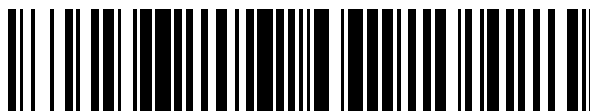


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 928**

51 Int. Cl.:

A61Q 3/00 (2006.01)
A61Q 5/00 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61K 8/99 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2015** **PCT/IB2015/058316**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016** **WO16067218**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2015** **E 15797433 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018** **EP 3212291**

54 Título: **Composición cosmética que contiene extracto de fermento de halomonas, y uso del mismo**

30 Prioridad:

28.10.2014 EP 14382422

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.11.2018

73 Titular/es:

LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS, INC.
(100.0%)
9911 Brecksville Road
Cleveland, OH 44141-3247, US

72 Inventor/es:

LAPORTA ALCÁNTARA, OLGA;
ALMIÑANA DOMÈNECH, NÚRIA;
SOLEY ASTALS, ALBERT;
FERRER MONTIEL, ANTONIO y
GARCÍA SANZ, NURIA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 691 928 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).

DESCRIPCION

Composición cosmética que contiene extracto de fermento de halomonas, y uso del mismo

Campo de la invención

- 5 La tecnología divulgada se refiere a un extracto de fermento y a un exopolisacárido de origen bacteriano para el tratamiento del envejecimiento. Dicho producto es secretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. Igualmente, la presente invención se refiere al uso de dicho extracto de fermento o exopolisacárido de origen bacteriano en composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas para el tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas.

Antecedentes de la invención

- 10 La epidermis humana es un tejido cohesivo, multicapa, con una única arquitectura funcional y ella forma la barrera primaria al medioambiente exterior. Los queratinocitos son el componente principal de la epidermis y su cohesión es esencial con el fin de asegurar la renovación y diferenciación celular. Las células epidérmicas están unidas entre sí mediante construcciones especiales denominadas "uniones". Existen diferentes tipos de uniones, con diferentes papeles, tales como rigidez (uniones de anclaje), resistencia al agua (uniones estrechas) y comunicación celular
- 15 (uniones comunicantes). Las uniones comunicantes son agrupaciones de canales intercelulares que permiten el intercambio mediante difusión de iones (Ca^{2+} , Mg^{2+}) y pequeños metabolitos (glucosa), nutrientes, y moléculas de señalamiento (adenosina monofosfato cíclica, cMAP, o guanosina monofosfato cíclica, cGMP) de menos de 1 kDa entre células adyacentes. Este intercambio citoplásmico directo de metabolitos e iones se estima que coordina la homeostasis epidérmica. La comunicación intercelular mediada por unión comunicante (GJIC) es importante en
- 20 diferentes procesos fisiológicos incluyendo la diferenciación celular, proliferación y transmisión eléctrica y, además, contribuye al señalamiento intracelular [Scott CA y otros, "Connexins in epidermal homeostasis and skin disease", Biochim. Biophys. Acta, vol. 1818, (nº 8), págs. 1952-61, (Agosto 2012)]. Este mecanismo está estrictamente regulado y puede producirse una GJIC anormal en diversos trastornos patológicos.

- 25 Los canales de uniones comunicantes consisten en proteínas de membrana integrales denominadas conexinas (Cx). En base a similitudes de secuencias, las conexinas se han clasificado en 2 grupos filogenéticos, α y β , y se han nombrado de acuerdo con su masa molecular. La oligomerización de seis proteínas conexinas forma un hemicanal, también denominado conexón. Este conexón puede formarse o bien a partir de un único tipo de conexina (homomérica) o a partir de más de un tipo (heteromérica). Además, las uniones comunicantes pueden ser homotípicas, cuando se ensamblan dos conexones idénticos, o heterotípicas, cuando se ensamblan dos conexones diferentes entre
- 30 las células que interactúan. [Dbouk HA y otros, "Connexins: a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels", Cell Communication and Signaling, vol.7, pág 4, (2009)]. Debido al número de combinaciones potenciales de las aproximadamente veinte conexinas disponibles, las uniones comunicantes compuestas de diferentes tipos de conexinas pueden tener diferentes propiedades, por ejemplo, diferente permeabilidad a moléculas e iones. Por ello, la expresión de múltiples proteínas conexinas en un tipo de célula es probable que confiera diferentes propiedades para la GJIC en la piel. Los queratinocitos expresan temporalmente y espacialmente tantas como 10 conexinas diferentes dependiendo de su grado de diferenciación. No todas las conexinas forman hemicanales compatibles que permiten GJIC. La capacidad de las conexinas para formar hemicanales heteroméricos parece estar restringida a miembros del mismo subgrupo filogenético. La compatibilidad e incompatibilidad de conexinas incrementa igualmente el espectro de comunicación intercelular, puesto que permite la generación de compartimentos de
- 40 comunicación separados para moléculas diferentes [Scott CA y Kelsell DP. "Key functions for gap junctions in skin and hearing", Biochem. J., vol. 438 (nº 2), págs. 245-54, (1 Sep., 2011)]. Los hemicanales son llevados a la superficie de la célula mediante vesículas transportadas a través de micotúbulos y, finalmente, los hemicanales se funden con la membrana plasmática para formar uniones comunicantes [Meşe G y otros, "Gap Junctions: Basic Structure and Function", J. Investig. Dermatol., vol. 127, págs. 2516-2524, (2007)]. El nivel de GJIC de una célula podría regularse de manera dinámica a todos los niveles de síntesis, ensamblado y degradación de conexinas, pero también parece que depende de la función de otras moléculas de adhesión de células, componentes de uniones estrechas y elementos citoesqueléticos [Dbouk HA y otros, "Connexins: a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels", Cell Communication and Signaling, vol.7, pág 4, (2009)].

- 50 La comunicación Interceular mediada por unión comunicante (GJIC) es importante en diferentes procesos fisiológicos incluyendo la diferenciación celular, proliferación, transmisión eléctrica e inflamación [Scott CA y otros, "Connexins in epidermis homeostasis and skin disease", Biochim. Biophys. Acta, vol. 1818, (nº 8), págs. 1952-61, (Agosto 2012)]. La expresión de algunas conexinas, tal como Cx20 y cx30, está sobre-regulada durante la respuesta inicial a la cicatrización de heridas, y la Cx26 está sobre-regulada en las lesiones de psoriasis hiperproliferativa humana. Por ello, la sobre-regulación de conexinas, y particularmente de Cx26 y/o Cx30, podría ser una estrategia para el tratamiento de enfermedades inflamatorias de la piel y/o la cicatrización de heridas.

La disminución en la comunicación de células es uno de los mecanismos resultantes en el envejecimiento de la piel, es decir, la sub-regulación de conexinas está relacionada con alteraciones en las uniones comunicantes [Dumont S y otros, "Two new lipoaminoacids", Int. J. Cosmet. Science, vol.32, págs. 9-27, (2020)]. Los signos de disminución de la comunicación celular se revelan sobre la superficie de la piel en forma de finas líneas, arrugas, aspereza superfi-

cial, pérdida de elasticidad, tono de piel desigual, pérdida de firmeza, o sequedad. Este deterioro relacionado con la edad de la piel por la sub-regulación de conexinas, se acelera de manera particular con la menopausia. Después de la menopausia, muchas mujeres sufren un envejecimiento de la piel acelerado; la piel se vuelve más fina con disminución del contenido en colágeno, disminución de elasticidad, incremento de arrugas e incremento de sequedad. En mujeres post-menopáusicas, el espesor de la piel disminuye en un 1,3% por año post-menopáusico, con una disminución asociada en el contenido de colágeno (2% por año post-menopáusico). El contenido de colágeno (tipos I y II) de la piel se estima que disminuye tanto como un 30% en los cinco primeros años después de la menopausia [Thornton MJ, "Estrogens and aging skin", *Dermatoendocrinol.*, vol. 5, (nº 2), págs. 264-70, (2013)]. El colágeno es secretado principalmente por fibroblastos con otras proteínas de matriz extracelular que proporcionan firmeza y elasticidad a la piel.

Por ello, un incremento en los niveles de proteínas conexinas mejoraría la comunicación de las células y trataría y retardaría los signos de envejecimiento de la piel tales como arrugas, pigmentación irregular de la piel, pérdida de elasticidad, colágeno, firmeza de la piel, espesor y sequedad.

De manera sorprendente, el solicitante de la presente invención ha encontrado un extracto de fermento y un exopolisacárido de origen bacteriano que es una alternativa a los problemas anteriormente mencionados.

Sumario de la invención

La tecnología divulgada proporciona una solución para el problema del envejecimiento de la piel, mediante el uso del extracto de fermento o exopolisacárido secretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a un extracto de fermento o un exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, al extracto de fermento o al exopolisacárido para su uso en el tratamiento terapéutico de la piel y/o membranas mucosas, al uso del extracto de fermento o el exopolisacárido para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas, y a composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas que comprenden el extracto de fermento o exopolisacárido. De manera sorprendente, los inventores de la presente invención han encontrado que el extracto de fermento o exopolisacárido anteriormente mencionados tratan o previenen el envejecimiento de la piel. En una realización, el incremento en el nivel de conexinas trata o previene el envejecimiento de la piel.

Definiciones

Con el fin de facilitar la comprensión de la presente invención, se incluyen los significados de algunos términos y expresiones tal como se usan en el contexto de la invención.

Tal como se usa en la presente invención, el término transitorio "comprende", el cual es sinónimo de "incluye", "contiene" o "caracterizado por", es inclusivo o abierto y no excluye elementos o etapas de procedimientos no citados, adicionales. No obstante, en cada mención de "comprende" en la presente invención, se da por entendido que el término abarca igualmente, como realizaciones alternativas, las frases "consiste esencialmente en" y "consiste en", en donde "consiste en" excluye todo elemento o etapa no especificada y "consiste esencialmente en" permite la inclusión de elementos o etapas no mencionadas adicionales que no afecten materialmente las características esenciales o básicas y nuevas de la composición o procedimiento bajo consideración.

En el contexto de la presente invención, los términos "producido", "secretado" y excretado" se usan indistintamente.

En el contexto de la presente invención, por "piel" se entiende las capas que la comprenden, desde la capa más exterior o estrato córneo a la capa más interior o hipodermis, ambas inclusivas. Estas capas están compuestas de diferentes tipos de células tales como queratinocitos, fibroblastos, melanocitos y/o adipocitos, entre otras. En el contexto de la presente invención, el término "piel" incluye el cuero cabelludo.

El término "tratamiento". tal como se usa en el contexto de la presente memoria descriptiva, cuando no está acompañado por las calificaciones "cosmético, no terapéutico", significa la administración de un compuesto de acuerdo con la invención para aliviar o eliminar una enfermedad o trastorno, o reducir o eliminar uno o más síntomas asociados con esta enfermedad o trastorno. El término "tratamiento" cubre igualmente la capacidad para aliviar o eliminar las consecuencias fisiológicas de la enfermedad o trastorno.

Cuando el término "tratamiento" está acompañado por las calificaciones "cosmético, no terapéutico", se refiere a la aplicación del compuesto a la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas, típicamente con el objetivo de mejorar las calidades cosméticas de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas tales como, sin limitarse a ellas, su nivel de hidratación, elasticidad, firmeza, brillo, tono o textura, entre otras. El término "cuidado" en la presente invención se refiere al mantenimiento de las calidades de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas. Estas calidades están sometidas a mejora y mantenimiento mediante un tratamiento cosmético y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas, tanto en sujetos sanos como en aquellos que presenten enfermedades y/o trastornos de la

piel y/o membranas mucosas, así como, sin limitarse a ellas, úlceras y lesiones de la piel, psoriasis, dermatitis, acné o rosácea, entre otras.

El término "prevención", tal como se usa en la presente invención, se refiere a la capacidad de un compuesto de la invención para prevenir, retardar o impedir la aparición o desarrollo de una enfermedad, trastorno, estado o cambio antes de su aparición.

En el contexto de la presente invención, el término "envejecimiento" se refiere a los cambios experimentados por la piel con la edad (crono-envejecimiento) o a través de la exposición al sol (fotoenvejecimiento) o a agentes medioambientales tales como humo de tabaco, condiciones climáticas extremas de frío, calor o viento, contaminantes químicos o polucionantes, e incluye todos los cambios visibles y/o perceptibles externos al tocarla, tales como, y no restringidos a ellos, el desarrollo de discontinuidades sobre la piel tales como arrugas, líneas finas, surcos, irregularidades o rugosidad, incremento en el tamaño de los poros, pérdida de elasticidad, pérdida de firmeza, pérdida de suavidad, pérdida de la capacidad para recuperar la deformación, combamiento de la piel tal como combamiento de mejillas, la aparición de bolsas bajo los ojos o la aparición de un doble mentón, entre otras, cambios en el color de la piel tales como manchas, enrojecimiento, bolsas bajo los ojos o la aparición de áreas hiperpigmentadas tales como manchas de la edad o pecas entre otras, diferenciación anómala, hiperqueratinización, elastosis, queratosis, piel de cáscara de naranja, pérdida de estructura del colágeno y otros cambios histológicos del estrato córneo, hipodermis, dermis, epidermis, sistema vascular (por ejemplo, la aparición de venas en forma de araña o telangiectasias) o de aquellos tejidos cercanos a la piel, entre otros. El término de "fotoenvejecimiento" agrupa juntos el conjunto de procesos debidos a la exposición prolongada de la piel a la radiación ultravioleta, lo cual da como resultado el envejecimiento prematuro de la piel, y presentan las mismas características físicas que el envejecimiento, tales como, sin restringirse a ellas, flacidez, combamiento, cambios de color o irregularidades en la pigmentación, anormal y/o excesiva queratinización.

Por ello, un primer aspecto de la presente invención se refiere al extracto de fermento excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* para su uso en el tratamiento terapéutico de la piel, membranas mucosas y/o uñas. En una realización, el extracto de fermento tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el extracto de fermento contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* para su uso en el tratamiento terapéutico de la piel, membranas mucosas y/o uñas. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa.

En una realización, el tratamiento terapéutico de la piel, membranas mucosas y/o uñas se refiere a la re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, al tratamiento y/o prevención de la inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o al tratamiento y/o prevención o aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas. En una realización, el tratamiento terapéutico de la piel, membranas mucosas y/o uñas se refiere a la re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, al tratamiento y/o prevención de inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o al tratamiento y/o prevención o aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, y el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido, o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa.

En una realización, la inflamación de la piel y/o membranas mucosas está seleccionada, por ejemplo, sin restringirse a ellas, entre el grupo formado por psoriasis, piel sensible, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis por contacto, dermatitis por pañales, dermatitis seborreica, eczema, rosácea, acné, enfermedad hiperproliferativa de la piel, quemaduras, quemaduras del sol, paroniquia, inflamación de la piel después de cirugía, después de tratamiento con terapia de luz pulsada intensa (IPL), después de tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (laser), después de tratamiento con agentes exfoliantes químicos o después de sobre-exposición a agentes externos agresivos, inflamación de la membrana mucosa de la vagina, inflamación de la membrana mucosa oral, gingivitis, periodontitis, rinitis, rinitis alérgica, entre otras. En una realización, el incremento en el nivel de conexinas Cx26 y/ Cx30 trata y/o previene la inflamación de la piel y/o membranas mucosas.

