

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 307**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)
A23K 10/16 (2006.01)
A23L 29/00 (2006.01)
A23L 33/135 (2006.01)
A61K 35/747 (2015.01)
C12R 1/225 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2018** **PCT/KR2018/006148**
87 Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2018** **WO18221956**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2018** **E 18809176 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2024** **EP 3636744**

54 Título: **Lactobacillus curvatus WIKIM55 que tiene actividad de promover el crecimiento del cabello y composición que lo contiene**

30 Prioridad:

01.06.2017 KR 20170068238

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2024

73 Titular/es:

KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE (100.0%)
245, Nongsaengmyeong-ro Iseo-myeon
Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, KR

72 Inventor/es:

CHOI, HAK JONG;
KWON, MIN SUNG;
LIM, SEUL KI;
OH, YOUNG JOON;
JANG, JA YOUNG y
LEE, JI EUN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 973 307 T3

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

DESCRIPCIÓN

Lactobacillus curvatus WIKIM55 que tiene actividad de promover el crecimiento del cabello y composición que lo contiene

[Campo técnico]

- 5 La presente divulgación se relaciona con una cepa nueva de *Lactobacillus curvatus* y una composición que la contiene.

[Antecedentes de la técnica]

- 10 El cabello es un órgano del cuerpo que desempeña la función de proteger la cabeza, mantener la temperatura de la cabeza, etc. y determina la apariencia, lo que atrae mucho interés recientemente. En consecuencia, el interés por la caída del cabello y sus tratamientos está aumentando y se están llevando a cabo activamente investigaciones y desarrollo sobre tratamientos contra la caída del cabello. El cabello crece y se cae a lo largo del ciclo capilar de 4 fases: anágena (fase de crecimiento), catágena (fase de transición), telógena (fase de reposo) y exógena (fase de muda). La caída del cabello se refiere a la pérdida de cabello causada cuando la caída del cabello supera el crecimiento del cabello por diversas razones. Las causas conocidas actualmente de la caída del cabello incluyen factores genéticos, problemas con el flujo sanguíneo, trastornos endocrinos causados por la hormona masculina testosterona, etc. Además, el estrés se conoce como una causa externa.

- 15 Como agentes típicos promotores del crecimiento del cabello, se utilizan minoxidil (6-amino-1,2-dihidro-1-hidroxi-2-imino-4-fenoxipirimidina, linimento percutáneo), finasterida (agente oral), etc. Se sabe que el minoxidil induce el crecimiento del cabello al promover el suministro de nutrientes a través de la vasodilatación. Finasterida tiene un mecanismo de acción que inhibe la muerte de las células de la papila dérmica mediante la inhibición de la actividad de la 5 α -reductasa, que es una enzima implicada en el metabolismo de la testosterona. Sin embargo, ambos fármacos son eficaces sólo durante su uso y el efecto desaparece si se suspende su uso. Por lo tanto, deben usarse durante un largo período de tiempo. Pero, debido a que el minoxidil tiene el efecto secundario de sensación pegajosa e irritación de la piel y la finasterida tiene los efectos secundarios de disminución de la energía, disfunción sexual, etc., existen muchas limitaciones en su uso a largo plazo.

- 20 El documento US 2015/306158 A1 divulga una cepa de *Lactobacillus curvatus* que combinada con *L. plantarum* tiene algunos usos médicos en la demencia y senescencia. Se les conoce como probióticos que tienen un efecto en la regulación intestinal, refuerzo inmunológico y anticancerígeno en general. El documento EP 1 097 700 A1 divulga una cepa de *Lactobacillus bulgaricus* y la utiliza como tónico para el crecimiento del cabello.

- 25 En este contexto, recientemente se están realizando estudios sobre la salud de la piel y el cabello utilizando bacterias del ácido láctico. Pero aún no se han encontrado las bacterias del ácido láctico que afectan directamente el crecimiento del cabello y se requiere el desarrollo de una composición que contenga excelentes bacterias del ácido láctico capaces de favorecer la salud y el crecimiento del cabello.

[Divulgación]

[Problema técnico]

- 30 La presente divulgación está dirigida a proporcionar nuevas bacterias de ácido láctico del género *Lactobacillus* que tienen una actividad superior para promover el crecimiento del cabello.

[Solución técnica]

- 35 Los inventores de la presente divulgación se han esforzado en crear una cepa de bacterias del ácido láctico que muestre un efecto de promoción del crecimiento del cabello y al mismo tiempo muestre un efecto excelente como probiótico de los alimentos fermentados tradicionales. Como resultado, han aislado e identificado la nueva cepa de bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus*, *Lactobacillus curvatus* WIKIM55, y han completado la presente divulgación.

- 40 Por lo tanto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica y una composición alimenticia para promover el crecimiento del cabello, que contienen *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo del mismo como ingrediente activo, un método para promover el crecimiento del cabello, que incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo del mismo a un sujeto que lo necesita, y un uso nuevo de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 para promover el crecimiento del cabello.

- 45 El *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de acuerdo con la presente divulgación es una nueva cepa de *Lactobacillus curvatus* procedente del kimchi. Aunque el *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de acuerdo con la presente divulgación se aísla del kimchi, su origen no se limita a ello.

50 En un ejemplo de la presente divulgación, se encontró que la cepa de bacterias del ácido láctico que muestra un excelente efecto como probiótico, que se aisló de alimentos fermentados tradicionales, tenía una secuencia de ácido

nucleico de SEQ ID NO: 1 cuando se somete a análisis de secuencia de ADNr 16S para la identificación y clasificación de microorganismos.

El microorganismo que tiene la secuencia de bases de ADNr 16S de SEQ ID NO: 1 fue nombrado *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 y presentado el 7 de abril de 2017 en el Centro Cultural de Microorganismos de Corea (número de acceso: KCCM12011P).

