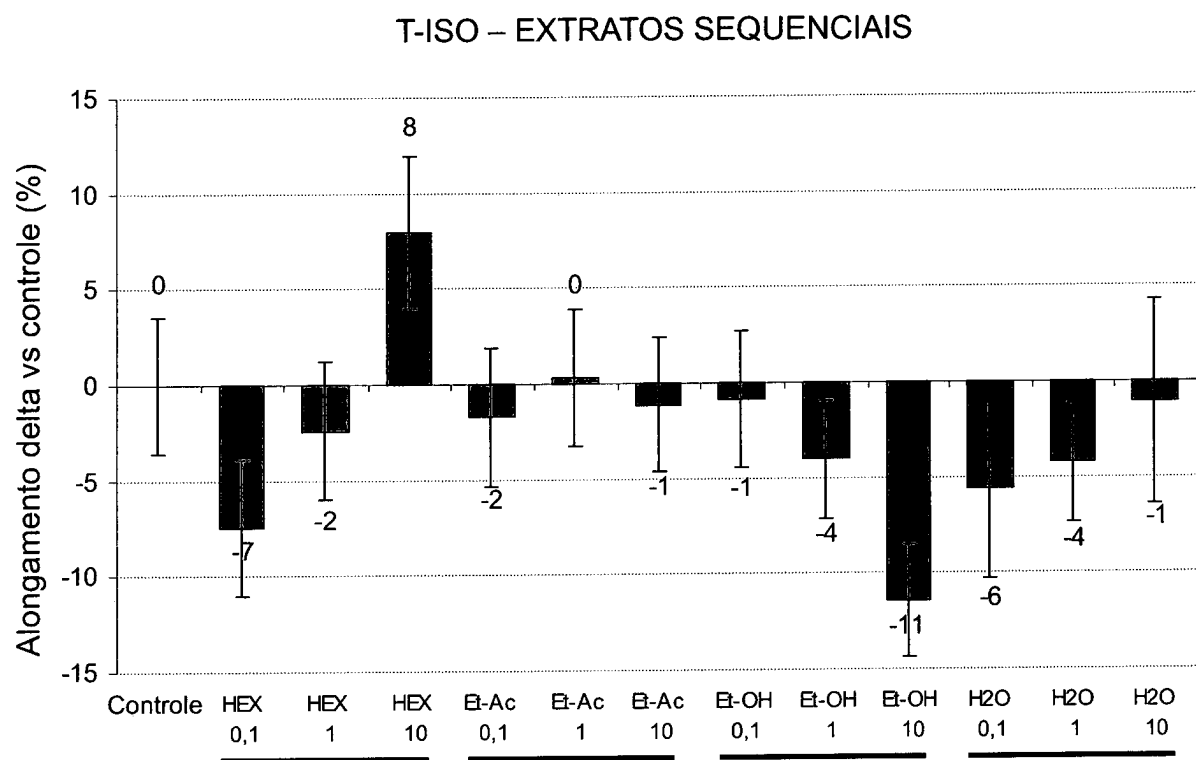


FIG. 4

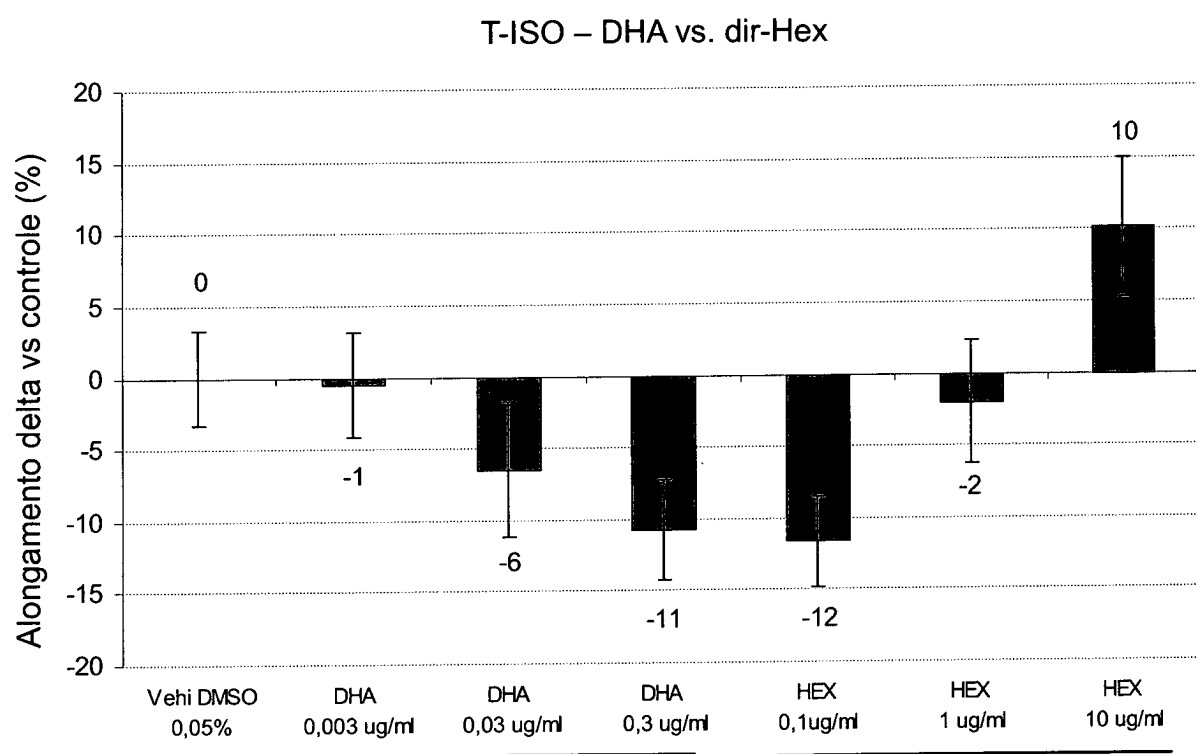


FIG. 5

T-ISO – Pigmentação de Folículos Pilosos

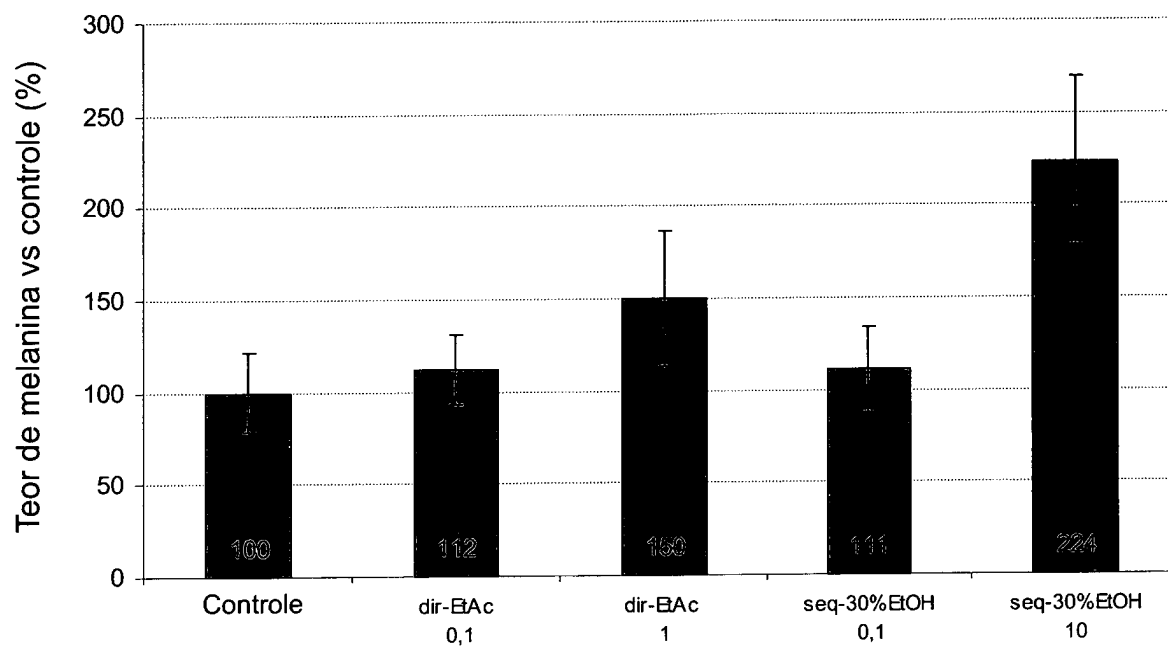


FIG. 6

