(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 030 120**

(51) Int. Cl.:

A61Q 19/00 (2006.01)
A61K 8/44 (2006.01)
A61K 8/88 (2006.01)
A61P 17/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2020 PCT/US2020/019173**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2020 WO20197669**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2020 E 20718859 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2025 EP 3946643**

(54) Título: **Uso de dendrímeros de polilisina en la prevención y tratamiento de la piel propensa al acné y la piel acneica**

(30) Prioridad:

26.03.2019 US 201962823730 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2025

(73) Titular/es:

LUCAS MEYER COSMETICS (100.00%)
13 Rue Ella Maillart
91300 Massy, FR

(72) Inventor/es:

ATTIA-VIGNEAU, JOAN;
LOING, ESTELLE y
BOREL, MAGALI

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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

Uso de dendrímeros de polilisina en la prevención y tratamiento de la piel propensa al acné y la piel acneica

Antecedentes

El acné vulgar, también conocido simplemente como acné, es una enfermedad inflamatoria crónica común de las glándulas que producen sebo (folículos sebáceos). El acné provoca la formación de elevaciones inflamadas (pápulas, pústulas, nódulos y quistes), comedones (puntos negros y puntos blancos) y cicatrices en la piel. El acné es uno de los trastornos más comunes que tratan los dermatólogos y otros profesionales sanitarios. Más de un 90 % de la población mundial se ve afectada por el acné en algún momento de su vida. La patogenia del acné es multifactorial e implica cuatro factores clave con mecanismos interrelacionados: producción de sebo aumentada, hiperqueratinización, inflamación cutánea y proliferación de *Cutibacterium acnes.*

Cutibacterium acnes (antes *Propionibacterium acnes*) está presente de forma ubicua en los folículos sebáceos de la piel humana, con predominio en la cara y la espalda. *C. acnes* es un miembro prevalente de la microbiota normal de la piel y desempeña una función importante en el mantenimiento de la microbiota normal de la piel al inhibir el desarrollo de algunas bacterias patógenas tales como *Staphylococcus aureus* y al mantener el pH ácido en los folículos pilosebáceos. Aunque *C. acnes* es comensal, en general se considera que está implicada en la patogenia del acné al promover la inflamación. De hecho, varios estudios demostraron que, en la piel, *C. acnes* activa la inmunidad innata a través de receptores de tipo Toll expresados por monocitos y queratinocitos y aumenta la secreción de interleucinas. Además, se demostró que *C. acnes* está asociada con infecciones oportunistas, especialmente en el contexto de dispositivos médicos permanentes. Su doble función en el equilibrio de la microbiota de la piel, las afecciones inflamatorias del acné y las infecciones oportunistas dio lugar a la suposición de que determinadas cepas de *C. acnes* podrían caracterizarse por un elevado potencial patógeno e inflamatorio.

Los estudios filogenéticos proporcionaron información valiosa sobre la estructura de la población genética de *C. acnes.* Se demostró que *C. acnes* tiene una estructura clonal global, y sus aislados pueden clasificarse en varios clados o filogrupos estadísticamente significativos denominados tipos IA1, IA2, IB, IC, II y III. Se demostró que los filogrupos presentaban diferencias en sus asociaciones con tipos específicos de infecciones y variaban en su producción de supuestos determinantes virulencia, potencial inflamatorio, resistencias a antibióticos, propiedades de agregación y características morfológicas. Los filotipos IA1, IA2, IB, IC de C. *acnes* se han identificado como cepas acneicas mientras que los filotipos II y III se clasifican como cepas no acneicas. Se demostró que el filotipo IA1 es la cepa más abundante en las cepas acneicas, mientras que los filotipos II y III están presentes principalmente en pieles sanas, no acneicas.

De hecho, varios estudios epidemiológicos independientes demostraron una correlación entre los complejos clonales del filogrupo de tipo IA1 y el acné de moderado a grave (Scholz *et al.*, PlosOne, 2014, e104199, Barnard *et al.* Journal of Clinical Microbiology, 2015, 53, 1149-1155).

Recientemente, Dagnelie *et al.* (Acta Derm Venereol, 2018; 98:262-267) determinaron y compararon los diferentes tipos de filotipos, complejos clonales (CC) y tipificación de secuencias de un solo locus (SLST) en pacientes con acné grave frente a pacientes sanos. Demostraron que los pacientes sanos portaban los filotipos IA1 (39,1 %) y II (43,4 %), mientras que en el grupo con acné portaba una alta predominancia de IA1 (84,4 %), especialmente en la espalda (95,6 %): el tipo SLST IA1 se asoció significativamente con el acné grave. Cabe destacar que Dagnelie *et al.* informaron de que el acné grave inflamatorio tanto de la cara como de la espalda está asociado con una pérdida significativa en la población de diversidad de *C. acnes.* Dado que la microbiota modula la inmunidad innata de la piel, se cree que dicha pérdida de diversidad podría desencadenar inflamación y promover lesiones inflamatorias del acné. En una publicación muy reciente, Dagnelie *et al.* proporcionaron evidencias de que una pérdida en la diversidad de subgrupos de *C. acnes* en la piel desencadena la activación del sistema inmunitario innato y, por tanto, el desarrollo de inflamación cutánea (Dagnelie *et al.*, JEADV, 2019; 33:2340-2348). A día de hoy, existen varias líneas de tratamiento para tratar el acné dependiendo de su gravedad. Los tratamientos se basan esencialmente en dos tipos de ingredientes activos: los retinoides tópicos, que ejercen una acción antinflamatoria, normalizan la descamación de la piel y ejercen una acción comedolítica, y los antibióticos y bactericidas, tales como peróxido de benzoilo, que se usan para reducir la presencia global de *C. acnes* en la piel. El tratamiento del acné moderado y grave en general combina una politerapia tópica con peróxido de bencilo y retinoides o antibióticos. También pueden prescribirse tratamientos orales con antibióticos e isotretinoína. En las mujeres, también puede prescribirse una píldora oral combinada. Desafortunadamente, estos tratamientos tienen también varios inconvenientes, tales como irritación de la piel, dermatitis o fotosensibilidad. El uso de antibióticos también es controvertido debido al problema de resistencia a los antibióticos y puede dar lugar a un desequilibrio de la microbiota.

La solicitud de patente de Estados Unidos 2010/0324146 se refiere a compuestos de dendrímeros que portan grupos superficiales aniónicos y a su uso como inhibidores de hialuronidasa, por ejemplo, para el tratamiento de trastornos que implican niveles excesivos, anómalos o no deseados de hialuronidasa o para prolongar la potenciación de los efectos del hialuronano, por ejemplo, para tratar la artritis, prevenir el posinfarto de miocardio o la apoplejía, cicatrizar, prevenir la formación de placas ateroescleróticas o promover la cicatrización de heridas.

La patente de Estados Unidos 9.855.223 se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un complejo de dendrímero-resveratrol, por ejemplo, para su uso en un método para proporcionar cuidado personal y/o cosmético. El dendrímero se usa como vehículo para aumentar la solubilidad y la permeabilidad transdérmica del resveratrol.

La solicitud CN 108743452 se refiere a una composición biónica autoventilada que comprende polvo de quitosano y un dendrímero hiperramificado de polilisina reticulado con otros varios excipientes.

Sin embargo, ninguno de estos tratamientos tiene como objetivo reequilibrar la microbiota de la piel para promover las cepas no acneicas de *C. acnes* frente a las cepas acneicas *C. acnes*.

Por tanto, existe una necesidad de métodos alternativos para tratar la piel acneica, así como la piel propensa al acné y la piel propensa a las imperfecciones.

Sumario de la invención

La invención es como se define en el conjunto de reivindicaciones adjunto.

La invención se refiere al uso cosmético, no terapéutico, de un dendrímero de polilisina o una sal del mismo como ingrediente activo para tratar o prevenir las imperfecciones cutáneas, en particular para mejorar el aspecto visual de la piel en un sujeto que tiene piel propensa a las imperfecciones.

La invención también se refiere a un dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso como ingrediente activo para tratar o prevenir el acné vulgar.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa como ingrediente activo para restablecer o reequilibrar la microbiota de la piel, preferiblemente restablecer la diversidad de *C. acnes* en la piel. Por ejemplo, el dendrímero de polilisina o una sal del mismo puede usarse como ingrediente activo para disminuir la abundancia de cepas acneicas de *C. acnes*, preferiblemente cepas de *C. acnes* pertenecientes a los filotipos IA1, IA2, IB e IC, más preferiblemente al filotipo IA1 en la piel. Como alternativa o adicionalmente, el dendrímero de polilisina o una sal del mismo puede usarse para aumentar la abundancia de cepas no acneicas de *C. acnes*, preferiblemente cepas de *C. acnes* pertenecientes a los filotipos II o III, preferiblemente al filotipo II, en la piel.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa además como ingrediente activo para:

- mejorar el aspecto y el tacto de la piel, y/o
- restablecer el bienestar de la piel y/o
- calmar la piel, y/o
- disminuir o prevenir el enrojecimiento de la piel, o la inflamación de la piel, y/o
- disminuir la secreción de sebo de la piel, y/o
- disminuir las lesiones visibles, tales como comedones, pústulas y pápulas, y/o
- mejorar la descamación de la piel,

en piel acneica, piel propensa al acné o piel propensa a imperfecciones.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado de segunda generación que tiene un DPn de 40 a 60, preferiblemente de 46 a 50, tal como 48.

En algunas otras realizaciones, el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina que tiene un núcleo lineal de poli-L-lisina en donde los grupos ε-amino están sustituidos con un resto de poli-L-lisina. Por ejemplo, el núcleo lineal de poli-L-lisina contiene de 6 a 10, preferiblemente 8 residuos de lisina de longitud y/o el resto de poli-L-lisina injertado en grupos ε-amino tiene de 2 a 6, preferiblemente 5 residuos de lisina de longitud.

En algunas realizaciones adicionales, el dendrímero de polilisina está en forma de dendrímero policatiónico en donde el contranión es acetato. Un ejemplo de dicho dendrímero se proporciona en la figura 7.

El dendrímero de polilisina puede estar presente como ingrediente activo en una composición no farmacológica, cosmética o dermocosmética. Algunos ejemplos de composiciones cosméticas de interés abarcan crema calmante, producto exfoliante, crema o gel de uso diario, tónico o loción clarificante, limpiador purificante, crema o barra correctora de imperfecciones y barra o crema correctora.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina puede usarse en combinación con un ingrediente activo seleccionado de vitamina A, retinoides tales como adapaleno, tretinoína o tazaroteno, bactericidas tales como peróxido de benzoilo y decanodiol, ácido azelaico, ácido salicílico, agentes antinflamatorios tales como dapsona o aceite de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té), agentes antienrojecimiento, agentes calmantes y combinaciones de los mismos.

La invención también se refiere a una composición tópica para su uso en el tratamiento de piel acneica, piel propensa al acné o piel propensa a las imperfecciones, que comprende un dendrímero de polilisina como ingrediente activo y uno o varios excipientes. La composición tópica puede comprender:

- de 0,1 a 100 ppm de un dendrímero de polilisina, preferiblemente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 7-10
- de un 0 % a un 20 % de uno o más agentes activos adicionales, y
- de un 70 % a un 99,9999 % de uno o más excipientes,

expresándose los porcentajes en peso con respecto al peso total de la composición.

La invención también se refiere a un método no terapéutico para restablecer o reequilibrar la microbiota en piel propensa a las imperfecciones, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina, o una composición del mismo, a dicho sujeto, en donde el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado de segunda generación que tiene un DPn de 40 a 60 y que preferiblemente es como se define en este documento.

También se describe un método para mejorar el aspecto y el tacto de la piel, y/o restablecer el bienestar de la piel y/o prevenir, mejorar o tratar las imperfecciones y/o las lesiones del acné y/o calmar la piel, y/o disminuir la visibilidad de los poros (y, por tanto, suavizar la piel), y/o disminuir o prevenir el enrojecimiento de la piel, y/o la inflamación de la piel, y/o disminuir la secreción de sebo de la piel y/o hacer que la piel tenga un aspecto menos brillante y/o graso, y/o mejorar la piel en un sujeto con acné, con piel propensa a las imperfecciones o con piel propensa al acné, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina, o de una composición del mismo, a dicho sujeto.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el efecto antinflamatorio de un dendrímero G2 de acuerdo con la invención en fibroblastos de dermis humana normal. Las células se trataron con 0,0003 ng/ml de IL-α en presencia de hidrocortisona (0,05 µg/ml) o dendrímero G2 (10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M o 10^{-6} M) y se determinó la producción de IL-8 mediante un ensayo ELISA de IL-8. $^{*}p$ <0,05, $^{**}p$ <0,01, $^{***}p$ <0,001.

La figura 2 es un esquema que muestra la cronología de la aplicación del producto en un modelo *ex vivo* de acné vulgar usado en el ejemplo 5. El dendrímero G2 se aplicó a 2 ppm o 5 ppm, seguido de *C. acnes* (1 hora) en D0, D1, D4 y D6.

La figura 3 muestra el efecto del dendrímero G2 sobre la expresión de TRL2 en explantes de piel humana expuestos a *C. acnes*. Como control se usó un explante sin tratamiento con *C. acnes* o G2.

La figura 4 muestra el efecto del dendrímero G2 sobre la fluidez de la membrana de cepas acneicas de *C. acnes* (RT4 y RT5) y cepas no acneicas de *C. acnes* (RT6). El dendrímero G2 aumenta específica y significativamente la fluidez de la membrana en las cepas acneicas.

La figura 5A-5E muestra los resultados del estudio clínico que tiene como objetivo evaluar el efecto de un tratamiento con una crema de ensayo que contiene el dendrímero G2 (G2) frente a crema de placebo (placebo) sobre el número de lesiones inflamatorias (es decir, pústulas y pápulas) (figura 5A), lesiones de retención (es decir, puntos negros y puntos blancos) (figura 5B) y puntos negros, así como sobre la tasa de excreción de sebo (figura 5C) tras 28 días de tratamiento. Las figuras 5E y 5D muestran la diversidad de cepas de *C. acnes* usando el índice de Simpson y Shannon, respectivamente, después de 28 días de tratamiento. El protocolo y los resultados del ensayo clínico se detallan en el ejemplo 8.

Las figuras 6A y 6B muestran el impacto del dendrímero de la invención sobre la biopelícula formada por la cepa no acneica RT6 y la formada por la cepa acneica RT5. El dendrímero G2 disminuyó el grosor de la biopelícula para ambas cepas. Cabe destacar que el dendrímero G2 disminuyó significativamente la densidad de biomasa en la biopelícula formada por la cepa RT5, mientras que no tuvo ningún efecto significativo sobre la densidad de biomasa de la biopelícula formada por la cepa RT6.

La figura 7 muestra un ejemplo de dendrímero de polilisina de la invención.

Descripción detallada de la invención

Las referencias a métodos de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para tratar a un sujeto mediante tratamiento. El solicitante demostró que un polímero "dendriforme" de residuos de lisina, denominado en este documento "dendrímero G2", presenta actividad antibacteriana contra una cepa acneica de *C. acnes*

perteneciente al filotipo IA1 con una CMI de 20 ppm. Además, el dendrímero G2 modera el efecto queratolítico y disminuye la cascada inmunitaria e inflamatoria que se sabe que está asociada con la colonización por *P. acnes*. El solicitante demostró además que este dendrímero de poli-L-lisina estaba capacitado para dirigirse específicamente a cepas acneicas de *C. acnes*. Cabe destacar que el ejemplo 6 demostró que el dendrímero G2 aumenta significativamente la fluidez de la membrana en ribotipos acneicos pertenecientes al filotipo IA1 (RT4 y RT5), mientras que no tiene ningún efecto significativo sobre el ribotipo no acneico RT6 perteneciente al filotipo II. En otras palabras, este resultado sugiere que el dendrímero G2 puede desestabilizar específicamente la membrana celular de las cepas acneicas y, por tanto, inhibir su proliferación sin alterar las cepas no acneicas, de *C.acnes.* Además, el ejemplo 7 muestra que el dendrímero G2 disminuye significativamente la densidad de biomasa en la biopelícula formada por la cepa acneica RT5, mientras que no tiene ningún efecto significativo sobre la densidad de biomasa en la biopelícula formada por la cepa no acneica RT6. Se espera, por tanto, que el dendrímero de polilisina reduzca la respuesta inflamatoria desencadenada por la biopelícula de C. *acnes*, independientemente de la cepa, al reducir el grosor de la biopelícula, mientras ejerce una acción inhibidora selectiva y específica sobre las cepas acneicas al desestabilizar su biopelícula.

