

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 523**

51 Int. Cl.:

A61K 8/64 (2006.01)
A61K 8/14 (2006.01)
A61K 8/11 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 5/02 (2006.01)
A61Q 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2015 PCT/US2015/036049**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015 WO15195677**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2015 E 15810115 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3157504**

54 Título: **Composiciones estimulantes de células madre**

30 Prioridad:

18.06.2014 US 201462014044 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.04.2020

73 Titular/es:

**MEDICELL TECHNOLOGIES, LLC (100.0%)
5845 Avenida Encinas, Suite 130
Carlsbad, California 92008 , US**

72 Inventor/es:

**TUROVETS, NIKOLAY y
ADAMS, WILLIAM B.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 754 523 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

Composiciones estimulantes de células madre

5 Esta solicitud reivindica la prioridad a la Solicitud Provisional de Estados Unidos núm. 62/014,044, que se presentó el 18 de junio de 2014, y que se incorpora como referencia en la presente descripción.

Campo de la invención

10 El campo de la invención es formulaciones cosméticas tópicas que usan defensinas para reducir la apariencia de arrugas, poros, irregularidad en la textura de la superficie de la piel, grasa, manchas pardas y manchas rojas en la piel no lesionada.

Antecedentes

15 El análisis siguiente sobre los antecedentes incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención. No es una admisión de que alguna de la información proporcionada en la presente descripción sea el estado de la técnica o sea relevante para la invención reivindicada en la presente descripción, o que cualquier publicación a la que se hace referencia de manera específica o implícita sea el estado de la técnica.

20 Desde su descubrimiento inicial en la década de 1960, ha existido mucha investigación acerca de la función de las defensinas. Las defensinas son proteínas pequeñas ricas en cisteína, normalmente de solo 14-85 aminoácidos de longitud. Las defensinas pueden encontrarse en invertebrados, vertebrados y plantas, y han demostrado ser activas contra muchas bacterias, hongos y virus. De hecho, gran parte del conjunto de estudios de investigación se ha centrado en las propiedades antimicrobianas de las defensinas. Sin embargo, en los últimos años, algunas investigaciones han explorado otras funciones que pueden desempeñar las defensinas en la piel humana, tales como la cicatrización de heridas o el crecimiento del pelo.

25 La solicitud de patente PCT WO 2014/004339 A2 por el solicitante ELC Management LLC enseña el uso de una composición cosmética que contiene resveratrol para estimular la producción endógena de beta defensinas celulares en células de la piel. Para ilustrar este efecto, los inventores probaron la composición en queratinocitos epidérmicos humanos normales ("NHEK") *in vitro* y midieron la presencia de beta defensina en NHEK. Las cantidades estimuladas resultantes de defensina fueron muy pequeñas (aproximadamente 0,001 ng/ml). Los inventores especularon que la estimulación de beta defensinas en queratinocitos por medio de composiciones que contienen resveratrol sería eficaz para tratar el acné, inhibir el crecimiento microbiano en la piel y mejorar la reparación de la barrera cutánea. Debido a las cantidades bajas estimuladas de beta defensina, y debido a que las composiciones en realidad no contienen defensinas, es cuestionable que estas composiciones produzcan resultados significativos desde el punto de vista cosmético. Estos y todos los demás materiales extrínsecos analizados en la presente descripción se incorporan como referencia en su totalidad. Cuando una definición o el uso de un término en una referencia incorporada es inconsistente o contrario a la definición de ese término proporcionada en la presente descripción, se aplica la definición de ese término proporcionada en la presente descripción y la definición de ese término en la referencia no es aplicable.

30 Por otra parte, se ha demostrado que las defensinas desempeñan una función significativa en la cicatrización de heridas. En el artículo de revista titulado "*Stimulation of the follicular bulge LGR5+ and LGR6+ stem cells with the gut-derived human alpha defensin 5 results in decreased bacterial presence, enhanced wound healing, and hair growth from tissues devoid of adnexal structures*" (Plast. Reconstr. Surg. 2013;132(5):1159-71), Lough y otros informan una formulación que contiene alfa defensina 5 humana que demostró en condiciones experimentales el reclutamiento de células madre LGR5+ y LGR6+ hacia quemaduras de tercer grado en ratones, lo que aceleró la cicatrización de la herida. Sin embargo, estos hallazgos dejan muchas interrogantes. Por ejemplo, en las condiciones experimentales descritas por Lough y otros, no está claro si LGR5+ y LGR6+ se activaron por condiciones proinflamatorias y otros factores ya presentes en la herida o debido a la aplicación tópica de defensinas. Además, la formulación para la cicatrización de heridas usada por Lough y otros contenía concentraciones de defensinas a concentraciones con actividad antimicrobiana (por ejemplo aproximadamente 10⁵ ng/ml). Sin embargo, esta concentración alta de defensina puede hacer que cualquier composición cosmética resultante sea más alergénica y más costosa.

35 Por lo tanto, aunque se conocen composiciones que contienen defensinas y estimulantes de defensinas, existe la necesidad de una formulación cosmética tópica para el uso en la piel sana que haga uso de las defensinas para reducir la apariencia visual de la edad en la piel.

Breve descripción de la invención

40 La materia de la invención se dirige hacia varias formulaciones tópicas, métodos de fabricación de la formulación tópica en los que la formulación tópica incluye concentraciones con eficacia subantimicrobiana de al menos una defensina, y métodos de aplicación de la formulación tópica a la piel sana de los usuarios para reducir la edad aparente de la piel de los usuarios.

En un aspecto de la invención, una formulación cosmética tópica incluye una defensina en un portador aceptable para el uso cosmético. Las formulaciones cosméticas tópicas están listas para usar y contienen la defensina a una concentración con eficacia subantimicrobiana, en donde la concentración es ineficaz para inhibir el crecimiento de un patógeno microbiano de manera terapéuticamente eficaz. Las formulaciones tópicas aún más preferidas pueden comprender además una mezcla de dos o más defensinas diferentes, en donde la concentración combinada de defensinas en la formulación es una concentración con eficacia subantimicrobiana.

Las composiciones de la invención emplean al menos una de alfa-defensina 1, alfa-defensina 5, alfa-defensina defensina de neutrófilos 2, defensina de neutrófilos 3, defensina de neutrófilos 4, zeta-defensina, beta-defensina 1, beta-defensina 3 y beta-defensina 4. En las composiciones tópicas preferidas se emplean alfa-defensina 5 y beta-defensina 3. Debe apreciarse que la defensina puede comprender una defensina sintética, una defensina humana, una defensina recombinante, una defensina de mono, una defensina de ratón, una defensina de rata, una defensina bovina, una defensina de oveja, una defensina de caballo, una defensina de conejo, una defensina de cerdo, una defensina de perro y/o una defensina de gato.

