

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
COURBEVOIE

①1 N° de publication : **3 137 583**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **22 06903**

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : **A 61 K 8/970 (2023.01), A 61 K 36/02, A 61 Q 19/00,  
A 61 P 17/00**

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 06.07.22.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 12.01.24 Bulletin 24/02.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : LABORATOIRES DE BIOLOGIE  
VEGETALE YVES ROCHER Société Anonyme — FR.

⑦2 Inventeur(s) : LUBRANO Christian.

⑦3 Titulaire(s) : LABORATOIRES DE BIOLOGIE VEGE-  
TALE YVES ROCHER Société Anonyme.

⑦4 Mandataire(s) : NOVAGRAAF TECHNOLOGIES.

⑤4 UN EXTRAIT DE CELLULES MERISTEMATQUES D'OTANTHUS MARITIMUS ET SES UTILISATIONS,  
NOTAMMENT COSMETIQUES.

⑤7 La présente invention se rapporte à un extrait de cel-  
lules méristématiques d'Otanthus maritimus, ainsi qu'à son  
utilisation cosmétique non thérapeutique.

La présente invention se rapporte également à une com-  
position cosmétique ou dermatologique comprenant l'extrait  
d'Otanthus maritimus, à un procédé de préparation, et à un  
dispositif comprenant l'extrait d'Otanthus maritimus.

FR 3 137 583 - A1



## **Description**

### **Titre de l'invention : UN EXTRAIT DE CELLULES MERISTEMATiques D'OTANTHUS MARITIMUS ET SES UTILISATIONS, NOTAMMENT COSMETIQUES**

#### **Domaine technique**

- [0001] La présente invention se rapporte à l'utilisation cosmétique d'un extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*, ainsi qu'à une composition cosmétique ou dermatologique comprenant l'extrait, et à un procédé et un dispositif impliquant cette composition.
- [0002] La présente invention trouve ses applications notamment dans le domaine de la cosmétique et de la dermatologie, plus particulièrement de la cosmétique cutanée.
- [0003] Dans la description ci-dessous, les références entre crochets ([ ]) renvoient à la liste des références présentées à la fin du texte.

#### **Etat de la technique**

- [0004] La peau est un organe vital à part entière qui se compose de trois tissus distincts, assumant chacun différents rôles grâce à différents types cellulaires et différentes structures.
- [0005] Le tissu le plus en surface et donc le plus exposé est l'épiderme. Cet épithélium pluristratifié (Malpighien) et kératinisé, se compose de différentes cellules associées à de nombreuses fonctions de barrière et de protection. Les cellules majoritaires sont les kératinocytes qui se divisent dans la couche basale et entament leur différenciation jusqu'à la couche cornée (couche la plus externe) puis sont éliminés par desquamation, en 21 à 28 jours, en moyenne. Le rôle majeur de l'épiderme est d'apporter à la peau, et donc au corps humain, une première ligne de protection contre les agressions extérieures, comme les agressions physiques, chimiques, hydriques et bactériologiques. Cette protection est notamment assurée par les couches les plus différenciées et la couche cornée connue pour ses propriétés hydrophobes, son aspect compacte et étanche. Une bonne différenciation et donc une bonne desquamation sont essentielles pour une surface lisse, homogène et régulière. L'ensemble de ces mécanismes dépend directement des capacités prolifératives des kératinocytes. Or, les stress extérieurs et l'âge ralentissent ce processus qui peut alors devenir plus long et plus irrégulier. La desquamation devenant irrégulière et/ou anarchique, des défauts de lissage et d'homogénéité de surface de la peau s'installent.
- [0006] En position intermédiaire, le derme est un tissu conjonctif investi majoritairement de fibroblastes et de protéines matricielles donnant à la peau ses qualités de compressibilité et d'élasticité connues. Les modifications de sa texture et de sa composition

sont largement responsables des altérations de la peau qui surviennent au cours du vieillissement. Le relief de la couche cornée est, par ailleurs, directement conditionné par la qualité et la densité du derme qui la sous-tend. Plus que l'épiderme, dont le renouvellement est rapide et constant, le derme subit des troubles importants liés à l'âge, par le vieillissement de ses cellules et de sa matière. En vieillissant, les fibroblastes sont de moins en moins réactifs et de moins en moins prolifératifs. Avec l'âge, les synthèses des macromolécules de la matrice ne sont plus assurées par les fibroblastes. De plus, ces macro-molécules constitutives du derme telles que les fibres de collagène, les fibres élastiques, les protéoglycanes et les glycosaminoglycanes (acide hyaluronique notamment) ont tendance à dégénérer et à se fragmenter. Leurs réseaux se désorganisent et se réorientent parallèlement à la jonction dermo-épidermique, notamment sous l'action d'enzymes de dégradations des protéines matricielles, les MMP (Matrix Metallo Proteases), aussi appelées collagénases ou élastases. Ces phénomènes d'altération du tissu dermique provoquent en surface un défaut d'organisation de l'épiderme et, d'une façon plus visible et plus directe, une perte de fermeté pouvant aller jusqu'à la ptose cutanée et/ou la formation de rides.

