

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 618**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/175** (2006.01)  
**A61K 31/198** (2006.01)  
**A61K 8/44** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01)  
**A61P 17/16** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 37/02** (2006.01)  
**A61P 37/08** (2006.01)  
**A61Q 17/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2010 PCT/JP2010/065789**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2011 WO11030903**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2010 E 10815493 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.05.2018 EP 2478899**

54 Título: **Composición para mitigar daños inducidos por radiación ultravioleta**

30 Prioridad:

**14.09.2009 JP 2009211255**  
**28.09.2009 JP 2009223327**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.08.2018**

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;**  
**MIZUMOTO, CHIEKO y**  
**MITA, MASASHI**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 677 618 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**

Composición para mitigar daños inducidos por radiación ultravioleta

**5 Campo técnico**

La presente invención se refiere a una composición destinada al uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad de la piel inducida por irradiación ultravioleta, comprendiendo la composición uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma. La invención se refiere además al uso de una composición tal como se define más arriba para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta, y como un agente de filtro solar.

**Antecedentes de la técnica**

Los rayos ultravioleta se clasifican en rayos ultravioleta de la región de longitudes de onda largas, de más de aproximadamente 320 nm (UV-A), rayos ultravioleta de la región de longitudes de onda medias, de aproximadamente 320 a aproximadamente 280 nm (UV-B), y rayos ultravioleta de la región de longitudes de onda cortas, de menos de aproximadamente 280 nm (UV-C). Entre éstos, los UV-C no están incluidos en la luz solar que llega a la superficie terrestre, ya que son absorbidos por la capa de ozono. Aunque tanto los UV-A como los UV-B están incluidos en la luz solar que llega a la superficie terrestre, los UV-B son absorbidos parcialmente por la capa de ozono. Sin embargo, dado que los UV-A no son absorbidos por la capa de ozono, son predominantes en los rayos ultravioleta que llegan a la superficie terrestre, lo que supone un peligro para la piel.

La Bibliografía 1 distinta de las patentes describe enfermedades en las que intervienen los rayos ultravioleta, incluyendo arrugas, eritema, xerodermia pigmentosa, 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 2 distinta de las patentes ejemplifica dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, síndrome de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción medicamentosa fotosensible, erupción polimorfa lumínica, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xerodermia pigmentosa, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, herpes simple y lupus eritomatoso.

**Documentos de la técnica anterior**

Documentos distintos de las patentes

Documento 1 distinto de las patentes: "HIFUSHIKKAN SAISHIN NO CHIRYO (Últimos métodos para tratar enfermedades dérmicas)", 2005-2006 (Nankodo Co., Ltd.)

Documento 2 distinto de las patentes: "HYOJUN HIFUKAGAKU (Dermatología estándar)", 7ª edición (Igaku-Shoin Ltd.)

**Descripción de la invención**

Problema que se ha de resolver mediante la invención

Algunos agentes convencionales conocidos para prevenir y/o tratar daños en la piel inducidos por irradiación ultravioleta incluyen un agente de dispersión de ultravioletas que inhibe la absorción de los ultravioletas por la piel, tal como óxido de titanio, un absorbente de ultravioletas, tal como ácido etil hexil p-metoxicianámico, o un antioxidante que depura un radical libre generado por los ultravioletas. Sin embargo, el agente de dispersión de ultravioletas o el absorbente de ultravioletas no se utilizan a diario, aunque son eficaces al aire libre para prevenir las quemaduras solares. El antioxidante es problemático en términos de estabilidad y seguridad. Además, algunos agentes conocidos para tratar los daños de la piel inducidos por irradiación ultravioleta solo se limitan a agentes sintomáticos para el tratamiento. Por consiguiente, es necesario desarrollar una composición para mitigar daños inducidos por irradiación ultravioleta, un preparado externo para la piel, un agente antiarrugas, un agente de filtro solar, una composición farmacéutica para tratar y/o prevenir enfermedades de la piel, o una composición alimentaria, que puedan ser utilizados a diario y que sean estables y seguros.

Medios para resolver el problema

La presente invención está definida en las reivindicaciones y, en un aspecto, proporciona una composición destinada al uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad de la piel inducida por irradiación ultravioleta, comprendiendo la composición uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta.

5

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma como un agente de filtro solar.

10

La composición destinada al uso en la invención puede estar en forma de un preparado externo para la piel o en forma de un producto alimentario.

15

La enfermedad de la piel arriba descrita se puede seleccionar entre un grupo consistente en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción medicamentosa fotosensible, erupción polimorfa lumínica, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xerodermia pigmentosa, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, herpes simple, lupus eritomatoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen. El estado cosmético de la piel arriba descrito puede consistir en arrugas.

20

25

En la presente memoria se describe un método para tratar y/o prevenir una enfermedad de la piel inducida por irradiación ultravioleta, que comprende una etapa consistente en administrar una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo que consiste en D-metionina y/o sales de la misma. La enfermedad de la piel arriba descrita se puede seleccionar entre un grupo consistente en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción medicamentosa fotosensible, erupción polimorfa lumínica, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xerodermia pigmentosa, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, herpes simple, lupus eritomatoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen.

30

35

En la presente memoria se describe además un método para tratar y/o prevenir una enfermedad de la piel inducida por irradiación ultravioleta, que comprende una etapa consistente en administrar una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo que consiste en D-metionina y/o sales de la misma, exceptuando composiciones orales. La enfermedad de la piel arriba descrita se puede seleccionar entre un grupo consistente en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción medicamentosa fotosensible, erupción polimorfa lumínica, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xerodermia pigmentosa, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, herpes simple, lupus eritomatoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen.

40

45

En la presente memoria se describe además un método para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta, que comprende una etapa consistente en administrar una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo que consiste en D-metionina y/o sales de la misma. En el método para mejorar un estado cosmético de la piel arriba descrito, la composición puede consistir en un preparado externo para la piel o en una composición alimentaria.

50

55

En la presente memoria se describe además un método para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta, que comprende una etapa consistente en administrar una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo que consiste en D-metionina y/o sales de la misma, exceptuando composiciones orales. En el método para mejorar un estado cosmético de la piel arriba descrito, la composición puede consistir en un preparado externo para la piel.

60

En el método para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta, la mejoría del estado cosmético de la piel incluye, pero no se limita a un tratamiento antiarrugas y/o a un tratamiento de filtro solar.

65

Tal como se emplea en la presente memoria, "sal" de D-metionina se refiere a cualquier sal, incluyendo sales metálicas y sales amónicas, siempre que no resulte afectado negativamente el efecto mitigador de la D-metionina en daños inducidos por irradiación ultravioleta. La sal metálica arriba descrita puede incluir una sal metálica alcalina, una sal metálica alcalinotérrica y similares. La sal amónica arriba descrita puede incluir sal trietilamónica, sal bencilamónica y similares.

Tal como se emplea en la presente memoria, "derivado" de D-metionina se refiere a una molécula de D-metionina enlazada de forma covalente con cualquier grupo sustituyente en su grupo amino, grupo carboxilo o cadena lateral, siempre que no resulte afectado negativamente el efecto mitigador de la D-metionina en daños inducidos por irradiación ultravioleta. El grupo sustituyente arriba mencionado 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 arriba mencionado puede incluir, por ejemplo, un éster metílico, un éster etílico, otro éster alifático o éster aromático.

Dado que un aminoácido existe como un isómero óptico que está en una forma L o en una forma D, pero que una proteína natural está formada por L-aminoácidos enlazados a través de enlaces peptídicos y únicamente se emplean L-aminoácidos excluyendo algunas excepciones tales como una pared celular bacteriana, se ha considerado que en un mamífero, incluyendo un humano, únicamente están presentes y se utilizan L-aminoácidos (Kinouchi, T. et al., TANPAKUSHITSU KAKUSAN KOSO (PROTEÍNAS, ÁCIDOS NUCLEICOS Y ENZIMAS), 50:453-460 (2005), Lehninger Principles of Biochemistry [Vol. 1] 2ª edición, pp. 132-147 (1993), traducción del idioma japonés, Hirokawa Publishing Co., Harper's Biochemistry, versión original, 22 edición, pp. 21-30 (1991), traducción del idioma japonés, Maruzen Co., Ltd.). Por consiguiente, durante mucho tiempo, académica e industrialmente como aminoácidos principalmente solo se han empleado L-aminoácidos.

Algunos casos excepcionales en los que se emplea un D-aminoácido incluyen, por ejemplo, un caso de utilización como una materia prima para un antibiótico producido por un microorganismo y un caso de un aditivo alimentario en el que se emplea un D-aminoácido en una mezcla de DL-aminoácidos simplemente con el fin de reducir el coste de fraccionar solo un L-aminoácido de una mezcla del L-aminoácido y el D-aminoácido. Sin embargo, no ha habido ningún caso de utilización exclusiva de un D-aminoácido libre de L-aminoácido industrialmente como una sustancia bioactiva.

La D-serina y el ácido D-aspártico han sido estudiados hasta una fase relativamente avanzada debido a sus mayores proporciones de formas D. La D-serina está localizada en el cerebro y el hipocampo, y es sabido que interviene en un modulador del receptor NMDA en el cerebro. Está demostrado que el ácido D-aspártico está localizado en los testículos y en la glándula pineal, y se ha informado de que interviene en la regulación de la secreción hormonal (publicación de patente japonesa no examinada nº 2005-3558). Sin embargo, los efectos fisiológicos de la D-serina y el ácido D-aspártico en la piel no han sido aclarados.

