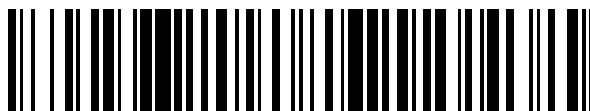


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 046**

51 Int. Cl.:

|                    |                              |           |
|--------------------|------------------------------|-----------|
| <b>A61K 31/198</b> | (2006.01) <b>A61Q 17/04</b>  | (2006.01) |
| <b>A61K 8/44</b>   | (2006.01) <b>A61Q 19/08</b>  | (2006.01) |
| <b>A61K 8/49</b>   | (2006.01) <b>A61K 9/00</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 17/00</b>  | (2006.01) <b>A61K 47/18</b>  | (2007.01) |
| <b>A61P 17/02</b>  | (2006.01) <b>A61K 9/107</b>  | (2006.01) |
| <b>A61P 17/04</b>  | (2006.01) <b>A61K 9/16</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 17/16</b>  | (2006.01) <b>A61K 9/20</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 27/12</b>  | (2006.01) <b>A61K 9/48</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 35/00</b>  | (2006.01) <b>A23L 33/175</b> | (2006.01) |
| <b>A61P 37/00</b>  | (2006.01)                    |           |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2010 PCT/JP2010/055648**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.10.2010 WO10113925**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2010 E 10758696 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.07.2017 EP 2415468**

54 Título: **Composiciones para aliviar los daños inducidos por la radiación ultravioleta**

30 Prioridad:

**30.03.2009 JP 2009083077**  
**30.03.2009 JP 2009083078**  
**25.09.2009 JP 2009220983**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.10.2017**

73 Titular/es:

**SHISEIDO COMPANY, LTD. (100.0%)**  
**5-5 Ginza 7-chome, Chuo-ku**  
**Tokyo 104-8010, JP**

72 Inventor/es:

**ASHIDA, YUTAKA;**  
**TOJO, YOSUKE;**  
**MITA, MASASHI;**  
**MIZUMOTO, CHIEKO;**  
**SHIMADA, SHOICHIRO y**  
**MATSUMOTO, HANAYO**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 638 046 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Composiciones para aliviar los daños inducidos por la radiación ultravioleta

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un método cosmético para mejorar los daños inducidos por la radiación ultravioleta, y el método cosmético comprende administrar uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales a un sujeto, en el que los daños inducidos por la radiación ultravioleta son las arrugas. La invención se refiere además a uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales para su uso para prevenir o tratar una enfermedad de la piel inducida por la radiación ultravioleta, así como para su uso para prevenir o tratar una catarata inducida por la radiación ultravioleta.

**10 Antecedentes de la técnica**

Los rayos ultravioletas se clasifican en rayos ultravioletas en la región de longitudes de onda largas, de más de aproximadamente 320 nm (UV-A), rayos ultravioletas en la región de longitudes de onda intermedias, de aproximadamente 320 a aproximadamente 280 nm (UV-B), y rayos ultravioletas en la región de longitudes de onda cortas, menores que aproximadamente 280 nm (UV-C). Entre estos, los UV-C no se incluyen en la luz solar que  
 15 alcanza el suelo, puesto que son absorbidos por la capa de ozono. Los UV-A no son absorbidos por la capa de ozono y son los rayos predominantes entre los rayos ultravioleta que alcanzan el suelo. Aunque los UV-B son parcialmente absorbidos por la capa de ozono, provocan daños en la piel a una dosis mil veces menor que los UV-A. Por consiguiente, tanto UV-A como UV-B son importantes como causa principal de daños en la piel. La bibliografía excluyente de patentes 1 describe enfermedades en las que están implicados los rayos ultravioleta, que incluyen  
 20 arrugas, eritema, xeroderma pigmentoso, dermatitis actínica crónica, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, melanoma maligno, enfermedad de Bowen, queratosis solar, fotodermatosis, hidroa vacciniforme y dermatitis por fotocontacto, mientras que la bibliografía excluyente de patentes 2 ofrece los ejemplos de dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, síndrome de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción por fármacos fotosensible, erupción por luz polimorfa, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xeroderma pigmentoso, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, prurigo simplex y lupus eritematoso.

**Documentos de la técnica anterior**

Documentos excluyentes de patentes:

30 Documento no patente 1: "HIHUSHIKKAN SAISHIN NO CHIRYO (Latest methods for treating dermal diseases)", 2005-2006 (Nankodo Co., Ltd.)

Documento no patente 2: "HYOJUN HIHUKAGAKU (Standard dermatology)", 7ª edición (Igaku-Shoin Ltd.)

**Descripción de la invención**

Problema solucionado por la invención

35 Los agentes profilácticos y/o terapéuticos convencionales conocidos para los daños en la piel inducidos por la radiación ultravioleta incluyen un agente dispersor de ultravioleta que inhibe la absorción del ultravioleta por la piel, tal como óxido de titanio, un absorbente de ultravioleta, tal como ácido etil hexil p-metoxicinámico, o un antioxidante que elimina los radicales libres generados por el ultravioleta. Sin embargo, el agente dispersor de ultravioleta o el absorbente de ultravioleta no se emplea a diario de modo habitual, aunque es eficaz al aire libre para prevenir las  
 40 quemaduras solares. El antioxidante presenta problemas de estabilidad y seguridad. Además, los agentes terapéuticos conocidos para los daños en la piel inducidos por la radiación ultravioleta se limitan solo a agentes terapéuticos sintomáticos. Por consiguiente, es necesario desarrollar un agente profiláctico y/o terapéutico para los daños en la piel inducidos por la radiación ultravioleta que pueda ser utilizado de modo habitual y que sea estable y seguro, así como productos farmacéuticos, cosméticos y alimentarios que lo contengan.

**45 Medios para resolver el problema**

La presente invención se define por las reivindicaciones y, en un aspecto, proporciona un método cosmético para mejorar los daños inducidos por la radiación ultravioleta, y el método cosmético comprende administrar uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, a un sujeto, en el que los daños inducidos por la radiación ultravioleta son las arrugas.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso cosmético de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, como agente para mejorar un trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta, en el que el trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta son las arrugas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en

ácido D-glutámico y sus sales, para su uso para prevenir o tratar una enfermedad de la piel inducida por la radiación ultravioleta.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, para su uso para prevenir o tratar una catarata inducida por la radiación ultravioleta.

- 5 Dichos uno o más compuestos para ser empleados para mejorar las arrugas inducidas por la radiación ultravioleta pueden administrarse a la piel del sujeto y pueden suministrarse en forma de una composición cosmética o una composición alimentaria.

La enfermedad de la piel que se va a prevenir o tratar según la invención puede seleccionarse del grupo que consiste en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción por fármacos fotosensible, erupción por luz polimorfa, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xeroderma pigmentoso, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, prurigo simplex, lupus eritematoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen.

- 15 Dichos uno o más compuestos para ser empleados para prevenir o tratar una catarata inducida por la radiación ultravioleta pueden suministrarse en forma de una gota oftálmica.

La catarata descrita anteriormente puede ser una catarata senil.

En la descripción, una "sal" significa cualquier sal, que incluye una sal de metal, una sal de amina y similares, con la condición de que no reduzca el efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico. La sal de metal descrita anteriormente puede incluir una sal de metal alcalino, una sal de metal alcalinotérreo y similares. La sal de amina descrita anteriormente puede incluir una sal de trietilamina, una sal de bencilamina y similares.

Tal como se emplea en la presente, "su derivado" o "sus derivados" significa un ácido D-glutámico unido covalentemente en su grupo amino, grupo carboxilo o cadena lateral, a cualquier grupo sustituyente, con la condición de que no se reduzca el efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico. El grupo sustituyente mencionado anteriormente incluye, pero no se limita a un grupo protector, tal como un grupo N-fenilacetilo, un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMT), etc.; una macromolécula biológica, tal como una proteína, un péptido, un sacárido, un lípido, un ácido nucleico, etc.; un polímero sintético, tal como un poliestireno, un polietileno, un polivinilo, un poliéster, etc.; y un grupo funcional, tal como un grupo éster, etc. El grupo éster mencionado anteriormente puede incluir, por ejemplo, un éster metílico, un éster etílico, otro éster alifático o éster aromático.

Puesto que un aminoácido puede existir como un isómero óptico que puede estar en forma L o D, pero las proteínas naturales contienen L-aminoácidos unidos a través de enlaces peptídicos, solo se emplean L-aminoácidos, excluyendo algunas excepciones, tales como la pared celular bacteriana, aunque se ha considerado que en mamíferos, que incluyen al ser humano, solo están presentes L-aminoácidos y estos son los que se utilizan (Kinouchi, T. *et al.*, TANPAKUSHITSU KAKUSAN KOSO (Proteins, nucleic acids and enzymes), 50:453-460 (2005), Lehninger Principles of Biochemistry [vol. 1] 2ª ed., pp. 132-147 (1993), Hirokawa Publishing Co., Harper's Biochemistry, versión original, 22ª ed., pp. 21-30 (1991), Maruzen Co., Ltd.). Por consiguiente, principalmente y durante mucho tiempo, se han empleado solo L-aminoácidos como aminoácidos en entornos académicos e industriales.

Un caso excepcional en que puede emplearse un D-aminoácido puede ser, por ejemplo, el caso de emplearlos como material de partida para antibióticos producidos por un microorganismo y el caso de un aditivo alimentario que emplea un D-aminoácido en una mezcla de DL-aminoácidos únicamente para reducir el coste de separar solo los L-aminoácidos de una mezcla de L-aminoácidos y D-aminoácidos. No obstante, no existe ningún caso que emplee un D-aminoácido libre o como entidad individual de forma industrial como sustancia bioactiva.

En fechas recientes, se ha indicado que la D-serina y el ácido D-aspartico presentan bioactividades y que, incluso en seres humanos, está presente una D-serina racemasa y también se ha indicado que, en un mamífero, está presente un D-aminoácido en el cuerpo en donde ejerce una bioactividad. Sin embargo, puesto que se observan bioactividades completamente diferentes entre la D-serina y la L-serina, así como entre el ácido D-aspartico y el ácido L-aspartico, cuando se observa bioactividad en el ser humano, es obvio que un D-aminoácido debe considerarse como una sustancia que es diferente de un L-aminoácido, y los descubrimientos convencionales relacionados con aminoácidos deben considerarse como descubrimientos relacionados con L-aminoácidos.

Tal como se indica en los ejemplos descritos a continuación, la L-prolina no tiene un efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta, y hasta la fecha no se conoce ningún efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico. Por consiguiente, el uso del ácido D-glutámico según se describe en la presente es una invención nueva.