En una realización, los estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, están seleccionados entre el grupo formado por xerosis, hiperqueratosis, hiperqueratosis reactiva, hiperqueratosis palmar y plantar, callos o callosos, queratosis actínica, queratosis no actínica, dermatitis atópica, eczema por contacto, dermatitis seborreica, gorros para bebés, acné, rosácea, nevo, ictiosis, psoriasis, paraqueratosis, pitiriasis, liquen plano, queratoderma palmo-plantar, cuperosis, sequedad vaginal.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del extracto de fermento excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membrana mucosa, cabello y/o uñas. En una realización, el extracto de fermento tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el extracto de fermento contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el extracto de fermento

to de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membrana mucosa, cabello y/o uñas es un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de la pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa, contiene al menos un exopolisacárido y el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas es un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de la pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membrana mucosa, cabello y/o uñas es un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de la pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas es un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de la pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas.

En otra realización, el tratamiento terapéutico, el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel incrementa los niveles de conexinas en la piel. De acuerdo con la presente invención, el incremento en el nivel de conexinas en la piel se sobrentiende como el incremento en la cantidad de al menos una conexina en los queratinocitos de la piel. En una realización, la conexina es conexina 26, conexina 30, conexina 30.3, conexina 31, conexina 31.1, conexina 37, conexina 43, conexina 46 o conexina 58, también denominada como conexina 59. En una realización, el tratamiento terapéutico, el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel incrementa los niveles de conexinas en la piel y el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa, contiene al menos un exopolisacárido, o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa.

En otra realización, el tratamiento y/o cuidado de la piel se lleva a cabo mediante aplicación tópica o transdérmica.

En otra realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571. Dicha cepa ha sido depositada el 10 de Octubre de 2014 en la Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM)/Laboratorium voor Microbiologie-Bacteriëverzameling (LMG) (BCCM/LMG) (University Ghent, K.L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Ghent, Bélgica) como institución legalmente reconocida para dicho fin, de acuerdo con el Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms el 28 de Abril de 1977.

En una realización, el exopolisacárido o el exopolisacárido contenido en el extracto de fermento excretado por la cepa bacteriana de la especie *Halomonas eurihalina* contiene los monosacáridos rhamnosa, galactosa, glucosa, mannososa y D-glucosamina. Opcionalmente, el exopolisacárido contiene también fucosa y/o ácido glucurónico. Típicamente, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571. En una realización, el exopolisacárido muestra una composición en peso de 0,5% a 45% de rhamnosa, 0,1% a 25% de galactosa, 0,5% a 30% de mannososa, 50% a 95% para la suma de glucosa y D-glucosamina y 0% a 10% de fucosa y 0% a 12% de ácido glucurónico, con la condición de que la suma de los porcentajes no exceda de 100%. En otra realización, el exopolisacárido muestra una composición en peso de 1% a 35% de rhamnosa, 0,5% a 20% de galactosa, 1% a 25% de mannososa, 55% a 90% para la suma de glucosa y D-glucosamina y 0% a 5% de fucosa y 0% a 6% de ácido glucurónico, con la condición de que la suma de los porcentajes no exceda de 100%. En otra realización, el exopolisacárido muestra una composición en peso de 1,5% a 30% de rhamnosa, 1% a 10% de galactosa, 1,5% a 20% de mannososa, 65% a 85% para la suma de glucosa y D-glucosamina y 0% a 3% de fucosa y 0% a 4% de ácido glucurónico, con la condición de que la suma de los porcentajes no exceda de 100%. En una realización, la relación de glucosa:D-glucosamina está entre 90:1 y 1:35, entre 85:1 y 1:25, o entre 75:1 y 1:15.

En otra realización, el exopolisacárido excretado por la cepa bacteriana de la especie *Halomonas eurihalina*, tiene un tiempo de retención entre 4 y 8,5 minutos, o entre 5 y 8 minutos, en un análisis cromatográfico de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), con una columna cromatográfica PLAUAGEL-OH 8 µm AQUEUS SEC COLUMNS y acetato sódico 0,1 M en agua como eluyente. En una realización, el exopolisacárido de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa, y el exopolisacárido excretado tiene un tiempo de

retención entre 4 y 8,5 minutos, o entre 5 y 8 minutos, en un análisis cromatográfico de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), con una columna cromatográfica PLAQUAGEL-OH 8 µm AQUEUS SEC COLUMNS y acetato sódico 0,1 M en agua como eluyente con un caudal de 0,8 ml/min. Típicamente, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571. La PLAQUAGEL-OH 8 µm AQUEUS SEC COLUMNS es una columna para cromatografía acuosa de exclusión por tamaños, con un empaquetamiento que tiene la capacidad para separar compuestos dependiendo de sus pesos moleculares, aplicada a polímeros solubles en agua, neutros, aniónicos y catiónicos y con un tamaño de partícula de 8 µm, un tamaño de poro de 50 Å y una longitud/diámetro interno de 300 mm x 7,5 mm.

En otra realización, el extracto del fermento se obtiene mediante la fermentación de una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en un medio de cultivo adecuado, convencionalmente agitado y aireado para la síntesis y secreción de dicho producto al medio de cultivo, seguido del aislamiento y purificación. La fermentación puede llevarse a cabo en un medio agitado y aireado a una temperatura entre 15°C y 40°C, típicamente a 32°C, conteniendo el medio un pH de entre 5,5 y 9, típicamente alrededor de 7,0, ajustándolo, si es necesario, durante la fermentación. La duración de la fermentación es de entre 12 a 120 horas; en una realización entre 24 y 72 horas; en otra realización entre 30 y 48 horas. Típicamente, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571.

En una realización, el procedimiento de aislamiento y purificación del extracto de fermento se lleva a cabo mediante los procedimientos conocidos por la persona experta en la técnica tales como centrifugación, filtración, ultrafiltración y diálisis. En una primera etapa, las etapas de centrifugación y filtración están dirigidas a separar la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* del sobrenadante en el cual se encuentra el extracto de fermento. En una realización, la ultrafiltración y diálisis del sobrenadante se llevan a cabo con una membrana de poliétersulfona, la cual retiene moléculas de un peso molecular mayor de 10.000 Da y se obtiene el extracto de fermento con un peso molecular de al menos 10 kDa. En otra realización, el exopolisacárido se purifica a partir del sobrenadante por precipitación mediante adición de etanol, acetona o isopropanol. En otra realización, la ultrafiltración y diálisis del sobrenadante se lleva a cabo con una membrana de poliétersulfona que retiene moléculas de un peso molecular mayor de 10.000 Da y la precipitación se lleva a cabo mediante la adición de etanol, acetona o isopropanol para obtener el exopolisacárido con un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571.

En otra realización, en la fermentación de la cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, puede usarse un medio de cultivo que contiene azúcares exógenos, tales como, y sin limitarse a ellos, galactosa, glucosa, manosa, amigdalina, celobiosa, maltosa, almidón, glucógeno, lactosa, mezclas de los mismos y/o extractos conteniendo mezclas de estos azúcares como una fuente de carbono. En una realización, se proporciona una administración exógena de glucosa de 2 a 40 g/l, o desde 5 hasta 25 g/l.

En otra realización, el medio de cultivo puede comprender fuentes de nitrógeno o carbono adicionales tales como extractos de levaduras, extractos de malta o peptonas, con concentraciones de cada uno de estos componentes de 0,1 a 20 g/l, o desde 0,5 a 10 g/l.

En otra realización, se proporcionan igualmente sales minerales para el cultivo de fermentación de la cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, y estas están seleccionadas entre sales que proporcionan los iones Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Cl^- , CO_3^{2-} , o elementos traza tales como Cu, Mn, Fe y Zn.

En otra realización, el exopolisacárido comprendido en el extracto de fermento producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, contiene una sulfatación natural, sin mediar ninguna modificación química, de hasta 7% de sulfatos, o de hasta 5% de sulfatos.

En otra realización, el exopolisacárido comprendido en el extracto de fermento producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, contiene una modificación química conocida por persona experta en la técnica tal como fosforilación, sulfonación, acilación con, por ejemplo grupos acetilo, piruvilo, propionilo, succinilo, lactoilo o 3-hidroxibutilo, esterificación, por ejemplo, con glicerilo, formación de complejos metálicos del exopolisacárido y/o sulfatación química mayor del 7%.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica caracterizada porque comprende una cantidad cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaz del extracto de fermento del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* y al menos un excipiente y/o ingrediente cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptable. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido, o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. Típicamente, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571. Dichas composiciones pueden prepararse mediante los procedimientos convencionales conocidos por la persona experta en la técnica ["Harry's Cosmetology", Seventh edition, (1982), Wikilson J.B., Moore R.J., ed. Longman House, Essex, GB].

La cantidad cosméticamente y dermofarmacéuticamente eficaz del extracto de fermento del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en la composición de la invención a administrar, así como su

dosificación, dependerá de numerosos factores, incluyendo la edad, estado del paciente, la naturaleza o severidad del estado, trastorno o enfermedad a tratar y/o cuidar, la vía y la frecuencia de administración del extracto de fermento o del exopolisacárido.

Por "cantidad cosméticamente y dermofarmacéuticamente eficaz", se entiende que es una cantidad no tóxica pero suficiente del extracto de fermento o exopolisacárido, como para proporcionar el efeto deseado. En una realización, el extracto de fermento o el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* se usa a concentraciones cosméticas o dermofarmacéuticas para lograr el efecto deseado; en una realización, con respecto al peso total de la composición, entre 0,000000001% (en peso) y 20% (en peso), entre 0,00000001% (en peso) y 10% (en peso), entre 0,000001% (en peso) y 5% (en peso) o entre 0,0001% (en peso) y 5% en peso).

En otra realización, el extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención puede igualmente incorporarse en sistemas de administración cosmética y/o dermofarmacéutica y/o sistemas de liberación sostenida. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido, o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa.

El término "sistemas de administración" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente, vehículo o aditivo con el cual se administra el extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención. Estos vehículos cosméticos o dermofarmacéuticos pueden ser líquidos, tal como agua, aceites o tensioactivos, incluyendo los de origen del petróleo, animal, plantas o sintéticos, tales como, y sin restringirse a ellos, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, aceite de ricino, polisorbatos, ésteres de sorbitano, éter sulfatos, sulfatos, betaínas, glucósidos, maltósidos, alcoholes grasos, nonoxinolos, poloxámeros, polioxietilenos, polietileno glicoles, dextrosa, glicerol, digitonina y similares. Una persona experta en la técnica conoce los diluyentes, adyuvantes o excipientes que pueden usarse en los diferentes sistemas de administración, en los cuales el extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención puede ser administrado.

El término "liberación sostenida" se usa en un sentido convencional con relación a un sistema de administración de un compuesto que proporciona la liberación gradual de este compuesto durante un periodo de tiempo y, en una realización, aunque no necesariamente, con niveles de liberación de compuesto relativamente constantes a lo largo de un periodo de tiempo.

Los ejemplos de sistemas de administración o de liberación sostenida incluyen, sin un sentido de limitación, liposomas, liposomas mezclados, oleosomas, niosomas, etosomas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas y nanopartículas de lípidos sólidas, soportes de lípidos nanoestructurados, esponjas, ciclodextrinas, vesículas, micelas, micelas mezcladas de tensioactivos, micelas mezcladas de tensioactivos-fosfolípidos, miliesferas, microesferas y nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas y nanocápsulas, así como microemulsiones y nanoemulsiones, las cuales pueden agregarse para lograr una mayor penetración del extracto de fermento y/o para mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del mismo. En una realización, los sistemas de administración o de liberación sostenida son liposomas, micelas mezcladas de tensioactivo-fosfolípido y microemulsiones, y microemulsiones de agua en aceite, con una estructura de micela inversa interna y nanopartículas conteniendo microemulsiones.

Los sistemas de liberación sostenida pueden prepararse mediante procedimientos conocidos en la técnica anterior, y las composiciones que los contienen pueden administrarse, por ejemplo, mediante administración tópica o transdérmica, incluyendo parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos y parches microeléctricos, o mediante administración sistémica, por ejemplo y no restringido a los mismos, vía oral o parenteral, incluyendo nasal, rectal o implantación subcutánea o inyección, o implantación directa o inyección dentro de una parte específica del cuerpo. En una realización, el sistema de liberación sostenida debe liberar una cantidad relativamente constante del extracto de fermento o del exopolisacárido de la invención. La cantidad de extracto de fermento o de exopolisacárido contenido en el sistema de liberación sostenida dependerá, por ejemplo, de en dónde ha de administrarse la composición, las cinéticas y duración de la liberación del extracto de fermento o exopolisacárido de la invención, así como la naturaleza del estado, trastorno y/o enfermedad a tratar y/o prevenir.

La composición que contiene el extracto de fermento o el exopolisacárido de la presente invención, puede igualmente ser adsorbida sobre polímeros orgánicos sólidos o soportes minerales sólidos, tales como y sin restringirse a ellos, talco, bentonita, sílice, almidón o maltodextrina, entre otros.

Las composiciones que contienen el extracto de fermento o el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* pueden igualmente incorporarse en telas, telas no tejidas o dispositivos médicos que están en contacto directo con la piel, liberando, de esta forma, el extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención, bien sea por la biodegradación del sistema de unión a la tela, tela no tejida o dispositivo médico, o debido a la fricción entre ellos y el cuerpo, debido a la humedad corporal, al pH de la piel o a la temperatura del cuerpo. Además, el extracto de fermento o exopolisacárido de la invención puede incorporarse las telas y telas no tejidas usadas en la fabricación de ropas de vestir que están en contacto directo con el cuerpo. En una realización, las telas, telas no tejidas y dispositivos médicos que contienen el extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención se usan para el tratamiento y/o la prevención de estados, trastornos y/o enfermedades que mejoran o se han prevenido mediante el incremento de los niveles de conexinas en la piel.

Los ejemplos de telas, telas no tejidas, ropas de vestir, dispositivos médicos y medios para la inmovilización de compuestos a las mismas, entre los cuales están los sistemas de administración y/o los sistemas de liberación sostenida descritos anteriormente, pueden encontrarse en la literatura y son conocidos en la técnica anterior [Schaab C.K., HAPPI May 1986; Nelson G., "Application of microencapsulation in textiles", Int. J. Pharm., vol. 242, (nº 1-2), págs. 55-62, (2002); "Biofunctional Textiles and the Skin", Curr. Probl. Dermatol., vol. 33, (2006), Hipler U.C. and Elsner P., eds., S. Karger AG, Basel, Switzerland; Malcolm R.K. y otros, "Controlled release of a model antibacterial drug from a novel self-lubricating silicone biomaterial", J. Cont. Release, vol. 97, (nº. 2), págs. 313-320, (2004)]. En una realización, las telas, telas no tejidas, ropas de vestir y dispositivos médicos son vendas, gasas, camisetas, calcetines, mallas, ropa interior, cinturones, guantes, pañales, compresas sanitarias, apósitos, cubrecamas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos y/o mascarillas.

Las composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas que contienen el extracto de fermento o el exopolisacárido de la presente invención pueden usarse en diferentes tipos de composiciones de aplicación tópica o transdérmica, incluyendo opcionalmente excipientes cosméticamente y/o dermofarmacéuticamente aceptables necesarios para formular la forma de administración deseada.

Las composiciones de aplicación tópica o transdérmica puede producirse en cualquier formulación sólida, líquida o semisólida, tal como y no restringidas a ellas, cremas, emulsiones múltiples tales como y no restringidas a ellas, aceite y/o silicona en emulsiones de agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, emulsiones del tipo agua/aceite/agua o agua/silicona/agua, y emulsiones del tipo aceite/agua/aceite o silicona/agua/silicona, cristales líquidos, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles de cremas, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sueros, jabones, champús, acondicionadores, sueros, películas de polisacáridos, ungüentos, cremas batidas, pomadas, polvos, barras, lápices y espráis o aerosoles (espráis), incluyendo formulaciones de aplicación y de limpieza. Estas formulaciones de aplicación tópicas y transdérmicas pueden incorporarse usando técnicas conocidas para la persona experta en la técnica dentro de diferentes tipos de accesorios sólidos, tales como y no restringidos a ellos, vendas, gasas, camisetas, calcetines, mallas, ropa interior, cinturones, guantes, pañales, compresas sanitarias, apósitos, cubrecamas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos o mascarillas, o pueden incorporarse dentro de diferentes productos de maquillaje, tales como base de maquillaje, tales como bases fluidas y bases compactas, lociones para eliminar maquillajes, leches para eliminar maquillajes, correctores de ojeras, sombras de ojos, lápiz de labios, protectores labiales, brillo de labios y polvos, entre otros.

