

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 404 165**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 8/99</b>	(2006.01)	<b>A61Q 19/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 35/74</b>	(2006.01)	<b>A61Q 5/00</b>	(2006.01)
<b>A61Q 15/00</b>	(2006.01)	<b>A61Q 17/00</b>	(2006.01)
<b>C12P 1/04</b>	(2006.01)	<b>A61K 8/60</b>	(2006.01)
<b>A61P 31/04</b>	(2006.01)	<b>A61Q 3/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 17/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 17/02</b>	(2006.01)		
<b>A61P 17/10</b>	(2006.01)		
<b>A61P 17/08</b>	(2006.01)		
<b>A61Q 11/00</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2008 E 08153220 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013 EP 1974720**

54 Título: **Utilización de una fracción lipopolisacáridica de vitreoscilla filiformis como agente para estimular la síntesis de péptidos antimicrobianos de la piel**

30 Prioridad:

**26.03.2007 FR 0754039**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**24.05.2013**

73 Titular/es:

**L'OREAL (100.0%)  
14, RUE ROYALE  
75008 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

**MAHE, YANN y  
MARTIN, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 404 165 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Utilización de una fracción lipopolisacáridica de *Vitreoscilla filiformis* como un agente para estimular la síntesis de péptidos antimicrobianos de la piel

- 5 La presente invención se refiere a la utilización del lípido A de *Vitreoscilla filiformis*, o de una fracción específica de *Vitreoscilla filiformis* que comprende su lípido A, para estimular la síntesis de péptidos antimicrobianos de la piel.
- La piel humana está constituida de dos compartimentos, a saber un compartimento superficial, la epidermis, y un compartimento profundo, la dermis.
- 10 La epidermis está compuesta principalmente de tres tipos de células que son los queratinocitos (mayoritarios), los melanocitos y las células de Langerhans, que desempeñan un papel primordial en la respuesta inmunitaria y en particular en la presentación antigénica.
- La dermis proporciona a la epidermis un soporte sólido. Es igualmente su elemento alimentador. Está principalmente constituida por fibroblastos y por una matriz extracelular. Se encuentran en ella también unos leucocitos, unos mastocitos y unos macrófagos tisulares. Finalmente, la dermis está atravesada por unos vasos sanguíneos y unas fibras nerviosas.
- 15 La piel constituye una barrera contra las agresiones externas, en particular químicas, mecánicas, en este sentido, un cierto número de reacciones de defensa contra los factores medioambientales (clima, rayos ultravioletas, tabaco, poluciones, etc.) y/o los xenobióticos (como por ejemplo algunos medicamentos) que se producen a su nivel. Además, la piel es el foco de reacciones alérgicas tal como se observa en los casos de eczemas de contacto o de eczemas atópicos.
- 20 Se sabe que las células epidérmicas son capaces de responder a unas agresiones externas microbianas (bacterianas o fúngicas) produciendo unos péptidos y unas proteínas con actividad anti-microbiana.
- Estos péptidos y proteasas de defensa (entre ellos las beta defensinas, la ARNs 7, la psoriasina, véase el artículo "Antimicrobial peptides in human skin" de Schröder *et al.* Mechanisms of epithelial defense, Chem Immunol Allergy, 2005, vol 86 p. 22-41) son normalmente producidos por las células de la epidermis después del contacto con unos agentes patógenos intactos y vivos.
- 25 En condiciones normales, esta producción de péptido es suficiente para limitar la proliferación de microorganismos sobre la piel, evitando así que sea lesionada o infectada.
- Sin embargo, sucede a veces que estos sistemas no son suficientes para limitar la proliferación bacteriana y se observan entonces infecciones o sepsis de la piel y/o de las mucosas epiteliales.
- 30 Se entiende entonces el interés que existe de poder estimular este primer sistema de defensa natural a fin de restablecer una homeostasia natural, en particular en situaciones en la que la función de barrera es deficiente, ya sea parcialmente (pieles secas, atopia, etc.) o totalmente (quemaduras, heridas, dermoabrasión, tratamiento de exfoliación).
- 35 Se busca así imitar la actividad de las bacterias enteras sobre la piel con un compuesto aplicado directamente sobre la piel, la utilización de un compuesto mimético en lugar de un microorganismo vivo permite evitar cualquier riesgo de proliferación bacteriana indeseable.
- 40 Por otro lado, se sabe que los lipo-poli-sacáridos (LPS) de las membranas externas de *Escherichia coli* son capaces de imitar algunos efectos de la bacteria entera para estimular la respuesta de las células inmunitarias a través, en particular, de la producción de citoquinas denominadas pro-inflamatorias (como la interleucina 1, el TNF alfa) o también las C-C y CXC quimioquinas como la IL-8 y la MCP-1 para reclutar y activar ciertas poblaciones de células linfocitarias.
- 45 Paradójicamente, estos LPS de *E. coli*, si están activos por vía sistémica o por vía intravenosa sobre las células inmunitarias, son muy poco activos, incluso inactivos, para activar directamente la primera barrera de defensa cutánea (es decir los queratinocitos). Así, parecen ineficaces para inducir los sistemas de defensa cutáneos superficiales contra los microorganismos.
- La solicitante ha puesto en evidencia ahora que una fracción específica de LPS, que comprende el lípido A de la bacteria filamentosa no fructificante, no fotosintética, *Vitreoscilla filiformis* tiene la capacidad de estimular la expresión de péptidos anti-microbianos de la piel por los queratinocitos. Al contrario de *E. coli*, esta bacteria no presenta ninguna actividad patógena.
- 50 Esta fracción LPS específica se evaluó después *in vitro* con respecto a una fracción equivalente de un LPS de *E. coli* (C14-C16) preparada en las mismas condiciones y a la misma concentración final (10 µg/ml) para su eventual propiedad para inducir específicamente la síntesis de los precursores (ARNm) de péptidos antibacterianos epidérmicos.

Se ha observado de esta forma, de manera sorprendente e inesperada que, comparada con el LPS de *E. coli*, la fracción específica de lípido A de *Vitreoscilla filiformis*, a las mismas concentraciones y en las mismas condiciones experimentales, era capaz de estimular más eficazmente el inicio preventivo de los sistemas de defensa cutáneos, en particular anti-bacterianos.

5 Así, esta fracción tiene como propiedad biológica comportarse como un "señuelo" que activa los sistemas de defensa cutánea sin producir los inconvenientes relacionados con la actividad intrínseca de un agente patógeno o de una bacteria completa.

10 Se han descrito por la solicitante diversos extractos de *Vitreoscilla filiformis* dotados de propiedades inmunoestimulantes no específicas, con vistas a una utilización cosmética o farmacéutica, en particular en el tratamiento de los signos cutáneos del envejecimiento. Es el caso de las solicitudes EP 0 604 631 y EP 0 765 667 que utilizan, respectivamente, unos extractos de bacterias filamentosas no fructificantes, y una fracción de estas bacterias rica en ribosomas obtenida por centrifugación de la biomasa y diálisis del sobrenadante obtenido.

15 La solicitud EP 0 876 813 describe una fracción inmunoestimulante obtenida a partir del medio de cultivo de estas bacterias. La solicitud WO 94/02158 divulga la utilización de envolturas de bacterias o de fracciones, en particular de LPS, obtenidas a partir de dichas envolturas como agente estimulante del sistema inmunitario.

La solicitud EP 1 531 158 describe la utilización del lípido A para reforzar las defensas inmunitarias cutáneas.

Finalmente, la solicitud EP 1 400 237 describe un activador que puede ser un extracto total de *Vitreoscilla filiformis* para mejorar la resistencia de la piel contra los efectos no específicos de la activación del complemento.

20 La presente invención se refiere a la utilización de lípido A de la bacteria filamentosa no fructificante, no fotosintética, *Vitreoscilla filiformis* como agente inductor de la expresión de péptidos anti-microbianos de la piel. El lípido A es un constituyente de la fracción lipopolisacáridica (LPS).

25 La cepa bacteriana *Vitreoscilla filiformis* (cepa depositada en la ATCC 15551) se utiliza actualmente por la solicitante para la fabricación de una biomasa introducida en unos productos cosméticos. El procedimiento de preparación de esta biomasa comprende el cultivo en continuo de las bacterias en medio estéril oxigenado, en presencia de sales minerales y de azúcares; la extracción, y después la centrifugación del medio de cultivo que comprende las bacterias, para obtener una biomasa puesta en frascos y después esterilizada. La ventaja de trabajar en continuo, y por lo tanto a un índice de crecimiento  $\mu$  constante, es la garantía de un estado fisiológico constante también en sí. El estallido de las células resultante de la esterilización provoca una decantación de la biomasa en un lodo que contiene esencialmente unas membranas celulares y unas proteínas coaguladas y que contienen aproximadamente el 70% en peso de LPS, y en un sobrenadante que comprende el citoplasma y que contienen aproximadamente el 30% del peso de LPS, conteniendo la bacteria entera (en peso seco) aproximadamente el 10% de LPS. Una biomasa homogénea está reconstituida por agitación antes del uso.

Clásicamente, el procedimiento de preparación de una fracción LPS se puede realizar según unas técnicas publicadas.

35 A título de ejemplo, se puede citar la técnica de referencia denominada técnica de Westphal *et al.* (fenol/cloroformo/éter de petróleo) de 1952 o bien la técnica de Galanos *et al.*, 1969, (fenol:agua) o también la técnica derivada de Westphal: Westphal & Jann [Methods Carbohydr. Chem. 5 (1965) 83], la técnica de Galanos *et al.* [Eur. J. Biochem. 9 (1969) 245], la de Ni Eidhin y Mouton [FEMS Microbiol. Lett. 110 (1993) 133] y la de Nichols [Infect. Immun. 62(1994) 3753].

