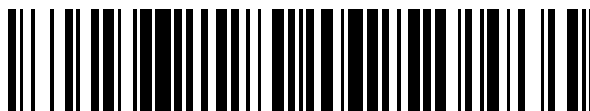


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 747 124**

51 Int. Cl.:

A61Q 19/08 (2006.01)

A61Q 19/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.10.2014 PCT/EP2014/073401**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15063240**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2014 E 14792493 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 3062759**

54 Título: **Exopolisacárido para el tratamiento y/o cuidado de la piel, medios de cultivo y composiciones de estos**

30 Prioridad:

30.10.2013 EP 13382437

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

10.03.2020

73 Titular/es:

**LIPOTEC, S.A.U (100.0%)
Polígono Industrial Camí Ral
08850 Gavà (Barcelona), ES**

72 Inventor/es:

**GARCÍA SANZ, M NURIA;
FERRER MONTIEL, ANTONIO, VICENTE;
SOLEY ASTALS, ALBERT y
ALMIÑANA DOMÉNECH, NÚRIA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 747 124 T3

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

DESCRIPCIÓN

Exopolisacárido para el tratamiento y/o cuidado de la piel, medios de cultivo y composiciones de estos

Campo de la invención

5 La tecnología divulgada se refiere a un exopolisacárido de origen bacteriano, que reduce la acumulación de lípidos. Dicho producto es secretado por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*. La presente invención se refiere al uso de dicho exopolisacárido de origen bacteriano en composiciones cosméticas y para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel.

Antecedentes de la invención

10 La piel, la membrana mucosa, el cabello y/o las uñas constituyen una barrera física entre un organismo y su entorno. La piel está compuesta de dos tejidos: la epidermis y la dermis. La dermis forma aproximadamente el 90 % del grosor de la piel y contiene colágeno, elastina, varias estructuras diferenciadas, como vasos sanguíneos, glándulas sudoríparas y principalmente tipos de células, como fibroblastos, macrófagos y adipocitos.

15 En la piel, los adipocitos se encuentran en las capas más profundas de la dermis, la hipodermis. Los adipocitos están organizados en lóbulos, separados por tabiques de tejido conectivo que contienen vasos, nervios y ganglios linfáticos. La función principal de los adipocitos es el almacenamiento de grasa en las vacuolas en forma de triglicéridos. Además de esta función relacionada con la energía, estas células también participan en la producción de algunas hormonas (estrógenos), así como en la síntesis de moléculas implicadas en la respuesta inflamatoria.

20 Uno de los trastornos relacionados con las células adiposas de la hipodermis en el que la industria cosmética se ha enfocado en gran medida es la celulitis. La celulitis es el resultado de una acumulación excesiva de lípidos en el tejido adiposo que ejerce una presión considerable sobre el tejido epitelial circundante, lo que resulta en una apariencia irregular de la piel con la presencia de hoyuelos. Desde un punto de vista estético, esta apariencia ha sido llamada piel de naranja.

25 Para el tratamiento de este problema, existen varios agentes que estimulan la lipólisis al reducir el volumen de lípidos acumulados, mostrando así un efecto de drenaje que reduce el volumen al eliminar el agua retenida almacenada entre los tejidos. Además, también se pueden usar otros agentes con efecto reafirmante en el tratamiento de la celulitis que corrigen la apariencia irregular de la piel.

30 El agente anticelulítico más utilizado es la cafeína debido a sus efectos lipolíticos en los adipocitos [Vogelgesang B. et al., "In vitro and in vivo efficacy of sulfo-carrabiose a sugar-based cosmetic INGREDIENTS with anti-cellulite properties", Int. J. Cosmet. Sci., 2011, 33(2), 120-5; Nakabayashi H. et al., "Inhibitory effects of caffeine and its metabolites on intracellular lipid accumulation in murine 3T3-L1 adipocytes", Biofactors, 2008, 34(4), 293-302], además de sus efectos drenantes. Además, también existe una gran cantidad de agentes alternativos que poseen mecanismos similares. Una estrategia reciente en la búsqueda de nuevos agentes anticelulíticos se basa en la influencia sobre las acciones relacionadas con los ritmos circadianos en la piel, [Dupressoir A. et al., "Characterization of a mammalian gene related to the yeast CCR4 general transcription factor and revealed by transposon insertion", J. Biol. Chem. 1999, 274(43), 31068-75; Dupressoir A. et al., "Identification of four families of yCCR4- and Mg²⁺-dependent endonuclease-related proteins in higher eukaryotes, and characterization of orthologs of yCCR4 with a conserved leucine-rich repeat essential for hCAF1/hPOP2 binding", BMC Genomics, 2001, 2:9; Green C.B. et al., "Loss of Nocturnin, a circadian deadenylase, confers resistance to hepatic steatosis and diet-induced obesity", Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 2007, 104(23), 9888-93] que, al igual que otros tejidos, experimenta variaciones funcionales debido a cambios entre el día y la noche.

45 En seres humanos, así como en otras especies animales, una gran parte de su comportamiento social y sus funciones fisiológicas varían de un día a otro de manera rítmica. El sistema que define el reloj circadiano comprende componentes centrales y periféricos. En los mamíferos, el componente central de este sistema oscilatorio reside en el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo anterior [Boivin D.B. et al., "Circadian clock genes oscillate in human peripheral blood mononuclear cells", Blood 2003, December, 102(12), 4143-4145]. Este núcleo funciona principalmente mediante la recepción de señales de luz de las células de retina especializadas, las células ganglionares de la retina y la activación de una serie de mecanismos transcripcionales, traduccionales y postraduccionales que involucran varios genes, como CLOCK, BMAL1, PER y CRY que dan como resultado cascadas de expresión génica con periodicidad de 24 horas. Green C.B. et al., "The Meter of Metabolism", Cell, 2008, 134(5), 728-742. Los tejidos y órganos periféricos también poseen sistemas reguladores autónomos que son independientes del reloj central, pero usan la misma maquinaria de genes y muestran sincronización con un estímulo externo al que el tejido puede estar sujeto [Kaway M. and Rosen C.J., "PPAR γ : a circadian transcription factor in adipogenesis and osteogenesis", Nat. Rev. Endocrinol., 2010, 6, 629-636].

55 Algunas funciones que intervienen en la regulación de los ritmos circadianos, o que están sujetas a ellas, son la producción de hormonas, niveles de citocinas, regulación de la temperatura o niveles de glucosa, entre otros [Mehling A. and Fluhr J.W., "Chronobiology: biological clocks and rhythms of the skin", Skin Pharmacol. Physiol, 2006, 19(4), 182-9].

Varias de las funciones de la piel también están sujetas a ritmos circadianos, similares a los que se producen en otros órganos. Por lo tanto, se ha observado que diversos parámetros investigados en la mujer, como la circulación sanguínea, el contenido de aminoácidos y la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) aumentan durante la noche. Por otro lado, la producción de sebo, medida en la frente con un sebumeter, da sus valores más altos alrededor del mediodía. El pH de la piel tiende a disminuir durante la noche y luego aumenta durante el día. La circulación sanguínea de la piel muestra ritmos circadianos e intervalos durante el día desde baja circulación temprano en la mañana hasta luego aumentando, alcanzando sus valores máximos en las últimas horas de la tarde hasta la noche. Curiosamente, los ritmos circadianos también se pueden encontrar a nivel celular en la piel, ya que se ha observado que la proliferación de células epidérmicas demuestra sus valores más altos a alrededor de las 11 p.m. [Mehling A. and Fluhr J.W., "Chronobiology: biological clocks and rhythms of the skin", *Skin Pharmacol. Physiol.*, 2006, 19(4), 182-9].

Una de las funciones nocturnas en las que se ha observado un efecto es la de la adipogénesis, ya que uno de los genes estudiados con dicho efecto es la nocturnina. Por lo tanto, en algunos de los primeros estudios llevados a cabo con la retina de *Xenopus laevis* que tenían como objetivo aislar genes afectados por ritmos circadianos, se observó que la expresión de ARNm de nocturnina estaba presente en niveles altos a principios de la noche. [Green C.B. and Besharse J.C., "Identification of a novel vertebrate circadian clock-regulated gene encoding the protein Nocturnin", *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1996, 93(25), 14884-8]. Por otro lado, más tarde se descubrió que, además de expresarse en la retina en ratas, el ARNm de nocturnina se expresó en numerosos tejidos, como el hígado, cerebro, pulmones, corazón, ovarios, músculo esquelético, testículos y médula ósea. De manera similar, se observó que existía una gran variación circadiana en la expresión del ARNm de nocturnina, con sus niveles máximos ocurriendo al comienzo de la noche [Dupressoir A. et al., "Characterization of a mammalian gene related to the yeast CCR4 general transcription factor and revealed by transposon insertion", *J. Biol. Chem.* 1999, 274(43), 31068-75; Dupressoir A. et al., "Identification of four families of yCCR4- and Mg²⁺-dependent endonuclease-related proteins in higher eukaryotes, and characterization of orthologs of yCCR4 with a conserved leucine-rich repeat essential for hCAF1/hPOP2 binding", *BMC Genomics*, 2001, 2:9].

Con respecto a la función de la nocturnina, los estudios con ratones anulados que no pudieron expresar la nocturnina demostraron que, a pesar de que estos individuos mostraron un comportamiento circadiano general normal, presentaron resistencia a la obesidad inducida por la dieta y también mostraron otros cambios metabólicos, como una menor acumulación de lípidos en el hígado. Por lo tanto, este fenotipo metabólico sugiere que la nocturnina controla canales circadianos secundarios específicos asociados con la acumulación y el uso de lípidos. [Green C.B. et al., "Loss of Nocturnin, a circadian deadenylase, confers resistance to hepatic steatosis and diet-induced obesity", *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2007, 104(23), 9888-93]. Otra de las funciones en las que se ha observado la participación de la nocturnina es la inflamación. La nocturnina estabiliza la transcripción proinflamatoria iNOS y una reducción en la nocturnina significaría una reducción en la inflamación. [Niu S. et al., "The circadian deadenylase Nocturnin is necessary for stabilization of the iNOS mRNA in mice" *PLoS one* 2011, 6(11), e26954].

Como la nocturnina es un marcador que se correlaciona con la acumulación y el uso de lípidos, puede usarse como base para estudios adicionales para identificar la actividad de estimulación o reducción en la acumulación de lípidos en los adipocitos en la dermis y en el tratamiento de la inflamación.

Sorprendentemente, el solicitante de esta invención ha encontrado un exopolisacárido de origen bacteriano que es una alternativa a los problemas en el estado de la técnica mencionado anteriormente con respecto a la acumulación de lípidos, celulitis, inflamación o lipólisis, entre otros.

Sumario de la invención

La tecnología divulgada proporciona una solución para el problema de la acumulación de lípidos y la celulitis mediante el uso del exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere al uso del exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel y composiciones cosméticas que comprenden el exopolisacárido. También se divulgan en la presente memoria el exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*, el exopolisacárido para su uso en el tratamiento terapéutico de la piel y composiciones farmacéuticas o dermofarmacéuticas que comprenden el exopolisacárido. Sorprendentemente, los inventores de esta invención han descubierto que el exopolisacárido mencionado anteriormente reduce la acumulación de lípidos. En particular, la disminución en el nivel de proteína nocturnina reduce la acumulación de lípidos en la piel.

Definiciones

Para 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.

Como se usa en la presente memoria, el término de transición "que comprende", que es sinónimo de "que incluye", "que contiene" o "caracterizado por", es inclusivo o abierto y no excluye elementos adicionales no recitados o etapas del procedimiento. Sin embargo, en cada recitación de "que comprende" en la presente memoria, se pretende que el término también abarque, como realizaciones alternativas, las frases "que consiste esencialmente en" y "que consiste en", donde "que consiste en" excluye cualquier elemento o etapa no especificados y "que consiste esencialmente en" permite la inclusión de elementos o etapas adicionales no recitados que no afectan materialmente las características esenciales o básicas y novedosas de la composición o procedimiento bajo consideración.

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

En el contexto de esta invención, se entiende por "piel" las capas que la comprenden, desde la capa superior o estrato córneo hasta la capa inferior o hipodermis, ambas incluidas. Estas capas están compuestas por diferentes tipos de células, como queratinocitos, fibroblastos, melanocitos y/o adipocitos, entre otros. En el contexto de esta invención, el término "piel" incluye el cuero cabelludo.

El término "tratamiento", 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" también cubre la capacidad de aliviar o eliminar las consecuencias fisiológicas de la enfermedad o trastorno.

Cuando el término "tratamiento" va acompañado de las calificaciones "cosmético, no terapéutico", se refieren a la aplicación del compuesto a la piel, en particular con el objetivo de mejorar las cualidades cosméticas de la piel, tales como y no restringidas a, su nivel de hidratación, elasticidad, firmeza, brillo, tono o textura, entre otros. El término "cuidado" en esta invención se refiere al mantenimiento de las cualidades de la piel e incluye la higiene corporal y/o capilar. Estas cualidades están sujetas a mejora y se mantienen a través de un tratamiento cosmético y/o cuidado de la piel, tanto en sujetos sanos como en aquellos que presentan enfermedades y/o trastornos de la piel, tales como y no restringidas a, úlceras y lesiones en la piel, psoriasis, dermatitis, acné o rosácea, entre otros.

El término "prevención", como se usa en la presente invención, se refiere a la capacidad de un compuesto de la invención para prevenir, retrasar u obstaculizar la aparición o desarrollo de una enfermedad o trastorno 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 (cronoenvejecimiento) o a través de la exposición al sol (fotoenvejecimiento) o a agentes ambientales como el humo del tabaco, condiciones climáticas extremas de frío, calor, o viento, contaminantes químicos o polucionantes, e incluye todos los cambios externos visibles y/o perceptibles a través del tacto, tales como y no restringidos a, desarrollo de discontinuidades en la piel, como arrugas, líneas finas, surcos, irregularidades o asperezas, aumento del tamaño de los poros, pérdida de elasticidad, pérdida de firmeza, pérdida de suavidad, pérdida de la capacidad de recuperación de la deformación, descolgamiento de la piel, como el descolgamiento de las mejillas, la aparición de bolsas debajo de los ojos o la aparición de un doble mentón, entre otros, cambios al color de la piel, como manchas, enrojecimiento, bolsas debajo de los ojos o la aparición de áreas hiperpigmentadas, como manchas de edad o pecas, entre otras, diferenciación anómala, hiperqueratinización, elastosis, queratosis, pérdida de cabello, piel de cáscara de naranja, pérdida de estructura de colágeno y otros cambios histológicos del estrato córneo, hipodermis, dermis, epidermis, sistema vascular (por ejemplo, la aparición de arañas vasculares o telangiectasias) o de esos tejidos cerca de la piel, entre otros. El término "fotoenvejecimiento" agrupa el conjunto de procesos debido a la exposición prolongada de la piel a la radiación ultravioleta que resulta en el envejecimiento prematuro de la piel, y presenta las mismas características físicas que el envejecimiento, tales como y no restringidas a, flacidez, descolgamiento cambios en el color o irregularidades en la pigmentación, queratinización anormal y/o excesiva.