Las composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas de la invención pueden incluir agentes que incrementen la absorción percutánea de los compuestos de la presente invención, por ejemplo y no restringidos a ellos, dimetil sulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, tensioactivos, azona (1-dodecilazaciclohepta-2-ona), alcohol, urea, etoxidiglicol, acetona, propileno glicol o polietileno glicol, entre otros. Además, las composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas de la presente invención pueden aplicarse a áreas locales a ser tratadas mediante iontoforesis, sonoforesis, electroporación, parches microeléctricos, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, cura oclusiva, microinyecciones o inyecciones sin aguja mediante presión, tal como inyecciones mediante presión de oxígeno, o cualquier combinación de los mismos, para lograr una mayor penetración del extracto de fermento o el exopolisacárido de la invención. El área de aplicación estará determinada por la naturaleza del estado, trastorno y/o enfermedad a tratar y/o prevenir.

Entre los excipientes y/o ingredientes cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables contenidos en las composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas descritas en la presente invención, se encuentran ingredientes adicionales comúnmente usados en composiciones cosméticas o dermofarmacéuticas, tales como y no restringidos a ellos, agentes que inhiben la excitotoxicidad neuronal, agentes anticolinérgicos, agentes que inhiben la contracción muscular, agentes anti-envejecimiento, agentes anti-arrugas, humectantes, sustancias que retienen la humedad, alfa hidroxí ácidos, beta hidroxí ácidos, humectantes, agentes estimuladores de la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir o prevenir su degradación, agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes estimuladores de la síntesis de decorina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina, agentes estimuladores de la síntesis de defensina, agentes estimuladores de la síntesis de chaperona, agentes estimuladores de la síntesis de cAMP, agentes que modulan la AQP-3, agentes que modulan la síntesis de aquaporina, proteínas procedentes de la familia de la aquaporina, agentes estimuladores de la síntesis de ácido hialurónico, agentes estimuladores de la síntesis de glucosaminoglucano, agentes estimuladores de la síntesis de fibronectina, agentes estimuladores de la síntesis de sirtuina, proteínas de choque térmico, agentes estimuladores de la síntesis de proteínas de choque térmico, agentes que reducen la cantidad de nocturnina, agentes inhibidores de la expresión de nocturnina, agentes lipolíticos o agentes estimuladores de la lipólisis, agentes venotónicos, agentes moduladores de la expresión de PGC-1 α , agentes inhibidores de la actividad de PPAR γ , agentes que reducen el contenido en triglicérido de adipocitos, agentes anti-celulitis, agentes retardadores de la diferenciación de lipocitos, agentes que disminuyen la producción de sebo, agentes anti-seborreicos, agentes matificantes, agentes anti-acné, agentes anti-transpirantes, agentes anti-inflamatorios y/o analgésicos, agentes anti-escozores, agentes calmantes, agentes anestésicos, inhibidores de la agregación de receptores de acetilcolina, agentes que inhiben la acetilcolinesterasa, agentes relajantes de la piel, agentes estimuladores o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes blanqueantes o despigmentantes, agentes propigmentantes, agentes auto-bronceado, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes inhibidores de la 5 α -reductasa, agentes inhibidores de la lisil- y/o propil-hidroxilasa, antioxidantes, purificadores de radicales libres y/o agentes contra la polución atmosférica, purifi-

cadores de especies carbonilo reactivas, agentes anti-glucación, agentes antihistamina, agentes antivíricos, agentes antiparasitarios, emulsificadores, emolientes, disolventes orgánicos, propulsores líquidos, acondicionadores de la piel, enzimas hidrolíticas epidérmicas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, pigmentos o colorantes, tintes, biopolímeros, polímeros gelificantes, espesantes, tensioactivos, agentes suavizantes, emulsificadores, agentes aglomerantes, conservantes, agentes capaces de reducir o tratar las bolsas de debajo de los ojos, agentes exfoliantes, agentes queratolíticos, agentes desescamantes, agentes antimicrobianos, agentes antihongos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas, agentes bacteriostáticos, agentes estimuladores de la síntesis de componentes del estrato córneo, ceramidas, ácidos grasos, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben las metaloproteínas de la matriz, agentes que inhiben la degradación de elastina, agentes que inhiben serina proteasas tales como calicreínas, leucocito elastasa o catepsina G, agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, agentes estimuladores de la proliferación de queratinocitos, agentes estimuladores de la proliferación de melanocitos, agentes estimuladores de la diferenciación de queratinocitos, agentes antihiperqueratosis, agentes comedolíticos, agentes anti-psoriasis, agentes reparadores del ADN, agentes protectores del ADN, agentes protectores de células madre, estabilizadores, agentes para el tratamiento y/o cuidado de piel sensible, agentes reafirmantes, agentes anti-marcas de estiramientos, agentes astringentes, agentes que inhiben la actividad de PAR-2, agentes estimuladores de la cicatrización de heridas, agentes coadyuvantes de la cicatrización de heridas, agentes estimuladores de la re-epitelización, agentes coadyuvantes de la re-epitelización, factores de crecimiento de citocina, agentes que actúan sobre la circulación y/o microcirculación de la capilaridad, agentes estimuladores de la angiogénesis, agentes que inhiben la permeabilidad vascular, agentes que actúan sobre el metabolismo de la célula, agentes para mejorar la unión dérmica-epidérmica, agentes inductores del crecimiento del cabello, agentes inhibidores o retardantes del crecimiento del cabello, agentes retardantes de la caída del cabello, conservantes, perfumes, productos cosméticos y/o absorbentes y/o desodorantes enmascaradores de olores corporales, agentes quelantes, extractos de plantas, aceites esenciales, extractos marinos, agentes obtenidos a partir de procesos biotecnológicos, sales minerales, extractos de células, cremas solares y agentes fotoprotectores orgánicos o minerales activos contra los rayos ultravioleta A y/o B y/o rayos infrarrojos A, o mezclas de los mismos, a condición de que sean físicamente y químicamente compatibles con el resto de los componentes en la composición y con el extracto de fermento o exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido. Igualmente, la naturaleza de estos ingredientes adicionales no debería de alterar de manera inaceptable los beneficios del extracto de fermento o exopolisacárido de la presente invención. La naturaleza de estos ingredientes adicionales puede ser sintética o natural, tales como extractos de plantas, o provenir de procesos biotecnológicos, o de una combinación de un proceso de síntesis y un proceso biotecnológico. Pueden encontrarse ejemplos adicionales en el CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary & Handbook, 12 th Edition (2008). En el contexto de la presente invención, por proceso biotecnológico se entiende cualquier proceso para producir el ingrediente activo, o parte del mismo, en un organismo, o en parte de él.

En una realización, la composición cosmética y/o dermofarmacéutica de la invención contiene:

. entre 0,0000000001% (en peso) y 20% (en peso) del extracto de fermento o del exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*;

. entre 0,1% (en peso) y 20% (en peso) de un humectante seleccionado entre el grupo de (Nombres INCI) Glicerina, Propileno glicol, Butileno glicol, Pentileno glicol, Caprilil glicol, Acido láctico, Urea, Hialuronato sódico;

. entre 0,1% (en peso) y 20% (en peso) de un emoliente o acondicionador de la piel seleccionado entre el grupo de (Nombres INCI) Dimeticona, Estearato de glicerilo, Triglicérido caprílico/cáprico, Alcohol cetearílico, Lecitina, Benzoato de alquilo de C12-15, Escualano, Lanolina, Alcohol behenílico, Acetato de tocoferilo, Panthenol, Manteca de Butirosperma Parkii, Palmitato de retinol, Retinol;

. entre 0,1% (en peso) y 20% (en peso) de un tensioactivo seleccionado entre el grupo de (Nombres INCI) Goma xantano, Laureth sulfato sódico, Acido esteárico, Polisorbato 20, Polisorbao 80, Alcohol estearílico, Alcohol cetílico, Steareth-2, Stearth-20, Cocoamidopropil betaína.

En una realización, el agente anti-arrugas y/o anti-envejecimiento está seleccionado, por ejemplo y no restringido a ellos, entre el grupo formado por los extractos o extractos hidrolizados de *Vitis vinífera*, *Rosa canina*, *Curcuma longa*, *Theobroma cacao*, *Ginkgo biloba*, *Leontopodium alpinum* o *Dunaliella salina* entre otros Matrixyl® [INCI: Palmitoil pentapéptido-4], Matrixyl® 3000® [INCI: Palmitoil tetrapéptido-7, Palmitoil oligopéptido], Matrixyl® Synthe'6™ [INCI: Glicerina, Agua, Hidroxipropil ciclodextrina, Palmitoil tripéptido-38], Essenskin™ [INCI: Hidroximetionina cálcica], Renovage [INCI: Teprenona, Resistem™ [INCI: Fermento de Globularia cordifolia], Beautifeye [INCI: Extracto de corteza de Albizia Julibrissin, Darutosida], Meiritage [INCI: Extracto de raíz de Astragalus membranaceus, extracto de raíz de Atractiloides macrocephala, extracto de raíz de Bupleurum Falcatum], Senestem [INCI: Extracto de hoja de Plantago lanceolata], Venuceane [INCI: Fermento de Thermus thermophilus] o Dermaxyl® [INCI: Palmitoil oligopéptido] comercializado por Sederma/Croda, Vialox® [INCI: Pentapéptido-3], Syn®-Ake® [INCI: Dipéptido diaminobutiril bencilamida diacetato], Syn®-Coll [INCI: Palmitoil Tripéptido-5], Phytaluronate [INCI: Goma de la falsa acacia (*Ceratonia siliqua*)], Regu-Scence [INCI: Extracto de tallo de Asparagus officinalis, benzoato sódico, sorbato potásico, gluconolactona, gluconato cálcico], Syn-TC [INCI: Tetradecil aminobutirilvalilaminobutírico urea trifluoroacetato, Palmitoil tripéptido-5, Palmitoil dipéptido-5 diaminobutiril hidroxitreonina] o Preregen® [INCI: proteína de

Glycine soja (soja), óxido reductasas] comercializado por Pentapharm/DSM, Myoxinol™ [INCI: extracto hidrolizado de *Hibiscus esculentus*], Syniorage™ [INCI: Acetil tetrapéptido-11], Demican™ [INCI: Acetil tetrapéptido-9], Shadownyl [INCI: extracto de alga, hexileno glicol, caprilil glicol, goma xantano] o DN AGE™ LS [INCI: extracto de hoja de *Cassia alata*] comercializado por Laboratories Serobiologiques/Cognis/BASF, Algisum C® [INCI: metilsilanol mannuronato], Exage [INCI: imidazoliletil diaminopropanamida] o Hydroxyprosilane CN® [INCI: metilsilanol hidroxiprolina aspartato] comercializada por Exymol, Argireline® [INCI: Acetil hexapéptido-8], SNAP-7 [INCI: Acetil heptapéptido-4], SNAP-8 [INCI: Acetil octapéptido-3], Serilesine® [INCI: heptapéptido-10], Leuphasyl® [INCI: Pentapéptido-18], Inyline® [INCI: Acetil heptapéptido-30], Aldenine® [INCI: Proteína de trigo hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada, Tripéptido-1], Preventhelia® [INCI: Diaminopropionil tripéptido-33], Decorinyl® [INCI: Tripéptido-10 citrulina], Decorinol® [INCI: Tripéptido-9 citrulina], Trylagen® [INCI: Extracto de fermento de pseudomonas, Proteína de trigo hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada, Tripéptido-10 citrulina, Tripéptido-1], Eyeseryl® [INCI: Acetil Tetrapéptido-5], Peptide AC29 [INCI: Acetil Tetrapéptido-30 citrulina], Resiltase® [INCI: Acetilarginiltriptofil difenililglicina], Thermostressine® [INCI: Acetil tetrapéptido-22], Lipochroman™ [INCI: Dimetilmetoxi cromanol], Chromabright® [INCI: Dimetilmetoxi cromanol palmitato], Antarticine® [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas], dGlyage™ [INCI: Lisina HCl, Lecitina, Tripéptido-9 citrulina], Vilastene™ [INCI: Lisina HCl, Lecitina, Tripéptido-10 citrulina], Hyadisine™ [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas], Hyanify™ [INCI: Sacárido isomerato], Diffuporine™ [INCI: Acetil hexapéptido-33], Silusyne™ [INCI: Aceite de soja (*Glycine soja*), Sorbitano sesquiolato, Isohexadecano, Hialuronato sódico, Proteína de soja laurildiamonio hidroxipropil hidrolizada, Acetil hexapéptido-39], Adifyline™ [INCI: Acetil hexapéptido-38], Uplevite™ [INCI: Acetil tetrapéptido-21], Juveleven™ [INCI: Acetil hexapéptido amida], Seacode™ [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas], Nocturshape™ [INCI: Extracto de placton], Actigym™ [INCI: Extracto de plancton], o Telangyn™ [INCI: Acetil tetrapéptido-40] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Kollaren® [INCI: Tetrapéptido-1, Dextrano], comercializado por el Institut Europeen de Biologie Cellulaire, Collaxyl® IS [INCI: Heptapéptido-9], Laminixyl IS™ [INCI: Heptapéptido], Orsitine™ GL [INCI: Extracto de *Oryza sativa* (arroz)], D'Orientine™ IS [INCI: Extracto de semilla de *Phoenix dactylifera* (dátil)], Phytoquintescine™ [INCI: Extracto de escanda (*Triticum monococcum*)], Peptide Q10 [INCI: Pentapéptido-34 trifluoroacetato], Telosense [INCI: Proteína de levadura hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada] o Quintescine™ IS [INCI: Dipéptido-4] comercializado por Vincience/ISP/Ashland, BONT-L-Peptide [INCI: Palmitoil hexapéptido-19] comercializado por Infinites Activos, Deepaline™ PVB [INCI: Proteína de trigo palmitoil hidrolizada] o Sepilift® DPHP [INCI: Dipalmitoil hidroxiprolina] comercializada por Seppic, Gatuline® Expression [INCI: Extracto de *Acmelia oleracea*], Gatuline® In-Tense [INCI: Extracto de flor de *Spilanthus acmelia*] o Gatuline® Age Defense 2 [INCI: Extracto de semilla de *Juglans regia* (nuez)] comercializada por Gattefosé, Thalassine™ [INCI: Extracto de algas] comercializada por Biotechmarine, ChronNoline™ [INCI: Caprooil tetrapéptido-3] o Thymulen-4™ [INCI: Acetil tetrapéptido-2] comercializado por Atrium/Unipex Innovations, EquiStat [INCI: Extracto del fruto de *Pyrus malus*, extracto de semilla de *Glycine soja*] o Juvenesce [INCI: Etoxidiglicol y triglicérido caprílico, Retinol, Acido ursonílico, Fitonadiona, Ilomastat] comercializado por Coletica/Engelhard/BASF, Ameliox [INCI: Carmosina, Tocoferol, Extracto del fruto de *Silybum marianum*], Phytocelltec Symphytum [INCI: Isomalta, Cultivo de células de la raíz de *Symphitum Officinale*, Lecitina, Benzoato sódico], Snow Algae Powder [INCI: Extracto de *Clamydocapsa*, Maltodextrina, Lecitina], Dermcon [INCI: Goma de *Acacia Senegal*, Extracto de bulbo de *Crocus Chrysanthus*], Anagain [INCI: Extracto de vástago de *Pisum Sativum* (Guisante)] o PhytoCellTec Malus Domestica [INCI: Cultivo de células del fruto de *Malus domestica*] comercializado por Mibelle Biochemistry, Bioxilift [INCI: Extracto de *Pimpinella anisum**, Vitagenyl [INCI: Extracto de hoja del *Prunus Persica* (Melocotón)] o SMS Anti-Winkles® [INCI: Extracto de semilla de *Annona squamosa*] comercializada por Silab, Symvital Age-repair [INCI: Extracto de raíz de *Zingiber officinale* (Jengibre)] comercializado por Symrise, Citrustem [INCI: Goma xantano, Benzoato sódico, Gluconolactona, Gluconato sódico], Melavoid [INCI: Extracto de raíz de *Boerhavia Diffusa*], Darkout [INCI: Extracto de rizoma de *Hypoxis Rooperi*, Goma de *Caesalpinia Spinosa*] o Linefill [INCI: Dimetil isosorbida, Extracto de semilla de *Sesamum Indicum* (Sésamo)] comercializada por Provital, Adipofill'in [INCI: Ornitina, Fosfolípidos, Glucolípidos], Elix-IR [INCI: Extracto de *Polygonum Aviculare*] o Progeline [INCI: Trifluoroacetil Tripéptido-2] comercializado por Lucas Meyer, Amiperfect [INCI: Extracto de hoja de *Gaultheria Procumbens* (Gaultheria)] o Repulpami ER [INCI: Extracto de pulpa de *Adansonia Digitata*, Extracto de flor de *Hibiscus Sabdariffa*] comercializada por Alban Muller, Celloxyl [INCI: Extracto de hojas de *Uapaca Bojeri*] o Resistress [INCI: Extracto de flores de *Sophora Japonica*] comercializada por Solabia, Actiporine 8G [INCI: Extracto de *Jania Rubens*] o EPS Seafill [INCI: Extracto de plancton] comercializada por Coffif, Novhial Biotech G [INCI: Fosfato de diacetil glucosamina] o Rubixyl [INCI: Heptapéptido-47] comercializado por Induchem, antagonistas del canal de Ca²⁺ tales como y no restringido a ellos, alverina, sales de manganeso o magnesio, ciertas aminos secundarias o terciarias, retinol y sus derivados, idebenona y sus derivados, coenzima Q10 y sus derivados, ácido boswélico y sus derivados, GHK y sus derivados y/o sales, carnosina y sus derivados, enzimas reparadoras del ADN tales como y no restringido a ellas, fotoliasa o T4 endonucleasa V, o agonistas del canal de cloruro entre otros, y/o mezclas de los mismos.