En fechas recientes, se ha indicado que a ratones ddY se les permitió acceder a una disolución acuosa 10 mM de un D-aminoácido durante 2 semanas y después fueron examinados para determinar la concentración en D-aminoácidos en cada órgano, que fue de 3 a 1000 pmol por glándula en el cuerpo pineal y de 2 a 500 nmol por gramo de peso húmedo en tejido de cerebro (Morikawa, A. *et al.*, Amino Acids, 32:13-20 (2007)). Basándose en esto, se calculó el límite inferior de ingesta diaria de ácido D-glutámico contenido en una composición descrita en la presente.

Tal como se indica en los ejemplos descritos a continuación, el ácido D-glutámico muestra, cuando se administra como entidad individual, un efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta a una concentración que varía de 0,1 a 100 µM en fibroblastos y queratinocitos humanos cultivados. Por consiguiente, la cantidad de ácido D-glutámico contenida en una composición farmacéutica, un agente antiarrugas, un agente protector solar, una composición cosmética y una composición alimentaria, puede variar dentro de un intervalo amplio, con la condición de que el ácido D-glutámico, como entidad individual, se administre a un queratinocito o un fibroblasto en un tejido de piel *in vivo* a una concentración en el intervalo especificado anteriormente. Cuando la composición es una formulación para la piel, entonces el contenido en ácido D-glutámico puede variar del 0,000015% en peso al 10% en peso de la cantidad total de la composición de la presente invención, o hasta la concentración máxima en peso que es posible incorporar. Así, cuando la composición es una formulación para la piel, el contenido en ácido D-glutámico es preferiblemente del 0,00003% en peso al 0,3% en peso, lo más preferiblemente del 0,0003% en peso al 0,03% en peso. Cuando la composición es una formulación interna, el contenido en ácido D-glutámico puede ser del 0,00001% en peso al 100% en peso. Cuando la composición es una formulación interna, el contenido en ácido D-glutámico es preferiblemente del 0,00002% en peso al 80% en peso, lo más preferiblemente del 0,0002% en peso al 60% en peso. El límite inferior de la dosis diaria de ácido D-glutámico contenida en la composición puede ser de 0,01 ng, preferiblemente de 0,1 ng, más preferiblemente de 1 ng por kg de peso corporal.

La composición farmacéutica descrita en la presente puede comprender también, además de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sales del ácido D-glutámico, al menos un aditivo farmacéuticamente aceptable, con la condición de que no se reduzca el efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico. Este aditivo incluye, pero no se limita a un diluyente, un extensor, un ligante, un adhesivo, un lubricante, un deslizante, un plastificante, un disgregante, un disolvente vehículo, un agente tamponante, un colorante, un aroma, un edulcorante, un conservante, un estabilizante, un adsorbente, así como otros aditivo farmacéuticos conocidos por los expertos en la técnica.

Puede prepararse un agente antiarrugas descrito en la presente empleando solo ácido D-glutámico y/o sales del ácido D-glutámico. Sin embargo, pueden incorporarse de modo apropiado otros componentes empleados en formulaciones para la piel, tales como productos cosméticos y farmacéuticos, que incluyen cuasifármacos, según sea necesario hasta un grado en que no se reduzca el efecto de la invención. Estos otros componentes (componentes incorporados opcionalmente) incluyen, por ejemplo, aceites, tensioactivos, polvos, colorantes, agua, alcoholes, agentes espesantes, agentes quelantes, siliconas, antioxidantes, absorbentes de UV, humectantes, fragancias, diversos componentes farmacéuticamente eficaces, conservantes, ajustadores del pH, agentes neutralizantes.

La formulación para la piel y la composición cosmética descritas en la presente pueden ser cualquiera de las empleadas de modo convencional en una formulación para la piel y una composición cosmética, tales como un ungüento, una crema, una emulsión, una loción, un paño, unas sales de baño y similares, y su forma de dosificación no se especifica en concreto.

La composición cosmética descrita en la presente puede contener, de modo apropiado, otros componentes empleados en formulaciones para la piel, tales como productos cosméticos y farmacéuticos, que incluyen cuasifármacos, con la condición de que no reduzca el efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico. Estos otros componentes (componentes incorporados opcionalmente) incluyen, por ejemplo, aceites, tensioactivos, polvos, colorantes, agua, alcoholes, agentes espesantes, agentes quelantes, siliconas, antioxidantes, absorbentes de UV, humectantes, fragancias, diversos componentes farmacéuticamente eficaces, conservantes, ajustadores del pH, agentes neutralizantes.

La composición alimentaria descrita en la presente puede comprender también, además del ácido D-glutámico y/o las sales del ácido D-glutámico, un componente aceptable en la industria alimentaria, tal como un condimento, un colorante, un conservante, con la condición de que no se reduzca el efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico.

La composición alimentaria descrita en la presente puede ser cualquiera de las empleadas de modo convencional en una composición alimentaria, tales como una bebida, una gominola, un caramelo, un comprimido, pero no se limitan a estos.

Se considera que la exposición a los rayos ultravioleta es una de las causas no solo de enfermedades dérmicas, sino también de enfermedades oftálmicas, tales como cataratas. Se ha indicado que una exposición prolongada de ratones a rayos ultravioleta provoca una turbidez en la corteza anterior de la lente, con lo cual que puede obtener un modelo de cataratas de modo experimental (Maeda, T. e Iwata, S., "SUISHOTAI SONO SEIKAGAKUTEKI KIKO (Lens, its biochemical mechanisms), p. 318-323, ed. por Iwata, S., Medical-Aoi Publishings, Inc., Tokio (1986)).

Además, se considera que una de las causas de la catarata senil son los rayos ultravioleta (Fujinaga, Y., "HAKUNAISHO (cataract), GANKA (ophthalmology) MOOK No. 17", p. 10, ed. por Mishima *et al.*, Kanehara & Co., Ltd., Tokio (1982)), y Zigman *et al.* han realizado un estudio epidemiológico en Manila, Tampa y Rochester y han indicado que existe una correlación entre la cantidad de radiación ultravioleta y la incidencia de cataratas, y que los rayos ultravioleta son un factor de riesgo para las cataratas (Zigman, S. *et al.*, Invest. Ophthalmol. Visual Sci., 18:462-467 (1979)). Por consiguiente, estos descubrimientos, combinados con los ejemplos descritos a continuación, sugieren que el ácido D-glutámico, puesto que tiene un efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta, es eficaz para prevenir o tratar las cataratas.

#### Breve descripción de los dibujos

- 10 La figura 1 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con ácido D-glutámico en queratinocitos epidérmicos humanos normales.

La figura 2 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con D-prolina después de someter a radiación ultravioleta a fibroblastos dérmicos humanos normales.

- 15 La figura 3 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con D-prolina antes de someter a radiación ultravioleta a fibroblastos dérmicos humanos normales.

La figura 4 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con D-prolina y ácido glutámico antes de someter a radiación ultravioleta a fibroblastos dérmicos humanos normales.

La figura 5 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con cisteína en queratinocitos epidérmicos humanos normales.

- 20 La figura 6 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con ácido L- y D-glutámico en células XP.

La figura 7 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con L- y D-prolina en células XP.

La figura 8 es una gráfica que muestra el efecto del tratamiento con L- y D-cisteína en células XP.

#### Descripción de las realizaciones

- 25 Los ejemplos de la presente invención descritos a continuación solo pretenden ejemplificar la invención y no limitar su alcance.

Ejemplo 1: Efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta del ácido D-glutámico

##### Célula

- 30 La célula empleada fue un queratinocito epidérmico neonatal humano disponible en el mercado (Cryo NHEK-Neo, Sanko-Junyaku Co., Ltd.). Esta célula se inoculó a  $2 \times 10^5$  células/ml en una placa de cultivo disponible en el mercado de 35 mm de diámetro revestida con colágeno de tipo I (COL1, Asahi Techno Glass Co., Ltd.), en donde se cultivó en un medio sin suero disponible en el mercado (Defined Keratinocyte-SFM, Gibco., denominado en lo sucesivo "medio normal 1"). Esta célula se cultivó durante 5 a 7 días en 5% de CO<sub>2</sub> y una atmósfera de vapor de agua saturada a 37° C hasta alcanzar la confluencia, sustituyéndose el medio cada 2 días.

- 35 Para estudiar el efecto de añadir ácido glutámico antes de la irradiación con UV (denominado en lo sucesivo "pretratamiento"), el medio de cultivo se cambió 24 horas antes de la irradiación a un medio suplementado con ácido L- o D-glutámico 0,1 a 100 µM.

##### Irradiación con UV

- 40 Antes de la irradiación con UV-B, el medio de cultivo se sustituyó por 1 ml de PBS. La irradiación con UV-B se realizó empleando un dispositivo de exposición a UV fabricado en el laboratorio (dos bombillas de UV, Toshiba Medical Supply Corporation, TOREX FL20S-E-30/DMR) irradiando un rayo UV de 280 nm a 320 nm a 75 J/cm<sup>2</sup> desde 40 cm por encima de la placa de cultivo, habiendo retirado la tapa de la respectiva placa de cultivo. La dosis de UV se midió con un radiómetro UV RADIOMETER UVR-3036/S (Topcon Corporation).

- 45 La célula irradiada de este modo con UV se volvió a colocar en medio normal 1, en donde se cultivó a 5% de CO<sub>2</sub> y una atmósfera de vapor de agua saturada a 37° C durante 21 horas. Para estudiar el efecto de añadir ácido glutámico después de la irradiación con UV (denominado en lo sucesivo "postratamiento"), a este medio cultivado durante 21 horas se le añadió ácido L- o D-glutámico 0,1 a 100 µM.

##### Cuantificación de los daños en las células

- 50 Después, el medio de cultivo se suplementó con Alamar Blue (marca comercial, Biosource International Inc.) a una concentración final del 10%, y se estudió el sobrenadante para determinar la intensidad fluorescente 3 horas después con una longitud de onda de excitación de 544 nm y una longitud de onda fluorescente de 590 nm, según

se describe en Ahmed S. A. *et al.* (J. Immunol. Method., 170, 211-224 (1994)) y según las indicaciones del fabricante.