También se divulga en la presente memoria el exopolisacárido excretado por una cepa de especies de *Halomonas anticariensis* para su uso en el tratamiento de la piel. En particular, el tratamiento se refiere al tratamiento de inflamación en la piel, y/o reepitelización y/o cicatrización de heridas en la piel. En particular, la inflamación se selecciona, por ejemplo, y no se limita a, del grupo formado por psoriasis, piel sensible, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, dermatitis del pañal, dermatitis seborreica, eczema, rosácea, acné, enfermedad hiperproliferativa de la piel, quemaduras, quemaduras solares, paroniquia, inflamación de la piel después de cirugía, después del tratamiento con terapia de luz pulsada intensa (IPL), después del tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (láser), después del tratamiento con agentes químicos de descamación o después de la sobreexposición a agentes externos agresivos, entre otros.

La presente invención se refiere al uso del exopolisacárido excretado por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o cuidado de la piel, en particular para el tratamiento y/o prevención de la celulitis, tratamiento de reducción de acumulación de lípidos en la piel, estimulación de la lipólisis en la piel, estimulación de la síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención del envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel, para prevenir la pérdida de firmeza de la piel y/o tratamiento para mejorar la elasticidad de la piel.

Preferiblemente, el tratamiento, el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o el cuidado de la piel reducen la cantidad de nocturna en las células.

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

- 5 En otra realización particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891. Dicha cepa se depositó el 18 de septiembre de 2013 en la Colección Coordinada de Microorganismos de Bélgica (BCCM)/Laboratorium voor Microbiologie-Bacterieverzameling (LMG) (BCCM/LMG) (Universidad de Gante, K.L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Gante, Bélgica) como institución legalmente reconocida para dicho propósito de acuerdo con el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos el 28 de abril de 1977.

- 10 El exopolisacárido excretado por la cepa bacteriana de la especie *Halomonas anticariensis* contiene los monosacáridos glucosa, manosa y ramnosa. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891. El exopolisacárido de esta invención muestra una composición en peso de 1 % a 22 % de glucosa, 50 % a 85 % de manosa, 15 % a 30 % de ramnosa, con la condición de que la suma de los porcentajes no supere el 100 %. Incluso más preferiblemente, el exopolisacárido muestra una composición en peso de 1,5 % a 20 % de glucosa, 55 % a 80 % de manosa, 18 % a 26 % de ramnosa. Incluso más preferiblemente, el exopolisacárido muestra una composición en peso de 1,5 % a 18 % de glucosa, 58 % a 78 % de manosa, 20 % a 25 % de ramnosa. Opcionalmente, el exopolisacárido además contiene hasta 3 % de ácido galacturónico y/o hasta 4 % de xilosa, preferiblemente menos del 2 % de ácido galacturónico y menos del 2 % de xilosa, y más preferiblemente menos del 1 % de ácido galacturónico y menos del 1 % de xilosa.

- 15 En otra realización particular, el exopolisacárido excretado por la cepa bacteriana de la especie *Halomonas anticariensis* tiene un tiempo de residencia entre 4 y 10 minutos, y más preferiblemente entre 5 y 9 minutos en un análisis cromatográfico de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), con una columna cromatográfica PL AQUAGEL-OH COLUMNAS SEC ACUOSAS de 8 µm y agua con acetato de sodio 0,1 M como eluyente y tasa de flujo 0,8 ml/min. PL AQUAGEL-OH COLUMNAS SEC ACUOSAS de 8 µm es una columna para cromatografía de exclusión por tamaño acuosa, con un envase que tiene la capacidad de separar compuestos dependiendo de su MW, aplicado a polímeros neutros, aniónicos y catiónicos solubles en agua 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.

- 25 En otra realización particular, el exopolisacárido puede obtenerse mediante fermentación de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* en un medio de cultivo adecuado, convencionalmente agitado y aireado para sintetizar y secretar dicho producto al medio de cultivo seguido del aislamiento y purificación. La fermentación para producir el exopolisacárido de esta invención se puede llevar a cabo en un medio agitado y aireado a una temperatura entre 15 °C y 40 °C, preferiblemente a 32 °C, el medio que tiene un pH entre 5,5 y 9, preferiblemente alrededor de 7,0, ajustándolo si es necesario durante la fermentación. La duración de la fermentación es entre 12 y 120 horas, preferiblemente entre 24 y 72 horas.

- 35 En otra realización particular, en la fermentación de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis*, un medio de cultivo que contiene azúcares exógenos, tales como y no restringidos a, galactosa, glucosa, amigdalina, celobiosa, maltosa, almidón, glucógeno, lactosa, mezclas de estos y/o los extractos que contienen mezclas de estos azúcares pueden usarse como una fuente de carbono. En particular, se proporciona un suministro exógeno de glucosa de 2 a 40 g/l, y preferiblemente de 5 a 25 g/l.

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

- 45 En otra realización particular, también se proporcionan sales minerales para el cultivo de fermentación de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* y se seleccionan entre sales que proporcionan los iones Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, PO₄³⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, CO₃²⁻, o elementos traza como Cu, Mn, Fe y Zn.

- 50 En otra realización particular, el procedimiento de aislamiento y purificación del exopolisacárido se lleva a cabo mediante los procedimientos conocidos por la persona experimentada en la técnica, tales como centrifugación, filtración, ultrafiltración y diálisis. Preferiblemente, la ultrafiltración y la diálisis se llevan a cabo con una membrana de polietersulfona que retiene moléculas de un peso molecular superior a 10.000 Da. Preferiblemente, las etapas de centrifugación y filtración se dirigen a separar la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* del sobrenadante donde se encuentra el exopolisacárido. En otra realización preferente, el exopolisacárido se purifica por precipitación mediante la adición de etanol, acetona o isopropanol. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

- 55 En otra realización particular, el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* está contenido en una composición cosmética caracterizada porque comprende una cantidad cosméticamente efectiva del exopolisacárido y al menos un excipiente y/o ingrediente cosméticamente aceptable. En particular, la cepa de la

especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

- Otro aspecto de esta invención se refiere a una composición cosmética caracterizada porque comprende una cantidad cosméticamente efectiva del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* y al menos un excipiente y/o ingrediente cosméticamente aceptable. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891. Dichas composiciones pueden prepararse por los procedimientos convencionales conocidos por las personas experimentadas en la técnica ["Harry's Cosmeticology", Seventh edition, (1982), Wilkinson J.B., Moore R.J., ed. Longman House, Essex, GB].
- 5 La cantidad cosméticamente efectiva del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* en la composición de la invención a administrar, así como su dosificación, dependerá de numerosos factores, que incluyen la edad, el estado del paciente, la naturaleza o la gravedad de la afección, trastorno o enfermedad a tratar y/o cuidar, la ruta y la frecuencia de administración y la naturaleza, en particular, del exopolisacárido a utilizar.
- 10 Se entiende que "cantidad efectiva cosmética o dermofarmacéuticamente" es una cantidad no tóxica pero suficiente de un ingrediente para proporcionar el efecto deseado. En particular, el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* se usa a concentraciones cosméticas o dermofarmacéuticas para lograr el efecto deseado; en una forma preferida, con respecto al peso total de la composición, entre 0,000000001 % (en peso) y 20 % (en peso); preferiblemente entre 0,00000001 % (en peso) y 10 % (en peso), más preferiblemente entre 0,000001 % (en peso) y 5 % (en peso) e incluso más preferiblemente entre 0,0001 % (en peso) y 5 % (en peso).
- 15 20

En una realización particular, el exopolisacárido de la invención también se puede incorporar en sistemas de administración de cosméticos y/o sistemas de liberación sostenida.

- El término "sistemas de administración" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente, vehículo o aditivo con el que se administra el exopolisacárido de la invención. Estos portadores cosméticos o farmacéuticos pueden ser líquidos, como agua, aceites o tensioactivos, incluidos los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, como el aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, aceite de ricino, polisorbatos, ésteres de sorbitán, sulfatos de éter, sulfatos, betaínas, glucósidos, maltosidos, alcoholes grasos, nonoxinoles, poloxámeros, polioxi-etilenos, polietilenglicoles, dextrosa, glicerol, digitonina y similares. Una persona experimentada en la técnica conoce los diluyentes, adyuvantes o excipientes que se pueden usar en los diferentes sistemas de administración en los que se puede administrar el compuesto de la invención.
- 25 30

El término "liberación sostenida" se usa en un sentido convencional relacionado con un sistema de administración de un compuesto que proporciona la liberación gradual de este compuesto durante un período de tiempo y preferiblemente, aunque no necesariamente, con niveles de liberación de compuesto relativamente constantes durante un período de tiempo.

- Ejemplos de sistemas de administración o liberación sostenida incluyen, sin sentido de limitación, liposomas, liposomas mixtos, oleosomas, niosomas, etosomas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas y nanopartículas lipídicas sólidas, soportes lipídicos nanoestructurados, esponjas, ciclodextrinas, vesículas, micelas, micelas mixtas de tensioactivos, micelas mixtas de tensioactivos y fosfolípidos, miliesferas, microesferas y nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas y nanocápsulas, así como microemulsiones y nanoemulsiones, que se pueden agregar para lograr una mayor penetración del ingrediente activo y/o mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de estos. Los sistemas de administración o liberación sostenida preferidos son liposomas, micelas mixtas de tensioactivo y fosfolípido y microemulsiones, más preferiblemente microemulsiones de agua en aceite con una estructura de micelas inversas internas y nanocápsulas que contienen microemulsiones.
- 35 40

- Los sistemas de liberación sostenida pueden prepararse por procedimientos conocidos en la técnica anterior, y las composiciones que los contienen pueden administrarse, por ejemplo, por administración tópica o transdérmica, incluyendo parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos y parches microeléctricos, o por administración sistémica, por ejemplo y no restringida a, vía oral o parenteral, incluida la implantación o inyección nasal, rectal o subcutánea, o la implantación o inyección directa en una parte específica del cuerpo, y preferiblemente debe liberar una cantidad relativamente constante del compuesto de la invención. La cantidad de exopolisacárido contenido en el sistema de liberación sostenido dependerá, por ejemplo, de dónde se administrará la composición, la cinética y la duración de la liberación del exopolisacárido de la invención, así como la naturaleza de la afección, trastorno y/o enfermedad a tratar y/o atender.
- 45 50

- La composición que contiene el exopolisacárido de esta invención también puede adsorberse en polímeros orgánicos sólidos o soportes minerales sólidos, tales como pero no restringidos a, talco, bentonita, sílice, almidón o maltodextrina entre otros.
- 55

Las composiciones que contienen el exopolisacárido producido por una cepa de especies de *Halomonas anticariensis* también se pueden incorporar en telas, telas no tejidas o dispositivos médicos que están en contacto directo con la piel, liberando así el exopolisacárido de la invención ya sea por biodegradación del sistema de enlace

a la tela, tela no tejida o dispositivo médico, o debido a la fricción entre ellos y el cuerpo, debido a la humedad del cuerpo, el pH de la piel o la temperatura corporal. Además, el exopolisacárido de la invención se puede incorporar a las telas y telas no tejidas utilizados en la fabricación de prendas que están en contacto directo con el cuerpo. Preferiblemente, las telas, telas no tejidas y dispositivos médicos que contienen el compuesto de la invención se usan para el tratamiento y/o cuidado de afecciones, trastornos y/o enfermedades que mejoran o se evitan mediante la reducción de la cantidad de nocturnina, o por estimulación de la síntesis de colágeno.

Ejemplos de telas, telas no tejidas, prendas de vestir, dispositivos médicos y medios para inmovilizar los compuestos a ellos, entre los que se encuentran los sistemas de administración y/o los sistemas de liberación sostenida descritos anteriormente, se pueden encontrar en la literatura y se conocen en la técnica anterior. [Schaab C.K. (1986) HAPPI May 1986; Nelson G., "Application of microencapsulation in textiles", (2002), *Int. J. Pharm.*, 242(1-2), 55-62; "Biofunctional Textiles and the Skin" (2006) *Curr. Probl. Dermatol.* v.33, Hipler U.C. and Elsner P., eds. S. Karger AG, Basel, Switzerland; Malcolm R.K. et al., "Controlled release of a model antibacterial drug from a novel self-lubricating silicone biomaterial", (2004), *J. Cont. Release*, 97(2), 313-320]. Las telas preferidas, telas no tejidas, prendas de vestir y dispositivos médicos son vendajes, gasas, camisetas, calcetines, medias, ropa interior, fajas, guantes, pañales, toallas sanitarias, apósitos, colchas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos y/o máscaras faciales.

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

Las composiciones de aplicación tópica o transdérmica se pueden producir en cualquier formulación sólida, líquida o semisólida, tal como y no restringidas a, cremas, emulsiones múltiples tales como y no restringidas a, emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, emulsiones tipo agua/aceite/agua o agua/silicona/agua, y emulsiones tipo aceite/agua/aceite o silicona/agua/silicona, cristales líquidos, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles en crema, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sera, jabones, champús, acondicionadores, sueros, películas de polisacáridos, ungüentos, espumas, pomadas, polvos, barras, lápices y aspersores o aerosoles (aspersores), incluidas las formulaciones para dejar y enjuagar. Estas formulaciones de aplicación tópica o transdérmica se pueden incorporar utilizando técnicas conocidas por la persona experimentada en la técnica en diferentes tipos de accesorios sólidos, tales como y no restringidos a, vendajes, gasas, camisetas, calcetines, medias, ropa interior, fajas, guantes, pañales, toallas sanitarias, apósitos, colchas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos o máscaras faciales, o se pueden incorporar en diferentes productos de maquillaje, como bases de maquillaje, como bases de maquillaje fluidas y bases compactas, lociones desmaquillantes, leches desmaquillantes, correctores debajo de los ojos, sombras de ojos, lápices labiales, protectores labiales, brillo labial y polvos, entre otros.

Las composiciones cosméticas de la invención pueden incluir agentes que aumentan la absorción percutánea de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, y no se limitan a, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, tensioactivos, azona (1-dodecilazacicloheptano-2-ona), alcohol, urea, etoxidiglicol, acetona, propilenglicol o polietilenglicol, entre otros. Además, las composiciones cosméticas de esta invención se pueden aplicar a áreas locales a tratar mediante iontoforesis, sonoforesis, electroporación, parches microeléctricos, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, curación oclusiva, microinyecciones o inyecciones sin aguja por medio de presión, tales como inyecciones por presión de oxígeno, o cualquier combinación de estos, para lograr una mayor penetración del exopolisacárido de la invención. El área de aplicación estará determinada por la naturaleza de la afección, trastorno y/o enfermedad a tratar y/o cuidar.

