

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①① N° de publication : **3 153 249**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)
②① N° d'enregistrement national : **23 10104**

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 8/978 (2023.01), A 61 K 8/34, 8/06, A 61 Q 1/00, 3/00, 5/00, 11/00, 17/00, 19/00, 19/08**

①② **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION** **A1**

②② **Date de dépôt** : 25.09.23.

③③ **Priorité** :

④③ **Date de mise à la disposition du public de la demande** : 28.03.25 Bulletin 25/13.

⑤⑥ **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire** : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥① **Références à d'autres documents nationaux apparentés** :

Demande(s) d'extension :

⑦① **Demandeur(s)** : SOUDANT Etienne — FR.

⑦② **Inventeur(s)** : SOUDANT Etienne et COMMEAT Pierre-Gilles.

⑦③ **Titulaire(s)** : SOUDANT Etienne.

⑦④ **Marque(s)** : **Mantainable soluble de pulpe délipidée de Dialium guineense ou de Dialium cochinchinense et ses utilisations cosmétiques.**

⑤⑦ Utilisation cosmétique d'extraits de pulpe délipidée de Dialium guineense ou de Dialium cochinchinense de la famille des Fabaceae aux effets multifonctionnels et destinés à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humains.

FR 3 153 249 - A1



Description

Titre de l'invention : Extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* et ses utilisations cosmétiques

- [0001] La présente invention a pour objet une composition cosmétique destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux externes) ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles et caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un extrait aqueux, glycéринé ou hydroéthanolique de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae dans le but d'utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois, de lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.
- [0002] On sait que de plus en plus de cosmétiques essayent de revendiquer un mode d'action plus bio, plus écologique, plus naturel avec la nouvelle norme ISO 16128, vegan et même une slow cosmétique (écologique, saine, intelligente et raisonnable) tenant compte des besoins réels de la peau, préconisant l'utilisation de moins d'ingrédients pour faire mieux comme le montre la tendance cosmétique actuelle dite skinimalisme, de frugalité même, des apports positifs pour la peau et des promesses réalistes. Une réponse à cette préoccupation pourrait alors être des extraits végétaux ayant des propriétés multiples, multifonctionnelles et complémentaires se suffisant à eux seuls et ne nécessitant souvent donc pas l'ajout d'autres substances actives dans les compositions cosmétiques.
- [0003] Beaucoup pensent que la surface de la peau sur laquelle sont appliqués les cosmétiques est une structure morte et inerte. En fait il n'en est rien et l'épiderme, y compris sa couche cornée de surface, est le lieu d'intenses réactions biochimiques où activateurs, inhibiteurs et inhibiteurs d'inhibiteur assurent un équilibre et une homéostasie variant avec le moment de la journée, les saisons et l'âge. Chacune des cellules épidermiques et particulièrement les kératinocytes qui sont les cellules prépondérantes de l'épiderme, présente un métabolisme complexe et fin menant à une maturation et une différenciation cellulaire sous le contrôle de l'expression des 36000 gènes et variants qui les composent.

- [0004] Il est alors facile d'imaginer l'intérêt de pouvoir sélectionner et tester des substances végétales sur l'expression de l'ensemble de ces gènes afin de pouvoir sélectionner les extraits les plus intéressants et mettre au point les méthodes d'extraction et de production les plus efficaces.
- [0005] Parmi toutes les plantes étudiées le *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae sont riches en oligoéléments jouant le rôle de complément alimentaire permettant de stimuler la vitalité et l'énergie et sont également utilisés pour augmenter la lactation.
- [0006] Un des buts de l'invention est de fournir une composition non grasse pour un usage topique.
- [0007] Un autre but de l'invention est de proposer l'utilisation d'une telle composition dans le cadre d'une application cosmétique.
- [0008] C'est en partant de la constatation que très souvent les végétaux, et particulièrement leurs fruits, contiennent une partie non négligeable de lipides qui gênent la libération de substances d'intérêt et obligent à utiliser des solvants complexes autres que la simple eau, les solvants hydroéthanoliques ou la glycérine végétale que l'idée est venue de séparer, au préalable, ces lipides du reste de la plante à extraire.
- [0009] C'est en étudiant les propriétés de différents extraits hydrosoluble de pulpe de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense*, après délipidation obtenue après un ou plusieurs pressages à froid successifs, sur l'expression des gènes de kératinocytes humains normaux que le demandeur a découvert de manière tout à fait inattendue que ces extraits de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* avaient de nombreuses propriétés intéressant la peau saine et donc la cosmétique particulièrement celle se souciant de formules minimalistes utilisant des actifs multifonctionnels puisqu'un extrait donné pouvait avoir de nombreuses propriétés se complétant et réduisant l'emploi de nombreuses substances actives différentes.
- [0010] Dans le cadre de l'invention on entend par extrait hydrosoluble de plante ou partie de plante comme des graines, le résultat de toute extraction dans un solvant soluble dans l'eau comme par exemple l'eau elle-même, une solution hydroéthanolique ou de la glycérine et pouvant à la fois servir de véhicule cosmétiquement acceptable et donc formulable directement afin de produire une composition cosmétique finale. Ces extraits pouvant être formulés directement aux alentours de 0,1% à 5% ou bien stockés à l'état sec après évaporation de l'eau ou de l'eau plus éthanol ou bien encore en l'état dans le cas d'un solvant glycéринé.
- [0011] L'invention concerne donc une composition cosmétique comprenant un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae et un véhicule cosmétiquement acceptable.
- [0012] Par conséquent une composition cosmétique ou pharmaceutique destinée à être mise