- [0007] Au sein de la trame conjonctive, s'intercalent aussi d'autres cellules et structures, tel un important réseau circulatoire et nutritif, constitué des vaisseaux sanguins et des capillaires lymphatiques, ainsi que les annexes épidermiques : cheveux, poils, ongles, glandes pilosébacées et glandes sudoripares, qui prennent naissance dans le derme profond.
- [0008] L'hypoderme, situé en profondeur et constitué en majeure partie de lobules graisseux (adipocytes), assure une fonction de support primaire, de protection mécanique et thermique et joue aussi un rôle de stockage des réserves énergétiques rapidement mobilisables pour tous les besoins biologiques, comme par exemple le renouvellement cellulaire, la défense de l'organisme ou la contraction musculaire.
- [0009] Le marché des produits cosmétiques, notamment anti-âge, est très important et les attentes des consommateurs sont très élevées. Dans toutes les gammes de produits, les attentes des consommateurs s'orientent de plus en plus vers des produits naturels, efficaces et éco-conçus.
- [0010] De nombreux actifs issus de plantes sont utilisés dans le domaine cosmétique et dermatologique, certains ayant montré une bonne efficacité. Toutefois, un grand nombre de ces actifs proviennent de plantes importées, parfois même menacées. Ainsi, il est de plus en plus nécessaire de développer des actifs ne menaçant pas les ressources naturelles, et s'inscrivant dans un développement durable.
- [0011] Il reste donc un réel besoin de trouver de nouveaux actifs, efficaces sur le plan cosmétique et dermatologique, et compatible avec un développement durable.

### **Description de l'invention**

- [0012] La présente invention a précisément pour but de répondre à ces besoins et inconvénients de l'art antérieur.
- [0013] Les inventeurs sont les tout premiers à utiliser un extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* permettant précisément de répondre efficacement aux besoins précités.
- [0014] *Otanthus maritimus* est en effet une plante locale, que les inventeurs ont mis en culture pour obtenir un actif compatible avec un développement durable.
- [0015] De manière surprenante, les inventeurs ont découvert des effets cosmétiques, notamment anti-âge, apaisant et anti-inflammatoire, de l'extrait de l'invention. En particulier, les inventeurs ont obtenu des résultats sur le renouvellement cellulaire de l'épiderme, sur la fonction barrière, notamment la différenciation kératinocytes, et l'inhibition des médiateurs pro inflammatoires.
- [0016] Ainsi, un premier objet de l'invention se rapporte à un extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*.
- [0017] Un autre objet de l'invention se rapporte à une utilisation cosmétique non thérapeutique de l'extrait d'*Otanthus maritimus* de l'invention.
- [0018] Un autre objet l'invention se rapporte à une composition cosmétique ou dermatologique comprenant un extrait d'*Otanthus maritimus* de l'invention.
- [0019] Un autre objet de l'invention se rapporte à un dispositif se présentant sous une forme choisie parmi un pot, un flacon-pompe, une lingette, un masque, un dispositif transdermique, un patch, un spray, ledit dispositif comprenant une composition cosmétique ou dermatologique de l'invention.
- [0020] Un autre objet de l'invention se rapporte à un procédé de préparation d'une composition cosmétique ou dermatologique de l'invention, comprenant le mélange d'un extrait d'*Otanthus maritimus* de l'invention, et d'un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.
- [0021] *Otanthus maritimus*, également appelé *Achillea maritima* est une plante de la famille des Astéracées. Il s'agit d'une plante vivace à 10 à 30 cm de haut, à odeur aromatique. La tige, couchée à la base puis ascendante, porte de nombreuses petites feuilles sessiles, oblongues, crénelées avec un sommet arrondi, un peu charnues. Les feuilles montrent des adaptations morpho-anatomiques aux conditions écologiques des systèmes dunaires maritimes : des feuilles cotonneuses formant une sorte de manchon tout autour de la tige, qui délimite un espace très serré maintenant une micro-atmosphère humide pour une protection contre le dessèchement et la chaleur, mais qui sert aussi de défense passive contre les herbivores ; une distribution amphistomatique (stomates sur les deux surfaces foliaires) qui pourrait être une adaptation à l'ensablement ; des hydathodes qui excrètent les sels minéraux en excès ; et un mésophylle constitué d'un parenchyme aquifère avec des cellules renfermant une vacuole

riches en mucilages, substances qui absorbent l'eau.

