

Isobutil amido tiazolil resorcinol: un inhibidor altamente eficaz de la tirosinasa humana

Mann T¹, Gerwat W¹, Wenck H¹, Roehm KH², Kolbe L^{1,1} ¹Research & Development, Beiersdorf AG, Hamburgo, Alemania, Institute of Physiological Chemistry, Philipps University, Marburgo, Alemania

INTRODUCCIÓN

El melasma, los léntigos actínicos y la hiperpigmentación posinflamatoria son problemas cosméticos importantes. Se han propuesto diversas estrategias para disminuir la producción indeseada de melanina en la piel humana. La tirosinasa es la enzima que reduce la velocidad de la producción de melanina y el objetivo obvio de los inhibidores de la hiperpigmentación. Debido a su modo de acción inmediato y reversible, los inhibidores selectivos de la tirosinasa se consideran los reductores de la hiperpigmentación más eficaces y también seguros.

Sin embargo, los inhibidores de la tirosinasa más conocidos carecen de eficacia clínica porque se seleccionaron con base en su capacidad para inhibir la tirosinasa de champiñón. Para superar este problema, expresamos la tirosinasa humana en un sistema celular de origen mamífero y utilizamos enzima recombinante para filtrar un conjunto de 50.000 compuestos químicamente diferentes para inhibir la tirosinasa humana. Los posibles prototipos de ingrediente activo se sometieron a un cribado sistemático clásico [1].

MATERIALES Y MÉTODOS

La actividad de la L-Dopa oxidasa de la tirosinasa humana se estudió con una modificación del método de Winder y Harris. En este ensayo, la MBTH (3-metil-2-benzotiazoline hidrazona) captura el producto de la reacción, la L-dopaquinona, para producir un tinte estable de color rosado que se puede cuantificar a 490 nm. Para obtener las curvas de respuesta por dosis, se probaron varias concentraciones de cada inhibidor con una concentración fija de sustrato (L-Dopa). Para calcular las concentraciones de inhibidor con una inhibición del 50% (valores de IC50), se ajustó una ecuación logística de cuatro parámetros a los perfiles.

Para determinar la eficacia *in vivo*, la pigmentación de las manchas por la edad se midió mediante espectrometría y fotografía digital. La importancia de los resultados se analizó usando la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.

RESULTADOS

Se determinó que el isobutil amido tiazolil resorcinol (Thiamidol) es un inhibidor muy potente de la tirosinasa humana [2]. En comparación con otros inhibidores bien conocidos de la pigmentación en la piel humana, el Thiamidol fue por lejos el compuesto más activo. Un análisis más profundo del modo de acción reveló que el Thiamidol es un inhibidor estrictamente competitivo de la enzima humana, que solo inhibe marginalmente la tirosinasa de champiñón. Los estudios *in vivo* mostraron una fuerte reducción de la visibilidad de las manchas por la edad después del tratamiento con fórmulas tópicas que contenían Thiamidol.

CONCLUSIÓN

El thiamidol es un inhibidor altamente eficaz de la tirosinasa humana (*in vitro*) y también un inhibidor altamente eficaz de la hiperpigmentación (*in vivo*). En comparación con ingredientes bien conocidos como la hidroquinona, la arbutina, el ácido kójico y el rucinol, el thiamidol es mucho más eficaz. Sin embargo, es necesario explorar todo el potencial de este compuesto en otros estudios.

Referencias

- [1] Mann T, Scherner C, Röhm KH, Kolbe L. Structure-Activity Relationships of Thiazolyl Resorcinols, Potent and Selective Inhibitors of Human Tyrosinase. Int J Mol Sci. 2018 Feb 28;19(3). pii: E690. doi: 10.3390/ijms19030690
- [2] Mann T, Gerwat W, Batzer J, Eggers K, Scherner C, Wenck H, Stäb F, Hearing VJ, Röhm KH, Kolbe L. Inhibition of Human Tyrosinase Requires Molecular Motifs Distinctively Different from Mushroom Tyrosinase. J Invest Dermatol. 2018 Jul;138(7):1601-1608. doi: 10.1016/j.jid.2018.01.019

EL THIAMIDOL ES, POR LEJOS, EL INHIBIDOR MÁS POTENTE DE LA TIROSINASA

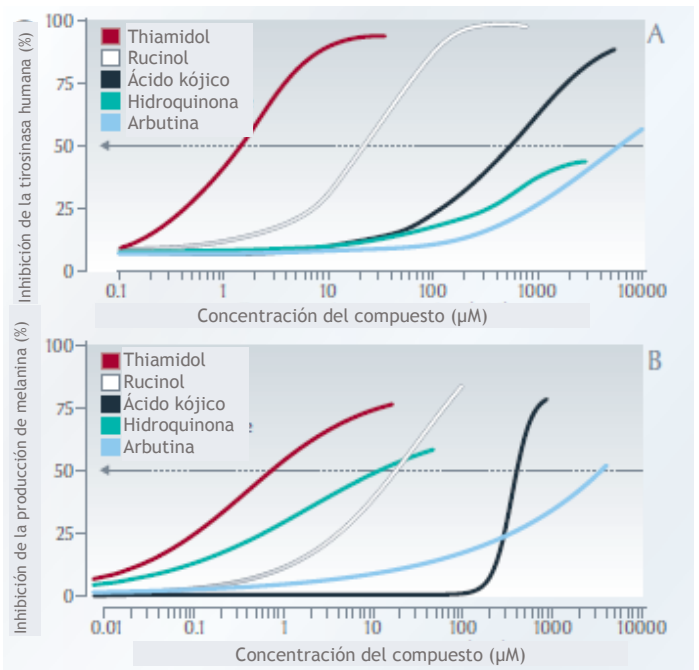


Figura 1(A): Inhibición de la actividad de la tirosinasa humana. El thiamidol, el rucinol, el ácido kójico, la hidroquinona y la arbutina se probaron usando tirosinasa humana purificada y varias concentraciones de los inhibidores según se indica. Los datos representan las medias de 3 experimentos independientes. (B) Inhibición de la producción de melanina en modelos de piel MelanoDerm. El contenido de melanina de cada modelo de piel se determinó después de 13 días de cultivo en presencia de varios inhibidores en las concentraciones mencionadas. Los datos representan las medias de 5 experimentos independientes.

