



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 629**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/98** (2006.01)

**A61K 35/20** (2006.01)

**A61K 35/74** (2006.01)

**A61P 17/16** (2006.01)

**A23C 21/02** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04807687 .1**

96 Fecha de presentación : **24.12.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1698320**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Método para hidratar la piel.**

30 Prioridad: **25.12.2003 JP 2003-429243**  
**05.11.2004 JP 2004-322587**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**07.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**07.06.2011**

73 Titular/es: **CALPIS Co., Ltd.**  
**4-1, Ebisu-Minami 2-chome**  
**Shibuya-ku, Tokyo 150-0022, JP**

72 Inventor/es: **Yosimura, Chiaki y**  
**Masuyama, Akihiro**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 360 629 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

Método para hidratar la piel

5 La presente invención se refiere a métodos para hidratar la piel, promover la síntesis de filagrina y remediar la piel seca según las reivindicaciones 1-3.

10 Se sabe que la manifestación de un efecto hidratante para promover la retención de la humedad en los tejidos de la piel incluye la retención de la humedad en la capa corneal de la epidermis mediante el aumento de lo que se llama factores hidratantes naturales, que están compuestos principalmente de aminoácidos particulares; la retención de la humedad en los corneocitos por el aumento de los lípidos intercelulares, que actúan como una barrera para retener la humedad en la capa corneal; la prevención de la eliminación por lavado de los factores hidratantes naturales; y similares. Los aminoácidos que constituyen la parte esencial de los factores hidratantes naturales son suministrados por la digestión de la filagrina, que es una proteína producida por los queratinocitos epidérmicos. Por tanto, la promoción de la producción de filagrina juega un importante papel en la manifestación del efecto hidratante. Por otra parte, los lípidos intercelulares, que incluyen diversos lípidos, son generados por varias reacciones enzimáticas en la epidermis. Entre otras, es particularmente importante la generación de ceramida, en donde la formación de un esqueleto de esfingosina por la serina palmitoil transferasa juega un papel importante.

20 Hasta la fecha se han hecho muchas investigaciones en busca de componentes que tuvieran un efecto hidratante de la piel, particularmente en el campo de los cosméticos y preparaciones para la piel para uso externo. Por ejemplo, ha habido muchas propuestas de añadir suero de leche fermentada o productos purificados del mismo a cosméticos o similares, con la expectativa de producir un efecto hidratante. Específicamente, las Publicaciones de Patente 1 y 2 enseñan que el uso externo de suero de leche fermentada produce un efecto hidratante. La Publicación de Patente 3 describe que una preparación para la piel para uso externo que contiene proteinasa y un sobrenadante de cultivo de bacterias del ácido láctico tiene un efecto hidratante, y se describe el *Lactobacillus helveticus* como un ejemplo de las bacterias del ácido láctico.

30 Sin embargo, no se encuentra ninguna descripción en ninguna referencia, incluyendo esta Publicación de Patente 3, de que esté confirmado un efecto hidratante en el uso externo real de suero de leche fermentado con *Lactobacillus helveticus*. La Publicación de Patente 4 describe que un cultivo o un metabolito de la cepa MIKI-020 de *Lactobacillus helveticus* (FERM P-13678) tiene un efecto inhibitorio de la melonogénesis y un efecto promotor de la colagenogénesis, pero esta referencia no dice nada acerca de un efecto hidratante.

35 Las Publicaciones de Patente 2 y 3 contienen además descripciones de que una preparación para la piel para uso externo que contiene suero de leche fermentada se puede usar para preparar alimentos y bebidas. Sin embargo, no hay ninguna indicación en cuanto a cómo se podría usar la preparación para la piel para uso externo para preparar alimentos y bebidas y qué efecto se produce mediante tal uso.

40 Aparte de suero de leche fermentada, ha habido algunas propuestas de componentes que producen un efecto hidratante, tanto por ingesta oral como por uso externo. Sin embargo, no se acepta, como regla común, que un componente del que se ha confirmado que tiene un efecto en una ruta deba exhibir el efecto similar también en la otra ruta. Hay muchos componentes que no tienen efectos comparables en ambas rutas.