T-ISO – Pigmentação de Folículos Pilosos

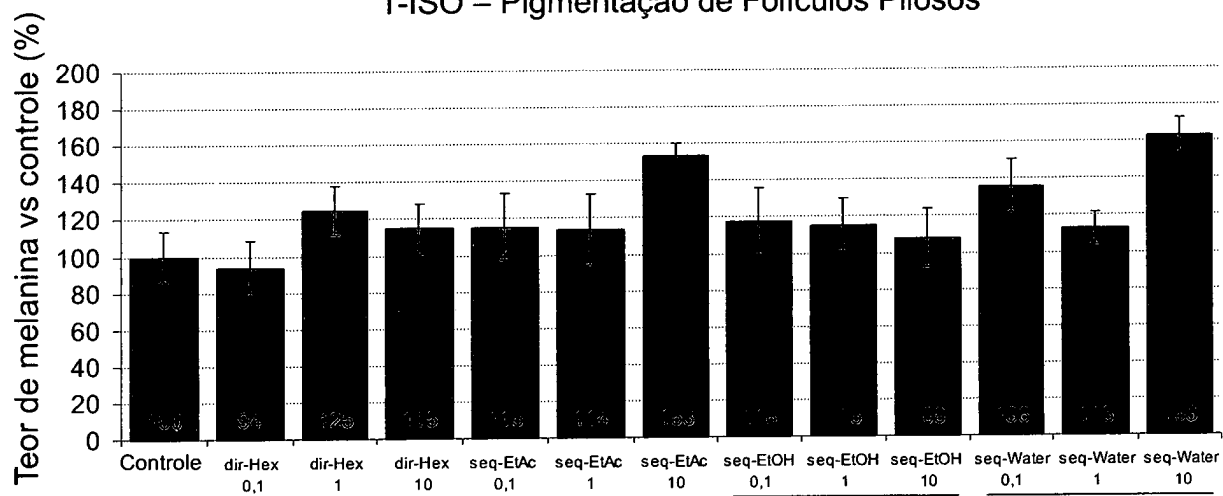


FIG. 7

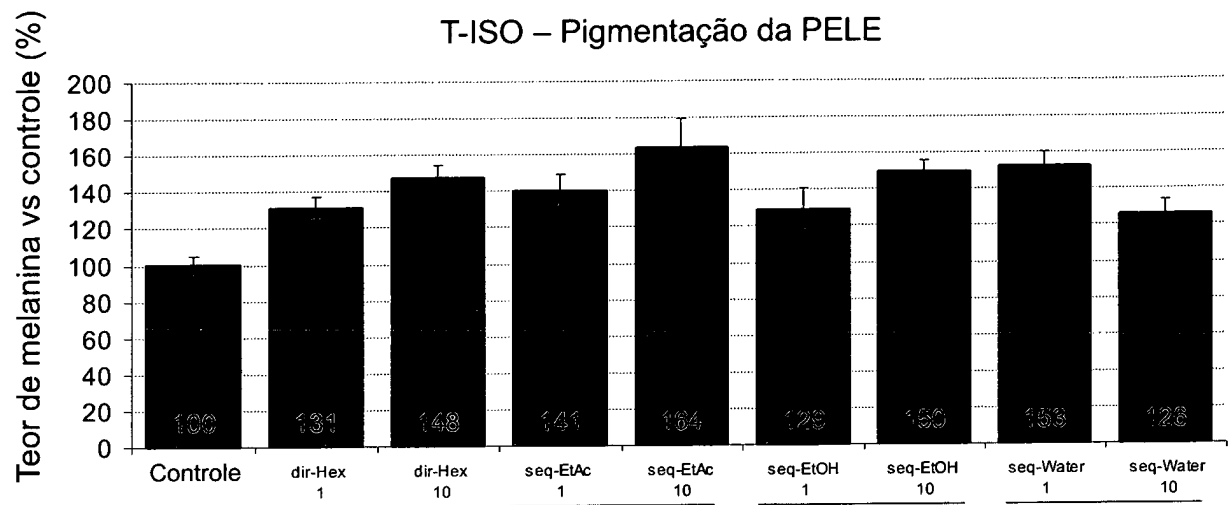


FIG. 8

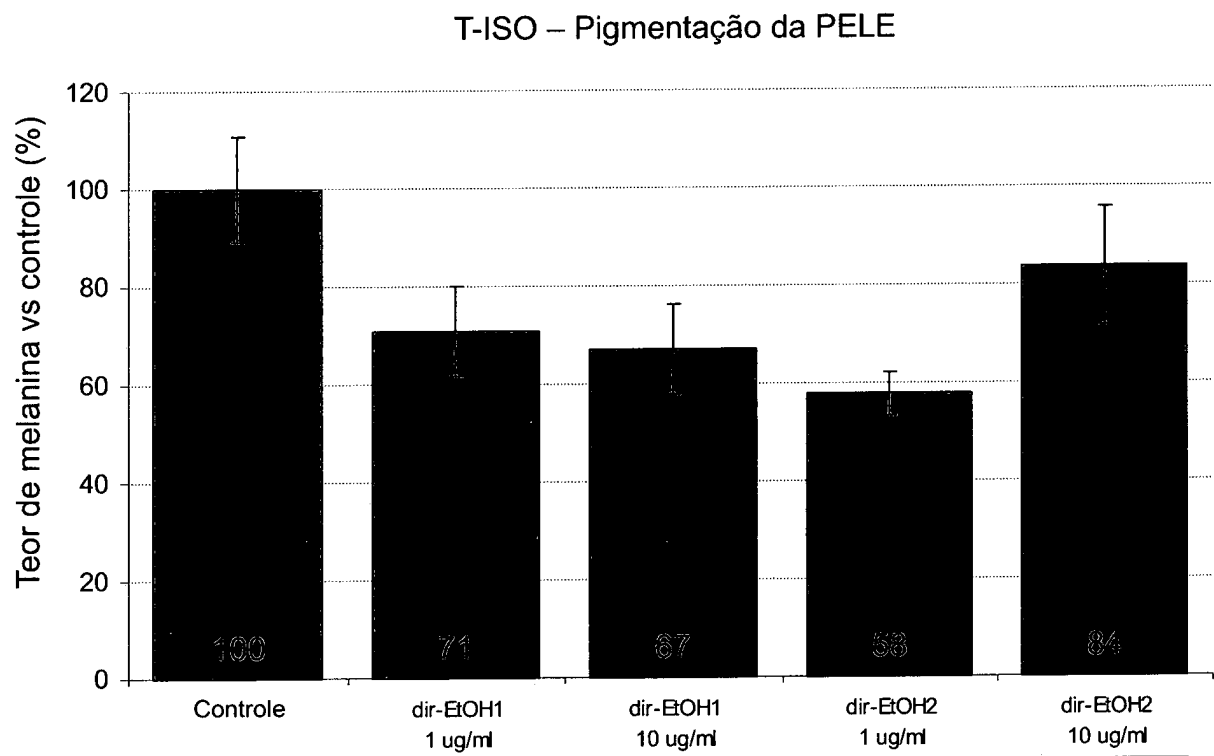


FIG. 9