[0022] On entend par « extrait de cellules méristématiques », au sens de la présente invention, une fraction d'*Otanthus maritimus* comprenant ou consistant en au moins un élément choisi parmi des parois cellulaires desdites cellules méristématiques, du contenu cellulaire desdites cellules méristématiques et des cellules méristématiques entières. Avantageusement, l'extrait peut contenir en outre des métabolites d'intérêt ; il peut s'agir par exemple de composés phénoliques comme des acides cafféoyl quiniques tels que l'acide chlorogénique, 3,5-dicafféoylquinique, des composés polaires comme l'acide aspartique et des sucres simples de type glucose ou fructose, ou des composés lipophiles comme les stérols et les terpènes. L'extrait peut être obtenu selon toute méthode connue de l'homme du métier pour isoler des cellules ou fractions cellulaires. Il peut s'agir par exemple d'une lyse d'une culture cellulaire de cellules méristématiques entières d'*Otanthus maritimus*.

[0023] Les cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* peuvent être obtenues à partir de culture *in vitro* de cellules d'*Otanthus maritimus*. Les technologies de culture cellulaires végétales *in vitro* ont débuté en 1939 avec la démonstration de l'obtention de cals qui sont des amas de cellules indifférenciées appelés également cellules méristématiques. Leur production à l'échelle industrielle remonte aux années 1990 (Trevor A. Thorpe. History of plant tissue culture. Molecular biotechnology, 2007, 37, 2, 169-180 ([1])). Le principe consiste, à partir d'un échantillon végétal, à différencier les cellules constitutives de l'échantillon, puis induire ensuite la multiplication cellulaire de ces cellules méristématiques. Le but est d'accroître la biomasse afin que les cellules soient récupérées entières, ou fragmentées avec une concentration importante en métabolites d'intérêt. Ce principe peut être appliqué pour la préparation de l'extrait d'*Otanthus maritimus* comprenant des cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*. Par exemple, les cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* peuvent être obtenues, mises en culture et conservées selon les méthodes décrites dans le document Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: current state and future trends, Regine Eibl & Philipp Meier & Irène Stutz & David Schildberger & Tilo Hühn & Dieter Eibl, Applied Microbiology and Biotechnology (2018) 102:8661–8675 ([2]).

[0024] Par exemple, les cellules méristématiques entières d'*Otanthus maritimus* peuvent être traitées de la manière suivante afin d'obtenir un extrait de cellules méristématiques :

- a) induction d'explants et callogenèse,
- b) stabilisation en milieu solide, le milieu solide pouvant être tout milieu adapté connu de l'homme du métier,
- c) stabilisation de la croissance en milieu liquide, le milieu liquide pouvant être tout milieu adapté connu de l'homme du métier,

d) élicitation, filtration puis lyse,

e) homogénéisation,

f) séchage,

g) mise en suspension de la poudre du lysat en glycérine, la suspension comprenant par exemple de 2 à 5% de matière sèche.

[0025] Avantageusement, l'extrait obtenu à l'étape g) contient tout ou partie des métabolites d'intérêt. Avantageusement, l'extrait peut être dosé en polyphénols totaux exprimés en équivalent cynarine (acide dicaféylquinique).

[0026] Les « métabolites d'intérêt », au sens de la présente invention, peuvent être tout composé ou molécule produit par une plante ou une partie de plante, notamment des cellules isolées d'une plante, comme des cellules méristématiques. Il peut s'agir de métabolites primaires, par exemples des sucres, protéines/acides aminés et/ou des lipides. Alternativement ou complémentirement, il peut s'agir de métabolites secondaires comme par exemple des polyphénols, des terpènes et/ou d'alcaloïdes.

[0027] Selon l'invention, l'extrait d'*Otanthusmaritimus* peut être sous toute forme appropriée, notamment dans le cadre d'une utilisation cosmétique ou dans une composition dermatologique. Par exemple, les cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus*, peuvent être entières ou lysées, peuvent être mises en suspension sous forme liquide ou être séchées. Sous forme liquide, le solvant utilisé peut être choisi parmi le propylène glycol, le butylène glycol, le méthylpropanediol, le propane-1,3-diol, la glycérine ou un mélange de ces solvants, cette liste n'étant pas limitative. Les mélanges de ces solvants peuvent être réalisés dans toutes les proportions possibles permettant de conserver les effets techniques mentionnés ci-après. Sous forme sèche, la préparation de cellules peut être obtenue par évaporation sous vide, par atomisation, par lyophilisation ou par tout autre moyen approprié connu de l'homme du métier. Avantageusement, l'extrait de l'invention peut être une forme sèche, obtenue après lyse, séchage et broyage, puis suspendue dans la glycérine.