40 Todas estas técnicas son aplicables para extraer un LPS.

Sin embargo, es importante precisar que estas técnicas no permiten obtener unas fracciones muy purificadas de LPS, al contrario que la técnica indicada a continuación.

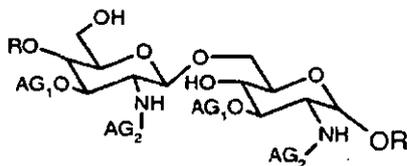
45 Para preparar una fracción específica que comprende el lípido A, se puede aplicar el método de Caroff M. según la solicitud de patente WO2004/062690 titulada "Novel method for isolating endotoxins". Este método utiliza una mezcla de ácido isobutírico y de amoníaco en disolución acuosa molar en una relación en volumen de 5/3, o una mezcla de ácido isobutírico y de trietilamina en disolución acuosa al 10% en una relación en volumen de 5/3, después se agita la mezcla durante 10 minutos a temperatura ambiente y después se filtra y/o centrifuga a 3000 g durante 15 minutos a 4°C. El disolvente residual se elimina después mediante evaporación al vacío.

El lípido A se caracterizó después de haber sido aislado a partir de una cepa de *Vitreoscilla filiformis* (EP 1 531 158).

50 El lípido A de las bacterias Gram<sup>-</sup> es un dímero de glucosamina portador por condensación, sobre sus grupos hidroxilos situados en las posiciones 3 y 3', así como sobre sus grupos amino, situados en las posiciones 2 y 2', de ácidos grasos más o menos insaturados e hidroxilados que pueden ellos mismos ser esterificados, sobre sus grupos hidroxilos, por otros ácidos grasos. Estos son los ácidos grasos que permiten el anclaje del lípido A en la membrana externa de la célula, que es de naturaleza fosfolipídica. Además, su naturaleza (de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>) y su posicionamiento

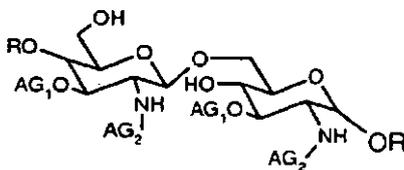
sobre las glucosaminas, que determinan la actividad biológica y la toxicidad para una gran parte de los lípidos A y por lo tanto de los LPS.

El lípido A según la invención presenta la estructura siguiente: (a) los compuestos de fórmula (I):



- 5 en la que:
- AG<sub>1</sub> designa un grupo 3-hidroxidecanoilo
- AG<sub>2</sub> designa un grupo 3-dodecanoiloxidecanoilo,
- en la que R designa un átomo de hidrógeno o un grupo PO(OR')<sub>2</sub>, designando R' un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado, saturado o insaturado, de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o un grupo fenilo o bencilo, y
- 10 (b) en el caso en el que R designa un grupo PO(OH)<sub>2</sub> en la fórmula (I) anterior, de una sal inorgánica del compuesto de fórmula (I), o de una sal de amina primaria, secundaria o terciaria del compuesto de fórmula (I), o de una sal de fosfoetanolamina del compuesto de fórmula (I),
- entendiéndose que, cuando varios grupos R, respectivamente R', están presentes, estos son idénticos o diferentes entre sí.
- 15 La sal de amina del compuesto de fórmula (I) se puede seleccionar entre las sales de mono-, di- y trietanolamina, las sales de mono-, di- o tri-isopropanol-amina, el 2-amino-2-metil-1-propanol, el 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol y el tris(hidroximetil)amino metano.
- Las sales inorgánicas del compuesto de fórmula (I) pueden en particular ser unas sales de sodio, magnesio, potasio, zinc o calcio.
- 20 Por lípido A, se entiende así un lípido A tal como se ha definido anteriormente obtenido mediante síntesis química (ejemplo 1), un lípido A extraído de *Vitreoscilla filiformis* o también una fracción de *Vitreoscilla filiformis* enriquecida en lípido A, podría tratarse más particularmente de una fracción LPS específica.
- La cantidad de lípido A en la fracción LPS específica utilizable según la invención dependerá por supuesto del procedimiento de extracción aplicado, las fracciones LPS específicas enriquecidas en lípido A según la invención
- 25 comprenden al menos el 0,01% en peso de lípido A.
- Por piel, se entiende cualquier superficie del cuerpo, incluyendo la piel, las mucosas y semi-mucosas, el cuero cabelludo, así como sus anexos (uñas, pelos, cabellos, etc.).
- Por péptidos antimicrobianos, se entienden unos péptidos expresados en particular por los queratinocitos durante su puesta en contacto con unos agentes patógenos microbianos, algunos de estos péptidos se han descrito por Schröder *et al.* en Antimicrobial peptides in human skin y comprenden las beta-defensinas, entre las cuales la Human β-Defensin-1, Human β-Defensin-2, Human β-Defensin-3, Human β-Defensin-4, la Catelicidina LL-37, la Antileucoproteasa inhibidora de la Serina Proteasa, la elafina, la dermcidina, la adrenomedulina, la lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, la RNasa 7. La S100 A7 (o psoriasina) pertenece también a estos péptidos con actividad antimicrobiana capaces de interferir con la proliferación de agentes patógenos bacterianos.
- 30 Las defensinas son unos péptidos antimicrobianos activos sobre las bacterias, los hongos y los virus (Harder J *et al.*, Nature 387: 861, 1997; Frohm M *et al.*, J Biol Chem 272: 15258-15263, 1997; Gropp R *et al.*, Hum Gene Ther 10: 957-964, 1999). Estos péptidos son producidos por los queratinocitos de la piel y algunas células de las mucosas, pueden destruir la membrana de los microbios objetivo y/o penetrar su membrana, interfiriendo entonces con las funciones intracelulares de microorganismos patógenos. La β-defensina 2 y la catelicidina (LL-37) son unas defensinas inducibles a nivel de la piel y se produce entonces su aumento durante inflamaciones o estrés cutáneos (Harder J *et al.*, Nature 387: 861, 1997; Frohm M *et al.*, J Biol Chem 272: 15258-15263, 1997). Se conocen actualmente más de una docena de defensinas identificadas a nivel de los genes DEFB1; DEFB2; DEFB124; DEFB107, DEF alfa6; DEFB106; DEFB122; DEFB105, DEFB103; DEFB108, DEF alfa4; DEFB125; DEFB124; DEFB104 (denominada también a veces DEFB4).
- 35 La invención se refiere a la utilización del lípido A de *Vitreoscilla filiformis* caracterizada porque está constituido de un compuesto seleccionado entre:
- 40
- 45

(a) los compuestos de fórmula (I):



en la que:

AG<sub>1</sub> designa un grupo 3-hidroxidecanoilo

5 AG<sub>2</sub> designa un grupo 3-dodecanoiloxidecanoilo,

en la que R designa un átomo de hidrógeno o un grupo PO(OR')<sub>2</sub>, designando R' un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado, saturado o insaturado, de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo fenilo o bencilo, y

10 (b) en el caso en el que R designa un grupo PO(OH)<sub>2</sub> en la fórmula (I) anterior, de una sal inorgánica del compuesto de fórmula (I), o de una sal de amina primaria, secundaria o terciaria del compuesto de fórmula (I), o de una sal de fosfoetanolamina del compuesto de fórmula (I), para la preparación de una composición destinada a inhibir la proliferación de una flora microbiana, en particular, bacteriana cutánea indeseable, para prevenir y/o tratar las infecciones y sobreinfecciones microbianas de la piel, tal como se define mediante las reivindicaciones.

15 Estas infecciones o sobreinfecciones son unos trastornos cutáneos en particular relacionados con el desarrollo de microorganismos patógenos cutáneos seleccionados entre las bacterias, levaduras o hongos inferiores (fungi) tales como, por ejemplo, las bacterias siguientes: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Clostridium pefringens*, *Clostridium difficile*, *Gardnerello vaginalis*, *Propionibacterium acnés*, *Klebsiella species*, *Streptopyogenes* o las levaduras patógenas tales como *Catulida albicans*, *Malassezia furfur*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton imerdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton yaouiulei*, *Tinea capitis*, *Tinea cotporis*, o unos fungi tales como *Aspergillus sp*.

20 Los trastornos cutáneos pueden ser unas complicaciones infecciosas de los trastornos dermatológicos, en particular el acné; unas complicaciones infecciosas durante la cicatrización; unas dermatofitosis; unas candidiasis; unas vaginosis; unas onicomiosis; unas tiñas del cuero cabelludo, del cuerpo; unos trastornos relacionados con terapias con unos antibióticos o unos antimicóticos, o acarreados por unas irregularidades hormonales; unas polidermatitis; unas erisipelas; unas dermatitis seborreicas.

25 En particular, las superinfecciones pueden ser:

- las dermatitis atópicas sobreinfectadas, el eczema impetiginizado, el acné inflamatorio sobreinfectado, el herpes sobreinfectado;

- unas sobreinfecciones de las heridas y lesiones cutáneas, sea cual sea su origen, en particular durante la cicatrización, y seleccionadas entre las úlceras, la heridas, las quemaduras;

30 - las dermatofitosis, tales como la tiña del cuero cabelludo, la tiña del cuerpo, el pie de atleta, el eczema marginado de Hebra, el herpes circinado;

- las candidiasis, tales como las candidiasis de las mucosas, las candidiasis vaginales, las candidiasis interdigitales, las candidiasis asociadas a profesiones de riesgo, o a la diabetes;

- las polidermatitis tales como el impétigo, las foliculitis superficiales.