45 Publicación de Patente 1: JP-2001-31557-A

Publicación de Patente 2: JP-11-228339-A

50 Publicación de Patente 3: WO-01-019324-A

Publicación de Patente 4: JP-2002-80340-A

55 Se describen composiciones cosméticas tópicas para hidratar la piel que incluyen leche fermentada con *Lactobacillus spp.* en la patente de EE.UU. 4.524.136.

Se describen composiciones que promueven la síntesis de filagrina en la solicitud de patente internacional WO 99/47117.

60 Según la presente invención, se proporciona un método para hidratar la piel que comprende administrar por vía oral suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus* a un individuo.

65 El componente activo del hidratante de la piel para la ingesta oral y los alimentos y bebidas funcionales que contienen el hidratante acorde con la presente invención es suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus*, del cual se ha confirmado su seguridad por ingesta oral. Así, se puede conseguir un excelente efecto hidratante por la ruta oral con seguridad, y se puede esperar que una ingesta continua proporcione la supresión de la sequedad de la piel causada por el cambio de estaciones o el clima, y una mejora en las condiciones de la piel.

La presente invención será explicada ahora en detalle.

5 El hidratante de la piel para ingesta oral acorde con los métodos de la presente invención contiene, como componente activo, suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus*.

10 Se prefiere usar una cepa de *Lactobacillus helveticus* que tenga una alta actividad de proteinasa extracelular. Por ejemplo, se prefieren cepas que tengan un valor U/OD590 no menor que 400, medido de acuerdo con el método de Yamamoto et al. (Yamamoto et al., J. Biochem (1993) 114, 740) basado en el método de Twining et al. (Twining, S., Anal. Biochem. 143 3410 (1984)).

Específicamente, se pueden usar cepas de *Lactobacillus helveticus* que tengan las siguientes propiedades bacteriológicas:

15 Propiedades bacteriológicas

1. Propiedades morfológicas

2.

- 20 1) Forma de la célula: bastón  
 2) Motilidad: ninguna  
 3) Formación de esporas: ninguna  
 4) Tinción de Gram: positiva  
 25 5) Tinción de Gram: positiva  
 6) Tinción de Gram: positiva  
 7) Tinción de Gram: positiva  
 8) Tinción de Gram: positiva

3. Propiedades fisiológicas

4.

- 30 1) Producción de catalasa: negativo  
 2) Producción de indol: negativo  
 3) Producción de indol: negativo  
 4) Reducción de nitrato: negativo  
 35 5) Reducción de nitrato: negativo  
 6) Crecimiento aeróbico: anaeróbico facultativo  
 7) Crecimiento aeróbico: anaeróbico facultativo  
 8) Formación de DL (-) ácido láctico a partir de glucosa por fermentación homoláctica sin formación de gases  
 40 9) Formación de DL (-) ácido láctico a partir de glucosa por fermentación homoláctica sin formación de gases  
 10) Degradación de carbohidratos:  
 11) Degradación de carbohidratos:  
 12) glucosa: +  
 45 lactosa: +  
 manosa: +  
 fructosa: +  
 50 galactosa: +  
 sacarosa: -  
 maltosa: -  
 55 xilosa: -  
 ramnosa: -  
 celobiosa: -  
 60 trehalosa: -  
 melibiosa: -  
 65 rafinosa: -

estaquiosa: -

manitol: -

sorbitol: -

esculina: -

salicina: -

Un ejemplo de tales cepas preferidas de *Lactobacillus helveticus* es el *Lactobacillus helveticus* CM-4 (depositada en el Depositario de Organismos de Patentes Internacionales, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada, Tsukuba Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba-shi, Ibaraki, Japón, bajo el número de accesión FERM BP-6060 el 15 de agosto de 1997) (denominada en la presente memoria CM-4 en lo sucesivo). La cepa CM-4 ha sido depositada bajo el número de accesión mencionado anteriormente bajo el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los Fines del Proce- dimiento en Materia de Patentes, y ya ha sido patentada.