[0028] Dans le cadre de l'utilisation de l'extrait d'*Otanthusmaritimus* selon l'invention, l'utilisation s'entend d'une utilisation non-thérapeutique, par exemple pour le traitement des peaux normales, c'est-à-dire des peaux ne présentant pas un état pathologique, à l'exclusion de toute utilisation thérapeutique. En d'autres termes, il s'agit d'une action purement esthétique visant à améliorer l'aspect de la peau. On entend par « améliorer l'aspect de la peau », au sens de la présente invention, tout effet permettant d'obtenir un avantage sur l'aspect de la peau par rapport à l'aspect de la peau avant utilisation de l'extrait selon l'invention.

[0029] Avantageusement, l'utilisation cosmétique selon l'invention est au moins une action choisie parmi une action anti-âge, une action hydratante, une action apaisante et une action anti-oxydante sur la peau et/ou les muqueuses.

- [0030] On entend par « muqueuse », au sens de la présente invention, notamment les muqueuses externes comme les lèvres.
- [0031] On entend par « action anti-âge », au sens de la présente invention, une action de prévention et/ou de retard et/ou de limitation des signes du vieillissement cutané, notamment du vieillissement accéléré (exogène) provoqué par les stress environnementaux, par exemple les ultraviolets (stress photo-induit), ou du vieillissement chronologique (stress endogène). L'action anti-âge peut passer par au moins une action choisie parmi la stimulation du renouvellement cellulaire de l'épiderme, la stimulation de la fonction barrière, notamment de la différenciation kératinocytes, la stimulation des facteurs du cycle cellulaire des fibroblastes. L'effet anti-âge peut être au moins un effet choisi parmi la régénération de la peau, la prévention ou la diminution du relâchement de la peau, la diminution de la perte de fermeté de la peau, la diminution de la perte d'élasticité de la peau, une action de raffermissement, une amélioration des qualités bio-mécaniques de la peau ou des muqueuses, et une diminution ou une prévention de la formation des rides et/ou des ridules, notamment une diminution de la profondeur des rides et/ou des ridules de la peau ou des muqueuses. Avantageusement, l'action anti-âge est une action de stimulation de la prolifération des kératinocytes épidermiques, en faveur du renouvellement de l'épiderme.
- [0032] On entend par « régénération de la peau », au sens de la présente invention, la stimulation métabolique des cellules cutanées épidermiques ou dermiques, dont le renouvellement est directement ou indirectement lié ou cible du vieillissement intrinsèque ou extrinsèque.
- [0033] On entend par « diminution du relâchement/ de la perte de fermeté/ de la perte d'élasticité » au sens de la présente invention, une action d'inhibition des matrix metallo-protéases (MMP) qui dégradent le collagène et/ou l'élastine de la peau, de ses annexes et/ou des muqueuses. Il peut s'agir d'une action de protection, et/ou de maintien, et/ou de renforcement des fibres existantes dans le derme (collagène et/ou d'élastine) produites par les cellules dermiques. Avantageusement, cette action peut permettre de protéger, de faire perdurer et/ou d'améliorer les qualités biomécaniques du derme, notamment la fermeté, le volume, la densité et la résistance du tissu.
- [0034] On entend par « action hydratante », au sens de la présente invention, toute action de restauration, de maintien ou de renforcement de l'hydratation de la peau ou des muqueuses. Sans vouloir être lié par un mécanisme biologique, l'effet d'hydratation peut être dû à l'amélioration de la fonction barrière de la peau due à l'extrait de l'invention, qui pourrait permettre une meilleure rétention de l'eau par la peau. Avantageusement, l'action hydratante pourrait permettre l'obtention d'une peau adoucie, c'est-à-dire l'obtention d'un effet plus soyeux de la peau au toucher après utilisation de l'extrait, et/ou une diminution de l'effet de rugosité de la peau au toucher.