35 Esta utilización se puede destinar también para mantener y/o restaurar una ecoflora normal. La flora microbiana saprofita o ecoflora cutánea presenta un factor mayor de protección inmunitaria de la piel.

Cualquier desequilibrio en la población de esta flora conlleva una deficiencia inmunitaria funcional y, muy frecuentemente, la ocupación del territorio cutáneo por una flora patógena.

40 La flora cutánea está estimada en 10<sup>6</sup> células/cm<sup>2</sup> (Leyden JJ *et al.*, Soc Inves Dermatol 88: 65-69. 1987), y está principalmente constituida por unas corinebacterias (*Corynebacterium*, *Brevibacterium* y *Propionibacterium*) y unos estafilococos.

45 También se encuentran *Acinetobacter* y *Micrococcus*, pero con un grado menor, con la flora fúngica que comprende principalmente el género *Malassezia* (Noble WC, Micobiol Human Skin, London. ed Saunders Company Ltd, 1974; Leeming JP *et al.*, J Clin Microbiol 25: 2017-2019. 1987; Leeming JP *et al.*, J Applied Bacteriol 67: 47-52, 1989; Rudolf R *et al.*, J Am Acad Dermatol 1989).

Cuando esta barrera ecológica de microorganismos es insuficiente (tal como en los eczemas atópicos), reducida (en lactantes), incluso destruida (como después de la utilización abusiva de productos agresivos para la piel), cualquier microorganismo indeseable es entonces capaz de proliferar sobre la piel o incluso atravesarla, activando así unos mecanismos de defensas no específicos.

- 5 La presencia de ecoflora permite, por lo tanto, asegurar a la piel una línea de defensa ecológica oponiéndose a la implantación de microorganismos patógenos por un fenómeno de competición nutricional y por la secreción de sustancias con actividades enzimáticas y bactericidas.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a la utilización del lípido A de *Vitreoseilla filiformis* como agente de normalización de la flora cutánea.

- 10 Por normalizar la flora cutánea, se entiende mantener o restaurar un perfil normal de población de microorganismos cutáneos sobre la piel, el cuero cabelludo y/o las mucosas, es decir, una población de microorganismos correspondiente a la presente sobre una piel sana, un cuero cabelludo sano o una mucosa sana.

La utilización según la invención se refiere a la preparación de una composición que comprende al menos el lípido A de *Vitreoseilla filiformis*, estando dicha composición destinada a mantener y/o restaurar una ecoflora cutánea normal.

- 15 En particular, la utilización según la invención se puede destinar:

- a prevenir y/o limitar los estados casposos. A título de ejemplo, el extracto según la invención se podrá formular en una composición tal como un champú, una loción o un tónico capilar, una mascarilla para dejar reposar sobre el cuero cabelludo;

- 20 - a la preparación de una composición destinada a la higiene bucal. A título de ejemplo, el extracto según la invención se podrá formular entonces en una composición tal como una pasta dentífrica, una pasta para masticar, una disolución bucal de aclarado de la boca;

- 25 - a prevenir y/o limitar los estados seborréicos, en particular, en el caso de la proliferación de microorganismos patógenos cutáneos que mantienen el fenómeno de la piel y/o del cuero cabelludo graso. A título de ejemplo, el extracto según la invención se podrá entonces formular en unas cremas de cuidado tales como unas cremas astringentes para pieles grasas, unas composiciones limpiadoras para el cuerpo, la cara, el cabello, tales como unos champús anti-seborréicos;

- 30 - a la preparación de una composición destinada a la higiene corporal, en particular íntima, o capilar. A título de ejemplo, el extracto según la invención se podrá formular entonces en unas composiciones limpiadoras para el aseo íntimo o para el cuerpo, la cara, el cabello o el cuero cabelludo, tales como jabones, geles de ducha, geles íntimos, geles limpiadores faciales, en unos productos de cuidado tales como unos geles antibacterianos para después del afeitado, leche facial o para el cuerpo;

- a prevenir y/o limitar los malos olores relacionados con la proliferación de microorganismos cutáneos en las zonas confinadas del cuerpo como, por ejemplo, la zona de las axilas o los pies.

- 35 Para ese tipo de aplicación, el extracto según la invención se podrá formular entonces en unas composiciones desodorantes.

La utilización según la invención se puede llevar a cabo de tal manera que el lípido A sea aplicado tópicamente sobre la piel con o sin pelo, el cuero cabelludo, las mucosas y/o semi-mucosas.

Las composiciones orales utilizables según la invención presentan preferiblemente un soporte ingerible.

- 40 Para la ingestión, son posibles numerosas formas de realización de composiciones orales y en particular de complementos alimenticios. Su formulación se realiza mediante los procedimientos habituales para producir grageas, cápsulas de gel, geles, emulsiones, comprimidos, cápsulas. En particular, el o los principios activos según la invención se pueden incorporar en cualquier otra forma de complementos alimenticios o de alimentos enriquecidos, por ejemplo unas barras alimenticias, o unos polvos compactos o no. Los polvos pueden ser diluidos en agua, en soda, en productos lácteos o derivados de la soja, o ser incorporados en unas barras alimenticias.

- 45 Son convenientes, en particular, como soportes alimenticios o farmacéuticos, la leche, el yogur, el queso, las leches fermentadas, los productos fermentados a base de leche, los helados, unos productos a base de cereales fermentados, unos polvos a base de leche, unas fórmulas para niños y lactantes, unos productos alimenticios de tipo confitería, chocolate, cereales, unos alimentos para animales en particular domésticos, unos comprimidos, cápsulas de gel o tabletas, unos suplementos orales en forma seca.

- 50 Esta aplicación se puede realizar sobre cualquier mamífero, preferentemente el ser humano y los animales domésticos o de crianza.

Estas aplicaciones pueden ser ampliadas a cualquier composición destinada a tratamientos veterinarios. Podrán también estar más específicamente destinadas a la prevención de las proliferaciones microbianas, en particular bacterianas. A título de ejemplo sin carácter limitativo, puede tratarse de una aplicación sobre la ubre de las vacas y, de manera general, de cualquier mamífero de producción láctea.

5 Esta utilización veterinaria permitirá en particular tratar y/o prevenir unos trastornos ligados a unas infecciones estafilocócicas, estreptocócicas y micóticas.

Para todas estas utilizaciones, es ventajoso utilizar el lípido A de *Vitreoscilla filiformis* en asociación con unos probióticos y/o prebióticos.

10 Los microorganismos probióticos convenientes para la invención son unos microorganismos que pueden ser administrados sin riesgos para el animal o el ser humano.

15 En el sentido de la presente invención, se entiende por "microorganismo probiótico" (o también probiótico), un microorganismo vivo que, cuando se consume en cantidad adecuada, tiene un efecto positivo sobre la salud de su hospedante "Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotic in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 6 de octubre de 2001", y que puede en particular mejorar el equilibrio microbiano intestinal.

Según una variante de la invención, este microorganismo se aplica de una forma aislada, es decir no mezclada a uno o varios compuestos susceptibles de estar asociado(s) en su medio de origen.

20 Los microorganismos convenientes para la invención se pueden seleccionar en particular entre los ascomicetos tales como *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Kluyveromyces*, *Torulasporea*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia*, *Aspergillus* y *Penicillium*., bacterias del género *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Lactobacillus*, y sus mezclas.

25 Como ascomicetos muy particularmente convenientes para la presente invención, se pueden citar en particular *Yarrowia lipolytica* y *Kluyveromyces lactis*, así como *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulasporea*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida* y *Pichia*.

En lo referente a los microorganismos probióticos, se utilizan generalmente los géneros bacterianos y de levadura siguientes:

\* las bacterias lácticas: que producen por fermentación azúcar del ácido láctico. Según su morfología, se dividen en dos grupos:

30 \* *Lactobacillus species*: *Lactobacillus acidophilus*: *amyovorus*, *casei*, *ramnosus*, *brevis*, *crispatus*, *delbrueckii* (*sub. sp bulgaricus*, *lactis*), *fermentum*, *helveticus*, *gallinarum*, *gasseri johnsonii*, *paracasei*, *plantarum*, *reuteri*, *salivarius*, *alimentarius*, *curvatus*, *casei sub. sp. casei*, *sake*

35 \* *Gocci*: *Enterococcus* (*faecalis*, *faecium*), *Lactococcus lactis* (*sub. spp lactis* o *cremoris*), *Leuconostoc mesenteroides sub. sp dextranicum*, *Pediococcus acidilactici*, *Sporolactobacillus inulinus*, *Streptococcus saivarius sub. sp. Thermophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Staphylococcus caniosus*, *Staphylococcus xylosus*

\* Las bifidobacterias o *Bifidobacterium species*: *Bifidobacterium adolescentis*, *animalis*, *bifidum*, *breve*, *lactis*, *longum*, *infantis*, *pseudocatenulatum*

\* Las levaduras: *Saccharomyces* (*cerevisiae* o también *boulardii*),

40 \* Las otras bacterias esporuladas: *Bacillus* (*cereus var. toyo* o *subtilis*), *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Escherichia coli strain nissle*, *Propionibacterium freudenreichii*,

\* y sus mezclas.

Las bacterias y las bifidobacterias son los probióticos más frecuentemente utilizados.