El suero de leche fermentada se puede obtener añadiendo un iniciador de leche fermentada que contiene *Lactobacillus helveticus* a leche, seleccionando adecuadamente las condiciones de fermentación, tales como la temperatura, y fermentando la leche bajo las condiciones seleccionadas.

El suero de leche fermentada, como componente activo, se puede obtener separando el suero de la leche fermentada resultante mediante un procedimiento de separación habitual, tal como centrifugación o filtración. Se puede usar la leche fermentada *per se* sin separación, o el suero separado, con o sin fraccionamiento, concentración, purificación o similares adecuados, o el suero o su concentrado pueden ser convertidos en polvo por liofilización o secado por rociado.

El *Lactobacillus helveticus* está preferiblemente en la forma de un iniciador precultivado que tiene una actividad suficientemente alta. El recuento de células iniciales puede ser, preferiblemente, aproximadamente  $10^5$ - $10^9$  células/ml.

El suero de leche fermentada como componente activo también se puede obtener por cofermentación con *Lactobacillus helveticus* y una levadura, para mejorar el sabor y la palatabilidad, cuando el suero de leche fermentada sea para ser usado en alimentos y bebidas funcionales, tales como alimentos para usos saludables especi- ficados. La cepa de la levadura no está particularmente limitada, y preferiblemente puede ser, por ejemplo, una levadura del género *Saccharomyces*, tal como *Saccha- romyces cerevisiae*. El contenido de la levadura se puede seleccionar adecuadamente dependiendo del propósito.

La leche del material de partida puede ser, por ejemplo, leche animal, tal como leche de vaca, leche de caballo, leche de oveja o leche de cabra; leche vegetal, tal como leche de soja; o leche procesada de las mismas, tal como leche desnatada, leche reconstituida, leche en polvo o leche condensada. Entre estas, la leche de vaca, la leche de soja y leche procesada de las mismas son las preferidas, siendo la leche de vaca y su leche procesada particularmente preferidas.

El contenido en sólidos de la leche no está limitado particularmente, y, por ejemplo, para la leche desnatada, el contenido en sólidos no grasos puede ser, usualmente, aproximadamente 3 a 15% en peso, y puede ser 6 a 15% en peso a la luz de la productividad.

La fermentación se puede realizar usualmente por cultivo estático o agitado, por ejemplo de 25 a 45°C, preferiblemente 30 a 45°C, durante 3 a 72 horas, preferible- mente 12 a 36 horas, y la fermentación puede ser terminada cuando la acidez de ácido láctico alcance 1,5 o superior.

El hidratante acorde con los métodos de la presente invención puede contener opcionalmente, además del componente activo, suero de leche fermentada, otros componentes convencionales que tengan un efecto hidratante, y diversos aditivos, tales como excipientes, dependiendo de su forma.

El componente activo esencial del hidratante acorde con los métodos de la presente invención es el suero de leche fermentada, y su dosificación oral se puede seleccionar adecuadamente para que se pueda conseguir un efecto deseado, teniendo en consideración la duración de la ingesta, la continuidad, o factores similares. La dosis diaria es usualmente 1 a 1000 ml del suero de leche fermentada por persona, preferiblemente 10 a 200 ml por persona.

El hidratante acorde con los métodos de la presente invención puede ser tomado incluso después de que se desarrollen los síntomas, tales como la disminución en la humedad de la piel, o en las estaciones para prevenir tales síntomas, bien diariamente de manera continua o bien intermitentemente.

Los alimentos y bebidas funcionales acordes con la presente invención son alimentos y bebidas que contienen el presente hidratante, y pueden ser proporciona- dos, por ejemplo, como alimentos para usos saludables específicos que

afirmen proporcionar prevención o mejora con respecto a la retención de la humedad.