#### Resultados

La figura 1 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto del ácido D-glutámico sobre los daños celulares en queratinocitos inducidos por la radiación ultravioleta con UV-B a  $75 \text{ mJ/cm}^2$ . Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos ocho veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*\*) indica  $P < 1\%$  en un ensayo de Bonferroni. La intensidad fluorescente del Alamar Blue (marca comercial) en ausencia de irradiación con UV fue de aproximadamente 22.000, que se redujo de 5.000 a 7.000 cuando se produjeron daños celulares debidos a la irradiación con UV-B. No obstante, cuando se añade ácido D-glutámico, la intensidad fluorescente aumenta y se alivian los daños celulares. Aunque este efecto aliviante de los daños celulares se observó independientemente del momento en que se administra el tratamiento con ácido D-glutámico (antes o después de la irradiación con UV), una concentración más alta de ácido D-glutámico produce un efecto aliviante mayor. No se observó efecto aliviante de los daños celulares cuando se añade ácido L-glutámico (los datos no se muestran). Basándose en los resultados descritos anteriormente, el ácido D-glutámico alivia los daños celulares en queratinocitos inducidos por UV-B de una manera dependiente de la concentración.

Ejemplo 2 (no según la invención): Efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta de la D-prolina

#### Célula

La célula empleada fue un fibroblasto dérmico neonatal humano disponible en el mercado (Cryo NHDF-Neo, Sanko-Junyaku Co., Ltd.). Esta célula se inoculó a  $2 \times 10^5$  células/ml en una placa de cultivo disponible en el mercado de 35 mm de diámetro (BD FALCON 353001, Beckton Dickinson Japón), en donde se cultivó en un medio de cultivo celular disponible en el mercado (D-MEM (glucosa 1 g/l, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) suplementado con suero bovino fetal al 10% (denominado en lo sucesivo "medio normal 2"). Esta célula se cultivó durante aproximadamente 24 horas en 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera de vapor de agua saturada a  $37^\circ \text{C}$ .

Después, el medio de cultivo para cultivar la célula descrita anteriormente se cambió a 1 ml de medio BSO que contenía un inhibidor de la biosíntesis de glutatión BSO (L-butionina-(S,R)-sulfoximina, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) a  $1 \times 10^{-3}\%$ , en donde se realizó el cultivo durante aproximadamente 24 horas en 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera de vapor de agua saturada a  $37^\circ \text{C}$ . El medio BSO descrito anteriormente se preparó mediante una dilución en 200 veces de una disolución madre que contenía BSO al 0,2% en alcohol etílico con el medio normal 2 descrito anteriormente.

Para estudiar el efecto de añadir prolina antes de la irradiación con UV (denominado en lo sucesivo "pretratamiento"), el medio de cultivo se cambió 24 horas antes de la irradiación a un medio suplementado con L- o D-prolina  $0,1 \mu\text{M}$ .

#### Medio de irradiación con UV

Se disolvió cloruro férrico(III) en agua destilada a  $2 \times 10^{-3}\%$ , y la disolución resultante se sometió a una dilución en 200 veces (concentración final:  $1 \times 10^{-5}\%$ ) con una disolución de tampón fosfato PBS que contenía ion de calcio e ion de magnesio (PBS+) para obtener un medio (denominado en lo sucesivo "medio de irradiación con UV"), que se calentó antes del uso.

#### Irradiación con UV

Antes de la irradiación con UV-A, el medio de cultivo se sustituyó por 1 ml del medio de irradiación con UV descrito anteriormente. La irradiación con UV-A se realizó empleando un dispositivo de exposición uniforme a luz UV UVE-502S+EL-160 (SAN-EI ELECTRIC) irradiando un rayo UV de 320 nm a 400 nm a  $15 \text{ J/cm}^2$  y  $22,5 \text{ J/cm}^2$  desde aproximadamente 20 cm por encima de la placa de cultivo, habiendo retirado la tapa de la respectiva placa de cultivo. La dosis de UV se midió con un radiómetro UV RADIOMETER UVR-3036/S (Topcon Corporation).

#### Tratamiento con prolina después de la irradiación con UV

Después de la irradiación con UV, la célula se volvió a colocar en medio normal 2, descrito anteriormente, en donde se cultivó a 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera de vapor de agua saturada a  $37^\circ \text{C}$  durante 21 horas. Para estudiar el efecto de añadir prolina después de la irradiación con UV (denominado en lo sucesivo "postratamiento"), este medio cultivado durante 21 horas se suplementó con L- o D-prolina  $0,01$  a  $1000 \mu\text{M}$ .

#### Cuantificación de los daños en las células después del postratamiento

Posteriormente se midió la intensidad fluorescente mediante un método descrito en el ejemplo 1.

## Resultados del postratamiento

La figura 2 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la D-prolina sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación ultravioleta con UV-A a 15 J/cm<sup>2</sup> y 22,5 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*) indica p<5% en un ensayo de Bonferroni. La intensidad fluorescente del Alamar Blue (marca comercial) en ausencia de irradiación con UV fue de aproximadamente 12.000, que se redujo a aproximadamente 5.000 cuando se produjeron daños celulares debidos a la irradiación con UV-A a 15 J/cm<sup>2</sup>. También se redujo a aproximadamente 3.000 cuando se produjeron daños celulares debidos a la irradiación con UV-A a 22,5 J/cm<sup>2</sup>. No obstante, cuando se añade D-prolina, la intensidad fluorescente aumenta y se alivian los daños celulares.

La tabla 1 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la L- y D-prolina sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación ultravioleta con UV-A a 12,5 J/cm<sup>2</sup> y 15 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos de cuatro a seis veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*) 1 indica p<0,1% cuando se compara con un control, y p = 0,1% cuando se compara con L-prolina en un ensayo de Bonferroni. El asterisco (\*) 2 indica p<0,1% cuando se compara con un control, y p<5% cuando se compara con L-prolina en un ensayo de Bonferroni. La intensidad fluorescente del Alamar Blue (marca comercial) en ausencia de irradiación con UV fue de aproximadamente 12.000, que se redujo a aproximadamente 2.500 y aproximadamente 1.000 cuando se produjeron daños celulares debidos a la irradiación con UV-A a 12,5 J/cm<sup>2</sup> y con irradiación UV-A a 15 J/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Casi no se observó alivio de los daños celulares cuando se añade L-prolina. No obstante, cuando se añade D-prolina, la intensidad fluorescente aumenta y se alivian los daños celulares.

Tabla 1

| Cantidad de irradiación con UV (J/cm <sup>2</sup> )                                                                                                                                                      | Control    | Intensidad fluorescente    |                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------|--------------------|
|                                                                                                                                                                                                          |            | D-prolina (0,1 µM)         | L-prolina (0,1 µM) |
| 0                                                                                                                                                                                                        | 12380 ± 21 | 12270 ± 68                 | 12211 ± 77         |
| 12,5                                                                                                                                                                                                     | 2503 ± 629 | 4615 ± 1218 * <sup>1</sup> | 2877 ± 834         |
| 15                                                                                                                                                                                                       | 1018 ± 89  | 2365 ± 648 * <sup>2</sup>  | 1552 ± 320         |
| Promedio ± DE; N = 4-6 ensayo de Bonferroni<br>* <sup>1</sup> frente al control P < 0,001, frente a la L-prolina P < 0,001<br>* <sup>2</sup> frente al control P < 0,001, frente a la L-prolina P < 0,05 |            |                            |                    |

## Cuantificación de los daños en las células después del pretratamiento

Los daños celulares se cuantificaron mediante el desprendimiento de la célula con un tratamiento de tripsina al 0,25%-EDTA (Gibco) durante 5 minutos, seguido de una centrifugación y un lavado, seguidos con una tinción con azul de tripano al 0,2% (Gibco) para verificar la viabilidad o la muerte.

## Resultados del pretratamiento

La figura 3 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la D-prolina sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación ultravioleta a 22,5 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*\*) indica p<1% en un ensayo de Bonferroni.

El porcentaje de células viables en ausencia de irradiación con UV fue de aproximadamente 95%, que se redujo hasta aproximadamente 30% cuando se produjeron daños celulares debidos a la irradiación con UV-A a 22,5 J/cm<sup>2</sup>. No obstante, cuando se añade D-prolina, el porcentaje de células viables aumenta hasta aproximadamente 50% y se alivia la muerte celular. Basándose en los resultados descritos anteriormente, se demostró que el efecto alivante de los daños celulares es independiente del momento en que se administra el tratamiento de D-prolina, es decir, antes o después de la irradiación con UV. También se demostró que la D-prolina alivia los daños celulares inducidos por UV-A de una manera dependiente de la concentración en fibroblastos.

Ejemplo 3: Comparación del efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta entre la D-prolina y el ácido D-glutámico

## Métodos

La célula empleada fue un fibroblasto dérmico neonatal humano disponible en el mercado (Cryo NHDF-Neo, Sanko-Junyaku Co., Ltd.), que se cultivó mediante el mismo método descrito en el ejemplo 2. Para estudiar el efecto de añadir D-prolina o ácido D-glutámico antes de la irradiación con UV, el medio de cultivo se cambió 24 horas antes de la irradiación a un medio suplementado con D-prolina 0,1  $\mu\text{M}$  o ácido L- o D-glutámico 1  $\mu\text{M}$ . La irradiación con UV del medio sin dichos aminoácidos actuó como control. La cuantificación del daño celular por irradiación con UV-A (22,5  $\text{J}/\text{cm}^2$ ) y el Alamar Blue (marca comercial) se realizó mediante el método descrito en el ejemplo 2.

## Resultados

La figura 4 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la D-prolina y el ácido L- o D-glutámico sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación UV-A a 22,5  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*\*) indica  $p < 1\%$  en un ensayo de Bonferroni/Dunn.

La intensidad fluorescente fue de aproximadamente 1.100 en el control. La intensidad fluorescente en presencia de D-prolina y ácido L- o D-glutámico fue de aproximadamente 1.750, aproximadamente 1.100 o aproximadamente 1.700, respectivamente. Basándose en estos resultados, se demostró que la D-prolina y el ácido D-glutámico alivian los daños celulares inducidos por UV-A en fibroblastos dérmicos humanos normales con significancia estadística. Sin embargo, no se observó efecto aliviante de los daños celulares con el ácido L-glutámico. Se demostró que la D-prolina alivia los daños celulares inducidos por UV a una concentración de una décima parte, cuando se compara con el ácido D-glutámico.

Ejemplo 4 (no según la invención): Efecto aliviante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta de la L- y D-cisteína

## Célula

La célula empleada fue un queratinocito epidérmico neonatal humano disponible en el mercado (Cryo NHEK-Neo, Sanko-Junyaku Co., Ltd.). Esta célula se inoculó a  $1 \times 10^5$  células/ml en una placa de cultivo disponible en el mercado de 35 mm de diámetro revestida con colágeno de tipo I (COL1, Asahi Techno Glass Co., Ltd.). Esta célula se cultivó en un medio sin suero disponible en el mercado (Defined Keratinocyte-SFM, Gibco, denominado en lo sucesivo "medio normal 3") suplementado con un proliferador (Defined Keratinocyte-SFM Growth Supplement, Gibco) y antibióticos (PSF: penicilina, estreptomycin y fungisona) durante 3 días en 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera de vapor de agua saturada a 37 °C. Después se cultivó durante 2 días en 2 ml del medio normal 3 que contenía D-alanina, D-serina, D-hidroxiprolina, ácido D-aspartico, D-cisteína o L-cisteína 100  $\mu\text{M}$ . Como control, al medio normal 3 se le añadió medio normal que contenía PBS en lugar del D-aminoácido.