- [0035] On entend par « action apaisante », au sens de la présente invention, au moins une action choisie parmi l'atténuation de rougeur diffuse, l'amélioration du teint, la restitution du teint, la restitution du grain de peau, la restitution de l'éclat de la peau, la restitution d'une luminosité de la peau plus uniforme, la diminution des sensations de tiraillements, d'inconfort, de picotements, de chaleur diffuse, d'irritabilité de la peau. Par action apaisante, au sens de la présente invention, on peut entendre une action de type anti-inflammatoire à l'encontre des sensations désagréables ressenties par les sujets à peau sensible/réactive non pathologique. Ces sensations désagréables cutanées peuvent être dues à un stress environnemental comme la chaleur, le froid, le vent, le soleil, une eau calcaire, ou encore les brusques changements de température et la pollution atmosphérique, qui peuvent entraîner des sensations de picotements, de brûlures, des rougeurs ou des échauffements cutanés non pathologiques mais inesthétiques. Sans vouloir être lié par un mécanisme biologique, cette réaction peut s'expliquer par une diminution ou une inhibition de l'expression des médiateurs pro-inflammatoires induits consécutivement à un stress de quelque nature que ce soit, à l'origine des sensations désagréables ressenties par les sujets. Il peut s'agir par exemple de l'expression de l'interleukine 6 (IL6), ou du Tumor Necrosis Factor alpha (TNF $\alpha$ ) produits par les kératinocytes épidermiques.
- [0036] On entend par « action anti-oxydante », au sens de la présente invention, toute diminution, prévention ou ralentissement de la production d'espèces radicalaires et/ou oxydantes, et/ou de l'oxydation des cellules cutanées. Sans vouloir être lié par un mécanisme particulier, l'extrait de l'invention peut augmenter en tout ou partie l'expression d'enzymes ou de protéines de détoxification cellulaire.
- [0037] On entend par « composition cosmétique », au sens de la présente invention, toute composition à visée cosmétique, c'est à dire esthétique, une composition pouvant être mise en contact avec les parties superficielles du corps humain, par exemple l'épiderme, les lèvres, les systèmes pileux et capillaires. Avantagusement, une composition cosmétique permet, exclusivement ou principalement, de les protéger, parfumer, maintenir en bon état, modifier leur aspect ou en corriger les défauts superficiels.
- [0038] Dans la présente, on entend par « composition dermatologique » toute composition à visée dermatologique, c'est à dire une composition pouvant être mise en contact avec les parties superficielles du corps humain, pour un traitement de la peau, des muqueuses, et des phanères, comme les ongles, les cheveux, ou les poils. Une telle composition peut comprendre des actifs additionnels autres que l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus*, susceptibles d'être qualifiés de dermatologiques ou thérapeutiques, ce qui explique la qualité de « dermatologique » de la composition.

- [0039] Par « véhicule cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable », on entend un véhicule adapté pour une utilisation en contact avec des cellules humaines et animales cutanées, en particulier les cellules de l'épiderme, sans toxicité, irritation, réponse allergique induite et similaire, et proportionné à un rapport avantage/risque raisonnable.
- [0040] Le véhicule cosmétiquement acceptable peut être choisi parmi l'eau, l'allantoïne, la glycérine, le méthylpropanediol, cette liste n'étant pas limitative.
- [0041] La composition de l'invention peut être obtenue par tout procédé approprié connu de l'homme du métier pour la fabrication d'une composition cosmétique. Il peut s'agir, par exemple d'un simple mélange. Il peut s'agir alternativement, par exemple, d'un procédé comprenant une étape d'incorporation d'une phase interne dans une phase externe au moyen d'un émulseur, par exemple d'une turbine de type rotor-stator. Il peut s'agir également par exemple d'un procédé utilisant la Température d'Inversion de Phase (TIP), ce procédé étant classiquement utilisé par l'homme de l'art pour obtenir des émulsions huile dans eau dont les gouttelettes dispersées sont particulièrement fines, par exemple avec un diamètre de 0,1 à 1 µm.
- [0042] Selon l'invention, la composition cosmétique ou dermatologique peut comprendre 0,00001 à 5,0 % en poids dudit extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* par rapport au poids total de la composition, par exemple de 0,0001 à 5,0 % en poids, ou de 0,001 à 5,0 % en poids, ou de 0,01 à 5,0 % en poids ou de 0,1 à 5,0 % en poids, ou de 0,3 à 5,0%, ou de 0,3 à 3,0%, ou de 0,4 à 5,0%, ou de 0,4 à 3,0%, ou de 0,5 à 5,0%, ou de 0,5 à 3,0%, ou de 1,0 à 5,0 % en poids, ou de 2,0 à 4,0 % en poids dudit extrait de cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus* par rapport au poids total de la composition.
- [0043] La composition cosmétique ou dermatologique de la présente invention peut se trouver sous toute forme appropriée pour une application cosmétique ou dermatologique. Avantageusement, la composition peut être une composition à usage topique.
- [0044] Il peut s'agir par exemple d'une composition sous une forme choisie dans le groupe comprenant une émulsion huile dans eau ou eau dans huile ou un mélange de ces émulsions.
- [0045] Selon l'invention, la composition cosmétique ou dermatologique peut par exemple se trouver sous une forme choisie dans le groupe comprenant un gel aqueux ou hydroalcoolique, une crème aqueuse ou hydroalcoolique et une lotion aqueuse ou hydroalcoolique. Ces formulations utilisables pour la mise en œuvre de la présente invention sont connues dans l'état de la technique par les formulateurs. Dans ces exemples de composition, il suffit d'ajouter l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* de la présente invention pour obtenir une composition conforme à la présente invention.