Los alimentos y bebidas funcionales presentes pueden contener opcionalmente aditivos, tales como azúcares, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales, agentes aroma- tizantes o mezclas de los mismos. Además, los componentes de la leche de los cuales es separado el suero de leche fermentada también pueden estar contenidos.

En los alimentos y bebidas funcionales acordes con la presente invención, el contenido del presente hidratante se puede seleccionar adecuadamente dependiendo de la forma o tipo de los alimentos y bebidas. El contenido se puede seleccionar adecuadamente dependiendo también de la continuidad de la ingesta de los alimentos y bebidas funcionales o factores similares, y no está limitado particularmente. Un contenido adecuado puede ser usualmente 0,1 a 100% en peso, preferiblemente 10 a 90% en peso en términos del componente activo, suero de leche fermentada.

Los alimentos y bebidas funcionales pueden estar en la forma de, por ejemplo, productos lácteos fermentados, tales como yogur o bebidas con bacterias del ácido láctico, diversos alimentos y bebidas procesados que contienen el suero de leche fermentada o un concentrado de los mismos, polvos secos, comprimidos, cápsulas, gránulos o similares.

La dosis y la duración de la ingesta de los alimentos y bebidas funcionales de la presente invención no están limitados particularmente, y se prefiere tomar los alimentos y bebidas funcionales en una cantidad tal que se consiga generalmente la dosis del componente activo mencionada anteriormente. Por ejemplo, los presentes alimentos y bebidas funcionales pueden ser tomados de manera continua o intermitentemente, antes o después de la exposición al entorno que requiere la hidratación de la piel.

La presente invención será explicada ahora en más detalle con referencia a los ejemplos, que son ilustrativos solamente y no pretenden limitar la presente invención.

#### **Ejemplo 1 y Ejemplos Comparativos 1 a 2**

(Preparación de suero de leche fermentada y disolución acuosa de ácido láctico)

Un medio lácteo compuesto de leche desnatada con un contenido en sólidos de 9% en peso fue inoculado con un 3% de iniciador CM-4 (recuento de células:  $5 \times 10^8$  células/ml), y se fermentó bajo condiciones estáticas a 37°C durante 24 horas para obtener una leche fermentada. La leche fermentada se centrifugó a 12000 G durante 20 minutos, y el precipitado se retiró para obtener de este modo suero de leche fermentada (denominado en la presente memoria suero de leche fermentada (A) en lo sucesivo).

Para comparación, se preparó una disolución acuosa de ácido láctico al 2,67% en peso (denominada en la presente memoria disolución acuosa de ácido láctico (a) en lo sucesivo) (Ejemplo Comparativo 1).

(Evaluación de la capacidad para promover la síntesis de SPT y filagrina)

(1) Se cultivaron células epidérmicas (queratinocitos humanos normales, fabricados por KURABO INDUSTRIES LTD.) en HuMedia-KG2 (nombre comercial, fabricado por KURABO INDUSTRIES LTD.), y se sometieron a los ensayos. Se sembró una placa de cultivo de 35 mm con las células epidérmicas a una concentración de células de  $5 \times 10^5$  células por placa, y se sometió a cultivo durante 24 horas. Después, el medio se reemplazó por un mismo medio que contenía suero de leche fermentada (A) o disolución acuosa de ácido láctico (a) a una concentración mostrada en la Tabla 1, y se fermentó adicionalmente durante 24 horas.

(2) Después del cultivo, las células se lavaron con PBS (-), y se lisaron con 500  $\mu$ l por placa de reactivo TRIzol (nombre comercial, fabricado por Gibco BRL). Se añadieron 100  $\mu$ l por placa de cloroformo y se mezcló concienzudamente. La fase acuosa sobrenadante se recuperó por centrifugación, y los ARNs fueron precipitados con 2-propanol para obtener los ARNs totales. Los ARNs totales obtenidos se lavaron con etanol frío al 75%, y se disolvieron en agua tratada con pirocarbonato de dietilo (DEPC).