En otra realización, el agente reafirmante y/o redensificante y/o reestructurante está seleccionado, por ejemplo, y no restringido a ellos, entre el grupo formado por extractos de *Malpighia punicitolia*, *Cynara scolymus*, *Gossypium herbaceum*, *Aloe Bardadensis*, *Panicum miliaceum*, *Morus nigra*, *Sesamum indicum*, *Glycine soja*, *Triticum vulgare*, Pronalen® Refirming HSC [INCI: *Triticum vulgare*, *Silybum marianum*, *Glycine soja*, *Equisetum arvense*, *Alchemilla vulgaris*, *Medicago sativa*, *Raphanus sativus*], Lipoout [INCI: Extracto de plancton] o Polyplant® Refirming [INCI: Equinácea, Centella asiática, Fuco, Heno griego] comercializado por Provital, Lanablue® [INCI: Sprbitol, Extracto de algas] comercializado por Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations, Pepha®-Nutrix [INCI: Factor de nutrición natural] comercializado por Pentapharm/DSM, extractos de plantas conteniendo isoflavonas, Biopeptide EL™ [INCI: Palmitoil oligopéptido], Biopeptide CL™ [INCI: Palmitoil oligopéptido], Vexel® [INCI: Agua (Aqua), Propileno glicol,

Lecitina, Cafeína, Palmitoil carnitina], Matrixyl® [INCI: Palmitoil pentapéptido-3], Matrixyl® 3000 [INCI: Palmitoil tetrapéptido-3], Palmitoil oligopéptido] o BioBustil™ [INCI: Gliceril polimetacrilato, Fermento de proteína de soja *Rahnella*, Agua (aqua), Propileno glicol, Glicerina, PEG-8, Palmitoil oligopéptido], comercializado por Sederma/Croda, Dermosaccharides® HC [INCI: Glicerina, Agua (Aqua), Glucosaminoglucanos, Glucógeno], Aglycal® [INCI: Mannitol, Ciclodextrina, Glucógeno, Extracto de hoja de *Aratostaphylos Uva Ursi*], Cytokinol® LS [INCI: Caseína hidrolizada, Proteína de levadura hidrolizada, Lisina HCl] o Firmiderm® LS9120 [INCI: Extracto de hoja de *Terminalia Catappa*, Extracto de flores de *Sambucus Negra*, PVP, Acido tánico] comercializado por Laboratories Serobiologiques/Cognis/BASF, Liftline® [INCI: Proteína de trigo hidrolizada], Raffermin® [INCI: Harina de soja hidrolizada] o Ridulisse C® [INCI: Proteína de soja hidrolizada] comercializada por Silab, Serilesine® [INCI: Hexapéptido-10], Decorinyl™ [INCI: Tripéptido-10 citrulina], Trylagen® [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas, proteína de trigo hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada, Tripéptido-10 citrulina, Tripéptido-1], Silusyne™ [INCI: Aceite soja (*Glycine soja*), Sesquioleato de sorbitano, Isohexadecano, Hialuronato sódico, Proteína de soja laurildiamonio hidroxipropil hidrolizada, Acetil hexapéptido-39] o Adifyline™ [INCI: Acetil hexapéptido-38] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Ursolisome® [INCI: lecitina, Acido ursólico, Atelocolágeno, Goma xantano, Condroitin sulfato sódico], Epiruline [INCI: Maltodextrina, Extracto de corteza de *Eperua falcata*] o Collalift® [INCI: Extracto de malta hidrolizada] comercializada por Coletica/Engelhard/BASF, Syn®-Coll [INCI: Palmitoil tripéptido-5] comercializado por Pentapharm/DSM, Hydriame® [INCI: Agua (Aqua), Glucosaminoglucanos, Goma *Sclerotium*] comercializado por Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations, Sphingokine™ [INCI: Caproil fitosfingosina] comercializado por Evonik, Body3 Complex [INCI: Bentonita, Extracto de nuez de *Butirospermum parkii* (Shea), Extracto de fruto del *Persea gratissima* (Avocado)] comercializado por Lucas Meyer, Prosynergen DF [INCI: Filtrado de extracto de fermento de *Lactobacillus/Ulkenia amoeboides*] comercializado por Lonza o IP2000 [INCI: Dextrano, Trifluoroacetil tripéptido-2] comercializado por el Institut Européen de Biologie Cellulaire/Unipex Innovations, entre otros.

En otra realización, el agente estimulador de la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas está seleccionado, por ejemplo y no restringido a ellos, entre el grupo formado por agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes estimuladores de la síntesis de decorina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina, agentes estimuladores de la síntesis de caperona, agentes estimuladores de la síntesis de sirtuina, agentes activadores de sirtuina, agentes moduladores de la síntesis de acuaporina, agentes estimuladores de la síntesis de fibronectina, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben la degradación de elastina, agentes que inhiben serina proteasas tales como kaliceinas, leucocito elastasa o cathepsina G, agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, y agentes reparadores de ADN y/o agentes protectores del ADN, tales como y no restringido a ellos, extractos de *Centella asiática*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Solanum tuberosum*, *Rosmarinus officinalis*, *Vaccinium angustifolium*, extracto de las algas *Macrocystis pyrifera*, *Padina pavonica*, extracto de soja, malta, lino, salvia, trébol común, kakkon, plantas de altramuz blanco, extracto de avellanas, extracto de maíz, extracto de levadura, extractos de vástagos de haya, extracto de semilla de leguminosas, extracto de hormona de plantas, tales como giberelinas, auxinas o citoquininas, entre otros, o extracto de zooplancton *Salina*, el producto de fermentación de leche con *Lactobacillus bulgaricus*, asiaticósidos y sus derivados, vitamina C y sus derivados, ácido cinnámico y sus derivados, Matrixyl® [INCI: Palmitoil pentapéptido-3], Matrixyl® 3000 [INCI: Palmitoil tetrapéptido-3, Palmitoil oligopéptido] o Biopeptide CL™ [INCI: Gliceril polimetacrilato, propileno glicol, Palmitoil oligopéptido] comercializado por Sederma/Croda, Antarcticine® [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas], Decorinyl™ [INCI: Tripéptido-10 citrulina], Serilesine® [INCI: Heptapéptido-10], Leptide [INCI: Proteína vegetal hidrolizada], Aldenine® [INCI: Proteína de trigo hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada, Tripéptido-1], Relistase™ [INCI: Acetilarginilriptofil difenilglicina] Thermostressina™ [INCI: Acetil tetrapéptido-22], Peptide AC29 [INCI: Acetil tripéptido-30 citrulina], Diffuporine™ [INCI: Acetil hexapéptido-37], Silusyne™ [INCI: Aceite de soja (*Glycine soja*), Sorbitano sesquioleato, Isohexadecano, Hialuronato sódico, Proteína de soja laurildiamonio hidroxipropil hidrolizada, Acetil hexapéptido-39] o Adifline™ [INCI: Acetil hexapéptido-38] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Drieline® PF [INCI: Levadura betaglucono] comercializada por Alban Muller, Phytovyl C® [INCI: Agua, Extracto de *Zea mays*] comercializado por Solabia, Collalift® [INCI: Extracto de malta hidrolizada] comercializado por Coletica/Engelhard/BASF, Phytocohesine PSP™ [INCI: Beta-sitosterol sulfato sódico] comercializado por Vincience/ISP/Ashland, minerales tales como calcio, entre otros, retinoides y sus derivados, isoflavonoides, carotenoides, licopeno, pseudopéptidos, retinoides y sus derivados tales como retinol y palmitato de retinilo, entre otros, o heparinoides, entre otros.

En otra realización, el agente estimulador de la cicatrización de heridas, el coadyuvante de la cicatrización de heridas, el agente estimulador de la reepitelización y/o el agente coadyuvante de la reepitelización está seleccionado, por ejemplo y no restringido a ellos, al grupo formado por extractos de *Aristolochia clamatensis*, *Centella asiática*, *Rosa moschata*, *Echinacea angustifolia*, *Symphytum officinale*, *Equisetum arvense*, *Hypericum perforatum*, *Mimosa tenuiflora*, *Persea gratissima*, *Prunus africanum*, *Tormentilla erecta*, *Aloe vera*, Poliplant® Epithelizing [INCI: *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, *Chamomilla recutita*, *Rosmarinus officinalis*], comercializada por Provital, Cytokinol® LS 9028 [INCI: Caseína hidrolizada, Proteína de levadura hidrolizada, Lisina HCl] comercializada por Laboratories Serobiologiques/Cognis o Deliner® [INCI: Extracto de pepita de *Zea mays* (Grano)] comercializada por Coletica/Engelhard/BASF, alatoína, cadherinas, integrinas, selectinas, receptores de ácido hialurónico, inmunoglobulinas, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento de tejido conectivo, factores de crecimiento procedentes de plaquetas, factores de crecimiento endoteliales vasculares, factores de crecimiento epidérmicos, factores de crecimiento de tipo insulina, factor de crecimiento de queratinocitos, factor estimulador de colonias, factor beta de crecimiento de transformación, factor-alfa de necrosis de tumores, interferones, interleuquinas, metaloproteínas de

matriz, tirosino proteasas de proteína receptora, Antarcticina® [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas], Decorinyl® [INCI: Tripéptido-10 citrulina], Trylagen® [INCI: Extracto de fermento de pseudoalteromonas, Proteína de trigo hidrolizada, Proteína de soja hidrolizada, Tripéptido-10 citrulina, Tripéptido-1], Bodifensine™ [INCI: Acetil dipéptido-3 aminohexanoato], Delisens™ [INCI: Acetil hexapéptido-49] o Diffuporine™ [INCI: Acetil hexapéptido-37] comercializado por Lipotec/Lubrizol, entre otros.

Aplicaciones

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas. En una realización, el extracto de fermento tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el extracto de fermento contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En una realización, el tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas se refiere a un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas, re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, tratamiento y/o prevención de inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o tratamiento y/o prevención de aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas. En una realización, el tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas se refiere al tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas, re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, tratamiento y/o prevención de inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o tratamiento y/o prevención de aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, y el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En una realización, la inflamación de la piel y/o membranas mucosas está seleccionada, por ejemplo, sin restringirse a ellas, entre el grupo formado por psoriasis, piel sensible, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis por contacto, dermatitis por pañales, dermatitis seborreica, eczema, rosácea, acné, enfermedad hiperproliferativa de la piel, quemaduras, quemaduras del sol, paroniquia, inflamación de la piel después de cirugía, después de tratamiento con terapia de luz pulsada intensa (IPL), después de tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (laser), después de tratamiento con agentes exfoliantes químicos o después de sobre-exposición a agentes externos agresivos, inflamación de la membrana mucosa de la vagina, inflamación de la membrana mucosa oral, gingivitis, periodontitis, rinitis, rinitis alérgica, entre otras. En una realización, el incremento en el nivel de conexinas Cx26 y/o Cx30 trata y/o previene la inflamación de la piel y/o membranas mucosas.

En una realización, los estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, están seleccionados entre el grupo formado por xerosis, hiperqueratosis, hiperqueratosis reactiva, hiperqueratosis palmar y plantar, callos o callosos, queratosis actínica, queratosis no actínica, dermatitis atópica, eczema por contacto, dermatitis seborreica, gorros de bebés, acné, rosácea, nevo, ictiosis, psoriasis, paraqueratosis, pitiriasis, liquen plano, queratoderma palmoplantar, cuperosis, sequedad vaginal.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para tratamiento y/o cuidado de la piel que incrementa los niveles de conexinas en la piel. De acuerdo con la presente invención, el incremento en el nivel de conexinas en la piel se sobrentiende como el incremento en la cantidad de al menos una conexina en los queratinocitos de la piel. En una realización, la conexina es conexina 26, conexina 30, conexina 30.3, conexina 31, conexina 31.1, conexina 37, conexina 43, conexina 46 o conexina 58, también denominada como conexina 59. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa, contiene al menos un exopolisacárido y el tratamiento y/o cuidado de la piel incrementa los niveles de conexinas en la piel.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para tratamiento y/o cuidado de la piel que incrementa los niveles de conexinas en la piel. De acuerdo con la presente invención, el incremento en el nivel de conexinas en la piel se sobrentiende como el incremento en la cantidad de al menos una conexina en los queratinocitos de la piel. En una realización, la conexina es conexina 26, conexina 30, conexina 30.3, conexina 31, conexina 31.1, conexina 37, conexina 43, conexina 46 o conexina 58, también denominada como conexina 59. En una realización, el exopolisacárido de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa, y el tratamiento y/o cuidado de la piel incrementa los niveles de conexinas en la piel.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas, el cual comprende la administración de una cantidad cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaz del extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. En una realización, el extracto de fermento tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el extracto de fermento contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas, el cual comprende la administración de una cantidad cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaz del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En una realización, el procedimiento de tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas se refiere a un procedimiento de tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas, re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, tratamiento y/o prevención de inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o tratamiento y/o prevención de aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas. En una realización, el procedimiento de tratamiento y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas se refiere a un procedimiento de tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas, re-epitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, membranas mucosas y/o uñas, tratamiento y/o prevención de inflamación de la piel y/o membranas mucosas, o tratamiento y/o prevención de aquellos estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, y el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido o el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En una realización, los estados, trastornos y/o enfermedades que son un resultado de la falta o disminución en la hidratación de la piel, membranas mucosas y/o uñas, están seleccionados entre el grupo formado por xerosis, hiperqueratosis, hiperqueratosis reactiva, hiperqueratosis palmar y plantar, callos o callosos, queratosis actínica, queratosis no actínica, dermatitis atópica, eczema por contacto, dermatitis seborreica, gorros de bebés, acné, rosácea, nevo, ictiosis, psoriasis, paraqueratosis, pitiriasis, liquen plano, queratoderma palmoplantar, cuperosis, sequedad vaginal.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de incremento de los niveles de conexinas en la piel, el cual comprende la administración de una cantidad cosméticamente o farmacéuticamente eficaz del extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. En una realización, el extracto de fermento tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, el extracto de fermento contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, el extracto de fermento de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa y contiene al menos un exopolisacárido. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de incremento de los niveles de conexinas en la piel, el cual comprende la administración de una cantidad cosméticamente o farmacéuticamente eficaz del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*. En una realización, el exopolisacárido tiene un peso molecular de al menos 10 kDa. En una realización, la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG-P28571.