Con respecto a la concentración con eficacia subantimicrobiana de la primera defensina en la formulación cosmética tópica lista para usar, las concentraciones contempladas pueden estar entre 0,01 y 100 ng/ml, o entre 1 y 30 ng/ml, incluidos los puntos finales de cada intervalo. Además, las modalidades especialmente preferidas de la materia de la invención emplean concentraciones de defensinas de aproximadamente 22 ng/ml y aproximadamente 4,4 ng/ml en formulaciones listas para usar.

Los inventores descubrieron inesperadamente que, incluso a estas concentraciones bajas, las defensinas pueden ser eficaces 1) para reducir sustancialmente la profundidad de las arrugas, la longitud de las arrugas, el ancho de las arrugas, el tamaño de los poros, la irregularidad en la textura de la superficie de la piel, la grasa, las manchas pardas y las manchas rojas 2) para mejorar el brillo de la piel, 3) para aclarar la piel, y/o 4) para corregir marcadores de envejecimiento de la piel tales como firmeza de la piel, contornos flácidos, líneas, arrugas, dilatación de los poros, impurezas, brillo o tono disparejo de la piel, imperfecciones de la superficie, lisura, claridad general, manchas de la edad, hidratación, sequedad, textura suave, luminosidad y enrojecimiento en la piel no lesionada. Sin desear estar obligado por ninguna teoría particular, la eficacia de las defensinas a estas concentraciones con eficacia subantimicrobiana puede deberse a la activación y/o reclutamiento de células madre LGR6+. Típicamente, las defensinas usadas en las modalidades preferidas de la materia de la invención tienen una pureza mayor que 95 % como se muestra por HPLC, y la secuencia y la formación adecuada de enlaces disulfuro de las defensinas pueden confirmarse por MS/MS en tándem.

En dependencia de la naturaleza de la formulación tópica, debe reconocerse que las defensinas pueden encapsularse en liposomas u otras nanopartículas. En las formulaciones preferidas, las defensinas también pueden asociarse con un portador, en particular una proteína portadora tal como albúmina (*por ejemplo*, albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina, albúmina de huevo y albúmina recombinante producida por arroz, otras plantas, bacterias o levaduras), además encapsularse en liposomas cuando sea conveniente.

Los inventores contemplan además que las formulaciones cosméticas tópicas también pueden incluir suplementos para proporcionar nutrición y soporte a las células madre LGR6+. Los suplementos típicos incluyen albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina, albúmina de huevo, albúmina recombinante producida por arroz, otras plantas, bacterias o levaduras, hidrolizado vegetal, beta-ciclodextrina, glutamina, fosfolípidos, fibronectina, hialuronato, ácido hialurónico, hidrolizado vegetal, L-alanil-L-glutamina, gelatina, gelatina recombinante, factor de crecimiento epidérmico (EGF), vitamina E, nicotinato de tocoferilo y ubiquinona, coenzima Q10, antioxidantes.

Los inventores han apreciado que las formulaciones cosméticas tópicas de la materia de la invención pueden incluirse en kits con mascarillas exfoliantes. Los kits especialmente preferidos incluyen una mascarilla, una formulación de tratamiento en crema y una formulación de tratamiento en suero.

Aspectos adicionales de la materia de la invención proporcionan métodos para tratar cicatrices, quemaduras solares, hematomas y otros trastornos de la piel en los que las capas epidérmicas de la piel están en gran parte intactas. Los métodos ilustrativos incluyen las etapas de proporcionar una formulación tópica que tiene al menos una defensina a una concentración con eficacia subantimicrobiana y aplicar la formulación a la piel no lesionada bajo un protocolo eficaz para reducir sustancialmente la apariencia de cicatrices, quemaduras solares, hematomas, etc.

Varios objetos, características, aspectos y ventajas de la materia de la invención se harán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de las modalidades preferidas, junto con las figuras de dibujo adjuntas en las que los números similares representan componentes similares.

Breve descripción del dibujo

La Figura 1 muestra fotografías lado a lado que muestran la reducción de las arrugas.

La Figura 2 muestra fotografías lado a lado que muestran una reducción de la apariencia de las manchas pardas.

Descripción detallada

Los inventores descubrieron inesperadamente que las concentraciones subantimicrobianas de defensas pueden lograr numerosos efectos convenientes en la piel no lesionada cuando se aplican en formulaciones tópicas listas para usar. Entre otras cosas, tales formulaciones tópicas proporcionaron 1) reducción significativa de las arrugas, el tamaño de los poros, la irregularidad en la textura de la piel, la grasa, las manchas pardas y las manchas rojas, 2) mejora del brillo de la piel, 3) aclarado de la piel, y/o 4) corrección de marcadores de envejecimiento de la piel tales como firmeza de la piel, contornos flácidos, líneas, arrugas, dilatación de los poros, impurezas, brillo o tono disparejo de la piel, imperfecciones de la superficie, lisura, claridad general, manchas de la edad, hidratación, sequedad, textura suave, luminosidad y enrojecimiento.

En una modalidad preferida, una formulación cosmética tópica lista para usar comprende al menos una defensiva presente en una formulación cosmética tópica a una concentración con eficacia subantimicrobiana. Por supuesto debe apreciarse que las formulaciones tópicas pueden contener una defensiva, una combinación de dos defensas o una combinación de tres o más defensas. Las defensas usadas pueden ser de tipos y subtipos iguales o diferentes. Por ejemplo las defensas adecuadas pueden incluir una o más de alfa-defensiva 1, alfa-defensiva 5, alfa-defensiva 6, defensiva de neutrófilos 2, defensiva de neutrófilos 3, defensiva de neutrófilos 4, zeta-defensiva, beta-defensiva 1, beta-defensiva 3 y beta-defensiva 4. Las formulaciones tópicas preferidas contienen alfa-defensiva 5 y beta-defensiva 3. Cuando se usan dos defensas más en combinación, cada defensiva puede estar presente en cantidades iguales en masa o en relaciones de masa especificadas para lograr un resultado deseado, tales como 1:1,5, 1:2, 1:4, 1:5, etc. Particularmente, debe apreciarse que las concentraciones totales de las defensas usadas en las formulaciones listas para usar contempladas son ineficaces para inhibir de manera terapéuticamente eficaz la proliferación sustancial de microbios en infecciones cutáneas establecidas.

Como se usa en la presente descripción, el término "lista para usar" indica que la formulación tópica que contiene defensas está en una forma que se presenta para la venta y aplicación. Se contempla que las formulaciones listas para usar pueden comprender una solución completamente combinada, crema, gel, suero, loción, etc. Alternativamente, la defensiva puede envasarse en un contenedor separado (*por ejemplo*, en un frasco que bombea una solución de defensiva con una crema que el usuario mezcla antes de aplicar a la piel intacta) y combinarse con otra formulación tópica en el momento del uso/aplicación.