## Irradiación con UV

Antes de la irradiación con UV-B, el medio de cultivo se sustituyó por 1 ml de PBS. La irradiación con UV-B se realizó empleando un dispositivo de exposición a UV fabricado en el laboratorio (dos bombillas de UV, Toshiba Medical Supply Corporation, TOREX FL20S-E-30/DMR) irradiando un rayo UV de 280 nm a 320 nm a 25  $\text{J}/\text{cm}^2$  desde 40 cm por encima de la placa de cultivo, habiendo retirado la tapa de la respectiva placa de cultivo. La dosis de UV se midió con un radiómetro UV RADIOMETER UVR-3036/S (Topcon Corporation).

La célula irradiada de este modo con UV se volvió a cultivar en 900  $\mu\text{l}$  de medio normal 3 que contenía D-alanina, D-serina, D-hidroxiprolina, ácido D-aspartico, D-cisteína o L-cisteína 100  $\mu\text{M}$  en 5% de  $\text{CO}_2$  y una atmósfera de vapor de agua saturada a 37° C durante 24 horas.

## Cuantificación de los daños en las células

Posteriormente se midió la intensidad fluorescente mediante el método descrito en el ejemplo 1.

## Resultados

La figura 5 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la cisteína sobre los daños celulares en queratinocitos inducidos por la radiación ultravioleta con UV-B a 25  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ . Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces en condiciones idénticas. El asterisco (\*\*) indica  $p < 1\%$  en un ensayo de la t de Student. La intensidad fluorescente del Alamar Blue (marca comercial) después de la aparición de daños celulares debidos a la irradiación con UV-B fue de aproximadamente 570 en presencia de D-alanina, y de aproximadamente 550 en ausencia de D-alanina. La intensidad fluorescente en presencia de D-serina fue de aproximadamente 490, mientras que la intensidad fluorescente en ausencia de D-serina fue de aproximadamente 500. La intensidad fluorescente en presencia de D-hidroxiprolina fue de aproximadamente 550, mientras que la intensidad fluorescente en ausencia de D-hidroxiprolina fue de aproximadamente 550. La intensidad fluorescente en presencia de ácido D-



aspártico fue de aproximadamente 600, mientras que la intensidad fluorescente en ausencia de ácido D-aspártico fue de aproximadamente 600. La intensidad fluorescente en presencia de D-cisteína fue de aproximadamente 700, mientras que la intensidad fluorescente en ausencia de D-cisteína fue de aproximadamente 600. La intensidad fluorescente en presencia de L-cisteína fue de aproximadamente 700, mientras que la intensidad fluorescente en ausencia de L-cisteína fue de aproximadamente 600. Basándose en estos resultados, se demostró que la cisteína, tanto en la forma L como en la forma D, alivia los daños celulares con significancia estadística.

Ejemplo 5: Efecto alivante de los daños inducidos por la radiación ultravioleta en células XP

#### Métodos

Se empleó un fibroblasto dérmico humano procedente de un paciente con xeroderma pigmentoso (grupo A) (XP30S (SVT), denominado en lo sucesivo "célula XP") que se obtuvo de Japan Health Science Foundation y se cultivó mediante el mismo método descrito en el ejemplo 3. El pretratamiento con ácido L- o D-glutámico, prolina y cisteína 0,1  $\mu$ M y la cuantificación del daño celular se realizaron según los métodos descritos en el ejemplo 3. La irradiación con UV-A se realizó empleando un dispositivo de exposición uniforme a luz UV UVE-502S+EL-160 (SAN-EI ELECTRIC) irradiando un rayo UV de 320 nm a 400 nm a 1 J/cm<sup>2</sup> desde aproximadamente 20 cm por encima de la placa de cultivo, habiendo retirado la tapa de la respectiva placa de cultivo. La dosis de UV se midió con un radiómetro UV RADIOMETER UVR-3036/S (Topcon Corporation).

#### Resultados de los ácidos L- y D-glutámico

La figura 6 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto del ácido L- o D-glutámico sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación UV. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos dos veces en condiciones idénticas.

La intensidad fluorescente fue de aproximadamente 690 bajo la condición sin irradiación UV en ausencia del aminoácido (denominada en lo sucesivo "condición de no irradiación UV") y fue de aproximadamente 630 bajo la condición con irradiación UV en ausencia del aminoácido (denominada en lo sucesivo "control negativo"). La intensidad fluorescente en presencia de ácido L- o D-glutámico 0,1  $\mu$ M fue de aproximadamente 658 o aproximadamente 675, respectivamente. Basándose en estos resultados, se demostró que ambos ácidos L- y D-glutámico alivian los daños celulares inducidos por UV-A en células XP.

#### Resultados de la L- y D-prolina

La figura 7 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la L- o D-prolina sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación UV. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos dos veces en condiciones idénticas.

La intensidad fluorescente fue de aproximadamente 690 en la condición de no irradiación UV y de aproximadamente 630 en el control negativo. La intensidad fluorescente en presencia de L- o D-prolina 0,1  $\mu$ M fue de aproximadamente 583 o aproximadamente 664, respectivamente. Basándose en estos resultados, se demostró que la D-prolina alivia los daños celulares inducidos por UV-A en células XP.

#### Resultados de la L- y D-cisteína

La figura 8 muestra los resultados del experimento que investiga el efecto de la L- o D-cisteína sobre los daños celulares en fibroblastos inducidos por la radiación UV. Las barras de error para las condiciones experimentales pertinentes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos dos veces en condiciones idénticas.

La intensidad fluorescente fue de aproximadamente 690 en la condición de no irradiación UV y de aproximadamente 630 en el control negativo. La intensidad fluorescente en presencia de L- o D-cisteína 0,1  $\mu$ M fue de aproximadamente 688 o aproximadamente 638, respectivamente. Basándose en estos resultados, se demostró que ambas la L- y D-cisteína alivian los daños celulares inducidos por UV-A en células XP.

A continuación se ofrecen ejemplos de formulación de una formulación en emulsión, una formulación en parche, un comprimido, una cápsula blanda, un gránulo, una bebida, un caramelo, una galleta, pasta de miso, una salsa de vinagreta, una mayonesa, pan francés, una salsa de soja, un yogur, polvo secado para especiar el arroz, salsa para especiar/salsa para natto (pasta de soja fermentada japonesa), natto, vinagre negro sin refinar, una crema, una crema corporal, una formulación en gel, una mascarilla exfoliante, un paño húmedo, una emulsión, una loción facial y una formulación en aerosol que comprende uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico, ácido L-glutámico, D-prolina, D-cisteína y L-cisteína.

Ejemplo de formulación 1: Formulación en emulsión

| (Composición)                         | Contenido (% en peso) |
|---------------------------------------|-----------------------|
| Ácido D-glutámico                     | 0,42                  |
| Alcohol behenílico                    | 0,2                   |
| Cetanol                               | 0,5                   |
| Monoéster de ácido graso de glicerina | 1,8                   |
| Aceite de ricino endurecido POE (60)  | 1,0                   |
| Vaselina blanca                       | 2,0                   |
| Parafina líquida                      | 10,0                  |
| Miristato de isopropilo               | 3,0                   |
| Metil polisiloxano (6 cs)             | 1,5                   |
| Glicerina conc.                       | 13,0                  |
| Dipropilenglicol                      | 2,0                   |
| Polímero de carboxivinilo             | 0,25                  |
| Hialuronato de sodio                  | 0,005                 |
| Hidróxido de potasio                  | En cantidad apropiada |
| Ácido láctico                         | En cantidad apropiada |
| Edetato de sodio                      | En cantidad apropiada |
| Etilparabeno                          | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                       | Resto                 |
|                                       | 100,00                |

Ejemplo de formulación 2: Formulación en parche

| (Composición)              | Contenido (% en peso) |
|----------------------------|-----------------------|
| Ácido D-glutámico          | 0,3                   |
| Poli(ácido acrílico)       | 3,0                   |
| Poli(acrilato de sodio)    | 2,5                   |
| Gelatina                   | 0,5                   |
| Carboximetilcelulosa sodio | 4,0                   |
| Poli(alcohol vinílico)     | 0,3                   |
| Glicerina conc.            | 14,0                  |
| 1,3-butilenglicol          | 12,0                  |
| Hidróxido de aluminio      | 0,1                   |
| Edetato de sodio           | 0,03                  |
| Metilparabeno              | 0,1                   |
| Agua purificada            | Resto                 |
|                            | 100,00                |

Ejemplo de formulación 3: Comprimido

| (Composición)               | Contenido (mg/comprimido) |
|-----------------------------|---------------------------|
| Ácido D-glutámico           | 360,5                     |
| Lactosa                     | 102,4                     |
| Carboximetilcelulosa calcio | 29,9                      |
| Hidroxipropilcelulosa       | 6,8                       |
| Estearato de magnesio       | 5,2                       |
| Celulosa cristalina         | 10,2                      |
|                             | 515,0                     |

Ejemplo de formulación 4: Comprimido

| (Composición)                   | Contenido (mg/comprimido) |
|---------------------------------|---------------------------|
| Éster de sacarosa               | 70                        |
| Celulosa cristalina             | 74                        |
| Metilcelulosa                   | 36                        |
| Glicerina                       | 25                        |
| Ácido D-glutámico               | 475                       |
| N-acetilglucosamina             | 200                       |
| Ácido hialurónico               | 150                       |
| Vitamina E                      | 30                        |
| Vitamina B6                     | 20                        |
| Vitamina B2                     | 10                        |
| Ácido $\alpha$ -lipoico         | 20                        |
| Coenzima Q10                    | 40                        |
| Ceramida (extracto de konnyaku) | 50                        |
| L-prolina                       | 300                       |
|                                 | 1500                      |

5

Ejemplo de formulación 5: Cápsula blanda

| (Composición)                | Contenido (mg/cápsula) |
|------------------------------|------------------------|
| Aceite de soja comestible    | 530                    |
| Extracto de gutapercha china | 50                     |
| Extracto de zanahoria        | 50                     |
| Ácido D-glutámico            | 100                    |