Tal como se indica en los ejemplos abajo descritos, hasta ahora no se ha sabido que la D-metionina tiene un efecto mitigador en daños producidos por irradiación ultravioleta. Por lo tanto, el uso de una composición que comprende D-metionina tal como se describe en la presente memoria es una invención novedosa.

Recientemente se ha informado de que se ha permitido el acceso de ratones ddY a una solución acuosa 10 mM de un D-aminoácido durante 2 semanas y después se ha determinado la concentración del D-aminoácido en cada órgano, que ha sido de 3 a 1.000 pmol por glándula en la glándula pineal y de 2 a 500 nmol por gramo húmedo en el tejido cerebral (Morikawa, A. et al., Amino Acids, 32: 13-20 (2007)). Sobre la base de este informe se ha calculado el límite inferior de la dosis diaria de D-metionina contenida en una composición descrita en la presente memoria.

Tal como se indica en los ejemplos descritos más abajo, la D-metionina concerniente a la presente invención muestra un efecto mitigador en daños inducidos por irradiación ultravioleta en una concentración de 0,001 a 100 µM (micromolar) en un fibroblasto humano cultivado. Por consiguiente, la D-metionina contenida en una composición farmacéutica, un agente antiarrugas, un agente de filtro solar y un preparado externo para la piel descritos en la presente memoria puede variar dentro de amplios márgenes, a condición de que la D-metionina se suministre a un fibroblasto en un tejido de la piel *in vivo* en un intervalo de concentraciones arriba especificado. Cuando la composición es un preparado externo, el contenido de D-metionina puede ser del 0,0000015% en masa al 50% en masa en la cantidad total de la composición o hasta la concentración en masa máxima que pueda ser formulada. Por lo tanto, cuando la composición arriba descrita es un preparado externo, de forma deseable el contenido de D-metionina es del 0,000003% en masa al 30% en masa, de forma totalmente deseable del 0,00003% en masa al 3% en masa. El límite inferior de la dosis diaria de D-metionina 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 memoria puede comprender además uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables, además de D-metionina y/o sales de D-metionina, siempre que no resulte afectado negativamente el efecto mitigador de la D-metionina en daños inducidos por irradiación ultravioleta. Dicho aditivo incluye, pero no se limita a un diluyente, un agente de hinchamiento, un ligante, un adhesivo, un lubricante, un agente deslizante, un plastificante, un desintegrante, un vehículo disolvente, un agente tampón, un colorante, un agente aromatizante, un edulcorante, un agente de conservación, un estabilizador, un adsorbente, así como otros aditivos farmacéuticos conocidos por los expertos.

5 Un agente antiarrugas y/o agente de filtro solar descrito en la presente memoria se puede preparar utilizando únicamente D-metionina y/o sales de D-metionina. No obstante, otros componentes empleados en preparados externos para la piel, tales como productos cosméticos y farmacéuticos incluyendo productos de parafarmacia, se pueden formular apropiadamente según sea necesario en la medida en que no resulte afectado negativamente el efecto de la invención. Estos otros componentes (componentes formulados opcionalmente) incluyen, por ejemplo, aceites, agentes tensioactivos, polvos, colorantes, agua, alcoholes, agentes espesantes, agentes quelantes, siliconas, antioxidantes, absorbentes de UV, humectantes, agentes aromatizantes, diversos ingredientes medicinales, agentes de conservación, ajustadores del pH, neutralizadores y similares.

10 El preparado externo para la piel descrito en la presente memoria puede ser cualquiera de los empleados convencionalmente en un preparado externo para la piel y una composición cosmética, tal como una pomada, una crema, una emulsión, una loción, una compresa, unas sales de baño y similares, y sus formas farmacéuticas no están especificadas de forma particular.

15 Para el preparado externo para la piel descrito en la presente memoria se pueden formular apropiadamente, según sea necesario, otros componentes empleados en preparados externos para la piel, tales como productos cosméticos y farmacéuticos incluyendo productos de parafarmacia, siempre que no resulte afectado negativamente el efecto mitigador de la D-metionina en daños inducidos por irradiación ultravioleta. Estos otros componentes (componentes formulados opcionalmente) incluyen, por ejemplo, aceites, agentes tensioactivos, polvos, colorantes, agua, alcoholes, agentes espesantes, agentes quelantes, siliconas, antioxidantes, absorbentes de UV, humectantes, agentes aromatizantes, diversos ingredientes medicinales, agentes de conservación, ajustadores del pH, neutralizadores.

20 La composición alimentaria descrita en la presente memoria puede ser cualquiera de las empleadas convencionalmente en una composición alimentaria, tal como una bebida, una gominola, un caramelo, un comprimido dulce, pero no está limitada a éstas.

**Breve descripción de los dibujos**

30 La Figura 1 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de L-metionina o D-metionina antes de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

La Figura 2 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de D-metionina antes de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

35 La Figura 3 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de D-metionina después de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

40 La Figura 4 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de L-serina o D-serina antes de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

La Figura 5 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de D-serina antes de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

45 La Figura 6 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de D-serina después de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

50 La Figura 7 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de D-cicloserina después de una irradiación ultravioleta en fibroblastos dérmicos humanos normales.

**Descripción de realizaciones**

55 Los ejemplos de la presente invención descritos más abajo están concebidos únicamente para ejemplificar la invención y no para limitar el alcance de la misma.

Todos los documentos mencionados en la presente memoria están incorporados por referencia en su totalidad.

Ejemplo 1

60 Efecto mitigador de la metionina en daños inducidos por irradiación ultravioleta

Métodos

Cultivo celular

65

La célula empleada consistía en un fibroblasto dérmico neonatal humano comercialmente disponible (Cryo NHDF-Neo, Sanko-Junyaku Co., Ltd.). Esta célula se inoculó a razón de  $2 \times 10^5$  células/ml en un plato de cultivo comercialmente disponible de 35 mm de diámetro (BD FALCON 353001, Becton Dickinson Japón), donde se cultivó en un medio de cultivo celular comercialmente disponible (D-MEM (1 g/l de glucosa, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) complementado con un 10% de suero fetal bovino (en adelante, designado como "medio normal"). La célula arriba descrita se puede cultivar en el medio normal arriba descrito complementado con un antibiótico (15240-062, Gibco) al 1%. Esta célula se cultivó durante aproximadamente 24 horas en una atmósfera de un 5% de CO<sub>2</sub> y vapor de agua saturado a 37 °C (grados Celsius).

Después, el medio de cultivo para cultivar la célula arriba descrita se cambió a 1 ml de un medio BSO complementado con un BSO inhibidor de biosíntesis de glutatión (L-butionina-(S,R)-sulfoximina, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) al  $1 \times 10^{-3}\%$ , donde se llevó a cabo el cultivo durante aproximadamente 24 horas en una atmósfera de un 5% de CO<sub>2</sub> y vapor de agua saturado a 37 °C (grados Celsius). El medio BSO arriba descrito se preparó mediante una dilución por un factor 200 de una solución madre que contenía un 0,2% de BSO disuelto en alcohol etílico con el medio normal arriba descrito.

#### Adición de aminoácido antes de la irradiación ultravioleta

Para determinar el efecto de la adición de metionina antes de la irradiación ultravioleta (en adelante, designada como "adición de metionina previa a la irradiación"), el medio de cultivo se cambió a un medio BSO con adición de L-metionina (131-01603, Wako Pure Chemical Industries Ltd.) o de D-metionina (2807, Peptide Institute Inc.) de 0,0001 a 100 µM (micromolar) 24 horas antes de la irradiación. La irradiación ultravioleta después de cambiar a un medio con adición de D-prolina (165-14671, Wako Pure Chemical Industries Ltd.) 0,1 µM (micromolar) se empleó como un control positivo, mientras que la irradiación ultravioleta del medio todavía libre de dicho aminoácido añadido se empleó como un control negativo.

#### Medio de irradiación UV

En un agua destilada se disolvió cloruro férrico (II) al  $2 \times 10^{-3}\%$  y la solución resultante se sometió a una dilución por un factor 200 (concentración final:  $1 \times 10^{-5}\%$ ) con una solución tampón de fosfatos PBS (+) que contenía ion de calcio e ion de magnesio para obtener un medio (en adelante, designado como "medio de irradiación UV"), que se calentó preliminarmente a 37 °C antes de su uso.

#### Irradiación UV

Antes de la irradiación UV-A, el medio de cultivo se sustituyó con 1 ml del medio de irradiación UV arriba descrito. La irradiación UV-A se llevó a cabo utilizando un dispositivo de exposición uniforme a luz UV UVE-502S+EL-160 (SAN-EI ELECTRIC) mediante irradiación de un rayo UV de 320 nm a 400 nm, a 8 J/cm<sup>2</sup> y 9 J/cm<sup>2</sup>, desde aproximadamente 20 cm por encima de un plato de cultivo en un estado en el que la tapa del plato de cultivo respectivo estaba quitada. La dosis de UV se midió utilizando un UV RADIOMETER UVR-3036/S (Topcon Corporation).