El *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de la presente divulgación es una bacteria Gram positiva. Es un anaerobio facultativo con forma de bastón capaz de crecer tanto bajo condiciones aeróbicas como anaeróbicas sin formar esporas.

El *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de la presente divulgación es un probiótico y tiene los efectos de regulación intestinal y mejora de la inmunidad de las bacterias del ácido láctico en general. Es bien sabido que las bacterias del ácido láctico del género *Lactobacillus* tienen el efecto de aliviar los trastornos intestinales y mejorar la inmunidad.

En la presente divulgación, se entiende que "probiótico" significa microorganismos vivos que proporcionan beneficios para la salud de un huésped mejorando el entorno microbiano intestinal del huésped en el tracto gastrointestinal de animales, incluido el ser humano. Los probióticos son microorganismos vivos que tienen actividad probiótica y pueden tener un efecto beneficioso sobre la flora intestinal del huésped cuando se proporcionan a humanos o animales en forma de cepas únicas o múltiples.

En los siguientes ejemplos, se confirmó que la cepa *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de la presente divulgación exhibe un efecto de promover el crecimiento del cabello al promover la formación de folículos pilosos. Por lo tanto, la *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de acuerdo con la presente divulgación se puede utilizar para diversos usos, tales como regulación intestinal, promoción del crecimiento del cabello, mejora de la inmunidad, etc. en humanos o animales.

En la presente divulgación, el efecto de "promover el crecimiento del cabello" significa promover el crecimiento del cabello y, en última instancia, aumentar la proporción de cabello en la fase anágena de todo el cabello. Por lo tanto, el término significa la inhibición de la caída del cabello causada por una proporción reducida de cabello en la fase anágena y puede tener el mismo significado que "mejora de la caída del cabello", "prevención de la caída del cabello" y "tratamiento para la caída del cabello".

Por lo tanto, una realización de ejemplo de la presente divulgación proporciona una composición probiótica que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este.

El *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 contenido en la composición de acuerdo con la presente divulgación puede existir como células vivas o células muertas, y también puede existir en forma seca o liofilizada. Las personas experimentadas en la técnica conocen bien las formas de bacterias del ácido láctico adecuadas para su inclusión en una variedad de composiciones y métodos de formulación de estas.

En una realización de ejemplo, la composición puede ser una composición para administración oral que contiene el *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 presente como células vivas.

En otra realización de ejemplo, la composición puede ser una composición para aplicación externa a la piel, que contiene un cultivo o un lisado del *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 o un producto fermentado utilizando la cepa.

Las referencias a métodos de tratamiento en los párrafos siguientes de esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

En una realización de ejemplo, la presente divulgación proporciona una composición de regulación intestinal que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este. La composición de regulación intestinal de acuerdo con la presente divulgación se puede usar para la prevención, tratamiento y mejora de enfermedades gastrointestinales de animales, incluido el ser humano. En concreto, los animales incluyen animales de granja como vacas, caballos y cerdos. La "enfermedad gastrointestinal" incluye infecciones por bacterias que afectan el estómago y enfermedades inflamatorias del intestino. Por ejemplo, diarrea infecciosa causada por bacterias patógenas (*E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, etc.), se incluyen inflamación gastrointestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de enteritis neurogénica, síndrome de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado, diarrea por disentería intestinal, etc., aunque sin limitarse a los mismos.

Específicamente, la composición de regulación intestinal de acuerdo con la presente divulgación se puede administrar por vía oral. La dosis de administración puede variar dependiendo del tipo de enfermedad gastrointestinal, gravedad de la enfermedad, edad, sexo, etnia, terapia o profilaxis. En general, se pueden administrar entre mil y cien mil millones de bacterias al día en adultos.

La presente divulgación proporciona una composición para mejorar la inmunidad, que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este. Es bien sabido que las bacterias del ácido láctico del género *Lactobacillus* tienen el efecto de regulación intestinal y mejora de la inmunidad.

5 La presente divulgación proporciona una composición para promover el crecimiento del cabello, que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este.

El *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de acuerdo con la presente divulgación puede estar contenido en productos farmacéuticos, alimentos saludables, alimentos, piensos, aditivos para pienso, iniciadores de ácido láctico o cosméticos debido a estos efectos beneficiosos.

10 En una realización de ejemplo, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para promover el crecimiento del cabello, que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este como ingrediente activo.

Cuando la composición de la presente divulgación se usa como una composición farmacéutica, la composición farmacéutica de la presente divulgación se puede preparar usando un adyuvante que sea farmacéuticamente adecuado y fisiológicamente aceptable además del ingrediente activo. Como el adyuvante, se puede utilizar un excipiente, un desintegrante, un agente edulcorante, un aglomerante, un agente de recubrimiento, un agente de hinchamiento, un lubricante, un deslizante, un agente saborizante, etc.

Específicamente, la composición farmacéutica se puede formular añadiendo uno o más portadores farmacéuticamente aceptables además del ingrediente activo descrito anteriormente para la administración de la composición farmacéutica.

20 La forma de formulación de la composición farmacéutica puede ser un gránulo, un polvo, un comprimido, un comprimido recubierto, una cápsula, un supositorio, una solución, un jarabe, un zumo, una suspensión, una emulsión, una gota, una solución inyectable, etc. Por ejemplo, para la formulación en forma de comprimido o cápsula, el ingrediente activo se puede combinar con un portador inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua, etc. Además, si se desea o es necesario, también se puede incluir en la mezcla un agente aglomerante, lubricante, desintegrante y colorante adecuado. Un aglomerante adecuado incluye, pero no limitado a, 25 almidón, gelatina, un azúcar natural tal como glucosa o beta-lactosa, un edulcorante de maíz, una goma natural o sintética tal como acacia, tragacanto u oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. El desintegrante incluye, pero no se limita a, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares.