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| Jalea real                        | 50   |
| Maca                              | 30   |
| GABA                              | 30   |
| Cera de abeja                     | 60   |
| Gelatina                          | 375  |
| Glicerina                         | 120  |
| Éster de ácido graso de glicerina | 105  |
|                                   | 1500 |

Ejemplo de formulación 6: Cápsula blanda

| (Composición)                      | Contenido (mg/cápsula) |
|------------------------------------|------------------------|
| Aceite de germen de arroz integral | 659                    |
| Ácido D-glutámico                  | 500                    |
| Resveratrol                        | 1                      |
| Extracto de germen de loto         | 100                    |
| Elastina                           | 180                    |
| ADN                                | 30                     |
| Ácido fólico                       | 30                     |
|                                    | 1500                   |

Ejemplo de formulación 7: Gránulo

| (Composición)         | Contenido (mg/paquete) |
|-----------------------|------------------------|
| Ácido D-glutámico     | 400                    |
| Vitamina C            | 100                    |
| Isoflavona de soja    | 250                    |
| Lactosa reducida      | 300                    |
| Oligosacárido de soja | 36                     |
| Eritritol             | 36                     |
| Dextrina              | 30                     |
| Aroma                 | 24                     |
| Ácido cítrico         | 24                     |
|                       | 1200                   |

Ejemplo de formulación 8: Bebida

| (Composición)                   | Contenido (g/60 ml) |
|---------------------------------|---------------------|
| Extracto de gutapercha china    | 1,6                 |
| Extracto de zanahoria           | 1,6                 |
| Ácido D-glutámico               | 1,6                 |
| Jarabe de maltosa reducido      | 28                  |
| Eritritol                       | 8                   |
| Ácido cítrico                   | 2                   |
| Aroma                           | 1,3                 |
| N-acetilglucosamina             | 1                   |
| Hialuronato de sodio            | 0,5                 |
| Vitamina E                      | 0,3                 |
| Vitamina B6                     | 0,2                 |
| Vitamina B2                     | 0,1                 |
| Ácido $\alpha$ -lipoico         | 0,2                 |
| Coenzima Q10                    | 1,2                 |
| Ceramida (extracto de konnyaku) | 0,4                 |
| L-prolina                       | 2                   |
| Agua purificada                 | Resto               |
|                                 | 60                  |

Ejemplo de formulación 9: Caramelo

| (Composición)     | Contenido (% en peso) |
|-------------------|-----------------------|
| Azúcar            | 50                    |
| Jarabe            | 48                    |
| Ácido D-glutámico | 1                     |
| Aroma             | 1                     |
|                   | 100                   |

5 Ejemplo de formulación 10: Galleta

| (Composición)     | Contenido (% en peso) |
|-------------------|-----------------------|
| Harina débil      | 45,0                  |
| Mantequilla       | 17,5                  |
| Azúcar granulado  | 20,0                  |
| Ácido D-glutámico | 4,0                   |

|       |       |
|-------|-------|
| Huevo | 12,5  |
| Aroma | 1,0   |
|       | 100,0 |

Método para producir el ejemplo de formulación 10 (galleta)

- 5 El azúcar granular se añadió en porciones a la mantequilla mientras se mezcla, a lo cual se le añade un huevo y el aroma junto con D-glutamato de sodio y se mezcla. Después de mezclar a fondo, se añade una harina débil tamizada uniformemente y se mezcla, y se deja en reposo como una masa en una nevera. Después se moldea y se cuece durante 15 minutos a 170 °C para obtener una galleta.

Ejemplo de formulación 11: Pasta para especiar de miso

| (Composición)     | Contenido (g) |
|-------------------|---------------|
| Soja              | 1000          |
| Arroz malteado    | 1000          |
| Sal               | 420           |
| Ácido D-glutámico | 158           |
| Agua              | Resto         |
|                   | 4000          |

Método para producir el ejemplo de formulación 11 (pasta para especiar de miso)

- 10 El arroz malteado se mezcla a fondo con la sal. Las judías de soja lavadas se sumergen en 3 veces su volumen de agua, que después se escurre y se añade agua limpia mientras se hierve, y se vierte en un colador para recoger el caldo (fluido de tanemizu), en el cual se disuelve el ácido D-glutámico al 10% en p/v. Las judías hervidas se trituran inmediatamente, se reúnen con el arroz malteado mezclado con la sal, a lo cual se añade el fluido de tanemizu descrito anteriormente, que contiene el ácido D-glutámico, y se amasa uniformemente para obtener una dureza de arcilla.
- 15 Se confeccionan bolas de masa y se introducen en un recipiente apretadamente sin que se formen burbujas de aire y la superficie se alisa y se sella con una película de plástico. Después de 3 meses, el contenido se traslada a un nuevo recipiente y la superficie se alisa y se sella con una película de plástico. En lugar de añadir el ácido D-glutámico al fluido de tanemizu, puede emplearse un arroz malteado que produzca una gran cantidad de ácido D-glutámico. Este arroz malteado puede seleccionarse cuantificando el ácido D-glutámico mediante el método descrito
- 20 en la publicación de patente japonesa pendiente de examen n.º 2008-185558. Como alternativa, a una pasta de especiado de miso disponible en el mercado se le puede añadir ácido D-glutámico o su sal.

Ejemplo de formulación 12: Salsa de vinagreta

| (Composición)        | Contenido (g) |
|----------------------|---------------|
| Aceite para ensalada | 27,0          |
| Vinagre              | 30,0          |
| Cloruro de sodio     | 0,9           |
| Ácido D-glutámico    | 1,1           |
| Pimienta             | 1,0           |
|                      | 60,0          |

Método para producir el ejemplo de formulación 12 (salsa de vinagreta)

- 25 El vinagre se mezcla con cloruro de sodio, así como con ácido D-glutámico, se mezcla a fondo y después se añade pimienta.

## Ejemplo de formulación 13: Mayonesa

| (Composición)        | Contenido (g) |
|----------------------|---------------|
| Aceite para ensalada | 134,0         |
| Vinagre              | 5             |
| Cloruro de sodio     | 0,9           |
| Ácido D-glutámico    | 1             |
| Yema de huevo        | 18            |
| Azúcar               | 0,2           |
| Pimienta             | 0,9           |
|                      | 160,0         |

## Método para producir el ejemplo de formulación 13 (Mayonesa)

- 5 Se mezcla yema de huevo (a temperatura ambiente) con vinagre, cloruro de sodio y pimienta, así como con ácido D-glutámico, y se mezcla a fondo con un aparato para batir. La agitación continúa mientras se añade aceite para ensalada en porciones para formar una emulsión. Por último, se añade azúcar y la mezcla se agita.

## Ejemplo de formulación 14: Pan francés

| (Composición)      | Contenido (g) |
|--------------------|---------------|
| Harina extrafuerte | 140           |
| Harina débil       | 60            |
| Cloruro de sodio   | 3             |
| Azúcar             | 6             |
| Ácido D-glutámico  | 2             |
| Levadura seca      | 4             |
| Agua tibia         | 128           |
|                    | 343           |

## Método para producir el ejemplo de formulación 14 (pan francés)

- 10 El agua tibia se mezcla con 1 g de azúcar y levadura seca, y se deja que sufra una prefermentación. La harina extrafuerte, la harina débil, el cloruro de sodio y 5 g de azúcar se colocan en un cuenco junto con el ácido D-glutámico, en donde se coloca también la levadura prefermentada. Después de amasar a fondo para formar una masa con forma de bola, se realiza una primera fermentación a 30 °C. La masa se vuelve a amasar y se deja en reposo, y después se le da una forma adecuada, que se somete a una fermentación final empleando una máquina de fermentación electrónica. Después de formar copas, se hornea durante 30 minutos en un horno a 220 °C.
- 15

## Ejemplo de formulación 15: Salsa de soja

| (Composición)                          | Contenido (g) |
|----------------------------------------|---------------|
| Salsa de soja disponible en el mercado | 990           |
| Ácido D-glutámico                      | 10            |
|                                        | 1000          |

Ejemplo de formulación 16: Salsa de soja (no según la invención)

| (Composición)                          | Contenido (g) |
|----------------------------------------|---------------|
| Salsa de soja disponible en el mercado | 900           |
| D-prolina                              | 100           |
|                                        | 1000          |

Método para producir los ejemplos de formulación 15 y 16 (salsa de soja)

- 5 A una salsa de soja disponible en el mercado se le añade D-glutamato de sodio y se mezcla a fondo. En lugar de añadir D-glutamato de sodio, o su sal, puede emplearse un arroz malteado que produzca una gran cantidad de D-glutamato de sodio para fermentar la salsa de soja. Este arroz malteado puede seleccionarse cuantificando el D-glutamato de sodio mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa pendiente de examen n.º 2008-185558. Como alternativa, a una salsa de soja disponible en el mercado se le puede añadir D-glutamato de sodio, o su sal.

10 Ejemplo de formulación 17: Yogur

| (Composición)          | Contenido (g) |
|------------------------|---------------|
| Leche                  | 880           |
| <i>L. bulgaricus</i>   | 50            |
| <i>S. thermophilus</i> | 50            |
| Ácido D-glutámico      | 20            |
|                        | 1000          |

Método para producir el ejemplo de formulación 17 (yogur)

- 15 La fermentación se realiza de 40 °C a 45 °C. Pueden emplearse otros organismos de siembra de fermentación disponibles en el mercado y a un yogur disponible en el mercado se le puede añadir D-glutamato de sodio. En lugar de añadir D-glutamato de sodio, o su sal, puede emplearse un organismo de siembra que produzca una gran cantidad de D-glutamato de sodio, para la fermentación. Este organismo puede seleccionarse cuantificando el D-glutamato de sodio mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa pendiente de examen n.º 2008-185558. Como alternativa, a un yogur disponible en el mercado se le puede añadir D-glutamato de sodio, o su sal.