(3) Se sometió 1  $\mu$ g de los ARNs disueltos en el agua tratada con DEPC a RT-PCR usando un kit RT-PCR de una etapa (nombre comercial, fabricado por Qiagen) de acuerdo con su protocolo, bajo las condiciones y con los cebadores mostrados en la Tabla 2, para transcribir a la inversa y amplificar el ADNc correspondiente a ARNm de la serina palmitoil transferasa (SPT), ARNm de filagrina, o ARN de ciclofilina.

(4) Después de la reacción, el producto de reacción fue fraccionado mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. El gel de electroforesis se tiñó con bromuro de etidio, y se fotografió bajo irradiación UV en un transiluminador, para determinar la intensidad de banda.

(5) La intensidad de la banda derivada de ARNm de SPT o de ARNm de filagrina fue normalizada dividiendo la misma por la intensidad de la banda derivada del ARNm de ciclofilina, que se cree que es generado en la misma cantidad en cualquier célula, y el valor obtenido se expresó en un valor relativo con respecto al valor obtenido para 0% de concentración del suero de leche fermentada en el medio en el párrafo (1) anterior (control), que se tomó como 100. El

ensayo se realizó dos veces. Los resultados de cada ensayo se muestran en la Tabla 1.

- 5 (6) Independientemente, se cultivaron las células epidérmicas en un medio HuMedia-KG2 que contenía suero de leche fermentada (A) o disolución acuosa de ácido láctico (a) a diversas concentraciones obtenidas por dilución en serie, y se determinó la concentración máxima en el medio del suero de leche fermentada (A) o disolución acuosa de ácido láctico (a) que no exhibió citotoxicidad. La concentración máxima fue 1,25% para ambos casos.

Tabla 1

	Concentración (% en volumen)	Efecto sobre la expresión de ARNm de SPT de células epidérmicas humanas normales		Efecto sobre la expresión de ARNm de filagrina de células epidérmicas normales	
		1 <sup>er</sup> Ensayo	2 <sup>o</sup> Ensayo	1 <sup>er</sup> Ensayo	2 <sup>o</sup> Ensayo
Control	0	100	100	100	100
Ejemplo Comparativo 1 Disolución acuosa de ácido láctico (a)	0,63	91	111	15	132
	1,25	84	129	87	116
Ejemplo 1	0,63	153	171	509	196
Suero de leche fermentada (A)	1,25	156	154	543	168

Tabla 2

Gen	Secuencia	Condiciones de PCR	
		Temperatura (°C)	Ciclo
SPT	Sentido 5'-GAC GCT CAC AGC ATT GGC GC-3' Antisentido 5'-GGC CTG TCC AGT AGA GGT AC-3'	58	30
Filagrina	Sentido 5'-CAA GCA GAG AAA CAC GTA ATG AGG-3' Antisentido 5'-CGC ACT TGC TTT ACA GAT ATC AGA-3'	56	30
Ciclofilina	Sentido 5'-CCG GGT GAT CTT TGG-3' Antisentido 5'-GGC GAT GGC AAA GGG-3'	58	30

(Preparación de bebida que contiene suero de leche fermentada (A) y bebida que contiene suero de leche no fermentada)

5 Para hacer al suero de leche fermentada (A) preparado anteriormente adecuado para beber, se mezclaron 90 partes en peso de suero de leche fermentada (A), 0,25 partes en peso de agentes aromatizantes, 0,05 partes en peso de aspartamo y 9,70 partes en peso de agua para preparar una bebida que contenía suero de leche fermentada (A) (Ejemplo 1).

10 Para comparación, a la leche desnatada con un contenido en sólidos de 9% en peso usada anteriormente para la preparación de suero de leche fermentada (A), se le añadió ácido láctico hasta la acidez de 2,2%. La mezcla se centrifugó a 12000 G durante 20 minutos para retirar el sólido, preparando de este modo suero de leche no fermentada. Después, se mezclaron 90 partes en peso del suero de leche no fermentada obtenido, 0,25 partes en peso de agentes aromatizantes, 0,05 partes en peso de aspartamo y 9,70 partes en peso de agua para preparar una bebida que contenía suero de leche no fermentada (Ejemplo Comparativo 2).