#### Adición de aminoácido después de la irradiación ultravioleta

Después de la irradiación UV-A a 8 J/cm<sup>2</sup>, el medio se repuso al medio normal arriba descrito, y el cultivo se llevó a cabo en una atmósfera de un 5% de CO<sub>2</sub> y vapor de agua saturado a 37 °C (grados Celsius) durante 40 horas. Para determinar el efecto de la adición de metionina después de la irradiación UV (en adelante, designada como "adición de metionina posterior a la irradiación"), a este medio cultivado durante 40 horas se le añadió L-metionina o D-metionina 100 µM (micromolar). La irradiación ultravioleta después de cambiar a un medio con adición de D-prolina 0,1 µM (micromolar) se empleó como un control positivo, mientras que la irradiación ultravioleta del medio todavía libre de dicho aminoácido añadido se empleó como un control negativo.

#### Medición del daño celular de adiciones previas y posteriores a la irradiación

Posteriormente, el medio de cultivo se complementó con Alamar Blue (marca registrada, Biosource, Biosource International Inc. e Invitrogen) en una concentración final de un 10%, y tres horas después se determinó la intensidad de fluorescencia de su sobrenadante con una longitud de onda de excitación de 544 nm y una longitud de onda de fluorescencia de 590 nm conforme a la descripción de Ahmed S.A. et al. J. Immunol. Method. 170, 211-224 (1994) y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El porcentaje de las células viables se obtuvo como un porcentaje de un cociente calculado dividiendo la intensidad de fluorescencia de Alamar Blue bajo cada condición experimental por la intensidad de fluorescencia en el grupo de control negativo, que no contenía aminoácido añadido.

#### Resultados de la adición de metionina previa a la irradiación (1)

La Figura 1 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la L-metionina o la D-metionina en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces bajo las mismas condiciones. El asterisco (\*) indica P < 5%, los asteriscos (\*\*) indican P < 1% y los asteriscos (\*\*\*) indican P < 0,1% en el test de Bonferroni/Dunn.

El porcentaje de las células viables en ausencia del aminoácido añadido antes de la irradiación UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup> (control negativo) era de un 24%. El porcentaje de las células viables en presencia de la D-prolina añadida en una concentración 0,1 µM (micromolar) antes de la irradiación (control positivo) era de un 100%, lo que demostraba la supresión de la muerte celular. La adición de D-metionina previa a la irradiación en concentraciones 0,01 µM (micromolar), 0,1 µM (micromolar), 1 µM (micromolar), 10 µM (micromolar) o 100 µM (micromolar) resultó en porcentajes de las células viables de un 102%, 81%, 97%, 114% o 76%, respectivamente. La adición de L-metionina previa a la irradiación en concentraciones 0,001 µM (micromolar), 0,01 µM (micromolar), 0,1 µM (micromolar), 1 µM (micromolar), 10 µM (micromolar) o 100 µM (micromolar) resultó en porcentajes de las células viables de un 40%, 72%, 67%, 45%, 73% o 62%. Sobre la base de estos resultados, la adición de L-metionina o D-metionina condujo a un aumento del porcentaje de las células viables y a una reducción de la muerte celular.

#### Resultados de la adición de metionina previa a la irradiación (2)

La Figura 2 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la D-metionina en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos de tres a cuatro veces bajo las mismas condiciones. El asterisco (\*) indica p < 5% en el test de Bonferroni/Dunn.

El porcentaje de las células viables sin irradiación UV y sin aminoácido añadido (en adelante, designado como "no irradiado con UV") era de un 100%. El porcentaje de las células viables en ausencia del aminoácido añadido antes de la irradiación UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup> (control negativo) era de un 69%. El porcentaje de las células viables en presencia de la D-prolina añadida en una concentración 0,1 µM antes de la irradiación (control positivo) era de un 88%, lo que demostraba la reducción de la muerte celular. La adición de D-metionina previa a la irradiación en concentraciones 0,0001 µM (micromolar) y 0,1 µM (micromolar) resultó en porcentajes de las células viables de un 50% y el 101%. Sobre la base de estos resultados, la adición de D-metionina en una concentración 0,0001 µM (micromolar) no condujo a ningún aumento del porcentaje de las células viables, pero la adición de D-metionina en una concentración 0,1 µM (micromolar) condujo a un aumento del porcentaje de las células viables y a una reducción de la muerte celular.

#### Resultados de la adición de metionina posterior a la irradiación

La Figura 3 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la D-metionina en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 8 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces bajo las mismas condiciones. Los asteriscos (\*\*\*) indican p < 0,1% en el test de Bonferroni/Dunn.

El porcentaje de las células viables en ausencia del aminoácido añadido después de la irradiación UV-A a 8 J/cm<sup>2</sup> (control negativo) era de un 64%. El porcentaje de las células viables en presencia de la D-prolina añadida en una concentración 0,1 µM (micromolar) después de la irradiación era de un 82%, lo que demostraba la reducción de la muerte celular. La adición de D-metionina posterior a la irradiación en concentraciones 0,01 µM (micromolar), 0,1 µM (micromolar), 1 µM (micromolar), 10 µM (micromolar) o 100 µM (micromolar) resultó en porcentajes de las células viables de un 93%, 84%, 82%, 81% o aproximadamente 87%. Sobre la base de estos resultados, la adición de D-metionina condujo a un aumento del porcentaje de las células viables y a una reducción de la muerte celular. También se puso de manifiesto que el efecto reductor de la muerte celular se observaba independientemente del momento de la adición de la D-metionina, antes o después de la irradiación UV. Además, la L-metionina también reducía la muerte celular inducida por la irradiación UV. Por consiguiente, esto sugería que no tenía importancia el momento en el que se añadía la L-metionina, antes o después de la irradiación UV.

#### Ejemplo 2 (no correspondiente a la invención)

Efecto mitigador de la serina en daños inducidos por irradiación ultravioleta

#### Métodos

El cultivo celular, la adición de aminoácidos antes de la irradiación UV, la irradiación UV, la adición de aminoácidos después de la irradiación UV y la medición del daño celular se llevaron a cabo de modo similar al Ejemplo 1. La luz ultravioleta (UV-A) se irradió a 7,5 o 9 J/cm<sup>2</sup>. Para determinar el efecto de la adición de serina antes de la irradiación

ultravioleta (en adelante, designada como "adición de serina previa a la irradiación") y el efecto de la adición de serina después de la irradiación ultravioleta (en adelante, designada como "adición de serina posterior a la irradiación"), se emplearon L-serina (197-00403, Wako Pure Chemical Industries Ltd.) y D-serina (197-08823, Wako Pure Chemical Industries Ltd.) en concentraciones de 0,0001 a 100  $\mu\text{M}$  (micromolar). El efecto de la adición de serina posterior a la irradiación se evaluó irradiando la célula con 7,5  $\text{J}/\text{cm}^2$  de UV-A, cambiando a continuación de vuelta al medio de cultivo normal en el que se llevó a cabo el cultivo durante 21 horas, y añadiendo D-serina a este medio de cultivo de 21 horas.

#### Resultados de la adición de serina previa a la irradiación (1)

La Figura 4 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la adición de L-serina y D-serina previa a la irradiación en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 9  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos de cuatro a seis veces bajo las mismas condiciones. El asterisco (\*) indica  $p < 5\%$  en el test de Bonferroni/Dunn.

La intensidad de fluorescencia de Alamar Blue (marca registrada) sin irradiación ultravioleta era de 794. La intensidad de fluorescencia sin aminoácido añadido antes de la irradiación UV-A a 9  $\text{J}/\text{cm}^2$  (control negativo) era de 140. La intensidad de fluorescencia con D-prolina añadida en una concentración 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar) antes de la irradiación (control positivo) llegaba a 610, lo que indicaba una reducción del daño celular. Las intensidades de fluorescencia con D-serina añadida en concentraciones 0,01  $\mu\text{M}$  (micromolar), 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar), 1  $\mu\text{M}$  (micromolar) y 10  $\mu\text{M}$  (micromolar) antes de la irradiación eran de 445, 402, 371 y 491, respectivamente. Las intensidades de fluorescencia con L-serina añadida en concentraciones 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar), 1  $\mu\text{M}$  (micromolar) y 10  $\mu\text{M}$  (micromolar) antes de la irradiación eran de 265, 227 y 270, respectivamente. Sobre la base de estos resultados, la adición de L-serina previa a la irradiación prácticamente no produjo ninguna reducción del daño celular. En cambio, la adición de D-serina previa a la irradiación condujo a un aumento estadísticamente significativo de la intensidad de fluorescencia, lo que demostraba una reducción del daño celular.

#### Resultados de la adición de serina previa a la irradiación (2)

La Figura 5 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la adición de D-serina previa a la irradiación en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 8  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos cuatro veces bajo las mismas condiciones. El asterisco (\*) indica  $p < 5\%$  en el test de Bonferroni/Dunn.