Entre los excipientes y/o ingredientes cosméticamente aceptables contenidos en las composiciones cosméticas descritas en la presente invención se encuentran ingredientes adicionales comúnmente usados en composiciones cosméticas tales como y no restringidos a, otros agentes que reducen la cantidad de nocturnina, otros agentes que inhiben la expresión de nocturnina, agentes lipolíticos o agentes que estimulan la lipólisis, agentes venotónicos, agentes que modulan la expresión de PGC-1 α , agentes que inhiben la actividad de PPAR γ , agentes que reducen el contenido de triglicéridos de los adipocitos, agentes anticelulíticos, agentes que retrasan la diferenciación de adipocitos, agentes que disminuyen la producción de sebo, agentes que estimulan la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir o prevenir su degradación, agentes estimulantes de la síntesis de colágeno, agentes estimulantes de la síntesis de elastina, agentes estimulantes de la síntesis de decorina, agentes estimulantes de la síntesis de laminina, agentes estimulantes de la síntesis de defensina, agentes estimulantes de la síntesis de chaperona, agentes estimulantes de la síntesis de cAMP, agentes que modulan AQP-3, agentes que modulan la síntesis de acuaporina, proteínas de la familia acuaporina, agentes estimulantes de la síntesis de ácido hialurónico, agentes estimulantes de la síntesis de glucosaminoglicanos, agentes estimulantes de la síntesis de fibronectina, agentes estimulantes de la síntesis de sirtuinas, proteínas de choque térmico, agentes estimulantes de la síntesis de proteínas de choque térmico, agentes que inhiben la exocitosis neuronal, agentes anticolinérgicos, agentes que inhiben la contracción muscular, agentes antienvjecimiento, agentes antiarrugas, agentes antitranspirantes, agentes antiinflamatorios y/o analgésicos, agentes contra la picazón, agentes calmantes, agentes anestésicos, inhibidores de la agregación del receptor de acetilcolina, agentes que inhiben la acetilcolinesterasa, agentes relajantes de la piel, agentes estimulantes o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes blanqueadores

o despigmentantes, agentes de propigmentación, agentes autobronceadores, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes inhibidores de la 5 α -reductasa, agentes inhibidores de la lisil y/o proil hidroxilasa, antioxidantes, captadores de radicales libres y/o agentes contra la contaminación atmosférica, captadores reactivos de especies de carbonilo, agentes antiglicación, agentes antihistamínicos, agentes antivirales, agentes antiparasitarios, emulsionantes, emolientes, disolventes orgánicos, propulsores líquidos, acondicionadores de la piel, humectantes, sustancias que retienen la humedad, alfa hidroxilácidos, beta hidroxilácidos, humectantes, enzimas hidrolíticas epidérmicas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, pigmentos o colorantes, tinturas, biopolímeros, polímeros gelificantes, espesantes, tensioactivos, agentes suavizantes, emulsionantes, agentes aglomerantes, conservantes, agentes capaces de reducir o tratar las bolsas debajo de los ojos, agentes exfoliantes, agentes queratolíticos, agentes descamantes, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas, agentes bacteriostáticos, agentes que estimulan la síntesis de componentes del estrato corneo, ceramidas, ácidos grasos, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben las metaloproteinasas de matriz, agentes que inhiben la degradación de elastina, agentes que inhiben las serina proteasas como las calicreínas, elastasa leucocitaria o catepsina G, agentes que estimulan la proliferación de fibroblastos, agentes que estimulan la proliferación de queratinocitos, agentes que estimulan la proliferación de melanocitos, agentes que estimulan la diferenciación de queratinocitos, agentes antihiperqueratosis, agentes comedolíticos, agentes anti-psoriasis, agentes de reparación de ADN, agentes protectores de ADN, agentes protectores de células madre, estabilizadores, agentes para el tratamiento y/o cuidado de la piel sensible, agentes reafirmantes, agentes anti-estrías, agentes astringentes, agentes que inhiben la actividad de PAR-2, agentes estimulantes de la curación, agentes curativos coadyuvantes, agentes estimulantes de la reepitelización, agentes coadyuvantes de la reepitelización, factores de crecimiento de citocinas, agentes que actúan sobre la circulación capilar y/o microcirculación, agentes estimulantes de angiogénesis, agentes que inhiben la permeabilidad vascular, agentes que actúan sobre el metabolismo celular, agentes para mejorar la unión dermoepidérmica, agentes que inducen el crecimiento del cabello, agentes inhibidores o retardadores del crecimiento del cabello, agentes retardadores de la pérdida del cabello, conservantes, perfumes, desodorantes cosméticos y/o absorbentes y/o para enmascarar olores corporales, agentes quelantes, extractos de plantas, aceites esenciales, extractos marinos, agentes obtenidos de un proceso biotecnológico, sales minerales, extractos celulares, filtros solares y agentes fotoprotectores orgánicos o minerales activos contra los rayos ultravioleta A y/o B y/o rayos infrarrojos A, o mezclas de estos, siempre que sean física y químicamente compatibles con el resto de componentes en la composición y particularmente con el exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*. Así mismo, la naturaleza de estos ingredientes adicionales no debería alterar inaceptablemente los beneficios del exopolisacárido de la presente invención. La naturaleza de estos ingredientes adicionales puede ser sintética o natural, como extractos de plantas, o proceder de un procedimiento biotecnológico, o de una combinación de un procedimiento sintético y un procedimiento biotecnológico. Se pueden encontrar ejemplos adicionales en CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary & Handbook, 12th Edition (2008). En el contexto de esta invención, se entiende que procedimiento biotecnológico es cualquier procedimiento para producir el ingrediente activo, o parte de él, en un organismo, o en parte de él.

En una realización, la composición cosmética de la invención contiene:

- entre 0,000000001 % (en peso) y 20 % (en peso) del extracto fermentado o exopolisacárido excretado por la cepa de la especie *Halomonas anticariensis*;
- entre 0,1 % (en peso) y 20 % (en peso) de un humectante seleccionado del grupo de (nombres INCI) glicerina, propilenglicol, butilenglicol, pentilenglicol, xaprililglicol, ácido láctico, urea, hialuronato de sodio;
- entre 0,1 % (en peso) y 20 % (en peso) de un emoliente o acondicionador de la piel seleccionado del grupo de (nombres INCI) dimeticona, estearato de glicerilo, triglicérido caprílico/cáprico, alcohol cetearílico, lecitina, benzoato de alquilo C12-15, escualano, lanolina, alcohol behenílico, acetato de tocoferilo, pantenol, mantequilla de *Butyrospermum parkii*, palmitato de retinilo, retinol;
- entre 0,1 % (en peso) y 20 % (en peso) de un tensioactivo seleccionado del grupo de (nombres INCI) goma de xantano, laureth sulfato de sodio, ácido esteárico, polisorbato 20, polisorbato 80, alcohol estearílico, alcohol cetílico, etearet-2, cetearet-20, cocamidopropil betaína.

En una realización particular, se selecciona el agente que reduce el contenido de triglicéridos de los adipocitos, agente que retrasa la diferenciación de adipocitos, agente anticelulítico, agente lipolítico, agente venotónico, agente inhibidor de la expresión de PGC-1 α o agente inhibidor de la actividad de PPAR γ , por ejemplo y no se limita a extractos o extractos hidrolizados de *Alchemilla vulgaris*, *Angelica sinensis*, *Armeniacea sp.*, *Arnica montana L.*, *Atractylodes platicodon*, *bamboo*, *Betula alba*, *Bupleurum chinensis*, *Calendula officinalis*, *cangzhu*, *Cecropia obtusifolia*, *Celosia cristata*, *Centella asiatica*, *Chenopodium quinoa*, *Chrysanthellum indicum*, *Cimifuga racemosa*, *Citrus aurantium amara*, *Cnicus benedictus*, *Coffea arabica*, *Cola nipida*, *Coleus barbatus*, *Coleus blumei*, *Coleus esquirolii*, *Coleus forskohlii*, *Coleus scutellaroides*, *Coleus sp.*, *Coleus xanthanthus*, *Commiphora myrrha*, *Crithmum maritimum*, *Cuminum cyminum*, *Dioscorea colettii*, *Dioscorea villosa*, *Eugenia caryophyllus*, *Filipendula ulmaria L.*, *Foeniculum vulgare*, *Fucus vesiculosus*, *Gelidium Cartilagineum*, *Ginkgo biloba*, *ginko biloba*, *Glycine max*, *Glycyrrhiza glabra*, *Hedera helix* (extracto de hiedra), *Hibiscus sabdariffa*, *Hordeum vulgare*, *Humulus lupulus*, *Hypericum perforatum*, *Ilex paraguariensis*, *Kigelia africana*, *Laminaria digitata*, *Lupinus perennis*, *Nelumbium speciosum*, *Orthosiphon stamineus benth*, *Panax ginseng*, *Paullinia cupana*, *Peumus boldus*, *Phyllacantha fibrosa*,

Piper methysticum, *Piper nigrum*, *Prunella vulgaris*, *Prunus amygdalus dulcis*, *Rosmarinus officinalis*, *Rubus idaeus*, *Ruscus aculeatus* (extracto de rusco), *Salvia officinalis* L., *Sambucus nigra*, *Serenoa repens*, *Smilax aristolochiaefolia*, *Spirulina platensis algae*, *Taraxacum erythrospermum*, *Taraxacum officinale*, té verde, *Ulmus rubra*, *Uncaria tomentosa*, *Verbena officinalis*, *Vitex agnus-castus*, *Dysmorphococcus globosus*, entre otros, alverina, citrato de alverina, dihidromiricetina, coenzima A, lipasa, cerulenina, rutina, glaucina, esculina, visnadina, cafeína, teofilina, teobromina, aminofilina, xantina, carnitina, forskolina, escina, ruscogenina, hederina, yoduro de trietanolamina, agentes inductores de síntesis de AMPc, Lanachrys® [INCI: extracto de Chrysanthellum Indicum] comercializado por Atrium/Unipex, Slim-Excess™ [INCI: agua, butilenglicol, cloruro de sodio, carragenina hidrolizada, goma de xantano], Sveltine™ [INCI: agua, butilenglicol, carnitina, lecitina, cafeína, carbómero, ácido salicílico, atelocolágeno, extracto de Centella Asiática, esculina, sulfato de condroitina de sodio], Liana de Perú [INCI: extracto de Uncaria Tomentosa] o Flavenger™ [INCI: triglicérido caprílico/caprico, silitato de dimetil sílice, oleato de glicerilo, caprilato de quercetina] comercializado por BASF, Scopariane [INCI: Sphacelaria Scoparia], Phyco R75 [INCI: Laminaria Digitata], Pheoslim [INCI: extracto de Phyllacantha Fibrosa], cera de trigo sarraceno [INCI: Polygonum fagopyrum] o Areaumat Samphira [INCI: extracto de Crithmum Maritimum], Actiporine 8.G [glicerina, agua, extracto de Jania rubens] comercializado por Codif, factor de adelgazamiento Karkade™ [INCI: Hibiscus Sabdariffa] comercializado por Cosmetochem, Liposuctionina [INCI propuesto: hexapéptido de acetilo] comercializado por Infinitic Activos, Xantalgosil C® [INCI: acefilina metilsilanol manuronato], Teofilisilano C® [INCI: metilsilanol carboximetil teofilina alginato], Glutrapeptide® [INCI: piroglutamilamidoetil indol] o Cafeisilano C [INCI: alginato de siloxanetriol, cafeína, butilenglicol] comercializado por Exsymol, Timiline® [INCI: ácido poliglucurónico] comercializado por Greentech, Visnadina [INCI: visnadina] o Fitosoma dimérico de flavonoides de Ginkgo Biloba [INCI: fosfolípidos, extracto de hoja de Ginkgo Biloba] comercializado por Indena, Slimfit®, LS 9509 [INCI: extracto de corteza de Cecropia obtusifolia] comercializado por Laboratoires Serobiologiques/Cognis/BASF, Silusyne™ [INCI: aceite de soja (Glycine soja), sesquioleato de sorbitán, isohexadecano, hialuronato de sodio, proteína de soja hidrolizada de hidroxipropilo laurildimonio, hexapéptido de acetilo-39] o Liporeductyl® [INCI: agua, glicerina, lecitina, cafeína, extracto de raíz de rusco (Ruscus aculeatus), maltodextrina, sílice, hidroyoduro de té, propilenglicol, extracto de hiedra (Hedera Helix), carnitina, escina, tripéptido-1, goma de xantano, carragenano (Chondrus Crispus), EDTA disódico] comercializado por Lipotec/Lubrizol, complejo Iso-Slim [INCI: isoflavonas de soja, cafeína, carnitina, extracto de Spirulina platensis, polisorbato 80, alcohol, fenoxietanol, agua], Happybelle-PE [INCI: lecitina, extracto de Vitex Agnus Castus, glicerina, ascorbilo tetraisopalmitato, tocoferol, triglicérido caprílico/cáprico, ciclodextrina, alcohol, agua] o AmaraShape [INCI: lecitina, cafeína, extracto de citrus aurantium amara, pentilenglicol, alcohol, agua] comercializado por Mibelle Biochemistry, Regu®-Slim [INCI: maltodextrina, cafeína, extracto de semilla de Paullinia Cupana, carnitina, celulosa microcristalina, ácido cisteico, sulfonato de panteína] o Regu®-Shape [INCI: ácido linoleico isomerizado, lecitina, glicerina, polisorbato 80] comercializado por Pentapharm/DSM, Provislim™ [INCI: propanodiol, agua (aqua), fisetina, cetona de frambuesa], Miricelina [INCI: dihidromiricetina] o Drenalip [INCI: extracto de raíz de Ruscus Aculeatus, extracto de cáscara de Citrus Medica Limonum, extracto de Solidago Virgaurea, extracto de raíz de Astragalus Membranaceus] comercializado por Provital, Actisculpt [INCI: extracto de Commiphora Myrrha, extracto de raíz de Coleus Forskohlii] comercializado por Givaudan, Perfeline® [INCI: agua, carnitina, cafeína, extracto de Ruscus Aculeatus] o CellActive® Shape [INCI: fermento de proteína de Chlorella Vulgaris/Lupinus Albus, Coleus Forskohlii, cafeína] comercializado por Rahn, ProContour™ [INCI: agua, alcohol, lecitina, cafeína, carnitina, extracto de hoja de Centella Asiatica, fosfato de potasio, extracto de raíz de Coleus Forskohlii] comercializado por Rovi Cosmetics, Unislim™ [INCI: extracto de (hoja) de Ilex Paraguariensis, agua, butilenglicol, extracto de semilla (grano) de Coffea Arabica (café), glicéridos de almendra PEG-60, glicerina, cetilhidroxietilcelulosa], Redulite™ [INCI: glicerina, aqua, etoxidiglicol, Sambucus nigra, poliácridato de sodio], Pleurimincyl™ [INCI: cafeína, extracto de Bupleurum Chinensis], Phytototal™ SL [INCI: glicerina, extracto de Verbena Officinalis, butilenglicol, extracto de flor de Sambucus Nigra, extracto de flor de Eugenia Caryophyllus (clavo), lecitina], Phytosonic™ [INCI: aqua, extracto de Eugenia Gracilis, cafeína, extracto de hoja de Glaucium Flavum], Ovaliss™ [INCI: glicerina, aqua, coco-glucósido, caprililglicol, alcohol, glaucina], Lipocare™ [INCI: cafeína, coenzima A, extracto de Bupleurum Chinensis], Cyclolipase™ [INCI: polimetacrilato de glicerilo, agua, cafeína, lipasa, extracto de Blupleurum Chinensis], Cyclolipase™ [INCI: polimetacrilato de glicerilo, agua, cafeína, lipasa, fosfato de adenosina], Coaxel™ [INCI: cafeína, coenzima A, carnitina, agua, glicerina], Bodyfit™ [INCI: glicerina, aqua (agua), coco-glucósido, caprililglicol, alcohol, glaucina] o Voxel [INCI: aqua, propilenglicol, lecitina, cafeína, palmitoilcarnitina] comercializado por Sederma/Croda, Voluform [INCI: palmitoilsoleucina], Adipoless [INCI: butilenglicol, extracto de semilla de Chenopodium Quinoa] comercializado por Seppic, Slimactive® [INCI: extracto de hoja de Peumus Boldus], Remoduline® [INCI: extracto de flor de Citrus Aurantium Amara], Pro-Sveltyl [INCI: extracto de Nelumbium Speciosum], Biosculptine® [INCI: extracto de flor/semilla de Celosia Cristata hidrolizada, extracto de Prunella Vulgaris hidrolizado], Affiness® [INCI: extracto de fruta de Coriandrum Sativum hidrolizado, extracto de fruta de Citrus Aurantium Dulcis (naranja)] o Stemsvelt [INCI: agua, butilenglicol, extracto de Silybum marinum] comercializado por Silab, Delipidol [INCI: punicato de tirosilo], Guaraslim® [INCI: butilenglicol, agua, cafeína, extracto de semilla de Paullinia Cupana, extracto de corteza de Ptychopetalum Olacoides] o Caobromine® [INCI: extracto de cáscara de Theobroma Cocoa] comercializado por Solabia, Abdoliance [INCI: palmitato de sacarosa, polisorbato 20, linolenato de glicerilo, extracto de semilla de Paullinia Cupana, maltodextrina, aceite de Prunus Amygdalus Dulcis (almendra dulce), lecitina, agua, extracto de cáscara de Citrus Aurantium (naranja amarga), fenoxietanol, tocoferol], Betaphroline [INCI: extracto de semilla de Tephrosia Purpurea] o PRO-DG [INCI: agua, extracto de plancton] comercializado por Soliance, UCPeptide™ V [INCI: agua, butilenglicol, pentapéptido] o ATPeptide™ IS [INCI: tripéptido-3] comercializado por Vincience/ISP entre otros, o mezclas de estos.