15 (Evaluación en la ingesta oral)

20 En un grupo de treinta y dos jurados varones de 24 a 43 años de edad, con una edad media de 29,4 años de edad, se midió el contenido de humedad epidérmica en la mejilla derecha. Según los resultados, los jurados fueron divididos en dos grupos de 16 jurados cada uno, de tal modo que los dos grupos tuvieran aproximadamente la misma media de los valores medidos.

25 A uno de los grupos de jurados se le dio la bebida que contenía el suero de leche fermentada (A), y al otro se le dio la bebida que contenía suero de leche no fermentada, ambos en la cantidad de 150 g por día por persona, de manera continua durante tres semanas, y se hicieron las siguientes evaluaciones.

(Evaluación del contenido de humedad epidérmica)

30 Se midió en los jurados el contenido de humedad epidérmica en la mejilla derecha usando SKICON 200 (nombre comercial, fabricado por I.B.S. Co., Ltd.) antes y tres semanas después de la ingesta de la bebida respectiva. Las medidas se hicieron tres veces, y la media de los resultados se tomó como el contenido de humedad epidérmica de esa región. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

35 Los jurados de cada grupo fueron divididos en los de piel seca y los de piel normal, y los resultados antes y tres semanas después de la ingesta se muestran por separado en la Tabla 4.

Tabla 3

	Antes de la ingesta	Tres semanas después de la ingesta
	Media ± DE	Media ± DE
Bebida que contiene suero de leche fermentada (A) (Ejemplo 1)	128,8 ± 56,4	90,3 ± 76,7
Bebida que contiene suero de leche no fermentada (Ejemplo Comparativo 2)	117,5 ± 87,7	53,6 ± 35,5

unidad:  $\mu$ S

40

Tabla 4

		Antes de la ingesta	Tres semanas después de la ingesta
		Media ± DE	Media ± DE
Bebida que contiene suero de leche fermentada (A) (Ejemplo 1)	Piel seca	82,8 ± 30,2	85,3 ± 86,6
	Piel normal	169,0 ± 40,1	94,8 ± 72,7
Bebida que contiene suero de leche no fermentada (Ejemplo Comparativo 2)	Piel seca	69,4 ± 41,9	48,0 ± 28,1
	Piel normal	197,7 ± 87,0	62,9 ± 46,8

unidad:  $\mu$ S



5 A partir de la Tabla 3, se ve que el contenido de humedad de la piel disminuyó con el transcurso del tiempo comparado con el de antes de la ingesta oral, tanto en el Ejemplo 1 como en el Ejemplo Comparativo 2, lo que se estima que es debido al cambio de las estaciones. A la luz de esto, se ve que la tasa de reducción en el contenido de humedad de la piel es menor en el Ejemplo 1 que en el Ejemplo Comparativo 2. Se demuestra por tanto en este ensayo que la ingesta de la bebida que contiene suero de leche fermentada (A) inhibe la disminución del contenido de humedad epidérmica, es decir, proporciona un efecto hidratante de la piel.

10 A partir de la Tabla 4, se demuestra que se proporciona un efecto hidratante de la piel similar tanto para los que tienen la piel seca como los que tienen la piel normal.

### Ejemplo de referencia

15 (Preparación de crema)

20 3,00 partes en peso de 1,3-butilenglicol, 0,10 partes en peso de éster de p-hidroxibenzoato (metilparabeno), 40,00 partes en peso de polímero de carboxivinilo (nombre comercial Carbopol 980, fabricado por NIKKO CHEMICALS CO., LTD.) 5,00 partes en peso de suero de leche fermentada (A) y 25,90 partes en peso de agua se agitaron para su mezcla, se añadieron 12,00 partes en peso de una disolución acuosa de L-arginina al 10% en peso y 14,00 partes en peso de agua, y se mezclaron de manera homogénea para preparar una crema que contenía suero de leche fermentada (A) (denominada en la presente memoria crema que contiene el suero (A) en lo sucesivo).