Como también se usa en la presente descripción, la frase "concentración con eficacia subantimicrobiana" significa concentración(ones) de defensas que se caracteriza(n) por una incapacidad de inhibir la proliferación de microbios en una infección establecida. Típicamente, las formulaciones tópicas listas para usar no incluyen concentraciones mayores que 1 µg/ml. En modalidades preferidas, la concentración de defensas cae entre 0,01 y 100 ng/ml, y aún más típicamente entre 1 y 30 ng/ml, en donde las concentraciones contempladas incluyen los puntos finales de cada intervalo. En modalidades aún más preferidas, las formulaciones cosméticas tópicas tienen concentraciones de defensas de aproximadamente 22 ng/ml y 4,4 ng/ml. Como se usa en la presente descripción, cuando el término "aproximadamente" se usa junto con un número, "aproximadamente" significa un intervalo de más o menos diez por ciento del valor numérico proporcionado, incluidos los puntos finales. La mención de intervalos de valores en la presente descripción se destina simplemente a servir como método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo. A menos que se indique de cualquier otra manera en la presente descripción, cada valor individual se incorpora a la memoria descriptiva como si se hubiera mencionado individualmente en la presente descripción.

Las formulaciones tópicas generales pueden incluir todas y cada una de las formulaciones adecuadas para el uso tópico cosmético, especialmente en la piel no lesionada. Como se usa en la presente descripción, el término piel "no lesionada" se refiere a la piel en la que la dermis y la hipodermis están sustancialmente intactas. Por lo tanto, visto desde una perspectiva diferente, la piel no lesionada parecerá intacta a simple vista, sin ninguna ruptura suficientemente grande o profunda para producir hemorragias. Por lo tanto, la piel no lesionada (o "sana") incluye piel envejecida y piel con quemaduras solares de primer grado, exposición ambiental, hematomas o estrato córneo parcialmente destruido. La piel no lesionada (o sana) también excluye la piel que muestra una infección persistente con patógenos que producen síntomas y signos visibles de infección.

Con respecto a la fuente de las defensas, los inventores contemplan que las defensas tanto de fuentes naturales como sintéticas pueden ser adecuadas para la incorporación en formulaciones tópicas. Por ejemplo, las defensas pueden obtenerse a partir de plantas (*por ejemplo*, Arabidopsis, guisantes, tabaco y especias), mamíferos u otros animales. Las defensas ilustrativas derivadas de fuentes naturales pueden incluir defensas humanas, defensas de mono, defensas de ratón, defensas de rata, defensas bovinas, defensas de oveja, defensas de caballo, defensas de conejo, defensas de cerdo, defensas de perro y/o defensas de gato.

Debido a sus cantidades relativamente bajas en un organismo vivo y al peso molecular bajo, generalmente se prefiere, sin embargo, que las defensas sean defensas sintéticas. Las defensas sintéticas incluyen las defensas producidas por síntesis química (*por ejemplo*, síntesis en fase sólida) o por tecnologías recombinantes (*por ejemplo*, producidas por bacterias, levaduras, cultivos de tejidos, plantas o animales recombinantes). Los inventores contemplan además que los análogos de defensas tales como hapivirinas y dipovirinas pueden usarse en algunas

modalidades de la materia de la invención. Aún más, los inventores contemplan además que las defensinas también pueden modificarse para aumentar su actividad y especificidad para mejoras estéticas de la apariencia de la piel. Por ejemplo, las defensinas pueden desplegarse y replegarse en condiciones controladas para determinar la formación adecuada de enlaces disulfuro (que puede supervisarse por análisis MS y/o espectroscopía CD). Alternativamente, se contemplan modificaciones químicas (por ejemplo, el uso de aminoácidos no naturales para aumentar el tiempo de semivida o aminoácidos proteínogénicos derivatizados para aumentar la lipofilidad) para adaptar las defensinas a una necesidad particular.

Independientemente de la fuente de las defensinas, debe apreciarse que la actividad específica de las defensinas depende de varios factores, incluidos la forma isomérica y la estructura terciaria de la proteína final. Por lo tanto, y especialmente cuando la defensina es sintética, los grupos protectores ortogonales pueden usarse para proteger residuos de cisteína seleccionados, que después pueden desprotegerse individualmente y enlazarse con el residuo de cisteína objetivo correspondiente, lo que conduce a la formación coordinada de enlaces disulfuro no aleatorios. El uso de tales grupos protectores en la estrategia de síntesis puede dar lugar a defensinas con una actividad específica comparable a la actividad específica de la defensina nativa. Puede emplearse cualquier medida adecuada de caracterización y control de la calidad. Típicamente, la actividad específica de las defensinas incorporadas en las formulaciones tópicas de la invención se mide mediante la pureza determinada por HPLC. En modalidades ilustrativas, la defensina es entre 80 % y 100 % pura, más típicamente la defensina es al menos 90 % pura, o al menos 95 % pura, o al menos 99 % pura, o al menos 99,9 % pura. Además, la secuencia de aminoácidos y la formación de enlaces disulfuro adecuadas pueden confirmarse por MS/MS en tándem, por ejemplo.

Con respecto a la concentración adecuada de defensinas en las formulaciones cosméticas presentadas en la presente descripción, se contempla que todas las concentraciones se consideran adecuadas siempre que tales concentraciones tengan eficacia cosmética (*es decir*, mejora la apariencia visual de la piel sana y especialmente 1) reduce las arrugas, el tamaño de los poros, la irregularidad en la textura de la piel, la grasa, las manchas pardas y/o las manchas rojas, 2) mejora el brillo de la piel, 3) aclara la piel, y/o 4) corrige marcadores de envejecimiento de la piel tales como firmeza de la piel, contornos flácidos, brillo o tono disparejo de la piel, imperfecciones de la superficie, lisura, claridad general, manchas de la edad, hidratación, sequedad, textura suave, luminosidad y enrojecimiento). Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que la formulación cosmética se destina al uso en la mejora de la apariencia visual de la piel sana envejecida. En otras palabras, las concentraciones empleadas en la materia de la invención no se destinan a ser terapias para el tratamiento de cortes, quemaduras de tercer grado u otras lesiones en las que haya una pérdida de la integridad en las capas de la epidermis y la dermis (típicamente asociadas con hemorragias y/o formación de postillas). Por consiguiente, la concentración total de defensinas (un solo tipo o combinación de distintas defensinas) en la formulación cosmética final aplicada a la piel estará entre 0,01 ng/ml y 100 ng/ml, o entre 0,1 ng/ml y 100 ng/ml, o entre 1 ng/ml y 100 ng/ml, o entre 2 ng/ml y 80 ng/ml, o entre 4 ng/ml y 60 ng/ml, o entre 1 ng/ml y 30 ng/ml. Por lo tanto, las composiciones preferidas incluyen defensinas a una concentración de al menos 0,01 ng/ml, al menos 0,1 ng/ml, al menos 1 ng/ml, o al menos 4 ng/ml, pero no más de 200 ng/ml, no más de 100 ng/ml, no más de 75 ng/ml o no más de 50 ng/ml.