En otro aspecto, el extracto de fermento o el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* puede administrarse por cualquier medio que cause su contacto con el sitio de acción en un cuerpo de mamífero, típicamente siendo el de un cuerpo humano, y en la forma de una composición que lo contiene. La administración del fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* se lleva cabo tópicamente o transdérmicamente. En una realización, la aplicación tópica o transdérmica se lleva cabo mediante iontoforesis, sonoforesis, electroporación, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, cura oclusiva, microinyecciones, mediante inyecciones sin aguja por medios de presión, mediante parches microeléctricos, máscaras faciales o cualquier combinación de los mismos.

La frecuencia de la aplicación o administración puede variar ampliamente, dependiendo de las necesidades de cada sujeto, lo que sugiere un intervalo de aplicación o administración de desde una vez al mes hasta 10 veces al día, desde una vez por semana hasta 4 veces al día, desde tres veces por semana hasta tres veces al día, o una vez al día.

Depósito de material biológico

La cepa de la especie *Halomonas eurihalina* ha sido depositada en el Belgian Coordinated Collection of Microorganisms (BCCM) / Laboratorium voor Microbiologie-Bacteriëverzameling (LMG) (University Ghent, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Ghent, Belgium) bajo las condiciones del Budapest Treaty. El depósito se realizó el 10 de octubre de 2014 y el número de depósito fue LMG P-28571.

Ejemplos

Cada uno de los documentos referidos anteriormente están incorporados en la presente invención como referencia, incluyendo cualquier solicitud anterior, estén o no específicamente listadas anteriormente, de las cuales se reivindican su prioridad. La mención de cualquiera de dichos documentos no es una admisión de que dicho documento le califique como técnica anterior o constituya el conocimiento general de la persona experta en cualquier jurisdicción. Excepto en los Ejemplos, o en cualquier otra parte en que se especifique explícitamente, todas las cantidades numéricas en la presente descripción que especifiquen cantidades de materiales, condiciones de reacción, pesos moleculares, número de átomos de carbono, y similares, ha de entenderse como aproximados, es decir, sometidos a una variabilidad de $\pm 5\%$, $\pm 3\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,1\%$, o $\pm 0,01\%$ del valor indicado. Se da por entendido que los límites superiores e inferiores de cantidad, intervalo y relaciones establecidos en la presente invención pueden combinarse independientemente. De manera similar, los intervalos y cantidades de cada elemento de la tecnología descrita en la presente invención puede usarse conjuntamente con intervalos y cantidades de cualquiera de los otros elementos.

Ejemplo 1: Obtención del exopolisacárido secretado por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571

A) Procedimiento de cultivo de la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571.

La cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 se cultivó en un fermentador a 32°C y un pH de 7,0 en un medio de cultivo conteniendo agua, 10 g/l de glucosa como fuente de carbono, 3 g/l de extracto de levadura y 3 g/l de extracto de malta y 5 g/l de peptona de guisante como fuente de carbono y nitrógeno, y una solución de sal conteniendo 9,8 g/l de NaCl, 1,7 g/l de cloruro magnésico heptahidrato, 2,5 g/l de sulfato magnésico heptahidrato, 0,25 g/l de cloruro potásico, 0,05 g/l de cloruro cálcico dehidrato, 0,05 g/l de bicarbonato sódico, sales traza de bromuro sódico y cloruro de hierro. Este se inoculó, a una absorbancia de 520 nm, de 0,2 Unidades de Absorbancia procedentes de un pre-cultivo en un estado exponencial de desarrollo y la duración de la fermentación se extendió hasta aproximadamente 40 horas de cultivo. Al cultivo se le suministró un suministro de aire suficiente, y se agitó a velocidades de agitación de entre 300 y 600 rpm.

B) Purificación del exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* depositada bajo el número de depósito LMG P-28571.

La bacteria se separó del caldo de fermentación resultante descrito en el Ejemplo 1a) conteniendo el exopolisacárido mediante centrifugación a 18.000 g durante 1 hora. La separación de la bacteria se completó mediante filtración a un tamaño de poro final de 0,2 μm . A continuación, el caldo filtrado se dializó con membrana de corte de 10.000 Da, reteniéndose el exopolisacárido por la membrana. La purificación final se llevó a cabo mediante secado por congelación del exopolisacárido dializado.

Ejemplo 2: Caracterización fisicoquímica del exopolisacárido excretado por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571

Se realizaron análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y de espectroscopía infrarroja (IR) (detector de índice refractivo) para la caracterización fisicoquímica del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 y sobre el contenido del exopolisacárido obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1.

Análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y de espectroscopía infrarroja (IR)

Con el fin de realizar los cromatogramas de HPLC-IR, se prepararon muestras a partir del exopolisacárido obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, diluyéndolas en agua a 2 mg/ml y filtrándolas con filtros de poliétersulfona de 0,2 µm. El análisis de HPLC se realizó usando una inyección de 100 µl de la muestra sobre un equipo de cromatografía SHIMADZU LC20A. La columna cromatográfica usada es AQUEUS SEC COLUMNS PL AQUAGEL-OH de 8 µm, y el detector, el Refractive Index Detector RID-10A (Shimadzu). El disolvente usado fue acetato sódico 0,1 M en agua y caudal de 0,8 ml/min. La AQUEUS SEC COLUMNS PL AQUAGEL-OH de 8 µm es una columna para cromatografía de exclusión por tamaño acuosa, con un empaquetamiento con la capacidad para separar compuestos dependiendo de su peso molecular, aplicada a polímeros neutros, aniónicos y catiónicos y con un tamaño de partícula de 8 µm, un tamaño de poro de 50 Å y una longitud/diámetro interno de 300 mm x 7,5 mm.

El resultado del análisis muestra un tiempo de retención de entre 5 y 8 minutos.

Análisis de monosacáridos

Con el fin de realizar el análisis de monosacárido a partir del sólido, se siguió el procedimiento descrito por Kamerling y otros, Biochem. J., vol. 151, págs. 491-495, (1975) tal como posteriormente ha sido modificado por Montreuil y otros, en Glicoproteins. In Carbohydrate Analysis: A practical approach, (1986), Eds Chaplin et Kennedy, I.R.L Press, Oxford, Washington D.C., págs. 143-204. La modificación de los monosacáridos hidrolizados se llevó a cabo de acuerdo con procedimientos de la literatura [Rojas Escudero y otros, J. Chromatogr. A., vol. 1027, págs. 117-120, (2004)]. Para el análisis cromatográfico se usó una columna ZEBRON ZB-1701 (Phenomenex), una temperatura del inyector de 250°C, una temperatura del detector de 280°C y una programación de la rampa de temperatura de la estufa de 160°C a 250°C.

El análisis del exopolisacárido obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, dio los resultados de: 75% de glucosa, 13% de manosa, 2% de rhamnosa, 2% de D-glucosamina, 7% de galactosa y 1% de fucosa.

En una segunda repetición del cultivo y preparación del exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1, los porcentajes resultantes del análisis fueron: 52% de glucosa, 10% de manosa, 12% de rhamnosa, 20% de D-glucosamina, 6% de galactosa, 1% de fucosa y 1% de ácido glucurónico.

Ejemplo 3: Estudio del incremento de comunicación intercelular de uniones comunicantes en la línea celular HaCaT de queratinocito humano mediante carga de raspados y transferencia de clorante

La comunicación intercelular de uniones comunicantes (GJIC) de las células se comprobó mediante la técnica de carga de raspados y transferencia de colorante (SLDT) descrita por el-Fouly MH, y otros ["Scrape-loading and dye transfer. A rapid and simple technique to study gap junctional intercellular communication", Exp. Cell Res., vol. 168 (nº, 2), págs. 422-30, (Feb. 1987)] con algunas modificaciones. El efecto del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 sobre GJIC, se estudió sobre la línea celular HaCaT de queratinocito humano.

Las células HaCaT (DKFZ) se sembraron a $1,0 \times 10^5$ células/pocillo en placas de 24 pocillos y se incubaron en medio de cultivo (DMEM, con alto contenido en glucosa, GlutaMAX™ Supplement, suplementado con 10% de suero bovino fetal) (Gibco®) a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. A continuación, las células se trataron durante 24 horas con el exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 a 0,5 mg/ml en medio de cultivo, y medio de cultivo (DMEM, con alto contenido en glucosa, GlutaMAX™ Supplement, suplementado con 10% de suero bovino fetal) (Gibco®) (como condiciones basales) a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Todos los tratamientos se realizaron con dos pocillos para cada condición. Al final del periodo de incubación, las células se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS). La PBS se retiró y a los pocillos se agregaron 400 µl de PBS conteniendo Lucifer Yellow (LY) (Life Technologies) (0,5 mg/ml), un trazador permeable de uniones comunicantes, y compuesto no permeable de uniones comunicantes Rhodamine Dextran (RhD) (Life Technologies) (0,5 mg/ml). Para crear una línea de raspados a lo largo de la monocapa celular se usó un escalpelo. Las células se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente para permitir la transferencia del colorante. A continuación, las células se lavaron 4 veces con PBS y se fijaron durante 30 minutos a temperatura ambiente con 4% (p/v) de paraformaldehído. La distancia a la cual el colorante fluorescente se difunde más allá de la línea de raspados durante un cierto periodo en indicativo del índice de GJIC dentro de un cultivo. La transferencia de colorante de uniones comunicantes se observó con un microscopio de fluorescencia (Zeiss) usando un objetivo 10x. La distancia de migración del colorante Lucifer Yellow se midió a partir de la capa de células en el raspado hasta el borde del frente del colorante que era visualmente detectable. Se realizaron cuatro ensayos independientes por duplicado (2 pocillos por condición). Las fotos tomadas se analizaron usando el software de análisis de imágenes (Zen lite 2012 (blue edition), Zeiss). La Tabla 1 muestra los valores medios de 4 experimentos independientes.

Tabla 1

Producto	Concentración	Inducción al duplicado de GJIC con respecto a condiciones basales
Exopolisacárido del Ejemplo 1	0,5 mg/ml	1,47

En el ensayo SLDT, el exopolisacárido de la invención muestra un incremento en la distancia a la cual el colorante fluorescente se difunde con respecto a la condición basal (Medio), lo que demuestra que es eficaz en mejorar la GJIC en células HaCat.

Ejemplo 4: Estudio de la modulación de la expresión de ARN en queratinocitos epidérmicos humanos procedentes de adultos usando el ensayo RT PCR de uniones comunicantes humanas

El RT-PCR es un procedimiento sensible para la detección de índices de expresión de ARNm y puede ser una herramienta útil para la identificación de compuestos que activan la expresión de uniones comunicantes. El candidato potencial y no-citotóxico se evaluó para determinar la activación de la expresión y modulación de uniones comunicantes (GJs) de la expresión de ARN usando el panel de 96 pocillos prediseñado de uniones comunicantes humanas para uso con SYBR® Green (BioRad) en queratinocitos epidérmicos humanos, procedentes de adultos (HEKA) (Cascade Biologics). Este kit estudia los perfiles de expresión de 84 gens clave que codifican componentes, interactivos y reguladores de uniones comunicantes, además de tres genes consecutivos y cinco controles. El perfil de expresión de componentes y reguladores de uniones comunicantes puede conducir a un mejor conocimiento del mecanismo molecular que está detrás de la biología celular mediada por uniones comunicantes. Usando PCR de tiempo real, se analizó el patrón específico del perfil de ARN inducido por el exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenida de acuerdo con el Ejemplo 1, a 0,5 mg/ml, en comparación con los niveles basales de células no tratadas (control negativo) en HEKa.

Las células HEKa se sembraron a $5,0 \times 10^5$ células/pocillo en placas de 6 pocillos y se incubaron en Epilife con suplemento de crecimiento definido (EDGR) (Gibco) a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Después de 24 horas, el medio se retiró y las células se incubaron con 0,5 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, y como control basal, se incubaron dos células HEKa con medio únicamente (Epilife con suplemento de crecimiento definido (EDGR) (Gibco). 24 horas después de la incubación, las células se lisaron directamente en los pocillos, y el ARN se extrajo y purificó a partir de cada réplica y cada condición mediante el kit RNeasyPlus Mini de Qiagen. Las células lisadas se homogeneizaron y las RNasas se inactivaron. El ADN genómico se separó de las muestras usando columnas de centrifugación gDNA Eliminator. A continuación, las muestras se pasaron a través de columnas de unión de ARN y, después de varios lavados por microcentrifugación para eliminar contaminantes e impurezas, el ARN purificado se eluyó con 50 µl de agua ultrapura. Después de elución del ARN, se llevó a cabo la cuantificación y análisis de pureza de las muestras de ARN con un biofotómetro (Eppendorf). Por cada muestra, se retro-transcribieron 7,5 µg de ARN de alta calidad con iScript Advanced (BioRad) en un volumen final de 20 µl. La mezcla de reacción completa se incubó en un ciclador térmico (Eppendorf) a 42°C durante 30 minutos, interrumpiéndose la reacción a 85°C durante 5 minutos. El ADN complementario se amplificó mediante qPCR en un termociclador PCR de tiempo real (BioRad) usando súper-mezcla SYBR Green (BioRad) en el panel de 96 pocillos pre-diseñado para uniones comunicantes humanas para uso con SYBR® Green (BioRad). La SYBR Green se une a moléculas de ADN de doble hebra y emite fluorescencia que es cuantificada, siendo la intensidad de fluorescencia proporcional a la cantidad del producto en la reacción PCR. Las condiciones de ciclado en el instrumento CFX96 BioRad son: 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 5 segundos, reasociación y alargamiento a 60°C durante 30 segundos. Como controles endógenos se usaron GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa), TBP (proteína de unión de caja TATA) y HRPT1 (hipoxantina fosforibosiltransferasa). El cambio de número de veces con relación a la expresión de los genes de la muestra y los genes de referencia se calculó usando el procedimiento de expresión normalizada ($\Delta\Delta(Ct)$), con valores de umbral de defectos usando el CFX Manager Software (BioRad).

Los resultados obtenidos para el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1 se muestran en las tablas siguientes.