El porcentaje de las células viables sin irradiación ultravioleta era de un 100%. El porcentaje de las células viables en ausencia del aminoácido añadido antes de la irradiación UV-A a 8  $\text{J}/\text{cm}^2$  (control negativo) era de un 77%. Los porcentajes de las células viables en presencia de la D-serina añadida en concentraciones 0,0001  $\mu\text{M}$  (micromolar), 0,01  $\mu\text{M}$  (micromolar) y 10  $\mu\text{M}$  (micromolar) antes de la irradiación eran de un 74%, 92% y 93%, respectivamente. Sobre la base de estos resultados, el daño celular inducido por ultravioletas se caracterizaba por el hecho de que la adición de D-serina en una concentración 0,0001  $\mu\text{M}$  (micromolar) resultaba en un aumento del porcentaje de las células viables, y la adición de D-serina en concentraciones 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar) y 10  $\mu\text{M}$  (micromolar) resultaba en un aumento del porcentaje de las células viables, lo que indicaba una reducción de la muerte celular.

#### Resultados de la adición de serina posterior a la irradiación

La Figura 6 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la adición de D-serina posterior a la irradiación en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 7,5  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos ocho veces bajo las mismas condiciones. El asterisco (\*) indica  $p < 5\%$  en el test de Bonferroni/Dunn.

La intensidad de fluorescencia de Alamar Blue (marca registrada) sin irradiación ultravioleta era de 764. La intensidad de fluorescencia sin aminoácido añadido después de la irradiación UV-A a 7,5  $\text{J}/\text{cm}^2$  (control negativo) era de 348. La intensidad de fluorescencia con adición de D-prolina en una concentración 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar) después de la irradiación (control positivo) llegaba a 579, lo que indicaba una reducción del daño celular. Las intensidades de fluorescencia con adición de D-serina en concentraciones 0,01  $\mu\text{M}$  (micromolar), 0,1  $\mu\text{M}$  (micromolar), 1  $\mu\text{M}$  (micromolar), 10  $\mu\text{M}$  (micromolar) y 100  $\mu\text{M}$  (micromolar) después de la irradiación eran de 697, 735, 742, 664 y 663, respectivamente. Sobre la base de estos resultados, la adición de D-serina posterior a la irradiación condujo a un aumento estadísticamente significativo de la intensidad de fluorescencia, lo que demostraba una reducción del daño celular. También se puso de manifiesto que el efecto reductor del daño celular se obtenía independientemente del momento de la adición de la D-serina, antes o después de la irradiación UV.

Ejemplo 3 (no correspondiente a la invención)

Efecto mitigador de la D-cicloserina en daños inducidos por irradiación ultravioleta

5 Métodos

El cultivo celular, la adición de aminoácidos antes de la irradiación UV, la irradiación UV, la adición de aminoácidos después de la irradiación UV y la medición del daño celular se llevaron a cabo de modo similar al Ejemplo 1. La luz ultravioleta (UV-A) se irradió a 9 J/cm<sup>2</sup>. Para determinar el efecto de la adición de D-cicloserina antes de la irradiación ultravioleta (en adelante, designada como "adición de cicloserina previa a la irradiación"), se empleó D-cicloserina (C6880, Sigma) en una concentración de 0,0001 a 100 µM.

Resultados de la adición de D-cicloserina previa a la irradiación

15 La Figura 7 muestra los resultados del experimento que examina el efecto de la adición de D-cicloserina previa a la irradiación en los daños inducidos en el fibroblasto por la irradiación ultravioleta con los UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup>. Las barras de error para condiciones experimentales relevantes son las desviaciones estándar de los valores medidos de los resultados de los experimentos repetidos de tres a cuatro veces bajo las mismas condiciones. El símbolo (+) y los asteriscos (\*\*\*) indican p < 10% y p > 0,1%, respectivamente, en el test de Bonferroni/Dunn.

20 El porcentaje de las células viables sin adición de aminoácido antes de la irradiación UV-A a 9 J/cm<sup>2</sup> (control negativo) era de un 53%. El porcentaje de las células viables con D-cicloserina añadida en concentraciones 0,1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 µM (micromolar), 10 µM (micromolar) y 100 µM (micromolar) antes de la irradiación era de un 60%, 60%, 63%, 74%, 69% y 109%. Sobre la base de estos resultados, la adición de D-cicloserina condujo a un mayor porcentaje de las células viables, lo que indicaba una reducción de la muerte celular.

30 Sobre la base de la presente invención, más abajo se muestran los ejemplos de formulación que comprenden D-metionina una formulación en emulsión, una formulación en parche, un comprimido, una cápsula blanda, un gránulo, bebida, un caramelo, una galleta, pasta de miso, una salsa vinagreta, una mayonesa, un pan francés, una salsa de soja, yogur, polvo seco de condimento para arroz, salsa de condimento/salsa para *natto* (pasta de soja fermentada japonesa), *natto*, vinagre negro sin refinar, crema, crema corporal, una formulación en gel, una mascarilla exfoliante, una compresa húmeda, una emulsión, una loción facial y una formulación en aerosol. En los siguientes Ejemplos de Formulación, la metionina estaba en forma D. Estos ejemplos de formulación se enumeran únicamente con fines de ejemplificación y no están concebidos para limitar el alcance de la invención.

35 Ejemplo de Formulación 1 (formulación en emulsión)

(Composición)	Contenido (% en masa)
40 Metionina	0,42
Alcohol behenílico	0,2
Cetanol	0,5
Monoéster de ácido graso y glicerina	1,8
45 Aceite de ricino hidrogenado POE (60)	1,0
Vaselina blanca	2,0
Parafina líquida	10,0
Miristato de isopropilo	3,0
Metil polisiloxano (6cs)	1,5
Glicerina conc.	13,0
50 Dipropilenglicol	2,0
Polímero de carboxivinilo	0,25
Hialuronato de sodio	0,005
Hidróxido de potasio	Según corresponda
Ácido láctico	Según corresponda
55 Edetato de sodio	Según corresponda
Etilparabeno	Según corresponda
Agua depurada	Resto
	100,00

60 Ejemplo de Formulación 2 (formulación en parche)

(Composición)	Contenido (% en masa)
Metionina	0,3
65 Ácido poliacrílico	3,0

ES 2 677 618 T3

	Poliacrilato de sodio	2,5
	Gelatina	0,5
	Carboximetil celulosa sódica	4,0
	Alcohol polivinílico	0,3
5	Glicerina conc.	14,0
	1,3-butilenglicol	12,0
	Hidróxido de aluminio	0,1
	Edetato de sodio	0,03
	Metilparabeno	0,1
10	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 3 (comprimido) (no correspondiente a la invención)

	(Composición)	Contenido (mg/comprimido)
15	D-serina y/o D-cicloserina	360,5
	Lactosa	102,4
	Carboximetil celulosa cálcica	29,9
	Hidroxipropil celulosa	6,8
20	Estearato de magnesio	5,2
	Celulosa cristalina	10,2
		515,0

Ejemplo de Formulación 4 (comprimido) (no correspondiente a la invención)

	(Composición)	Contenido (mg/comprimido)
	Éster de sacarosa	70
	Celulosa cristalina	74
	Metil celulosa	36
30	Glicerina	25
	D-serina y/o D-cicloserina	475
	N-acetilglucosamina	200
	Ácido hialurónico	150
	Vitamina E	30
35	Vitamina B6	20
	Vitamina B2	10
	Ácido $\alpha$ (alfa) -lipoico	20
	Coenzima Q10	40
	Ceramida (extracto de Konjac)	50
40	L-prolina	300
		1.500

Ejemplo de Formulación 5 (cápsula blanda) (no correspondiente a la invención)

	(Composición)	Contenido (mg/cápsula)
45	Aceite de soja comestible	530
	Extracto de <i>Eucommia ulmoides</i>	50
	Extracto de <i>ginseng</i>	50
	D-serina y/o D-cicloserina	100
50	Jalea real	50
	Maca	30
	GABA	30
	Cera de abejas	60
	Gelatina	375
55	Glicerina	120
	Éste de ácido graso y glicerina	105
		1.500

Ejemplo de Formulación 6 (cápsula blanda) (no correspondiente a la invención)

	(Composición)	Contenido (mg/cápsula)
60	Aceite de germen de arroz pardo	659
	D-serina y/o D-cicloserina	500
65	Resveratrol	1

ES 2 677 618 T3

	Extracto de germen de loto	100
	Elastina	180
	ADN	30
	Ácido fólico	30
5		1.500
	Ejemplo de Formulación 7 (gránulo) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (mg/compresa)
10	D-serina y/o D-cicloserina	400
	Vitamina C	100
	Isoflavona de soja	250
	Lactosa reducida	300
	Oligosacárido de soja	36
15	Eritritol	36
	Dextrina	30
	Agente aromatizante	24
	Ácido cítrico	24
		1.200
20	Ejemplo de Formulación 8 (bebida) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (g/60 ml)
25	Extracto de <i>Eucommia ulmoides</i>	1,6
	Extracto de <i>ginseng</i>	1,6
	D-serina y/o D-cicloserina	1,6
	Jarabe de maltosa reducida	28
	Eritritol	8
	Ácido cítrico	2
30	Agente aromatizante	1,3
	N-acetilglucosamina	1
	Hialuronato de sodio	0,5
	Vitamina E	0,3
	Vitamina B6	0,2
35	Vitamina B2	0,1
	Ácido $\alpha$ (alfa) -lipoico	0,2
	Coenzima Q10	1,2
	Ceramida (extracto de Konjac)	0,4
	L-prolina	2
40	Agua depurada	Resto
		60
	Ejemplo de Formulación 9 (caramelo) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (% en masa)
45	Azúcar	50
	Jarabe	48
	D-serina y/o D-cicloserina	1
	Agente aromatizante	1
50		100
	Ejemplo de Formulación 10 (galleta) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (% en masa)
55	Harina débil	45,0
	Mantequilla	17,5
	Azúcar granulado	20,0
	D-serina y/o D-cicloserina	4,0
	Huevo	12,5
60	Agente aromatizante	1,0
		100,0
	Método para producir el Ejemplo de Formulación 10 (galleta)	

65

El azúcar granulado se añadió en porciones a la mantequilla bajo agitación, luego se añadieron y se mezclaron un huevo, D-serina y/o D-cicloserina junto con un agente aromatizante. Después de mezclar a fondo se añadió harina débil uniformemente tamizada y luego se agitó lentamente, y se dejó reposar como una masa en un refrigerador. A continuación se moldeó y se coció al horno durante 15 minutos a 170 °C (grados Celsius) para obtener una galleta.