En la mayoría de los casos la defensina se asocia con una proteína aceptable para el uso cosmético para aumentar la estabilidad y/o las características de suministro. En este contexto, debe tenerse en cuenta que la asociación es preferentemente no covalente (por ejemplo, electrostática, iónica, hidrofóbica, etc.), sin embargo, no se excluye la unión covalente a un grupo lateral de la proteína. Las proteínas ilustrativas incluyen lactoferrina, transferrina y albúmina (*por ejemplo*, albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina y albúmina de huevo, albúmina recombinante). Las defensinas y proteínas portadoras pueden estar en varias relaciones, incluidas las relaciones equimolares, submolares y supramolares. Además, pueden usarse combinaciones de dos o más proteínas portadoras. Por ejemplo, en una formulación en la que se usan dos defensinas, una defensina puede asociarse con un portador, y la otra defensina puede asociarse con un portador diferente. Por lo tanto, se contemplará cualquier combinación de defensinas y portadores.

Aún en aspectos contemplados adicionales, las defensinas (y las proteínas portadoras) pueden encapsularse en formulaciones aceptables para el uso cosmético y especialmente formulaciones que usan una membrana lipídica. Por ejemplo, se contemplan especialmente los liposomas, microcápsulas, nanocápsulas, micropartículas, nanopartículas, sistemas de suministro de micropartículas. Una descripción de algunos sistemas de suministro cosmético aceptables para el uso cosmético puede encontrarse en Maherani y otros, "Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategy", *Current Nanoscience*; 7:436-452 (2011). Un método preferido de fabricación de liposomas es el método de cizallamiento. Los sistemas de suministro cosmético preferidos se asemejan a las membranas de origen natural, son flexibles y pueden penetrar en los espacios intersticiales entre las células. Se contempla además que los sistemas de suministro cosmético pueden tener estructuras de monocapa, bicapa (*por ejemplo* vesícula unilamelar o ULV) o multicapa (*por ejemplo* vesícula multilamelar o MLV). Además, los liposomas multicapa, microcápsulas, microsomas y nanocápsulas pueden tener estructuras anidadas (*por ejemplo* vesícula multivesicular o MVV). Los sistemas de suministro cosmético usados en las formulaciones tópicas pueden variar en tamaño de 500 nm a 10 micras. En la preparación de los sistemas de suministro cosmético, se contemplan todas las composiciones lipídicas aceptables para el uso cosmético, especialmente los lípidos aceptables para el uso farmacéutico. En la mayoría de los casos los sistemas de suministro cosmético preferidos comprenden moléculas anfipáticas o anfifílicas tales como fosfolípidos o combinaciones de fosfolípidos (*por ejemplo*, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico,

fosfatidilserina y fosfoinosítidos). Además, en algunos casos los sistemas de suministro cosmético contemplados pueden contener aditivo(s) tales como esteroides, polietilenglicol, colesterol, dicetilfosfato, estearilamina, etc. Con respecto a la cantidad de sistemas de suministro incorporados en cada formulación lista para usar, el contenido del sistema de suministro cosmético se ajustará típicamente para lograr una concentración subantimicrobiana de defensinas dentro de un intervalo preferido. Las vesículas/liposomas unilamelares pueden producirse con el uso de técnicas de cizallamiento alto. Estas vesículas tienen un potencial Zeta mayor que el liposoma típico, lo que permite un tamaño de partícula más pequeño y uniforme con mayor estabilidad. El potencial Zeta es un indicador de la carga electrónica en la superficie de cualquier material macroscópico que está en contacto con un líquido. Este puede usarse para predecir y controlar la estabilidad de las suspensiones; cuanto más alto sea el potencial Zeta, mayor será la estabilidad de la molécula debido a que las partículas cargadas son capaces de repelerse y superar su afinidad innata a la asociación.

Debe tenerse en cuenta que las defensinas, las proteínas portadoras, los liposomas u otras estructuras membranosas tienen un peso molecular que supera el suministro transmembrana e incluso el suministro a través del estrato córneo. Sin embargo, como se analiza en más detalle, las defensinas tienen un efecto profundo sobre la actividad de las células madre en las capas dérmica e hipodérmica. Aunque sin desear estar obligados por ninguna teoría o hipótesis, los inventores contemplan que las formulaciones liposómicas tienen la capacidad de transportar las defensinas a través de una ruta intersticial y/o invadir el folículo piloso a una profundidad y concentración suficientes para activar células LGR6+. Visto desde otra perspectiva, se cree que el uso de sistemas de suministro cosmético ayuda al suministro de defensinas dado que no se espera que las defensinas *per se* penetren en el estrato córneo de la piel (que actúa como una barrera para moléculas con pesos moleculares mayores que 500 Da). Por otra parte, cuando se asocia con albúmina (65-70 kDa) y/o liposomas es, al menos conceptualmente, aún más difícil que la composición de defensinas penetre la piel intacta. Por lo tanto, los inventores plantean la hipótesis de que el mecanismo de suministro de defensinas es diferente en la piel intacta en comparación con la piel dañada o lesionada.

En otro aspecto, los inventores proporcionan ventajosamente ingredientes adicionales que nutren y brindan soporte a las células madre reclutadas en la piel sana. Por ejemplo, la albúmina (*por ejemplo*, albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina), albúmina de huevo (clara de huevo), albúmina recombinante, hidrolizado vegetal y β -ciclodextrina, glutamina, fosfolípidos (liposomas), fibronectina, hialuronato, hidrolizado vegetal, L-alanil-L-glutamina, gelatina, vitamina E (nicotinato de tocoferilo), ubiquinona (coenzima Q₁₀), gelatina, gelatina recombinante, ácido hialurónico, factor de crecimiento epidérmico pueden proporcionar nutrición y soporte a las células madre.

Aún en aspectos contemplados adicionales, el tratamiento cosmético de la piel sana puede asistirse además por medio de procedimientos complementarios, y los procedimientos contemplados especialmente incluyen la exfoliación química y/o mecánica. Por ejemplo, la exfoliación química puede realizarse con el uso de una o más proteasas (por ejemplo, papaína, extracto de fermento de *Lactobacillus/Calabaza*, extracto de fermento de *Lactobacillus/fruto de Punica Granatum*), alfa-hidroxiácidos, etc., mientras que la exfoliación mecánica puede realizarse con el uso de cristales de azúcar, materia vegetal celulósica, decapado con cinta, CO₂ congelado, microesferas poliméricas y gránulos de sílice.