- [0046] Selon l'invention, la composition peut être sous une forme choisie parmi un onguent, une crème, une huile, un lait, une pommade, une poudre, un tampon imbibé, une solution, un gel, un sérum, un baume, un beurre, une lotion, une suspension, un savon ou une émulsion.
- [0047] L'extrait de la présente invention peut être utilisé dans une composition cosmétique ou dermatologique seul ou en combinaison avec d'autres substances ou ingrédients actifs ou inactifs cosmétiquement ou dermatologiquement. Les substances ou ingrédients inactifs sont ceux qui n'agissent pas cosmétiquement ou dermatologiquement. Il s'agit des éléments de la composition permettant notamment d'accompagner l'extrait, de constituer une formulation particulière, de conserver l'extrait actif dans le temps, cette liste n'étant pas limitative. Il peut s'agir en d'autres termes de tout produit de base pouvant se trouver dans les compositions cosmétiques ou dermatologiques classiques. Par opposition, les substances ou ingrédients actifs sont ceux qui dans l'application cosmétique ou dermatologique visée ont une action esthétique et/ou médicale.
- [0048] Ainsi, l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus* de la présente invention, peut être la seule substance ou ingrédient actif d'une composition, ou il peut être associé à d'autres substances ou ingrédients actifs d'une composition cosmétique ou dermatologique.
- [0049] D'autres avantages pourront encore apparaître à l'homme du métier à la lecture des exemples ci-dessous, donnés à titre illustratif.

### **EXEMPLES OU MODES DE REALISATION**

- [0050] Exemple 1 : Préparation d'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*
- [0051] Dans les exemples suivants, la préparation d'une suspension glycérinée de cellules méristématiques entières d'*Otanthus maritimus* a été préparé comme suit :
- induction d'explants et callogenèse,
  - stabilisation en milieu solide (Gamborg B5, saccharose, hormones de croissance, Agar Agar),
  - stabilisation de la croissance en milieu liquide (Gamborg B5, saccharose et hormones de croissance),
  - élicitation, filtration puis lyse,
  - homogénéisation,
  - séchage,
  - mise en suspension de la poudre du lysat en glycérine, la suspension comprenant par exemple de 2 à 5% de matière sèche.
- [0052] Pour les exemples suivants, les retentât et le filtrat sont associés et mis en suspension dans la glycérine à hauteur de 2 à 5%.
- [0053] Exemple 2 : Effet d'un extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*

obtenus dans l'Exemple 1 sur la différenciation des kératinocytes

[0054] Des kératinocytes épidermiques humains normaux ont été incubés pendant 5 jours en présence de l'extrait de cellules méristématiques d'Otanthus maritimus. A la fin de cette période d'incubation, les ARN totaux ont été extraits et l'expression génique de la kératine 10 a été évaluée par RT-PCR quantitative en temps réel.

[0055] L'extrait d'Othantus à 10<sup>-6</sup>% et 10<sup>-7</sup>% provoque une surexpression du gène codant pour la protéine K10 (kératine 10), représentatif d'une induction de la différenciation kératinocytaire.

[0056] Niveau d'expression génique de la kératine 10 dans des kératinocytes humains normaux cultivés en présence de l'extrait d'Otanthus

[0057] [Tableaux1]

	Keratin 10 (Expression relative)
Contrôle	1
Otanthus 10 <sup>-6</sup> %	3,15
Otanthus 10 <sup>-7</sup> %	2,1

[0058] Exemple 3 : Effet d'extrait de cellules méristématiques d'Otanthus maritimus obtenus dans l'Exemple 1 sur l'inhibition des médiateurs pro inflammatoires

[0059] Des kératinocytes épidermiques humains normaux ont été traitées ou non (témoin) durant 48h par l'extrait de cellules méristématiques d'Otanthus maritimus. 24h après le début du traitement, les cellules sont irradiées aux UV à 593 kJ/m<sup>2</sup> pour induire un processus inflammatoire. La viabilité cellulaire après irradiation et traitement est déterminée par l'activité des mitochondries (mesure d'hydrolyse du MTT). Les cytokines pro-inflammatoires IL6 et TNF $\alpha$  sont dosées dans les surnageants des cultures cellulaires et quantifiées par méthode ELISA. Les valeurs obtenues sont ainsi rapportées à la viabilité cellulaire.