45 Unos ejemplos específicos de microorganismos probióticos son *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Lactobacillus acidophilus* (NCFB 1748); *Lactobacillus amyovorus*, *Lactobacillus casei* (Shirota), *Lactobacillus rliamnosus* (cepa GG), *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus delbrueckii* (*sub. sp bulgaricus*, *lactis*), *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii* (CNCM 1-1225), *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus cuiratus*, *Lactobacillus casei sub. sp. casei*, *Lactobacillus sake* *Lactococcus lactis*, *Enterococcus* (*faecalis*, *faecium*), *Lactococcus lactis* (*sub. spp lactis* o *cremoris*), *Leuconostoc mesenteroides sub. sp dextranicum*, *Pediococcus acidilactici*, *Sporolactobacillus inulinus*, *Streptococcus salvarius sub. sp. Thermophilus*, *Streptococcus thermophilus*,

*Staphylococcus coniosus*, *Staphylococcus xylosus*, *Saccharomyces (cerevisiae* o también *boulardii*), *Bacillus (cereus* var. *toyo* o *subtilis*), *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Escherichia coli strain nissle*, *Propionibacterium freudenreichii*, y sus mezclas.

5 Los microorganismos pueden ser formulados en estado de polvos, es decir en forma seca, o en forma de suspensión o de disoluciones.

Más particularmente, se trata de microorganismos probióticos procedentes del grupo de las bacterias lácticas, como en particular las *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium*. A título ilustrativo de estas bacterias lácticas, se pueden citar más particularmente las *Lactobacillus jolmsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* o *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, y sus mezclas.

15 Las especies muy particularmente convenientes son las *Lactobacillus jolmsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium lactis* NCC 2818 respectivamente depositadas según el tratado de Budapest con el instituto Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15) los 30/06/92, 12/01/99, 15/04/99, 15/04/99, 07/06/05 bajo las designaciones siguientes CNCM 1-1225, CNCM 1-2116, CNCM 1-2168 y CNCM 1-2170 y CNCM 1-3446, y el género *Bifidobacterium longum* (BB536), y sus mezclas.

Los microorganismos y/o sus fracciones y/o metabolitos pueden ser formulados en un soporte apropiado en una cantidad equivalente a al menos  $10^3$  ufc/g, en particular a dosis que varían de  $10^5$  a  $10^{15}$  ufc/g, y más particularmente de  $10^7$  a  $10^{12}$  ufc/g de soporte.

20 Las composiciones para aplicación tópica o para administración oral según la invención comprenden generalmente de  $10^3$  a  $10^{12}$  ufc, en particular de  $10^5$  a  $10^{10}$  ufc y más particularmente de  $10^7$  a  $10^9$  ufc de microorganismos, en particular probióticos, por gramo de soporte.

El o los microorganismos pueden ser incluidos en la composición según la invención en una forma viva, semi-activa o inactiva, muerta.

25 Puede(n) ser también incluido(s) en forma de fracciones de componentes celulares o en forma de metabolitos. El o los microorganismo(s), metabolito(s) o fracción(es), puede(n) también ser introducido(s) en forma de un polvo liofilizado, de un sobrenadante de cultivo y/o, llegado el caso, en forma concentrada.

Según un modo de realización particular, los microorganismos son aplicados en forma inactiva, incluso muerta, en particular en las composiciones tópicas.

30 Por prebiótico, se entiende un componente alimenticio no digestible capaz de estimular de manera selectiva el crecimiento y/o la actividad de las bacterias probióticas habitualmente presentes en el colon para un efecto beneficioso sobre el organismo.

De manera general, los oligosacáridos son las principales fuentes de prebióticos.

35 Así, todos los FOS (Fructo Oligo Saccharidos) son unos prebióticos que estimulan el crecimiento de las bifidobacterias. La inulina y sus derivados, encontrados en la achicoria (*Ciichorium intybus*) y la alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) y en compuestos o en campanuláceas, son igualmente promotores de bifidobacterias. Los isomalto-oligosacáridos tales como la isomaltosa, en primer lugar, pero también la panosa, la isomaltotrealosa, la kojibiosa, etc. son todos excelentes estimulantes del crecimiento de bifidobacterias y de lactobacillus.

40 La utilización según la invención se revela más ventajosa cuando el lípido A de *Vitreoscilla filiformis* se administra en asociación con unos agentes de exfoliación o después de la aplicación de los agentes de exfoliación, para estimular las defensas endógenas de la piel por los queratinocitos.

45 Las exfoliaciones son unos medios bien conocidos para mejorar el aspecto y/o la textura de la piel y/o el cuero cabelludo, en particular mejorar la luminosidad y la homogeneidad del color y/o disminuir las irregularidades visibles y/o táctiles de la piel, y en particular para mejorar el aspecto de la superficie de la piel, para atenuar los lentigos actínicos, las marcas de acné o de varicela, así como para prevenir, atenuar o luchar contra los signos del envejecimiento cutáneo, y en particular para alisar las irregularidades de la textura de la piel, tales como las arrugas y las arrugas pequeñas.

50 Tienen como efecto quitar una parte superficial de la piel a tratar (epidermis y eventualmente una capa superficial de la dermis), mediante métodos químicos.

Una consecuencia del efecto de los agentes de exfoliación o descamantes es también la eliminación de una parte de la ecoflora natural de la piel. La utilización concomitante de la fracción LPS según la invención permite prevenir el desarrollo de una flora indeseable en el lugar de la ecoflora de la piel.

Por agente de exfoliación o agente descamante, se entiende cualquier compuesto capaz de actuar:

5 - bien directamente sobre la descamación favoreciendo la exfoliación, tales como: los ácidos monocarboxílicos saturados o insaturados, los ácidos dicarboxílicos saturados e insaturados, los ácidos tricarboxílicos saturados e insaturados; los alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos monocarboxílicos; los alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos dicarboxílicos; unos alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos tricarboxílicos; unos cetoácidos, unos alfa-cetoácidos, unos beta-cetoácidos de ácidos policarboxílicos, de ácidos polihidroximonocarboxílicos, de ácidos polihidroxibicarboxílicos, de ácidos polihidroxitricarboxílicos; y el ácido (3-hidroxi-2-pentilciclopentil)acético.

10 Como  $\alpha$ -hidroxiácidos preferidos, se pueden citar: el ácido glicólico, el ácido cítrico, el ácido láctico, el ácido tártrico, el ácido málico o el ácido mandélico.

Los  $\beta$ -hidroxiácidos preferidos se seleccionan entre: el ácido salicílico y sus derivados, en particular, el ácido n-octanoil-5-salicílico.

15 Como otros agentes exfoliantes, se pueden citar: los ácidos dioico, pirúvico, glucónico, glucurónico, oxálico, malónico, succínico, acético, gentísico, cinámico, azelaico; el fenol, la resorcina; la urea y sus derivados; las oligofucosas como en la patente EP 0 218 200; el ácido jasmónico y sus derivados como en las solicitudes de patente EP 1 333 022 y EP 1 333 021; el ácido tricloroacético; los retinoides tales como el retinol, el ácido retinoico; el adapaleno; el extracto de *Saphora japonica*; el resveratrol; así como sus sales y derivados, tales como las formas *cis* o *trans*, las mezclas racémicas, las formas dextrógiras o levógiras de los agentes antes citados.

20 - o bien sobre la enzimas implicadas en la descamación o la degradación de los corneodesmosomas, tales como las glicosidasas, la enzima quimotriptica del estrato córneo (SCCE), incluso otras proteasas (tripsina, de tipo quimotripsina) Se pueden citar en particular los agentes quelantes de las sales minerales tales como EDTA: el ácido N-acil-N,N',N'-etilendiaminotriacético; los compuestos aminosulfónicos y en particular el ácido (N-2-hidroxiethylpiperazin-N-2-etano)sulfónico (HEPES); los derivados del ácido 2-oxotiazolidin-4-carboxílico (procisteína); los derivados de ácidos alfa aminados de tipo glicina (tales como se describe en el documento EP 0 852 949, así como el metil-glicina-diacetato de sodio comercializado por BASF bajo la denominación comercial TRILON M<sup>®</sup>); la miel; los derivados de azúcar tales como la O-octanoil-6-D-maltosa, la O-linoleil-6-D-glucosa y la N-acetilglucosamina.

30 Como otros agentes descamantes utilizables en la composición según la invención, se pueden citar, los extractos de laminaria tales como la laminaria saccharina y la laminara ochrolenca, el trilactato de glicerol, los derivados siliciados de salicilato como en la patente EP 0 796 861, las sales de ácido 5-acil-salicílico, unos principios activos que tienen unos efectos sobre la transglutaminasa como en la patente EP 0 899 330, y un extracto de flor de *ficus opuntia indica* como Exfolactive<sup>®</sup> de Silab.

El experto en la materia sabrá definir la cantidad necesaria de agente descamante presente en la asociación según la invención para obtener el efecto buscado sobre la piel.

35 A título de ejemplo, el agente descamante podrá estar en una cantidad que va del 0,001 al 95% en peso con respecto al peso total de la composición, en particular del 0,01 al 30% en peso con respecto al peso total de la composición, preferiblemente del 0,01 al 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

Este lípido A de *Vitreoscilla filiformis* encuentra también unas aplicaciones ventajosas en la ingeniería de los modelos de piel.

40 Así, la invención se refiere también a la utilización del lípido A de *Vitreoscilla filiformis* para prevenir la proliferación microbiana en los cultivos celulares u organotípicos. Esta utilización puede venir en sustitución o en asociación con unos antibióticos naturales o sintéticos.

Tal utilización permite la preparación séptica de modelos de epidermis y/o de pieles o también la preparación séptica de los explantes de piel o unos injertos de cabello.