20 Ejemplo de formulación 18: Polvo seco para especiar el arroz

| (Composición)         | Contenido (g) |
|-----------------------|---------------|
| Ácido D-glutámico     | 50            |
| Alga laver            | 15            |
| L-glutamato de sodio  | 10            |
| Cloruro de sodio      | 2             |
| Sésamo tostado        | 10            |
| Migas de caballa seca | 10            |
| Azúcar                | 1             |
| Salsa de soja         | 2             |
|                       | 100           |



Ejemplo de formulación 19: Salsa para especiar para natto

| (Composición)                             | Contenido (g) |
|-------------------------------------------|---------------|
| Salsa disponible en el mercado para natto | 9,9           |
| Ácido D-glutámico                         | 0,1           |
|                                           | 10            |

Ejemplo de formulación 20: Salsa para especiar para natto (no según la invención)

| (Composición)                             | Contenido (g) |
|-------------------------------------------|---------------|
| Salsa disponible en el mercado para natto | 9             |
| D-prolina                                 | 1             |
|                                           | 10            |

5 Ejemplo de formulación 21: Natto

| (Composición)                  | Contenido (g) |
|--------------------------------|---------------|
| Natto disponible en el mercado | 19,9          |
| Ácido D-glutámico              | 0,1           |
|                                | 20            |

Método para producir el ejemplo de formulación 21 (natto)

- 10 A natto disponible en el mercado se le añade D-glutamato de sodio y se mezcla a fondo. En lugar de añadir D-glutamato de sodio, o su sal, puede emplearse un organismo que produzca una gran cantidad de D-glutamato de sodio para producir natto. Este organismo puede seleccionarse cuantificando el D-glutamato de sodio mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa pendiente de examen n.º 2008-185558. Como alternativa, a natto disponible en el mercado se le puede añadir D-glutamato de sodio, o su sal.

Ejemplo de formulación 22: Vinagre negro sin refinar

| (Composición)                                      | Contenido (g) |
|----------------------------------------------------|---------------|
| Vinagre negro sin refinar disponible en el mercado | 950           |
| Ácido D-glutámico                                  | 50            |
|                                                    | 1000          |

15 Ejemplo de formulación 23: Vinagre negro sin refinar (no según la invención)

| (Composición)                                      | Contenido (g) |
|----------------------------------------------------|---------------|
| Vinagre negro sin refinar disponible en el mercado | 900           |
| D-prolina                                          | 100           |
|                                                    | 1000          |

Método para producir los ejemplos de formulación 22 y 23 (vinagre negro sin refinar)

A un vinagre negro sin refinar disponible en el mercado se le añade ácido D-glutámico y se mezcla a fondo. En lugar

- 5 de añadir el ácido D-glutámico, o su sal, puede emplearse un organismo que produzca una gran cantidad de ácido D-glutámico para producir vinagre, vinagre negro o vinagre sin refinar. Este organismo puede seleccionarse cuantificando el ácido D-glutámico mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa pendiente de examen n.º 2008-185558. Como alternativa, a un vinagre negro sin refinar disponible en el mercado se le puede añadir D-glutamato de sodio, o su sal.

Ejemplo de formulación 24: Crema

| (Composición)                                                                      | Contenido (%)         |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Parafina líquida                                                                   | 3                     |
| Vaselina                                                                           | 1                     |
| Dimetil polisiloxano                                                               | 1                     |
| Alcohol estearílico                                                                | 1,8                   |
| Alcohol behenílico                                                                 | 1,6                   |
| Glicerina                                                                          | 8                     |
| Dipropilenglicol                                                                   | 5                     |
| Aceite de macadamia                                                                | 2                     |
| Aceite endurecido                                                                  | 3                     |
| Escualeno                                                                          | 6                     |
| Ácido esteárico                                                                    | 2                     |
| Hidroxiestearato de colestero                                                      | 0,5                   |
| 2-etilhexanoato de cetilo                                                          | 4                     |
| Aceite de ricino endurecido con polioxietileno                                     | 0,5                   |
| Monoestearato de glicerina autoemulsionado                                         | 3                     |
| Hidróxido de potasio                                                               | 0,15                  |
| Hexametáfosfato de sodio                                                           | 0,05                  |
| Trimetilglicina                                                                    | 2                     |
| Diéster de ácido 2-L-ascórbico y ácido fosfórico de $\alpha$ -tocoferol de potasio | 1                     |
| Acetato de tocoferol                                                               | 0,1                   |
| Ácido D-glutámico                                                                  | 4                     |
| Parabeno                                                                           | En cantidad apropiada |
| Edetato de trisodio                                                                | 0,05                  |
| 4-t-butil-4'-metoxidibenzoilmetano                                                 | 0,05                  |
| Mono-2-etilhexanoato diparametoxicinamato de glicerilo                             | 0,05                  |
| Colorante                                                                          | En cantidad apropiada |
| Polímero de carboxivinilo                                                          | 0,05                  |
| Agua purificada                                                                    | Resto                 |
|                                                                                    | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 25: Crema corporal

| (Composición)                                              | Contenido (%)         |
|------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Dimetil polisiloxano                                       | 3                     |
| Decametilciclopentasiloxano                                | 13                    |
| Dodecametilciclohexasiloxano                               | 12                    |
| Copolímero de polioxietileno-metil polisiloxano            | 1                     |
| Etanol                                                     | 2                     |
| Isopropanol                                                | 1                     |
| Glicerina                                                  | 3                     |
| Dipropilenglicol                                           | 5                     |
| Polietilenglicol 6000                                      | 5                     |
| Hexametafosfato de sodio                                   | 0,05                  |
| Acetato de tocoferol                                       | 0,1                   |
| Ácido D-glutámico                                          | 5                     |
| Extracto de hinojo                                         | 0,1                   |
| Extracto de hamamelis                                      | 0,1                   |
| Extracto de zanahoria                                      | 0,1                   |
| L-mentol                                                   |                       |
| p-oxibenzoato                                              |                       |
| Edetato de trisodio                                        | 0,05                  |
| Dimorfolinopiridazona                                      | 0,01                  |
| Trimetoxicinamato de metilbis(trimetilsiloxi)sililopentilo | 0,1                   |
| Óxido de hierro amarillo                                   | En cantidad apropiada |
| Titanato de cobalto                                        | En cantidad apropiada |
| Hectolita de dimetil diestearil amonio                     | 1,5                   |
| Poli(alcohol vinílico)                                     | 0,1                   |
| Hidroxietilcelulosa                                        | 0,1                   |
| Ácido trimetilsiloxisilícico                               | 2                     |
| Fragancia                                                  | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                                            | Resto                 |
|                                                            | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 26: Formulación en gel

| (Composición)                                                | Contenido (%)         |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Dimetil polisiloxano                                         | 5                     |
| Glicerina                                                    | 2                     |
| 1,3-butilenglicol                                            | 5                     |
| Polietilenglicol 1500                                        | 3                     |
| Polietilenglicol 20000                                       | 3                     |
| Octanoato de cetilo                                          | 3                     |
| Ácido cítrico                                                | 0,01                  |
| Citrato de sodio                                             | 0,1                   |
| Hexametáfosfato de sodio                                     | 0,1                   |
| Glicirrizinato de dipotasio                                  | 0,1                   |
| Ácido D-glutámico                                            | 2                     |
| Acetato de tocoferol                                         | 0,1                   |
| Extracto de raíz de <i>Scutellaria</i>                       | 0,1                   |
| Extracto de begonia de fresa                                 | 0,1                   |
| Edetato de trisodio                                          | 0,1                   |
| Goma de xantano                                              | 0,3                   |
| Copolímero de acrilato-metacrilato de alquilo (Pemulen TR-2) | 0,05                  |
| Polvo de agar                                                | 1,5                   |
| Fenoxietanol                                                 | En cantidad apropiada |
| Dibutilhidroxitolueno                                        | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                                              | Resto                 |
|                                                              | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 27: Mascarilla exfoliante

| (Composición)                     | Contenido (%) |
|-----------------------------------|---------------|
| Etanol                            | 10            |
| 1,3-butilenglicol                 | 6             |
| Polietilenglicol 4000             | 2             |
| Aceite de oliva                   | 1             |
| Aceite de macadamia               | 1             |
| Ácido fitoesterilhidroxiesteárico | 0,05          |
| Ácido láctico                     | 0,05          |
| Lactato de sodio                  | 0,1           |

|                                                                                    |                       |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| L-ascorbato sulfato de disodio                                                     | 0,1                   |
| Diéster de ácido 2-L-ascórbico y ácido fosfórico de $\alpha$ -tocoferol de potasio | 0,1                   |
| Ácido D-glutámico                                                                  | 10                    |
| Colágeno de pescado                                                                | 0,1                   |
| Sulfato de condroitina de sodio                                                    | 0,1                   |
| Carboximetilcelulosa sodio                                                         | 0,2                   |
| Poli(alcohol vinílico)                                                             | 12                    |
| p-oxibenzoato                                                                      | En cantidad apropiada |
| Fragancia                                                                          | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                                                                    | Resto                 |
|                                                                                    | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 28: Paño húmedo

| (Composición)                         | Contenido (%)         |
|---------------------------------------|-----------------------|
| Glicerina                             | 1                     |
| 1,3-butilenglicol                     | 8                     |
| Xilitol                               | 2                     |
| Polietilenglicol 1500                 | 2                     |
| Aceite de romero                      | 0,01                  |
| Aceite de salvia                      | 0,1                   |
| Ácido cítrico                         | 0,02                  |
| Citrato de sodio                      | 0,08                  |
| Hexametáfosfato de sodio              | 0,01                  |
| Hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina | 0,1                   |
| Ácido D-glutámico                     | 0,5                   |
| Extracto de abedul                    | 0,1                   |
| Extracto de lavanda                   | 0,01                  |
| Goma de xantano                       | 0,05                  |
| Polímero de carboxivinilo             | 0,15                  |
| p-oxibenzoato                         | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                       | Resto                 |
|                                       | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 29: Emulsión

| (Composición)                           | Contenido (%)         |
|-----------------------------------------|-----------------------|
| Parafina líquida                        | 7                     |
| Vaselina                                | 3                     |
| Dexametilciclopentasiloxano             | 2                     |
| Alcohol behenílico                      | 1,5                   |
| Glicerina                               | 5                     |
| Dipropilenglicol                        | 7                     |
| Polietilenglicol 1500                   | 2                     |
| Aceite de yoyoba                        | 1                     |
| Ácido isoesteárico                      | 0,5                   |
| Ácido esteárico                         | 0,5                   |
| Ácido behénico                          | 0,5                   |
| Tetra-2-etilhexanoato de pentaeritritol | 3                     |
| 2-etilhexanoato de cetilo               | 3                     |
| Monoestearato de glicerina              | 1                     |
| Monoestearato de polioxietilenglicerina | 1                     |
| Hidróxido de potasio                    | 0,1                   |
| Hexametafosfato de sodio                | 0,05                  |
| Glicirrizinato de estearilo             | 0,05                  |
| Ácido D-glutámico                       | 1                     |
| Extracto de jalea royal                 | 0,1                   |
| Extracto de levadura                    | 0,1                   |
| Acetato de tocoferol                    | 0,1                   |
| Hialuronato de sodio acetilado          | 0,1                   |
| Edetato de trisodio                     | 0,05                  |
| 4-t-butil-4'-metoxidibenzoilmetano      | 0,1                   |
| Parametoxicinamato de 2-etilhexilo      | 0,1                   |
| Polímero de carboxivinilo               | 0,15                  |
| Parabeno                                | En cantidad apropiada |
| Fragancia                               | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                         | Resto                 |
|                                         | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 30: Emulsión