5 Ejemplo de Formulación 11 (pasta de miso (soja)) (no correspondiente a la invención)

(Composición)	Contenido (g)
10 Semilla de soja	1.000
Arroz malteado	1.000
Sal	420
D-serina y/o D-cicloserina	158
Agua	Resto
15	4.000

Método para producir el Ejemplo de Formulación 11 (pasta de miso (soja))

20 El arroz malteado se mezcla a fondo con una sal. Las semillas de soja lavadas se ponen en remojo en tres veces su volumen de agua, que después se escurre y se añade agua nueva en ebullición, y se vierte en un colador para recoger el caldo (líquido de *tanemizu*), en el que se disuelve D-serina y/o D-cicloserina al 10% p/v. Las semillas hervidas se pican inmediatamente, combinadas con arroz malteado mezclado con sal, y después se añade el líquido de *tanemizu* arriba descrito que contiene D-serina y/o D-cicloserina disueltas en el mismo, y se amasa uniformemente para obtener una dureza similar a la de la arcilla. Se preparan bolas de masa y se introducen de forma compacta en un recipiente sin dejar ningún hueco, y la superficie del contenido se alisa y se cierra herméticamente envolviéndola con una película de plástico. Tres meses después, el contenido se transfiere a un nuevo recipiente y la superficie se alisa y se cierra herméticamente envolviéndola con una película de plástico. En lugar de añadir D-serina y/o D-cicloserina al líquido de *tanemizu*, se puede emplear un arroz malteado que produce una gran cantidad de D-serina y/o D-cicloserina. Dicho arroz malteado se puede seleccionar cuantificando la D-serina y/o la D-cicloserina mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada n° 2008-185558. Alternativamente, una pasta de miso comercialmente disponible se puede complementar con D-serina y/o D-cicloserina o con una sal de las mismas.

Ejemplo de Formulación 12 (salsa vinagreta) (no correspondiente a la invención)

(Composición)	Contenido (g)
35 Aceite de ensalada	27,0
Vinagre	30,0
Cloruro de sodio	0,9
40 D-serina y/o D-cicloserina	1,1
Pimienta	1,0
	60,0

Método para producir el Ejemplo de Formulación 12 (salsa vinagreta)

45 El vinagre se combina con cloruro de sodio y con D-serina y/o D-cicloserina, se agita a fondo y después se añade la pimienta.

Ejemplo de Formulación 13 (mayonesa) (no correspondiente a la invención)

(Composición)	Contenido (g)
50 Aceite de ensalada	134,0
Vinagre	5
Cloruro de sodio	0,9
55 D-serina y/o D-cicloserina	1
Yema de huevo	18
Azúcar	0,2
Pimienta	0,9
	160,0

60 Método para producir el Ejemplo de Formulación 13 (mayonesa)

Una yema de huevo (a temperatura ambiente) se combina con vinagre, cloruro de sodio y pimienta, así como con D-serina y/o D-cicloserina, y se agita a fondo utilizando una batidora. La agitación continúa mientras se añade el aceite de ensalada en porciones para formar una emulsión. Finalmente se añade el azúcar y la mezcla se agita.

65

Ejemplo de Formulación 14 (pan francés) (no correspondiente a la invención)

5	(Composición)	Contenido (g)
	Harina de fuerza	140
	Harina débil	60
	Cloruro de sodio	3
	Azúcar	6
10	D-serina y/o D-cicloserina	2
	Levadura seca	4
	Agua tibia	128
		343

Método para producir el Ejemplo de Formulación 14 (pan francés)

15 El agua tibia se combina con 1 g de azúcar y levadura seca, y después se deja que ésta experimente una prefermentación. En un cuenco se disponen la harina de fuerza, la harina débil, el cloruro de sodio y 5 g de azúcar, junto con D-serina y/o D-cicloserina, y se introduce la levadura prefermentada. Después de amasar a fondo para obtener una masa en forma de bola, se lleva a cabo una fermentación primaria a 30 °C. La masa se amasa de nuevo y se deja reposar, y después se conforma en formas adecuadas, que se someten a una fermentación final utilizando una máquina de fermentación electrónica. Después de formar cortes, se lleva a cabo una cocción durante 30 minutos en un horno a 220 °C (grados Celsius).

Ejemplo de Formulación 15 (salsa de soja) (no correspondiente a la invención)

25	(Composición)	Contenido (g)
	Salsa de soja comercialmente disponible	900
	D-serina y/o D-cicloserina	100
30		1.000

Método para producir el Ejemplo de Formulación 15 (salsa de soja)

35 La salsa de soja comercialmente disponible se complementa con D-serina y/o D-cicloserina, y se agita a fondo. En lugar de añadir D-serina y/o D-cicloserina o una sal de las mismas, para fermentar la salsa de soja se puede emplear un arroz malteado que produzca una gran cantidad de D-serina y/o D-cicloserina. Dicho arroz malteado se puede seleccionar cuantificando la D-serina y/o la D-cicloserina mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada n° 2008-185558.

Ejemplo de Formulación 16 (yogur) (no correspondiente a la invención)

40	(Composición)	Contenido (g)
	Leche	880
	L. bulgaricus	50
45	S. thermophilus	50
	D-serina y/o D-cicloserina	20
		1.000

Método para producir el Ejemplo de Formulación 16 (yogur)

50 La fermentación de lleva a cabo a una temperatura de 40 °C (grados Celsius) a 45 °C (grados Celsius). También es posible emplear otros organismos de semilla de fermentación comercialmente disponibles y complementar yogur comercialmente disponible con D-serina y/o D-cicloserina. En lugar de añadir D-serina y/o D-cicloserina o una sal de las mismas, para la fermentación se puede emplear un organismo que produzca una gran cantidad de D-serina y/o D-cicloserina. Dicho organismo se puede seleccionar cuantificando la D-serina y/o la D-cicloserina mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada n° 2008-185558.

Ejemplo de Formulación 17 (polvo seco de condimento para arroz) (no correspondiente a la invención)

60	(Composición)	Contenido (g)
	D-serina y/o D-cicloserina	50
	Laver	15
	L-glutamato de sodio	10
65	Cloruro de sodio	2

	Sésamo tostado	10
	Escamas de caballa secas	10
	Azúcar	1
	Salsa de soja	2
5		100
	Ejemplo de Formulación 18 (condimento, salsa para <i>natto</i> ) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (g)
10	Salsa comercialmente disponible para <i>natto</i>	9
	D-serina y/o D-cicloserina	1
		10
	Ejemplo de Formulación 19 ( <i>natto</i> ) (no correspondiente a la invención)	
15	(Composición)	Contenido (g)
	<i>Natto</i> comercialmente disponible	19,9
	D-serina y/o D-cicloserina	0,1
		20
20	Método para producir el Ejemplo de Formulación 19 ( <i>natto</i> )	
25	En lugar de añadir D-serina y/o D-cicloserina o una sal de las mismas, para producir <i>natto</i> se puede emplear un organismo que produzca una gran cantidad de D-serina y/o D-cicloserina. Dicho organismo se puede seleccionar cuantificando la D-serina y/o la D-cicloserina mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada nº 2008-185558.	
	Ejemplo de Formulación 20 (vinagre negro sin refinar) (no correspondiente a la invención)	
30	(Composición)	Contenido (g)
	Vinagre negro sin refinar comercialmente disponible	900
	D-serina y/o D-cicloserina	100
		1.000
35	Método para producir el Ejemplo de Formulación 20 (vinagre negro sin refinar)	
40	En lugar de añadir D-serina y/o D-cicloserina o una sal de las mismas, para producir vinagre, vinagre negro o vinagre sin refinar se puede emplear un organismo que produzca una gran cantidad de D-serina y/o D-cicloserina. Dicho organismo se puede seleccionar cuantificando la D-serina y/o la D-cicloserina mediante el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada nº 2008-185558.	
	Ejemplo de Formulación 21 (crema)	
	(Composición)	Contenido (%)
45	Parafina líquida	3
	Vaselina	1
	Dimetil polisiloxano	1
	Alcohol estearílico	1,8
	Alcohol behenílico	1,6
50	Glicerina	8
	Dipropilenglicol	5
	Aceite de nuez de macadamia	2
	Aceite hidrogenado	3
	Escualano	6
55	Ácido esteárico	2
	Hidroxiestearato de colesterol	0,5
	2-etilhexanoato de cetilo	4
	Aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno	0,5
	Monoestearato de glicerina autoemulsionado	3
60	Hidróxido de potasio	0,15
	Hexametáfosfato de sodio	0,05
	Trimetil glicina	2
	Sal potásica de diéster de ácido L-ascórbico dl-ácido alfa tocoferol fosfórico	1
65		