En base a los datos anteriores y los adicionales (no mostrados), la materia de la invención también se dirige por lo tanto a los métodos y el uso de concentraciones con actividad subantimicrobiana de defensinas en formulaciones cosméticas tópicas para reclutar células madre LGR6+ al espacio interfolicular en la piel no lesionada. Más típicamente, se indicará a un usuario que aplique la formulación tópica a la piel no lesionada bajo un protocolo eficaz 1) para reducir al menos uno de profundidad de las arrugas, longitud de las arrugas, ancho de las arrugas, tamaño de los poros, irregularidad en la textura de la superficie de la piel, grasa, manchas pardas y manchas rojas en la piel no lesionada, 2) para mejorar el brillo de la piel, 3) para aclarar la piel, y/o 4) para corregir marcadores de envejecimiento de la piel tales como firmeza de la piel, contornos flácidos, líneas, arrugas, dilatación de los poros, impurezas, brillo o tono disparejo de la piel, imperfecciones de la superficie, lisura, claridad general, manchas de la edad, hidratación, sequedad, textura suave, luminosidad y enrojecimiento. Por ejemplo, las defensinas se aplicarán preferentemente al menos una vez al día (o dos veces al día) durante un período de al menos una semana, o dos semanas, tres semanas, seis semanas o incluso más. De manera beneficiosa, la cantidad total de formulaciones aplicadas es tal que la formulación se absorbe en la piel. Por ejemplo, las formulaciones tópicas se aplican típicamente a 0,1-500 mg por cm², 0,1-500 mg por cm², 0,5-300 mg por cm², 5-500 mg por cm², o 100-500 mg por cm².

Con el uso de las composiciones presentadas en la presente descripción, los inventores descubrieron que las formulaciones cosméticas que incluían las defensinas 1) reducen al menos uno de profundidad de las arrugas, longitud de las arrugas, ancho de las arrugas, tamaño de los poros, irregularidad en la textura de la superficie de la piel, grasa, manchas pardas y manchas rojas en la piel no lesionada, y/o 2) mejoran el brillo de la piel, y/o 3) aclaran la piel, y/o 4) corrigen al menos uno de los marcadores de envejecimiento de la piel tales como firmeza de la piel, contornos flácidos, líneas, arrugas, dilatación de los poros, impurezas, brillo o tono disparejo de la piel, imperfecciones de la superficie, lisura, claridad general, manchas de la edad, hidratación, sequedad, textura suave, luminosidad y enrojecimiento. Además, los efectos observados (datos no mostrados) incluyeron el tratamiento de una cicatriz, de manera que la apariencia de la cicatriz se reduce tras la aplicación de la formulación tópica. Los inventores contemplan que otras condiciones donde no hay heridas tales como quemadura solar y decoloración pueden tratarse de acuerdo con los usos y métodos de la invención.

EJEMPLOS

5 Aunque las formulaciones cosméticas pueden prepararse con el uso de cualquier cantidad de ingredientes y formulaciones conocidos en la técnica, las formulaciones tópicas preferidas incluyen aquellas listas para usar y que pueden aplicarse por un usuario. Por lo tanto, con respecto a los portadores aceptables para el uso cosmético, se contemplan todos los portadores aceptables para el uso cosmético e incluyen cremas, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, espumas, mousses, pomadas, lociones, suspensiones, suero, geles, etc.

10 *Lista de ingredientes de formulación de crema cosmética tópica ilustrativa:*

15 Agua (Aqua), Oleosomas de *Carthamus Tinctorius* (Cártamo), Manteca de *Butyrospermum Parkii* (Karité), Aceite de Semilla de *Macadamia Integrifolia*, Niacinamida, Extracto de Levadura, Copolímero de Acriloildimetiltaurato de Amonio/VP, Aceite de Semilla de *Helianthus Annuus* (Girasol), Fosfolípidos, Alfa-Defensina 5, Beta-Defensina 3, Ácido Hialurónico, Extracto de Raíz de *Ophiopogon Japonicus*, Extracto Hidrolizado de *Candida Saitoana*, Extracto de Gorgonia, Extracto de Frutas de *Lycium Chinense*, Extracto de Frutas de *Vaccinium Angustifolium*, Extracto de Frutas de *Vaccinium Macrocarpon* (Arándano), Extracto de Hojas de *Rosmarinus Officinalis* (Romero), Pantenol, Albúmina, Acetato de Tocoferilo, Ubiquinona, L-Alanil-L-Glutamina, Filtrado de Fermento de *Leuconostoc/Raíz de Rábano*, Gelatina, SH Oligopéptido-1, Goma Xantana, Ácido Fítico, Polisorbato 20, Triglicérido Caprílico/Cáprico, Fenoxietanol, Caprilil Glicol, Etilhexilglicerina, Hexilen Glicol, Sorbato de Potasio, Cloruro de Sodio, Fragancia.

Lista de ingredientes de formulación de suero cosmético tópico ilustrativo:

25 Agua (Aqua), Ciclopentasiloxano, Glicerina, Niacinamida, Filtrado de Fermento de *Sinorhizobium Meliloti*, Dimeticona, Polisorbato 20, Polímero reticulado de Dimeticona/Vinil Dimeticona, Lauril PEG-9 Polidimetilsiloxetil Dimeticona, Copolímero de Acriloildimetiltaurato de Amonio/VP, Fosfolípidos, Alfa-Defensina 5, Beta-Defensina 3, Palmitoil Tripéptido-38, Hialuronato de Sodio, Extracto de *Arabidopsis Thaliana*, Extracto de Gorgonia, Ergotioneína, Aceite de Semilla de *Helianthus Annuus* (Girasol), Extracto de Hojas de *Rosmarinus Officinalis* (Romero), SH Oligopéptido-1, Acetato de Tocoferilo, Ubiquinona, Filtrado de Fermento de *Leuconostoc/Raíz de Rábano*, Albúmina, Gelatina, L-Alanil-L-Glutamina, Triglicérido Caprílico/Cáprico, Cetil Hidroxietilcelulosa, Lecitina, Hidroxipropil Ciclodextrina, Ácido Fítico, Fenoxietanol, Caprilil Glicol, Etilhexilglicerina, Hexilen Glicol, Cloruro de Sodio.