En una realización particular, el agente reafirmante y/o redensificante y/o reestructurante se selecciona, por ejemplo y no se limita a, del grupo formado por extractos de *Malpighia punicitolia*, *Cynara scolymus*, *Gossypium herbaceum*, *Aloe Barbadosensis*, *Panicum miliaceum*, *Morus nigra*, *Sesamum indicum*, *Glycine soja*, *Triticum vulgare*, Pronalen® reafirmante HSC [INCI: Triticum Vulgare, Silybum Marianum, *Glycine soja*, Equisetum Arvense, Alchemilla Vulgaris, Medicago Sativa, Raphanus Sativus] o Polyplant® reafirmante [INCI: equinácea, Centella asiática, Fucus, fenugreco] comercializado por Provital, Lanablue® [INCI: sorbitol, extracto de algas] comercializado por Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations, Pepha®-Nutrix [INCI: factor de nutrición natural] comercializado por Pentapharm/DSM, extractos de plantas que contienen isoflavonas, Biopeptido EL™ [INCI: oligopéptido de palmitoilo], Biopeptide CL™ [INCI: oligopéptido de palmitoilo], Vexel® [INCI: agua (aqua), propilenglicol, lecitina, cafeína, palmitoil carnitina], Matrixyl® [INCI: pentapéptido-3 de palmitoilo], Matrixyl® 3000 [INCI: pentapéptido-3 de palmitoilo, oligopéptido de palmitoilo] o Bio-Bustyl™ [INCI: polimetacrilato de glicerilo, fermento de proteína de Rahnella soja, agua (aqua), propilenglicol, glicerina, PEG-8, oligopéptido de palmitoilo] comercializado por Sederma/Croda, Dermosaccharides® HC [INCI: glicerina, agua (aqua), glicosaminoglicanos, glucógeno], Aglycal® [INCI: manitol, 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 flor de Sambucus Negra, PVP, ácido tánico] comercializado por Laboratoires Serobiologiques/Cognis/BASF, Liftline® [INCI: Proteína de trigo hidrolizada], Raffermin® [INCI: harina de soja hidrolizada] o Ridulisse C® [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 de soja (*Glycine soja*), sesquioleato de sorbitán, isohexadecano, hialuronato de sodio, proteína de soja hidrolizada de hidroxipropilo laurildimonio, hexapéptido-39 acetilo] o Adifyline™ [INCI: hexapéptido-38 acetilo] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Ursolisome® [INCI: lecitina, ácido ursólico, atelocolágeno, goma de xantano, sulfato de condroitina sódica] o Collalift® [INCI: extracto de malta hidrolizado] comercializado por Coletica/Engelhard/BASF, Syn®-Coll [INCI: Tripéptido-5 palmitoil] comercializado por Pentapharm/DSM, Hydriame® [INCI: agua (aqua), glicosaminoglicanos, goma de escleroti] comercializado por Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations o IP2000 [INCI: dextrano, trifluoroacetil tripéptido-2] comercializado por Institut Europeen de Biologie Cellulaire/Unipex Innovations, entre otros.

En una realización particular, el agente que estimula la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas se selecciona, por ejemplo y no se limita a, del grupo formado por agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimulantes de la síntesis de elastina, agentes estimulantes de la síntesis de decorina, agentes estimulantes de la síntesis de laminina, agentes estimulantes de la síntesis de chaperona, agentes estimulantes de la síntesis de sirtuina, agentes activadores de sirtuina, agentes moduladores de la síntesis de aquaporina, agente estimulante de la síntesis de fibronectina, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben la degradación de la elastina, agentes que inhiben las serina proteasas como calicreínas, elastasa de leucocitos o catepsina G, agentes estimulantes de la proliferación de fibroblastos y agentes de reparación de ADN y/o agentes protectores de ADN, tales como y no restringidos a 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 rojo, kakkon, plantas de lupino blanco, extracto de avellana, extracto de maíz, extracto de levadura, extractos de brotes de haya, extracto de semilla leguminosa, extracto de hormona vegetal como giberelina, auxinas o citoquininas, entre otros, o extracto de salina de zooplancton Salina, el producto de fermentación de la leche con *Lactobacillus Bulgaricus*, asiaticosidos y sus derivados, vitamina C y sus derivados, ácido cinámico y sus derivados, Matrixyl® [INCI: pentapéptido-3 de palmitoilo], Matrixyl® 3000 [INCI: tetrapéptido-3 de palmitoilo, oligopéptido de palmitoilo] o Biopeptide CL™ [INCI: polimetacrilato de glicerilo, propilenglicol, oligopéptido de palmitoilo] comercializado por Sederma/Croda, Antarcticine® [INCI: extracto de fermento de pseudoalteromonas], Decorinyl® [INCI: tripéptido-10 citrulina], Serilesine® [INCI: hexapéptido-10], Lipeptide [INCI: proteína vegetal hidrolizada], Aldenine® [INCI: proteína de trigo hidrolizada, proteína de soja hidrolizada, tripéptido-1], Relistase™ [INCI: acetilarginilriptofil difenilglicina], Thermostressine™ [INCI: tetrapéptido-22 de acetilo], Péptido AC29 [INCI: Tripéptido-30 de acetilo citrulina], Diffuporine™ [INCI: hexapéptido-37 de acetilo], Silusyne™ [INCI: aceite de soja (*Glycine soja*), sesquioleato de sorbitán, isohexadecano, hialuronato de sodio, proteína de soja hidrolizada de hidroxipropilo laurildimonio, hexapéptido-39 de acetilo] o Adifyline™ [INCI: hexapéptido-38 de acetilo] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Drieline® PF [INCI: betaglucano de levadura] comercializado por Alban Muller, Phytovityl C® [INCI: aqua, Extracto de Zea Mays] comercializado por Solabia, Collalift® [INCI: extracto de malta hidrolizado] comercializado por Coletica/Engelhard/BASF, Phytocohesine PSP™ [INCI: sulfato de beta-sitosterol de sodio] comercializado por Vincience/ISP/Ashland, minerales como calcio, entre otros, retinoides y sus derivados, isoflavonoides, carotenoides, en particular licopeno, pseudodipéptidos, retinoides y sus derivados como retinol o palmitato de retinilo, entre otros, o heparinoides, entre otros.

En una realización particular, el agente antiarrugas y/o antienvjecimiento se selecciona, por ejemplo y no se limita a, del grupo formado por los extractos o extractos hidrolizados de *Vitis vinifera*, *Rosa canina*, *Curcuma longa*, *Theobroma cacao*, *Ginkgo biloba*, *Leontopodium alpinum* o *Dunaliella salina* entre otros, Matrixyl® [INCI: pentapéptido-4 de palmitoilo], Matrixyl® 3000 [INCI: pentapéptido-7 de palmitoilo, oligopéptido de palmitoilo], Matrixyl® Synthe'6™ [INCI: glicerina, agua, hidroxipropil ciclodextrina, tripéptido-38 de palmitoilo], Essenskin™ [INCI: hidroximetionina de calcio], Renovage [INCI: teprenona], Resistem™ [INCI: Fermento de Globularia Cordifolia] o

Dermaxyl® [INCI: oligopéptido de palmitoilo] comercializado por Sederma/Croda, Vialox® [INCI: pentapéptido-3],
 Syn® Ake® [INCI: dipéptido diaminobutiroil bencilamida diacetato], Syn®-Coll [INCI: tripéptido-5 de palmitoilo],
 Fitaluronato [INCI: goma de algarrobo (*Ceratonia siliqua*)] o Preregen® [INCI: Proteína de *Glycine soja* (soja), óxido
 5 reductasas] comercializado por Pentapharm/DSM, Myoxinol™ [INCI: Extracto de *Hibiscus esculentus* hidrolizado],
 Syniorage™ [INCI: tetrapéptido-11 de acetilo], Dermican™ [INCI: tetrapéptido-9 de acetilo] o DN AGE™ LS [INCI:
 extracto de hoja de *Cassia alata*] comercializado por Laboratoires Serobiologiques/Cognis/BASF, Algisum C® [INCI:
 manuronato de metilsilanol] o Hydroxyprolisilane CN® [INCI: aspartato de metilsilanol hidroxiprolina] comercializado
 por Exsymol, Argireline® [INCI: hexapéptido-8 de acetilo], SNAP-7 [INCI: heptapéptido-4 de acetilo], SNAP-8 [INCI:
 10 octapéptido-3 de acetilo], Leuphasyl® [INCI: pentapéptido-18], Inyline™ [INCI: hexapéptido-30 de acetilo], Aldenine®
 [INCI: proteína de trigo hidrolizada, proteína de soja hidrolizada, tripéptido-1], Preventhelia™ [INCI: tripéptido-33 de
 diaminopropionilo], Decorinyl® [INCI: tripéptido-10 de citrulina], Decorinol® [INCI: tripéptido-9 de citrulina],
 Trylagen® [INCI: extracto de fermento de pseudoalteromonas, proteína de trigo hidrolizada, proteína de soja
 hidrolizada, tripéptido-10 de citrulina, tripéptido-1], Eyeseryl® [INCI: tetrapéptido-5 de acetilo], Péptido AC29 [INCI:
 15 tripéptido-30 de acetilo citrulina], Relistase™ [INCI: acetilarginiltripotifil difenilglicina], Thermostressine® [INCI:
 tetrapéptido-22 de acetilo], Lipochroman™ [INCI: dimetilmetoxi cromanol], Chromabright™ [INCI: palmitato de
 dimetilmetoxi cromanol], Antarcticine® [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: isomerato de sacárido], Diffuporine™ [INCI:
 20 hexapéptido-37 de acetilo], Silusyne™ [INCI: aceite de soja (*Glycine Soja*), sesquioleato de sorbitán, isohexadecano,
 hialuronato de sodio, proteína de soja hidrolizada de hidroxipropilo laurildimonio, hexapéptido-39 de acetilo],
 Adifyline™ [INCI: hexapéptido-38 de acetilo] Uplevity™ [INCI: tetrapéptido-2 de acetilo] o Juvefoxo™ [INCI:
 hexapéptido-51 de acetil amida] comercializado por Lipotec/Lubrizol, Kollaren® [INCI: tripéptido-1, dextrano]
 comercializado por Institut Europeen de Biologie Cellulaire, Collaxyl® IS [INCI: hexapéptido-9], Laminixyl IS™ [INCI:
 25 heptapéptido], Orsirtine™ 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*)] o Quintescine™
 IS [INCI: dipéptido-4] comercializado por Vincience/ISP/Ashland, BONT-L-péptido [INCI: palmitoil hexapéptido-19]
 comercializado por Infinitec Activos, Deepaline™ PVB [INCI: proteína de trigo hidrolizada de palmitoilo] o Sepilift®
 DPHP [INCI: hidroxiprolina de dipalmitoilo] comercializado por Seppic, Gatuline® Expression [INCI: extracto de
Acmella oleracea], Gatuline® In-Tense [INCI: extracto de flor de *Spilanthes acmella*] o Gatuline® Age Defense 2
 30 [INCI: extracto de semilla de *Juglans regia* (nuez)] comercializado por Gattefosse, Thalassine™ [INCI: extracto de
 algas] comercializado por Biotechmarine, Chronoline™ [INCI: tetrapropéptido-3 de caproilo] o Thymulen-4 [INCI:
 tetrapéptido-2 de acetilo] comercializado por Atrium/Unipex Innovations, EquiStat [INCI: extracto de fruta de *Pyrus
 malus*, extracto de semilla de *Glycine soja*] o Juvenesce [INCI: etoxidiglicol y triglicérido caprílico, retinol, ácido
 ursólico, fitonadiona, ilomastato] comercializado por Coletica/Engelhard/BASF, Ameliox [INCI: carnosina, tocoferol,
 35 extracto de fruta de *Silybum marianum*] o PhytoCellTec [INCI: cultivo celular de fruta de *Malus domestica*]
 comercializado por Mibelle Biochemistry, Bioxilift [INCI: extracto de *Pimpinella anisum*] o SMS Anti-Wrinkle® [INCI:
 extracto de semilla de *Annona squamosa*] comercializado por Silab, antagonistas del canal de Ca²⁺ tal como y no
 restringido a, sales de alverina, manganeso o magnesio, ciertas aminas secundarias o terciarias, retinol y sus
 40 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 de ADN tales como y no restringidas a,
 fotoliasa o T4 endonucleasa V, o agonistas de canales de cloruro, entre otros, y/o mezclas de estos.

En otra realización particular, el agente antiinflamatorio y/o analgésico se selecciona, por ejemplo y no se limita a,
 del grupo formado por extracto de madecassosida, extracto de equinácea, aceite de semilla de amaranto, aceite de
 45 madera de sándalo, extracto de hoja de árbol de durazno, extracto de *Aloe vera*, *Arnica montana*, *Artemisia vulgaris*,
Asarum maximum, *Calendula officinalis*, *Capsicum*, *Centipeda cunninghamii*, *Chamomilla recutita*, *Crinum asiaticum*,
Hamamelis virginiana, *Harpagophytum procumbens*, *Hypericum perforatum*, *Lilium candidum*, *Malva sylvestris*,
Melaleuca alternifolia, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Prunus laurocerasus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salix alba*,
Silybum marianum, *Tanacetum parthenium*, *Thymus vulgaris*, *Uncaria guianensis* o *Vaccinum myrtillus*, ácidos
 50 grasos de omega-3 y omega-6, Neutrazen™ [INCI: agua, butilenglicol, dextrano, Tripéptido-8 de palmitoilo]
 comercializado por Atrium Innovations/Unipex Group, Delisens™ [INCI propuesto: hexapéptido-46 de acetilo]
 comercializado por Lipotec/Lubrizol, Meliprene® [INCI: dextrano, heptapéptido-1 de acetilo] comercializado por
 Institut Europeen de Biologie Cellulaire/Unipex Group, Skinasensyl™ [INCI: tetrapéptido-15 de acetilo] o
 Anasensyl™ [INCI: manitol, glicirizato de amonio, cafeína, extracto de Hippocastanum (castaña)] comercializado por
 Laboratoires Serobiologiques/Cognis/BASF, Calmosensine™ [INCI: dipéptido-1 de acetilo] comercializado por
 55 Sederma/Croda, coenzima Q10 o éteres de alquil gliceril, entre otros, o mezclas de estos.