Tabla 2

Genes de conexina regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1			
Nombre de la proteína	Símbolo del gen	Nombre del gen	Inducción de número de veces
Cx43	GJA1	Proteína alfa-1 de unión comunicante	2,05
Cx46	GJA3	Proteína alfa-3 de unión comunicante	3,30

(continuación)

Genes de conexina regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1			
Nombre de la proteína	Símbolo del gen	Nombre del gen	Inducción de número de veces
Cx37	GJA4	Proteína alfa-4 de unión comunicante	2,69
Cx58	GJA9	Proteína alfa-9 de unión comunicante	2,45
Cx26	GJB2	Proteína beta-2 de unión comunicante	1,63
Cx31	GJB3	Proteína beta-3 de unión comunicante	1,14
Cx30	GJB6	Proteína beta-6 de unión comunicante	3,70

Tabla 3

Genes de señalización de células regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1		
Símbolo	Nombre del gen	Inducción de número de veces
ADCY3	Adenilato ciclasa 3	1,49
MAP3K2	Proteína quinasa quinasa quinasa 2 activada por mitógeno	3,08
MAPK3	Proteína quinasa 3 activada por mitógeno	1,12
MAPK7	Proteína quinasa 7 activada por mitógeno	1,86
PRKCB	Proteína quinasa C, beta	2,43
PRKG1	Proteína quinasa, dependiente de cGMP, tipo I	1,20
GRB2	Proteína 2 unida a receptor de factor de crecimiento	1,48

Tabla 4

Conexina de interacción con genes de proteína regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1		
Símbolo	Nombre del gen	Inducción de número de veces
DNB1	Debrina	2,05
TJP1	Proteína 1 de unión estrecha	1,25

Tabla 5

Genes de tubulina regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1		
Símbolo	Nombre del gen	Inducción de número de veces
TUBA1C	Tubulina, alfa 1c	4,93
TUBA4A	Tubulina, alfa 4a	1,7

Tabla 6

Otros genes regulados por el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1		
Símbolo	Nombre del gen	Inducción de número de veces
B2M	Beta-2-microglobulina	1,61
GUSB	Glucuronidasa, beta	1,34
ITPR2	inositol 1,4,5-trisfosfate receptor, tipo 2	1,35
PANX1	Pannexina 1	1,29
PANX2	Pannexina 2	2,15

Los resultados obtenidos para el exopolisacárido de acuerdo con el Ejemplo 1 muestran que incrementa la expresión de genes implicados en la comunicación de células a diferentes niveles en HEKa, tal como síntesis de conexinas, transporte de hemicanales a las membranas y ensamblado, recambio y modulación de uniones comunicantes.

Ejemplo 5: Efecto del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 sobre la comunicación de célula a célula epidérmica-dérmica

El envejecimiento reduce el proceso de comunicación entre células. La diafonía entre fibroblastos y queratinocitos es esencial para la regeneración, reparación y crecimiento de la piel, e implica la actividad de un cierto número de mensajeros tales como factores de crecimiento y citocinas. Los queratinocitos son la fuente primaria de factores de crecimiento, los cuales pueden estimular no solamente los propios queratinocitos, sino también fibroblastos a través de la señal paracrina y afectan en gran medida la constitución molecular de la matriz extracelular (ECM) (Werner S, Krieg T, Smola H. "Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing". J. Invest. Dermatol. Vol. 127 (nº 5), págs 998-1008, (Mayo 2007). En el presente estudio, el efecto del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, sobre la comunicación de queratinocito-fibroblasto procedente de un donante de 54 años de edad, se evaluó y comparó con la comunicación de queratinocito-fibroblasto procedente de un donante joven (39 años de edad). Los fibroblastos procedentes del donante de 54 años de edad se incubaron con sobrenadantes de queratinocitos que habían sido tratados primeramente con el exopolisacárido candidato. La expresión de las proteínas de matriz en fibroblastos procedentes del donante de 39 años de edad y del donante de 54 años de edad se analizaron mediante PCR cuantitativo.

Las células de queratinocitos epidérmicos humanos (HEK) (Aplicaciones de células) procedentes de un donante de 39 años de edad y de un donante de 54 años de edad se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de 3-5x10³ células/cm² en Epilife suplementado con EDGS (Gibco) y las células de fibroblasto dérmico humano (HDF) (Aplicaciones de células) procedentes de un donante de 39 años de edad y de un donante de 54 años de edad se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de 7-8x10³ células/cm² en medio 106 suplementado con LSGS a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂ durante 7 días. Después de este tiempo, las HEK se desdoblaron y, a continuación, se sembraron para tratamiento. Las células HEK procedentes de los donantes de 39 años de edad y de 54 años de edad se sembraron a una densidad de 6x10⁵ células/pocillo en placas de 6 pocillos. Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró. Las células HEK procedentes del donante de 54 años de edad se incubaron con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 en medio de cultivo recién preparado. Como un control basal, se incubaron únicamente con medio tres pocillos de células HEK procedentes del donante de 54 años de edad. Como un basal positivo, se incubaron únicamente con medio tres pocillos de células HEK procedentes del donante de 39 años de edad. Las condiciones de incubación fueron de 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Todos los tratamientos se realizaron en tres pocillos por conjunto de condiciones de cultivo. Las células HDF se sembraron a una densidad de 1,7-2,4x10⁶ células/pocillo en matraces de 25 cm². Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró y las células HDF se incubaron con los sobrenadantes de los cultivos de queratinocitos.

Después de 24 horas de incubación, las HDF se lisaron directamente en los pocillos siguiendo el protocolo descrito en el kit RNeasy Mini (Qiagen), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células lisadas se homogeneizaron y las RBasas se inactivaron. El ADN genómico se separó de las muestras usando columnas de centrifugación gDNA Eliminator. A continuación, las muestras se pasaron a través de columnas de unión de ARN especiales y, después de varios lavados de microcentrifugación para eliminar contaminantes e impurezas, el ARN purificado se eluyó con 50 µl de agua ultrapura. La cuantificación y análisis de pureza de las muestras de ARN se llevó a cabo después de elución del ARN con un biofotómetro (Eppendorf). Se retrotranscribieron 3 µg de ARN de alta calidad con iScript advanced (BioRad, Hercules, CA, USA) en un volumen final de 20 µl. La mezcla de reacción completa se incubó en un ciclador térmico (Eppendorf) a 42°C durante 30 minutos, la reacción se interrumpió a 85°C durante 5 minutos. El ADN complementario se amplificó mediante qPCR en un termociclador PCR de tiempo real (BioRad) usando súper-

- mezcla SYBRgreen (BioRad) en el panel de 96 pocillos prediseñado de matriz extracelular para uso con SYBR® Green (BioRad). El SYBR Green se une a las moléculas de ADN de doble hebra y emite fluorescencia que es cuantificada y es proporcional a la cantidad del producto en la reacción de PCR. Las condiciones de ciclado en el instrumento BioRad CFX96 son de 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 5 segundos, reasociación y alargamiento a 60°C durante 30 segundos. Como controles endógenos se usaron GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa), TBP (proteína de unión de caja TATA) y HRPT1 (hipoxantina fosforibosil-transferasa 1). El cambio de número de veces con relación a la expresión de los genes de la muestra y los genes de referencia se calculó usando el procedimiento de expresión normalizada ($\Delta\Delta(Ct)$), con valores de umbral de defectos usando el CFX Manager Software (BioRad).
- 10 Los resultados obtenidos con respecto al control basal (100%) de HDF del donante de 54 años de edad, se muestran en la Tabla 7. El valor representa la media de 5 experimentos diferentes.

Tabla 7

Símbolo	Nombre del gen	HDF de donante de 39 años de edad Niveles relativos (%)	HDF de donante de 54 años de edad con sobrenadante procedente de queratinocitos de donante de 54 años de edad tratados con exopolisacárido Niveles relativos (%)
COL3A1	Colágeno, Tipo II, Alfa 1	284,5	123,7
ITGA1	Integrina, Alfa 1 Adhesión de célula vascular	217,6	133,8
VCAM1	Molécula 1 Metalopeptidasa con trombospondina Tipo 1	1908,5	185,6
ADAMTS1	Motivo, 1	76,4	77,6
HYAL1	Hialuronoglucosaminidasa	40,1	41,3
MMP9	Matriz metaloproteínasa 9	26,1	69,2

- Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención sobre-regula los genes implicados en la síntesis de la matriz extracelular e infra-regula los genes implicados en la degradación de la matriz extracelular en fibroblastos procedentes del donante de mayor edad.

Ejemplo 6: Inducción de niveles de expresión de proteína conexina sobre la epidermis humana reconstruida mediante tratamiento con el exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, usando un ensayo inmunohistoquímico

- 20 Los uniones comunicantes (GJs) son canales formados por proteínas de membrana integrales denominadas conexinas (Cxs). En el compartimento epidérmico, una alteración inducida por la edad relacionada con GJs es la infra-regulación de Cxs. Para estudiar la expresión de las proteínas conexinas Cx37, Cx30.3, Cx30 y Cx59 en queratinocitos humanos, los autores de la presente invención han usado un sistema de cultivo tridimensional, tejido epidérmico humano reconstruido (RHE), que reproduce *in vitro* la organización histológica de la epidermis humana *in situ*.
- 25 Los modelos de tejido humano SkinEthic (EPISKIN) se retiraron de la solución de nutriente de agarosa en la placa multipocillos inmediatamente después de llegar y se colocaron en una placa de 6 pocillos, en la cual cada pocillo se había llenado previamente con medio de desarrollo SkinEthic (EPISKIN). Después de una noche de incubación a 37°C, 5% de CO₂, el RHE se trató con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, y con medio únicamente (condiciones basales), durante 24 horas a 37°C y 5% de CO₂. Después de 24 horas de tratamiento, los modelos de tejidos se fijaron en paraformaldehído (Sigma) al 4% durante 3 horas a 40°C y se lavaron 4 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (Sigma). A continuación, las muestras se trataron hasta un gradiente de sacarosa de desde 0,6 M hasta 2,3 M con incubaciones de 3 horas a temperatura ambiente. Después de la última incubación, los modelos de tejidos se embebieron en el compuesto Tissue Teck OCT (Aname). Las secciones de tejido congeladas de aproximadamente 10 µm de espesor se cortaron usando un criomicrotomo (Leica, CM3050), se recogieron sobre portaobjetos recubiertos y finalmente se almacenaron a -20°C.

La expresión de conexinas específicas se evaluó mediante inmunohistoquímica con anticuerpos primarios específicos y un anticuerpo secundario marcado mediante fluorescencia. Los portaobjetos descongelados se fijaron con solución congelada de acetona durante 10 minutos a temperatura ambiente y, a continuación, se lavaron con PBS. Los sitios no específicos se saturaron con suero de cabra normal al 10% durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de lavado con Tween al 0,2% en PBS, los portaobjetos se incubaron con los anticuerpos primarios (anticuerpo Anti-Connexin 37/GJA4, 30.3/GJB4, 59/GJA10 (Abcam), anti-Connexin 30 de conejo (Invitrogen) (diluido en suero de cabra al 10% en PBS) en una cámara humidificada a temperatura ambiente durante 2 horas. Al final de la incubación, los portaobjetos se lavaron con Tween al 0,2% en PBS y se incubaron con anticuerpo secundario anti-conejo IgG (H+L) Alexa Fluor®488 Goat (Invitrogen, colorante de emisión de fluorescencia verde) durante 1 hora a temperatura ambiente en una cámara humidificada oscura. Después de lavado con PBS, las secciones se montaron en un reactivo anti-decoloración Gold prolongado con Dapi (Invitrogen).

Las observaciones microscópicas se llevaron a cabo con un microscopio de fluorescencia Zeiss y con la cámara asociada se tomaron fotografías de cada condición. A partir de cada imagen de fluorescencia de las conexinas, los valores de ID (Densidad Integrada) se cuantificaron y normalizaron mediante control. Al menos se recogieron 4 imágenes representativas de cada condición y se analizaron con el software de Imagen J. La media representa los datos de 1 ó 2 experimentos independientes.

Los resultados obtenidos con respecto a las condiciones basales (100%) se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8

Proteína conexina	Niveles de proteínas (%)
Proteína Cx59	127,8
Proteína Cx37	205,1
Proteína Cx30	152,3
Proteína Cx30.3	156,5

Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención induce un incremento significativo en la expresión de proteínas conexinas en queratinocitos procedentes de epidermis humana reconstruida a la concentración ensayada.

Ejemplo 7: Restauración de los niveles de expresión de conexina en un modelo de menopausia *in vitro* mediante tratamiento con el exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571

El envejecimiento de la piel se produce por factores extrínsecos así como intrínsecos, entre ellos una disminución en la función de la glándula endocrina y una reducción en los niveles de hormonas en circulación. La menopausia causa el hipoestrogenismo, lo que acelera el deterioro relacionado con la edad de la piel. A continuación de la menopausia, muchas mujeres detectan un comienzo acelerado del envejecimiento de la piel; la piel se vuelve más fina con un contenido decreciente de colágeno, disminución de la elasticidad, incremento de arrugas e incremento de la sequedad. En la piel de mujeres post-menopáusicas el espesor disminuye un 1,13% por año post-menopáusico, con una disminución asociada en el contenido en colágeno (2% por año post-menopáusico). La comunicación intercelular de uniones comunicantes (GJIC) se considera que juega un papel importante en el control del crecimiento, diferenciación, mantenimiento de la homeostasis y morfogénesis celular. La GJIC está regulada por varios factores, incluyendo factores de crecimiento, oncogenes, Ca^{2+} , pH y hormonas. Las hormonas están implicadas en la regulación de la comunicación intracelular mediante la GJIC. El objeto del presente estudio es investigar la relación entre la disminución de la comunicación intercelular de uniones comunicantes y el envejecimiento de la piel hormonal. De acuerdo con ello, los autores del presente estudio han desarrollado un modelo *in vitro* de menopausia en queratinocitos mediante el tratamiento de los mismos con niveles de hormonas de mujeres menopáusicas. Los queratinocitos tratados con niveles de hormonas de mujeres no menopáusicas se usaron como un control basal. En el presente estudio, la eficacia del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, en la restauración de los niveles de conexinas en queratinocitos menopáusicos se evaluó mediante sistema de matriz RT-qPCR.

Las células de queratinocitos epidérmicos humanos (HEK) (Aplicaciones de células) procedentes de un donante de 19 años de edad se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de $3\text{-}5 \times 10^3$ células/cm² en Epilife suplementado con EDGS (Gibco) al 10% a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂ durante 7 días. Después de este tiempo, se desdoblaron y, a continuación, se sembraron para tratamiento. Las células HEK se sembraron a una densidad de $6\text{-}7,5 \times 10^5$ células/pocillo en placas de 6 pocillos en Epilife suplementado con EDGS al 0,1%. Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró. A continuación, para estimular las condiciones de menopausia, los queratinocitos se incubaron con concentraciones de hormonas menopáusicas y con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número

ro de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, y con medio únicamente con concentraciones de hormonas menopáusicas. Dos pocillos de estas células se incubaron con concentraciones de hormonas no menopáusicas como un control basal. Las condiciones de incubación fueron de 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Todos los tratamientos se realizaron en dos pocillos por conjunto de condiciones de cultivo.