Mascarilla ilustrativa:

35 Butilen Glicol, PEG-8, Almidón de Tapioca, Sacarosa, Dióxido de Titanio, Copolímero de Acrilato de Hidroxietilo/Acriloildimetil Taurato de Sodio, Escualano, Polisorbato 60, Fruto de *Carica Papaya* (Papaya), Papaína, Zumo de Hojas de *Aloe Barbadensis*, Extracto de Fermento de *Lactobacillus/Calabaza*, Extracto de Fermento de *Lactobacillus/Fruto de Punica Granatum*, Extracto de Gorgonia, Aceite de Flores de *Cananga Odorata*, Aceite de Cáscara de *Citrus Aurantium Dulcis* (Naranja), Triglicérido Caprílico/Cáprico, Ácido Láctico, Fenoxietanol, Caprilil Glicol, Etilhexilglicerina, Hexilen Glicol.

Formulación de liposomas ilustrativa:

45 **La Tabla 1** a continuación muestra una formulación de liposomas de suministro cosmético ilustrativa que incluye dos tipos de defensinas. Estos liposomas se incorporan típicamente en una formulación cosmética a una fracción de aproximadamente 1,0 % en peso a 10,0 % en peso para la mayoría de las aplicaciones de cuidado de la piel.

Tabla 1. Formulación de liposomas ilustrativa

Componente	Concentración
Agua (libre de proteasas)	hasta 100 %
Albúmina	0,1-1,0 mg/ml
L-alanil-L-glutamina	0,1-1,0 mg/ml
Gelatina	2-200 µg/ml
Proteínas de matriz	1-100 ng/ml
Alfa-defensina 5 humana	1-200 ng/ml
Beta-defensina 3 humana	1-200 ng/ml
Factores de crecimiento (por ejemplo, EGF, FGF-2)	0,1-100 ng/ml
Fosfolípidos	2-20 % en peso
Antioxidantes	0,3-3 % en peso

5 Aún en un aspecto adicional de la materia de la invención, las formulaciones cosméticas tópicas pueden ofrecerse juntas como un kit. Los kits preferidos incluyen una formulación de mascarilla y una formulación de tratamiento en crema o suero que contiene defensinas. Los kits aún más preferidos incluyen una formulación de mascarilla y ambas formulaciones de tratamiento en crema y suero que contienen defensinas.

10 En la fabricación de formulaciones de defensinas cosméticas, se contempla que las preparaciones de defensinas concentradas pueden añadirse a formulaciones cosméticas de base de manera que la concentración de la defensina en el producto listo para usar esté a una concentración con eficacia subantimicrobiana objetivo. En dependencia de la formulación deseada, las defensinas pueden incorporarse en preparaciones concentradas como soluciones, asociadas con proteínas portadoras, y más típicamente como formulaciones liposómicas. Tales preparaciones de defensinas concentradas pueden añadirse a las formulaciones cosméticas de base en proporciones como se proporciona a continuación:

15 *Loción corporal (aceite en agua)*

20	a)	Aceite de ricino hidrogenado PEG-7	2,00 %
		Laurato de glicerilo PEG-20	1,00 %
		cocoglicéridos	3,00 %
		alcohol cetearílico	1,00 %
		isononanoato de cetearilo	4,00 %
		estearato de octilo	4,00 %
25		fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno	0,30 %
	b)	agua, destilada	73,40 %
		fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno,	0,30 %
		glicerina	3,00 %
30	c)	Preparación de defensinas concentrada	5,00 %
	d)	copolímero de acrilamidas, aceite mineral isoparafina C13-C14, polisorbato 85	3,00 %

35 La mezcla a) se funde a aproximadamente 70 °C y la mezcla b) se calienta a aproximadamente 70 °C y se añade a la mezcla a) mientras se agita. La agitación continúa hasta que la loción se haya enfriado a aproximadamente 30 °C. Después se añaden c) y d) mientras se agita y la loción se homogeniza.

Loción en gel

40	a)	copolímero de acrilamidas, aceite mineral, isoparafina C13-14, polisorbato 85	5,00 %
		mireth-3 miristato	4,00 %
	b)	agua, destilada	85,00 %
		fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) butilparabeno (y) propilparabeno	0,50 %
		(e) isobutilparabeno	
45		goma xantana	0,50 %
	c)	Preparación de defensinas concentrada	5,00 %

50 La mezcla a) se disuelve a aproximadamente 50 °C. La mezcla b) se dispersa a temperatura ambiente y se añade a a) mientras se agita. Después, se añade la composición c) mientras se agita.

Crema de aceite en agua

55	a)	alcohol cetearílico (y) cetareth-20	8,00 %
		cocoglicéridos	2,00 %
		alcohol cetearílico	2,00 %
		dicaprilil éter	8,00 %
		erucato de oleilo	7,00 %
60		fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno	0,30 %
	b)	agua, destilada	62,40 %
		fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno	0,30 %
65		glicerina	5,00 %
	c)	Preparación de defensinas concentrada	5,00 %

ES 2 754 523 T3

La mezcla a) se funde a aproximadamente 70 °C y la mezcla b) se calienta a aproximadamente 70 °C y se añade a la mezcla a) mientras se agita. La agitación continúa hasta que la crema se haya enfriado a aproximadamente 30 °C. Después, se añade la composición c) mientras se agita y la crema se homogeniza.

5

Crema de agua en aceite

	a) dilinoleato de diisostearoil poligliceril-3 dimérico	3,00 %
	cera de abejas	0,60 %
10	aceite de ricino, hidratado	0,40 %
	paraffinum subliquidum	5,00 %
	isohexadecano	10,00 %
15	Éter estearílico PPG-15	2,00 %
	dimeticona	0,50 %
	fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno	0,30 %
	b) agua, destilada	68,40 %
20	fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, propilparabeno, isobutilparabeno	0,30 %
	glicerina	3,00 %
	MgSO ₄ *7H ₂ O	1,00 %
	c) Preparación de defensinas concentrada	5,00 %
25	d) dimetil sililato de sílice	0,50 %

La mezcla a) se calienta a aproximadamente 80 °C, la mezcla b) se lleva a 80 °C y se añade a a) mientras se agita. La agitación continúa hasta que la crema se haya enfriado a aproximadamente 30 °C, después se añaden c) y d) y la crema se homogeniza.

30

Champú

	Polioxietilen lauril éter sulfato de sodio	15,0 %
	Poliglucósido de alquilo	4,0 %
35	Amida de ácido N-etanol-N-metil dodecanoico	3,0 %
	EDTA-Na ₂	0,3 %
	Ácido málico para ajustar el pH a 6,0	cantidad suficiente
	Conservante	0,5 %
40	Preparación de defensinas concentrada	10,0 %
	Agua purificada	resto
	Total	100,0 %

45 Todos los ingredientes se mezclan entre sí y el volumen se lleva a aproximadamente 90 ml. Después se ajusta el pH y el volumen se ajusta finalmente a 100 ml (todos los porcentajes son en % en peso).