[0060] Les résultats montrent une inhibition de la production des médiateurs de l'inflammation par l'extrait d'Otanthus, jusqu'à -48% d'IL6 pour 10<sup>-6</sup>% d'extrait et -55% de TNF $\alpha$  pour 10<sup>-7</sup>% d'extrait.

[0061] L'extrait présente donc un effet anti-inflammatoire.

[0062] [Table 2] Expression d'IL6 et TNF $\alpha$  par des kératinocytes stimulés aux UV

	CONCENTRATION (pg/ml)		Inhibition (%)	
	IL6	TNF $\alpha$	IL6	TNF $\alpha$
Contrôle non traité	112,60	14,83		
UV + Référence anti-	29,19	8,57	74%	42%

inflammatoire PF-3644022				
UV + <i>Otanthus</i> 10 <sup>-6</sup> %	58,21	9,17	48%	38%
UV + <i>Otanthus</i> 10 <sup>-7</sup> %	32,22	6,63	71%	55%

[0063] Exemple 4 : Effet d'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* obtenu dans l'Exemple 1 sur le renouvellement cellulaire de l'épiderme

[0064] L'effet de l'extrait d'*Otanthus* sur le renouvellement cellulaire de l'épiderme a été évaluée par l'étude de la prolifération d'une culture de kératinocytes. Pour ce faire, des kératinocytes épidermiques humains normaux ont été incubés en présence de l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* ou du contrôle positif (PE+EGF) pendant 72 ou 144 heures. La prolifération cellulaire a été évaluée par mesure d'un marqueur nucléaire.

[0065] D'après les résultats obtenus, après 3 jours (72h) de traitement, l'extrait d'*Otanthus maritimus* testé à 10<sup>-7</sup>% et 10<sup>-8</sup>% (p/v) permet de stimuler la prolifération des kératinocytes respectivement à hauteur de +32% et +26%. Et après 6 jours (144h) de traitement, il stimule ce processus aux trois concentrations testées : +28% à 10<sup>-6</sup>%, +56% à 10<sup>-7</sup>% et +49% à 10<sup>-8</sup>%.

[0066] [Table 3] Prolifération de kératinocytes épidermiques (% par rapport au contrôle)

	Contrôle	T +	Otanthus		
	milieu	PE + EGF	10 <sup>-8</sup> %	10 <sup>-7</sup> %	10 <sup>-6</sup> %
72h	100	136	126	132	100
144h	100	130	149	156	128

[0067] L'extrait d'*Otanthus maritimus* permet de stimuler de façon importante et significative la prolifération des kératinocytes (jusqu'à +56% après 6 jours de traitement à la concentration de 10<sup>-7</sup>%).

[0068] Exemple 5 : Effet d'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* obtenu dans l'Exemple 1 sur l'expression de marqueurs de la matrice dermique

[0069] Des fibroblastes dermiques humains normaux ont été incubés pendant 48 heures en présence de l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus*, ou de TGFβ (référence positive). A la fin de cette période d'incubation, les ARN totaux ont été extraits et l'expression génique de différents marqueurs de la matrice dermique a été évaluée par RT-PCR quantitative en temps réel.

[0070] Une stimulation significative (fold change >2) de l'expression des gènes COL1A1 ;

COL3A1 ; EGFR ; ERBB4; FN1; IGF1R; IGF2; MMP14; MMP2; MMP7; MMP9; MSN; SERPINE1; SERPINE 2; TIMP2; TIMP3 a été induite par l'extrait d'*Otanthus* à 10<sup>-6</sup>% et 10<sup>-7</sup>%. L'extrait induit donc un remodelage de la matrice dermique, en faveur d'un effet sur la densité du derme et ses propriétés mécaniques.

[0071] Exemple 6 : Effet d'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthusmaritimus* obtenu dans l'Exemple 1 sur la migration de fibroblastes humains normaux

[0072] Une « blessure » a été réalisée sur un tapis cellulaire de fibroblastes dermiques humains normaux à l'aide du système WoundMaker™. Les cellules ont ensuite été incubées en présence de l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* et la migration des cellules au sein de la blessure a été suivie par analyse d'image pendant 72 heures.

[0073] Dans le cadre de cette étude, le paramètre mesuré se nomme Relative Wound Density (RWD). Il évalue la densité cellulaire à l'intérieur de la plaie comparativement à la densité cellulaire en dehors de la plaie à chaque instant. Cette mesure est conçue pour être de 0% à t = 0 et de 100% lorsque la densité cellulaire à l'intérieur de la plaie est la même que la densité cellulaire à l'extérieur de la plaie initiale.