Se confirmó clínicamente la eficacia del dendrímero G2 de la invención para tratar las imperfecciones y lesiones y mejorar la microbiota de la piel en pieles acneicas. El solicitante demostró que un tratamiento de 28 días con una crema que contenía un dendrímero G2 a baja concentración (2 ppm) mejoraba significativamente el aspecto de la piel, en particular al disminuir el número de imperfecciones y lesiones del acné, tales como pápulas, pústulas, puntos negros y lesiones de retención, en comparación con el tratamiento con una crema de placebo. La crema que contiene G2 posibilitó además disminuir la tasa de secreción de sebo de la piel. Cabe destacar que el análisis genómico realizado en muestras faciales demostró que la composición que contiene dendrímero G2 mejoró la microbiota de la piel al aumentar la diversidad de cepas de *C. acnes*: la abundancia de cepas del filotipo IA1, identificadas como cepas que promueven el acné en la bibliografía, se disminuyó, mientras que la de cepas no acneicas del filotipo II aumentó en las muestras de piel tratadas con la composición que contiene G2. En otras palabras, el dendrímero de polilisina demostró ser un agente capaz de reequilibrar la diversidad *de C. acneica* en pieles acneicas.

En conjunto, estos resultados demuestran que los dendrímeros de polilisina son agentes activos eficaces para tratar las imperfecciones y restablecer la microbiota de la piel en piel con acné y propensa al acné, así como en piel propensa a las imperfecciones.

Por consiguiente, se divulga el uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente un dendrímero de poli-L-lisina, como agente activo en el tratamiento de pieles acneicas, pieles propensas al acné y pieles propensas a las imperfecciones.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere al uso de un dendrímero de polilisina como agente activo en la prevención o en el tratamiento del acné vulgar y/o en el tratamiento de las imperfecciones y lesiones de la piel asociadas al acné vulgar.

En otras realizaciones, la invención se refiere al uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente un dendrímero de poli-L-lisina, como agente activo:

- para mejorar el aspecto y el tacto de la piel, y/o
- para restablecer el bienestar de la piel y/o
- para prevenir, mejorar o tratar las imperfecciones, y/o
- para prevenir, mejorar o tratar las lesiones de acné y/o
- para calmar la piel, y/o
- para disminuir la visibilidad de los poros, y/o
- para disminuir o prevenir el enrojecimiento de la piel o la inflamación de la piel, y/o
- para disminuir la secreción de sebo de la piel y/o hacer que la piel tenga un aspecto menos brillante y/o graso
- para disminuir las lesiones visibles: puntos negros, pústulas y pápulas, y/o
- para mejorar la descamación de la piel (por ejemplo, al ejercer un efecto queratolítico)

en un sujeto con un tipo de piel seleccionado de piel con acné, piel propensa al acné y piel acneica con imperfecciones.

La invención también se refiere al uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente a un dendrímero de poli-L-lisina, para restablecer o reequilibrar la microbiota en pieles con acné, en pieles propensas al acné o en pieles propensas a las imperfecciones. Más concretamente, el dendrímero de polilisina de la invención se usa como agente para disminuir la abundancia de cepas acneicas de *C. acnes* en la piel, preferiblemente en pieles con acné y propensas al acné. En otra realización o adicional, el dendrímero de polilisina de la invención es para aumentar la abundancia de *C. acnes* no acneica en la piel, preferiblemente en pieles con acné o propensas al acné. La invención también se refiere al uso de un dendrímero de polilisina para prevenir o disminuir la colonización de la piel por cepas acneicas de *C. acnes*. La invención se refiere además al uso de un dendrímero de polilisina para aumentar la diversidad de *C. acnes* en piel acneica o propensa al acné, por ejemplo, disminuyendo la abundancia del filotipo IA1 de *C. acnes*, mientras se posibilita un aumento de la abundancia de los filotipos II o III de *C. acnes*.

En un aspecto más general, la invención se refiere al uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente a un dendrímero de poli-L-lisina, como agente activo para restablecer el equilibrio de la microbiota de la piel, en particular en pieles con acné o propensas al acné. En un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente un dendrímero de poli-L-lisina, para prevenir o tratar la disbiosis cutánea asociada con un desequilibrio en la población de *C. acnes*.

La invención también se refiere al uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente a un dendrímero de poli-L-lisina, como agente activo para mantener o restablecer la homeostasis de la microbiota de la piel, especialmente en un sujeto con piel acneica, piel propensa al acné o piel propensa a las imperfecciones.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a un método para tratar un tipo de piel seleccionado de piel acneica, piel propensa al acné y piel propensa a las imperfecciones en un sujeto, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina a dicho sujeto. Dicho método posibilita mejorar el aspecto de la piel del sujeto, por ejemplo, tratando, disminuyendo y/o retardando la aparición de imperfecciones y lesiones de la piel en el sujeto.

La invención también se refiere a un método para tratar o prevenir el acné en un sujeto, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina a dicho sujeto. Otro objeto de la invención es un método para mejorar el aspecto y el tacto de la piel, y/o restablecer el bienestar de la piel y/o prevenir, mejorar o tratar las imperfecciones y/o las lesiones del acné y/o calmar la piel, y/o disminuir la visibilidad de los poros (y, por tanto, suavizar la piel), y/o disminuir o prevenir el enrojecimiento de la piel, y/o la inflamación de la piel, y/o disminuir la secreción de sebo de la piel y/o hacer que la piel tenga un aspecto menos brillante y/o graso, y/o mejorar la piel en un sujeto con piel acneica, con piel propensa al acné o con piel propensa a las imperfecciones, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina a dicho sujeto. La invención se refiere además a un método para restablecer o reequilibrar la microbiota en piel con acné o en piel propensa al acné, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina a dicho sujeto.

También se divulga el uso de un dendrímero de polilisina, preferiblemente un dendrímero de poli-L-lisina, en la fabricación de una composición tópica para el control o el tratamiento de piel propensa al acné, piel propensa a las imperfecciones o piel acneica, como se describe anteriormente.

La invención también proporciona composiciones tópicas y métodos para tratar el acné vulgar, disminuir una respuesta inflamatoria en la piel y promover la descamación de la piel usando un dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o una sal del mismo. Por ejemplo, la invención se refiere a un método para disminuir una respuesta inflamatoria en la piel, que comprende aplicar a la piel de un sujeto que necesita tratamiento una composición que comprende un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, o una sal del mismo, disminuyendo de ese modo una respuesta inflamatoria en la piel del sujeto, en donde la respuesta inflamatoria comprende la liberación de IL-8 o la sobreexpresión de TLR2 en respuesta a *Cutibacterium acnes*. La invención se refiere además a un método para promover la descamación de células cutáneas, que comprende aplicar sobre la piel de un sujeto que necesita tratamiento una composición que comprende un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, o una sal del mismo, promoviendo de ese modo la descamación de células cutáneas del sujeto.

El dendrímero de polilisina de acuerdo con la invención puede incorporarse como ingrediente activo en una composición tópica, típicamente una composición farmacéutica, una composición cosmética o una composición dermocosmética.

Típicamente, el dendrímero de polilisina está presente a una concentración de 0,1 ppm a 100 ppm, preferiblemente de 0,1 ppm a 20 ppm, más preferiblemente de 0,5 a 10 ppm, tal como de 0,5 a 7 ppm, por ejemplo, de 0,5 a 6 ppm en una composición tópica. La concentración del dendrímero de polilisina en la composición tópica, así como la frecuencia de aplicación de dicha composición tópica, pueden depender de la piel a tratar y/o de la fase del tratamiento. Por ejemplo, una concentración de menos de 4 ppm, por ejemplo, de 2 ppm, puede ser suficiente para tratar piel propensa al acné, piel propensa a las imperfecciones y la piel con acné leve, con una aplicación una vez al día. Para tratar piel con acné moderado o grave, puede usarse una concentración mayor del dendrímero de polilisina (por ejemplo, de 4 a 10 ppm, por ejemplo, 4 o 6 ppm) con aplicación dos veces al día durante el tratamiento inicial. La dosis y la frecuencia de aplicación pueden disminuirse una vez controladas las lesiones cutáneas asociadas con el acné, y puede aplicarse un tratamiento de mantenimiento durante varias semanas.

El dendrímero de polilisina se usa típicamente por vía tópica, por ejemplo, aplicado sobre una zona de la piel a tratar, por ejemplo, una zona de piel afectada por acné o una zona de piel con perfil propenso al acné o perfil propenso a las imperfecciones. Típicamente, la zona de la piel a tratar puede presentar una o varias imperfecciones cutáneas y/o lesiones cutáneas, como se describe a continuación y/o un aspecto graso (por ejemplo, debido a una producción excesiva de sebo). La zona de piel de interés abarca, sin limitación, la cara, el cuello, el pecho, los hombros y la espalda.

La frecuencia del tratamiento puede variar y depende del tipo de piel del sujeto y/o de la gravedad del acné, si lo hubiera. En general, el dendrímero de polilisina se aplica sobre la piel a tratar una o dos veces al día. El tratamiento con el dendrímero de polilisina puede durar varios días consecutivos, por ejemplo, de 7 a 28 días, o varios meses (al menos 2, 3, 4, 6, 8 o 10 meses).

Se espera que el tratamiento prolongado con el dendrímero de polilisina de la invención, especialmente a concentraciones por debajo de 10 ppm, se tolere bien en el paciente sin efectos secundarios significativos tales como irritación de la piel, al menos porque el dendrímero de polilisina promueve el reequilibrio de la microbiota de la piel al dirigirse específicamente a cepas acneicas de *C. acnes*.

Los efectos ejercidos por el dendrímero pueden ser terapéuticos, profilácticos y/o cosméticos, dependiendo del tipo de piel y de la forma de aplicación.

Por ejemplo, el uso del dendrímero de polilisina de la invención puede ser un uso cosmético, no terapéutico, cuando se aplica sobre una piel acneica con imperfecciones.

El sujeto puede ser cualquier sujeto que padezca acné o que tenga una piel propensa al acné o propensa a las imperfecciones.

En algunas realizaciones, el sujeto es un adolescente de 10 a 18 años de edad, preferiblemente de 12 a 16 años de edad.

En algunas realizaciones, el sujeto padece acné y tiene más de 23 años de edad.

En otro aspecto, el sujeto es una mujer o un hombre de más de 23 años de edad.

En algunas otras realizaciones, el sujeto tiene piel propensa al acné.

En algunas realizaciones adicionales, el sujeto padece acné leve, acné moderado o acné grave, preferiblemente acné moderado o grave.

En una realización adicional, el sujeto tiene una piel propensa a las imperfecciones.

Como se usa en este documento, "una piel propensa a las imperfecciones" se refiere a un tipo de piel en donde la piel tiene propensión a desarrollar algunos comedones y espinillas, por ejemplo, puntos negros y puntos blancos, sin lesiones inflamatorias tales como pápulas y pústulas.

La "piel propensa a las imperfecciones" puede caracterizarse por un aspecto graso y brillante debido al hecho de que las glándulas sebáceas producen más sebo que otros tipos de piel. Dicho aumento en la producción de sebo se produce en general durante la pubertad, cuando aumenta la producción de sustancias hormonales, denominadas andrógenos, y que a su vez estimulan las glándulas sebáceas para que produzcan más sebo de lo que es necesario. Determinados tratamientos hormonales también pueden desencadenar una sobreproducción de sebo cutáneo. Esta seborrea por sí mismo puede interferir también en la descamación normal de la piel y da lugar a imperfecciones cutáneas. En algunas realizaciones, un sujeto que tiene una piel propensa a las imperfecciones no tiene antecedentes personales de acné, especialmente de acné grave o moderado.

Como se usa en este documento, una "piel propensa al acné" se refiere a un tipo de piel en donde la piel tiene propensión a desarrollar algunos comedones y espinillas e incluso algunas lesiones inflamatorias muy escasas (típicamente pápulas). En algunas realizaciones, un sujeto con una piel propensa al acné se refiere a un sujeto que tiene antecedentes personales de acné, concretamente, que ya ha experimentado al menos un episodio de acné o que tiene antecedentes familiares de acné, concretamente, que tiene al menos un miembro de la familia (madre, padre o hermana/hermano) que ha experimentado acné moderado o grave.

La "piel propensa al acné" o "piel propensa a las imperfecciones" no se refiere estrictamente a pieles que padecen una enfermedad cutánea, sino que pueden degenerar en acné, si no se tratan adecuadamente.

Como se usa en este documento, "piel acneica", también denominada en este documento "piel con acné", se refiere a una piel afectada por el acné (también denominado acné vulgar). El acné es un trastorno inflamatorio no contagioso de la piel que afecta a la unidad pilosebácea y se caracteriza por espinillas provocadas por glándulas sebáceas inflamadas e infectadas. La enfermedad es más común en adolescentes, pero los síntomas pueden persistir en la edad adulta y algunas personas, sobre todo mujeres, experimentan síntomas por primera vez después de los 25 años. El acné persistente o de aparición tardía se conoce como acné tardío. El acné típicamente aparece en la cara, el cuello, los hombros, el pecho y la espalda. El acné varía en gravedad desde acné leve (conocido como acné comedoniano), pasando por acné moderado (acné papulopustuloso) hasta acné grave (acné quístico). El acné leve se caracteriza por la presencia de múltiples puntos negros, puntos blancos y, a veces, pocas pápulas. El acné moderado se caracteriza por la presencia de comedones, pápulas y pústulas. La piel puede aparecer enrojecida e

inflamada. Por último, el acné grave es una forma poco común de acné caracterizada por múltiples imperfecciones inflamadas que incluyen pápulas y pústulas, que pueden agruparse y formar nódulos y quistes. La patogenia del acné es multifactorial e implica cuatro factores clave con mecanismos interrelacionados: producción de sebo aumentada, hiperqueratinización, inflamación cutánea y proliferación de *Cutibacterium acnes.*

Como se usa en este documento, "imperfecciones" se refiere a cualquier imperfección de la piel, tal como rojeces, espinillas o comedones, por ejemplo, a las imperfecciones de la piel que pueden observarse en la piel propensa a las imperfecciones (o piel propensa al acné), típicamente lesiones de retención tales como puntos negros, puntos blancos y otros tipos de espinillas.

Como se usa en este documento, "lesiones de acné" se refiere a las lesiones inflamadas, inflamatorias asociadas con el acné, por ejemplo, pápulas, pústulas, quistes y nódulos observados en acné moderado y grave.

Como se usa en este documento, las cepas acneicas se refieren a las cepas de C. *acnes* que son estadísticamente más abundantes en las pieles acneicas que en las pieles sanas. *Cutibacterium acnes* se ha subdividido en seis filotipos principales, concretamente, IA1, IA2, IB, IC, II y III (Dagnelie *et al.*, 2018, *supra*). En la piel, las bacterias pertenecientes al filotipo IA1, tales como los ribotipos RT4 y RT5, son predominantes en la piel con acné. Las cepas acneicas abarcan los filotipos IA1, IA2, IB e IC, preferiblemente IA1 y IA2, más preferiblemente IA1, tal como el ribotipo I (RT1), el ribotipo 4 (RT4) y el ribotipo 5 (RT5).

Las cepas no acneicas se refieren a las cepas de *C. acnes* que son estadísticamente más abundantes en la piel sana que en la piel acneica. Dichas cepas abarcan los filotipos II y III, tal como el ribotipo RT6.