ES 2 677 618 T3

	Acetato de tocoferol	0,1
	Metionina	4
	Parabeno	Según corresponda
	Edetato trisódico	0,05
5	4-t-butil-4'-metoxibenzoil metano	0,05
	Diparametoxicinamato mono-2-etilhexanoato de glicerilo	0,05
	Colorante	Según corresponda
	Polímero de carboxivinilo	0,05
	Agua depurada	Resto
10		100,00
	Ejemplo de Formulación 22 (crema corporal) (no correspondiente a la invención)	
	(Composición)	Contenido (% en masa)
15	Dimetil polisiloxano	3
	Decametil ciclopentasiloxano	13
	Dodecametil ciclohexasiloxano	12
	Copolímero de polioxietileno - metil polisiloxano	1
	Etanol	2
20	Isopropanol	1
	Glicerina	3
	Dipropilenglicol	5
	Polietilenglicol 6000	5
	Hexametáfosfato de sodio	0,05
25	Acetato de tocoferol	0,1
	D-serina y/o D-cicloserina	5
	Extracto de hinojo	0,1
	Extracto de hamamelis	0,1
	Extracto de <i>ginseng</i>	0,1
30	L-mentol	Según corresponda
	p-oxibenzoato	Según corresponda
	Edetato trisódico	0,05
	Dimorfolinopiridazona	0,01
	Trimetoxicinamato de metilbis(trimetoxisiloxi)sililopentilo	0,1
35	Óxido de hierro amarillo	Según corresponda
	Titanato de cobalto	Según corresponda
	Dimetil diestearil amonio hectolita	1,5
	Alcohol polivinílico	0,1
	Hidroxietil celulosa	0,1
40	Ácido trimetilsiloxi silícico	2
	Perfume	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00
	Ejemplo de Formulación 23 (crema corporal)	
45	(Composición)	Contenido (% en masa)
	Dimetil polisiloxano	3
	Decametil ciclopentasiloxano	13
50	Dodecametil ciclohexasiloxano	12
	Copolímero de polioxietileno - metil polisiloxano	1
	Etanol	2
	Isopropanol	1
	Glicerina	3
55	Dipropilenglicol	5
	Polietilenglicol 6000	5
	Hexametáfosfato de sodio	0,05
	Acetato de tocoferol	0,1
	Metionina	3
60	Extracto de hinojo	0,1
	Extracto de hamamelis	0,1
	Extracto de <i>ginseng</i>	0,1
	L-mentol	Según corresponda
	p-oxibenzoato	Según corresponda
65		

	Edetato trisódico	0,05
	Dimorfolinopiridazinona	0,01
	Trisiloxano trimetoxicinamato de isopentilo	0,1
5	Óxido de hierro amarillo	Según corresponda
	Titanato de cobalto	Según corresponda
	Dimetil diestearil amonio hectolita	1,5
	Alcohol polivinílico	0,1
	Hidroxietil celulosa	0,1
10	Trimetilsiloxisilicato	2
	Perfume	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 24 (formulación en gel)

15	(Composición)	Contenido (% en masa)
	Dimetil polisiloxano	5
	Glicerina	2
20	1,3-butilenglicol	5
	Polietilenglicol 1500	3
	Polietilenglicol 20000	3
	Octanoato de cetilo	3
	Ácido cítrico	0,01
25	Citrato de sodio	0,1
	Hexametafosfato de sodio	0,1
	Glicirricinato dipotásico	0,1
	Metionina	2
	Acetato de tocoferol	0,1
30	Extracto de raíz de Scutellaria	0,1
	Extracto de Saxifraga	0,1
	Edetato trisódico	0,1
	Goma xantana	0,3
	Polímero cruzado de acrilatos/C10-30 acrilato de alquilo (Pemulen TR-2)	0,05
35	Polvo de agar	1,5
	Fenoxietanol	Según corresponda
	Dibutilhidroxitolueno	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 25 (mascarilla exfoliante) (no correspondiente a la invención)

40	(Composición)	Contenido (% en masa)
	Etanol	10
45	1,3-butilenglicol	6
	Polietilenglicol 4000	2
	Aceite de oliva	1
	Aceite de nuez de macadamia	1
50	Ácido fitosteril hidroxisteárico	0,05
	Ácido láctico	0,05
	Lactato de sodio	0,1
	L-ascorbato sulfato disódico	0,1
	Sal potásica de diéster de ácido L-ascórbico dl-ácido alfa tocoferol fosfórico	0,1
55	D-serina y/o D-cicloserina	10
	Colágeno de pescado	0,1
	Sulfato de sodio condroitina	0,1
	Carboximetil celulosa de sodio	0,2
60	Alcohol polivinílico	12
	p-oxibenzoato	Según corresponda
	Perfume	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00

65

Ejemplo de Formulación 26 (mascarilla exfoliante)

(Composición)		Contenido (% en masa)
5	Etanol	10
	1,3-butilenglicol	6
	Polietilenglicol 4000	2
	Aceite de oliva	1
	Aceite de nuez de macadamia	1
10	Ácido fitosteril hidroxisteárico	0,05
	Ácido láctico	0,05
	Lactato de sodio	0,1
	L-ascorbato sulfato disódico	0,1
	Sal potásica de diéster de ácido L-ascórbico dl-ácido alfa tocoferol fosfórico	0,1
15	Metionina	4
	Colágeno de pescado	0,1
	Sulfato de sodio condroitina	0,1
	Carboximetil celulosa de sodio	0,2
20	Alcohol polivinílico	12
	p-oxibenzoato	Según corresponda
	Perfume	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00

25 Ejemplo de Formulación 27 (compresa húmeda)

(Composición)		Contenido (% en masa)
30	Glicerina	1
	1,3-butilenglicol	8
	Xilita	2
	Polietilenglicol 1500	2
	Aceite de romero	0,01
	Aceite de salvia	0,1
35	Ácido cítrico	0,02
	Citrato de sodio	0,08
	Hexametáfosfato de sodio	0,01
	Hidroxipropil-β (beta) -ciclodextrina	0,1
	Metionina	0,5
40	Extracto de abedul	0,1
	Extracto de lavanda	0,01
	Goma xantana	0,05
	Polímero de carboxivinilo	0,15
	p-oxibenzoato	Según corresponda
45	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 28 (emulsión)

(Composición)		Contenido (% en masa)
50	Parafina líquida	7
	Vaselina	3
	Decametil ciclopentasiloxano	2
	Alcohol behenílico	1,5
55	Glicerina	5
	Dipropilenglicol	7
	Polietilenglicol 1500	2
	Aceite de jojoba	1
	Ácido isoesteárico	0,5
60	Ácido esteárico	0,5
	Ácido behénico	0,5
	Tetra (2-etilhexanoato) de pentaeritritol	3
	2-etilhexanoato de cetilo	3
65	Monoestearato de glicerina	1

	Monoestearato de polioxietileno-glicerina	1
	Hidróxido de potasio	0,1
	Hexametáfosfato de sodio	0,05
	Glicirricinato de estearilo	0,05
5	Metionina	1
	Extracto de jalea real	0,1
	Extracto de levadura	0,1
	Acetato de tocoferol	0,1
	Hialuronato de sodio acetilado	0,1
10	Edetato trisódico	0,05
	4-t-butil-4'-metoxidibenzoilmetano	0,1
	Parametoxicinamato de 2-etilhexilo	0,1
	Polímero de carboxivinilo	0,15
	Parabeno	Según corresponda
15	Perfume	Según corresponda
	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 29 (emulsión)

20	(Composición)	Contenido (% en masa)
	Dimetil polisiloxano	2
	Alcohol behenílico	1
	Alcohol batílico	0,5
25	Glicerina	5
	1,3-butilenglicol	7
	Eritritol	2
	Aceite hidrogenado	3
	Escualano	6
30	Tetra (2-etilhexanoato) de pentaeritritol	2
	Polioxietileno gliceril isoestearato	1
	Monoestearato de polioxietileno-glicerina	1
	Metionina	0,3
	Hidróxido de potasio	Según corresponda
35	Hexametáfosfato de sodio	0,05
	Fenoxietanol	Según corresponda
	Polímero de carboxivinilo	0,1
	Agua depurada	Resto
		100,00

40 Ejemplo de Formulación 30 (loción para la piel) (no correspondiente a la invención)

	(Composición)	Contenido (% en masa)
45	Alcohol etílico	5
	Glicerina	1
	1,3-butilenglicol	5
	Éter polioxietileno-polioxipropileno deciltetradecílico	0,2
	Hexametáfosfato de sodio	0,03
	Trimetil glicina	1
50	Ácido sodio poliaspártico	0,1
	Sal potásica de diéster de ácido L-ascórbico dl-ácido alfa tocoferol fosfórico	0,1
	Tiotaurina	0,1
	D-serina y/o D-cicloserina	8
55	EDTA trisódico	0,1
	Polímero de carboxivinilo	0,05
	Hidróxido de potasio	0,02
	Fenoxietanol	Según corresponda
	Perfume	Según corresponda
60	Agua depurada	Resto
		100,00

Ejemplo de Formulación 31 (loción para la piel)