30 Como en un portador farmacéutico aceptable en una composición formulada en una solución líquida, uno o más ingredientes de solución salina, agua estéril, solución de Ringer, solución salina regulada, solución para inyección de albúmina, solución de dextrosa, solución de maltodextrina, glicerol y etanol, que están esterilizados y son adecuados para el cuerpo vivo, puede mezclarse. Si es necesario, se pueden añadir otros aditivos convencionales tales como un antioxidante, un regulador, un agente bacteriostático, etc. Además, se puede añadir adicionalmente un diluyente, un dispersante, un tensioactivo, un aglomerante o un lubricante para la formulación en una formulación inyectable tal 35 como una solución acuosa, una suspensión, una emulsión, etc., una píldora, una cápsula, un gránulo o un comprimido.

Además, la formulación se puede realizar de acuerdo con las enfermedades o ingredientes correspondientes utilizando los métodos divulgados en Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA.

40 Además, la presente divulgación proporciona un método para promover el crecimiento del cabello, que incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este a un sujeto que lo necesita.

El término "sujeto" utilizado aquí se refiere a un mamífero que es objeto de tratamiento, observación o experimento. Específicamente, se refiere a humanos.

45 Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" como se utiliza aquí significa la cantidad de un ingrediente activo o una composición farmacéutica para inducir una respuesta biológica o médica en el sistema tisular, animal o humano determinada por un investigador, un veterinario, un médico o un clínico. Incluye la cantidad de inducción de alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se está tratando. Es obvio para las personas experimentadas en la técnica que la cantidad terapéuticamente eficaz y el número de administraciones del ingrediente activo de la presente divulgación cambiarán dependiendo del efecto deseado. Por lo tanto, las personas experimentadas en la 50 técnica pueden determinar fácilmente la dosis óptima a administrar, y se puede ajustar dependiendo de una variedad de factores que incluyen el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad, el contenido del ingrediente activo y otros ingredientes contenidos en la composición, el tipo de formulación, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y dieta de un paciente, tiempo de administración, vía de administración, rata de excreción de la composición, el período de tratamiento y un fármaco utilizado juntos. Específicamente, en el método de tratamiento de la presente divulgación, el *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este se puede administrar con una dosis 55 de 0.01 mg/kg a 200 mg/kg para un adulto, una o varias veces al día.

En el método de tratamiento de la presente divulgación, la composición de la presente divulgación que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este como ingrediente activo se puede administrar de acuerdo con un método común por vía oral, rectal, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal, transdérmica, tópica, intraocular o intradérmica.

- 5 En otra realización de ejemplo, la presente divulgación proporciona una composición alimenticia para promover el crecimiento del cabello, que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este como ingrediente activo. La composición alimenticia puede estar en forma de un alimento funcional, una bebida, una barra, etc.

En la presente divulgación, la composición alimenticia que contiene la cepa como ingrediente activo puede incluir una bebida tal como leche fermentada, etc. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona un iniciador de bacterias de ácido láctico para la fermentación, que contiene *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este.

La composición alimenticia de acuerdo con la presente divulgación puede formularse de la misma manera que la composición farmacéutica y puede usarse como alimento funcional o agregarse a diversos alimentos. Los alimentos a los que se puede añadir la composición de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, una bebida, una bebida alcohólica, confitería, una barra dietética, un producto lácteo, carne, chocolate, pizza, un fideo instantáneo, una goma, helado, un complejo vitamínico, un suplemento para la salud, etc.

Por ejemplo, si la composición alimenticia de la presente divulgación se prepara como una bebida, puede contener además ácido cítrico, jarabe de fructosa, azúcar, glucosa, ácido acético, ácido málico, zumo de frutas, diversos extractos de plantas, etc. además de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este.

Además, la presente divulgación puede proporcionar un alimento funcional que contenga el *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este. El alimento funcional se refiere a un alimento preparado añadiendo *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este a un material alimenticio como una bebida, un té, una goma, confitería, etc. o preparado por encapsulación, pulverización, suspensión, etc., que, si se ingiere, aporta beneficios específicos para la salud, pero, a diferencia de los fármacos genéricos, tiene la ventaja de no tener efectos secundarios que puedan ocurrir durante el uso a largo plazo. Por tanto, el alimento funcional de la presente divulgación obtenido como tal es muy útil porque puede ingerirse de manera rutinaria. La cantidad adicional de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 o un cultivo de este en dichos alimentos saludables no se puede definir de manera uniforme porque puede variar según el tipo de alimento saludable. La cantidad puede estar en un intervalo que no perjudique el sabor original del alimento y puede ser del 0.01 al 50 % en peso, específicamente del 0.1 al 20 % en peso, con respecto al alimento al que se añade. En el caso de un alimento en forma de gránulo, un comprimido o una cápsula, se puede añadir normalmente en un intervalo de 0.1 a 100 % en peso, específicamente de 0.5 a 80 % en peso. En una realización de ejemplo, el alimento funcional de la presente divulgación puede estar en forma de una bebida.

La composición de acuerdo con la presente divulgación se puede utilizar como aditivo para piensos o un pienso.

Cuando se usa como aditivo para piensos, la composición se puede preparar en una solución con una alta concentración del 20 al 90 %, o un polvo o gránulo. El aditivo para piensos puede contener además uno o más de un ácido orgánico tal como ácido cítrico, ácido fumárico, ácido adipico, ácido láctico, ácido málico, etc. un fosfato tal como fosfato de sodio, fosfato de potasio, pirofosfato ácido, polifosfato, etc. o un antioxidante natural tal como polifenol, catequina, alfa-tocoferol, extracto de romero, vitamina C, extracto de té verde, extracto de raíz de regaliz, quitosano, ácido tánico, ácido fítico, etc. Cuando se usa como un pienso, la composición puede formularse en un pienso normal y puede contener además ingredientes de pienso comunes.