Para más detalles sobre los filotipos de *C. acnes*, el complejo clonal y la secuencia de un solo locus, se puede hacer referencia a Dagnelie *et al.* (*supra*) y Scholz *et al.*, 2016.

En algunas realizaciones, el tratamiento con el dendrímero de polilisina de la invención disminuye la abundancia de la cepa de *C. acnes* del filotipo I en la población total de *C. acnes* presente en la piel del sujeto. En algunas otras realizaciones, el tratamiento con el dendrímero de polilisina de la invención aumenta la abundancia de cepas de C. *acnes* del filotipo II o III, preferiblemente del filotipo II, en la población total de *C. acnes* presente en la piel del sujeto.

Como se usa en este documento, las expresiones "microbiota de la piel", "microbioma de la piel" o "flora de la piel" se refieren a los microorganismos que residen en la piel, típicamente piel humana, y abarcan gérmenes bacterianos, micobacterianos, fúngicos y parasitarios. La mayoría se encuentran en las capas superficiales de la epidermis y en las partes superiores de los folículos pilosos. La flora de la piel habitualmente no es patógena y es comensal o mutualista. Los beneficios que dichos microorganismos pueden ofrecer incluyen la prevención de la colonización por organismos patógenos transitorios de la superficie de la piel, al competir por los nutrientes, al secretar sustancias químicas contra ellos o al estimular el sistema inmunitario de la piel.

Por "restablecer o reequilibrar" la microbiota de la piel, se entiende restablecer la diversidad de microorganismos para obtener un equilibrio en la distribución de microorganismos que promueva la salud de la piel y/o corresponda a una piel sana. En el contexto de la invención, "restablecer o reequilibrar el microbioma" en piel propensa a las imperfecciones, piel propensa al acné o piel acneica o "restablecer o reequilibrar la distribución de *C. acnes*" significa disminuir la abundancia de cepas de acneicas de *C. acnes* en la piel. En algunas realizaciones, también abarca promover cepas no acneicas en la piel, por ejemplo, aumentando su abundancia. En algunas realizaciones adicionales, "restablecer o reequilibrar la distribución de *C. acnes*" significa que el dendrímero de polilisina de la invención posibilita promover una diversidad de *C. acnes* mientras se regula la densidad de biomasa de *C. acnes* en la zona de piel tratada, para obtener una población de *C. acnes* cercana o similar a la del microbioma de una piel sana, por ejemplo, a la de una zona de piel sana del sujeto. También puede abarcar el hecho de que la composición aplicada o el ingrediente activo no ejerzan una acción mortal significativa sobre cepas bacterianas no patógenas, comensales, en particular las de *C. acnes*.

La expresión "disminuir la abundancia de una cepa acneica" significa disminuir la cantidad/proporción de bacterias pertenecientes a una cepa acneica de *C. acnes* en comparación con la cantidad total de bacterias C. *acnes* presentes en una zona determinada de la piel de un sujeto, por ejemplo, de una zona de la cara de un sujeto. La expresión "aumentar la abundancia de una cepa no acneica" significa aumentar la cantidad/proporción de bacterias pertenecientes a una cepa no acneica de *C. acnes* en comparación con la cantidad total de bacterias *C. acnes* presentes en una zona determinada de la piel de un sujeto, por ejemplo, de una zona de la cara de un sujeto. Un aumento/disminución significativa de la abundancia/proporción de cepa se refiere a una variación de al menos un 0,1 %, tal como de al menos un 1 %, 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % o 45 % de su abundancia determinada antes del tratamiento.

La abundancia de cepas de *C. acnes* puede determinarse como se muestra en el ejemplo 8 mediante metagenómica realizada sobre frotis de una zona de piel de interés.

Como se usa en este documento, por "aumentar la diversidad del microbioma" se entiende aumentar el número de

cepas bacterianas diferentes presentes en la piel. Más concretamente, "aumentar la diversidad en *C. acnes*" significa aumentar el número y/o la abundancia de cepas no acneicas en la piel.

Como se usa en este documento, por "tratar la piel propensa al acné o la piel propensa a las imperfecciones" se entiende mejorar el aspecto visual de la piel propensa al acné o la piel propensa a las imperfecciones, por ejemplo, la piel tiene un aspecto menos graso, y/o presenta menos imperfecciones y espinillas o reducidas, y/o las imperfecciones son menos visibles y/o la piel tiene menos propensión a presentar imperfecciones con el tratamiento de la invención.

La expresión "prevenir" pretende indicar retardar o prevenir la aparición del trastorno de interés, tal como imperfecciones, lesiones de acné o acné.

La expresión "tratar una afección" pretende indicar disminuir, reducir, suavizar, corregir o ralentizar el desarrollo de una afección de interés o manifestaciones asociadas de la misma, por ejemplo, acné e imperfecciones o lesiones asociadas.

Como se usa en este documento, los "dendrímeros" son compuestos macromoleculares muy ramificados formados por secuencias de reacción reiterativas que parten de una molécula central inicial a la que se añaden capas o etapas sucesivas en "generaciones" sucesivas para construir un compuesto polimérico tridimensional muy ordenado. La preparación de dendrímeros se ha descrito en la técnica, véanse, por ejemplo, los documentos US 4.289.872 y US 4.410.688, que describen dendrímeros basados en capas de unidades de lisina.

El dendrímero de la invención es un dendrímero de polilisina, más preferiblemente un dendrímero de poli-L-lisina, tal como un injerto dendrítico de poli-L-lisina.

Como los dendrímeros convencionales, la preparación de dendrímeros injertados (también denominados en este documento injerto dendrítico) en un esquema basado en generación implica la manipulación de grupos protectores combinada con etapas de polimerización, es decir, mediante ciclos de protección, polimerización de monómeros y desprotección (método denominado "injerto desde"; Klok y Rodriguez Hernandez (2002) Macromolecules 35:8718-23) o usando polímeros preformados en lugar de compuestos moleculares como componentes básicos AB_n en ciclos de protección, condensación y desprotección (el denominado método de "injerto sobre"; Teertstra y Gauthier (2004) Prog. Polym. Sci. 29:277-327). Como los dendrímeros G2 ya no son compuestos de una sola molécula, los polímeros de injerto dendrítico tienen una estructura menos controlada que los dendrímeros convencionales (por ejemplo, como se describe en el documento US 4.289.872), pero habitualmente una arquitectura más regular en comparación con los polímeros hiperramificados (por ejemplo, como se describe en Rodriguez-Hernandez, *et al.* (2003) Biomacromolecules 4:249-258 y Klok, *et al.* (2002) Macromolecules 35:8718-8723). Sin embargo, debido a su procedimiento sintético, el peso molecular de los dendrímeros injertados aumenta más rápidamente con cada generación que el de los dendrímeros.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina de acuerdo con la invención es un dendrímero de polilisina injertado de segunda generación (G2), también denominado indistintamente en este documento "injerto dendrítico de poli-L-lisina G2", "dendrímero G2", "dendrímero injertado", "dendrímero de polilisina injertado" o "dendrímero de homopolilisina injertado", "dendrímero de lisina" o "DGL". Se demostró que el dendrímero G2 era más eficaz que la polilisina lineal para inhibir la proliferación de *C. acnes* y promover el efecto antinflamatorio.

Un dendrímero G2 de uso en los métodos de esta invención puede prepararse como se describe en este documento (ejemplo 1) o como se describe, por ejemplo, en el documento US 2008/0206183 o Collet, *et al.* (2010) Chem. Eur. J. 16:2309-16.

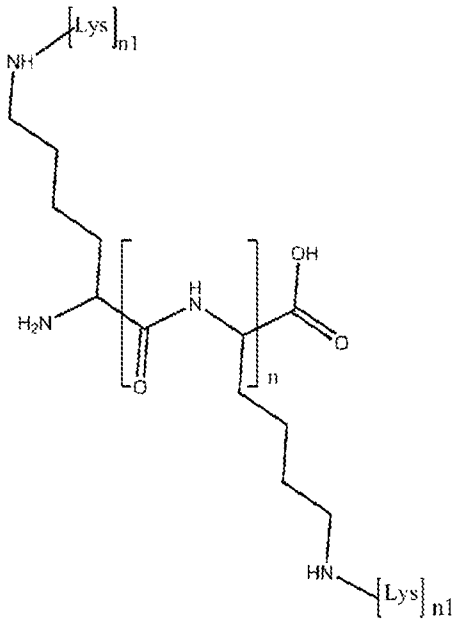
En determinadas realizaciones, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, es un injerto dendrítico de homopolilisina compuesto por 30 a 70 residuos de lisina, o más preferiblemente por 40 a 60 residuos de lisina, o más preferiblemente por 48 residuos de lisina. En determinadas realizaciones, el dendrímero de polilisina es un dendrímero G2, siendo dicho dendrímero G2 un injerto dendrítico de homopolilisina que comprende, consiste en o consiste esencialmente en 48 residuos de lisina. Preferiblemente, como se usa en este documento, el número de residuos de lisina se refiere al grado promedio de polimerización (DPn) de dicho dendrímero o injerto dendrítico.

En determinadas realizaciones de esta invención, el dendrímero de la invención no está conjugado. Un injerto dendrítico o dendrímero de polilisina "no conjugado" se refiere a un injerto dendrítico o dendrímero de polilisina que no se ha unido o asociado covalentemente a otro material, tal como un material farmacéutico o agrícola, típicamente tal como restos terapéuticos. En otras palabras, el dendrímero de la invención puede estar desprovisto de cualquier resto terapéutico, farmacéutico o cosmético distinto de lisina. En algunas realizaciones, el residuo de lisina es el único componente básico presente en el dendrímero de polilisina de la invención.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina de la invención es un injerto dendrítico que comprende un núcleo de polilisina lineal en donde los grupos NH_2 de las cadenas laterales (grupos ε-amino) de uno o varios (preferiblemente todos los) residuos de lisina de dicho núcleo están sustituidos con un resto de polilisina. Por ejemplo, el injerto dendrítico de polilisina de la invención puede comprender un núcleo lineal de poli-L-lisina (es decir, α-poli-L-lisina) en

donde el grupo ε-NH_2 de cada residuo de lisina está sustituido con un resto de poli-L-lisina, preferiblemente una α-poli-L-lisina. El núcleo lineal puede comprender de 2 a 10, por ejemplo, de 6 a 10 residuos de lisina, por ejemplo 8 residuos de lisina de longitud y los sustituyentes de poli-L-lisina pueden comprender de 2 a 10, por ejemplo, de 3 a 8, tal como 5 residuos de lisina de longitud.

Por ejemplo, el injerto dendrítico de polilisina de la invención puede comprender compuestos de fórmula (I):



(I)

En donde n es un número entero de 2 a 10, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9, preferiblemente 6, 7, 8 o 9, más preferiblemente 7.

[Lys] indica un residuo de lisina y n1 indica el número de resto de lisina que están unidos conjuntamente para formar un resto de polilisina, preferiblemente de α-polilisina. Cada n1 es un número entero seleccionado independientemente de 2 a 10, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, preferiblemente 3, 4, 5, 6 o 7 e incluso más preferiblemente de 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, todos los n1 son idénticos y son, por ejemplo, 5.

El grado promedio de polimerización (DPn) del injerto dendrítico de la invención es de 42 a 58, preferiblemente de 46 a 50, más preferiblemente de aproximadamente 48. Como se usa en este documento, el grado promedio de polimerización (DPn) indica el número promedio de monómeros de lisina por molécula de dendrímero en el dendrímero de polilisina de acuerdo con la invención.

En alguna o más realizaciones, la masa molar promedio en masa (M_w) del injerto dendrítico de acuerdo con la invención es de 7500 a 10 000, preferiblemente de 8400 a 8800, tal como 8600 $g.mol^{-1}$.

El dendrímero de polilisina, incluyendo los dendrímeros G2 de esta invención, son polímeros policatiónicos. Aunque los dendrímeros G2 sintetizados y ejemplificados en este documento incluyen trifluoroacetato (TFA) como contranión, este componente aniónico puede intercambiarse con otros diversos contraniones, tales como bicarbonato, dihidrogenofosfato, fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro, citrato o acetato. Por consiguiente, la presente invención incluye dendrímeros de polilisina tales como dendrímeros G2, así como sales de los mismos. Los contraniones apropiados son acetato, trifluoroacetato, cloruro, citrato, fosfato, carbonato y combinaciones de los mismos, preferiblemente acetato, cloruro, carbonato y combinaciones de los mismos, más preferiblemente acetato.

En determinadas realizaciones, el contranión del dendrímero es un acetato. De hecho, el solicitante demostró que el dendrímero G2 con contraniones de acetato tiene actividad antinflamatoria mejorada respecto a los dendrímeros G2 con contraniones de cloruro o carbonato *in vitro*: de hecho, el dendrímero G2 con acetato como contraniones es más eficaz para gestionar la producción de IL-8 después de la estimulación de IL1-α en fibroblastos dérmicos *in vitro.*

Para intercambiar los contraniones de TFA en contraniones de acetato, están disponibles diversas metodologías. Un método incluye el uso de un soporte de exclusión estérica (G25) en modo cromatográfico con un tampón de elución de bicarbonato de amonio (0,1 M). Después de la cromatografía, el polímero se recupera en tampón bicarbonato y se seca en un evaporador rotatorio, proporcionando de este modo al polímero un contranión de bicarbonato. A

continuación, este contranión puede intercambiarse con un anión de acetato al neutralizarlo a pH 6,5 con ácido acético. A continuación, el producto se seca por liofilización. Como alternativa, la solución de polímero se dializa en un tampón de acetato de amonio para intercambiar el contranión de TFA. Como alternativa adicional, el polímero se aplica a una resina de intercambio aniónico previamente acondicionada en acetato. El rendimiento del intercambio puede verificarse por RMN de ^{19}F, por análisis centesimal o por búsqueda de iones TFA en LC/MS.

Cuando se usa en los métodos y usos de esta invención, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, puede proporcionarse como ingrediente activo cosmético presente en una composición cosmética, farmacéutica o dermocosmética.

Por ejemplo, una composición cosmética abarca, sin limitación, un producto antiacné, un producto de cuidado personal, una crema calmante, un producto exfoliante, un producto protector diario, un tónico o loción clarificante, un limpiador purificante, una crema o barra correctora de imperfecciones, una barra correctora.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina se incorpora en una composición no farmacológica, cosmética o dermocosmética, por ejemplo, adecuada para piel propensa al acné o piel propensa a las imperfecciones.

Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, es un componente de la composición o formulación aplicada tópica o localmente sobre la piel. En determinadas realizaciones, la composición está en forma de limpiador, tónico, loción, solución, gel, crema, pomada o espuma. A este respecto, una formulación o composición que contiene el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, es adecuada o está adaptada para aplicación tópica o local.

Una composición que contiene un dendrímero de polilisina de acuerdo con la invención, es decir, el dendrímero G2, puede ser un fluido viscoso o semiviscoso, o un fluido menos viscoso tal como podría usarse en pulverizadores o aerosoles. Puede adoptar la forma de una solución, suspensión o emulsión. Puede adoptar la forma de un sólido, tal como un polvo o gránulos, que puede estar diseñado para añadirse a un líquido (por ejemplo, agua) antes de usarlo. En algunas realizaciones, la formulación se aplica, o puede aplicarse, a un soporte tal como una esponja, un hisopo, un cepillo, una almohadilla, un pañuelo, un paño, una toallita, un parche cutáneo o un apósito (que incluye una venda, un esparadrapo, un adhesivo cutáneo u otro material diseñado para aplicarse a la superficie del tejido), para facilitar su administración.

Una composición de acuerdo con la invención puede destinarse a uso farmacéutico (que incluye el veterinario, pero es preferiblemente humano), y/o a fines cosméticos, dermocosméticos u otros cuidados no médicos (por ejemplo, para limpiar la piel, o para mejorar el aspecto, tacto u olor de la piel).