en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux externes) ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles et caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae dans le but d'utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois de lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.

- [0013] Le demandeur a en effet testé plusieurs extraits aqueux ou hydroéthanoliques de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* sur le génome complet de kératinocytes humains normaux et particulièrement par analyse d'expression de gènes à l'échelle du génome entier (36000 gènes transcrits et variants) de kératinocytes épidermiques normaux humains suite à l'extraction des Acides Ribonucléiques (ARN) totaux transcrits suivi d'une hybridation sur micropuces à Acide DésoxyRibonucléique (ADN). Le principe de la puce à ADN repose sur la propriété que possède l'ADN dénaturé (simple brin) de reformer spontanément sa double hélice lorsqu'il est en présence d'un brin complémentaire (réaction d'hybridation). Puisqu'il est possible de fixer jusqu'à un million de sondes sur une biopuce, les puces à ADN constituent ainsi une approche massive que l'inventeur a utilisées puisqu'elles permettent en une seule expérience d'avoir une estimation sur l'expression de plusieurs dizaines de milliers de gènes.
- [0014] De manière avantageuse, ledit véhicule cosmétiquement acceptable est également celui utilisé comme solvant lors de l'extraction et est choisi parmi l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol.
- [0015] De manière également avantageuse, ledit extrait hydrosoluble de pulpe de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae est réalisé à partir de pulpe au préalable délipidée par pressage à froid, de une à trois fois successivement, afin d'obtenir une teneur de 3 % ou moins en masse de lipides par rapport à la masse totale de la pulpe.
- [0016] De manière encore plus avantageuse, ledit extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae comprend moins de 1% en masse de lipides par rapport à la masse totale de l'extrait, notamment de 0% à 1% en masse de lipides par rapport à la masse totale de l'extrait.
- [0017] Dans le cadre de l'invention, on entend par « de 0% à 1% en masse de lipides » le fait que l'extrait peut comprendre 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1% en masse de lipide par rapport à

la masse de l'extrait.

- [0018] Également dans le cadre de l'invention, ledit extrait de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae a été rendu hydrosoluble par solubilisation dans un solvant choisi parmi l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol avant de pouvoir être utilisé en l'état dans la composition ou stocké après séchage complet avant d'être resolubilisé dans ces mêmes solvants cosmétiquement acceptables avant usage.
- [0019] De manière avantageuse, la composition est caractérisée en ce que ledit extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae représente de 0,1% à 5% en masse par rapport à la masse totale de la composition.
- [0020] Dans le cadre de l'invention, on entend par « de 0,1% à 5% en masse » le fait que la composition peut comprendre 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9 ou 5% en masse d'extrait délipidé par rapport à la masse totale de la composition.
- [0021] Les effets de différents extraits végétaux ont été recherchés ainsi sur l'expression de gènes dans des Kératinocytes Epidermiques Humains Normaux (NHEK). Plus précisément, une analyse transcriptomique complète (full transcriptome), c'est-à-dire l'ensemble des gènes exprimés à un instant donné, a été réalisée en utilisant la plateforme Affymetrix GeneAtlas et la puce « full transcriptome humain » U219 contenant 36 000 gènes dits transcrits et variants.
- [0022] Cette méthode décrite plus en détail dans les exemples ci-dessous permet de choisir en fonction des gènes stimulés, c'est-à-dire dont l'expression est significativement augmentée, ou bien inhibés, c'est à dire dont l'expression est significativement réduite, les plantes les plus intéressantes pour un usage cosmétique et qui a permis de montrer l'intérêt de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae parmi d'autres plantes ainsi testées.
- [0023] Ensuite en prenant le gène ou quelques gènes les plus intéressants, cette méthode permet de sélectionner le ou les protocoles optimums afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles. Ici pour le *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae le gène de l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3) a été utilisé pour déterminer que c'était la pulpe délipidée extraite ensuite dans un solvant simple qui permettait d'obtenir une augmentation d'expression de plus de 568 % au contact des kératinocytes humains normaux (NHEK).
- L'expression relative de ce gène IGFBP3 dans les kératinocytes contrôles avait une intensité de signal de 38,09 tandis que dans les kératinocytes mis en contact avec l'extrait hydrosoluble de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* ainsi sé-

lectionné avait un signal d'intensité de 978,01 soit une stimulation de l'expression de ce gène appelée fold change ou taux de modification, dans les conditions expérimentales de 25,67 fois.