- 5 Las concentraciones de hormonas en condiciones de no menopáusicas y menopáusicas se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9

Hormona	Concentración en condiciones no menopáusicas	Concentración en condiciones menopáusicas
β-Estradiol	750 pM	60 pM
Progesterona	60 nM	6 nM
Deshidroepiandrosterona	20 nM	2 nM
Hormona del crecimiento humano	0,005 µg/ml	0,0015 µg/ml
Factor 1 de crecimiento tipo insulina	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml

Después de 24 horas de incubación, las células se lisaron directamente en los pocillos siguiendo el protocolo descrito en el kit RNeasy Mini (Qiagen), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células lisadas se homogeneizaron y las RBasas se inactivaron. El ADN genómico se separó de las muestras usando columnas de centrifugación gDNA Eliminator. A continuación, las muestras se pasaron a través de columnas de unión de ARN especiales y, después de varios lavados de microcentrifugación para eliminar contaminantes e impurezas, el ARN purificado se eluyó con 50 µl de agua ultrapura. La cuantificación y análisis de pureza de las muestras de ARN se llevó a cabo después de elución del ARN con un biofotómetro (Eppendorf). Se retrotranscribieron 3 µg de ARN de alta calidad con iScript advanced (BioRad) en un volumen final de 20 µl. La mezcla de reacción completa se incubó en un ciclador térmico (Eppendorf) a 42°C durante 30 minutos, la reacción se interrumpió a 85°C durante 5 minutos. El ADN complementario se amplificó mediante qPCR en un termociclador PCR de tiempo real (BioRad) usando supermezcla SYBRgreen (BioRad) en el panel de 96 pocillos prediseñado de uniones comunicantes humano para uso con SYBR® Green (BioRad). El SYBR Green se une a las moléculas de ADN de doble hebra y emite fluorescencia que es cuantificada y es proporcional a la cantidad del producto en la reacción de PCR. Las condiciones de ciclado en el instrumento BioRad CFX96 son de 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 5 segundos, reasociación y alargamiento a 60°C durante 30 segundos. Como controles endógenos se usaron GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa), TBP (proteína de unión de caja TATA) y HRPT1 (hipoxantina fosforibosiltransferasa 1). El cambio de número de veces con relación a la expresión de los genes de la muestra y los genes de referencia se calculó usando el procedimiento de expresión normalizada ($\Delta\Delta(Ct)$), con valores de umbral de defectos usando el CFX Manager Software (BioRad).

Los resultados obtenidos con respecto a las células HEK en condiciones no menopáusicas (100%) se muestran en la Tabla 10. El valor representa la media de 5 experimentos independientes.

Tabla 10

Símbolo	Nombre del gen	HEK menopáusicas Niveles relativos (%)	HEK menopáusicas tratadas con exopolisacárido Niveles relativos (%)
GJA3	Proteína alfa-3 de unión comunicante	74,48	262,69
GJA4	Proteína alfa-3 de unión comunicante	71,99	173,31
GJA9	Proteína alfa-9 de unión comunicante	76,02	247,65
GJB3	Proteína beta-3 de unión comunicante	83,22	130,25

(continuación)

GJB4	Proteína beta-4 de unión comunicante	89,31	212,99
------	--------------------------------------	-------	--------

Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención restablece los niveles de conexinas en queratinocitos menopáusicos.

Ejemplo 8: Restauración de los niveles de expresión de conexina en queratinocitos más viejos con tratamiento del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571

El envejecimiento es un resultado del daño acumulado dentro de la piel, la cual ha perdido la parte de su red de comunicación. En el compartimento epidérmico, una alteración inducida por la edad se refiere a uniones comunicantes, es decir canales transmembrana entre dos células vecinas, que permiten el intercambio de iones. Realmente, la expresión de sus componentes, las conexinas (Cx), está sub-regulada durante el envejecimiento. De acuerdo con ello, el objetivo del presente estudio es investigar la eficacia anti-edad del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, mediante la evaluación de la expresión de conexina en queratinocitos más viejos comparados con queratinocitos más jóvenes, mediante el sistema de matriz RT-qPCR.

Las células de queratinocitos epidérmicos humanos (HEK) (Aplicaciones de células) se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de 2-4x10³ células/matraz en Epilife suplementado con EDGS (Gibco) a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂ durante 7 días. Después de este tiempo, se desdoblaron y, a continuación, se sembraron para tratamiento. Las células HEK procedentes del donante de 39 años de edad y del donante de 54 años de edad se sembraron a una densidad de 6x10⁵ células/pocillo en placas de 6 pocillos en el medio de cultivo. Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró. Los queratinocitos procedentes del donante de 54 años de edad se incubaron con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 en medio de cultivo recién preparado. Dos pocillos de estas células se incubaron con medio recién preparado como control basal. Como un control positivo, se incubaron dos pocillos de queratinocitos procedentes de un donante de 39 años de edad con medio recién preparado. Las condiciones de incubación fueron de 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Todos los tratamientos se realizaron en dos pocillos por conjunto de condiciones de cultivo.

Después de 24 horas de incubación, las células se lisaron directamente en los pocillos siguiendo el protocolo descrito en el kit RNeasy Mini (Qiagen), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células lisadas se homogeneizaron y las RBAsas se inactivaron. El ADN genómico se separó de las muestras usando columnas de centrifugación gDNA Eliminator. A continuación, las muestras se pasaron a través de columnas de unión de ARN especiales y, después de varios lavados de microcentrifugación para eliminar contaminantes e impurezas, el ARN purificado se eluyó con 50 µl de agua ultrapura. La cuantificación y análisis de pureza de las muestras de ARN se llevó a cabo después de elución del ARN con un biofotómetro (Eppendorf). Se retrotranscribieron 3 µg de ARN de alta calidad con iScript advanced (BioRad) en un volumen final de 20 µl. La mezcla de reacción completa se incubó en un ciclador térmico (Eppendorf) a 42°C durante 30 minutos, la reacción se interrumpió a 85°C durante 5 minutos. El ADN complementario se amplificó mediante qPCR en un termociclador PCR de tiempo real (BioRad) usando supermezcla SYBRgreen (BioRad) en el panel de 96 pocillos prediseñado de uniones comunicantes humanas para uso con SYBR® Green (BioRad). El SYBR Green se une a las moléculas de ADN de doble hebra y emite fluorescencia que es cuantificada y es proporcional a la cantidad del producto en la reacción de PCR. Las condiciones de ciclado en el instrumento BioRad CFX96 son de 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 5 segundos, reasociación y alargamiento a 60°C durante 30 segundos. Como controles endógenos se usaron GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa), TBP (proteína de unión de caja TATA) y HRPT1 (hipoxantina fosforibosiltransferasa 1). El cambio de número de veces con relación a la expresión de los genes de la muestra y los genes de referencia se calculó usando el procedimiento de expresión normalizada ($\Delta\Delta(Ct)$), con valores de umbral de defectos usando el CFX Manager Software (BioRad).

Los resultados obtenidos con respecto al control basal de HEK de donante de 54 años de edad (100%) se muestran en la Tabla 11. El valor representa la media de 4 experimentos independientes.

Tabla 11

Símbolo	Nombre del gen	HEK de donante de 39 años de edad Niveles relativos (%)	HEK de donante de 54 años de edad tratada con exopolisacárido Niveles relativos (%)
GJA1	Proteína alfa-1 de unión comunicante	149,2	162,16
GJA9	Proteína alfa-9 de unión comunicante	128,3	189,6
GJB2	Proteína beta-2 de unión comunicante	142,6	183,2
GJB6	Proteína beta-6 de unión comunicante	211,8	194,9

Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención restablece la expresión de conexina en queratinocitos procedentes de un donante de 54 años de edad a la que se encuentra en células de piel más jóvenes.

Ejemplo 9: Restauración de los niveles de expresión de proteína conexina en un modelo *in vitro* de menopausia en tejido epidérmico humano reconstruido mediante tratamiento con el exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, usando un ensayo inmunohistoquímico

El envejecimiento de la piel se produce por factores extrínsecos así como intrínsecos, entre ellos una disminución en la función de la glándula endocrina y una reducción en los índices de hormonas en circulación. La menopausia causa el hipoestrogenismo, lo que acelera el deterioro relacionado con la edad de la piel. A continuación de la menopausia, muchas mujeres detectan un comienzo acelerado del envejecimiento de la piel; la piel se vuelve más fina con un contenido decreciente de colágeno, disminución de la elasticidad, incremento de arrugas e incremento de la sequedad. En la piel de mujeres post-menopáusicas el espesor disminuye un 1,13% por año post-menopáusico, con una disminución asociada en el contenido en colágeno (2% por año post-menopáusico). La comunicación intercelular de uniones comunicantes (GJIC) se considera que juega un papel importante en el control del crecimiento, diferenciación, mantenimiento de la homeostasis y morfogénesis celular. La GJIC está regulada por varios factores, incluyendo factores de crecimiento, oncogenes, Ca^{2+} , pH y hormonas. Las hormonas están implicadas en la regulación de la comunicación intracelular mediante la GJIC. El objeto del presente estudio es investigar la relación entre la disminución de la comunicación intercelular de uniones comunicantes y el envejecimiento de la piel hormonal. De acuerdo con ello, los autores del presente estudio han desarrollado un modelo *in vitro* de menopausia en queratinocitos en tejido epidérmico humano reconstruido (RHE) tratado con niveles de hormonas de mujeres menopáusicas. Como comparación, se usó el tejido epidérmico humano reconstruido (RHE) tratado con niveles de hormona de mujeres no menopáusicas. En el presente estudio, la eficacia del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, en la restauración de los niveles de proteínas conexinas, Cx59 y Cx37, se evaluó mediante inmunohistoquímica.

Los modelos de tejido humano SkinEthic (EPISKIN) se retiraron de la solución de nutriente de agarosa en la placa multipocillos inmediatamente después de llegar y se colocaron en una placa de 6 pocillos, en la cual cada pocillo se había llenado previamente con medio de desarrollo SkinEthic (EPISKIN). Después de una noche de incubación a 37°C, 5% de CO₂, el medio se eliminó. A continuación, para estimular las condiciones de menopausia, el RHE se incubó con concentraciones de hormonas menopáusicas y con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, y con medio únicamente con concentraciones de hormonas menopáusicas. El RHE se incubó con concentraciones de hormonas no menopáusicas como un control positivo. Las condiciones de incubación fueron de 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Las muestras de RHE se embebieron en compuesto Tissue Teck OCT (Aname). Todos los tratamientos se llevaron a cabo en dos muestras de RHE por grupo de condiciones de cultivo.

Las concentraciones de hormonas para las condiciones no menopáusicas y menopáusicas se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12

Hormona	Concentración en condiciones no menopáusicas	Concentración en condiciones menopáusicas
β -Estradiol	750 pM	60 pM
Progesterona	60 nM	6 nM
Deshidroepiandrosterona	20 nM	2 nM
Hormona del crecimiento humano	0,005 μ g/ml	0,0015 μ g/ml
Factor 1 de crecimiento tipo insulina	0,2 μ g/ml	0,1 μ g/ml

Después de 24 horas de tratamiento, los modelos de tejidos se fijaron en paraformaldehído (Sigma) al 4% durante 3 horas a 40°C y se lavaron 4 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (Sigma). A continuación, las muestras se trataron hasta un gradiente de sacarosa de desde 0,6 M hasta 2,3 M con incubaciones de 3 horas a temperatura ambiente. Después de la última incubación, los modelos de tejidos se embebieron en el compuesto Tissue Teck OCT. Las secciones de tejido congeladas de aproximadamente 10 μ m de espesor se cortaron usando un criomicrotomo (Leica, CM3050), se recogieron sobre portaobjetos recubiertos y finalmente se almacenaron a -20°C.

La expresión de conexinas específicas se evaluó mediante inmunohistoquímica con anticuerpos primarios específicos y un anticuerpo secundario marcado mediante fluorescencia. Los portaobjetos descongelados se fijaron con solución congelada de acetona durante 10 minutos a temperatura ambiente y, a continuación, se lavaron con PBS. Los sitios no específicos se saturaron con suero de cabra normal al 10% durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de lavado con Tween al 0,2% en PBS, los portaobjetos se incubaron con los anticuerpos primarios (anticuerpo Anti-Conexina 37/GJA4 y 59/GJA10 (Abcam), diluido en suero de cabra al 10% en PBS) en una cámara humidificada a temperatura ambiente durante 2 horas. Al final de la incubación, los portaobjetos se lavaron con Tween al 0,2% en PBS y se incubaron con anticuerpo secundario anti-conejo IgG (H+L) Alexa Fluor®488 Goat (Invitrogen, colorante de emisión de fluorescencia verde) 1 hora a temperatura ambiente en una cámara humidificada oscura. Después de lavado con PBS, las secciones se montaron en un reactivo anti-decoloración Gold prolongado con Dapi (Invitrogen).

Las observaciones microscópicas se llevaron a cabo con un microscopio de fluorescencia Zeiss y con la cámara asociada se tomaron fotografías de cada condición. A partir de cada imagen de fluorescencia de las conexinas, los valores de ID (Densidad Integrada es el producto del área y del valor gris medio) se cuantificaron y normalizaron para control. Al menos se recogieron 12 imágenes representativas de cada condición y se analizaron con el software ZEN (Zeiss). El valor representa la media de 3 experimentos independientes.

Los resultados obtenidos con respecto al RHE de control basal bajo condiciones menopáusicas (100%) se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13

Proteína conexina	RHE no menopáusica Niveles de proteína (%)	RHE menopáusica tratada con exopolisacárido Niveles de proteína (%)
Proteína Cx59	135,4	144,0
Proteína Cx37	156,1	167,2

Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención restablece los niveles de conexina en el RHE menopáusico a condiciones no menopáusicas.

Ejemplo 10: Efecto del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 sobre la comunicación célula a célula epidérmica-dérmica en modelo menopáusico

El envejecimiento reduce el proceso de comunicación entre células. La diafonía entre fibroblastos y queratinocitos es esencial para la regeneración, reparación y crecimiento de la piel, e implica la actividad de un cierto número de men-

sajeros tales como factores de crecimiento y citocinas. Los queratinocitos son la fuente primaria de factores de crecimiento, los cuales pueden estimular no solamente los propios queratinocitos, sino también fibroblastos a través de la señal paracrina y afectan en gran medida la constitución molecular de la matriz extracelular (ECM) (Werner S, Krieg T, Smola H. "Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing". J. Invest. Dermatol. Vol. 127 (n° 5), págs 998-1008, (Mayo 2007). En este estudio, los presentes autores tienen el objetivo en primer lugar de mostrar que la disminución hormonal podría reducir la comunicación paracrina entre queratinocitos y fibroblastos afectando con ello la síntesis de la matriz extracelular. El efecto del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571, obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, entre la comunicación de queratinocito-fibroblasto menopáusico se evaluó y comparó con la comunicación de queratinocito-fibroblasto no menopáusico. La expresión de las proteínas de matriz en fibroblastos tratados con sobrenadante procedente de queratinocitos menopáusicos y con sobrenadante procedente de queratinocitos no menopáusicos se analizó mediante PCR cuantitativo.

Las células de queratinocitos epidérmicos humanos (HEKa) (Aplicaciones de células) procedentes de un donante de 19 años de edad se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de 5x10³ células/cm² en Epilife suplementado con EDGS (Gibco) y las células de fibroblasto dérmico humano de adulto (HDFa) procedentes de un donante de 18 años de edad se desarrollaron en matraces de 75 cm² a una densidad de 7-8x10³ células/cm² en medio 106 suplementado con LSGS (GIBCO) a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂ durante 7 días. Después de este tiempo, las HEKa se desdoblaron y, a continuación, se sembraron para tratamiento. Las células HEKa se sembraron a una densidad de 8,5x10⁵ células/pocillo en placas de 6 pocillos en Epilife suplementado con EDGS al 0,1%. Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró. A continuación, para estimular las condiciones menopáusicas, los queratinocitos se incubaron con hormonas menopáusicas y con 0,02 mg/ml del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, y con medio únicamente con hormonas menopáusicas como un control basal. Tres pocillos de estas células se incubaron con hormonas no menopáusicas como un control positivo. Las condiciones de incubación fueron de 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas. Todos los tratamientos se realizaron en tres pocillos por conjunto de condiciones de cultivo. Las células HDFa se sembraron a una densidad de 1,5x10⁶ células/pocillo en matraces de 25 cm². Después de 24 horas de incubación a 37°C en aire humidificado con 5% de CO₂, el medio se retiró y las células HDFa se incubaron con los sobrenadantes de los cultivos de queratinocitos.