Una composición de acuerdo con la invención puede contener excipientes y otros aditivos conocidos para su uso en formulaciones tópicas. Los expertos en la materia conocerán bien los excipientes adecuados para su uso en formulaciones diseñadas para aplicación tópica o local. Los que se incluyan dependerán del modo y el lugar de aplicación previstos para la formulación. En el contexto de las formulaciones para aplicación tópica a la piel, pueden encontrarse ejemplos, por ejemplo, en *Transdermal and Topical Drug Delivery* de Williams (Pharmaceutical Press, 2003) y otros libros de referencia similares. Véase también Date, *et al.* ((2006) Skin Pharmacol. Physiol. 19(1):2-16) para una revisión de las estrategias de administración tópica, y también Skin Delivery Systems ((2006) John J Wille, Ed, Blackwell Publishing.

El excipiente o excipientes usados pueden ser adecuados para dirigir o controlar la liberación de la composición, o de un componente de la composición, en el lugar de administración previsto, por ejemplo, para dirigirla a un lugar y/o momento de administración deseado. Dichos excipientes, por ejemplo, pueden dirigir la composición a una región de la piel, por ejemplo, el estrato córneo o los folículos pilosebáceos, o a los folículos pilosos. Pueden retardar o controlar de otro modo la liberación de la composición durante un periodo de tiempo determinado.

Cuando la composición esté destinada a aplicación tópica a la piel, ejemplos de aditivos adecuados, también denominados excipientes, incluyen diluyentes, rellenos, vehículos, emolientes, hidratantes, perfumes, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, gelificantes y tensioactivos; y/u otras sustancias usadas comúnmente en formulación en el campo cosmético o farmacéutico. Otros pueden encontrarse en *Transdermal and Topical Drug Delivery* de Williams (véase anteriormente). Sin embargo, para el tratamiento del acné, puede preferirse que la composición no contenga un emoliente.

El dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, pueden usarse individual o conjuntamente, o pueden usarse en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales, tales como agentes antimicrobianos (en particular antibacterianos) o agentes antinflamatorios. Los ingredientes activos adicionales pueden combinarse con el dendrímero de polilisina en una única composición, o administrarse por separado, incluyendo por una vía diferente (por ejemplo, por vía oral).

En algunas realizaciones, dicho o dichos ingredientes activos adicionales y el dendrímero de polilisina se combinan dentro de la misma composición.

Por ejemplo, dicha formulación puede contener uno o más agentes seleccionados de agentes antiacné, queratolíticos tales como ácido láctico, comedolíticos, agentes que pueden normalizar la función de los queratinocitos y/o sebocitos, antinflamatorios tales como Licochalcona A y extracto de *Glycyrrhiza inflata*, antiproliferativos, antibióticos, antiandrogénicos, agentes sebostáticos/sebosupresores (también conocidos como seborreguladores) (por ejemplo, un extracto natural de *Backhousia citriodora*), antipruriginosos, inmunomoduladores, antiirritantes o calmantes (por ejemplo, un extracto de *Epilobium angustifolium*), agentes que promueven la cicatrización de heridas, protectores solares, agentes aclaradores de la piel, sustancias antienvejecimiento y mezclas de los mismos.

Por ejemplo, los agentes antiacné abarcan, sin limitación, vitamina A, retinoides tales como adapaleno, tretinoína o tazaroteno, bactericidas tales como peróxido de benzoilo y decanodiol, antibióticos tales como clindamicina o eritromicina, ácido azelaico, ácido salicílico, agentes antinflamatorios tales como dapsona o aceite de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té) y combinaciones de los mismos.

A modo de ejemplo de seborreguladores, se pueden citar lignanos de lino, polvo de arroz, gluconato de cinc, sarcosina, un extracto de corteza de *Cinnamomum zeylanicum*, un extracto de aguacate, extracto de la hoja de *Backhousia citriodora* australiana, extracto de la flor de *Trifolium pratense*(trébol) y combinaciones de los mismos.

Como agentes antienrojecimiento, se pueden citar saponinas, flavonoides, ruscogeninas, esculósidos y extractos que los contienen, por ejemplo, extractos de *Ruscus* y también determinados aceites esenciales, por ejemplo, de lavanda o de romero.

A modo de ejemplo de agentes calmantes, se pueden citar alantoína, extractos de áloe, de *Calendula officinalis,* de abedul (por ejemplo, *Betula alba*), de sauce (*Epilobium angustifolium*), de pimienta de Tasmania (por ejemplo, *Tasmania lanceolata*), de castaño (por ejemplo, *Castenea sativa*), de aciano (por ejemplo, *Centaurea cyanus*), de centella (por ejemplo, *Centella asiatica*), de cola de caballo de campo (por ejemplo, *Equisetum arvense*), de hinojo (por ejemplo, *Foeniculum vulgare*), de escoba de bruja (por ejemplo, *Hamamelis virginiana*), de hiedra (por ejemplo, *Hedera helix*), de *Habiscus sabdariffa*, de lirio (por ejemplo, *Lilium candidum*), de malva común (por ejemplo, *Malva sylvestris*), de melisa (por ejemplo, *Melissa officinalis*), de escutelaria (por ejemplo, *Scutellaria baicalensis*), de mimosa (por ejemplo, *Mimosa tenuiflora*), de cincoenrama (por ejemplo, *Potentilla erecta*), un extracto de exopolisacárido de un extremófilo (por ejemplo, fermento de *Alteromonas*), un extracto de oligosacáridos o un oligosacárido, por ejemplo, de lino, péptidos tales como palmitoil tripéptido-8, y combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, el dendrímero de polilisina puede estar presente en una composición. Dicha composición cosmética puede comprender uno o más excipientes y, opcionalmente, uno o más agentes activos adicionales que tienen un efecto cosmético o farmacéutico.

En algunas realizaciones, el o los agentes activos adicionales presentes en la composición son un ingrediente activo cosmético.

La expresión "agente activo cosmético" se refiere a un compuesto que puede ejercer al menos un efecto cosmético sobre la piel. El término "efecto cosmético" pretende indicar cualquier efecto no terapéutico con el objetivo de modificar y/o mejorar el aspecto o el tacto de la piel, protegerla de las agresiones exteriores (sol, viento, humedad, sequedad, productos químicos) o prevenir y/o corregir los fenómenos asociados con el envejecimiento o la pubertad.

Típicamente, dicha composición comprende:

- de 0,1 a 100 ppm de un dendrímero de polilisina de la invención
- de un 0 % a un 20 % de uno o más agentes activos adicionales, y
- de un 70 % a un 99,9999 % de uno o más excipientes,

expresándose los porcentajes en peso con respecto al peso total de la composición.

Preferiblemente, dicha composición es una composición cosmética o dermocosmética.

En algunas realizaciones, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, se usa en una combinación sinérgica con un agente antimicrobiano y/o antinflamatorio, permitiendo de ese modo una reducción de la dosificación de uno o ambos agentes para conseguir un efecto similar o mejorado. Esto permitiría el uso de dosis más pequeñas y, por lo tanto, disminuiría la incidencia potencial de toxicidad y reduciría los costes de antimicrobianos caros.

En este contexto, un agente antimicrobiano adicional puede seleccionarse de un biocida, desinfectante, antiséptico, antibiótico, bacteriófago, enzima, antiadhesina, inmunoglobulina, antioxidante antimicrobianamente activo y mezclas de los mismos; puede ser activo como bactericida, en particular contra las propionibacterias. En determinadas realizaciones, el agente antimicrobiano es un antibiótico, tal como una penicilina, cefalosporina, cefamicina carbacefem, carbapenem, monobactama, aminoglucósido, glucopéptido, quinolona, tetraciclina, macrólido o fluoroquinolona. Ejemplos de agentes antibióticos particulares incluyen, aunque sin limitación, penicilina G, meticilina,

nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, ampicilina, amoxicilina, ticarcilina, carbenicilina, mezlocilina, azlocilina, piperacilina, imipenem, aztreonam, cefalotina, cefazolina, cefaclor, formiato sódico de cefamandol, cefoxitina, cefuroxima, cefonicid, cefinetazol, cefotetan, cefprozilo, loracarbef, cefetamet, cefoperazona, cefotaxima, ceflizoxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima, cefixima, cefpodoxima, cefsulodina, fleroxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina, enoxacina, lomefloxacina, cinoxacina, doxiciclina, minociclina, tetraciclina, amikacina, gentamicina, kanamicina, netilmicina, tobramicina, estreptomicina, azitromicina, claritromicina, eritromicina, estolato de eritromicina, succinato etílico de eritromicina, glucoheptonato de eritromicina, lactobionato de eritromicina, estearato de eritromicina, vancomicina, teicoplanina, cloranfenicol, clindamicina, trimetoprima, sulfametoxazol, nitrofurantoína, rifampicina, mupirocina, metronidazol, cefalexina, roxitromicina, co-amoxiclavuanato, combinaciones de piperacilina y tazobactam, y sus diversas sales, ácidos, bases y otros derivados, y combinaciones de los mismos. El dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, también pueden usarse en combinación con un agente antifúngico. Agentes antifúngicos ejemplares incluyen, aunque sin limitación, clorhidrato de terbinafina, nistatina, anfotericina B, griseofulvina, ketoconazol, nitrato de miconazol, flucitosina, fluconazol, itraconazol, clotrimazol, ácido benzoico, ácido salicílico y sulfuro de selenio.

El dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, también pueden usarse en combinación con un agente antivírico. Agentes antivíricos ejemplares incluyen, aunque sin limitación, clorhidrato de amantadina, rimantadina, aciclovir, famciclovir, foscarnet, ganciclovir sódico, idoxuridina, ribavirina, sorivudina, trifluoridina, valaciclovir, vidarabina, didanosina, estavudina, zalcitabina, zidovudina, interferón alfa y edoxudina.

El dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, también pueden usarse en combinación con un agente antiparasitario. Agentes antiparasitarios ejemplares incluyen, aunque sin limitación, piretrinas/butóxido de piperonilo, permetrina, yodoquinol, metronidazol, citrato de dietilcarbamazina, piperazina, pamoato de pirantel, mebendazol, tiabendazol, praziquantel, albendazol, proguanil, gluconato de quinidina inyectable, sulfato de quinina, fosfato de cloroquina, clorhidrato de mefloquina, fosfato de primaquina, atovaquona, cotrimoxazol (sulfametoxazol/trimetoprima) e isetionato de pentamidina.

Como se indica anteriormente, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, pueden usarse en una combinación sinérgica con otros agentes antinflamatorios conocidos. Los agentes antinflamatorios incluyen, sin limitación, corticoesteroides (por ejemplo, hidrocortisona, triamcinolona), antinflamatorios no esteroideos (AINE) (por ejemplo, nabumetona, indometicina, naproxeno, ibuprofeno), citocinas antinflamatorias (por ejemplo, IL-4, IL-10, IL-13), antagonistas de citocinas (por ejemplo, antagonista del receptor de IL-1, anticuerpo monoclonal del TNF-α, receptor soluble del TNF, factor plaquetario 4) y similares. Véanse también, por ejemplo, los documentos US 6.190.691; US 5.776.892; US 4.816.449; y US RE37.263.

Una formulación de uso en los métodos de esta invención puede incorporarse a y, por tanto, aplicarse en forma de, un cosmético; un preparado para el cuidado de la piel (por ejemplo, un limpiador, tónico o hidratante de la piel); un desodorante o antitranspirante; un preparado limpiador (por ejemplo, un lavado facial); un preparado farmacéutico (que incluye los veterinarios); un preparado cosmecéutico; un producto de tocador (por ejemplo, un aditivo para el baño o la ducha o un jabón). La formulación puede ser, o estar incorporada en, un producto de tratamiento cutáneo que se lava, tal como un limpiador de la piel o, en particular, un producto de tratamiento de la piel que no se aclara.

Como se describe en este documento, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2, y/o sal del mismo, presentan actividad antibacteriana y disminuyen la adhesión de determinadas cepas de *C. acnes*a las células de la piel. Por consiguiente, un aspecto de esta invención es un método para tratar el acné vulgar aplicando sobre la piel de un sujeto que necesita tratamiento una cantidad eficaz antibacteriana de una composición que contiene un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, y/o una sal del mismo.

Como se usa en este documento, "un activo antibacteriano" se refiere a un activo que puede prevenir o disminuir el crecimiento y la proliferación de *C. acnes*, preferiblemente cepas acneicas de *C. acnes*.

Como se menciona anteriormente, el "acné" o "acné vulgar" es una enfermedad multifactorial de los folículos pilosebáceos de la cara y la región superior del tronco, caracterizada por una diversidad de lesiones inflamadas y no inflamadas, tales como pápulas, pústulas, nódulos y comedones abiertos y cerrados. Su tratamiento, por lo tanto, puede abarcar el tratamiento (que abarca la prevención o reducción) de cualquiera de estos síntomas, y las referencias a su uso como agente antiacné pueden interpretarse en consecuencia. En particular, el tratamiento del acné abarca el tratamiento (incluyendo la prevención) de las lesiones asociadas con el acné. También abarca la inhibición de la actividad propionibacteriana que podría provocar o estar asociada de otro modo con el acné o sus síntomas. En el contexto de la presente invención, en particular puede ser el tratamiento de lesiones inflamadas de acné.

El tratamiento del acné abarca tanto el tratamiento terapéutico como el profiláctico, en un ser humano o en un animal, pero en particular en un ser humano. Puede implicar la erradicación completa o parcial de la afección, la eliminación o mejora de los síntomas asociados, la detención del desarrollo posterior de la afección y/o la prevención o reducción del riesgo de aparición posterior de la afección. En particular, implicará el uso de un dendrímero G2 no conjugado, y/o sal del mismo, como se describe en este documento. En determinadas realizaciones, el método abarca el tratamiento del acné vulgar asociado con *C. acnes* presente en la piel facial.

Otro aspecto de esta invención se refiere a un método para disminuir una respuesta inflamatoria en la piel aplicando a la piel de un sujeto que necesita tratamiento una composición que contiene un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, y/o una sal del mismo. En determinadas realizaciones, la respuesta inflamatoria incluye la liberación de IL-8 o la sobreexpresión de TLR2 en respuesta a *P. acnes.* Las disminuciones medibles en la liberación de IL-8 o la sobreexpresión de TLR2 pueden evaluarse usando cualquier técnica convencional o las ejemplificadas en este documento. Preferiblemente, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, y/o sal del mismo, proporciona al menos una reducción de un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 % u 80 % en la producción de proteína IL-8 y/o la sobreexpresión de TLR2 en comparación con piel que no se ha puesto en contacto con el injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, y/o sal del mismo.

Un aspecto adicional de esta invención es un método para promover la descamación de las células de la piel aplicando a la piel de un sujeto que necesita tratamiento una composición que contiene un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, y/o una sal del mismo. La descamación es un fenómeno natural asociado con el hecho de que la epidermis, que constituye la capa superior de la piel, se regenera constantemente. Durante el proceso normal de descamación, los corneocitos superiores se desprenden de la superficie de la epidermis. De acuerdo con el presente método, la aplicación de un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado, a la superficie de la piel promueve la descamación y/o estimula el proceso de renovación epidérmica.

"Aplicar", "aplicación", "administrar" o "administración" de una composición que contiene un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un dendrímero G2 no conjugado y/o sal del mismo a la piel de un sujeto abarca el tratamiento tópico o local de la piel con la composición. En determinadas realizaciones, el dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2 y/o sal del mismo, se aplica sobre la piel facial de un sujeto.

Un sujeto que necesita tratamiento con una composición que contiene un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un dendrímero G2 y/o sal del mismo, se refiere a cualquier sujeto en riesgo de tener, predispuesto a tener o que tiene una afección en la que el dendrímero G2 y/o sal del mismo proporcionaría un beneficio, por ejemplo, actividad antiacné, actividad antinflamatoria o actividad queratolítica. En algunas realizaciones, los métodos de la presente invención son particularmente útiles para disminuir los problemas del acné en adolescentes, disminuir la inflamación de la piel y mejorar el aspecto o el tacto de la piel de los adultos.