- [0024] Ce qui a permis de déterminer un optimum lorsque l'extraction se faisait dans des solvants simples comme l'eau, des mélanges hydroéthanoliques dont l'éthanol est ensuite recyclé après évaporation complète ou des mélanges d'eau et glycérine, dont les propriétés hydratantes pour la peau ne sont plus à démontrer.
- [0025] Ces tests permettent de montrer l'intérêt d'une composition cosmétique caractérisée en ce qu'elle est constituée d'un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae réalisé par décorticage de la gousse puis d'un dépulpage lui-même suivi d'un tamisage afin de séparer la graine dure qui ne sera pas utilisée. La pulpe ainsi séparée et tamisée est séchée puis ensuite délipidée par un ou plusieurs passages à froid, suivi encore d'un séchage en étuve de 1 à 5 heures et à une température comprise entre 50°C et 60°C afin d'éviter la prolifération de microorganismes, puis d'une extraction ou d'une macération dans de l'eau additionnée ou non d'enzymes, une solution hydroéthanolique ou d'un mélange eau/glycérol ou encore d'une macération dans du glycérol seul et pouvant ensuite être filtré ou centrifugé et être conservé et utilisé directement dans leur solvant respectif ou bien à nouveau séché ou encore lyophilisé ou même zéodraté, ayant pour effet après application topique sur peau saine de lutter contre son vieillissement et d'améliorer sa fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger sa fonction barrière cutanée, son microbiote via son microbiome ainsi que de réduire ses imperfections cutanées.
- [0026] L'invention concerne également un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae caractérisé en ce qu'il comprend de l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol et qu'il est préparé à partir de 10% en poids de pulpe délipidée puis séchée.
- [0027] Ce qui permet d'obtenir un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae caractérisé en ce qu'il est destiné à être appliqué sur une peau saine pour renforcer et promouvoir la lutte contre le vieillissement et l'amélioration de la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.
- [0028] Ou plus précisément un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae pour le traitement

ou la prévention des effets négatifs provoqués par une sous-expression de l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3), de la Desmogléine 1 (DSG1) et du chromosome 10 open rEDGing frame 99 (10orf99) ou bien encore, à l'opposé, dans le cadre de la sur-expression de gènes favorisant les problèmes cutanés tels que la Structural maintenance of Chromosome 4 (SMC4).

[0029] En effet, l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3) voit son niveau d'expression décroître dans les cellules sénescences ou dont le vieillissement a été induit par H₂O₂ en comparaison avec des cellules jeunes.

Le Chromosome 10 open rEDGing frame 99 (10orf99) code pour des peptides permettant la réponse naturelle de défense contre les bactéries, particulièrement les bactéries gram +, ainsi que les champignons. Il régule la réponse pro-inflammatoire et participe à la barrière cutanée et au bon fonctionnement du microbiote via son microbiome.

La Desmogléine est quant à elle une protéine desmosomale codée naturellement par le gène DSG1 majoritairement exprimée dans les dernières couches de l'épiderme et responsable des propriétés d'adhérence des fameux desmosomes, véritable bouton-pression, assurant la jonction cellule-cellule indispensable à l'effet barrière de la peau et à sa cohésion. Elle est également stimulée par cet extrait hydrophile et hydrosoluble de pulpe de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense*.

La Structural maintenance of Chromosome 4 (SMC4) est un gène codant pour une protéine de maintien de la structure du chromosome 4 dont la surexpression est défavorable au fonctionnement cellulaire et tissulaire : Oncogénèse. 2017 mars ; 6(3) : e301. doi : [10.1038/oncsis.2017](https://doi.org/10.1038/oncsis.2017).

[0030] L'invention concerne en outre l'utilisation cosmétique d'extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae destiné à être utilisé pour le traitement ou la prévention des effets négatifs provoqués une sous-expression de l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3), de la Desmogléine 1 (DSG1) et du chromosome 10 open rEDGing frame 99 (10orf99) ou bien encore, à l'opposé, dans le cadre de la sur-expression de gènes favorisant les problèmes tels que la Structural maintenance of Chromosome 4 (SMC4) optimisées par l'analyse de l'expression de gènes à l'échelle du génome entier (36000 gènes transcrits et variants) de kératinocytes épidermiques normaux humains et par hybridation sur micropuces à ADN.