45 Los modelos de piel pueden ser epidermis generadas a partir de células epiteliales, queratinocitos, progenitores, células madre.

Podrá también, y no exclusivamente, tratarse de epidermis reconstruidas sobre membrana sintética, sobre bio-soporte colagénico, sobre dermis nativa acelular desepidermizada (modelo DED), de dermis vivas que comprenden unos fibroblastos incluidos en un gel de colágeno (modelo reticular) o incluso en una esponja de colágeno.

50 Los modelos de piel reconstruida pueden además comprender unas células no queratinocitarias, tales como las células de Langerhans y/o los melanocitos, integradas en la epidermis y/o unas células no fibroblásticas tales como las células endoteliales y/o los linfocitos, integradas en la dermis.

Los modelos de piel comprenden también unos explantes mantenidos en supervivencia *ex vivo*.

A título de ejemplo, se puede citar el modelo de epidermis reconstruida EpiSkin<sup>®</sup>, obtenido por cultivo de queratinocitos humanos adultos sobre un soporte colagénico en unas condiciones que permiten su diferenciación y la reconstrucción de una epidermis con una capa córnea funcional.

5 La presente invención se podrá aplicar a los diferentes modelos de piel disponibles comercialmente: EpiSkin<sup>®</sup>, así como en particular y no exclusivamente SkinEthic<sup>®</sup>, Matek<sup>®</sup>, Natskin<sup>®</sup>.

Diferentes modelos de epidermis reconstruida y/o de piel reconstruida (modelos experimentales de búsqueda y/o modelos disponibles comercialmente) están en particular descritos en las referencias siguientes: Asselineau D, Bernard B, Bailly C, Darmon M (1985). Epidermal morphogenesis and induction of the 67 kD keratin polypeptide by culture of human keratinocytes at the liquid-air interface. *Exp Cell Res.* 159: 536-539.; Bernerd F, Vioux C, Lejeune F, Asselineau D (2003). The sun protection factor (SPF) inadequately defines broad spectrum photoprotection: démonstration using skin reconstructed *in vitro* exposed to UVA, UVB or UV-solar simulated radiation. *EUR J Dermatol.* 13: 242-249; Lenoir MC, Bernard BA, Pautrat G, Darmon M, Shroot B (1988). Outer root sheath cells of human hair follicle are able to regenerate a fully differentiated epidermis *in vitro*. *Dev Biol.* 130: 610-620; Prunieras M, Regnier M, Woodley D (1983). Methods for cultivation of keratinocytes with an air-liquid interface. *J Invest Dermatol.* 81 (1 supl.): 28s-33s; Regnier M, Staquet MJ, Schmitt D, Schmidt R (1997). Intégration of Langerhans cells into a pigmented reconstructed human epidermis. *J Invest Dermatol.* 109: 510-512; Regnier M, Desbas C, Bailly C, Darmon M (1988). Differentiation of normal and tumoral human keratinocytes cultured on dermis: reconstruction of either normal or tumoral architecture. *In Vitro Cell Dev Biol.* 24: 625-632; Regnier M, Schweizer J, Michel S, Bailly C, Prunieras M (1986). Expression of high molecular weight (67K) keratin in human keratinocytes cultured on dead deepidermized dermis. *Exp Cell Res.* 165: 63-72; Tinois E, Tiollier J, Gaucherand M, Dumas H, Tardy M, Thivolet J (1991). *In vitro* and post-transplantation differentiation of human keratinocytes grown on the human type IV collagen film of a bilayered dermal substitute. *Exp Cell Res.* 193: 310-319.

25 El procedimiento según la invención se puede también realizar sobre otros modelos de epitelio. Podrá, en particular y no exclusivamente, tratarse de modelos de epitelio oral, gingival, esofágico, vaginal, corneal (ocular), alveolar (pulmonar), tales como los modelos comerciales SkinEthic<sup>®</sup>.

Diferentes modelos de epitelio son en particular descritos en las referencias siguientes:

30 - Oral y gingival: Jayatilake JAMS, Samaranyake YH, Samaranyake LP (2005). An ultrastructural and a cytochemical study of candidal invasion of reconstituted human oral epithelium. *J Oral Pathol Med.* 34: 240-246; Vande Vannet B, Hanssens J-L (2004). Characterization of human oral and gingival mucosal models: a histological characterization and applications in toxicity testing. 3<sup>rd</sup> International SkinEthic Workshop, Niza, Francia.

- Esofágico: Bernhardt J, Bernhardt H, Knoke M, Ludwig K (2004). Influence of voriconazole and fluconazole on reconstituted multilayered oesophageal epithelium infected by *Candida albicans*. *Mycoses.* 47, 7, p 330.

35 - Vaginal: Schaller M, Korting HC, Borelli C, Hamm G, Hube B (2005). *Candida albicans*-secreted aspartic proteinases (Sap) modify the epithelial cytokine response in an *in vitro* model of vaginal candidiasis. *Infect Immun.* 73: 2758-2765.

- Corneal: Van Goethem F, Adriaens E, Alépée N, Straube F, De Wever B, Cappadoro M, Catoire S, Hansen E, Wolf A, Vanparys P (2006). Prevalidation of a new *in vitro* reconstituted human corneal model to assess the eye irritating potential of chemicals. *Toxicology In Vitro.* 20: 1-17.

40 - Alveolar: Roggen E, Nilsson N, Dam L, Mikkelsen B, Rasmussen C, Cappadoro M, Rosdy M (2001). The use of airlifted reconstituted human lung epithelial tissues to predict *in vitro* the allergenic risk of topically applied enzyme proteins. *Congrès de la Société de pharmaco-toxicologie cellulaire* (SPTC), Toulouse, Francia.

Preferiblemente, el lípido A de *Vitreoscilla filiformis* se formulará en una composición cosmética o farmacéutica destinada a ser aplicada tópicamente sobre la piel, el cuero cabelludo o las mucosas.

45 Las composiciones comprenden entre 0,001 ng/ml y 100 mg/ml, y preferiblemente entre 1 ng/ml y 100 µg/ml de lípido A de *Vitreoscilla filiformis*.

Las composiciones utilizadas según la invención pueden presentarse bajo cualquier forma adecuada para las aplicaciones consideradas, en particular por vía tópica, en los campos cosméticos y dermatológicos.

50 La composición según la invención se puede aplicar así tópicamente sobre cualquier zona cutánea del cuerpo, de la piel, del cuero cabelludo o de las mucosas, y presentarse bajo cualquier forma galénica adaptada por el experto en la materia. Puede presentarse en particular en forma de una disolución o de una suspensión acuosa u oleosa, de una emulsión aceite en agua o agua en aceite o múltiple, de una emulsión siliconada, de una microemulsión o nanoemulsión, de un gel acuoso u oleoso o de un producto anhidro líquido, pastoso o sólido.

Para una aplicación tópica sobre la piel, la composición puede tener la forma en particular de disolución acuosa u oleosa o de dispersión de tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semi-líquida de tipo leche,

obtenidas por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (H/E) o inversamente (E/H), o de suspensiones o emulsiones de consistencia blanda de tipo crema o gel acuoso o anhidro, o también de microcápsulas o micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico. Puede también presentarse en forma de parche o de sistema de liberación controlada. Estas composiciones son preparadas según los métodos habituales.

5 Pueden también ser utilizadas para el cabello en forma de disoluciones acuosas, alcohólicas o hidroxialcohólicas, o en forma de cremas, de geles, de emulsiones, de espumas o también en forma de composiciones para aerosol que comprende también un agente propulsor bajo presión.

Las cantidades de los diferentes constituyentes de las composiciones según la invención son las clásicamente utilizadas en los campos considerados.

10 Estas composiciones constituyen en particular unas cremas de limpieza, de protección, de tratamiento de cuidado para la cara, para las manos, para los pies, para los grandes pliegues anatómicos o para el cuerpo (por ejemplo cremas de día, cremas de noche, cremas desmaquillantes, cremas de base de maquillaje, cremas protectoras solares), unas mascarillas para dejar reposar sobre la piel o el cabello, unas bases de maquillaje fluidas, unas leches de desmaquillado, unas leches corporales de protección o de cuidado, unas leches protectoras solares, unas lociones geles o espumas para el cuidado de la piel, como unas lociones de limpieza, unas lociones protectoras solares, unas lociones de bronceado artificial, unas composiciones para el baño, unas composiciones desodorizantes que comprenden un agente bactericida, unos geles o lociones para después del afeitado, unas cremas depilatorias, unas composiciones para tratar ciertas enfermedades de la piel como el acné, el eczema, la psoriasis.

20 Las composiciones según la invención pueden consistir también en preparaciones sólidas que constituyen unos jabones o unas pastillas de limpieza.

Las composiciones pueden también estar envasadas en forma de composición para aerosol que comprende también un agente propulsor bajo presión.

25 La composición según la invención puede también ser una composición para cuidados capilares, y en particular un champú, una loción de moldeado, una loción tratante, una crema o un gel para el peinado, una composición de tinte (en particular tintes por oxidación) eventualmente en forma de champúes colorantes, unas lociones reestructurantes para el cabello, una composición de permanente (en particular una composición para la primera etapa de una permanente), una loción o un gel anticaída, un champú antiparasitario, etc.

30 La composición puede ser también para uso bucodental, por ejemplo una pasta dentífrico. En este caso, la composición puede contener unos adyuvantes y aditivos habituales para las composiciones de uso bucal y en particular unos agentes tensioactivos, unos agentes espesantes, unos agentes humectantes, unos agentes de pulido tales como la sílice, diversos ingredientes activos como los fluoruros, en particular el fluoruro de sodio, y eventualmente unos agentes edulcorantes como el sacarinato de sodio.