| (Composición)                           | Contenido (%)         |
|-----------------------------------------|-----------------------|
| Dimetil polisiloxano                    | 2                     |
| Alcohol behenílico                      | 1                     |
| Alcohol batílico                        | 0,5                   |
| Glicerina                               | 5                     |
| 1,3-butilenglicol                       | 7                     |
| Eritritol                               | 2                     |
| Aceite endurecido                       | 3                     |
| Escualeno                               | 6                     |
| Ácido D-glutámico                       | 0,3                   |
| Tetra-2-etilhexanoato de pentaeritritol | 2                     |
| Isoestearato de polioxietilenglicerilo  | 1                     |
| Monoestearato de polioxietilenglicerilo | 1                     |
| Hidróxido de potasio                    | En cantidad apropiada |
| Hexametafosfato de sodio                | 0,05                  |
| Fenoxietanol                            | En cantidad apropiada |
| Polímero de carboxivinilo               | 0,1                   |
| Agua purificada                         | Resto                 |
|                                         | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 31: Loción facial

| (Composición)                                                                      | Contenido (%) |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Alcohol etílico                                                                    | 5             |
| Glicerina                                                                          | 1             |
| 1,3-butilenglicol                                                                  | 5             |
| Decil tetradecil éter de polioxietileno-polioxipropileno                           | 0,2           |
| Hexametafosfato de sodio                                                           | 0,03          |
| Trimetilglicina                                                                    | 1             |
| Poli(ácido aspártico) sodio                                                        | 0,1           |
| Diéster de ácido 2-L-ascórbico y ácido fosfórico de $\alpha$ -tocoferol de potasio | 0,1           |
| Tiotaurina                                                                         | 0,1           |
| Ácido D-glutámico                                                                  | 8             |
| EDTA trisodio                                                                      | 0,1           |
| Polímero de carboxivinilo                                                          | 0,05          |

|                      |                       |
|----------------------|-----------------------|
| Hidróxido de potasio | 0,02                  |
| Fenoxietanol         | En cantidad apropiada |
| Fragancia            | En cantidad apropiada |
| Agua purificada      | Resto                 |
|                      | 100,00                |

## Ejemplo de formulación 32: Loción facial

| (Composición)                                  | Contenido (%)         |
|------------------------------------------------|-----------------------|
| Etanol                                         | 10                    |
| Dipropilenglicol                               | 1                     |
| Polietilenglicol 1000                          | 1                     |
| Glucósido de metil polioxietileno              | 1                     |
| Aceite de yoyoba                               | 0,01                  |
| Tri-2-etilhexanoato de glicerilo               | 0,1                   |
| Aceite de ricino endurecido con polioxietileno | 0,2                   |
| Diisosteato de poliglicerilo                   | 0,15                  |
| N-estearoil-L-glutamato de sodio               | 0,1                   |
| Ácido cítrico                                  | 0,05                  |
| Citrato de sodio                               | 0,2                   |
| Hidróxido de potasio                           | 0,4                   |
| Glicirrizinato de dipotasio                    | 0,1                   |
| Clorhidrato de arginina                        | 0,1                   |
| 2-glucósido del ácido L-ascórbico              | 2                     |
| Ácido D-glutámico                              | 0,5                   |
| Edetato de trisodio                            | 0,05                  |
| Parametoxicinamato de 2-etilhexilo             | 0,01                  |
| Dibutilhidroxitolueno                          | En cantidad apropiada |
| Parabeno                                       | En cantidad apropiada |
| Agua de mar                                    | 3                     |
| Fragancia                                      | En cantidad apropiada |
| Agua purificada                                | Resto                 |
|                                                | 100,00                |



Ejemplo de formulación 33: Disolución madre de una formulación para la piel de urea en aerosol

| (Composición)                                     | Contenido (% en peso) |
|---------------------------------------------------|-----------------------|
| Etanol                                            | 15,0                  |
| Aceite de ricino endurecido con polioxietileno 50 | 1,5                   |
| Difenhidramina                                    | 1,0                   |
| Dibucaína                                         | 2,0                   |
| Acetato de tocoferol                              | 0,5                   |
| Ácido D-glutámico                                 | 0,1                   |
| Ácido isoesteárico                                | 0,1                   |
| 1,3-butilenglicol                                 | 3,0                   |
| Polietilenglicol 400                              | 3,0                   |
| Alcanfor                                          | 0,05                  |
| Urea                                              | 20,0                  |
| Agua purificada                                   | Resto                 |
|                                                   | 100,00                |

Ejemplo de formulación 34: Pulverizado de urea en aerosol

| (Composición)                                                       | Contenido (% en peso) |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Disolución madre de una formulación para la piel de urea en aerosol | 65,0                  |
| Éter dimetílico                                                     | 35,0                  |
|                                                                     | 100,00                |

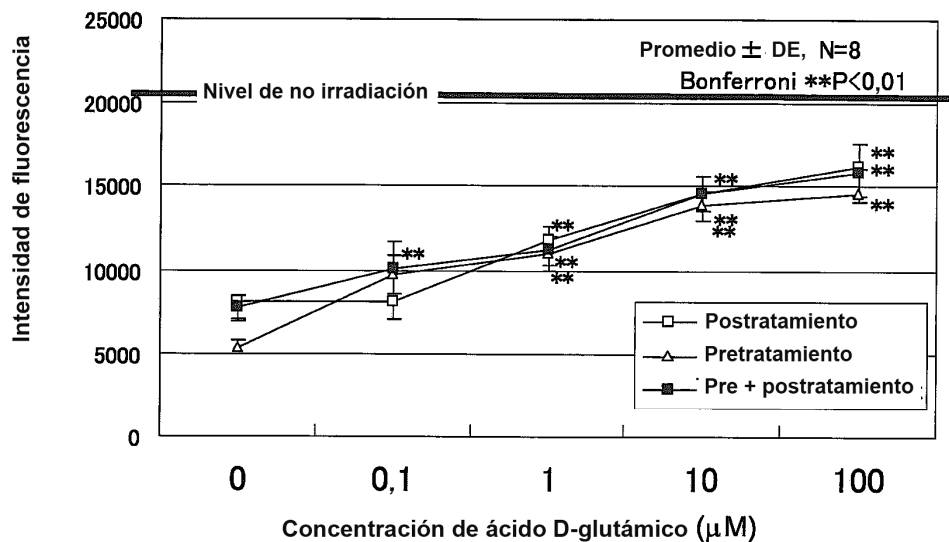
5 Método para envasar el ejemplo de formulación 34 (pulverizado de urea en aerosol)

La disolución madre de una formulación para la piel de urea en aerosol y el éter dimetílico se cargan en un recipiente para aerosol de aluminio resistente a la presión, cuya superficie interna está revestida con Teflon (marca comercial) para producir una formulación en aerosol.

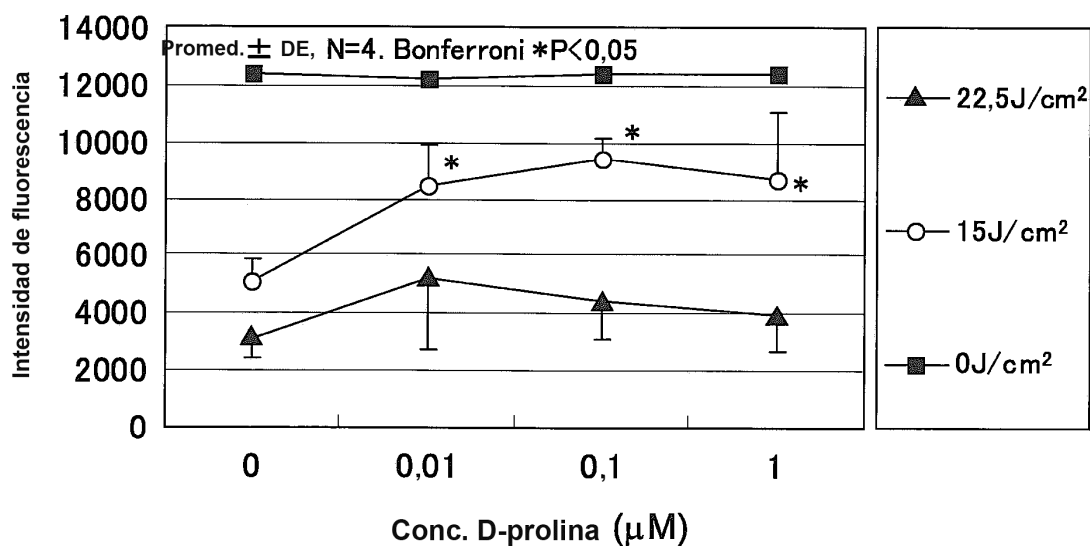
# REIVINDICACIONES

- 1.- Un método cosmético para mejorar un trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta, que comprende administrar uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, a un sujeto, en el que el trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta son las arrugas.
- 5 2.- El método cosmético según la reivindicación 1, en el que dichos uno o más compuestos se administran a la piel del sujeto.
- 3.- El método cosmético según la reivindicación 1 o 2, en el que dichos uno o más compuestos se proporcionan en forma de una composición cosmética o una composición alimentaria.
- 10 4.- El uso cosmético de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, como agente para mejorar un trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta, en el que el trastorno de la piel inducido por la radiación ultravioleta son las arrugas.
- 5.- El uso cosmético según la reivindicación 4, en el que dichos uno o más compuestos se proporcionan en forma de una composición cosmética o una composición alimentaria.
- 15 6.- Uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, para su uso para prevenir o tratar una enfermedad de la piel inducida por la radiación ultravioleta.
- 20 7.- Dichos uno o más compuestos para su uso según la reivindicación 6, en los que la enfermedad de la piel se selecciona del grupo que consiste en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouhot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción por fármacos fotosensible, erupción por luz polimorfa, hidroa vacciniiforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xeroderma pigmentoso, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, prurigo simplex, lupus eritematoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen.
- 25 8.- Uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en ácido D-glutámico y sus sales, para su uso para prevenir o tratar una catarata nducida por la radiación ultravioleta.
- 9.- Dichos uno o más compuestos para su uso según la reivindicación 8, que se proporcionan en forma de una gota oftálmica.