Aplicaciones

También se divulga en la presente memoria el uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie
Halomonas anticariensis en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para el tratamiento
 y/o cuidado de la piel. En particular, el tratamiento y/o cuidado se refiere al tratamiento de inflamación en la piel,
 60 tratamiento de reepitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, tratamiento y/o prevención de la celulitis,
 tratamiento de reducción de la acumulación de lípidos en la piel, tratamiento de estimulación de lipólisis en la piel,
 tratamiento de estimulación de síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención del envejecimiento de la piel,
 tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel, para prevenir la

pérdida de firmeza de la piel y/o tratamiento para mejorar la elasticidad de la piel. En particular, la inflamación se selecciona, por ejemplo, y no se limita a, del grupo formado por psoriasis, piel sensible, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, dermatitis del pañal, dermatitis seborreica, eczema, rosácea, acné, enfermedad hiperproliferativa de la piel, quemaduras, quemaduras solares, paroniquia, inflamación de la piel después de cirugía, después del tratamiento con terapia de luz pulsada intensa (IPL), después del tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (láser), después del tratamiento con agentes de descamación química o después de la sobreexposición a agentes externos agresivos, entre otros. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

También se divulga en la presente memoria el uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para la reducción de la cantidad de nocturnina en las células. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

También se divulga en la presente memoria un procedimiento de tratamiento y/o cuidado de la piel que comprende la administración de una cantidad cosmética o dermofarmacéuticamente efectiva del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*. En particular, el tratamiento y/o cuidado se refiere al tratamiento de inflamación en la piel, tratamiento de reepitelización y/o cicatrización de heridas de la piel, tratamiento y/o prevención de la celulitis, tratamiento de reducción de la acumulación de lípidos en la piel, tratamiento de estimulación de la lipólisis en la piel, tratamiento y/o prevención del envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel, para prevenir la pérdida de firmeza de la piel y/o tratamiento para mejorar la elasticidad de la piel. En particular, la inflamación se selecciona, por ejemplo, y no se limita a, del grupo formado por psoriasis, piel sensible, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, dermatitis del pañal, dermatitis seborreica, eczema, rosácea, acné, enfermedad hiperproliferativa de la piel, quemaduras, quemaduras solares, paroniquia, inflamación de la piel después de cirugía, después del tratamiento con terapia de luz pulsada intensa (IPL), después del tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (láser), después del tratamiento con agentes de descamación química o después de la sobreexposición a agentes externos agresivos, entre otros. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

También se divulga en la presente memoria un procedimiento de reducción de la cantidad de nocturnina en las células que comprende la administración de una cantidad cosmética o farmacéuticamente efectiva del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis*. En particular, la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

El exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* puede administrarse por cualquier medio que provoque su contacto con el sitio de acción en el cuerpo de un mamífero, preferiblemente el de un ser humano, y más preferiblemente, en la forma de una composición que lo contiene. La administración del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* se realiza por vía tópica o transdérmica. En un aspecto más particular, la aplicación tópica o transdérmica se lleva a cabo por iontoforesis, sonoforesis, electroporación, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, cura oclusiva, microinyecciones, inyecciones sin aguja por medio de presión, por parches microeléctricos, mascarillas faciales o cualquier combinación de estos.

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 una vez por mes a 10 veces por día, preferiblemente de una vez por semana a 4 veces por día, más preferiblemente de tres veces por semana a tres veces por día, incluso más preferiblemente una vez por día.

Depósito de material biológico

La cepa de la especie *Halomonas anticariensis* se depositó en la Colección Coordinada de Microorganismos de Bélgica (BCCM)/Laboratorium voor Microbiologie-Bacterieverzameling (LMG) (Universidad de Gante, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Gante, Bélgica) bajo las condiciones del Tratado de Budapest. El depósito se realizó el 18 de septiembre de 2013 y el número de depósito fue LMG P-27891.

Ejemplos

La mención de cualquier documento no es una admisión de que dicho documento se califica como técnica anterior o constituye el conocimiento general de la persona experimentada en cualquier jurisdicción. Excepto en los Ejemplos, o donde se indique explícitamente lo contrario, todas las cantidades numéricas en esta descripción que especifican cantidades de materiales, condiciones de reacción, pesos moleculares, número de átomos de carbono y similares, deben entenderse como aproximadas, es decir, sujetas a una variabilidad de ± 5 %, más preferiblemente de ± 3 %, más preferiblemente de ± 1 %, más preferiblemente de $\pm 0,1$ %, incluso más preferiblemente de $\pm 0,01$ % sobre el valor indicado.

Ejemplo 1: Obtención del exopolisacárido secretado por la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

A) Proceso de cultivo de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

La cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 se cultivó en un fermentador, a 32 °C y a un pH de 7,0, en un medio de cultivo que contiene 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 como fuentes de carbono y nitrógeno, y una solución salina que contiene sales de NaCl, magnesio, calcio, potasio y bicarbonato. Se inoculó a una absorbancia de 520 nm de 0,2 UA, unidades de absorbancia, desde un precultivo en un estado de crecimiento exponencial y la duración de la fermentación se extendió a 44 horas de cultivo. La concentración de oxígeno disuelto se controló al 30 % de aire saturado y la agitación se mantuvo en valores entre 300 y 650 rpm.

B) Purificación del exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* depositada bajo el número de depósito LMG P-27891.

La bacteria se separó del caldo de fermentación resultante descrito en el ejemplo 1a) que contenía el exopolisacárido por centrifugación a 6.000 g durante 1 hora. La eliminación de la bacteria se completó por filtración a un tamaño de poro final de 0,65 µm y el posterior secado por congelación del sobrenadante resultante que contenía el exopolisacárido.

Ejemplo 2: Caracterización fisicoquímica del exopolisacárido excretado por la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

Se realizó un análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y análisis de espectroscopía infrarroja (IR) (detector de índice de refracción) para la caracterización fisicoquímica del exopolisacárido producido por la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 y en el contenido de monosacárido del exopolisacárido obtenido de acuerdo con el ejemplo 1.

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

Para llevar a cabo los cromatogramas de HPLC-IR, se prepararon muestras a partir del exopolisacárido obtenido de acuerdo con el ejemplo 1b) diluyéndolos en agua a 3 mg/ml y filtrándolos con filtros de polietileno de 0,22 µm. El análisis por HPLC se realizó usando una inyección de 100 µl de la muestra en un equipo de cromatografía LC20A SHIMADZU. La columna cromatográfica utilizada fue PL AQUAGEL-OH COLUMNAS SEC ACUOSAS de 8 µm, y el detector, detector de índice de refracción RID-10A (Shimadzu). El disolvente utilizado fue acetato de sodio 0,1 M en agua y tasa de flujo de 0,8 ml/min. PL AQUAGEL-OH COLUMNAS SEC ACUOSAS de 8 µm es una columna para cromatografía de exclusión por tamaño acuosa, con un empaque que tiene la capacidad de separar compuestos dependiendo de su MW, aplicado a polímeros neutros, aniónicos y catiónicos solubles en agua 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 mostró un pico con un centro a 5,9 minutos para el exopolisacárido y la fracción se recogió con un tiempo de retención de entre 5 y 8 minutos.

Análisis de monosacáridos

El exopolisacárido obtenido de acuerdo con el ejemplo 1 se dializó con una membrana de polietileno de 300 KDa para agua destilada. El exopolisacárido retenido por la membrana se secó posteriormente por congelación. Para realizar el análisis de monosacáridos del sólido, se siguió el procedimiento descrito por Kamerling et al., Biochem. J., 1975 151, 491-495, modificado posteriormente por Montreuil et al. en, Glycoproteins. In Carbohydrate analysis: a practical approach, 1986, Eds Chaplin et Kennedy, I.R.L Press, Oxford, Washington D.C., 143-204. La derivatización de los monosacáridos hidrolizados se realizó de acuerdo con los procedimientos de la literatura Rojas Escudero et al., J. Chromatogr. A., 2004, 1027:117-120. 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 rampa de temperatura del horno de 160 °C a 250 °C.

Como resultado de este análisis, los porcentajes de monosacáridos obtenidos fueron 15,21 % de glucosa, 59,95 % de manosa, 24,07 % de ramnosa, 0,30 % de xilosa y 0,47 % de ácido galacturónico.

Ejemplo 3: Preparación de una composición de crema cosmética que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891.

En un recipiente apropiado se mezclaron, agua [INCI: AGUA (AQUA)], Hydrolite-5 2/016020 [INCI: PENTILENGLICOL], Microcare BNA [INCI: ALCOHOL BENCÍLICO], Carbopol Ultrez 10 [INCI: CARBÓMERO] y Arlatone MAP 160K [INCI: CETIL FOSFATO DE POTASIO]. Esta mezcla de ingredientes se agitó constantemente y se calentó a 70-75 °C. Esta mezcla de ingredientes constituye la fase A.

En otro recipiente, los ingredientes de la fase B, cocoato de etilhexilo [INCI: COCOATO DE ETILHEXILO], Phytocream 2000 [INCI: ESTEARATO DE GLICERIL, ALCOHOL CETEARÍLICO, PROTEÍNA DE TRIGO HIDROLIZADA PALMITOIL DE POTASIO], Finsolv-TN [INCI: C12-15 BENZOATO DE ALQUILO], DC200 Silicone

ES 2 747 124 T3

[INCI: DIMETICONA] y fenoxietanol [INCI: FENOXIETANOL] también se disolvieron a 70-75 °C. Una vez disueltos, se agregaron lentamente a la fase A bajo turbina agitada.

- 5 La fase C incluyó el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO], que se agregó a la mezcla de ingredientes de las fases A y B a 40 °C, bajo agitación.

Luego, bajo agitación con rotor, se añadió Sepigel 305 [INCI: AGUA (AQUA), POLIACRILAMIDA, ISOPARAFINA C13-14, LAURET-7] (fase D) a la emulsión resultante de la mezcla de las diferentes fases.

- 10 Inmediatamente, la fragancia Tonus E20040401 [INCI: FRAGANCIA (PERFUME)] (fase E) se añadió a la mezcla, nuevamente bajo agitación con rotor.

El pH se ajustó a 6,0-6,5 mediante la adición de hidróxido de sodio [INCI: HIDRÓXIDO DE SODIO] (q.s cantidad suficiente para ajustarse a este pH) bajo agitación (fase F), obteniendo una composición cosmética con las proporciones mostradas en la tabla 1.

15

Tabla 1

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	79,20
A PENTILENGLICOL	5,00
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,40
A CARBÓMERO	0,50
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,50
B COCOATO DE ETILHEXILO	2,50
B ESTEARATO DE GLICERILO	2,05
B ALCOHOL CETEARILICO	2,05
B PROTEÍNA DE TRIGO HIDROLIZADA PALMITOIL DE POTASIO	0,90
B C12-15 BENZOATO DE ALQUILO	2,00
B DIMETICONA	1,00
B FENOXIETANOL	0,80
C AGUA (AQUA)	1,42
C PROPANODIOL	0,49
C FOSFATO DISÓDICO	0,03
C GOMA DE XANTANO	0,02
C FOSFATO DE SODIO	0,02
C CAPRILATO DE GLICERILO	0,01

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
C Exopolisacárido del ejemplo 1	0,01
D POLIACRILAMIDA	0,40
D AGUA (AQUA)	0,34
D C13-14 ISOPARAFINA	0,20
D LAURET- 7	0,06
E FRAGRANCIA (PERFUME)	0,10
F HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 4: Preparación de una composición cosmética de crema ligera que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891.

- 5 En un recipiente apropiado, se mezclaron agua [INCI: AGUA (AQUA)], Hydrolite-5 2/016020 [INCI: PENTILENGLICOL], propilenglicol [INCI: PROPILENGLICOL], Microcare BNA [INCI: ALCOHOL BENCÍLICO] y Carbopol ETD 2020 [INCI: ACRILATOS/POLÍMERO CRUZADO DE ACRILATO DE ALQUILO C10-30]. Esta mezcla de ingredientes se agitó constantemente hasta que se disolvieron y se calentó a 70-75 °C. Esta mezcla de ingredientes constituía la fase A.
- 10 En otro recipiente, los ingredientes de la fase B, triglicéridos caprílicos/cápricos [INCI: TRIGLICÉRIDO CAPRÍLICO CÁPRICO], fenoxietanol [FENOXIETANOL], ácido esteárico [INCI: ÁCIDO ESTEÁRICO], ácido palmítico [INCI: ÁCIDO PALMÍTICO], alcohol cetílico [INCI: ALCOHOL CETÍLICO], Massocare HD [INCI: ISOHEXADECANO], Arlachel 165 (Lipomulse) [INCI: ESTEARATO DE GLICERILLO, PEG-100 ESTEARATO], también se disolvieron a 70-75 °C.
- 15 La fase C incluyó el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILLO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO], y se agregó a la mezcla de ingredientes de las fases A y B en 40 °C, bajo agitación.
- 20 Luego, bajo agitación con rotor, los componentes de la fase D se agregaron a la mezcla, Sepigel 305 [INCI: POLIACRILAMIDA, AGUA (AQUA), C13-14 ISOPARAFINA, LAURET-7] y la fragancia tonus E20040401 [INCI: FRAGRANCIA (PERFUME)].

El pH se ajustó a 6,0-6,5 mediante la adición de hidróxido de sodio [INCI: HIDRÓXIDO DE SODIO] (q.s cantidad suficiente para ajustarse a este pH) bajo agitación (fase E), obteniendo una composición cosmética con las proporciones que se muestran en la tabla 2.

25

Tabla 2

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	69,05
A PENTILENGLICOL	5,00
A PROPILENGLICOL	2,00
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,40

ES 2 747 124 T3

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
A ACRILATOS/POLÍMERO CRUZADO DE ACRILATO DE ALQUILO C10-30	0,15
B TRIGLICÉRIDO CAPRÍLICO CÁPRICO	8,00
B FENOXIETANOL	0,80
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,90
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,90
B ALCOHOL CETÍLICO	0,70
B ISOHEXADECANO	3,00
B ESTEARATO DE GLICERILO	3,00
B PEG-100 ESTEARATO	3,00
C AGUA (AQUA)	1,42
C PROPANODIOL	0,49
C FOSFATO DISÓDICO	0,03
C GOMA DE XANTANO	0,02
C FOSFATO DE SODIO	0,02
C CAPRILATO DE GLICERILO	0,01
C Exopolisacárido del ejemplo 1	0,01
D POLIACRILAMIDA	0,40
D AGUA (AQUA)	0,34
D C13-14 ISOPARAFINA	0,20
D LAURET- 7	0,06
D FRAGRANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 5: Preparación de una composición de crema de gel cosmética que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

- 5 En un recipiente apropiado, se mezclaron bajo agitación agua [INCI: AGUA (AQUA)], Hydrolite-5 2/016020 [INCI: PENTILENGLICOL], glicerina [INCI: GLICERINA], Betafin BP [INCI: BETAÍNA] y Carbopol Ultrez 10 [INCI: CARBÓMERO]. Luego, se añadió Arlatone Map 160 K [INCI: CETIL FOSFATO DE POTASIO] hasta la dispersión y toda la mezcla se calentó a 70-50 °C. Esta mezcla de ingredientes constituía la fase A.