Una cantidad eficaz de una composición que contiene un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un dendrímero G2 no conjugado y/o sal del mismo puede referirse a una cantidad que proporciona una inhibición medible del crecimiento bacteriano, ya sea total o parcial, de una o más cepas acneicas de *C. acnes*; una disminución medible en una respuesta inflamatoria, por ejemplo, liberación de IL-8 o sobreexpresión de TLR2 en respuesta a *C. acnes*; y/o descamación medible de las células de la piel. También puede referirse a una cantidad que posibilita mejorar o tratar las imperfecciones en piel acneica o propensa al acné.

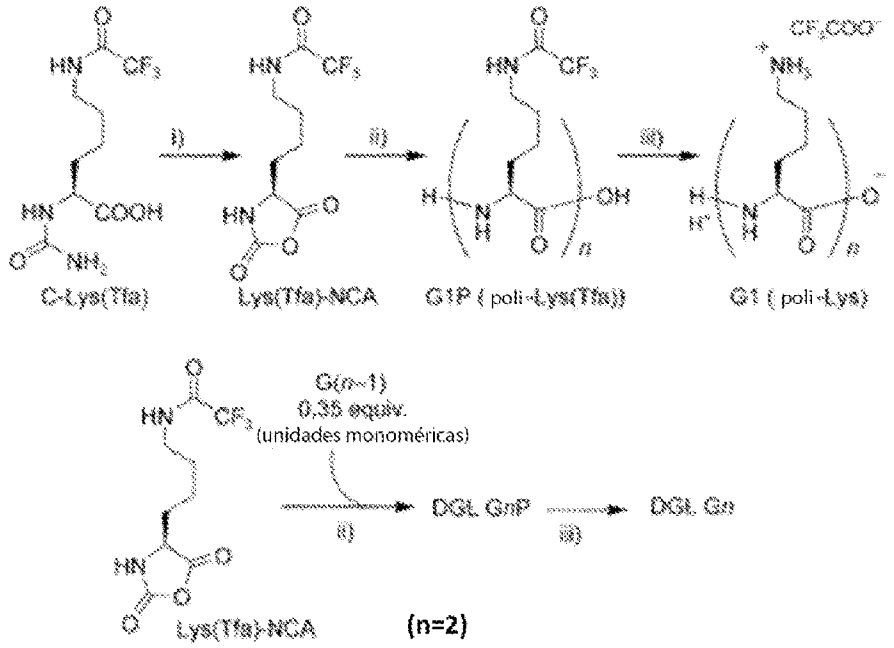
Una cantidad eficaz de una composición que contiene un dendrímero de polilisina, por ejemplo, un dendrímero G2 no conjugado, y/o sal del mismo, incluye entre aproximadamente 0,01 ppm y aproximadamente 100 ppm, o más preferiblemente de aproximadamente 0,1 ppm a 50 ppm, o más preferiblemente de aproximadamente 1 ppm a 10 ppm del dendrímero de polilisina, por ejemplo, el dendrímero G2 no conjugado, y/o sal del mismo.

En determinados aspectos, el uso de una composición de la invención es para fines no terapéuticos. De acuerdo con este aspecto, la composición se usa como antiacné/antinflamatorio o, en particular, como agente para el cuidado de la piel con fines no terapéuticos, por ejemplo, con fines cosméticos tales como mejorar el aspecto o el tacto de la piel, en particular de la piel facial.

La invención se describe en mayor detalle mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1: Síntesis de DGL G2

La síntesis de la primera generación de poli(L-lisina) se llevó a cabo mediante una secuencia de tres etapas (esquema 1).



i) NO, O_2, MeCN, 0°C, 1h; ii) $NaHCO_3$ (0,2N), 0°C, 15 h;

iii) NH_3, H_2O/MeOH, 40°C, 15 h.

ESQUEMA 1

La N-carbamoilación de la Ne-trifluoroacetil-L-lisina proporcionó C-Lys(Tfa). La nitrosación mediada por NO de C-Lys(Tfa) en acetonitrilo dio el monómero Lys(Tfa)-NCA, que luego se hizo reaccionar en hidrogenocarbonato de sodio acuoso (pH 6,5) para dar oligo(L-lisina) G1P protegido con Ne. Ambas etapas de nitrosación y policondensación se llevaron a cabo en un solo recipiente sin aislar el intermedio NCA y el polímero resultante, G1P, precipitó espontáneamente del medio de reacción. El polímero G1P se aisló por filtración y los grupos ε-amino se desprotegieron mediante tratamiento alcalino de G1P con amoniaco en metanol/agua. La desprotección produjo oligo(L-lisina) G1 con un DPn de aproximadamente 8 en un rendimiento global de un 50-60 % a partir de C-Lys(Tfa).

Posteriormente se prepararon materiales dendríticos implementando la secuencia de reacción descrita anteriormente en una secuencia de múltiples generaciones (esquema 1). Tras hacer reaccionar Lys(Tfa)-NCA en bruto en $NaHCO_3$ acuoso en presencia de poli(L-lisina) G1 (30 % p/p; 0,36 equiv. en unidades de monómero), el polímero G2P precipitó espontáneamente del medio de reacción que, tras su aislamiento, se sometió a desprotección alcalina con Ne para producir poli(L-lisina) G2 con un DPn de aproximadamente 48 y un rendimiento global de un 36 % a partir de C-Lys(Tfa). Posteriormente, se llevó a cabo un intercambio iónico para convertir la sal trifluoroacetato en sal acetato.

Ejemplo 2: Inhibición de *C. acnes* por dendrímero G2

Se evaluó la eficacia del dendrímero G2 para inhibir el crecimiento de *C. acnes* en cultivo. El dendrímero G2 se usó a una concentración final que variaba entre 10^{-2} M y 10^{-5} M. Los experimentos se realizaron usando la cepa de *C. acnes* IP 53117T (véase el documento FR2844715 A1), una cepa conocida por provocar acné. Esta cepa pertenece a un ribotipo 1 (RT1) del filotipo 1A1 y, por tanto, es una cepa acneica.

Las bacterias (10^8 UFC/ml) se inocularon en placas de 96 pocillos que contenían una gama de concentraciones de dendrímeros G2. Después de la incubación durante 24 a 48 horas a 37 °C, la CMI (concentración inhibitoria mínima) se definió visualmente como la concentración más baja sin crecimiento visible. En función de los resultados de dos experimentos distintos, este análisis indicó que la CMI del dendrímero G2 para la cepa de *C. acnes* IP 53117T era de 1,6-2,3 x 10^{-5} M (10-20 ppm). Por consiguiente, el dendrímero G2 inhibe significativamente el crecimiento frente a la cepa acneica de *C. acnes* ensayada y, por tanto, presenta efectos bactericidas a dosis elevada (20 ppm).

Ejemplo 3: Efecto del dendrímero G2 sobre la adhesión de *C. acnes* en cultivo de queratinocitos

La fase inicial del acné vulgar es el establecimiento de las bacterias sobre la superficie de la piel, es decir, la colonización. La colonización depende de la adhesión bacteriana. Por consiguiente, se determinó si el dendrímero G2 podía inhibir la adhesión de la cepa acneica de *C. acnes* a los queratinocitos en cultivo.

Los queratinocitos se aislaron de la línea celular epitelial humana NCTC 2544 (Neufahrt, *et al.* (1978) Arch. Dermaol.

Res. 256(3):255-60). El cultivo se mantuvo con medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía un 10 % de suero fetal de ternera, un 1 % de antibióticos (penicilina/estreptomicina) y un 1 % de L-glutamina a 37 °C en un 5 % de CO_2y un 95 % de humedad.

Para supervisar la adhesión bacteriana, se marcó con tritio la adenina de la cepa bacteriana IP 53117T (perteneciente al filotipo acneico IA1) y se determinó la adhesión bacteriana a la superficie de los queratinocitos contando la radiactividad.

Método 1. Las bacterias marcadas (2×10^8 microorganismos/ml) se combinaron con cantidades variables de dendrímero G2 (concentración final entre 10^{-5} M y 6,25 x 10^{-6} M) y se depositaron sobre la superficie de una monocapa de queratinocitos. Después de incubarlas durante 2 horas (37 °C, 5 % de CO_2), las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) para eliminar las bacterias no adherentes.

Método 2. Los queratinocitos se pretrataron durante 24 horas con el dendrímero G2. A continuación, se añadieron bacterias marcadas (2×10^8 microorganismos/ml) a la monocapa celular durante 2 horas sin retirar previamente el dendrímero G2.

Los resultados de este análisis indicaron que, después de 2 horas, el dendrímero inhibía la adhesión de *C. acnes* sobre las superficies de los queratinocitos en un 50 %, 40 % y 29 % a 10^{-5} M, 5 x 10^{-6} M y 2,5 x 10^{-6} M, respectivamente, en comparación con la adhesión de *C. acnes* en ausencia de dendrímero G2. Después de un pretratamiento de 24 horas, el dendrímero G2 inhibió la adhesión de *C. acnes* a las superficies de los queratinocitos en un 50 %, 51 % y 35 % a 10^{-5} M, 5 x 10^{-6} M y 2,5 x 10^{-6} M, respectivamente, en comparación con la adhesión de *C. acnes* en ausencia del dendrímero G2. En función de los resultados de estos dos ensayos (concomitantes o pretratamiento), se demostró que el dendrímero G2 presentaba una fuerte actividad antiadherente. Por lo tanto, el dendrímero G2 es de utilidad para bloquear la fase inicial del acné vulgar, es decir, evitando la adhesión o colonización bacteriana excesiva por cepas acneicas.

Ejemplo 4: Efecto del dendrímero G2 sobre la inflamación en fibroblastos dérmicos humanos normales

Hay evidencias de que *C. acnes* está implicada en la provocación de una respuesta inflamatoria. En concreto, se ha demostrado que la estimulación del receptor 2 de tipo Toll (TLR2) por *C. acnes* provoca aumentos en las concentraciones de interleucina 8 y 12 (IL-8 e IL-12) (Kim, *et al.* (2002) J. Immunol. 169(3):1535-41). Por lo tanto, se evaluó el efecto del dendrímero G2 sobre la inflamación de fibroblastos normales de dermis humana (NHDF). Se aislaron NHDF de dermis humana y se mantuvieron en DMEM que contenía un 10 % de suero fetal de ternera, un 1 % de antibióticos (penicilina/estreptomicina) y un 1 % de L-glutamina a 37 °C en un 5 % de CO_2y un 95 % de humedad.

La IL-8 media las reacciones inflamatorias en la piel a través del reclutamiento de neutrófilos y otros inmunocitos para invadir el tejido lesionado o inflamado. La secreción de IL-8 es inducible en fibroblastos dérmicos humanos cultivados después de la activación con la citocina proinflamatoria IL-1α (Larsen, *et al.* (1989) Immunology 68(1):31-6). Por consiguiente, las células NHDF no confluentes se trataron con IL1-α (0,1 ng/ml), como inductor de la producción de IL-8, en presencia o ausencia de dendrímero G2 (10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M o 10^{-6} M) o hidrocortisona (0,05 µg/ml) como control antinflamatorio positivo.

La liberación de IL-8 desde los fibroblastos se determinó mediante ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA).

Los resultados de este análisis (figura 1) indican que la hidrocortisona disminuyó la producción de IL-8 en un 83 %. En las mismas condiciones experimentales, el dendrímero G2 redujo la producción de IL-8 inducida por IL1-α en un 66 a un 81 %. Por lo tanto, el dendrímero G2 puede atenuar la cascada inflamatoria en fibroblastos dérmicos humanos que se sabe que está asociada a la colonización por *C. acnes*.

Ejemplo 5: Actividad antiacné y queratolítica del dendrímero G2 en explantes de piel humana

Para demostrar la actividad antiacné y queratolítica del dendrímero G2, se expusieron explantes de piel humana a *P. acnes* liofilizada (cepa de *C. acnes* IP 53117T - RT1 - filotipo IA1) para simular *ex vivo* el acné.

Tratamiento de la piel. Se obtuvieron quince muestras de piel humana de pacientes sometidas a cirugía plástica (mujeres caucásicas de 26 años). Los explantes de piel se mantuvieron en cultivo durante 8 días. Un tratamiento de 1 hora con dendrímero G2 (2 y 5 ppm) fue concomitante con la aplicación de *C. acnes* liofilizada (30 µl) en los días 0, 1, 4 y 6 (figura 2). En el día 8, los explantes se fijaron e incluyeron en parafina. Se tiñeron secciones gruesas de 5 µm con la tinción tricrómica de Masson o con un anticuerpo anti-TLR2.

Evaluación del efecto queratolítico. Se analizó la morfología general y, en particular, el estrato córneo de los explantes. Se tomaron imágenes con un microscopio Leica Orthoplan equipado con una cámara digital (tri-CCD) controlada por el programa informático de adquisición y archivo Leica IM1000.

Immunotinción de TLR2. Se sabe que TLR2 media la respuesta inflamatoria de la piel al acné (Kim, *et al.* (2002) J.

Immunol. 169(3):1535-41; McInturff y Kim (2005) Semin. Cutan. Med. Surg. 24(2):73-8). Por consiguiente, se evaluó la proteína TLR2 en secciones congeladas con un anticuerpo anti-TLR2 (clon TL2.1; Santa Cruz). Las secciones se incubaron con una dilución 1:25 del anticuerpo anti-TLR2 durante la noche a 4 °C y la unión del anticuerpo se detectó posteriormente con el conjugado de biotina/estreptavidina-FITC. Los núcleos se tiñeron con yoduro de propidio.

Cuantificación de citocina IL1-α. La concentración de IL1-α en los medios de cultivo se determinó usando un kit de ensayo ELISA (Cayman, Ann Arbor, MI). Las absorbancias se midieron usando un lector de microplacas Tecan Infinite M200 Pro, combinado con el programa informático de Magellan.

Resultados. La aplicación tópica de dendrímero G2 a 2 ppm indujo una separación moderada de las capas superiores del estrato córneo, permaneciendo las capas inferiores más laminadas. En comparación, la aplicación de 5 ppm de dendrímero G2 indujo un desprendimiento menor. En vista de esta actividad queratolítica, el dendrímero G2 es de utilidad para promover la descamación de la piel.

Con respecto a la expresión de TLR2, la aplicación tópica de dendrímero G2 a 2 y 5 ppm produjo una inhibición completa de la sobreexpresión de TLR2 inducida por *C. acnes*.

Para evaluar las respuestas inflamatorias, se cuantificó la producción de IL1-α (figura 3). En el día 1 (D1), *C. acnes* no indujo un aumento significativo en la producción de IL1-α, en comparación con la condición de control (es decir, el explante sin tratamiento). Además, en comparación con el tratamiento con *C. acnes*, el dendrímero G2 disminuyó significativamente la producción de IL1-α en un 49 % y un 42 % a 2 y 5 ppm, respectivamente, en el día 1. Después de 4 días de supervivencia (D4), la liberación de IL1-α disminuyó significativamente en un 53 % en la condición de control. Además, en comparación con el tratamiento con *C. acnes*, 2 ppm y 5 ppm de dendrímero G2 proporcionaron una disminución de la producción de IL1-α (28 % y 27 %, respectivamente) en el día 4. Por lo tanto, el dendrímero G2 reduce el crecimiento de *C. acnes*, atenúa la cascada inmunitaria e inflamatoria para una protección óptima de la piel y proporciona un efecto queratolítico.

Ejemplo 6: El dendrímero G2 aumenta selectivamente la fluidez de la membrana en cepas de *C. acnes* pertenecientes al filotipo IA1 de *C. acnes*.

Se ensayó el impacto del dendrímero G2 sobre la fluidez de la membrana de tres cepas bacterianas de *Cutibacterium acnes.* Dos de las cepas analizadas de *C. acnes* son cepas "acneicas" pertenecientes al filotipo IA1 (RT4 y RT5), mientras que la última es una cepa no acneica (RT6) perteneciente al filotipo II. Se rasparon varias colonias de RT4, RT5 y RT6 (cepas de *C. acnes*) y se colocaron en medio clostridial reforzado (medio RMC). Los tubos se agitaron con vórtice unos pocos segundos y se homogeneizaron antes de llenarse completamente con RMC para crear un estado anaeróbico. A continuación, los tubos se incubaron a 37 °C durante al menos 48 h.