35 Cuando la composición es una emulsión, la proporción de la fase grasa puede ir del 5 al 80% en peso, y preferentemente del 5 al 50% en peso con respecto al peso total de la composición. Los aceites, las ceras, los emulsionantes y los coemulsionantes utilizados en la composición en forma de emulsión son seleccionados entre los clásicamente utilizados en el campo cosmético. El emulsionante y el coemulsionante están presentes, en la composición, en una proporción que va del 0,3 al 30% en peso, y preferentemente del 0,5 al 20% en peso con respecto al peso total de la composición. La emulsión puede, además, contener unas vesículas lipídicas.

40 Cuando la composición es una disolución o un gel oleoso, la fase grasa puede representar más del 9% del peso total de la composición.

45 De manera conocida, la composición cosmética puede contener también unos adyuvantes habituales en el campo cosmético, tales como los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los aditivos hidrófilos o lipófilos, los conservantes, los antioxidantes, los disolventes, los perfumes, las cargas, los filtros, los absorbentes de olores y las materias colorantes. Las cantidades de estos diferentes adyuvantes son las clásicamente utilizadas en el campo cosmético, y por ejemplo del 0,01% al 10% del peso total de la composición. Estos adyuvantes, según su naturaleza, pueden ser introducidos en la fase grasa, en la fase acuosa y/o en las esférulas lipídicas.

50 Como aceites o ceras utilizables en la invención, se pueden citar los aceites minerales (aceite de vaselina), los aceites vegetales (fracción de la manteca de carité, aceite de girasol), los aceites animales (perhidroescualeno), los aceites de síntesis (aceite de purcelina), los aceites o ceras siliconadas (ciclometicona) y los aceites fluorados (perfluoropolietéres), las ceras de abejas, de carnauba o parafina. Se puede añadir a estos aceites unos alcoholes grasos y unos ácidos grasos (ácido esteárico).

55 Como emulsionantes utilizables en la invención, se pueden citar por ejemplo el estearato de glicerol, el polisorbato 60 y la mezcla de PEG-6/PEG-32/estearato de glicol vendido bajo la denominación de Tefose<sup>®</sup> 63 por la compañía Gattefosse.

Como disolventes utilizables en la invención, se pueden citar los alcoholes inferiores, en particular el etanol y el isopropanol, el propilenglicol.

Como gelificantes hidrófilos utilizables en la invención, se pueden citar los polímeros carboxivinílicos (carbomero), los copolímeros acrílicos tales como los copolímeros de acrilatos/alquilacrilatos, las poliacrilamidas, los polisacáridos tales como la hidroxipropilcelulosa, las gomas naturales y las arcillas y, como gelificantes lipófilos, se pueden citar las arcillas modificadas como las Bentones<sup>®</sup>, las sales metálicas de ácidos grasos como los estearatos de aluminio y la sílice hidrófoba, etilcelulosa, polietileno.

Cuando el lípido A está contenido en una fracción LPS específica (enriquecida en lípido A), la cantidad de fracción de LPS de *Vitreoscilla filiformis* presente en las composiciones según la invención se adaptará por el experto en la materia para obtener la actividad reguladora. A título indicativo, la cantidad de fracción LPS específica de *Vitreoscilla filiformis* en las composiciones estará comprendida entre el 0,0001 y el 10% en peso con respecto al peso total de la composición, preferentemente del 0,001 al 2% en particular será al menos el 0,01%.

Ventajosamente, la composición según la invención comprenderá unas nanoesferas o unas microesferas, tales como se describen por ejemplo en las solicitudes de patente EP 0 447 318, EP 0 557 489, EP 1 151 741, EP 1 201 219 o WO 97/12602.

#### Ejemplo 1 - preparación del lípido A

##### a) síntesis de A

Una disolución que contiene la glucosamina comercial A' (1,4 mmoles) y el 3-dodecanoiloxi decanoil (1,54 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) se trata con EDC-Mel (2,10 mmoles) y se agita a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se concentra después y el residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice.

El compuesto anterior (15,2 mmoles) se pone en disolución con el 3-hidroxi-decanoil (16,7 mmoles) y la 4-pirrolidinopiridina (1,7 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (95 ml). Se añade EDC-Mel (16,7 mmoles) y el medio se agita a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se concentra después y el residuo se purifica mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice.

El acetono obtenido anteriormente se disuelve en una mezcla ácido acético/agua (4/1) y se calienta a 60°C durante 1h. El medio se concentra después y se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice para obtener el intermedio A.

##### b) síntesis de B

B' se obtiene a partir del producto comercial B'', aplicando el mismo protocolo utilizado para la síntesis de A (véase anteriormente).

Se añade gota a gota TCBOC-Cl (13,2 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 ml) durante 15 minutos a una disolución a 0°C B' (12 mmoles) y piridina (25 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (125 ml). La mezcla se hace volver después lentamente hasta temperatura ambiente durante 3,5 h. Se añaden sucesivamente la 4-pirrolidinopiridina (6,0 mmoles), la N,N-diisopropiletilamina (60 mmoles) y el difenilclorofosfonato (18 mmoles). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 5 h. La reacción se diluye entonces con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavada con una disolución acuosa de HCl (7,5%) fría, y después con una disolución acuosa saturada en NaHCO<sub>3</sub>, y después secada y concentrada. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice.

Se añade ZnCl<sub>2</sub> (1,0 M en éter, 2,41 mmoles) a 0°C a una disolución que contiene el compuesto obtenido anteriormente (4,84 mmoles) y diclorometil metilo éter (24,2 mmoles) en CHCl<sub>3</sub> (60 ml). La mezcla se lleva lentamente a temperatura ambiente, y después se agita a temperatura ambiente toda la noche. El medio de reacción se diluye después con EtOAc, lavado con una disolución acuosa saturada en NaHCO<sub>3</sub>, y después se seca y se concentra. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice para obtener el compuesto B.

##### c) síntesis de C

Una disolución que contiene B (1,85 mmoles) y A (1,54 mmoles) en el 1,2-dicloroetano (18,5 mmoles) se agita con un tamiz molecular 4 A (1g) durante 1h, y después se trata con AgOTf (5,55 mmoles) en una sola porción. Después de agitar durante 4h a temperatura ambiente en la oscuridad, se añade un suplemento de AgOTf (1,85 mmoles) y la reacción se agita toda la noche. La mezcla cremosa se filtra después sobre celita y se concentra. Una purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice permite obtener el compuesto C'.

Una disolución que contiene C' (0,46 mmoles) en una mezcla AcOH (4,5 ml)/THF (40 ml) se hidrogena en presencia de PtO<sub>2</sub> (0,45 g) a temperatura ambiente bajo una presión de 70 psig durante 18h. La disolución se diluye con CHCl<sub>3</sub>/MeOH (2/1), y después se sonifica brevemente. El catalizador se filtra después y se lava con la mezcla CHCl<sub>3</sub>/MeOH (2/1). Los filtrados son agrupados y concentrados. El residuo se purifica mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice.

5 Se agita el producto anterior (12 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 ml) en presencia de N,N-diisopropiletilamina (60 mmoles), y POCl<sub>3</sub> (18 mmoles) a temperatura ambiente durante 5h. La reacción se concentra después. El medio de reacción se diluye después con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se lava con una disolución acuosa saturada en NaHCO<sub>3</sub>, después se seca y se concentra. El residuo se disuelve después en el ácido acético (100 ml) y se calienta a 60°C con polvo de Zinc (0,9 mmoles). La reacción se enfría después y se filtra sobre celita, y después se concentra. Una purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice permite obtener el compuesto C.

Ejemplo 2 - preparación de un extracto de *Vitreoscilla filiformis* que contiene el lípido A

Se obtienen 125 gramos de liofilizado de *Vitreoscilla filiformis* de la siguiente manera:

- cultivo en modo continuo ( $\mu = 0,12 \text{ H}^{-1}$ ) en fermentador de 3 m<sup>3</sup> eficaz equipado de un tubo de aspiración;
- 10 - cosecha continua por centrifugación (10.000 G) en condiciones estériles;
- liofilización de la biomasa así obtenida.

Estos 125 gramos de biomasa liofilizada son después extraídos mediante la mezcla siguiente:

- 33,5 ml de NH<sub>4</sub>OH concentrado;
- 906 ml de agua osmotizada;
- 15 - 1560 ml de ácido isobutírico.

La extracción se efectúa durante 10 a 30 minutos bajo agitación a temperatura ambiente.

El producto obtenido se centrifuga a 8000 G/30'/4°C para eliminar las partículas. El sobrenadante de centrifugación se filtra después sobre un filtro GFD y después GFF.

20 Nota: el residuo es la biomasa de *Vitreoscilla filiformis* liberada al 95% de LPS (fracción denominada a continuación LPS free, utilizada en el ejemplo 4).

El conjunto se evapora entonces a vacío a 65°C/40 mBar.

Se obtiene un concentrado de 600 ml que se coloca en una estufa ventilada para ser concentrada. Se obtienen entonces 37g de una pasta que, adicionada con 50% de agua, se liofiliza.