[0074] Dans ces conditions expérimentales, l'extrait d'*Otanthus* testé à 10<sup>-6</sup>% permet de stimuler le processus de migration des fibroblastes sur la totalité de la cinétique, à savoir 72 heures (+15% les premières 24 heures, et +12% sur les 2 jours suivants).

[0075] [Table 4] Tableau représentant les résultats exprimés en pourcentage d'induction de la migration par rapport au contrôle non traité (100%)

	24h	48h	72h
Otanthus 10-6%	115%	113%	112%

[0076] Exemple 7 : Formulation de l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* dans un soin de type sérum

[0077] [Tableaux5]

Composants	Pourcentage (% en poids)
Eau	qsp 100
Glycérine	5,000
Sorbitol	4,000
Huile de noix de coco	5,000
Alcool	2,800
Stéarate de sorbitane	1,700
Beurre de <i>Butyrospermum parkii</i>	1,100
Alcool stéarylique (Octadécanol)	0,700
cellules méristématiques d' <i>Otanthus maritimus</i>	1,000
Parfum	0,400
Gomme xanthane	0,300
Acide sorbique	0,150
Soude	0,120
Acétate de tocophérol	0,100

[0078] Exemple 8 : Formulation de l'extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus* dans un soin de jour

[0079] [Tableaux6]

Composants	Pourcentage (% en poids)
Eau	qsp 100
Glycérine	5,000
Huile de Coco	10,000
Myristate de myristyle	2,000
Acide stéarique	1,500
Stéarate de glycérol AE	1,000
cellules méristématiques d'Otanthus maritimus	0,500
Parfum	0,500
Gomme xanthane	0,150
Acide sorbique	0,100
Acétate de tocophérol	0,100
Soude	0,030

[0080] Exemple 9 : Formulation de l'extrait de cellules méristématiques d'Otanthus maritimus dans un soin de nuit

[0081] [Tableaux7]

Composants	Pourcentage (% en poids)
Eau	qsp 100
Glycérine	6,000
Huile de noix de coco	7,000
Stéarate de sorbitane	1,000
Beurre de Butyrospermum parkii	1,000
cellules méristématiques d'Otanthus maritimus	1,000
Parfum	0,400
Gomme xanthane	0,150
Acide sorbique	0,150
Acétate de tocophérol	0,100
Soude	0,060

**REFERENCES**

- [0082] Trevor A.Thorpe. History of plant tissue culture. *Molecular biotechnology*, 2007, 37, 2, 169-180.
- [0083] Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: current state and future trends, Regine Eibl & Philipp Meier & Irène Stutz & David Schildberger & Tilo Hühn & Dieter Eibl, *Applied Microbiology and Biotechnology* (2018) 102:8661–8675.

## Revendications

- [Revendication 1] Extrait de cellules méristématiques d'*Otanthus maritimus*.
- [Revendication 2] Extrait selon la revendication 1, ledit extrait comprenant des parois cellulaires desdites cellules et/ou du contenu cellulaire desdites cellules et/ou de cellules méristématiques entières.
- [Revendication 3] Extrait selon la revendication 1 ou 2, susceptible d'être obtenu par lyse d'une culture cellulaire de cellules méristématiques entières d'*Otanthus maritimus*.
- [Revendication 4] Utilisation cosmétique non thérapeutique d'un extrait d'*Otanthus maritimus* tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 3.
- [Revendication 5] Utilisation cosmétique selon la revendication 4, pour une action anti-âge, hydratante, apaisante ou anti-oxydante sur la peau et/ou les muqueuses.
- [Revendication 6] Composition cosmétique ou dermatologique comprenant un extrait d'*Otanthus maritimus* tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 3.
- [Revendication 7] Composition cosmétique ou dermatologique selon la revendication 6, comprenant 0,00001 à 5 % en poids dudit extrait d'*Otanthus maritimus* par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 8] Composition cosmétique ou dermatologique selon la revendication 6 ou 7, ladite composition étant sous une forme choisie parmi un onguent, une crème, une huile, un lait, une pommade, une poudre, un tampon imbibé, une solution, un gel, un sérum, un baume, un beurre, une lotion, une suspension, un savon ou une émulsion.
- [Revendication 9] Dispositif se présentant sous une forme choisie parmi un pot, un flacon-pompe, une lingette, un masque, un dispositif transdermique, un patch, un spray, ledit dispositif comprenant une composition cosmétique ou dermatologique telle que définie dans l'une quelconque des revendications 6 à 8.
- [Revendication 10] Procédé de préparation d'une composition cosmétique ou dermatologique telle que définie dans l'une quelconque des revendications 6 à 8, comprenant le mélange d'un extrait d'*Otanthus maritimus* tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 3, et d'un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.