Se recogieron los cultivos bacterianos y se tomó la DO a 580 nm. Después de la inoculación, las bacterias se enviaron a una microplaca y se trataron o no con dendrímero G2. Después de 2 horas en cámara anaeróbica, la placa se transfirió al lector de microplacas durante 72 h (DO 580 nm con medición cada 30 min). A continuación, se analizó el tiempo de generación de las bacterias para cada cepa de *C. acnes*. El dendrímero G2 se ensayó en las siguientes concentraciones: $6 . 10^{-6}$ M y $6 . 10^{-7}$ M.

-Resultados

Los resultados se muestran en la figura 4. Después de 72 h de incubación, el dendrímero G2 (a $6 . 10^{-6}$ M) disminuyó significativamente la rigidez de la membrana de las cepas acneicas RT4 y RT5 en comparación con el control. Cabe destacar que el dendrímero G2 no presenta ningún efecto significativo sobre la cepa RT6 a $6 . 10^{-6}$ M. En otras palabras, el dendrímero G2 presenta un efecto específico sobre la fluidez de la membrana en las cepas acneicas RT4 y RT5 en comparación con la cepa no acneica (RT6).

Se espera que dicho aumento en la fluidez de la membrana desestabilice la membrana bacteriana de las cepas de acné del filotipo acneico IA1 y, por tanto, limite su crecimiento mientras se mantiene e incluso se promueven las cepas no acneicas del filotipo II.

Ejemplo 7: Efectos del dendrímero G2 sobre la formación de biopelícula de cepas acneicas

- Protocolo

Cepa bacteriana y cultivo bacteriano

La cepa acneica de *C. acnes* acneica de ribotipo 5 (RT5) HL043PA2/HM-514 y la cepa no acneica de *Cutibacterium acnes* de ribotipo 6 (RT6) HL110PA3/HM-554 se obtuvieron de BEI Resources American Type Culture Collection (Virginia, Estados Unidos). Estas dos cepas pertenecen a los filotipos IA1 y II, respectivamente (McDowell, 2017). Las bacterias, almacenadas a -80 °C, se sembraron inicialmente en placas de agar con infusión de cerebro y corazón (BHI, BD) para la cepa RT6 y en placas de agar con medio clostridial reforzado (RCM) para la cepa RT5, y se incubaron en

condiciones anóxicas a 37 °C usando un sistema BD GasPackTM. Las colonias se transfirieron a tubos cónicos estériles de 15 ml (Falcon) que contenían 12 ml de RCM y, después de mezclar con vórtice para homogeneizar, se llenó completamente el tubo Falcon con medio RCM y se incubó durante 72 h a 37 °C.

Formación de biopelículas en portaobjetos de vidrio

Para evaluar la formación de biopelículas de *Cutibacterium acnes* durante la exposición al dendrímero G2, se usaron placas de cultivo de 24 pocillos con fondo plano de vidrio (Sensoplate, Greiner bio-one, Alemania). Los cultivos bacterianos de 72 h (véase el párrafo anterior) se centrifugaron a 7500 g durante 10 min a temperatura ambiente. El sedimento bacteriano se volvió a suspender en 5 ml de agua fisiológica estéril (SPW). Finalmente, se colocaron 300 µl de inóculo bacteriano (DO_{580nm} = 0,8) en los ocho pocillos centrales de placas de cultivo de 24 pocillos. Las placas se incubaron 3 h en condiciones anaeróbicas para favorecer la adhesión primaria de las bacterias. Después de este periodo de incubación, se retiró cuidadosamente el agua fisiológica de cada pocillo y se añadió 1 ml de medio de cultivo bacteriano (RCM) complementado o no con el dendrímero G2. Las placas se incubaron durante 72 h a 37 °C en la terminal de trabajo anaeróbica Whitley A85.

Después de 72 h (formación de biopelícula), se retiró cuidadosamente el medio RCM de cada pocillo para eliminar las células planctónicas. A continuación, se añadieron 300 µl de tinte de ácido nucleico fluorescente verde SYTO 9 (Thermofisher) en cada pocillo y se incubaron 20 min en condiciones de oscuridad. A continuación, se retiró el tinte SYTO 9 y se añadieron 300 µl de SPW en cada pocillo. Las observaciones de CLSM se realizaron inmediatamente con un LSM710 de Zeiss (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Alemania) usando un objetivo de inmersión en aceite de 63x. El Syto 9 se excitó a 488 nm y la emisión de fluorescencia se detectó de 500 a 550 nm. Se tomaron imágenes cada micrómetro a lo largo de toda la profundidad de la biopelícula. Para la visualización y el procesamiento de la imagen tridimensional (3D) se usó el programa informático Zen 2.1 SP1 (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Alemania). Los análisis cuantitativos de las pilas de imágenes se realizaron usando el programa informático COMSTAT (http://www.imageanalysis.dk/) (Heydorn *et al.*, 2000). Se determinaron el grosor máximo y promedio de la biopelícula (µm) y su volumen de biomasa ($\mu m^3/\mu m^2$). Cada estudio se repitió un mínimo de tres veces.

- Resultados

Se demostró que el dendrímero G2 disminuía el grosor de la biopelícula para las cepas tanto RT5 (-48 %) como RT6 (-32 %). Cabe destacar que la disminución del grosor de la biopelícula fue significativamente más importante para la cepa acneica RT5 que para la cepa no acneica RT6. Además, como se muestra en la figura 6, el dendrímero G2 disminuyó significativamente la densidad de biomasa en la biopelícula para RT5 (-50 %), mientras que no tuvo ningún efecto en la densidad de biomasa en la biopelícula para RT6.

En conclusión, se espera que el dendrímero de polilisina reduzca la respuesta inflamatoria desencadenada por la biopelícula de *C. acnes*, independientemente de la cepa, al reducir el grosor de la biopelícula, mientras ejerce una acción inhibidora selectiva y específica sobre las cepas acneicas al desestabilizar su biopelícula. Este efecto de desestabilización no se observó para la cepa no acneica RT6, ya que la densidad de biomasa permanece inalterada. Cabe destacar que estos resultados son coherentes con el ejemplo 6, que muestra que el dendrímero de polilisina aumenta la fluidez de la membrana en la cepa acneica RT5, y no en la cepa no acneica RT6.

Ejemplo 8: Estudio clínico

A 20 sujetos caucásicos que presentaban piel grasa y propensa al acné en la cara (50 % de los sujetos entre 14 y 25 años y 50 % de los sujetos entre 26 y 40 años) se les aplicó en media cara, dos veces al día, una crema que contenía 2 ppm de dendrímero G2 (crema de ensayo) o una crema de placebo durante 28 días.

La formulación de ensayo (formulación de dendrímero G2) fue como sigue:

Denominación comercial	Denominación INCI	%
Agua desionizada	Agua	88,00
Dermofeel PA-3	Fitato de sodio (y) agua (y) alcohol	0,10
Ecogel	Lisolecitina (y) coma de esclerocio (y) goma xantana (y) pululano	2,00
SCB Jojoba oil	Aceite de semillas de *Simmondsia chinensis*	3,00
Dermofeel toco 70 non gmo	Tocoferol (y) aceite de semillas de *Helianthus annuus* (girasol)	0,10
Lipex shea W	Ésteres cetílicos de manteca de karité	3,00
Saboderm TTC	Triglicérido caprílico/cáprico	3,00
Dekaben C4	Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) butilparabeno (y) propilparabeno	0,80
Dendrímero G2		0,0002

El dendrímero El G2 mejoró significativamente el aspecto de la piel acneica al disminuir las lesiones acneicas y regular

la tasa de excreción de sebo.

La formulación de placebo era similar a la de ensayo, salvo que el dendrímero G2 se remplazó por agua. El potencial comedogénico y los efectos antiimperfecciones se evalúan después de 28 días de uso, en comparación con el número de lesiones en la cara antes de la aplicación (D0):

- *Examen clínico:* El potencial comedogénico y el efecto antiimperfecciones de la crema de ensayo frente al placebo se evaluaron después de 28 días de uso, en comparación con el número de lesiones en la cara antes de la aplicación (D0). En D0 y D28, el dermatólogo examinó la piel y contó las lesiones inflamatorias globales, así como las pápulas y las pústulas en cada media cara de cada sujeto inscrito. El dermatólogo también determinó el número de lesiones de retención globales y puntos negros en cada media cara de cada paciente. Los resultados se muestran en las figuras 5A, 5B y 5C.

- *Mediciones del nivel de sebo:* La cantidad de sebo excretado a la superficie de la piel se evaluó cuantitativamente con un Sebumeter® SM 810 PC de COURAGE y KHAZAKA en el día 28. Los resultados se muestran en la figura 5D.

Resultados:

Como se ilustra en la figura 5A-5C, la crema de ensayo que comprende dendrímero G2 redujo significativamente el número de puntos negros, lesiones de retención y lesiones inflamatorias después de 28 días de tratamiento, en comparación con la crema de placebo. Además, la crema de ensayo también disminuyó significativamente la tasa de excreción de sebo por la piel acneica en comparación con la crema de placebo (figura 5D). En conjunto, estos datos demuestran que el dendrímero G2 es un agente eficaz para tratar los trastornos acneicos.

** El dendrímero G2 mejora la microbiota de la piel acneica*

Después de 28 días de tratamiento, se tomaron muestras de piel (frotis) en cada media cara de cada uno de los voluntarios inscritos para cuantificar las cepas de *C. acnes* mediante análisis metagenómico y determinar el efecto de la crema de ensayo sobre la diversidad de *C. acnes* frente a la crema de placebo.

El principio de este estudio metagenómico es amplificar una región de *Cutibacterium acnes* y secuenciar los amplicones. Las secuencias de los amplicones se comparan con la base de datos de referencia de SLST (http://medbac.dk/slst/pacnes) que relaciona las secuencias de los amplicones con los tipos y clados y con los filotipos de SLST. Esta metodología se basa en la publicación de Scholtz *et al.* (Scholz, 2014, *supra*) con modificaciones. Se calcularon las abundancias y diversidades de los tipos y clados y de los filotipos de SLST para cada muestra y se compararon para evaluar el efecto del tratamiento entre los grupos formados por voluntarios tratados con la fórmula activa y voluntarios tratados con la fórmula de placebo.

Protocolo

Los frotis se congelaron y almacenaron a -80 °C hasta la extracción del ADN. La extracción y purificación del ADN se realizaron usando el kit Qiagen DNeasy PowerSoil (Cat n.º 12888). En resumen, las células se lisaron mediante la combinación de tratamientos mecánicos (batido con microesferas) y químicos (detergente). A continuación, el ADN extraído se purificó en una membrana de sílice.

El método original de SLST de *Cutibacterium acnes* (Scholz, 2014, *supra*), amplifica una región de 612 pares de bases, que es demasiado grande para secuenciarse usando la tecnología Illumina. Se diseñaron nuevos cebadores que amplifican una región de 497 pares de bases, estando colocado el cebador directo 74 nucleótidos posterior del original y el inverso 26 nucleótidos anterior. Esta modificación no permitirá distinguir entre los tipos de SLST A1 y A6 o los tipos de SLST E3 y E7. En ambos casos, estas variantes pertenecen a los mismos clados y filotipos. La secuenciación del ADN se realizó en el Miseq de Illumina usando la tecnología de extremos emparejados. El procesamiento de todas las secuencias se realizó usando el paquete QIIME2 (https://qiime2.org/). Después del filtrado de calidad, los pares de lecturas se fusionaron por solapamiento, se agruparon y se eliminaron las secuencias quiméricas. Los tipos de SLST se asignaron a las secuencias frente a la base de datos de referencia de SLST de *Cutibacterium acnes* (http://medbac.dk/slst/pacnes) usando un umbral de homología de un 99 %.

Análisis de datos.

Datos de entrada

Los datos sin procesar se normalizaron usando el procedimiento gradación de suma total (TSS), es decir, para una muestra dada, la abundancia de cada SLST se divide por la suma de las abundancias de todos los taxones.

Los datos de abundancia se filtraron aún más eliminando los tipos de SLST observados en solo una muestra, antes de compararlos estadísticamente entre grupos.

Rarefacción

Las curvas de rarefacción, f(número de secuencias) = número de SLST, se trazaron con el programa informático Past 3.20 (https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm). Estas curvas permiten evaluar gráficamente si la profundidad de secuenciación es suficiente (cuando las curvas alcanzan una meseta).

Diversidad alfa (a).

Los índices de diversidad de Shannon y Simpson se calcularon usando el programa informático Past 3.20. Para caracterizar la diversidad taxonómica de cada muestra se usaron dos medidas de diversidad alfa: la diversidad de Shannon, similar a la entropía, y la diversidad de Simpson (1-D). Los valores de ambos índices dependen de la riqueza (número de taxones diferentes) y de la equitabilidad de las poblaciones, viéndose el índice de Simpson menos afectado por los taxones poco abundantes. En ambos casos, el índice aumenta con la diversidad. Se presenta el número de SLST (riqueza), que también puede considerarse como una medida de la diversidad, con sesgo al darse el mismo peso a los SLST de alta y baja abundancia.

En todos los casos, se usaron para el cálculo los datos de abundancia normalizados de los tipos de SLST.

Comparación de abundancias.

Las abundancias de los tipos de cepas en cada nivel se compararon usando la prueba paramétrica de la *T* de Student para datos emparejados y la prueba no paramétrica de Wilcoxon y la prueba del signo. Para el cálculo se usaron los datos de abundancia normalizados y filtrados de los tipos de SLST.

Resultados

Este estudio dio lugar a identificar 32 tipos de SLST entre las muestras ensayadas, todos relacionados con los filotipos descritos en la bibliografía.

El filotipo IA1 fue el más representado, con el SLST de tipo A1 como principal, seguido de los filotipos II, IB, IA2, IC y III. Este reparto fue el mismo para las muestras tratadas con la crema de ensayo o con la crema de placebo. El reparto de filotipos varió dependiendo del individuo (edad, sexo), así como de la zona de muestreo. El filotipo IA1 fue más abundante en la mayoría de muestras de espalda en comparación con las muestras de cara. Nuestros resultados fueron coherentes con el estudio de Dagnelie *et al.* (Dagnelie, 2018, *supra*) que demostró además que el filotipo IA1 era más abundante en piel acneica que en sana, mientras que el filotipo II se describió como menos abundante en piel acneica que en sana.

Como se muestra en la figura 5E y 5F, el tratamiento con la crema de ensayo aumentó la diversidad de cepas en comparación con la crema de placebo después de 28 días de tratamiento. Observamos además que el tratamiento con la composición de ensayo produjo una disminución de la abundancia del filotipo acneico IA1 y un aumento del filotipo no acneico II, en comparación con la crema de placebo especialmente en hombres y en sujetos de al menos 23 años de edad. El dendrímero G2 ejerce, por tanto, una acción beneficiosa sobre la población de *C. acnes* en piel acneica al limitar las cepas acneicas, mientras favorece las cepas no acneicas. En otras palabras, el dendrímero G2 puede usarse para reequilibrar la población de *C. acnes* en piel acneica y propensa al acné.

REIVINDICACIONES

1. Un uso cosmético, no terapéutico, de un dendrímero de polilisina o una sal del mismo como ingrediente activo para tratar o prevenir las imperfecciones de la piel.

2. El uso cosmético, no terapéutico, de la reivindicación 1, que es para mejorar el aspecto visual de la piel en un sujeto que tiene una piel propensa a las imperfecciones.

3. El uso cosmético, no terapéutico, de la reivindicación 2, en donde el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa para disminuir el aspecto graso de la piel o para disminuir el enrojecimiento de la piel, las espinillas o los comedones.

4. Un dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso como ingrediente activo para tratar o prevenir el acné vulgar.

5. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa como ingrediente activo para restablecer o reequilibrar la microbiota de la piel, preferiblemente restablecer la diversidad de *C. acnes*en la piel.

6. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en donde el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa como ingrediente activo para disminuir la abundancia de cepas acneicas de *C. acnes*, preferiblemente cepas de *C. acnes* pertenecientes a los filotipos IA1, IA2, IB y IC, más preferiblemente al filotipo IA1 en la piel.

7. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 5-6 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-6, en donde el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa para aumentar la abundancia de cepas de no acneicas de *C. acnes*, preferiblemente cepas de *C. acnes* pertenecientes a los filotipos II o III, preferiblemente al filotipo II en la piel.

8. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-7, en donde el dendrímero de polilisina o una sal del mismo se usa además como ingrediente activo para:

- mejorar el aspecto y el tacto de la piel, y/o
- restablecer el bienestar de la piel y/o
- disminuir la secreción de sebo de la piel, y/o
- mejorar la descamación de la piel.

9. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-8 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7, en donde el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado de segunda generación que tiene un DPn de 40 a 60, preferiblemente de 46 a 50, tal como 48.

10. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-9 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 y 9, en donde el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina que tiene un núcleo lineal de poli-L-lisina en donde los grupos ε-amino están sustituidos cada uno con un resto de poli-L-lisina y en donde el núcleo lineal de poli-L-lisina contiene preferiblemente de 6 a 10 y/o el resto de poli-L-lisina injertado en los grupos ε-amino tiene preferiblemente de 2 a 6 residuos de lisina de longitud.

11. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-10 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 y 9-10, en donde el dendrímero de polilisina está en forma de dendrímero policatiónico en donde el contranión es acetato.

12. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-11 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 y 9-11, en donde el dendrímero de polilisina está presente en una composición no farmacológica, cosmética o dermocosmética.

13. El uso cosmético, no terapéutico, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 5-12 o el dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 y 9-12, en donde el dendrímero de polilisina está presente como ingrediente activo en una composición cosmética seleccionada del grupo que consiste en crema calmante, producto exfoliante, producto en crema o gel de uso diario, tónico o loción clarificante, limpiador purificante, crema o barra correctora de imperfecciones y crema o barra correctora, siendo dicha composición cosmética a usar sobre piel acneica, piel propensa a las imperfecciones o piel propensa al acné.

14. El dendrímero de polilisina o una sal del mismo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 y 9-13, en donde el dendrímero de polilisina se usa en combinación con un ingrediente activo seleccionado de vitamina A, retinoides tales como adapaleno, tretinoína o tazaroteno, bactericidas tales como peróxido de benzoilo y decanodiol, ácido azelaico, ácido salicílico, agentes antinflamatorios tales como dapsona o aceite de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té), agentes antienrojecimiento, agentes calmantes y combinaciones de los mismos.

15. Una composición tópica para su uso en el tratamiento de piel acneica o piel propensa al acné, que comprende un dendrímero de polilisina como ingrediente activo y uno o varios excipientes preferiblemente en las siguientes cantidades:

- de 0,1 a 100 ppm, preferiblemente de 0,1 a 10 ppm de un dendrímero de polilisina, preferiblemente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9-11,
- de un 0 % a un 20 % de uno o más agentes activos adicionales, y
- de un 70 % a un 99,9999 % de uno o más excipientes,

expresándose los porcentajes en peso con respecto al peso total de la composición.

16. Un método cosmético, no terapéutico, para restablecer o reequilibrar la microbiota en piel propensa a las imperfecciones, que comprende una etapa de administración tópica de una cantidad eficaz de un dendrímero de polilisina, o una composición del mismo a dicho sujeto, en donde el dendrímero de polilisina es un injerto dendrítico de poli-L-lisina no conjugado de segunda generación que tiene un DPn de 40 a 60 y que preferiblemente es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 10-11.