EL THIAMIDOL SE AJUSTA PERFECTAMENTE EN EL SITIO ACTIVO DE LA TIROSINASA HUMANA

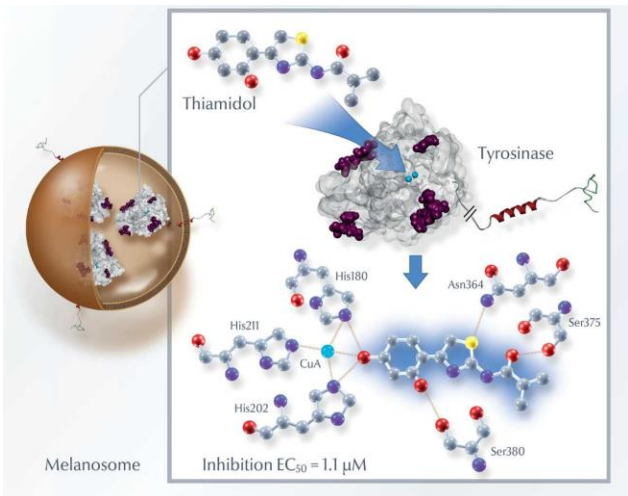


Figura 2: El thiamidol es un inhibidor competitivo de la tirosinasa humana. Casi todas las partes de la molécula interactúan con los residuos de aminoácidos en el punto de enlace del sitio activo y, en consecuencia, bloquean la actividad de la enzima.

EL THIAMIDOL ES UN INHIBIDOR ALTAMENTE SELECTIVO DE LA TIROSINASA HUMANA

Ingrediente activo	Inhibición IC50 de tirosinasa de champiñón	Inhibición IC50 de tirosinasa humana
Dimetoxitolil		
Propilresorcinol	0,2 µM	Sin Inhibición*
Feniletil resorcinol	0,5 µM	131 µM*
Hexilresorcinol	1,2 µM	94 µM*
Rucinol	0,6 µM	21 µM*
Thiamidol	108,1 µM*	1 µM*

Figura 3: Inhibición de la tirosinasa humana comparada con la inhibición de la tirosinasa de champiñón con diversos derivados del resorcinol. El thiamidol es un inhibidor potente de la tirosinasa humana, pero solo es un inhibidor débil de la tirosinasa de champiñón. Otros derivados del resorcinol son más selectivos para la tirosinasa de champiñón. (*Datos de BDF en archivo, #datos publicados)

EL THIAMIDOL INHIBE VISIBLEMENTE LA PRODUCCIÓN DE MELANINA

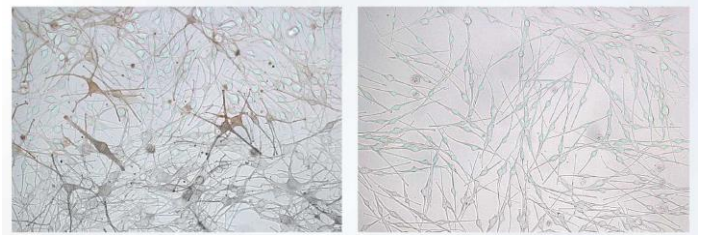


Figura 4. Impacto de la inhibición de la tirosinasa humana con thiamidol en melanocitos humanos primarios cultivados. Los melanocitos de donantes africanos se cultivaron durante 2 semanas sin (izq.) o con 5 µM (der.) de thiamidol en microplacas. Se tomaron fotografías en modo de campo brillante (escala gráfica = 200 µm).

EL THIAMIDOL ACLARA SIGNIFICATIVAMENTE LAS MANCHAS POR LA EDAD

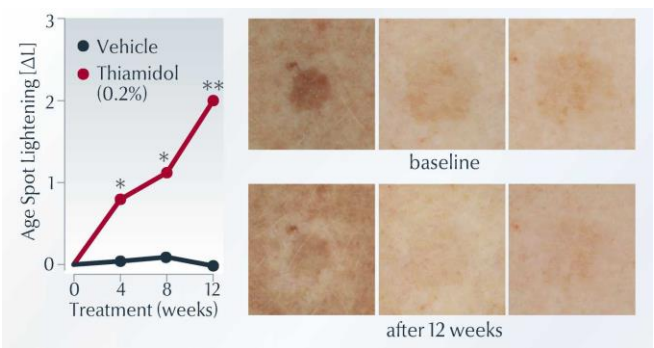


Figura 5: Efectos del thiamidol sobre las manchas por la edad en estudios clínicos. (A) Las manchas por la edad en la cara anterior de los antebrazos de cada sujeto se trataron dos veces al día durante 12 semanas con thiamidol al 0,2% (●) o con el vehículo solamente (●) usando un aplicador para unción. La eficacia se evaluó después de 4, 8 y 12 semanas. Los datos representan las medias ± EEM de 17 sujetos. *p<0,05, **p<0,01: estadísticamente significativo frente al control. (B) Monitoreo visual del aclaramiento de las manchas por la edad durante el tratamiento. Las fotografías se tomaron antes (arriba) y después de 12 semanas (abajo) de tratamiento. Las imágenes muestran 3 manchas por la edad representativas (escala gráfica = 5 mm).