25 Ejemplo 3 - medición de la inducción de la expresión de enzimas de defensas cutáneas por el lípido A de *Vitreoscilla filiformis*, comparación con el LPS de *E. coli*

30 Por medio de un análisis genómico (microchip Affymetrix U133 plus), se han evaluado dos extractos de lipopolisacáridos bacterianos purificados, correspondiendo uno al extracto LPS específico rico en lípido A según la invención, siendo el otro un extracto LPS de *Escherichia coli* de origen comercial, por sus capacidades para inducir específicamente la expresión de genes particulares en las células cutáneas que codifican para estas proteínas antibacterianas.

Los queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK) son precultivados en medio de cultivo SFM (Invitrogen) con el factor de crecimiento epidérmico a 0,25 ng/ml y extractos pituitarios a 25 µg/ml (EGF, EP, Invitrogen 3700015) y gentamicina a 25 µg/ml (Sigma G1397) y después colocados en medio de ensayo.

Después, se introducen en un medio de ensayo (mismo medio que para el cultivo sin EP ni EGF).

35 Las células son después tratadas o no (control) por los productos en el ensayo y cultivadas durante 24 horas a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>.

Los sobrenadantes de cultivo se eliminan después y los tapices celulares se aclaran con una disolución de PBS y después se colocan en unos tubos estériles ARN-free en presencia de Tri-Reagent (Sigma T9424) e inmediatamente congelados a -80°C.

40 La expresión de los precursores de síntesis de las proteínas de interés se evalúa mediante RT-Q-PCR sobre los ARN mensajeros extraídos de los tapices celulares de cada tratamiento:

Transcripción inversa:

- extracción de unos ARN totales de cada muestra con la ayuda de Tri-Reagent según el protocolo preconizado por el fabricante;
- 45 - eliminación de trazas de ADN potencialmente contaminante mediante tratamiento con el sistema ADN-free (Ambio Ref. 1906);

- realización de la reacción de transcripción inversa del ARNm en presencia del cebador oligo(dT) y de la enzima SuperscriptII (Invitrogen 18064071) para los estudios Q/RT-PCR (ejemplo 4) o por medio del kit de transcripción inversa One cycle de Affymetrix para los estudios transcripcionales Affymetrix (ejemplo 3).

5 Por medio de un análisis bioestático acoplado a un análisis de "data mining" sobre el conjunto del genoma humano, se observa así que, al contrario del LPS de *E. coli* conocido por tener poca actividad estimulante sobre los queratinocitos cutáneos, el lípido A de *Vitreoscilla filiformis*, con las mismas concentraciones y en las mismas condiciones experimentales, era capaz de estimular totalmente la puesta en marcha preventiva de los sistemas de defensas cutáneos, en particular anti-bacterianos.

10 Así, este constituyente bacteriano o mimético tiene como propiedad biológica inducir los sistemas de defensas cutáneas, en particular la producción de beta defensina y la catelicidina, pero también unos inhibidores de proteasas como la Elafine (SKALP); Elias *et al.* Exp. Dermatol (14): 719-726.

Así, como se indica en la tabla siguiente, se constata bien en respuesta al lípido A de *Vitreoscilla filiformis* la inducción de ARNm que codifica para la defensina beta 2, la RNasa 7, la PS100A7, pero también otras anti-proteasas que contribuyen a la defensa de la epidermis.

Referencias Genbank	Descripción	Fracción LPS específica de <i>Vitreoscilla filiformis</i> rica en lípido A según la invención sobre queratinocitos humanos normales	Fracción LPS de <i>E. coli</i> sobre queratinocitos humanos normales
NM.002963	psoriasin 1 (S 100 calcium binding protein A7)	14,8	1,4
AJ243672	S100 calcium binding protein A7-like 1	14,7	1,2
NM_004942	Defensina beta 2	8,6	1,1
AJ131212	ribonucleasa. RNasa A family. 7	2,6	-1,0
AI554300	serina (o cisteina) inhibidor de la proteinasa, clade B (ovalbumin). member 1	3,5	1,3
NM_002638	protease inhibitor 3, skin-derived (SKALP) /// protease inhibitor 3. skin-derived (SKALP)	3,5	1,3
NM 030666	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade B (Ovalbumin), member 1	3,4	1,2
L10343	protease inhibitor 3, skin-derived (SKALP)	2,7	1,2

15

Ejemplo 4 - comparación de la expresión de defensina beta 2 por los queratinocitos por la fracción según la invención, una fracción de *Vitreoscilla filiformis* sin LPS y una fracción LPS de *E. coli*.

Las reacciones de PCR (reacciones en cadena de polimerasa) se han realizado por PCR cuantitativa con el sistema "light Cycler" (Roche Molecular Systemas Inc.) y según los procedimientos recomendados por el fabricante.

20 La mezcla de reacción (10 µl final) para cada muestra es la siguiente:

- 2,5 µl de ADNc diluido al 1/10<sup>6</sup>,
- Cebadores de los diferentes marcadores utilizados;
- Mezcla de reacción (Roche) que contiene la enzima taq ADN polimerasa, el marcador SYBR Green I (fluoróforo que se intercala en el ADN bicatenario durante la etapa de elongación) y MgCl<sub>2</sub>.

25 Análisis por Q-PCR

La incorporación de fluorescencia en el ADN amplificado se mide en continuo durante los ciclos de PCR. Este sistema permite obtener unas curvas de medición de la fluorescencia en función de los ciclos de PCR y evaluar así un valor de expresión relativo para cada marcador.

El número de los ciclos se determina a partir de puntos de "salidas" de las curvas de fluorescencia. Para un mismo marcador analizado, cuanto más tarde sale una muestra (número de ciclos elevado), más bajo es el número inicial de copias de ARNm.

5 El valor de RE (expresión relativa) se expresa en unidades arbitrarias según la fórmula siguiente:  $1/2^{\text{números de ciclos}} \times 10^6$ .

El protocolo de preparación de los ARN del ejemplo 3 se realiza con otros dos productos:

A- una fracción de *Vitreoscilla filiformis* sin LPS (fracción denominada LPS free, véase el ejemplo 1) tal como se señala en la preparación del LPS de *Vitreoscilla filiformis*. Se trata de la biomasa total (proteínas, etc.) liberada al 95% de sus LPS,

10 B- una fracción LPS de *Escherichia coli* comercial.

tratamiento	concentración	expresión de defensina beta 2 % control
Control	-	100
Fracción según la invención (preparada según el ejemplo 2)	10 µg/ml	221
Fracción A	0,1%	155
Fracción B	10 µg/ml	191

Ejemplo 5 - Composiciones

A. vía oral

Ejemplo 1: bolsita de polvo de una dosis

Principio activo	mg/bolsita
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)	1
Citrato de magnesio en mg de magnesio	300
Inulina	50
Aceite de borraja	100
Aceite de nuez	100
Excipiente	
Maltodextrina	Csp
Benzoato de sodio	Csp

15

Se puede tomar de una a tres bolsitas por día.

Ejemplo 2: cápsula

	mg/cápsula
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM 1-2116)	50,00
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)	5,00
Aceite de pepitas de grosella negra	100,00

## ES 2 404 165 T3

	mg/cápsula
Aceite de pescado	100,00
Estearato de magnesio	0,02
Aroma natural	Cs
Excipiente	Csp

Se puede tomar de una a tres cápsulas por día.

B. Administración tópica sobre la piel

Ejemplo 3: spray desodorante (frasco-atomizador)

Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)	0,30 g
Perfume, colorantes	Cs
Alcohol etílico al 95% en vol. desnaturalizado	100 g

5 Ejemplo 4: Roll-on hidroalcohólico transparente

Alcohol cetílico oxietileno (20 OE) y oxipropileno (5 OP)	2,00 g
Hidroxietilcelulosa	0,75 g
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)	0,0250 g
Alcohol etílico al 95% en vol. desnaturalizado	45,00 g
Perfume	cs
Agua desmineralizada	csp 100 g

Ejemplo 5: Gel mascarilla anticaída para el cuidado del cuero cabelludo

	(% en peso)
<i>Lactobacillus johnsonii</i> (CNCM1-1225)	0,05
Hidroxipropilcelulosa (Klucel H vendido por la compañía Hercules)	1,00
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)	5,00
Gluconato de magnesio	3,00
Linoleato de calcio	2,00
Aceite de pepitas de grosella negra	5,00
Aceite de onagra	2,00
Aceite de borraja	5,00
Antioxidante	0,05
Vitamina C	2,50
Antioxidante	0,05
Isopropanol	40,00
Conservante	0,30
Agua	csp 100,00

Ejemplo 6: Crema para los pies

Mezcla mono/diestearato de glicerilo/estearato de polietilenglicol (100 OE)		8,00 g
Alcohol cetílico		2,50 g
Mezcla cera microcristalina/cera de abejas/polietileno		1,00 g
Cera líquida de jojoba		6,00 g
Miristato de miristilo oxietilenado (3 OE)		2,00 g
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)		0,4 g
Perfume, conservantes		Cs
Agua desmineralizada	csp	100 g

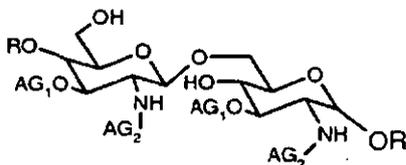
5 Ejemplo 7: Loción anticasca para el cuero cabelludo

Alcohol etílico al 95% en vol. desnaturalizado		55,00 g
Extracto de lípido A de <i>Vitreoscilla filiformis</i> (ejemplo 2)		0,10 g
Propilenglicol		10,00 g
Perfume, colorante		cs
Agua desmineralizada	csp	100 g

## REIVINDICACIONES

1. Lípido A de *Vitreoscilla filiformis* obtenido por síntesis química o extracto de *Vitreoscilla filiformis* caracterizado porque está constituido de un compuesto seleccionado entre:

(a) los compuestos de fórmula (I):



5

en la que:

AG<sub>1</sub> designa un grupo 3-hidroxidecanoilo

AG<sub>2</sub> designa un grupo 3-dodecanoiloxidecanoilo,

10

en la que R designa un átomo de hidrógeno o un grupo PO(OR')<sub>2</sub>, designando R' un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado, saturado o insaturado, de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo fenilo o bencilo, y

15

(b) en el caso en el que R designa un grupo PO(OH)<sub>2</sub> en la fórmula (I) anterior, de una sal inorgánica del compuesto de fórmula (I), o de una sal de amina primaria, secundaria o terciaria del compuesto de fórmula (I), o de una sal de fosfoetanolamina del compuesto de fórmula (I), para su utilización para inducir la expresión de péptidos antimicrobianos por la piel, las mucosas, semi-mucosas y el cuero cabelludo para inhibir la proliferación de una flora microbiana.