Jabón corporal

	Polioxietilen lauril éter sulfato de sodio	16,0 %
50	Polioxietileno de sodio	5,0 %
	Amida de ácidos grasos de N-etanol-N-metilo del aceite de	2,5 %
	Glicerina	3,0 %
55	Celulosa cationizada	0,1 %
	Diestearato de etilenglicol	3,0 %
	EDTA-Na ₂	0,3 %
	Ácido cítrico para ajustar el pH a 5,7	cantidad suficiente
60	Conservante	0,5 %
	Preparación de defensinas concentrada	7,5 %
65	Agua purificada	resto
	Total	100,0

Todos los ingredientes se mezclan entre sí y el volumen se lleva a aproximadamente 90 ml. Después se ajusta el pH y el volumen se ajusta finalmente a 100 ml (todos los porcentajes son en % en peso).

5	<i>Limpiador facial</i>	
	Polioxietilen lauril éter sulfato de sodio	20,0 %
	Amida de ácido N-etanol-N-metil dodecanoico	4,8 %
	Glicerina	3,0 %
10	Hidroxietilcelulosa	0,3 %
	Diestearato de etilenglicol	1,5 %
	EDTA-Na ₂	0,3 %
	Ácido cítrico para ajustar el pH a 6,0	cantidad suficiente
15	Conservante	0,5 %
	Preparación de defensinas concentrada	10,0 %
	Agua purificada	resto
	Total	100,0

Todos los ingredientes se mezclan entre sí y el volumen se lleva a aproximadamente 90 ml. Después se ajusta el pH y el volumen se ajusta finalmente a 100 ml (todos los porcentajes son en % en peso).

Los inventores probaron una formulación preferida de la materia de la invención en dos estudios clínicos, el Estudio Clínico 1 y el Estudio Clínico 2 (estudio con enmascaramiento doble). Ambos estudios se realizaron bajo la supervisión del Dr. Gregory Keller, M.D, F.A.C.S en la Clínica de Cirugía Plástica de Santa Bárbara, California. El diseño de ambos estudios fue sustancialmente similar. Ambos estudios clínicos examinaron a 10 sujetos durante 6 semanas. Cada sujeto recibió una crema, un suero y una máscara. La mitad de los sujetos (Estudio 2) recibió formulaciones de la crema, suero y máscaras que contienen defensinas. La otra mitad de los sujetos recibió formulaciones de placebo de la crema, suero y máscara que eran idénticas en composición al grupo experimental, excepto que las formulaciones no contenían defensinas.

Los inventores midieron las puntuaciones individuales de salud de la piel de cada participante antes y después del tratamiento con el uso del sistema clínico de obtención de imágenes QuantiFicare™ 3D LifeViz™ y el protocolo desarrollado por QuantiFicare Inc. (www.quantificare.com). Los rostros de cada uno de los participantes se escanearon con el uso del sistema 3D LifeViz™ y se les asignó un valor para cada una de las categorías siguientes: profundidad, longitud y ancho de las arrugas; profundidad de los poros; lisura de la piel; grasa de la piel; manchas pardas de la piel y manchas rojas de la piel. Los valores resultantes de cada participante se compararon después contra una población con el mismo género, edad y tipo de piel, con el uso de la base de datos de poblaciones de referencia de QuantiFicare. La puntuación de salud de la piel resultante de cada participante fue una calificación en percentiles de la salud de la piel en comparación con una población de personas con la misma edad, género y tipo de piel.

Por ejemplo, la **Tabla 2** (a continuación) muestra la edad promedio de cada grupo de estudio en comparación con una población con la edad, el género y el tipo de piel correspondientes. La edad se calculó con el uso del parámetro de arrugas, que es una combinación de profundidad, longitud y ancho de las arrugas en la frente y las mejillas.

Tabla 2. Calificación de la edad promedio del Estudio Clínico 2 antes y después del tratamiento

Grupo	Calificación de la edad promedio	
	Antes del tratamiento	Después de 6 semanas
Placebo	77 %	74 %
Grupo experimental	61 %	81 %

La Figura 1 muestra las imágenes de antes (A) y después (B) adquiridas por un sistema 3D LifeViz™ del participante 3-PC (mujer de 63 años) del Estudio Clínico 1. El participante 3-PC recibió la formulación experimental. Las mediciones del sistema 3D LifeViz™ mostraron que el participante 3-PC observó una reducción en la estimación de la edad visible de la piel (en base al valor de lisura de la piel calculado por el sistema 3D LifeViz™) de 64 a 37 años. Las fotos no se han retocado.

La Figura 2 muestra las imágenes de antes (A) y después (B) adquiridas por un sistema 3D LifeViz™ con el filtro de manchas pardas del participante 8-IK (mujer) del Estudio Clínico 1. El participante 3-PC recibió la formulación experimental. Las imágenes muestran una reducción de las manchas pardas en el rostro como resultado del tratamiento. Las fotos no se han retocado.

Debe ser evidente para los expertos en la técnica que muchas más modificaciones además de las ya descritas son

posibles sin apartarse de los conceptos de la invención en la presente descripción. Por lo tanto, la materia de la invención no debe restringirse excepto en el alcance de las reivindicaciones anexas. Por otra parte, en la interpretación tanto de la memoria descriptiva como de las reivindicaciones, todos los términos deben interpretarse de la manera más amplia posible de acuerdo con el contexto. En particular, los términos "comprende" y "que comprende" deben interpretarse como referencia a elementos, componentes o etapas de una manera no excluyente, lo que indica que los elementos, componentes o etapas a los que se hace referencia pueden estar presentes, o utilizarse, o combinarse con otros elementos, componentes o etapas a los que no se hace referencia expresamente. Cuando las reivindicaciones de la memoria descriptiva se refieren a al menos uno de algo seleccionado del grupo que consiste en A, B, C... y N, el texto debe interpretarse como que solo requiere un elemento del grupo, no A más N, o B más N, etc.

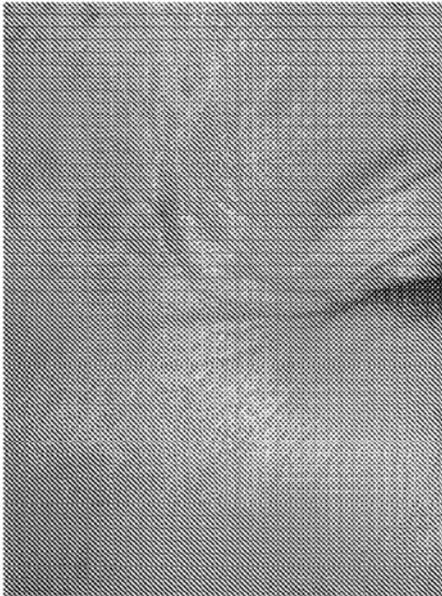
5

10 Además, como se usa en la presente descripción y a lo largo de las reivindicaciones que siguen, el significado de "un", "una" y "el/la" incluye la referencia en plural a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera. Además, como se usa en la presente descripción, el significado de "en" incluye "en" y "sobre" a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera.