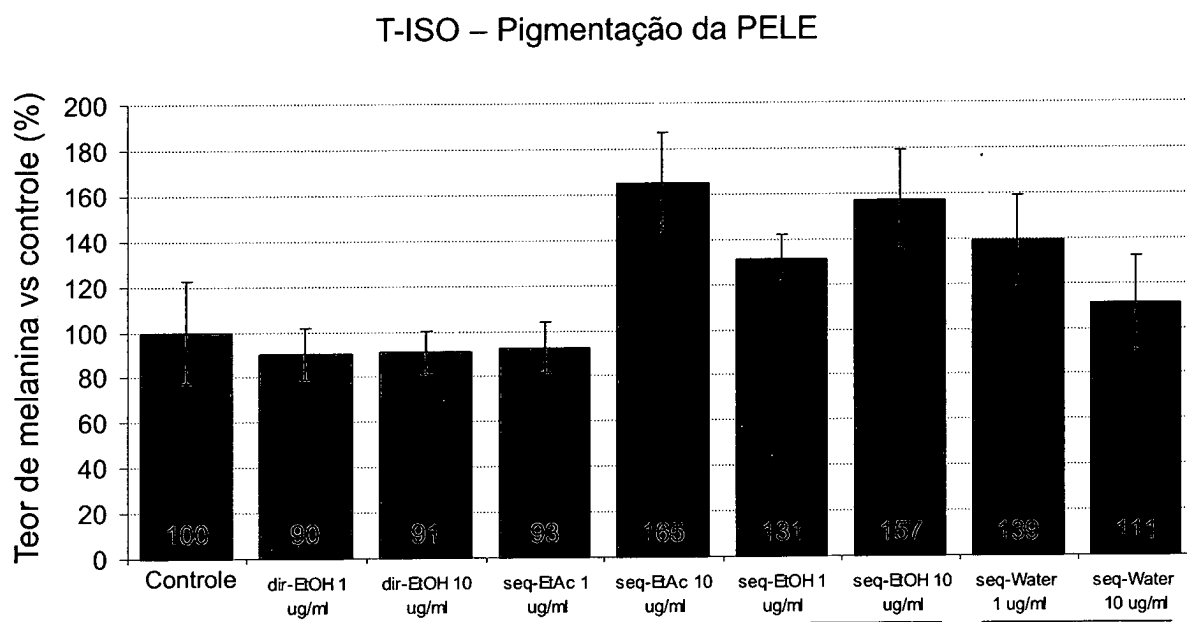


FIG. 10

RESUMO

Patente de Invenção: **"EXTRATOS DE ISOCHRYSIS SP".**

A presente invenção refere-se a extratos de *Isochrysis* sp., preferivelmente *Isochrysis* Taitiana, seus usos cosmético, dermatológico e/ou terapêutico e composições e produtos cosméticos, dermatológicos ou terapêuticos compreendendo tal extrato de *Isochrysis* sp., preferivelmente *Isochrysis* Taitiana.