[0031] L'invention concerne en outre l'utilisation cosmétique d'extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae destiné à être utilisé pour induire une inhibition des processus de prolifération/division/progression du cycle cellulaire et un effet pro différenciant en augmentant l'expression de gènes impliqués dans le processus de maturation et de dif-

férenciation épidermique (KLK7, SPRR1A, 1B, 2A, ; 2D, CRABP2, TGM1, KRT10) sachant que :

SPRR1A, 1B, 2A et 2D correspondent à un ensemble de petites protéines libérées lors de la maturation ou différenciation des kératinocytes et qui sont ensuite repris par les transglutaminases au niveau de la couche cornée pour former l'enveloppe cornée entourant les cornéocytes leurs donnant une rigidité suffisante afin de permettre une bonne cohésion et donc un effet barrière indispensable ainsi qu'un bel aspect à la surface de la peau,

KRT 7 et 10 pour Kératine7 et Kératine10 qui sont des cytokératines et des filaments intermédiaires du cytosquelette jouant un rôle important pour maintenir la barrière cutanée, la kératinisation et la cornification épidermique.

TGM 1 est lui le gène qui produit la Transglutaminase 1 enzyme permettant la polymérisation des différentes molécules qui forment l'enveloppes des cornéocytes comme les kératines 7 et 10 et les petites protéines de type SPRR.

L'épiderme voit donc ses kératinocytes se différencier mieux, ses enveloppes cornées mieux se former, en conséquence de quoi la peau sera plus belle en surface, plus résistante aux méfaits du vieillissement et présentant un effet de barrière de meilleure qualité.

[0032] Avantageusement, l'invention concerne l'utilisation cosmétique non thérapeutique d'une composition, pour une application topique sur une peau saine dans le but d'utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois de lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique, en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire, ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.

[0033] Pour un usage cosmétique on voit alors l'intérêt de composition comprenant un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae caractérisée en ce que la composition est sous la forme d'une émulsion huile dans eau (H/E) ou eau dans huile (E/H), d'émulsion multiple (H/E/H, E/H/E), de microémulsion, d'émulsion à phase gémellaires, d'émulsion PIT, de nano-émulsion, de pseudoémulsion, de gel aqueux, de gel gras, de gel hydroalcoolique, de suspension, de gel ou d'émulsion lyophilisée et/ou d'une des formes précédentes contenant de microcapsules, des nanocapsules, des liposomes, des éthosomes et pouvant se présenter en crèmes, sérums, liquides, pâtes, lotions, émulsions, gels, solides, poudres, masques, sticks, sprays, aérosols.

[0034] Ainsi que de composition comprenant un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae, ladite composition étant sous la forme d'un démaquillant micellaire biphasé, d'un gel

moussant, d'une lotion gelée, d'un exfoliant, d'une crème hydratante, d'un sérum hydratant, d'un sérum améliorant l'aspect des rides, d'un lait corps hydratant, d'un masque régénérant, d'une crème régénérante, d'une crème pour le corps amincissante, d'une crème anti-âge, d'un sérum régénérant, d'un baume, d'une brume, d'un soin yeux, d'un concentré, ou d'un masque détoxifiant.

- [0035] Tout ceci permet donc l'utilisation cosmétique d'un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae caractérisée en ce que la composition est appliquée sur une peau saine, dans le but d'utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois de mieux lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.
- [0036] Méthode de soin cosmétique de la peau saine pour utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois, de mieux lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées comprenant l'administration par voie topique d'une composition cosmétique réalisée à partir d'un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* et optimisée par l'utilisation de l'analyse de l'expression du génome entier (full génome) de kératinocytes humains en culture (NHEK) afin d'en déterminer l'ensemble des propriétés ainsi que l'optimisation de leurs préparations, l'association d'enzymes ou non lors des étapes d'extraction ou de macération, l'intérêt ou non d'une torréfaction préalable, le % de pulpe délipidée et séchée ou la nature du séchage final et caractérisée aussi bien par augmentation de l'expression de certains gènes d'intérêts que par diminution de l'expression d'autres gènes d'intérêts.
- [0037] Des exemples sont donnés ensuite sans qu'ils soient limitatifs dans le but d'illustrer l'invention.
- [0038] **Exemple 1. Obtention des extraits hydrosolubles de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense*.**

Les extraits de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae sont réalisés par décorticage de la gousse puis d'un dépulpage lui-même suivi d'un tamisage afin de séparer la graine dure qui ne sera pas utilisée. La pulpe ainsi séparée et tamisée est ensuite séchée puis délipidée par un ou plusieurs pressages à froid, suivi encore d'un séchage en étuve de 1 à 5 heures et à une température comprise entre 50°C et 60°C afin d'éviter la prolifération de microorganismes, puis d'une extraction ou d'une macération dans de l'eau additionnée ou non

de enzymes, une solution hydroéthanolique ou d'un mélange eau/glycérol ou encore d'une macération dans du glycérol seul et pouvant ensuite être filtré ou centrifugé et être conservé et utilisé directement dans leur solvant respectif ou bien à nouveau séché ou encore lyophilisé ou même zéodraté.