65

## ES 2 677 618 T3

	(Composición)	Contenido (% en masa)
	Alcohol etílico	5
	Glicerina	1
5	1,3-butilenglicol	5
	Éter polioxietileno-polioxipropileno deciltetradecílico	0,2
	Hexametáfosfato de sodio	0,03
	Trimetil glicina	1
	Ácido sodio poliaspártico	0,1
10	Sal potásica de diéster de ácido L-ascórbico dl-ácido alfa tocoferol fosfórico	0,1
	Tiotaurina	0,1
	Metionina	4
	EDTA trisódico	0,1
15	Polímero de carboxivinilo	0,05
	Hidróxido de potasio	0,02
	Fenoxietanol	Según corresponda
	Perfume	Según corresponda
20	Agua depurada	Resto
		100,00

### Ejemplo de Formulación 32 (loción para la piel)

	(Composición)	Contenido (% en masa)
25	Etanol	10
	Dipropilenglicol	1
	Polietilenglicol 1000	1
30	Polietilenmetil glucósido	1
	Aceite de jojoba	0,01
	Tri (2-etilhexanoato) de glicerilo	0,1
	Aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno	0,2
	Diisosteárate de poliglicerilo	0,15
35	N-estearoil L-glutamato de sodio	0,1
	Ácido cítrico	0,05
	Citrato de sodio	0,2
	Hidróxido de potasio	0,4
	Glicirricinato dipotásico	0,1
40	Clorhidrato de arginina	0,1
	Ácido L-ascórbico 2-glucósido	2
	Metionina	0,5
	Edetato trisódico	0,05
	Parametoxicinamato de 2-etilhexilo	0,01
45	Dibutilhidroxitolueno	Según corresponda
	Parabeno	Según corresponda
	Agua de alta mar	3
	Perfume	Según corresponda
50	Agua depurada	Resto
		100,00

### Ejemplo de Formulación 33 (solución madre para preparado externo de urea en aerosol)

	(Composición)	Contenido (% en masa)
55	Etanol	15,0
	Aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 50	1,5
	Difenhidramina	1,0
	Dibucaína	2,0
	Acetato de tocoferol	0,5
60	Metionina	0,1
	Ácido isoesteárico	0,1
	1,3-butilenglicol	3,0
	Polietilenglicol 400	3,0
	Alcanfor	0,05
65	Urea	20,0

# ES 2 677 618 T3

	Agua depurada	Resto
		100,00
	Ejemplo de Formulación 34 (espray de urea en aerosol)	
5	(Composición)	Contenido (% en masa)
	(Solución madre para preparado externo de urea en aerosol)	65,0
	Éter dimetílico	35,0
		100,00

10

Método para el llenado del Ejemplo de Formulación 34 (espray de urea en aerosol)

15

La solución madre para preparado externo de urea en aerosol y el éter dimetílico se cargan en un recipiente de aluminio para aerosol resistente a la presión, cuya superficie interior está revestida con Teflon (marca registrada) para obtener un preparado en aerosol.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición destinada al uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad de la piel inducida por irradiación ultravioleta, comprendiendo dicha composición uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma.
- 10 2. La composición destinada al uso según la reivindicación 1, en la que la enfermedad de la piel se selecciona entre un grupo consistente en eritema, dermatitis solar, dermatopatía actínica crónica, queratosis actínica, queilitis actínica, enfermedad de Favre-Racouchot, fotodermatosis, dermatitis por fotocontacto, dermatitis de Berloque, erupción medicamentosa fotosensible, erupción polimorfa lumínica, hidroa vacciniforme, urticaria solar, dermatitis fotosensible crónica, xerodermia pigmentosa, efélides, porfiria, pelagra, enfermedad de Hartnup, queratosis solar, dermatomiositis, liquen plano, enfermedad de Darier, pitiriasis rubra pilaris, rosácea, dermatitis atópica, cloasma, herpes simple, lupus eritomatoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales y enfermedad de Bowen.
- 15 3. La composición destinada al uso según la reivindicación 1 o 2, que se suministra en forma de un preparado externo para la piel o en forma de un producto alimentario.
- 20 4. Uso no terapéutico de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre un grupo consistente en D-metionina y/o sales de la misma como un agente para mejorar un estado cosmético de la piel inducido por irradiación ultravioleta.
- 25 5. El uso según la reivindicación 4, consistiendo el estado cosmético de la piel en arrugas.
- 30 6. Composición destinada al uso según la reivindicación 1, consistiendo la composición en un agente de filtro solar.
- 35 7. El uso según la reivindicación 4 o 5, o la composición destinada al uso según la reivindicación 6, suministrándose la composición en forma de un preparado externo para la piel o en forma de un producto alimentario.
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