25 Por otra parte, 3,00 partes en peso de 1,3-butilenglicol, 0,10 partes en peso de éster de p-hidroxibenzoato (metilparabeno), 40,00 partes en peso de polímero de carboxivinilo (nombre comercial Carbopol 980, fabricado por NIKKO CHEMICALS CO., LTD.) y 30,90 partes en peso de agua se agitaron para su mezcla, se añadieron 12,00 partes en peso de una disolución acuosa de L-arginina al 10% en peso y 14,00 partes en peso de agua, y se mezclaron de manera homogénea para preparar una crema sin suero de leche fermentada (denominada en la presente memoria crema comparativa en lo sucesivo).

30 (Evaluación mediante la aplicación)

35 En un grupo de quince jurados varones de 24 a 43 años de edad, con una edad media de 31,4 años de edad, se midió el contenido de humedad epidérmica en la mejilla derecha. Según los resultados, los jurados fueron divididos en dos grupos de 8 ó 7 jurados cada uno, de tal modo que los dos grupos tuvieran aproximadamente la misma media de los valores medidos.

40 A uno de los grupos de jurados se le aplicó la crema que contiene el suero (A), y al otro se le aplicó la crema comparativa, ambos en la mejilla derecha como se discutirá más adelante, dos veces al día, por la mañana y por la tarde, de manera continua durante tres semanas, y se hizo la siguiente evaluación.

(Evaluación del contenido de humedad epidérmica)

45 Se midió en los jurados el contenido de humedad epidérmica en la mejilla derecha usando SKICON 200 (nombre comercial, fabricado por I.B.S. Co., Ltd.) antes y tres semanas después de la aplicación de la crema respectiva. Las medidas se hicieron tres veces, y la media de los resultados se tomó como el contenido de humedad epidérmica de esa región. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

50

Tabla 5

	Antes de la aplicación	Tres semanas después de la aplicación
	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE
Crema que contiene el suero (A)	142,1 $\pm$ 100,3	72,4 $\pm$ 59,5
Crema Comparativa	144,9 $\pm$ 97,6	77,8 $\pm$ 46,9

55 A partir de la Tabla 5, se ve que el efecto inhibitorio sobre la disminución en el contenido de humedad epidérmica no se observó para la crema que contenía el suero (A), así como para la crema comparativa sin suero de leche fermentada (A). Se demuestra por tanto que el suero de leche fermentada (A) no produce un efecto hidratante mediante la aplicación sobre la piel.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un método para hidratar la piel, que comprende administrar por vía oral suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus* a un individuo, a condición de que el método sea no terapéutico.
- 10 2. Un método para promover la síntesis de filagrina, que comprende administrar por vía oral suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus* a un individuo, a condición de que el método sea no terapéutico.
- 15 3. Un método para remediar la piel seca, que comprende administrar por vía oral suero de leche fermentada obtenido por fermentación de leche con *Lactobacillus helveticus* a un individuo, a condición de que el método sea no terapéutico.
- 20 4. El método según la reivindicación 1, en el que dicho *Lactobacillus helveticus* es *Lactobacillus helveticus* CM-4 (depositado en el Depositario de Organismos de Patentes Internacionales, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada, bajo el número de accesión FERM BP-6060).
- 25 5. El método según la reivindicación 2, en el que dicho *Lactobacillus helveticus* es *Lactobacillus helveticus* CM-4 (depositado en el Depositario de Organismos de Patentes Internacionales, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada, bajo el número de accesión FERM BP-6060).
- 30 6. El método según la reivindicación 3, en el que dicho *Lactobacillus helveticus* es *Lactobacillus helveticus* CM-4 (depositado en el Depositario de Organismos de Patentes Internacionales, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada, bajo el número de accesión FERM BP-6060).