Ils peuvent donc comprendre de l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol et être préparé à partir de 10% en poids de pulpe délipidée puis séchées à partir du solvant servant à l'extraction ou à la macération.

Ces extraits peuvent être testés directement ou bien être séchés, déshydratés, lyophilisés ou zéodratés avant les tests. Dans ces derniers cas ils sont réhydratés ou dilués avec de l'eau purifiée jouant le rôle de solvant.

Nous appellerons EDG (pour Extrait de *Dialium Guineense* ou de *Dialium cochinchinense*) les extraits obtenus et utilisés dans les exemples suivants.

[0039] **Exemple 2. Les tests et exemples de résultats.**

Le modèle biologique :

Kératinocytes épidermiques humains normaux (NHEK) au troisième passage, cultivés à 37°C et 5% de CO₂. Milieu de culture complémenté avec EGF à 0,25ng/ml et EP à 25ug plus gentamycine 25ug. Le milieu d'essai est lui constitué de kératinocyte SFM avec uniquement de la gentamycine 25 ug/ml

Les conditions expérimentales :

Kératinocytes épidermiques humains normaux (NHEK) au troisième passage, cultivés à 37°C et 5% de CO₂. Milieu de culture complémenté avec EGF à 0,25ng/ml et EP à 25ug plus gentamycine 25ug. Le milieu d'essai est lui constitué de kératinocyte SFM avec uniquement de la gentamycine 25 ug/ml

Les conditions expérimentales :

Les kératinocytes ont étéensemencés en plaque 24 puits et cultivés en milieu de culture pendant 24 heures puis en milieu d'essai pendant 24 heures supplémentaires. Le milieu a ensuite été remplacé par du milieu d'essai contenant ou non (témoin) les composés à l'essai puis les cellules ont été incubées pendant 24 heures. Toutes les conditions expérimentales ont été réalisées en triplicate (n=3).

A la fin de l'incubation, les surnageants de culture ont été éliminés et les tapis cellulaires ont été rincés avec une solution de PBS. La plaque a été immédiatement congelée à sec et à -80°C.

Avant l'extraction, les réplicats de culture ont été poolés. L'ARN total de chaque échantillon a été extrait à l'aide de TriPure Isolation Reagent® selon le protocole préconisé par le fournisseur.

La quantité et la qualité des ARN ont été évaluées par électrophorèse capillaire (Bioanalyzer 2100, Agilent).

La synthèse des ARN anti-sens (ARNa) biotinylés a été réalisée à l'aide du kit « GeneChip 3'IVT Express » (Affymetrix®).

Pour chaque échantillon d'ARNa biotinylé, un profil électrophorétique a été réalisé (Bioanalyzer 2100, Agilent) avant et après fragmentation.

L'hybridation des ARNa marqués et fragmentés sur la puce Affymetrix® U219 chip (36 000 transcripts and variants) a été réalisée sur la station d'hybridation *GeneAtlas™ fluidics Affymetrix® hybridization station* pendant 20 heures à 45°C.

Les puces U219 ont ensuite été scannées à l'aide du GeneAtlas™ Imaging station (Affymetrix® - resolution 2 µm) afin de générer les données d'intensité de signal comme montré dans les exemples de résultat ci-dessous.

Les données d'intensité de signal ont été normalisées à l'aide du logiciel Expression Console (Affymetrix®), à partir de l'algorithme RMA. Un contrôle qualité du marquage ainsi que de l'hybridation a ensuite été réalisé.

Les contrôles qualité des étapes d'hybridation et de marquage ont permis de valider le processus expérimental

Une fois normalisées avec le logiciel Expression Console, les données ont été transférées et mises en forme dans un fichier Microsoft Excel.

Des calculs ainsi que des filtres ont été ajoutés dans ces fichiers afin de trier les données et de faciliter leur exploitation.

Les seuils de « fold change » ou taux de modification (valeur correspondant au ratio : valeur d'intensité de signal d'une sonde correspondant à l'échantillon traité / valeur d'intensité de signal d'une sonde correspondant au contrôle) ont été définis et appliqués aux données normalisées.