El aditivo para piensos y pienso pueden contener además un cereal, por ejemplo, trigo, avena, cebada, maíz y arroz molidos o triturados; un pienso de proteína vegetal, por ejemplo, un pienso que contiene colza, soja y girasol como ingredientes principales; un pienso con proteína animal, por ejemplo, harina de sangre, harina de metales, harina de huesos y harina de pescado; un azúcar o leche, por ejemplo, un ingrediente seco compuesto de una variedad de leche en polvo y suero de leche en polvo. Además, puede contener además un suplemento nutricional, un agente que mejore la digestión y absorción, un agente que promueva el crecimiento, etc.

El aditivo para piensos se puede administrar a un animal solo o en combinación con otros aditivos para piensos en un portador comestible. Además, el aditivo para piensos se puede mezclar directamente con un pienso para animales como aderezo o se puede administrar fácilmente a un animal como una forma de dosificación oral por separado del pienso. Cuando el aditivo para piensos se administra por separado de un pienso para animales, se puede preparar en una formulación de liberación inmediata o de liberación sostenida en combinación con un portador comestible farmacéuticamente aceptable como es bien conocido en la técnica. El portador comestible puede ser sólido o líquido, tal como almidón de maíz, lactosa, sacarosa, copos de soja, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo y propilenglicol. Si se utiliza un portador sólido, el aditivo para pienso puede estar en forma de un comprimido, una cápsula, un polvo, una pastilla, un comprimido recubierto de azúcar o un aderezo. Si se utiliza un portador líquido, el aditivo para piensos puede estar en forma de una cápsula de gelatina blanda, un jarabe, una suspensión, una emulsión o una solución.

Además, el aditivo para piensos y el pienso pueden contener un adyuvante, por ejemplo, un conservante, un estabilizador, un agente humectante o emulsionante, un promotor de solubilización, etc. El aditivo para piensos puede añadirse a un pienso animal mediante aspersión o mezcla.

5 El pienso o aditivo para piensos de la presente divulgación se puede proporcionar a una gran cantidad de animales, incluidos mamíferos, aves de corral y peces.

El mamífero puede incluir cerdo, vaca, oveja, cabra, roedores de laboratorio y mascotas (por ejemplo, perro y gato). Las aves pueden incluir pollo, pavo, pato, ganso, faisán, codorniz, etc., y el pescado puede incluir trucha, etc., aunque sin limitarse a ellos.

10 En una realización de ejemplo, el pienso o aditivo para piensos se puede utilizar para promover el crecimiento del pelo de las mascotas. La mascota incluye, perro, gato, rata, conejo, etc., aunque sin limitarse a ellos.

Además, cuando la composición se usa como una composición cosmética, la composición cosmética se puede formular en una composición externa para la piel o un limpiador del cuero cabelludo, aunque sin limitarse particularmente a ello. La composición externa para la piel puede ser, por ejemplo, una loción suavizante, una loción nutritiva, una crema de masaje, una crema nutritiva, un paquete o un gel, y puede ser una formulación para administración transdérmica tal como una loción, un ungüento, un gel, una crema, un parche o un aspersor. El limpiador del cuero cabelludo puede formularse, por ejemplo, como un aspersor para el cabello, un tónico para el cabello, un acondicionador para el cabello, una esencia para el cabello, una loción para el cabello, una loción nutritiva para el cabello, un champú para el cabello, un enjuague para el cabello, un tratamiento para el cabello, una crema para el cabello, una crema nutritiva para el cabello, una crema hidratante para el cabello, una crema para masaje para el cabello, una cera para el cabello, un aerosol para el cabello, un paquete para el cabello, un paquete nutritivo el cabello, un jabón para el cabello, una espuma limpiadora para el cabello, un tinte para el cabello, un agente ondulador para el cabello, un decolorante para el cabello, un gel para el cabello, un esmalte para el cabello o una espuma para el cabello, aunque sin limitarse a los mismos. En la composición externa de las respectivas formulaciones, ingredientes distintos de la cepa *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 seleccionada por las personas experimentadas en la técnica se puede añadir sin dificultad dependiendo de la formulación o uso de la composición externa.

Específicamente, la composición cosmética de la presente divulgación contiene un medio o base cosméticamente aceptable. Puede proporcionarse como todas las formulaciones posibles adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, una solución, un gel, una pasta sólida o anhidra, una emulsión obtenida dispersando una fase oleosa en una fase acuosa, una suspensión, una microemulsión, microcápsula, una microgránulo, una dispersión vesicular iónica (liposoma) y/o no iónica, una crema, una loción para la piel, un polvo, un ungüento, un aspersor o una barra correctora. Además, también se puede preparar en forma de una espuma o composición de aerosol que contenga además un propulsor comprimido. Además, la composición cosmética de la presente divulgación se puede preparar en un adyuvante que se puede aplicar tópica o sistemáticamente, que se usa comúnmente en el campo dermatológico, al incluir un medio o base dermatológicamente aceptable, y estas composiciones se pueden preparar de acuerdo con los métodos comunes en la técnica.

Además, la presente divulgación de la composición cosmética puede contener un adyuvante comúnmente utilizado en el campo dermatológico, tal como una sustancia grasa, un disolvente orgánico, un agente solubilizante, un espesante, un agente gelificante, un suavizante, un antioxidante, un agente suspensor, un estabilizador, un agente espumante, un odorante, un tensioactivo, agua, un agente emulsionante iónico o no iónico, un agente de relleno, un agente secuestrador de iones metálicos, un agente quelante, un conservante, una vitamina, un bloqueador, un agente humectante, un aceite esencial, un colorante, un pigmento, un activador hidrófilo o lipófilo, una vesícula lipídica o cualquier otro ingrediente comúnmente utilizado en cosmética. Estos adyuvantes se incorporan en cantidades habitualmente utilizadas en el campo cosmético.