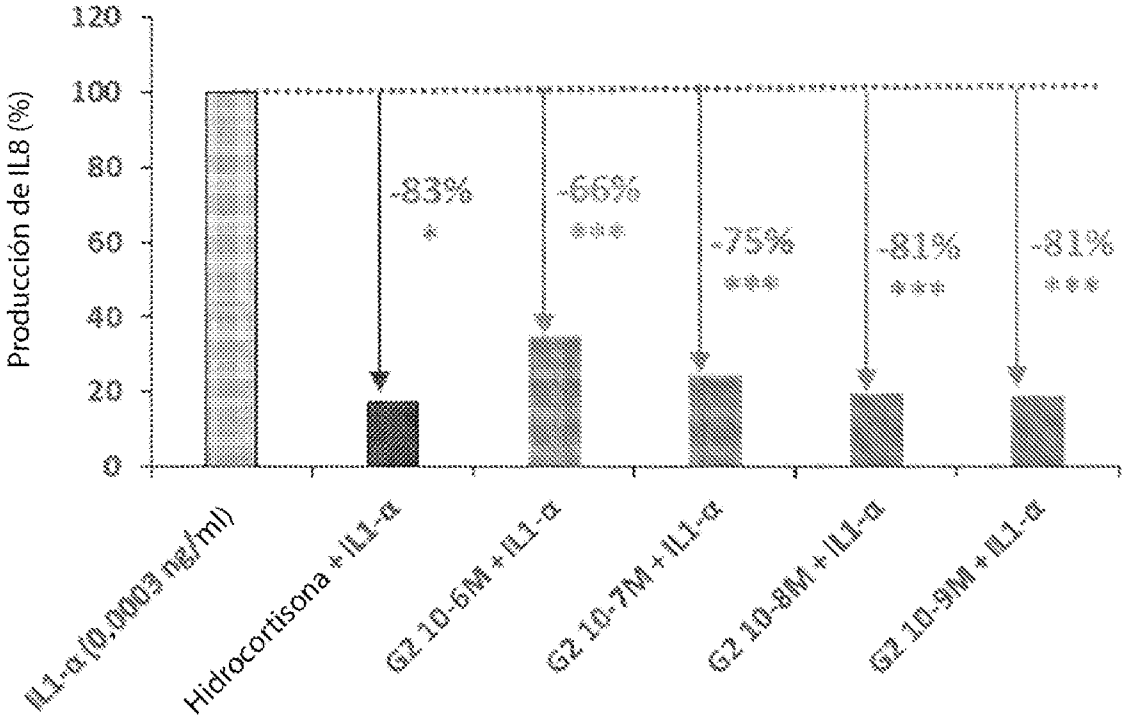


Figura 1

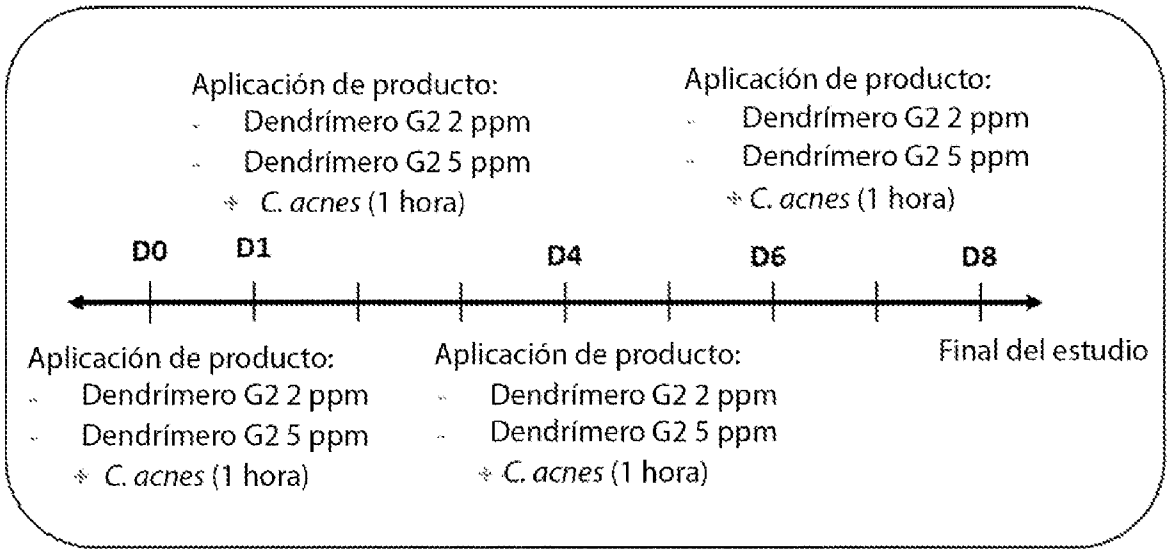


Figura 2

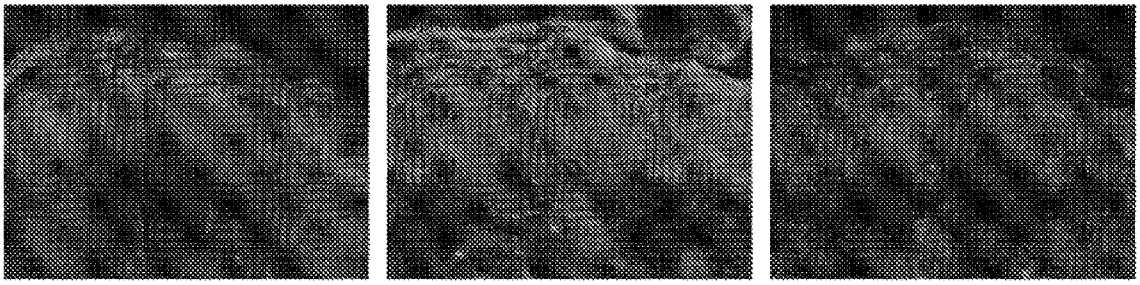


Figura 3

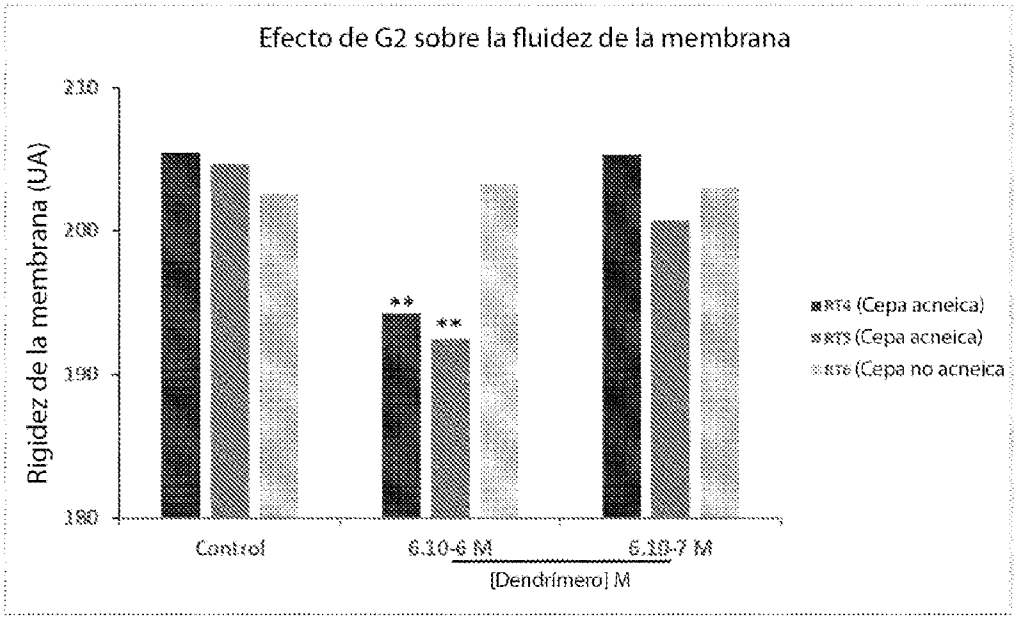


Figura 4

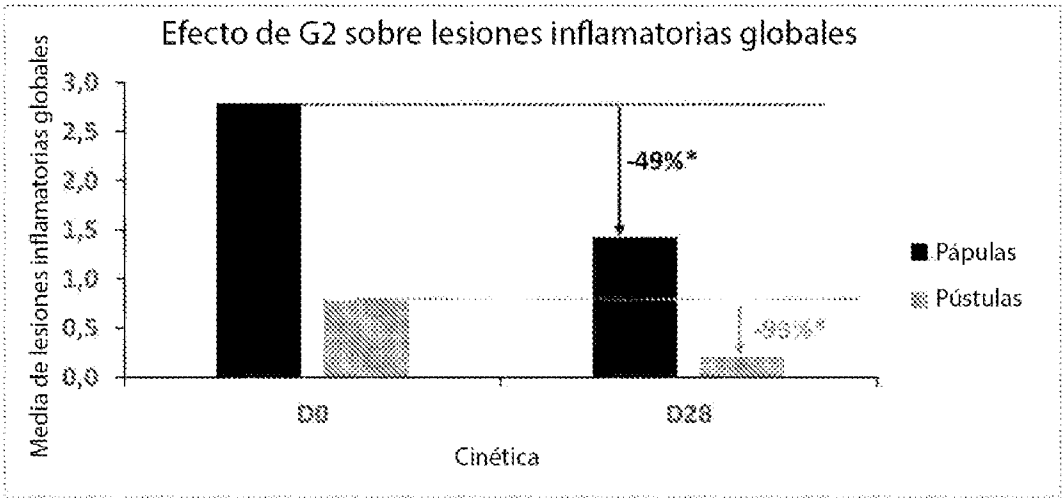


Figura 5A

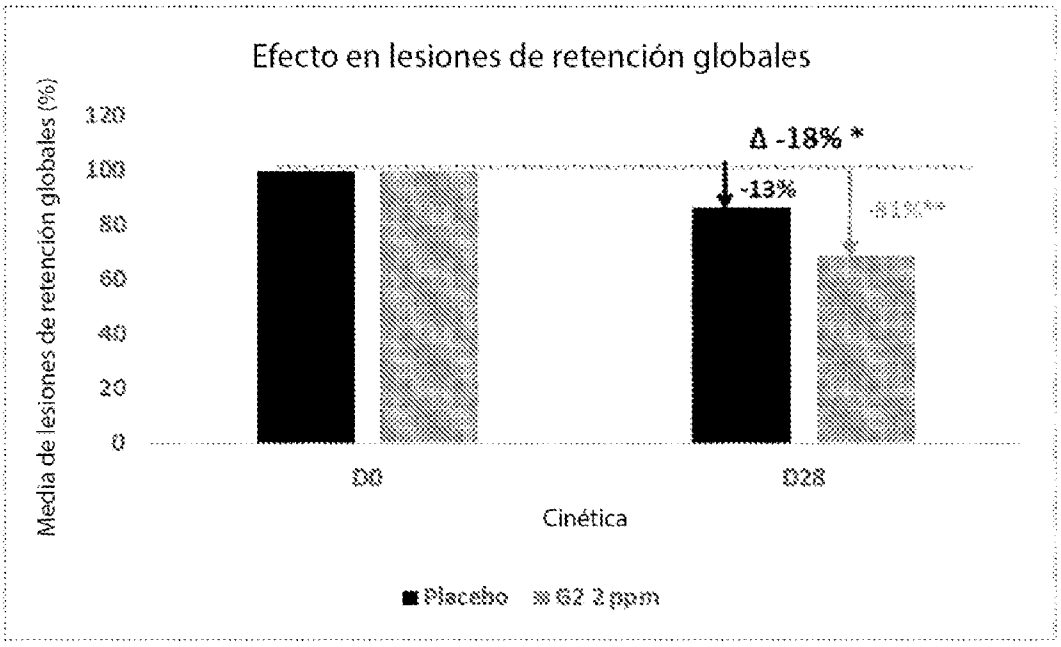


Figura 5B

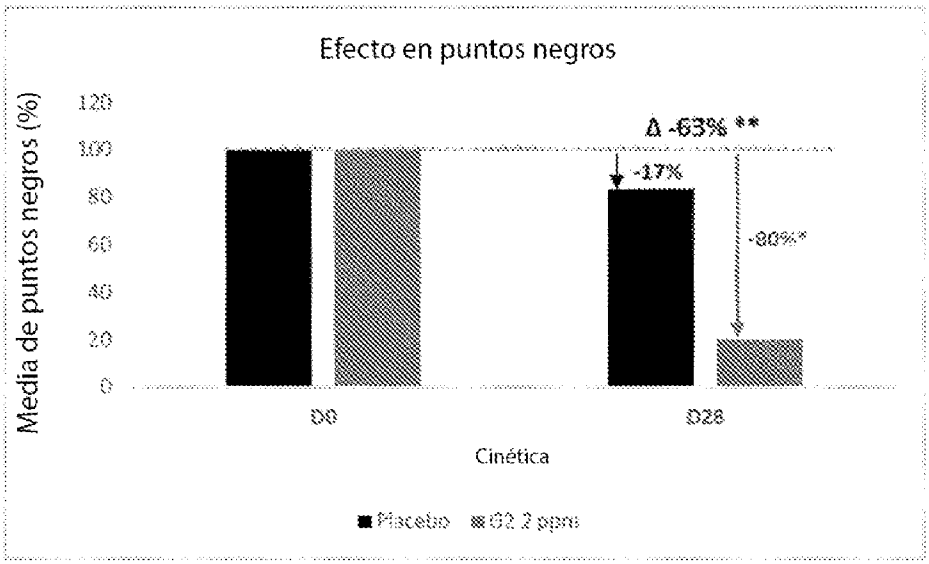


Figura 5C

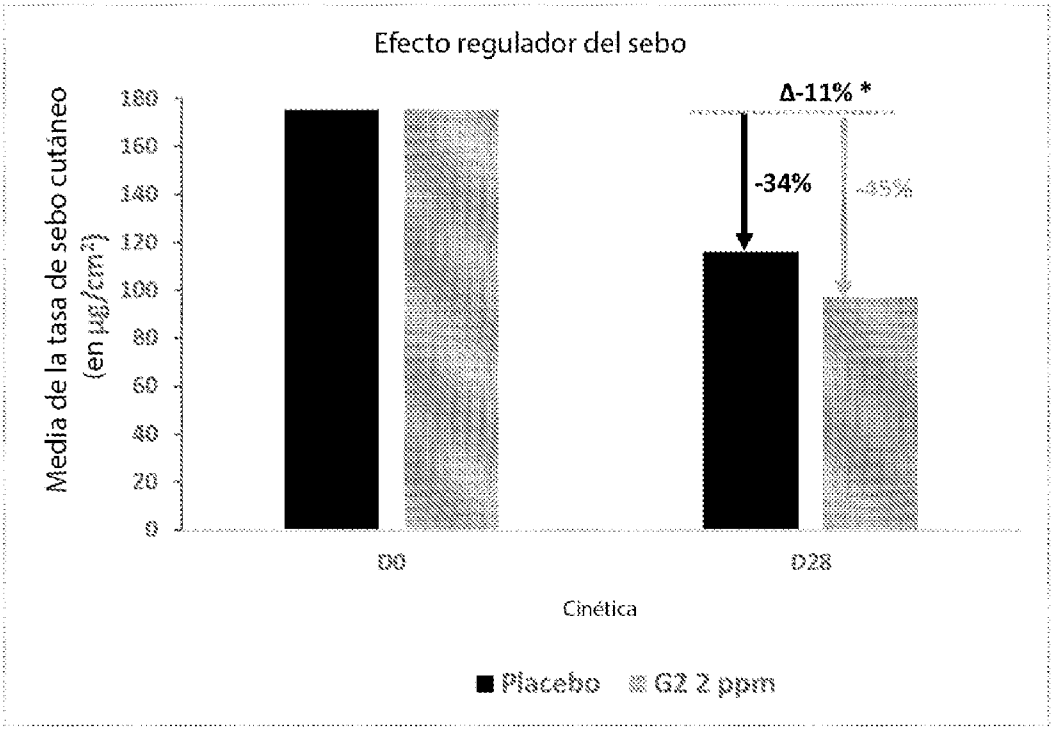


Figura 5D

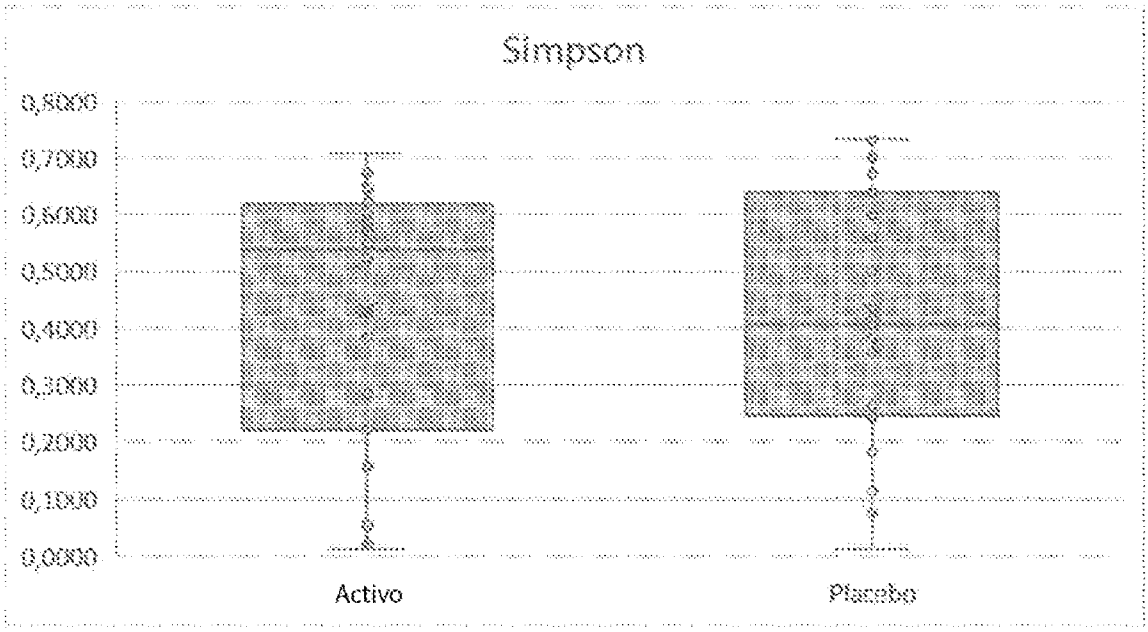


Figura 5E

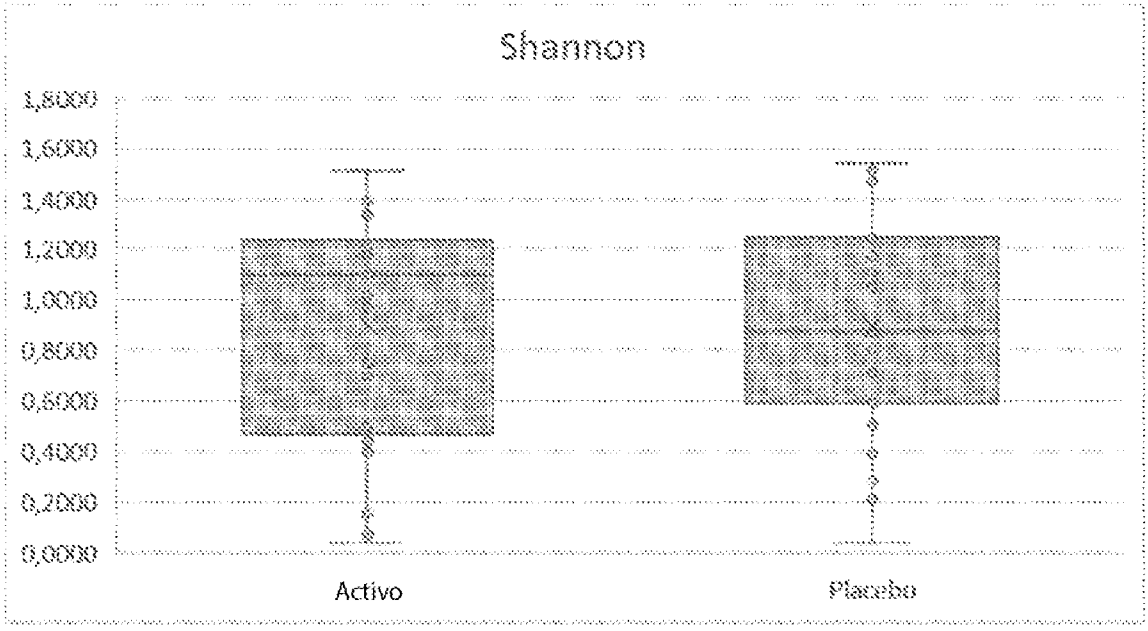


Figura 5F

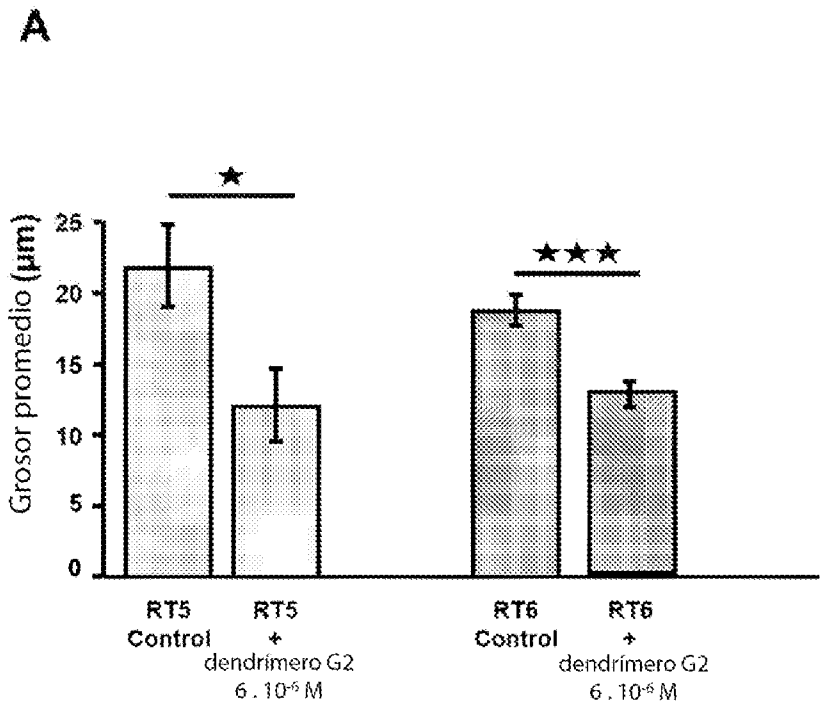


Figura 6A

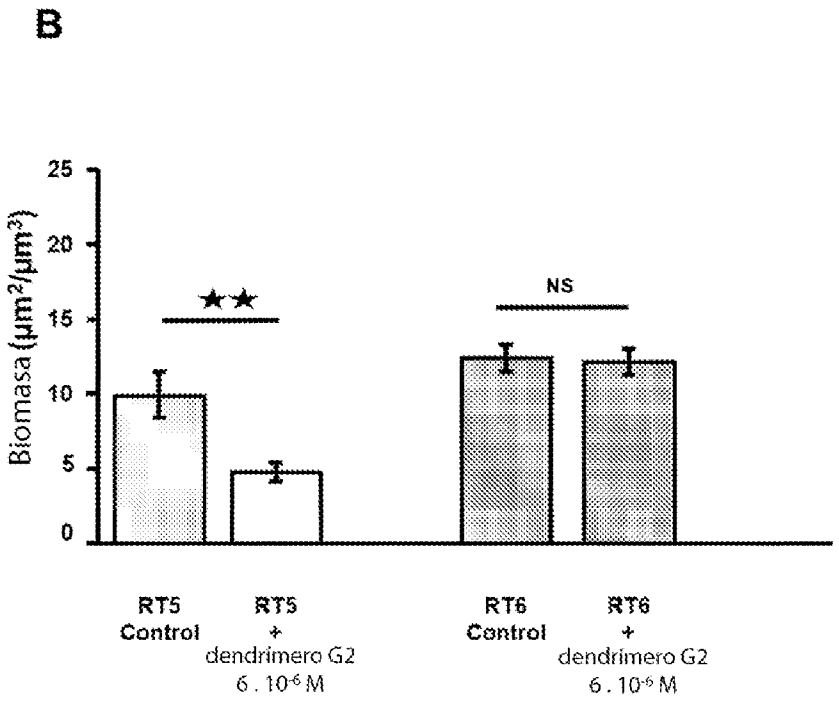


Figura 6B

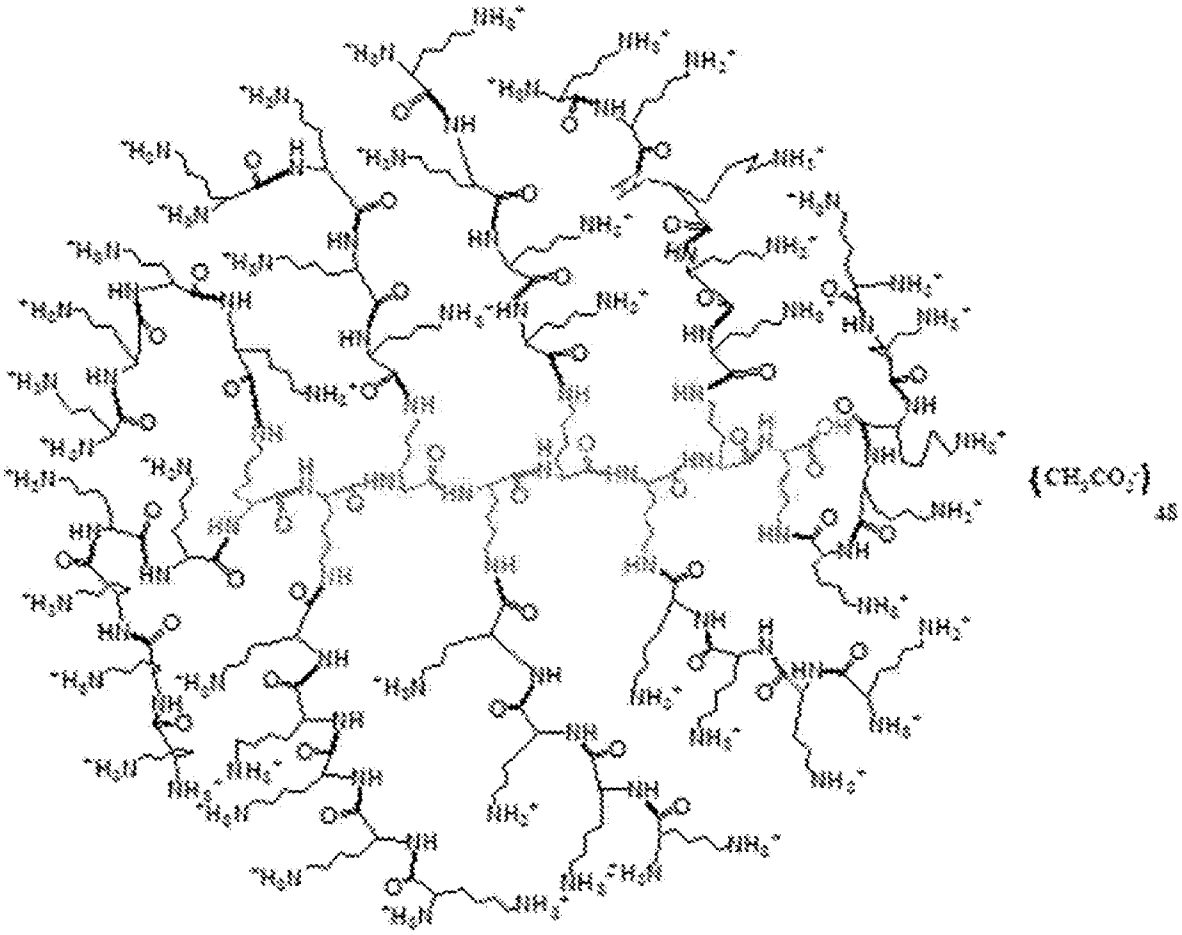


Figura 7