Les abréviations suivantes sont utilisées dans les fichiers d'analyse :

- UR : Upregulated – sur-expression ou stimulation de la sonde ou du gène lorsque le fold change est supérieur à 2,
- DR : Downregulated – sous-expression ou inhibition de la sonde ou du gène lorsque le fold change est inférieur à 0.5.

Chaque fichier d'analyse est constitué :

- De la valeur d'intensité de signal (RE : Relative Expression) correspondant à chacun des échantillons,
- Des calculs de « fold change » ou taux de modification pour chaque comparaison,
- D'informations relatives à chaque gène.

Les filtres insérés dans ces fichiers permettent de sélectionner les gènes significativement modulés.

L'exemple de sondes de gènes correspondants à la variation d'expression de IGFBP3 (2 variants), DSG1, 10orf99 et SMC4, ainsi obtenues avec cette méthodologie. Avec EDG pour l'Extrait de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochini-*

chinense, les nombres indiqués correspondent à l'intensité du signal obtenue pour le témoin et pour l'essai EDG:

Intensité des signaux pour Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3), sonde 1:

- Témoin : 38,09
- EDG : 978,08
- Taux de modification : 25,67
- Régulation : UR

Intensité des signaux pour Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP3), sonde 2:

- Témoin : 32,66
- EDG : 747,58
- Taux de modification : 22,89
- Régulation : UR

Intensité des signaux pour la Desmogléine 1 (DSG1):

- Témoin : 37,34
- EDG : 285,50
- Taux de modification : 7,65
- Régulation : UR

Intensité des signaux pour Chromosome 10 open rEDGing frame 99 (10orf99):

- Témoin : 25,14
- EDG : 184,49
- Taux de modification : 7,34
- Régulation : UR

Intensité des signaux pour la Structural maintenance of Chromosome 4 (SMC4):

- Témoin : 387,92
- EDG : 66,56
- Taux de modification : 0,17
- Régulation : DR

[0040] Dans les exemples ci-dessous et qui donnent des exemples de réalisation de ces compositions, sans pour autant que cette liste soit exhaustive, les abréviations suivantes seront utilisées : EDG pour l'Extrait de pulpe délipidée de *Dialium Guineense* ou de *Dialium cochinchinense*

[0041] **Exemple 3.**

Selon un premier mode de réalisation de l'invention la composition comprend :

Carboxypolyméthylène ou polymère carboxylique.....	0,40 g
Diéthanolamine cétyl phosphate.....	1,50 g
Octyl dodécanol.....	5,50 g
Alcool cétylique.....	1,00 g
Huile minérale.....	2,00 g

Acide stéarique.....	1,00 g
Alcool stérylique éthoxylé (20 E).....	0,30 g
Alcool céto-stéarylique.....	1,80 g
Conservateur.....	0,15 g
Huile de Solom.....	0,50 g
Triéthanolamine.....	0,60 g
Cyclométhicone.....	12,00 g
Diméthicone copolyol.....	3,00 g
Phényl triméticone	2,00 g
EDG.....	3,00 g
Dextran.....	1,00 g
Glycérine.....	2,00 g
Eau déminéralisée qsp.....	100 g

Après 4 semaines d'utilisation sur 30 volontaires, la peau ressort lissée dès 2 h après chaque application. En fin de traitement le nombre des rides, leurs longueurs et leurs largeurs ont diminués significativement et la peau plus hydratée pour 92% des utilisateurs.

[0042] **Exemple 4.**

Selon un second mode de réalisation de l'invention la composition comprend :

- Acrylate C10-30.....	0,50 g
- Arginine.....	0,001g
- Glycerine.....	1,00 g
- EDG	0,20 g
- Alcool.....	2,00 g
- Carbomère.....	0,126 g
- EDTA.....	0,005 g
- Conservateur.....	0,867 g
- Huile de Solom.....	0,5 g
- Lécithine hydrogénée	0,09 g
- Acide hyaluronique.....	0,20 g
- TEA 99%.....	0,62 g
- Colorants.....	0,0002 g
- Eau déminéralisée qsp.....	100 g

Après 4 semaines d'utilisation pour 30 volontaires de 20 ans à 70 ans la peau est ressortie significativement plus hydratée et plus belle.

[0043] **Exemple 5.**

Emulsion H/E :

- Paraffine liquide.....	6 g
--------------------------	-----

- Lanoline liquide.....	3 g
- Arlancel 165	6 g
- Tween 60	2 g
- Alcool cétylique.....	1,2 g
- Acide stéarique	2,5 g
- Arginine.....	0,5 g
- Huile de silicone volatile.....	10 g
- Triéthanolamine.....	0,1 g
- Conservateur	0,3 g
- EDG.....	5 g
- Acide hyaluronique.....	0,5 g
- Eau déminéralisée qsp.....	100 g

Après 4 semaines d'utilisation biquotidienne pour 30 volontaires âgés de 33 à 70 ans la peau est ressortie significativement plus tonique et plus ferme pour 100% des utilisateurs.