La cantidad del *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 contenida en la composición de acuerdo con la presente divulgación puede ser de aproximadamente 10^6 a 10^{12} CFU/g, por ejemplo, 10^7 a 10^{11} CFU/g o 10^8 a 10^{10} CFU/g, con base en una dosis única. Específicamente, la cepa puede administrarse como bacteria viva y puede matarse o atenuarse antes de la ingesta. Además, se puede realizar adicionalmente un proceso de esterilización mediante tratamiento térmico cuando la composición se prepara usando un sobrenadante de cultivo, etc. La cantidad de cepa requerida para lograr un efecto mínimo y la dosis diaria de la misma pueden variar dependiendo de la condición física o de salud de un paciente. Generalmente la dosis diaria puede ser de aproximadamente 10^6 a 10^{12} CFU/g, por ejemplo, 10^7 a 10^{11} CFU/g o 10^8 a 10^{10} CFU/g.

Las ventajas y características y los métodos para lograr las mismas resultarán evidentes mediante los siguientes ejemplos descritos en detalle. Sin embargo, la presente divulgación no se limita a los ejemplos establecidos a continuación, sino que puede realizarse de muchas formas diferentes. Los ejemplos se proporcionan de manera que la divulgación de la presente divulgación sea completa y se proporcionan para informar completamente el alcance de la invención a aquellos que tienen conocimientos habituales en la técnica a la que pertenece la presente divulgación. El alcance de la presente divulgación sólo estará definido por las reivindicaciones adjuntas.

[Efectos ventajosos]

Porque el *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 de acuerdo con la presente divulgación exhibe una actividad para promover el crecimiento del cabello, se puede utilizar de diversas formas como probiótico para usos tales como regulación intestinal, mejora de la inmunidad, promoción del crecimiento del cabello, etc. en humanos o animales. Además, puede utilizarse como iniciador de la fermentación.

5 [Breve descripción de los dibujos]

La figura 1 muestra el resultado de observar a simple vista el patrón de crecimiento del pelo de ratones alimentados con la cepa de la presente divulgación durante 30 días.

La figura 2 muestra el tejido de la piel de un ratón alimentado con la cepa de la presente divulgación y un resultado que mide el grosor de la piel.

10 La figura 3 muestra el resultado de medir el número de folículos pilosos en el tejido subcutáneo de un ratón alimentado con la cepa de la presente divulgación.

La figura 4 muestra el resultado de observar el patrón de crecimiento del pelo de un ratón alimentado con la cepa de la presente divulgación durante 20 semanas e identificar el anágeno.

15 La figura 5 muestra un resultado de confirmar la distribución de células madre foliculares de un ratón alimentado con la cepa de la presente divulgación mediante análisis FACS.

[Mejor modelo]

De aquí en adelante, la presente divulgación se describirá en detalle mediante ejemplos. Sin embargo, los siguientes ejemplos tienen solo fines ilustrativos y el alcance de la presente divulgación no está limitado por los ejemplos.

[Ejemplos]

20 Ejemplo 1: Aislamiento e identificación de cepa

Se recolectó y cultivó en caldo MRS una única colonia bacteriana obtenida frotando un extracto líquido crudo de kimchi en medio de cultivo MRS. El ADN se extrajo utilizando el QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Alemania). El ADN extraído se confirmó utilizando gel de agarosa al 1 %. La PCR se realizó utilizando el ADN genómico extraído como plantilla para amplificar el gen ADNr 16S. La condición de la PCR fue de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 1 minuto, hibridación a 45 °C durante 1 minuto y extensión a 72 °C durante 1 minuto y 30 segundos. La secuencia del producto de PCR obtenido fue analizada por Macrogen (Seúl, Corea). La identificación bacteriana se realizó mediante análisis de similitud del motor de búsqueda de la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov) de la secuencia de ADNr 16S.

30 Como resultado del análisis de la secuencia de bases del ADNr 16S para la identificación de microorganismos, se encontró que la cepa aislada en este ejemplo tenía una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 1.

El microorganismo de la presente divulgación fue denominado *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 y depositado el 7 de abril de 2017 en el Centro de Cultivo de Microorganismos de Corea (número de acceso: KCCM12011P).

SEQ ID NO: 1. Secuencia de ADNr 16S de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55

ACATGCAAGTGAACGCACCTCTCGTTAGATTGAAGAAGCTTGCTTCTGATTGATAACATTTGAGTGAGTGGCGGACG
GGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTAAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAAAACT
AGCACCGCATGGTGCAAGGTTGAAAGATGGTTTCGGCTATCACTTTAGGATGGACCCCGGTGCATTAGTTAGTTGG
TGAGGTAAAGGCTCACCAAGACCGTGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGG
CCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACCGCGGTGAGT
GAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTGTGGAGAAGAACGTATTTGATAGTAACGTATCAGGTAGTGACGGT
ATCCAAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGGTTGTCCGGATTTA
TTGGCGTAAAGCGAGCGCAGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAAACGAAGAAGTGCATCGGA
AACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATCGGTAGATATATGGAAGAAC
ACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCAAAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCGGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCAT
TAAGCACTCCGCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTAAATCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTT
TCCCTTCGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGAAGCAGTCAAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGT
CGCGAGACCGGAGGTTAGCTAATCTCTTAAACCATTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCTACATGAA
GCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTGTACACACCGCCGTCACA
CCATGAAGAGTTTGTAAACACCAAAAGCCGGGTGAGGTAACCTTCGGGAGCCAGCGCTCTAAGG

Ejemplo 2: Confirmación del efecto promotor sobre el crecimiento del cabello de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55

El *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 aislada en el Ejemplo 1 se cultivó en medio MRS a 30 ° C durante 24 horas, y las bacterias cultivadas se centrifugaron a 8,000 rpm durante 5 minutos y luego se lavaron con PBS para eliminar los componentes restantes del medio. Luego, se cuantificó el número de bacterias en 1×10^{10} CFU/ml usando PBS y 0.2 ml (2×10^9 CFU) se administró por vía oral a los animales de prueba, cinco veces por semana, utilizando una sonda. Se administró PBS estéril a los grupos de control negativo y positivo.