2. Lípido A para su utilización según la reivindicación 1, para prevenir y/o disminuir y/o inhibir la proliferación de una flora microbiana cutánea indeseable.

20

3. Lípido A para su utilización según la reivindicación 2, para tratar unos trastornos cutáneos asociados al desarrollo de un microorganismo seleccionado entre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Clostridium pefringens*, *Clostridium difficile*, *Gardnerella vaginalis*, *Propionibacterium acnés*, *Klebsiella species*, *Streptopyogenes*, *Candida albicans*, *Malassezia furfur*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton yaoundei*, *Tinea capitis*, *Tinea corporis* o unos fungi tales como *Aspergillus sp.*

25

4. Lípido A para su utilización según la reivindicación 3, caracterizado porque dichos trastornos cutáneos se seleccionan entre las complicaciones infecciosas de los trastornos dermatológicos; el acné; unas complicaciones infecciosas durante la cicatrización; unas dermatofitosis; unas candidiasis; unas vaginosis; unas onicomicosis; unas tiñas del cuero cabelludo, del cuerpo; unos trastornos cutáneos asociados a terapias con unos antibióticos o unos antimicóticos o acarreados por unas irregularidades hormonales; unas polidermatitis; unas erisipelas; unas dermatitis seborreicas.

30

5. Lípido A para su utilización según la reivindicación 4, para prevenir y/o tratar las infecciones o sobreinfecciones microbianas de la piel.

6. Lípido A para su utilización según la reivindicación 5, para prevenir y/o tratar la infección o la sobreinfección de las heridas o lesiones cutáneas.

35

7. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, caracterizado porque las sobreinfecciones se seleccionan entre las dermatitis atópicas sobreinfectadas, el eczema impetiginizado, el acné inflamatorio sobreinfectado, el herpes sobreinfectado.

8. Lípido A para su utilización según la reivindicación 7, para tratar unas sobreinfecciones durante la cicatrización, seleccionadas entre las úlceras, las heridas y las quemaduras.

40

9. Lípido A para su utilización según la reivindicación 3, para tratar unas dermatofitosis seleccionadas entre la tiña del cuero cabelludo, la tiña del cuerpo, el pie de atleta, el eczema marginado de Hebra, el herpes circinado.

10. Lípido A para su utilización según la reivindicación 3, para tratar unas candidiasis seleccionadas entre las candidiasis de las mucosas, las candidiasis vaginales, las candidiasis interdigitales, las candidiasis asociadas a profesiones de riesgo o a la diabetes.

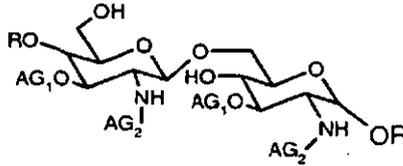
45

11. Lípido A para su utilización según la reivindicación 3, para tratar unas polidermatitis seleccionadas entre el impétigo, las foliculitis superficiales.

12. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, para mantener y/o restaurar una ecoflora cutánea normal.
13. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, para prevenir y/o tratar los estados casposos del cuero cabelludo.
- 5 14. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, para prevenir y/o tratar los estados seborreicos de la piel y del cuero cabelludo.
15. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado porque está presente en una composición destinada a la higiene bucal.
- 10 16. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, para prevenir y/o limitar los malos olores corporales.
17. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se aplica tópicamente sobre la piel con o sin pelo, el cuero cabelludo, las mucosas y/o semi-mucosas.
18. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque está presente en una composición aplicada a un mamífero.
- 15 19. Lípido A para su utilización según la reivindicación 18, para un tratamiento veterinario.
20. Lípido A para su utilización según la reivindicación 19, para un uso veterinario para el tratamiento y/o la prevención de los trastornos relacionados con unas infecciones estafilocócicas, estreptocócicas y micóticas.
21. Lípido A para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicha fracción se utiliza en asociación con un probiótico y/o un prebiótico.
- 20 22. Lípido A para su utilización según la reivindicación 21, caracterizado porque dicha fracción se utiliza en asociación con un probiótico y/o prebiótico.
23. Lípido A para su utilización según la reivindicación 21 ó 22, caracterizado porque los probióticos se seleccionan entre los ascomicetos tales como *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Kluyveromyces*, *Torulaspota*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Debaromyces*, *Candida*, *Pichia*, *Aspergillus* y *Penicillium*, unas bacterias del género *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Melissococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Lactobacillus*.
- 25 24. Lípido A para su utilización según la reivindicación 23, caracterizado porque los probióticos se seleccionan entre *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* o *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, y sus mezclas.
- 30 25. Lípido A para su utilización según la reivindicación 23 ó 24, caracterizado porque los probióticos están presentes a una concentración que va de  $10^5$  a  $10^{12}$  ufc, en particular de  $10^5$  a  $10^{10}$  ufc y más particularmente de  $10^7$  a  $10^9$  ufc de microorganismos por gramo de soporte.
- 35 26. Lípido A para su utilización según la reivindicación 22, caracterizado porque los prebióticos se seleccionan entre los fructooligosacáridos, la inulina y los isomaltooligosacáridos.
27. Lípido A para su utilización según la reivindicación 1, caracterizado porque se utiliza simultáneamente o después de la utilización de un agente de exfoliación.
- 40 28. Lípido A para su utilización según la reivindicación 27, caracterizado porque los agentes de exfoliación se seleccionan entre los ácidos monocarboxílicos saturados e insaturados, los ácidos dicarboxílicos saturados e insaturados, los ácidos tricarboxílicos saturados e insaturados; los alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos monocarboxílicos; los alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos dicarboxílicos; unos alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos de los ácidos tricarboxílicos; unos cetoácidos, unos alfa-cetoácidos, unos beta-cetoácidos de ácidos policarboxílicos, de ácidos polihidroximonocarboxílicos, de ácidos polihidroxibicarboxílicos, de ácidos polihidroxitricarboxílicos; y el ácido (3-hidroxi-2-pentilciclopentil)acético, los ácidos pirúvico, glucónico, glucurónico, oxálico, malónico, succínico, acético, gentísico, cinámico, azelaico; el fenol, la resorcina; la urea y sus derivados; las oligofucosas; el ácido jasmónico y sus derivados; el ácido tricloracético; los retinoides tales como el retinol, el ácido retinoico; el adapaleno; el extracto de *Saphora japonica*; el resveratrol; así como sus sales y derivados, tales como las formas *cis* o *trans*, las mezclas racémicas, las formas dextrógiras o levógiras de los agentes antes citados; las glicosidasas, la enzima quimotriptica del estrato córneo (SCCE), u otras proteasas (tripsina, de tipo quimotripsina); los agentes quelantes de las sales minerales tales como EDTA: el ácido N-acil-N,N'-etilendiaminotriacético; los compuestos aminosulfónicos y en particular el ácido (N-2-hidroxiethylpiperazin-N-2-etano)sulfónico (HEPES); los derivados del ácido 2-oxotiazolidin-4-carboxílico (procisteína); los derivados de ácidos
- 50

5 alfa aminados de tipo glicina, el metil-glicina-diacetato de sodio; la miel; los derivados de azúcar tales como la O-octanoil-6-D-maltosa, la O-linoleil-6-D-glucosa y la N-acetil-glucosamina; los extractos de laminaria tales como la laminaria saccharina y la laminara ochrolenca, el trilactato de glicerol, los derivados siliciados de salicilato, las sales de ácido 5-acil-salicílico, unos principios activos que tienen unos efectos sobre la transglutaminasa, y un extracto de flor de *ficus opuntia indica*.

29. Utilización del lípido A de *Vitreoscilla filiformis* constituido por (a) los compuestos de fórmula (I):



en la que:

AG<sub>1</sub> designa un grupo 3-hidroxidecanoilo

10 AG<sub>2</sub> designa un grupo 3-dodecanoiloxidecanoilo,

en la que R designa un átomo de hidrógeno o un grupo PO(OR')<sub>2</sub>, designando R' un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo lineal o ramificado, saturado o insaturado, de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo fenilo o bencilo, y

15 (b) en el caso en el que R designa un grupo PO(OH)<sub>2</sub> en la fórmula (I) anterior, de una sal inorgánica del compuesto de fórmula (I), o de una sal de amina primaria, secundaria o terciaria del compuesto de fórmula (I), o de una sal de fosfoetanolamina del compuesto de fórmula (I), para prevenir la proliferación microbiana en los cultivos celulares u organotípicos.

30. Utilización según la reivindicación 29, para la preparación séptica de modelos de epidermis y/o de pieles.

31. Utilización según la reivindicación 30, para la preparación séptica de los explantes de piel o de unos injertos de cabello.

20