[0044] **Exemple 6.**

Crème aux liposomes :

- Alcool cétylique.....	4 g
- B-sitostérol.....	4 g
- Dicétyl phosphate.....	0,5 g
- Conservateur	0,3 g
- Carbopol 981	0,2 g
- Triéthanolamine.....	0,2 g
- Phospholipide.....	0,05 g
- EDG.....	1,5 g
- Eau déminéralisée qsp.....	100 g

Après utilisation sur un panel de 30 volontaires de 18 à 70 ans la peau est ressortie significativement hydratée pendant les 3 heures de la première application plus douce et d'apparence plus jeune pour 65% des utilisateurs après les 4 semaines d'utilisation quotidienne.

[0045] **Exemple 7.**

Emulsion E/H :

- Protégin	19 g
- Glycérine	3 g
- Huile de vaseline.....	8 g
- Sulfate de Mg.....	0,5 g
- EDG.....	0,5 g
- Acide hyaluronique.....	0,02 g

- Conservateur 2 g
- Eau déminéralisée qsp..... 100 g

[0046] **Exemple 8.**

Emulsion gel H/E

- . - Carbopol 981 0,6 g
- Alcool éthylique..... 15 g
- Huile de silicone volatile..... 3 g
- Huile de Baobab..... 7 g
- Conservateur..... 0,3 g
- Parfum 0,4 g
- EDG.....0,1 g
- Triéthanolamine..... 0,2 g
- Eau déminéralisée qsp.....100 g

[0047] **Exemple 9.**

Concentré glycéринé

- Glycérine65 g
- EDG.....5 g
- Arginine.....1 g
- Acide hyaluronique.....1 g
- Parfum0,4 g
- Eau déminéralisée qsp.....100 g

Revendications

- [Revendication 1] Composition cosmétique comprenant un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae et un véhicule cosmétiquement acceptable.
- [Revendication 2] Composition cosmétique selon la revendication 1, où ledit véhicule cosmétiquement acceptable est également celui utilisé comme solvant lors de l'extraction et est choisi parmi l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol.
- [Revendication 3] Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 2 caractérisée en ce que ledit extrait hydrosoluble de pulpe de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae est réalisé à partir de pulpe au préalable délipidée par pressage à froid, de une à trois fois successivement, afin d'obtenir une teneur de 3% ou moins en masse de lipides par rapport à la masse totale de la pulpe.
- [Revendication 4] Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que ledit extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae comprend moins de 1% en masse de lipides par rapport à la masse totale de l'extrait, notamment de 0% à 1% en masse de lipides par rapport à la masse totale de l'extrait.
- [Revendication 5] Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que ledit extrait de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae a été rendu hydrosoluble par solubilisation dans un solvant choisi parmi l'eau avec ou sans enzyme, une solution hydroéthanolique ou un mélange eau/glycérol avant de pouvoir être utilisé en l'état dans la composition ou stocké après séchage complet avant d'être resolubilisé dans ces mêmes solvants cosmétiquement acceptables avant usage.
- [Revendication 6] Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisée en ce que ledit extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* de la famille des Fabaceae représente de 0,1% à 5% en masse par rapport à la masse totale de la composition.
- [Revendication 7] Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, où la composition est sous la forme d'une émulsion huile dans eau (H/E) ou eau dans huile (E/H), d'émulsion multiple (H/E/H, E/H/E), de microémulsion, d'émulsion à phase gémellaires, d'émulsion PIT, de nano-

émulsion, de pseudoémulsion, de gel aqueux, de gel gras, de gel hydro-alcoolique, de suspension, de gel ou d'émulsion lyophilisée et/ou d'une des formes précédentes contenant de microcapsules, des nanocapsules, des liposomes, des éthosomes et pouvant se présenter en crèmes, sérums, liquides, pâtes, lotions, émulsions, gels, solides, poudres, masques, sticks, sprays, aérosols.

[Revendication 8] Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, ladite composition étant sous la forme d'un démaquillant micellaire biphasé, d'un gel moussant, d'une lotion gelée, d'un exfoliant, d'une crème hydratante, d'un sérum hydratant, d'un sérum améliorant l'aspect des rides, d'un lait corps hydratant, d'un masque régénérant, d'une crème régénérante, d'une crème pour le corps amincissante, d'une crème anti-âge, d'un sérum régénérant, d'un baume, d'une brume, d'un soin yeux, d'un concentré, ou d'un masque détoxifiant.