1) Evaluación sensorial

Se alojaron ratones de 6 semanas de edad (C57/BL6) antes de la fase telógena en la sala de cría durante una semana y se les eliminó el pelo de la espalda utilizando un aparato de depilación para animales. Luego, después de administrar *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 durante 30 días, se evaluó el patrón de crecimiento del pelo mediante evaluación visual clínica.

Como resultado, el grupo alimentado con el *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 (WIKIM55) mostró un crecimiento de pelo más rápido en comparación con el grupo de control alimentado con PBS (PBS), como se muestra en la figura 1.

2) Medición del espesor de la piel

El pelo repite el crecimiento y la caída a lo largo del ciclo capilar. Se sabe que, durante la fase anágena, cuando el pelo crece, la capa de piel se vuelve más gruesa y los folículos pilosos existen principalmente en la capa subcutánea de la piel. Así, se investigaron el tejido de la piel y el grosor de la piel 30 días después de la eliminación del pelo de los ratones (figura 2).

Como resultado, el grosor de la piel del grupo tratado con PBS fue de 393.28 μ m, mientras que el grupo alimentado con *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 tenía un espesor de piel de 670.95 μ m. También se confirmó que la mayoría de los folículos pilosos estaban presentes en la capa subcutánea. A través de esto, se confirmó que la mayoría de los folículos pilosos del grupo alimentados con *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 estaban en la fase anágena.

3) Medición del número de folículos pilosos en el tejido subcutáneo

El número de folículos pilosos en el tejido subcutáneo se midió 30 días después de que se eliminara el pelo de los ratones.

Como resultado, el número de folículos pilosos fue significativamente mayor en el grupo alimentado con *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 que el grupo tratado con PBS, como se muestra en la figura 3.

5 Ejemplo 3: Confirmación del efecto promotor sobre el crecimiento del cabello de *Lactobacillus curvatus* WIKIM55

El *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 aislada en el Ejemplo 1 se cultivó en medio MRS a 30 ° C durante 24 horas, y las bacterias cultivadas se centrifugaron a 8,000 rpm durante 5 minutos y luego se lavaron con PBS para eliminar los componentes restantes del medio. Luego, se cuantificó el número de bacterias en 1×10^{10} CFU/ml usando PBS y 0.2 ml (2×10^9 CFU) se administró por vía oral a los animales de prueba, cinco veces por semana, utilizando una sonda. Se administró PBS estéril a los grupos de control negativo y positivo.

1) Evaluación sensorial

Se alojaron ratones de 6 semanas de edad (C57/BL6) antes de la fase telógena en la sala de cría durante una semana y se les eliminó el pelo de la espalda utilizando un aparato de depilación para animales. Después de administrar por vía oral *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 durante 20 semanas, el patrón de crecimiento del pelo se evaluó mediante evaluación visual clínica.

Como se muestra en la figura 4, mientras que el grupo de control (PBS) alimentado con PBS tuvo la fase anágena después de aproximadamente 7 semanas de la fase de reposo, el grupo alimentado con el *Lactobacillus curvatus* cepa WIKIM55 (WIKIM55) cambió a la fase anágena después de aproximadamente 2-3 semanas de la fase de reposo, lo que provocó un crecimiento del pelo más rápido.

2) Confirmación de la distribución de células madre del folículo piloso

Para comparar la distribución de células madre del folículo piloso de los ratones del grupo control (PBS) y del grupo alimentado con *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 durante 20 semanas (WIKIM55), se extirpó el tejido de la piel de la espalda. Después de eliminar la grasa subcutánea del tejido extirpado y luego lavar con solución salina regulada con fosfato (PBS), el tejido se colocó en medio de cultivo RPM11640 que contenía 4 mg/ml de colagenasa IV, 2 mg/ml de hialuronidasa y 100 U/ml de ADNasa I y células madre del folículo piloso se aislaron del tejido de la piel utilizando el disociador gentleMACS (Miltenyibiotec, Alemania). Se realizó un análisis FACS (clasificación de células activadas por fluorescencia) para investigar la distribución de las células madre del folículo piloso. Los antígenos verificados mostraron las características inmunológicas de CD45-CD34 + CD49f+. Se lavaron 1×10^5 células aisladas del tejido de la piel con una solución de PBS que contenía FBS al 2 % y se dejaron reaccionar a temperatura ambiente con anticuerpos para los antígenos respectivos. La expresión de los antígenos se confirmó mediante citometría de flujo.

Como puede verse en la figura 5, se confirmó que se distribuyeron más células madre del folículo piloso que mostraban las características inmunológicas de CD34+ CD49f+ en el tejido de la piel del grupo alimentado con WIKIM55 en comparación con el grupo de control (PBS, sin tratamiento previo). Debido a que las células madre del folículo piloso participan en el crecimiento de cabello nuevo, se cree que la ingesta de WIKIM55 aumentará el crecimiento del cabello al producir células madre del folículo piloso.