**Efecto del tratamiento con ácido D-glutámico sobre los daños celulares por irradiación con UVB 75 mJ/cm<sup>2</sup>**



**FIG.1**



**FIG.2**

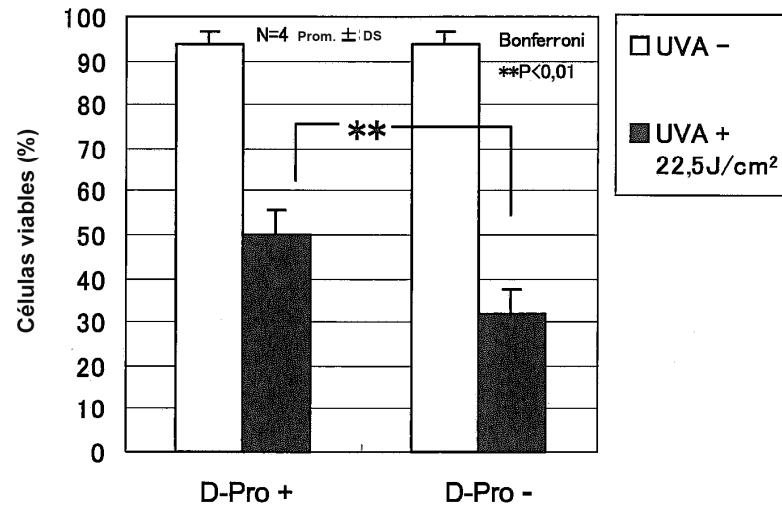


FIG.3

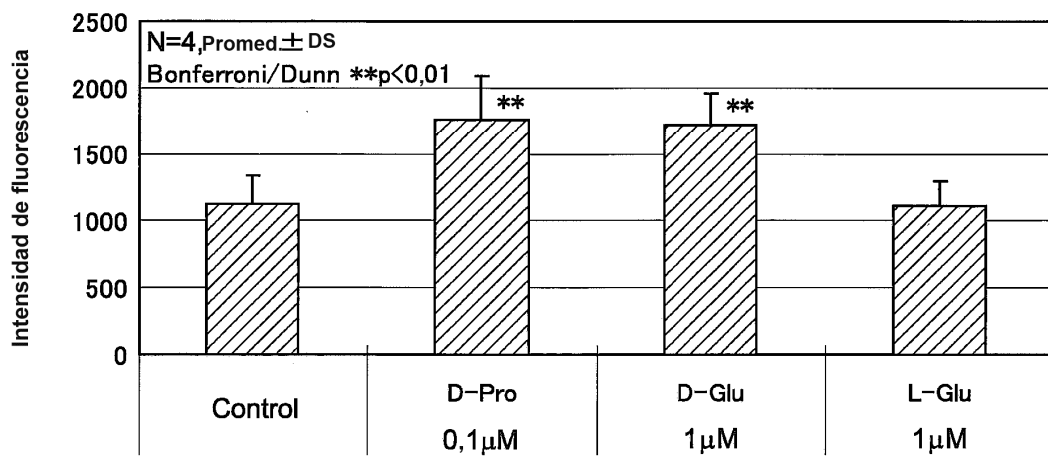


FIG.4

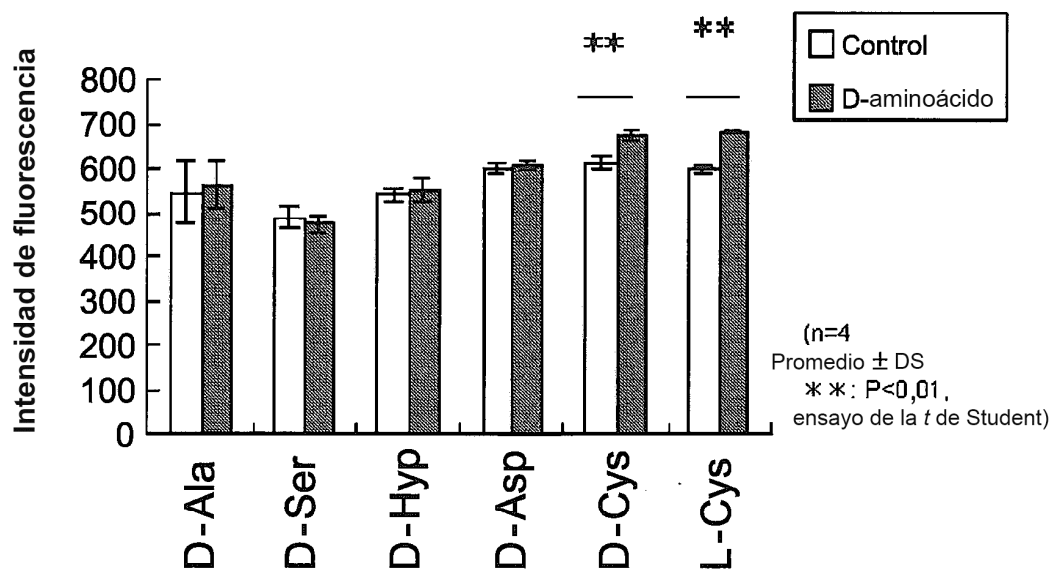


FIG.5

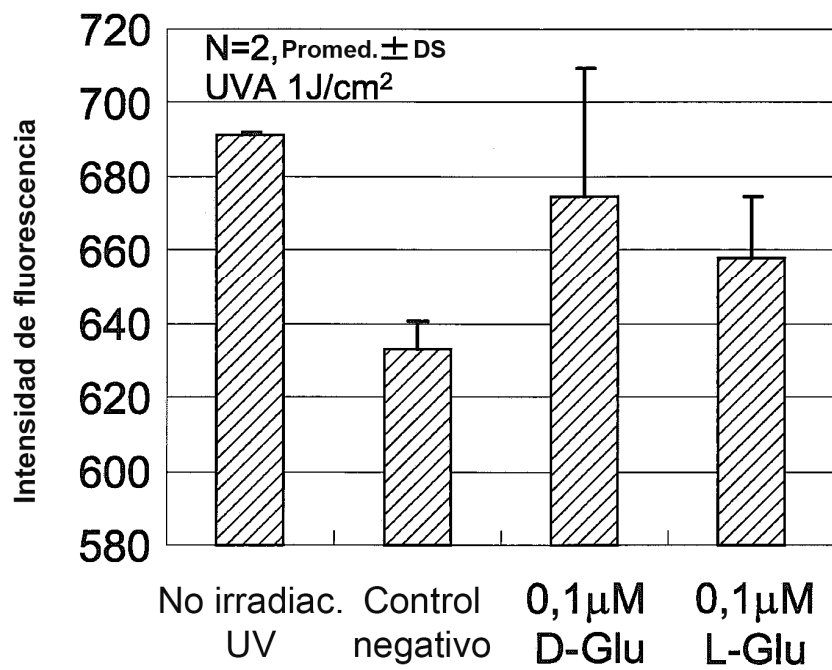


FIG.6

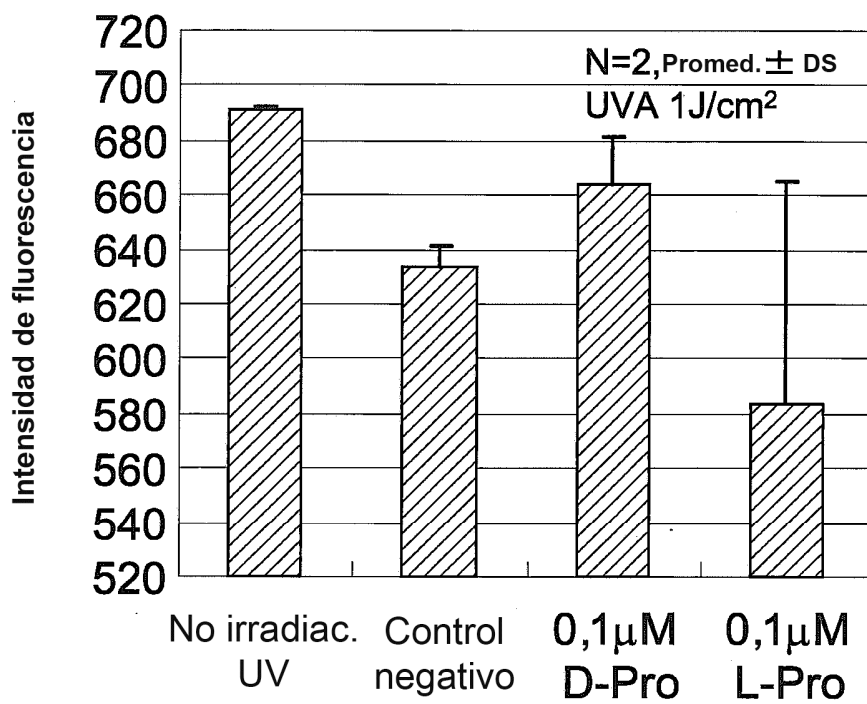


FIG.7

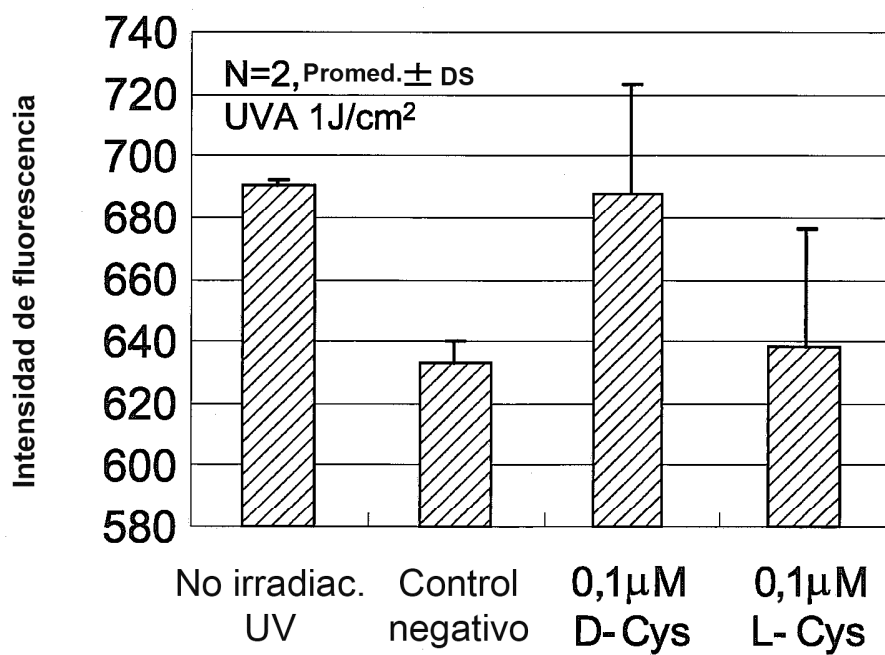


FIG.8