ES 2 747 124 T3

5 En otro recipiente, los ingredientes de la fase B, Massocare HD [INCI: ISOHEXADECANO], Finsolv TN [INCI: C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO], alcohol cetílico [INCI: ALCOHOL CETÍLICO], fenoxietanol [FENOXIETANOL], Polisorbato 20 [INCI: POLISORBATO 20], ácido esteárico [INCI: ÁCIDO ESTEÁRICO], ácido palmítico [INCI: ÁCIDO PALMÍTICO] y acetato de vitamina E [INCI: ACETATO DE TOCOFERILO] también se disolvieron a 70-75 °C y se añadieron lentamente a la fase A bajo agitación con turbina.

10 La fase C incluyó el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO], y se agregó a la mezcla de ingredientes de las fases A y B a 40 °C, bajo agitación.

Luego se añadió el único componente de la fase D, la fragancia tonus E20040401 [INCI: FRAGANCIA (PERFUME)], bajo agitación con rotor, a la mezcla anterior hasta la homogeneización.

15 El pH se ajustó a 6,0-6,5 mediante la adición de hidróxido de sodio [INCI: HIDRÓXIDO DE SODIO] (q.s cantidad suficiente para ajustarse a este pH) bajo agitación (fase E), obteniendo una composición cosmética con las proporciones mostradas en la tabla 3.

Tabla 3

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	75,25
A PENTILEGLICOL	5,00
A GLICERINA	3,00
A BETAÍNA	3,00
A CARBÓMERO	0,35
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,40
B ISOHEXADECANO	2,00
B C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO	2,00
B ALCOHOL CETÍLICO	1,80
B FENOXIETANOL	0,90
B POLISORBATO 20	0,80
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,25
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,25
B ACETATO DE TOCOFERILO	0,50
C AGUA (AQUA)	1,42
C PROPANODIOL	0,49
C FOSFATO DISÓDICO	0,03
C GOMA DE XANTANO	0,02

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
C FOSFATO DE SODIO	0,02
C CAPRILATO DE GLICERILO	0,01
C Exopolisacárido del ejemplo 1	0,01
C CICLOMETICONA	2,00
D FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 6: Preparación de una microemulsión que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

- 5 En un recipiente apropiado, se mezclaron Docusato de Sodio USP [INCI: DIETILHEXIL SULFOSUCINATO DE SODIO] y ácido isoesteárico [INCI: ÁCIDO ISOESTEÁRICO] (fase A).

- 10 En otro recipiente, una mezcla del exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO] se disolvió en etanol [INCI: ALCOHOL] (fase B). Lentamente, se añadió la fase B a la fase A bajo agitación. Ver tabla 4.

Tabla 4

INGREDIENTE	% en peso
A DIETILHEXIL SULFOSUCINATO DE SODIO	15,00
A ÁCIDO ISOESTEÁRICO	75,00
B AQUA	4,98
B PROPANODIOL	1,72
B FOSFATO DISÓDICO	0,10
B GOMA DE XANTANO	0,07
B FOSFATO DE SODIO	0,06
B CAPRILATO DE GLICERILO	0,04
B Exopolisacárido del ejemplo 1	0,04
B ALCOHOL	3,00

Ejemplo 7: Preparación de una composición de nanopartículas lipídicas que comprende la microemulsión del ejemplo 6.

5 Se añadieron agua [INCI: AGUA (AQUA)], Amigel® [INCI: GOMA DE ESCLEROTIO], Zemea™ [INCI: PROPANODIOL] y fenoxietanol [INCI: FENOXIETANOL] (ingredientes de la fase A) en ese orden a un recipiente apropiado y se agitaron hasta que se logró la homogeneidad.

La mezcla que comprende la microemulsión del ejemplo 6, aceite de soja refinado IP Ph. Eur. [INCI: ACEITE DE GLICINA SOJA (SOJA)], Arlacel 83V [INCI: SESQUIOLEATO DE SORBITANO] y Arlamol HD [INCI: ISOHEXADECANO] (ingredientes de la fase B) se agregaron a otro recipiente.

10 Luego, la mezcla de los ingredientes de la fase B se añadió a la mezcla de los ingredientes de la fase A bajo agitación con turbina hasta que se formó una emulsión.

Finalmente, la mezcla se homogeneizó con una sonda de titanio durante un minuto.

Luego, gota a gota y bajo agitación, se añadió una suspensión en agua [INCI: AGUA (AQUA)] de Sensomer CT-400 [INCI: CASSIA CLORURO DE HIDROXIPROPILTRIMONIO] (ingredientes de la fase C). Ver tabla 5.

Tabla 5

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	q.s.100
A GOMA DE ESCLEROTIO	0,50
A PROPANODIOL	5,00
A FENOXIETANOL	2,6
B Microemulsión del ejemplo 6	8,00
B ACEITE DE GLICINA SOJA (SOJA)	12,00
B SESQUIOLEATO DE SORBITANO	4,30
B ISOHEXADECANO	5,50
C AGUA (AQUA)	2,00
C CASSIA CLORURO DE HIDROXIPROPILTRIMONIO	0,20

15

Ejemplo 8: Obtención de liposomas que comprenden el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

20 Se colocó una mezcla del exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1 en un recipiente apropiado, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO] (fase A). Se añadieron a esta fase (fases B a D) agua, Zemea™ [INCI: PROPANODIOL] y fenoxietanol [INCI: FENOXIETANOL]. Cuando se disolvieron todos los componentes anteriores, se añadió poco a poco Leciflor 100 IP [INCI: LECITINA] (fase E) y bajo agitación intensa, hasta que se disolvió por completo. Luego, se añadió Labrasol [INCI: GLICÉRIDOS CAPRÍLICO/CÁPRICO PEG-8] (fase F) y se agitó durante 15 minutos para formar una emulsión. La composición final obtenida se muestra en la tabla 6.

25

Tabla 6

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	7,11
A PROPANODIOL	2,45
A FOSFATO DISÓDICO	0,15
A GOMA DE XANTANO	0,10
A FOSFATO DE SODIO	0,09
A CAPRILATO DE GLICERILO	0,05
A Exopolisacárido del ejemplo 1	0,05
B AGUA (AQUA)	q.s. 100
C PROPANODIOL	8,50
D FENOXIETANOL	1,70
E LECITINA	10,00
F GLICÉRIDOS CAPRÍLICO/CÁPRICO PEG-8	4,00

La muestra se homogeneizó con una sonda de titanio durante 30 segundos.

Ejemplo 9: obtención de liposomas del ejemplo 8 enlazados a polímeros catiónicos.

- 5 Los liposomas obtenidos en el ejemplo 8 se añadieron bajo agitación lenta a Sensomer® CT-50 [INCI: AGUA (AQUA), CLORURO DE HIDROXIPROPILTRIMONIO ALMIDÓN, UREA, LACTATO DE SODIO, CLORURO DE SODIO, BENZOATO DE SODIO] a una proporción de liposomas/polímero catiónico de 95:5.

Ejemplo 10: Preparación de una composición cosmética que comprende nanopartículas lipídicas del ejemplo 7.

- 10 En un recipiente apropiado se mezclaron bajo agitación agua [INCI: AGUA (AQUA)], Hidrolito-5 2/016020 [INCI: PENTILENGLICOL], Microcare BNA [INCI: ALCOHOL BENCÍLICO] y Carbopol Ultrez 10 [INCI: CARBÓMERO]. A continuación, se añadió Arlatone Map 160 K [INCI: CETIL FOSFATO DE POTASIO] hasta que se dispersó y toda la mezcla se calentó a 70-50 °C. Esta mezcla de ingredientes constituye la fase A.

- 15 En otro recipiente, los ingredientes de la fase B de cocoato de etilhexilo [INCI: COCOATO DE ETILHEXILO], Phytocream 2000 [INCI: ESTEARATO DE GLICERILO, ALCOHOL CETEARÍLICO, PROTEÍNA DE TRIGO HIDROLIZADA DE POTASIO PALMITOILO], Finsolv-TN [INCI: C12-15 BENZOATO DE ALQUILO], DC200 Silicona [INCI: DIMETICONA] y fenoxietanol [INCI: FENOXIETANOL] también se disolvieron a 70-75 °C. Una vez disueltos, se agregaron lentamente a la fase A bajo agitación con turbina.

- 20 La fase C, la composición del ejemplo 7, se añadió a la mezcla de los ingredientes de las fases A y B a 40 °C, bajo agitación.

Luego, el componente de la fase D, Sepigel 305 [INCI: POLIACRILAMIDA, AGUA (AQUA), C13-C14 ISOPARAFINA, LAURET-7], y la fase E, la fragancia tonus E20040401 [INCI: FRAGANCIA (PERFUME)], se agregaron a la mezcla bajo agitación con rotor.

- 25 El pH se ajustó a 6,0-6,5 mediante la adición de hidróxido de sodio [INCI: HIDRÓXIDO DE SODIO] (fase F), obteniendo una composición cosmética con las proporciones que se muestran en la tabla 7.

Tabla 7

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	79,20
A PENTILENGLICOL	5,00
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,40
A CARBÓMERO	0,50
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,50
B COCOATO DE ETILHEXILO	2,50
B ESTEARATO DE GLICERILO	2,05
B ALCOHOL CETEARÍLICO	2,05
B PROTEÍNA DE TRIGO HIDROLIZADA DE POTASIO PALMITOILO	0,90
B C12-15 BENZOATO DE ALQUILO	2,00
B DIMETICONA	1,00
B FENOXIETANOL	0,80
C Nanopartículas lipídicas del ejemplo 7	2,00
D POLIACRILAMIDA	0,40
D AGUA (AQUA)	0,34
D C13-14 ISOPARAFINA	0,20
D LAURET- 7	0,06
E FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
F HIDRÓXIDO DE SODIO 20%	q.s.

5 **Ejemplo 11: Estudio de la disminución en el nivel relativo de nocturnina con una prueba colorimétrica ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), utilizando una línea celular preadipocito subcutánea humana primaria.**

Se estudió la disminución en el nivel relativo de nocturnina en preadipocitos humanos en un medio de diferenciación completo (control basal) al tratar el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 obtenido de acuerdo con el ejemplo 1.

10 Se sembraron preadipocitos humanos (10.000 células/pocillo, 4 pocillos por condición) en una placa de 96 pocillos y se incubaron en un medio de crecimiento completo (PGM2, LONZA) durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera con un nivel de CO₂ de 5 %

Después de la incubación, las células se trataron con el exopolisacárido a 10, 50, 100 y 1.000 µg/ml y sus respectivos vehiculos se prepararon en un medio de diferenciación completo (PDM2, LONZA). Después de 6 días de tratamiento en una atmósfera con 37 °C y un nivel de CO₂ del 5%, el nivel de nocturnina se midió usando una prueba ELISA, y la concentración de proteína total se midió usando un ensayo BCA (ácido bicinconínico). Para cada concentración, los resultados de ELISA se normalizaron con los resultados de BCA. El nivel relativo de nocturnina se calculó a partir de estos resultados con respecto al control basal (células tratadas con medio de diferenciación completo).

Medición del nivel de nocturnina (CCRN4L) con la prueba ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas)

Se siguió el protocolo del fabricante del kit ELISA para la proteína similar a 4 de represión de catabolito de carbono (CCRN4L) (Uscn Life Science Inc). En resumen, las células se lisaron y los extractos celulares se incubaron en una placa de 96 pocillos recubierta con un anticuerpo específico para CCRN4L. Posteriormente, los pocillos se recubrieron con un anticuerpo específico para CCRN4L conjugado con biotina. A continuación, se añadió a la placa la Avidina conjugada con la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP). Finalmente, se añadió sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina a la placa y se observó un cambio de color proporcionalmente a la cantidad de nocturnina en cada concentración. Finalmente, se agregó una solución de ácido sulfúrico para detener la reacción enzima-sustrato y cuantificar el cambio de color con un lector de absorbancia (Multiskan-Thermo Electro Corporation) a 450 y 570 nm.

Determinación de la proteína total por ensayo BCA (ácido bicinconínico)

Se siguió el protocolo del fabricante del kit de ensayo de proteína BCA (Pierce). La concentración de proteína total de las células lisadas se midió mediante una reacción colorimétrica usando un estándar de proteína. En resumen, el estándar y las muestras se distribuyeron en placas de 96 pocillos. Luego se incubó la placa con el reactivo del kit y finalmente se midió el cambio de color con el lector de absorbancia (Multiskan-Thermo Electro Corporation) a 570 nm.

Los resultados obtenidos se muestran a continuación en la tabla 8:

Tabla 8

Producto	Concentración	Nivel de nocturnina con respecto al control basal (%)
Exopolisacárido	10 µg/ml	82 ± 7 %
Exopolisacárido	50 µg/ml	67 ± 2 %
Exopolisacárido	100 µg/ml	58 ± 5 %
Exopolisacárido	1.000 µg/ml	54 ± 2 %

Los resultados mostraron que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 redujo el nivel relativo de nocturnina en todas las concentraciones estudiadas y muestra una relación dosis-respuesta.

Ejemplo 12: Estudio sobre la reducción del porcentaje de acumulación de lípidos (adipogénesis) mediante un ensayo fluorescente para determinar el contenido de lípidos usando una línea celular preadipocito subcutánea humana primaria.

La reducción del porcentaje de acumulación de lípidos en células preadipocito humanas en un medio de diferenciación completo (control basal) se estudió mediante el tratamiento de las células con el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 obtenido de acuerdo con el ejemplo 1.

Se sembraron células preadipocito humanas (LONZA) por cuadruplicado (10.000 células/pocillo) en una placa de 96 pocillos y se incubaron en un medio de crecimiento completo durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera con CO₂ al 5 %.

La diferenciación de preadipocitos a adipocitos se indujo cambiando el medio de crecimiento completo (PGM2, LONZA) por el medio de diferenciación completo (PDM2, LONZA). Las células se trataron con el exopolisacárido a 10, 50, 100 o 1.000 µg/ml, preparado en medio de diferenciación completo. Después de 8 días de tratamiento a 37 °C en una atmósfera con CO₂ al 5 % se midió la acumulación de lípidos para cada concentración mediante fluorescencia con un ensayo AdipoRed (LONZA). El porcentaje de acumulación de lípidos se calculó a partir de

estos resultados con respecto al medio de crecimiento completo (control negativo de diferenciación, 0 %) y el medio de diferenciación completo (control basal, 100 %).

Determinación de la acumulación de lípidos

5 Se siguió el protocolo del fabricante para el uso del reactivo de ensayo AdipoRed™ (LONZA). En resumen, las células se lavaron y el reactivo AdipoRed se añadió diluido. Después de incubarse durante 15 minutos en la oscuridad y a temperatura ambiente, las unidades de fluorescencia relativa (RFUs) se midieron usando un lector de placa de fluorescencia (Fluostar-BMG), con filtro de excitación a 485 nm y filtro de emisión a 530 nm.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9:

Tabla 9

Producto	Concentración	% acumulación de lípido
Exopolisacárido	10 µg/ml	77,70 ± 2,81 %
Exopolisacárido	50 µg/ml	61,07 ± 0,98 %
Exopolisacárido	100 µg/ml	62,60 ± 2,51 %
Exopolisacárido	1.000 µg/ml	81,35 ± 4,08 %

10

Los resultados mostraron que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 redujo el porcentaje de acumulación de lípidos a 10, 50 y 100 µg/ml, lo que demuestra una relación dosis-respuesta.