REIVINDICACIONES

1. *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 está depositado con el número de acceso KCCM12011P.
2. Una composición farmacéutica para promover el crecimiento del cabello, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
- 5 3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la composición promueve el crecimiento del cabello aumentando el número de folículos pilosos en la fase anágena.
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la composición es una composición farmacéutica que se administra por vía oral.
- 10 5. Una composición alimenticia para promover el crecimiento del cabello, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
6. La composición alimenticia de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la composición promueve el crecimiento del cabello aumentando el número de folículos pilosos en la fase anágena.
7. La composición alimenticia de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el alimento es un alimento funcional.
- 15 8. La composición alimenticia de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el alimento es una bebida, una barra o una leche fermentada.
9. Una composición para mejorar la inmunidad, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
10. Una composición de regulación intestinal, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
- 20 11. Un iniciador de bacterias del ácido láctico para la fermentación, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P un cultivo de este.
12. Un pienso o aditivo para piensos, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
- 25 13. Una composición cosmética para promover el crecimiento del cabello, que comprende *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P o un cultivo de este.
14. Un uso cosmético del *Lactobacillus curvatus* WIKIM55 depositado con el número de acceso KCCM12011P, cepa para promover el crecimiento del cabello.

FIG. 1

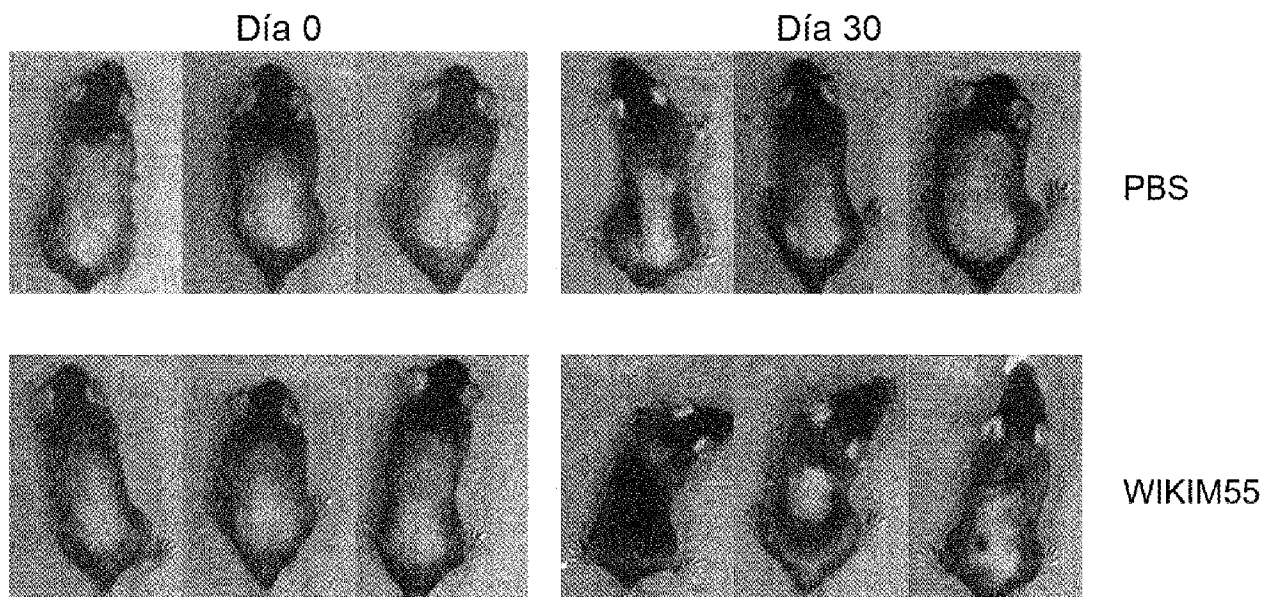


FIG. 2

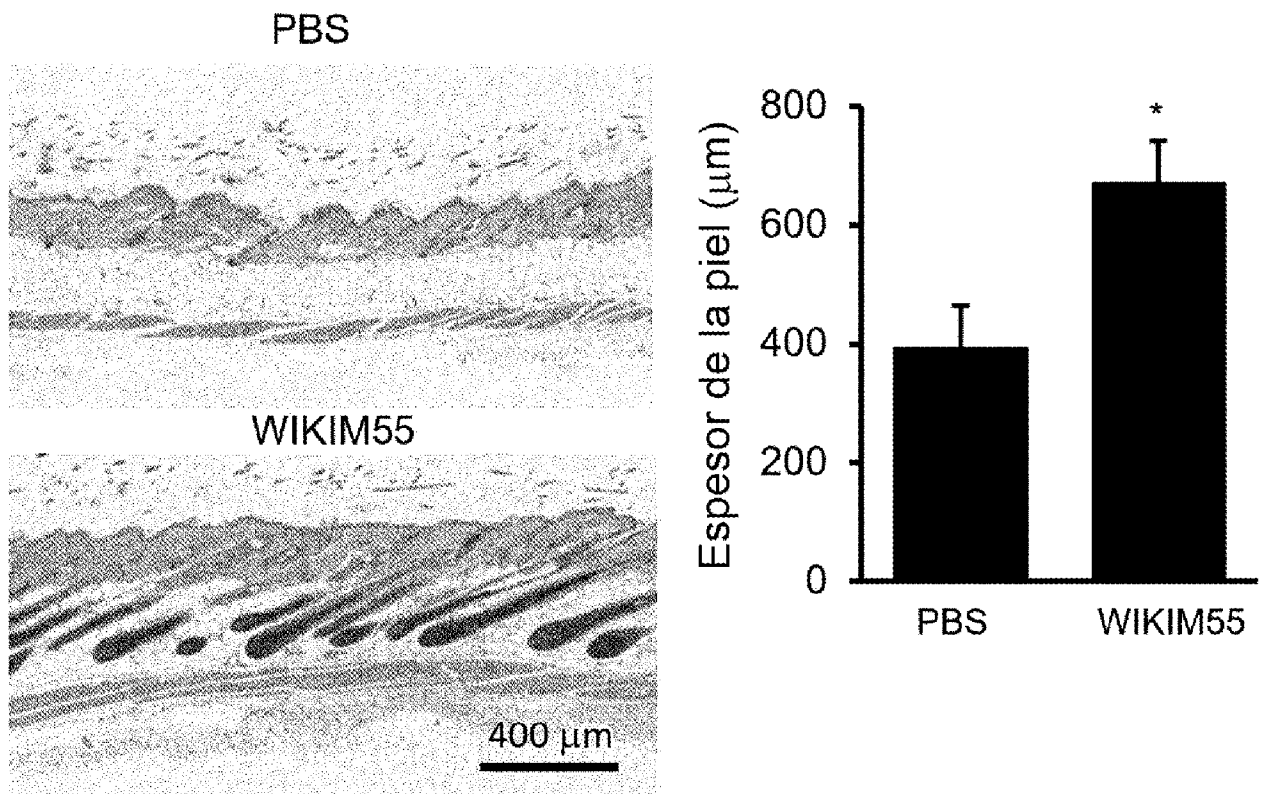


FIG. 3

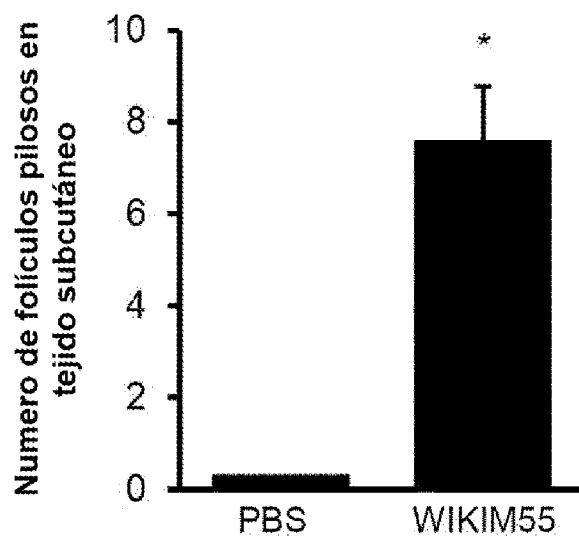


FIG. 4

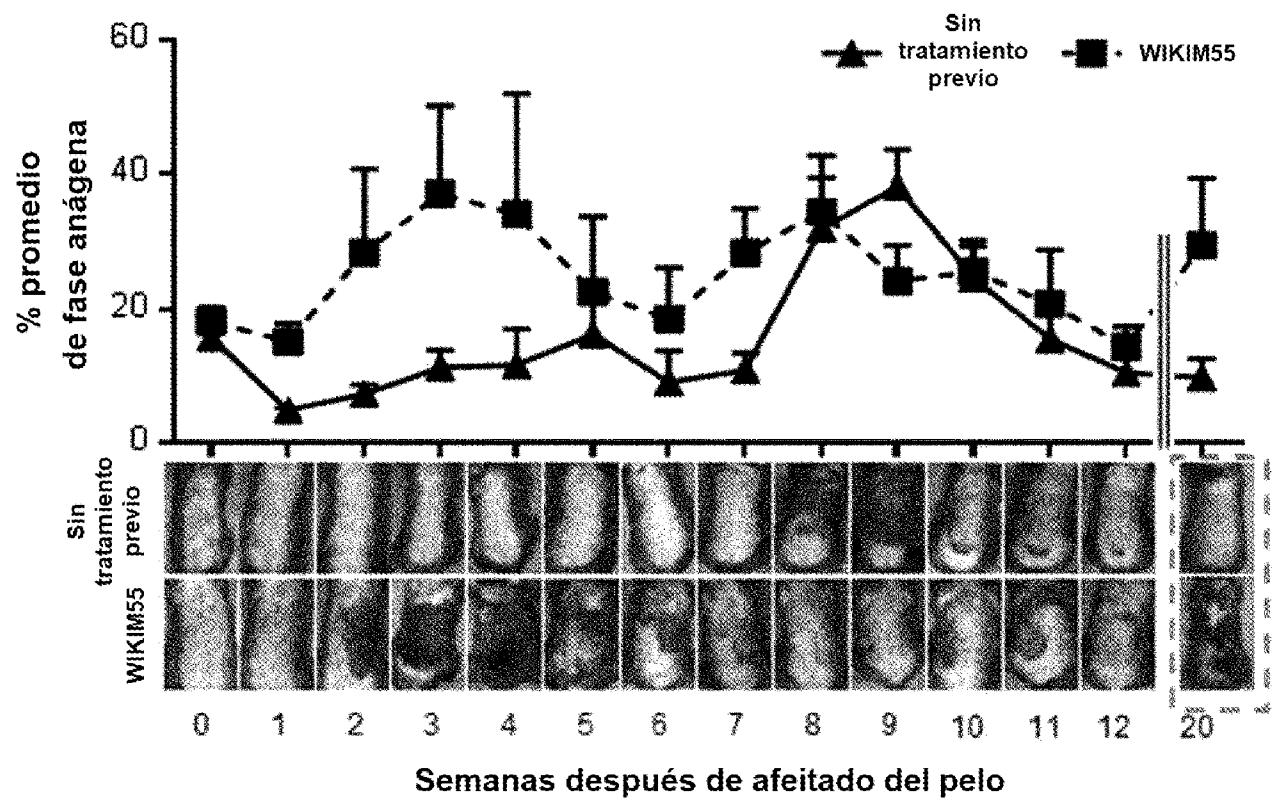


FIG. 5