Las concentraciones de hormonas para las condiciones no menopáusicas y menopáusicas se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14

Hormonas	Concentración para condiciones no menopáusicas	Concentración para condiciones menopáusicas
β-Estradiol	750 pM	60 pM
Progesterona	60 nM	6 nM
Deshidroepiandrosterona	20 nM	2 nM
Hormona del crecimiento humano	0,005 µg/ml	0,0015 µg/ml
Factor 1 de crecimiento tipo insulina	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml

Después de 24 horas de incubación, las HDFa se lisaron directamente en los pocillos siguiendo el protocolo descrito en el kit RNeasy Mini (Qiagen), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células lisadas se homogeneizaron y las RBasas se inactivaron. El ADN genómico se separó de las muestras usando columnas de centrifugación gDNA Eliminator. A continuación, las muestras se pasaron a través de columnas de unión de ARN especiales y, después de varios lavados de microcentrifugación para eliminar contaminantes e impurezas, el ARN purificado se eluyó con 50 µl de agua ultrapura. La cuantificación y análisis de pureza de las muestras de ARN se llevó a cabo después de elución del ARN con un biofotómetro. Se retrotranscribió 1 µg de ARN de alta calidad con iScript advanced (BioRad) en un volumen final de 20 µl. La mezcla de reacción completa se incubó en un ciclador térmico (Eppendorf) a 42°C durante 30 minutos, la reacción se interrumpió a 85°C durante 5 minutos. El ADN complementario se amplificó mediante qPCR en un termociclador PCR de tiempo real (BioRad) usando supermezcla SYBRgreen (BioRad) en el panel de 96 pocillos prediseñado de matriz extracelular para uso con SYBR® Green (BioRad). El SYBR Green se une a las moléculas de ADN de doble hebra y emite fluorescencia que es cuantificada y es proporcional a la cantidad del producto en la reacción de PCR. Las condiciones de ciclado en el instrumento BioRad CFX96 fueron de 95°C durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 5 segundos, reasociación y alargamiento a 60°C durante 30 segundos. Como controles endógenos se usaron GAPDH (gliceraldehído 3-fosfato

deshidrogenasa), TBP (proteína de unión de caja TATA) y HRPT1 (hipoxantina fosforibosiltransferasa 1). El cambio de número de veces con relación a la expresión de los genes de la muestra y los genes de referencia se calculó usando el procedimiento de expresión normalizada ($\Delta\Delta(Ct)$), con valores de umbral de defectos usando el CFX Manager Software (BioRad).

- 5 Los resultados obtenidos con respecto al control basal de HDFa tratados con sobrenadante procedente de queratinocitos menopáusicos (100%) se muestran en la Tabla 15. El valor representa el dato de un experimento.

Tabla 15

Símbolo	Nombre del gen	HDFa tratado con sobrenadante procedente de queratinocitos no menopáusicos Niveles relativos (%)	HDFa tratado con sobrenadante procedente de queratinocitos menopáusicos tratados con exopolisacárido Niveles relativos (%)
ACTN1	Actinina, alfa 1	126,5	137,3
COL11A1	Colágeno, tipo XI, alfa 1	130,2	122,6
COL12A1	Colágeno, tipo XII, alfa 1	126,1	123,7
COL16A1	Colágeno, tipo XVI, alfa 1	146,0	148,2
COL6A2	Colágeno, tipo VI, alfa 2	127,3	127,6
COL7A1	Colágeno, tipo VII, alfa 1	192,6	149,4
HAS1	Hialuronano sintasa 1	197,6	156,9
ICAM1	Molécula 1 de adhesión intercelular	123,7	200,0
ITGA5	Integrina, alfa 5	132,8	132,5
ITGA7	Integrina, alfa 7	141,4	122,9
ITGA8	Integrina, alfa 8	119,1	175,4
ITGAV	Integrina, alfa V	121,6	134,1
ITGB5	Integrina, beta V	120,2	136,6
LAMB3	Laminina, beta 3	152,6	196,9
LAMC1	Laminina, gamma 1	138,6	121,2
TGFB1	Factor de crecimiento de transformación, beta-inducido, 68kDa	137,4	126,6
THBS3	Trombospondina 3	216,6	117,9
TLN1	Talina 1	136,2	135,7
VCAN	Versican	121,6	117,9
VTN	Vitronectina	499,8	242,3
MMP13	Matrix metalopeptidasa 13	41,1	29,1

- 10 Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención sobre-regula genes implicados en la síntesis de la matriz extracelular y sub-regula genes implicados en la degradación de la matriz extracelular (MMP13) en fibroblastos tratados con sobrenadante procedente de queratinocitos menopáusicos.

Ejemplo 11: Estudio del incremento de la acumulación de lípidos en preadipocitos subcutáneos humanos primarios producidos por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571

Una alteración de la piel relacionada con la edad es una reducción en la grasa subcutánea. La comunicación intercelular de uniones comunicantes (GJIC) parece jugar un papel importante en el proceso de adipogénesis, el proceso por el cual los preadipocitos pasan a ser adipocitos en la masa de grasa.

La cuantificación de la adipogénesis se evaluó con el reactivo de ensayo de adipogénesis AdipoRed™ (Lonza). El incremento de la acumulación de lípidos se determinó midiendo la señal de fluorescencia de Rojo Nilo en preadipocitos subcutáneos humanos primarios después de tratamiento con exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 en medio de diferenciación de adipocitos. Las células tratadas con medio de diferenciación de adipocitos solamente se usaron como control basal.

Preadipocitos humanos (procedentes de un donante de 22 años de edad) (ZENBIO) se sembraron (13.000 células/pocillo, 5 pocillos por condición) en placas transparentes de 96 pocillos en medio de desarrollo de preadipocitos (ZENBIO). Las células se incubaron durante 24 horas a 37°C en una atmósfera saturada en agua de 95% de aire y 5% de CO₂. Después de la incubación, el medio se retiró y las células se incubaron con exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571 obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 a 0,02 mg/ml en medio de diferenciación de adipocitos (ZENBIO) (con el fin de inducir la diferenciación de preadipocitos en adipocitos) durante 8 días a 37°C y 5% de CO₂. En el control basal, los preadipocitos se trataron únicamente con el medio de diferenciación de adipocitos. Como un control negativo, los preadipocitos se trataron con el medio de diferenciación de adipocitos y cafeína.

La cuantificación de la acumulación de lípidos se llevó a cabo mediante ensayo con el reactivo AdipoRed™ (Lonza). Siguiendo las instrucciones del fabricante, las células de preadipocitos diferenciadas para cada condición se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) con calcio y magnesio (Sigma) y se agregó reactivo AdipoRed diluido. Tras completarse la adición de reactivo, las células se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación, la fluorescencia de los lípidos neutros se midió usando el lector ClarioStar (S/N 430-01109) (BMG) con longitudes de onda de excitación y emisión de 485 nm y 530 nm, respectivamente. Se calculó el porcentaje de acumulación de lípidos normalizados comparada con el control basal.

Los resultados obtenidos, con respecto a las condiciones basales (100%), se muestran en la Tabla 16. El valor representa la media de 3 experimentos independientes.

Tabla 16

Producto	Concentración	% de acumulación de lípido frente a control basal
Exopolisacárido	0,02 mg/ml	117,93
Cafeína 200 µg/ml	2,5 µg/ml	87,50

Los resultados muestran que el exopolisacárido de la invención incrementa los porcentajes de acumulación de lípido intracelular durante el proceso adipogénico en cultivos de preadipocitos subcutáneos humanos.

Aunque se han mostrado ciertas realizaciones y detalles representativos con el fin de ilustrar el sujeto de la invención, resultará evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse diversos cambios y modificaciones en la misma sin apartarse del ámbito del sujeto de la invención. A este respecto, el alcance de la invención está únicamente limitado por las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Uso del extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalia* para tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas.
- 5 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membrana mucosa, cabello y/o uñas es un tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención de envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel y/o para la prevención de la pérdida de firmeza de la piel, tratamiento y/o prevención de la piel seca, labios agrietados, caspa, cabello seco, cabello y/o uñas quebradizas.
- 10 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membrana mucosa, cabello y/o uñas incrementa el nivel de conexinas en la piel.
4. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones previas, en el que el extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* tiene un peso molecular de al menos 10 kDa.
5. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones previas, en el que el extracto de fermento producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* contiene al menos un exopolisacárido.
- 15 6. Uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, membranas mucosas, cabello y/o uñas.
7. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, en el que el exopolisacárido contiene los monosacáridos rahnrosa, galactosa, glucosa, mannososa y D-glucosamina.
- 20 8. Uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el exopolisacárido tiene una composición en peso de 0,5% a 45% de rahnrosa, 0,1% a 25% de galactosa, 0,5% a 30% de mannososa, 50% a 95% para la suma de glucosa y D-glucosamina, 0% a 10% de fucosa y 0% a 12% de ácido glucurónico, con la condición de que la suma de los porcentajes no exceda de 100%.
9. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones previas, en el que la cepa de la especie *Halomonas eurihalina* es una cepa de la especie *Halomonas eurihalina* con número de depósito LMG P-28571.
- 25 10. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que el tiempo de retención del exopolisacárido producido por una cepa de *Halomonas eurihalina* está entre 4 y 8,5 minutos en un análisis de HPLC con una columna cromatográfica para cromatografía acuosa de exclusión por tamaño, con un tamaño de partícula de 8 µm, un tamaño de poro de 50 Å y una longitud/diámetro interno de 300 mm x 7,5 mm y acetato sódico 0,1 M en agua como eluyente con un caudal de 0,8 ml/min.
- 30 11. Composición cosmética que comprende una cantidad eficaz cosméticamente de un extracto de fermento o exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas eurihalina*, y al menos un excipiente y/o ingrediente aceptable cosméticamente.
- 35 12. Composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el extracto de fermento se incorpora dentro de un sistema de administración cosmética y/o sistema de liberación sostenido o es absorbido en un polímero orgánico sólido o soporte mineral sólido.
- 40 13. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, en la que la composición se presenta en una formulación seleccionada entre el grupo formado por cremas, emulsiones múltiples, soluciones, cristales líquidos, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles de cremas, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sueros, jabones, champús, acondicionadores, sueros, películas polisacáridas, ungüentos, cremas batidas, pomadas, polvos, barras, lápices, esprais o aerosoles.
14. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, la cual se incorpora en una tela, tela no tejida o dispositivo médico.
- 45 15. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en la que el excipiente y/o ingrediente aceptable cosméticamente está seleccionado entre el grupo formado por agentes que inhiben la exocitosis neuronal, agentes anticolinérgicos, agentes que inhiben la contracción muscular, agentes anti-envejecimiento, agentes anti-arrugas, humectantes, sustancias que retienen la humedad, alfa hidroxí ácidos, beta hidroxí ácidos, humectantes, agentes estimuladores de la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir o prevenir su degradación, agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes estimuladores de la síntesis de decorina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina, agentes estimuladores de la síntesis de defensina, agentes estimuladores de la síntesis de chaperona, agentes estimuladores de la síntesis de cAMP, agentes que modulan la AQP-3, agentes que modulan la síntesis de aquaporina, proteínas procedentes de la familia de la aquaporina, agentes estimuladores de la síntesis de ácido hialurónico, agentes estimuladores de la síntesis de glucosaminoglu-

cano, agentes estimuladores de la síntesis de fibronectina, agentes estimuladores de la síntesis de sirtuina, proteínas de choque térmico, agentes estimuladores de la síntesis de proteínas de choque térmico, agentes que reducen la cantidad de nocturnina, agentes inhibidores de la expresión de nocturnina, agentes lipolíticos o agentes simuladores de la lipólisis, agentes venotónicos, agentes moduladores de la expresión de PGC-1 α ,
5 agentes inhibidores de la actividad de PPAR γ , agentes que reducen el contenido en triglicérido de adipocitos, agentes anti-celulitis, agentes retardadores de la diferenciación de lipocitos, agentes que disminuyen la producción de sebo, agentes anti-seborréicos, agentes matificantes, agentes anti-acné, agentes anti-transpirantes, agentes anti-inflamatorios y/o analgésicos, agentes anti-escozores, agentes calmantes, agentes anestésicos, inhibidores de la agregación de receptores de acetilcolina, agentes que inhiben la acetilcolinesterasa,, agentes
10 relajantes de la piel, agentes estimuladores o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes blanqueantes o despigmentantes, agentes propigmentantes, agentes auto-bronceado, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes inhibidores de la 5 α -reductasa, agentes inhibidores de la lisil- y/o propil-hidroxilasa, antioxidantes, purificadores de radicales libres y/o agentes contra la polución atmosférica, purificadores de especies carbonilo reactivas, agentes anti-glucación, agentes antihistamina, agentes antivíricos, agentes antiparasitarios, emulsificadores, emolientes, disolventes orgánicos, propulsores líquidos, acondicionadores de la piel, enzimas hidrolíticas epidérmicas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, pigmentos o colorantews, tintes, biopolímeros, polímeros gelificantes, espesantes, tensioactivos, agentes suavizantes, emulsificadores, agentes aglomerantes, conservantes, agentes capaces de reducir o tratar las bolsas de debajo de los ojos, agentes exfoliantes, agentes queratolíticos, agentes desescamantes, agentes antimicrobianos, agentes antihongos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas, agentes bacteriostáticos, agentes estimuladores de la síntesis de componentes del estrato córneo, ceramidas, ácidos grasos, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben las metaloproteínas de la matriz, agentes que inhiben la degradación de elastina, agentes que inhiben las serina proteasas, agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, agentes estimuladores de la proliferación de queratinocitos, agentes estimuladores de la proliferación de melanocitos, agentes estimuladores de la diferenciación de queratinocitos, agentes antihiperqueratosis, agentes comedolíticos, agentes anti-psoriasis, agentes reparadores del ADN, agentes protectores del ADN, agentes protectores de células madre, estabilizadores, agentes para el tratamiento y/o cuidado de piel sensible, agentes reafirmantes, agentes anti-marcas de estiramientos, agentes astringentes, agentes que inhiben la actividad de PAR-2, agentes estimuladores de la cicatrización de heridas, agentes coadyuvantes de la cicatrización de heridas, agentes estimuladores de la re-epitelización, agentes coadyuvantes de la re-epitelización, factores de crecimiento de citocina, agentes que actúan sobre la circulación y/o microcirculación capilar, agentes estimuladores de la angiogénesis, agentes que inhiben la permeabilidad vascular, agentes que actúan sobre el metabolismo de la célula, agentes para mejorar la unión dérmica-epidérmica, agentes inductores del crecimiento del cabello, agentes inhibidores o retardantes del crecimiento del cabello, agentes inhibidores de la caída del cabello, conservantes, perfumes, producto cosméticos y/o absorbentes y/o desodorantes enmascaradores de olores corporales, agentes quelantes, extractos de plantas, aceites esenciales, extractos marinos, agentes obtenidos a partir de procesos biotecnológicos, sales minerales, extractos de células, cremas solares y agentes fotoprotectores orgánicos o minerales activos contra los rayos ultravioleta A y/o B y/o rayos infrarrojos A, o mezclas de los mismos.