15

Ejemplo 13: Estudio sobre la actividad lipolítica por aumento en el nivel relativo de glicerol liberado con un ensayo fluorimétrico, utilizando una línea celular preadipocito subcutánea humana primaria sincronizada en modo nocturno.

20

Se estudió el aumento en el nivel relativo de glicerol liberado en preadipocitos humanos sincronizados en modo nocturno en tampón HBSS (solución salina equilibrada de Hank) (control basal) tratado con el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891, obtenido de acuerdo con el ejemplo 1.

25

Los preadipocitos humanos se sembraron (LONZA) (10.000 células/pocillo) en una placa de 96 pocillos y se incubaron en un medio de crecimiento completo (PGM2, LONZA) durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera con CO₂ al 5 %. Cada concentrado se ensayó por triplicado.

Luego, las células se trataron con medio de diferenciación completo (PDM2, LONZA) durante 6 días a 37 °C en una atmósfera con CO₂ al 5 %.

30

Después del período de diferenciación, el ensayo de sincronización de adipocitos comenzó a inducir ciclos diarios de noche/día. Para hacerlo, las células se sometieron a ciclos alternos de aproximadamente 12 horas con melatonina (condición que imita la noche) y 12 horas sin melatonina (condición que imita el día) en PDM2 durante 4 días (+/-; +/-; +/-; +/-).

Finalmente, los adipocitos sincronizados fueron tratados en modo nocturno (presencia de melatonina) durante 6 horas con el exopolisacárido a 100 y 1.000 µg/ml, y sus respectivos vehículos preparados en solución salina HBSS, a 37 °C en una atmósfera con CO₂ al 5 %.

35

Después de los tratamientos en modo nocturno, se determinó el nivel de glicerol libre a partir de los sobrenadantes celulares para cada concentración por fluorescencia. La concentración de proteína total se midió mediante un ensayo de BCA a partir de los extractos celulares. Los resultados del glicerol libre se normalizaron con los resultados de BCA para cada condición. Luego se calculó el nivel relativo del glicerol liberado con respecto al control basal (células tratadas con solución salina HBSS) usando estos resultados.

Medición de los niveles de glicerol liberados con un ensayo fluorimétrico.

40

Se siguió el protocolo del fabricante para la detección del kit de ensayo de glicerol libre (Abeam). En resumen, los sobrenadantes celulares se incubaron a 37 °C en una placa de 96 pocillos con la mezcla de reactivos del kit, de modo que el glicerol libre se oxidó enzimáticamente para generar un producto que emite fluorescencia cuando reacciona con la sonda incluida en el equipo. La fluorescencia se cuantificó con el lector FLUOstar Galaxy (BMG)

(Excitación a 530 nm y Emisión a 590 nm). La medición de la fluorescencia fue proporcional a la cantidad de glicerol libre en cada condición.

Medición de la concentración de proteína total usando el ensayo BCA (ácido bicinconínico)

5 Se siguió el protocolo del fabricante del kit de ensayo de proteínas BCA (Pierce). La concentración de proteína total en la célula lisada se determinó usando una reacción colorimétrica, usando un estándar de proteína. En resumen, el estándar y las muestras se sembraron en una placa de 96 pocillos. Luego, la placa se incubó con el reactivo del kit y por último, se midió el cambio de color a 570 nm con el lector de placa de absorbancia (Multiskan-Thermo Electro Corporation).

Tabla 10

Producto	Concentración	Nivel relativo de glicerol liberado con respecto al control basal (%)
Exopolisacárido	100 µg/ml	126,9 ± 5,5 %
Exopolisacárido	1000 µg/ml	139,6 ± 3,3 %

10

Los resultados (Tabla 10) mostraron que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891, aumentó el nivel relativo de glicerol liberado por los adipocitos sincronizados en modo nocturno en todas las concentraciones estudiadas.

Ejemplo 14: Ensayo in vitro para la determinación de colágeno tipo I en fibroblastos dérmicos humanos.

15 La estimulación de la síntesis de colágeno tipo I, inducida por agentes cosméticos, se analizó con un kit ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), utilizando cultivos primarios de fibroblastos, ya que son los principales productores de colágeno de la piel. Los fibroblastos de la piel humanos se trataron con tripsina y se sembraron a una densidad de 5×10^4 células/pocillo en placas de 48 pocillos. Después de 24 horas de incubación a 37 °C, CO₂ al 5 % de en una atmósfera humidificada, se agregó un nuevo medio con las concentraciones del producto a probar en cada pocillo (el exopolisacárido se probó a 10, 5 y 1 µg/ml). Las células no tratadas con los productos a probar se utilizaron como controles. Las células se incubaron durante 48 horas adicionales a 37 °C, CO₂ al 5 % en una atmósfera humidificada. El medio se recogió posteriormente de cada pocillo para analizarlo con una prueba ELISA. Se creó una curva estándar con colágeno tipo I (Sigma) y las diluciones de dicha curva estándar se transfirieron a placas de 96 pocillos junto con el medio recogido de las células. Las placas se dejaron a 4 °C en una atmósfera humidificada durante la noche. Luego, los pocillos se lavaron tres veces con una solución de lavado de solución salina tamponada con fosfato (PBS) con Tween-20 al 0,05 % (Sigma) y posteriormente se usó una solución de PBS con BSA al 3 % (Sigma) para evitar los posibles enlaces no específicos del anticuerpo primario. Después del bloqueo, los pocillos se lavaron tres veces con la solución de lavado y los pocillos se incubaron durante 2 horas con un anticuerpo de colágeno anti-tipo I (Sigma). Después de la incubación, los pocillos se lavaron nuevamente y se añadió el anticuerpo secundario IgG-HRP (sondas moleculares) durante 1 hora. Una vez que terminó la incubación, los pocillos se lavaron y se añadió el sustrato OPD (Sigma) y se dejó reaccionar durante 30 minutos bajo agitación. La reacción se apagó con la adición de una solución de H₂SO₄ 3M y la absorbancia se leyó a una longitud de onda de 490 nm en un lector de placas espectrofotómetro TECAN GENios.

30

La Tabla 11 muestra el porcentaje de colágeno tipo I con respecto al observado en los controles negativos.

35

Tabla 11

Producto	Concentración	% de aumento en la síntesis de colágeno tipo I
Exopolisacárido	10 µg/ml	37,2 %
Exopolisacárido	5 µg/ml	38,1 %
Exopolisacárido	1 µg/ml	45,4 %
Control	0,2 mg/ml	0 %

Los resultados mostraron que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 aumentó el porcentaje de síntesis de colágeno tipo I a 1, 5 y 10 µg/ml.

Ejemplo 15: ensayo in vitro para la actividad de elastasa

5 La elasticidad de la piel es una propiedad mecánica influenciada por la elastina, una proteína en el tejido conectivo de la dermis que el metabolismo de la elastina disminuye con la edad y con la presencia de enzimas de elastasa, enzimas responsables de descomponer la proteína elastina. La inhibición de la elastasa trata y/o previene la pérdida de elasticidad de la piel.

10 La actividad de elastasa se mide con el kit de ensayo de elastasa EnzChek (sondas moleculares). La elastina proporcionada por el kit está marcada con un pigmento BODIPY®FL de manera que la fluorescencia del conjugado se apaga. El sustrato no fluorescente puede ser digerido por elastasa para producir fragmentos altamente fluorescentes. Es decir, cuanto mayor es el valor de fluorescencia, mayor es la actividad de elastasa y, por lo tanto, menor es la inhibición de la enzima elastasa.

15 Se añaden 50 µl/pocillo del exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891, obtenido de acuerdo con el ejemplo 1, a 10, 5, 2 y 1 mg/ml o solo tampón de reacción (control) a una microplaca negra de 96 pocillos. Luego, se agregan 50 µl de solución de elastina marcada con pigmento BODIPY®FL a cada pocillo, así como 100 µl de solución de enzima elastasa diluida a 1 unidad de enzima/ml. La placa se incuba a temperatura ambiente, protegida de la luz, durante 4 horas, midiendo la fluorescencia en múltiples puntos de tiempo. La fluorescencia se lee a λ_{exc} = 490 nm y λ_{em} = 535 nm en un lector de placas de microtitulación TECAN GENios.

20 La Tabla 12 muestra el porcentaje de fluorescencia con respecto al control.

Tabla 12

Producto	Concentración	% de fluorescencia con respecto al control
Control		100 %
Exopolisacárido	10 mg/ml	68,3 %
Exopolisacárido	5 mg/ml	79,3 %
Exopolisacárido	2 mg/ml	89,7 %
Exopolisacárido	1 mg/ml	93,9 %

25 Los resultados muestran que la fluorescencia disminuye con la concentración de exopolisacárido y por lo tanto, que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 inhibe la actividad de elastasa.

Ejemplo 16: Ensayo de curación de heridas in vitro en queratinocitos humanos

30 Los queratinocitos humanos se cultivan hasta confluencia y luego se tratan con tripsina y se siembran a una densidad de 5 x 10⁴ células/pocillo en placas de 48 pocillos. Después de 48 horas de incubación a 37 °C en aire humidificado con CO₂ al 5 %, se introduce un área libre de células raspando la monocapa con una punta de pipeta. Se agrega nuevo medio con el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891, obtenido de acuerdo con el ejemplo 1, a una concentración de 10 µg/ml por pocillo. Las células no tratadas con el exopolisacárido se usan como control. En este momento, se fotografian las heridas por raspado (tiempo= 0 horas) utilizando un microscopio Zeiss Axiovert 40 CFL y una cámara AxioCam MRc5. Se permite que las células migren al espacio de la herida durante 48 horas bajo condiciones de cultivo estándar.

35 Después de este tiempo, se toman nuevas fotografías de las células (tiempo= 48 horas). El porcentaje de cicatrización de heridas con respecto al tiempo cero se calcula midiendo el área libre de células en cada momento.

La Tabla 13 muestra el porcentaje de cicatrización de heridas con respecto al control.

Tabla 13

Control	0 %
Exopolisacárido 10 µg/ml	40,1 %

5 Los resultados mostraron que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 aumenta la cicatrización de la herida.

Ejemplo 17: Estudio de la disminución en el nivel relativo de Nocturnina con una prueba colorimétrica ELISA (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), utilizando una línea celular de preadipocitos subcutáneos humanos primarios sincronizada en modo nocturno

10 De manera similar al ejemplo 11, se estudia la disminución en el nivel relativo de nocturnina en preadipocitos humanos sincronizados en modo nocturno.

Los preadipocitos humanos (LONZA) se siembran (10.000 células/pocillo, 4 pocillos por afección) en una placa de 96 pocillos y se incuban en un medio de crecimiento completo (PGM2, LONZA) durante 3 días a 37 °C en una atmósfera con un nivel de CO₂ del 5 %.

15 La sincronización de preadipocitos para inducir ciclos diarios de noche/día se obtiene alternando incubaciones de aproximadamente 12 horas en medio de diferenciación completa (PDM2, LONZA) con melatonina 1nM (condición que imita la noche) y 12 horas en PDM2 sin melatonina (condición que imita el día), a 37 °C en una incubadora de CO₂ (CO₂ al 5%) durante 4 días. Se siguen dos protocolos de incubación con melatonina para obtener cultivos sincronizados que imitan la noche (+/-; +/-; +/-; +/-) e imitan el día (-/+; -/+; -/+; -/+).

20 Después de cuatro ciclos diarios, las células sincronizadas se tratan con el exopolisacárido a 100 µg/ml o con el control basal durante 6 horas en condiciones de noche inducida (con melatonina), en una incubadora de CO₂ (37 °C y CO₂ al 5 %). Luego, el nivel de nocturnina se mide usando una prueba ELISA, y la concentración de proteína total se mide usando un ensayo de BCA (ácido bicinonínico). Para cada concentración, los resultados de ELISA se normalizan con los resultados de BCA. El nivel relativo de nocturnina se calcula a partir de estos resultados con respecto al control basal (células tratadas con medio de diferenciación completo).

25 Medición del nivel de nocturnina (CCRN4L) con la prueba ELISA (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima)

Se sigue el protocolo del fabricante del kit ELISA para la proteína similar a 4 de represión de catabolito de carbono (CCRN4L) (USCN Life Science Inc.) como en el ejemplo 11.

Determinación de la proteína total por ensayo BCA (ácido bicinonínico)

30 El protocolo del fabricante del kit de ensayo de proteínas BCA (Pierce) se sigue como en el ejemplo 11. El resultado obtenido se muestra en la tabla 14:

Tabla 14

Producto	Concentración	Nivel de nocturnina con respecto al control basal (%)
Exopolisacárido	100 µg/ml	78 ± 4 %

35 El resultado muestra que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 redujo el nivel relativo de proteína nocturnina en los adipocitos humanos sincronizados en la noche inducida.

Ejemplo 18a: Preparación de una composición de crema de gel cosmética que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.

ES 2 747 124 T3

5 En un recipiente apropiado, agua [INCI: AGUA (AQUA)], Hidrolito-5 2/016020 [INCI: PENTILENGLICOL], glicerina [INCI: GLICERINA], Betafin BP [INCI: BETAÍNA], Microcare BNA [INCI: ALCOHOL BENCÍLICO] y Carbopol Ultrez 10 [INCI: CARBÓMERO] se mezclan bajo agitación. Luego, se agrega Arlatone Map 160 K [INCI: CETIL FOSFATO DE POTASIO] hasta la dispersión y toda la mezcla se calienta a 70-50 °C. Esta mezcla de ingredientes constituye la fase A.

10 En otro recipiente, los ingredientes de la fase B, Massocare HD [INCI: ISOHEXADECANO], Finsolv TN [INCI: C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO], alcohol cetílico [INCI: ALCOHOL CETÍLICO], fenoxietanol [FENOXIETANOL], Polisorbato 20 [INCI: POLISORBATO 20], ácido esteárico [INCI: ÁCIDO ESTEÁRICO] y ácido palmítico [INCI: ÁCIDO PALMÍTICO] también se disuelven a 70-75 °C, y se agregan lentamente a la fase A bajo agitación con turbina.

Luego, la mezcla de las fases A y B se enfría a 50 °C y se agrega la fase C.

Luego, el único componente de fase D, la fragancia [INCI: FRAGANCIA (PERFUME)] se agrega, bajo agitación con rotor, a la mezcla previa hasta la homogeneización.

15 El pH se ajusta a 6,0-6,5 mediante la adición de hidróxido de sodio [INCI: HIDRÓXIDO DE SODIO] (q,s cantidad suficiente para ajustar a este pH) bajo agitación (fase E), obteniendo una composición cosmética con las proporciones que se muestran en la tabla 3.