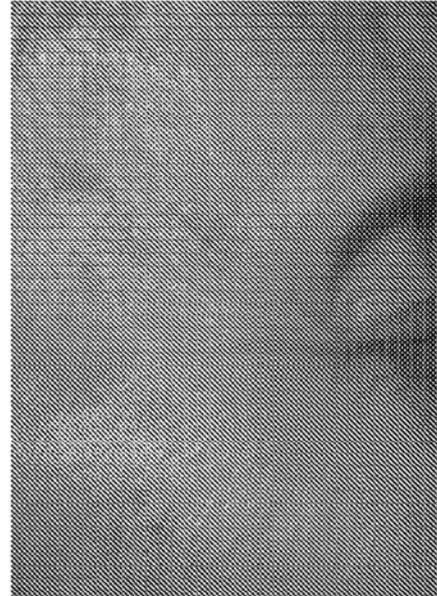
REIVINDICACIONES

1. Una formulación cosmética tópica, que comprende:
un portador aceptable para el uso cosmético en combinación con una primera defensina;
en donde la primera defensina se selecciona del grupo que consiste en alfa-defensina 1, alfa-defensina 5, alfa-defensina 6, defensina de neutrófilos 2, defensina de neutrófilos 3, defensina de neutrófilos 4, una zeta-defensina, beta-defensina 1, beta-defensina 3 y beta-defensina 4; y
en donde la primera defensina está presente en la formulación cosmética tópica a una concentración que es ineficaz para inhibir el crecimiento microbiano, y en donde la formulación cosmética tópica es una formulación cosmética tópica lista para usar.
2. La formulación cosmética tópica de la reivindicación 1, en donde la primera defensina se encuentra encapsulada en un liposoma.
3. La formulación cosmética tópica de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde la primera defensina comprende al menos una de una defensina sintética, una defensina recombinante, una defensina humana, una defensina de mono, una defensina de ratón, una defensina de rata, una defensina bovina, una defensina de oveja, una defensina de caballo, una defensina de conejo, una defensina de cerdo, una defensina de perro y una defensina de gato.
4. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración con eficacia subantimicrobiana de la primera defensina en la formulación cosmética tópica lista para usar está entre 0,01 y 100 ng/ml, incluidas.
5. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de la primera defensina en la formulación cosmética tópica lista para usar está entre 1 y 30 ng/ml, incluidas.
6. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de la primera defensina en la formulación cosmética tópica lista para usar es aproximadamente 22 ng/ml.
7. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de la primera defensina en la formulación cosmética tópica lista para usar es aproximadamente 4,4 ng/ml.
8. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera defensina está presente en la formulación cosmética tópica a una concentración que es eficaz para reducir sustancialmente al menos uno de profundidad de las arrugas, longitud de las arrugas, ancho de las arrugas, tamaño de los poros, irregularidad en la textura de la superficie de la piel, grasa, manchas pardas y manchas rojas en la piel no lesionada.
9. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera defensina tiene una pureza mayor que 95 % como se muestra por HPLC, y en donde la primera defensina tiene una secuencia determinada por MS/MS en tándem.
10. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde el liposoma comprende un fosfolípido.
11. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera defensina se asocia con una proteína portadora.
12. La formulación cosmética tópica de la reivindicación 11, en donde la proteína portadora comprende al menos una de albúmina sérica humana, albúmina recombinante, albúmina sérica bovina y albúmina de huevo.
13. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una segunda defensina, en donde la segunda defensina es diferente de la primera defensina, y en donde la segunda defensina está presente en la formulación cosmética tópica a una concentración que es ineficaz para inhibir el crecimiento microbiano.
14. La formulación cosmética tópica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un suplemento para células madre LGR6+, en donde el suplemento comprende al menos uno de albúmina sérica humana, albúmina recombinante, albúmina sérica bovina, albúmina de huevo, hidrolizado vegetal, beta-ciclodextrina, glutamina, fosfolípidos, fibronectina, hialuronato, ácido hialurónico, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de fibroblastos, hidrolizado vegetal, L-alanil-L-glutamina, gelatina, gelatina recombinante, vitamina E, nicotinato de tocoferilo, coenzima Q10 y ubiquinona.

15. La formulación cosmética tópica de la reivindicación 1, en donde la primera defensina comprende al menos una de alfa-defensina 5 y beta-defensina 3.



Antes del tratamiento



Después de 6 semanas
de tratamiento

Figura 1

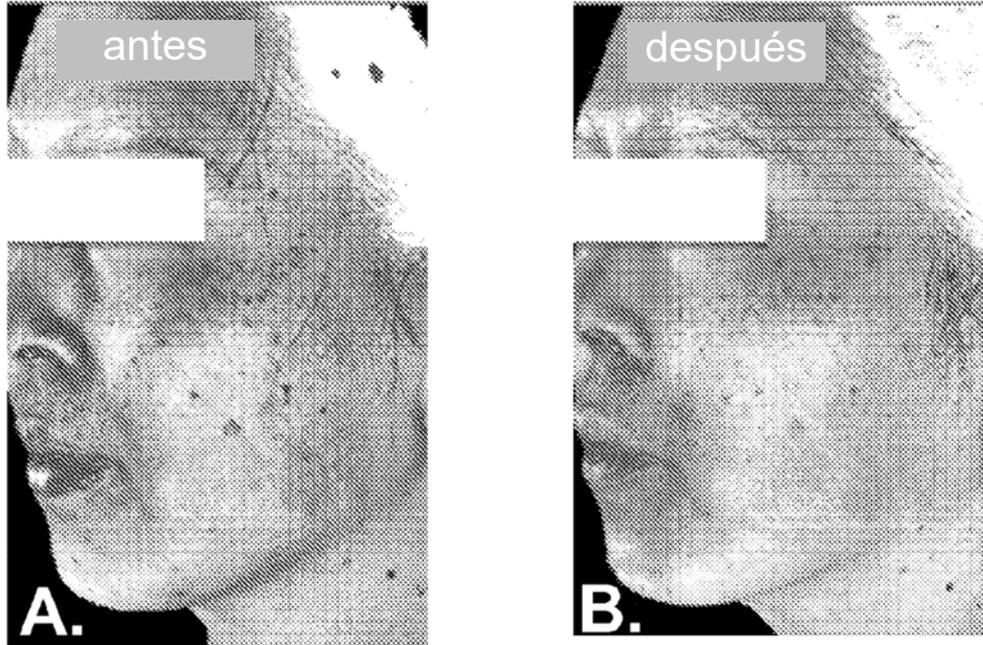


Figura 2