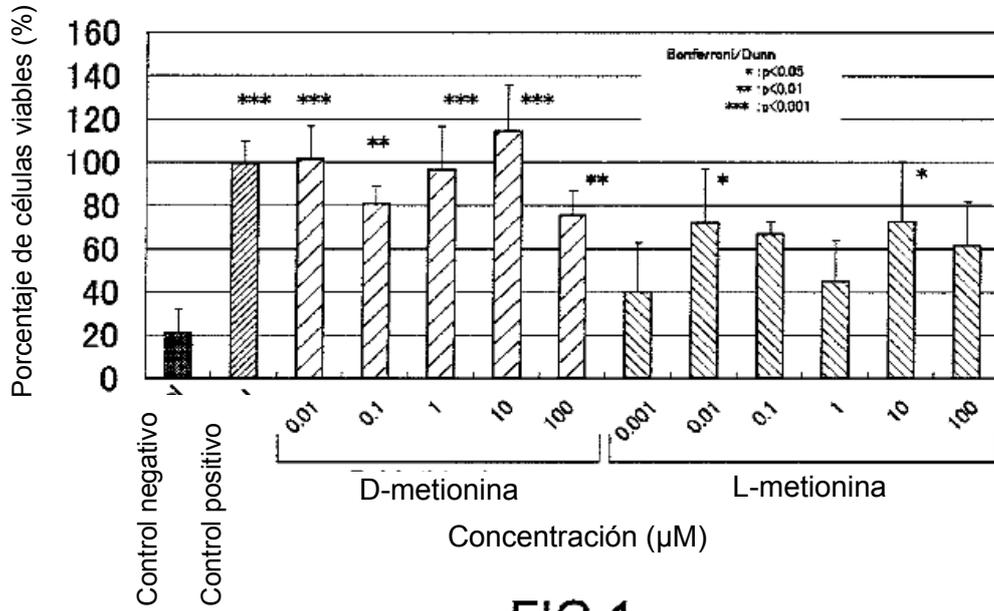


FIG.1

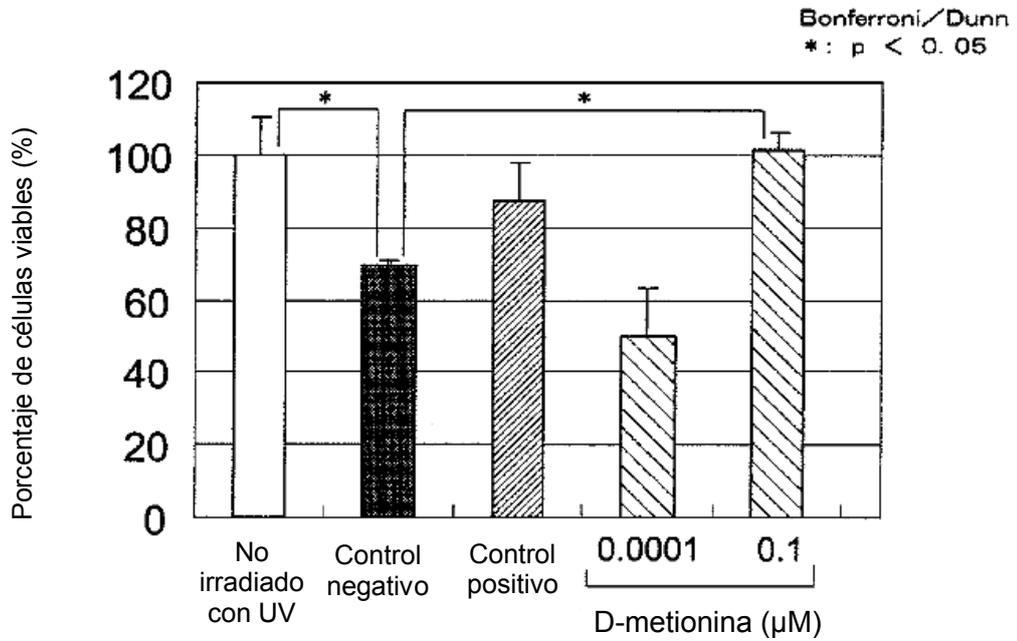


FIG.2

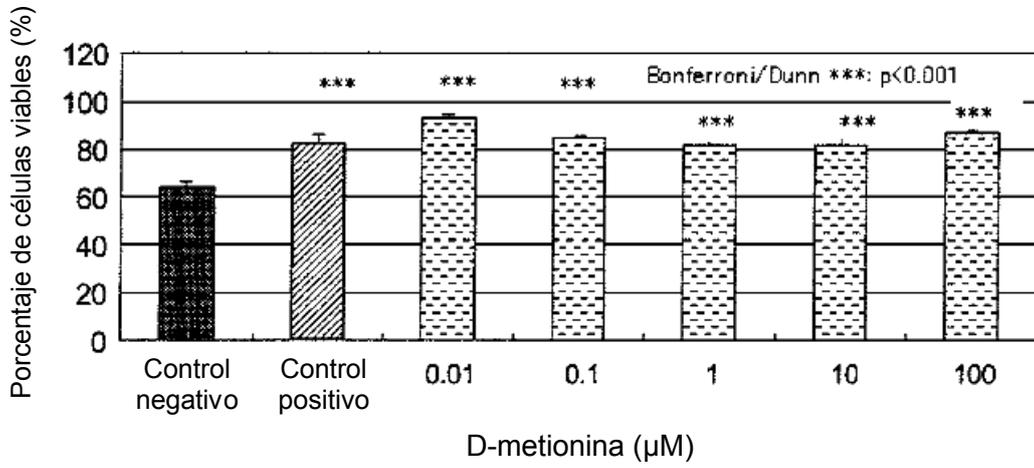


FIG.3

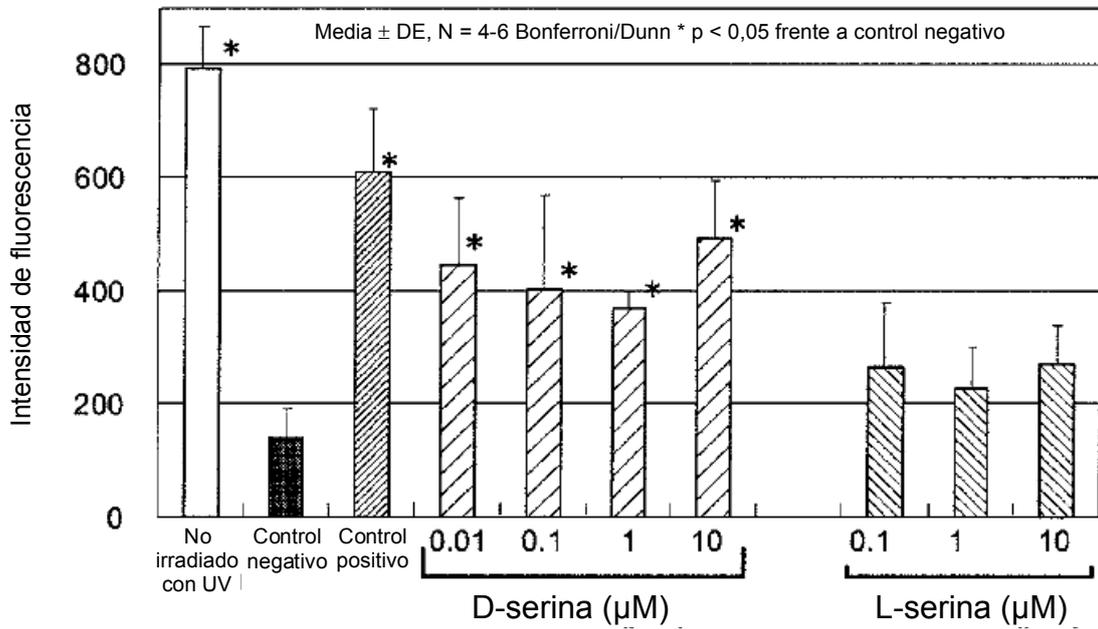


FIG.4

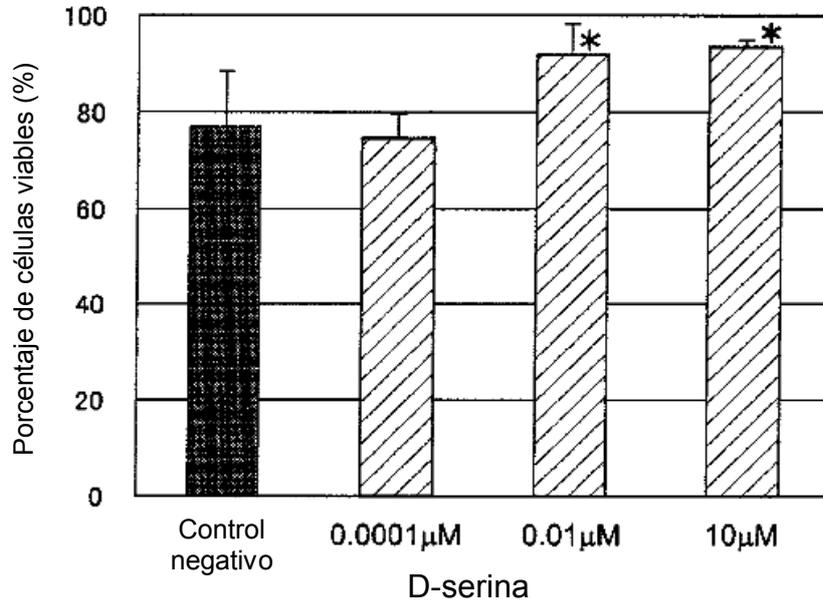


FIG.5

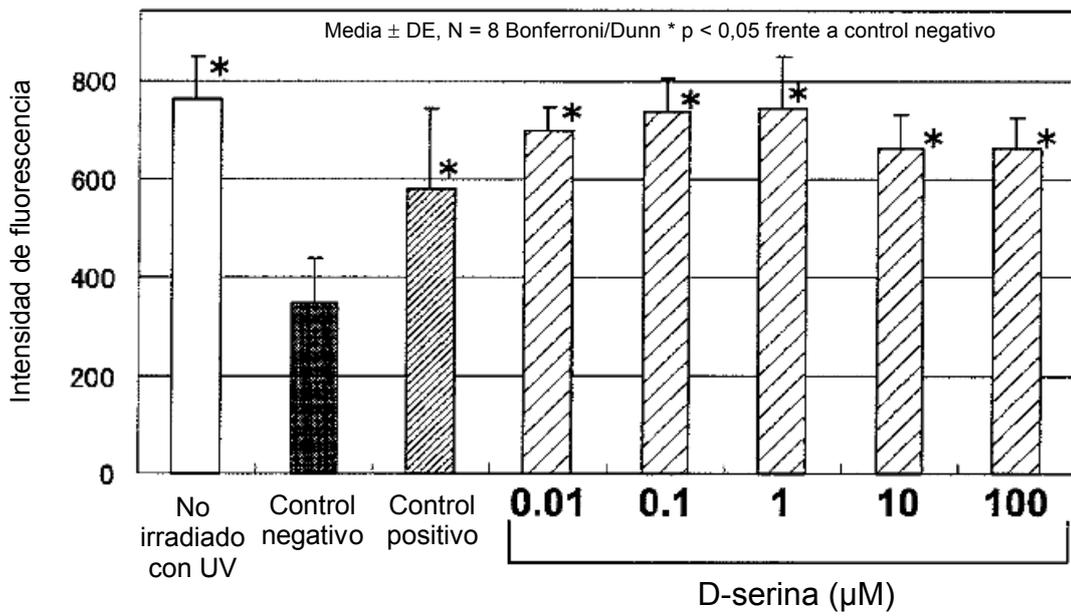


FIG.6

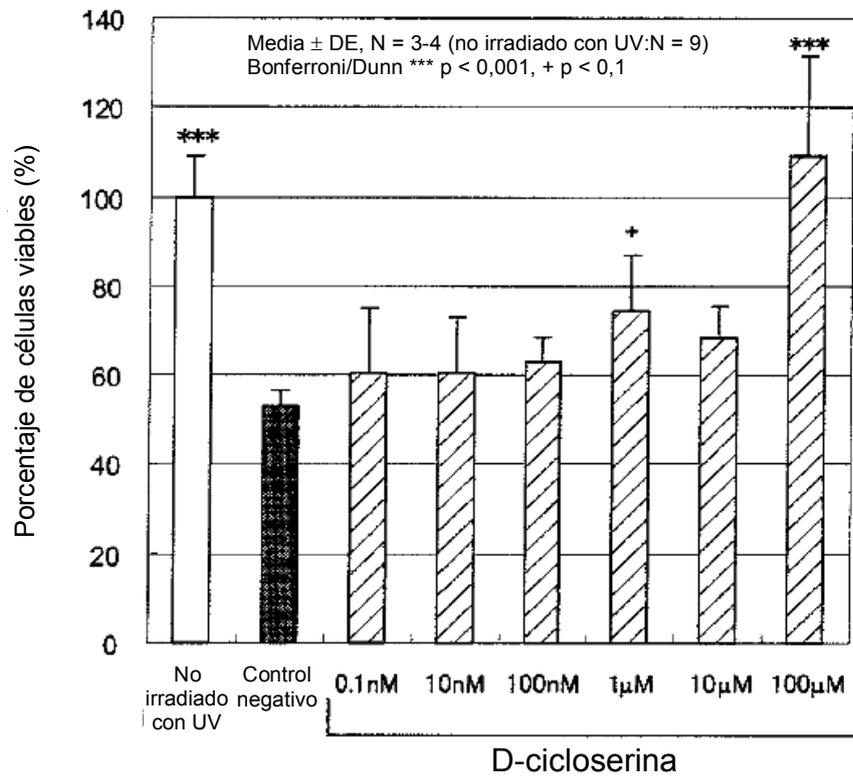


FIG.7