20 La fase F incluye el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con el número de depósito LMG P-27891 del ejemplo 1, junto con agua [INCI: AGUA (AQUA)], hidrogenofosfato 12-hidrato disódico [INCI: FOSFATO DISÓDICO], dihidrogenofosfato 2-hidrato de sodio [INCI: FOSFATO DE SODIO], ZEMEA propanodiol [INCI: PROPANODIOL], Dermosoft GMCY [INCI: CAPRILATO DE GLICERILO] y goma de xantano [INCI: GOMA DE XANTANO], y se agrega a la mezcla de las fases anteriores bajo agitación.

Tabla 15

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	76,78
A PENTILENGLICOL	4,90
A GLICERINA	2,94
A BETAÍNA	2,94
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,39
A CARBÓMERO	0,34
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,39
B ISOHEXADECANO	1,96
B C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO	1,96
B ALCOHOL CETÍLICO	1,76
B FENOXIETANOL	0,88
B POLISORBATO 20	0,78
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,24
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,24

ES 2 747 124 T3

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
F AGUA (AQUA)	1,42
F PROPANODIOL	0,49
F FOSFATO DISÓDICO	0,03
F GOMA DE XANTANO	0,02
F FOSFATO DE SODIO	0,02
F CAPRILATO DE GLICERILO	0,01
F Exopolisacárido del ejemplo 1	0,01
C CICLOMETICONA	1,96
D FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 18b: Preparación de una composición de crema de gel cosmética que comprende el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891

- 5 La composición se prepara de acuerdo con las instrucciones del ejemplo 18a, pero con las siguientes concentraciones:

Tabla 16

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	74,64
A PENTILENGLICOL	4,80
A GLICERINA	2,88
A BETAÍNA	2,88
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,38
A CARBÓMERO	0,34
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,38
B ISOHEXADECANO	1,92
B C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO	1,92

ES 2 747 124 T3

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
B ALCOHOL CETÍLICO	1,73
B FENOXIETANOL	0,86
B POLISORBATO 20	0,77
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,24
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,24
F AGUA (AQUA)	2,84
F PROPANODIOL	0,98
F FOSFATO DISÓDICO	0,06
F GOMA DE XANTANO	0,04
F FOSFATO DE SODIO	0,04
F CAPRILATO DE GLICERILO	0,02
F Exopolisacárido del ejemplo 1	0,02
C CICLOMETICONA	1,92
D FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 19: preparación de una composición placebo

La composición se prepara de acuerdo con las instrucciones del ejemplo 18a, pero con agua en la fase F y las siguientes concentraciones:

5

Tabla 17

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	76,78
A PENTILENGLICOL	4,90
A GLICERINA	2,94
A BETAÍNA	2,94
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,39

ES 2 747 124 T3

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
A CARBÓMERO	0,34
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,39
B ISOHEXADECANO	1,96
B C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO	1,96
B ALCOHOL CETÍLICO	1,76
B FENOXIETANOL	0,88
B POLISORBATO 20	0,78
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,24
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,24
F AGUA (AQUA)	2
C CICLOMETICONA	1,96
D FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

Ejemplo 20: preparación de una composición placebo

5 La composición se prepara de acuerdo con las instrucciones del ejemplo 18^a, pero con agua en la fase F y las siguientes concentraciones:

Tabla 18

INGREDIENTE	% en peso
A AGUA (AQUA)	74,64
A PENTILENGLICOL	4,80
A GLICERINA	2,88
A BETAÍNA	2,88
A ALCOHOL BENCÍLICO	0,38
A CARBÓMERO	0,34
A CETIL FOSFATO DE POTASIO	0,38

(continuación)

INGREDIENTE	% en peso
B ISOHEXADECANO	1,92
B C12-C15 BENZOATO DE ALQUILO	1,92
B ALCOHOL CETÍLICO	1,73
B FENOXIETANOL	0,86
B POLISORBATO 20	0,77
B ÁCIDO ESTEÁRICO	0,24
B ÁCIDO PALMÍTICO	0,24
F AGUA (AQUA)	4
C CICLOMETICONA	1,92
D FRAGANCIA (PERFUME)	0,10
E HIDRÓXIDO DE SODIO 20 %	q.s.

5 **Ejemplo 21: Estudio in vivo de composiciones cosméticas que contienen el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891, para el tratamiento de la celulitis en mujeres voluntarias.**

10 El estudio se lleva a cabo durante 30 días con mediciones en el momento inicial, después de 15 días y después de 30 días de tratamiento. Un panel con 21 mujeres de entre 27 y 45 años de edad se aplican la composición del ejemplo 18a en el área de caderas y muslos (izquierda o derecha) y la composición de placebo del ejemplo 19 en el otro lado. Un segundo panel con 20 mujeres de entre 25 y 47 años de edad se aplican la composición del ejemplo 18b en el área de caderas y muslos (izquierda o derecha) y la composición de placebo del ejemplo 20 en el otro lado. La crema se aplica una vez al día, por la noche. Los sujetos sirven como su propia referencia y los resultados obtenidos en diferentes momentos se comparan con los obtenidos en el momento inicial. Los resultados obtenidos con las composiciones de los ejemplos 18a y 18b se comparan con los resultados obtenidos con la composición placebo de los ejemplos 19 y 20, respectivamente.

15 La eficacia del producto se evalúa mediante:

- Reducción de los contornos del muslo: obtenido por análisis de imagen de fotos digitales de muslos, resultados en la tabla 19.
- Suavizado del relieve de la piel: obtenido mediante análisis de imágenes de fotos digitales, resultados en la tabla 20.
- 20 - Termografía de uniformidad de la grasa: imágenes de las nalgas y la parte posterior de los muslos utilizando una cámara termográfica y análisis para obtener uniformidad de la temperatura de la superficie de la piel, resultados en la tabla 21.
- Firmeza de la piel: medida por cutometría de muslos, resultados en la tabla 22.
- 25 - Análisis sensorial por eficacia clínica: realizado por el investigador dando una puntuación para la intensidad de la celulitis. Se calcula la mejora del aspecto de la piel, resultados en la tabla 23.

ES 2 747 124 T3

Tabla 19

Composición	Contorno del muslo (cm), 15 días	Contorno del muslo (cm), 30 días
Ejemplo 19	+0,1	0
Ejemplo 18a	-0,6	-1,1
Ejemplo 20	0	-0,1
Ejemplo 18b	-0,9	-1,5

Tabla 20

Composición	Suavizado del relieve de la piel (%), 15 días	Suavizado del relieve de la piel (%), 30 días
Ejemplo 19	-0,9	-0,8
Ejemplo 18a	+2,7	+6,8
Ejemplo 20	0	+0,4
Ejemplo 18b	+5,0	+11,1

Tabla 21

Composición	Uniformidad de la temperatura de la superficie de la piel (%), 15 días	Uniformidad de la temperatura de la superficie de la piel (%), 30 días
Ejemplo 19	-3,5	+6,5
Ejemplo 18a	+13,6	+29,5
Ejemplo 20	-5,9	+5,8
Ejemplo 18b	+24,2	+39,4

Tabla 22

Composición	Firmeza de la piel (%), 15 días	Firmeza de la piel (%), 30 días
Ejemplo 19	-2,7	-0,1
Ejemplo 18a	+5,7	+14,4
Ejemplo 20	-1,8	+0,4
Ejemplo 18b	+11,1	+23,0

Tabla 23

Composición	Mejora del aspecto de la piel (%), 15 días	Mejora del aspecto de la piel (%), 30 días
Ejemplo 19	0	+6,2
Ejemplo 18a	+5,6	+12,5
Ejemplo 20	-1,0	+5,0

(continuación)

Composición	Mejora del aspecto de la piel (%), 15 días	Mejora del aspecto de la piel (%), 30 días
Ejemplo 18b	+7,1	+18,4

- 5 Los resultados muestran que el exopolisacárido de la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891 reduce el contorno del muslo, suaviza el relieve de la piel y mejora la firmeza de la piel y el aspecto de la piel a diferentes concentraciones.

- 10 Si bien se han mostrado ciertas realizaciones y detalles representativos con el fin de ilustrar la presente invención, será evidente para las personas experimentadas en esta técnica que se pueden realizar diversos cambios y modificaciones en la presente memoria sin apartarse del ámbito de la invención objeto. A este respecto, el alcance de la invención está limitado solo por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* para el tratamiento cosmético, no terapéutico y/o el cuidado cosmético no terapéutico de la piel, en el que el exopolisacárido tiene una composición en peso de 1 % a 22 % de glucosa, 50 % a 85 % de manosa, 15 % a 30 % de ramnosa, hasta 3 % en peso de ácido galacturónico y hasta 4 % en peso de xilosa, con la condición de que la suma de los porcentajes no supere el 100%.
- 10 2. Uso del exopolisacárido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento y/o cuidado cosmético, no terapéutico es un tratamiento de la celulitis, tratamiento de reducción de la acumulación de lípidos en la piel, estimulación de la lipólisis en la piel, estimulación de la síntesis de colágeno, tratamiento y/o prevención del envejecimiento de la piel, tratamiento y/o prevención de arrugas de la piel, tratamiento para mejorar la firmeza de la piel, prevención de la pérdida de firmeza de la piel y/o tratamiento para mejorar la elasticidad de la piel.
- 15 3. Uso del exopolisacárido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento y/o cuidado cosmético, no terapéutico reduce la cantidad de nocturnina en las células.
- 15 4. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* es una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* con número de depósito LMG P-27891.
- 20 5. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el exopolisacárido excretado por la cepa de la especie *Halomonas anticariensis* tiene un tiempo de residencia entre 4 y 10 minutos en un análisis por 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, agua con acetato de sodio 0,1 M como eluyente y tasa de flujo de 0,8 ml/min.
- 25 6. Composición cosmética que comprende una cantidad cosméticamente efectiva del exopolisacárido producido por una cepa de la especie *Halomonas anticariensis* y al menos un excipiente y/o ingrediente cosméticamente aceptable, en el que el exopolisacárido tiene una composición en peso de 1 % a 22 % de glucosa, 50 % a 85 % de manosa, 15 % a 30 % de ramnosa, hasta 3 % en peso de ácido galacturónico y hasta 4 % en peso de xilosa, con la condición de que la suma de los porcentajes no exceda el 100 %.
- 30 7. Composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el exopolisacárido se incorpora a un sistema de administración cosmético y/o sistema de liberación sostenida o se adsorbe en un polímero orgánico sólido o soporte mineral sólido.
- 30 8. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en la que la composición se presenta en una formulación seleccionada del grupo formado por cremas, emulsiones múltiples, soluciones, cristales líquidos, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles en crema, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sera, jabones, champús, acondicionadores, sueros, películas de polisacáridos, ungüentos, espumas, pomadas, polvos, barras, lápices, aspersores o aerosoles.
- 35 9. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, que se incorpora a una tela, tela no tejida o dispositivo médico.
- 40 10. Composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en la que el excipiente y/o ingrediente cosméticamente aceptable se selecciona del grupo formado por agentes que reducen la cantidad de nocturnina, agentes que inhiben la expresión de nocturnina, agentes lipolíticos o agentes que estimulan la lipólisis, agentes venotónicos, agentes que modulan la expresión de PGC-1α, agentes que inhiben la actividad de PPARγ, agentes que reducen el contenido de triglicéridos de los adipocitos, agentes anticelulíticos, agentes que retrasan la diferenciación de adipocitos, agentes que disminuyen la producción de sebo, agentes que estimulan la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir o prevenir su degradación, agentes estimulantes de la síntesis de colágeno, agentes estimulantes de la síntesis de elastina, agentes estimulantes de la síntesis de decorina, agentes estimulantes de la síntesis de laminina, agentes estimulantes de la síntesis de defensina, agentes estimulantes de la síntesis de chaperona, agentes estimulantes de la síntesis de cAMP, agentes que modulan AQP-3, agentes que modulan la síntesis de acuaporina, proteínas de la familia acuaporina, agentes estimulantes de la síntesis de ácido hialurónico, agentes estimulantes de la síntesis de glucosaminoglicanos, agentes estimulantes de la síntesis de fibronectina, agentes estimulantes de la síntesis de sirtuinas, proteínas de choque térmico, agentes estimulantes de la síntesis de proteínas de choque térmico, agentes que inhiben la excitación neuronal, agentes anticolinérgicos, agentes que inhiben la contracción muscular, agentes antienvjecimiento, agentes antiarrugas, agentes antitranspirantes, agentes antiinflamatorios y/o analgésicos, agentes contra la picazón, agentes calmantes, agentes anestésicos, inhibidores de la agregación del receptor de acetilcolina, agentes que inhiben la acetilcolinesterasa, agentes relajantes de la piel, agentes estimulantes o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes blanqueadores o despigmentantes, agentes de propigmentación, agentes autobronceadores, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes inhibidores de la 5α-reductasa, agentes inhibidores de la lisil y/o prolil hidroxilasa, antioxidantes, captadores de radicales libres y/o agentes contra la contaminación atmosférica, captadores reactivos de especies de carbonilo, agentes antiglicación, agentes antihistamínicos, agentes antivirales,
- 55

5 agentes antiparasitarios, emulsionantes, emolientes, disolventes orgánicos, propulsores líquidos, acondicionadores de la piel, humectantes, sustancias que retienen la humedad, alfa hidroxácidos, beta hidroxácidos, humectantes, enzimas hidrolíticas epidérmicas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, pigmentos o colorantes, tinturas, biopolímeros,

 10 polímeros gelificantes, espesantes, tensioactivos, agentes suavizantes, emulsionantes, agentes aglomerantes, conservantes, agentes capaces de reducir o tratar las bolsas debajo de los ojos, agentes exfoliantes, agentes queratolíticos, agentes descamantes, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas, agentes bacteriostáticos, agentes que estimulan la síntesis de componentes del estrato corneo,

 15 ceramidas, ácidos grasos, agentes que inhiben la degradación del colágeno, agentes que inhiben las metaloproteinasas de matriz, agentes que inhiben la degradación de elastina, agentes que inhiben las serina proteasas, agentes que estimulan la proliferación de fibroblastos, agentes que estimulan la proliferación de queratinocitos,

 20 agentes que estimulan la proliferación de melanocitos, agentes que estimulan la diferenciación de queratinocitos, agentes antihiperqueratosis, agentes comedolíticos, agentes antipsoriasis, agentes de reparación de ADN, agentes protectores de ADN, agentes protectores de células madre, estabilizadores, agentes para el tratamiento y/o cuidado de la piel sensible, agentes reafirmantes, agentes anti-estrías, agentes astringentes, agentes que inhiben la actividad de PAR-2, agentes estimulantes de la curación, agentes curativos coadyuvantes, agentes estimulantes de la reepitelización, agentes coadyuvantes de la reepitelización, factores de crecimiento de citocinas, agentes que actúan sobre la circulación capilar y/o microcirculación, agentes estimulantes de angiogénesis, agentes que inhiben la permeabilidad vascular, agentes que actúan sobre el metabolismo celular, agentes para mejorar la unión dermoepidérmica, agentes que inducen el crecimiento del cabello, agentes inhibidores o retardadores del crecimiento del cabello, agentes retardadores de la pérdida del cabello, conservantes, perfumes, desodorantes cosméticos y/o absorbentes y/o para enmascarar olores corporales, agentes quelantes, extractos de plantas, aceites esenciales, extractos marinos, agentes obtenidos de un proceso biotecnológico, sales minerales, extractos celulares, filtros solares y agentes fotoprotectores orgánicos o minerales activos contra los rayos ultravioleta A y/o B y/o rayos infrarrojos A, o mezclas de estos.