[Revendication 9] Utilisation cosmétique non thérapeutique d'une composition telle que définie dans l'une quelconque des revendications 1 à 8, pour une application topique sur une peau saine dans le but d'utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois de lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique, en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire, ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées.

[Revendication 10] Méthode de soin cosmétique de la peau saine pour utiliser avantageusement un actif multifonctionnel permettant à la fois, de mieux lutter contre le vieillissement et d'améliorer la fermeté épidermique en ralentissant la progression du cycle cellulaire kératinocytaire ainsi que de restaurer et de protéger la fonction barrière cutanée et le microbiote via son microbiome ainsi que de réduire les imperfections cutanées comprenant l'administration par voie topique d'une composition cosmétique réalisée à partir d'un extrait hydrosoluble de pulpe délipidée de *Dialium guineense* ou de *Dialium cochinchinense* et optimisée par l'utilisation de l'analyse de l'expression du génome entier (full génome) de kératinocytes humains en culture afin d'en déterminer l'ensemble des propriétés ainsi que l'optimisation de leurs préparations, l'association d'enzymes ou non lors des étapes d'extraction ou de macération, l'intérêt ou non d'une torréfaction préalable, le % de pulpe délipidée et séchée ou la nature du séchage final et caractérisée aussi bien par augmentation de l'expression de certains gènes d'intérêts que par di-

minution de l'expression d'autres gènes d'intérêts.

L'épiderme voit donc ses kératinocytes se différencier mieux, ses enveloppes cornées mieux se former, en conséquence de quoi la peau sera plus belle en surface, plus résistante aux méfaits du vieillissement et présentant un effet de barrière de meilleure qualité.

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 924540
FR 2310104

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	<p>DATABASE FSTA [Online] INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE (IFIS), FRANKFURT-MAIN, DE; 2018, AFOLABI O B ET AL: "In vitro antioxidant potential and inhibitory effect of hydroethanolic extract from African black velvet tamarind (Dialium indium) pulp on type 2 diabetes linked enzymes.", XP002811399, Database accession no. FS-2019-06-Jg7490 * abrégé * & SLOVAK JOURNAL OF FOOD SCIENCE, vol. 12, no. 1, 2018, page 413, -----</p>	1-3,5	<p>A61K 8/06 A61K 8/34 A61K 8/9789 A61Q 1/00 A61Q 11/00 A61Q 17/00 A61Q 19/00 A61Q 19/08 A61Q 3/00 A61Q 5/00</p>
A	<p>CHARLES AWORH O ED - SCHIEBER ANDREAS ET AL: "Promoting food security and enhancing Nigeria's small farmers' income through value-added processing of lesser-known and under-utilized indigenous fruits and vegetables", FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 76, 5 juin 2015 (2015-06-05), pages 986-991, XP029272224, ISSN: 0963-9969, DOI: 10.1016/J.FOODRES.2015.06.003 * tableau 1 * -----</p>	1-10	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)</p> <p>A61K A61Q</p>
A	<p>DATABASE COMPENDEX [Online] ENGINEERING INFORMATION, INC., NEW YORK, NY, US; 2001, PELLISSIER Y ET AL: "Volatile constituents of fruit pulp of Dialium guineense Wild. (cesalpinaceae)", XP002811400, Database accession no. E2001316603135 * abrégé * ----- -/--</p>	1-10	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
18 avril 2024		Szarek, Sophie	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 924540
FR 2310104

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	<p>& JOURNAL OF ESSENTIAL OIL RESEARCH 2001 ALLURED PUBLISHING COMPANY US, vol. 13, no. 2, 2001, pages 103-104, -----</p> <p>DATABASE FSTA [Online] INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE (IFIS), FRANKFURT-MAIN, DE; 24 juillet 2023 (2023-07-24), GERTRUDE ADOMAA ASANTE AMPADU ET AL: "Antioxydant, antimicrobien, et antibiofilm propriétés de huiles extraites de Dialium guineense.", XP002811401, Database accession no. FS-2024-02-Te0590 * abrégé *</p> <p>& INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES, vol. 26, no. 1, 24 juillet 2023 (2023-07-24), page 1885, -----</p>	1-10	
Y	<p>FR 3 049 461 A1 (JAFER [ES]) 6 octobre 2017 (2017-10-06) * le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	<p>JP 2010 111615 A (NOF CORP) 20 mai 2010 (2010-05-20) * le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-10	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
18 avril 2024		Szarek, Sophie	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2310104 FA 924540**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **18-04-2024**
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 3049461	A1	06-10-2017	AUCUN	

JP 2010111615	A	20-05-2010	JP 5412798 B2	12-02-2014
			JP 2010111615 A	20-05-2010
