

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 21.12.07.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 26.06.09 Bulletin 09/26.

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

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : VINCIENCE Société anonyme — FR.

72 Inventeur(s) : DAL FARRA CLAUDE et DOMLOGE
NOUHA.

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : VINCIENCE.

54 UTILISATION D'UN HYDROLYSAT DE FEVE EN TANT QUE PRINCIPE ACTIF ACTIVATEUR DE LA SYNTHÈSE
DES AQUAPORINES.

57 L'invention concerne l'utilisation d'un hydrolysat pepti-
dique de fève (*Vicia faba* L.), en tant que principe actif capa-
ble d'activer la synthèse des aquaporines, dans une
composition cosmétique ou nutraceutique destinée à amé-
liorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme et à
stimuler la régénération cutanée. L'invention est également
relative à l'utilisation de ce nouveau principe actif pour la
réalisation d'une composition pharmaceutique, et notam-
ment dermatologique, destinée à réguler et/ou stimuler l'ac-
tivité des aquaporines. L'invention porte encore sur un
procédé de traitement cosmétique destiné à prévenir ou à
lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses et
les manifestations du vieillissement cutané.



La présente invention se situe dans le domaine cosmétique, et pharmaceutique, et plus particulièrement dans le domaine de la dermatologie. L'invention concerne l'utilisation d'un hydrolysate peptidique de fève (*Vicia faba L.*) en tant que principe actif capable d'activer la synthèse des aquaporines, par voie orale ou topique, dans une composition cosmétique ou nutraceutique destinée à améliorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme et à stimuler la régénération cutanée. De préférence, le principe actif provient de l'hydrolyse de protéines de fève et contient principalement des peptides. Le principe actif peut être utilisé seul ou en association avec d'autres principes actifs. L'invention est également relative à l'utilisation de ce nouveau principe actif pour la réalisation d'une composition pharmaceutique, et notamment dermatologique, par voie orale ou topique, destinée à réguler et/ou stimuler l'activité des aquaporines et traiter ainsi les pathologies impliquant une sécheresse pathologique de la peau ou des muqueuses, telles que la xérose ou l'eczéma, les symptômes de bouche sèche ou la sécheresse de l'œil. L'invention porte encore sur un procédé de traitement cosmétique destiné à prévenir ou à lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses et les manifestations du vieillissement cutané, selon lequel on applique une quantité efficace d'un peptide capable d'activer la synthèse des aquaporines ou une composition le contenant, sur les zones à traiter.

La peau est un organe vital composé de plusieurs couches (derme, couches prolifératives et *stratum corneum*) qui recouvre toute la surface du corps et assure essentiellement une fonction de barrière vis-à-vis du milieu extérieur. Cette fonction barrière repose en particulier sur la qualité de l'épiderme qui dépend notamment de la l'état du stratum corneum et de l'équilibre entre la prolifération et la différenciation des kératinocytes épidermiques. La qualité et le bon fonctionnement de la peau sont étroitement liés à la teneur en eau des différentes couches de l'épiderme. Ainsi dans un épiderme normal, les couches prolifératives contiennent environ 70 % d'eau, alors que le stratum corneum en contient seulement 10 à 15 %.

L'hydratation du *stratum corneum* est la résultante de trois facteurs : l'approvisionnement en eau à partir du derme, la perte en eau vers le milieu extérieur et la capacité du *stratum corneum* à fixer les molécules d'eau.

La régulation de la distribution en eau se fait par des hormones (aldostérone, hormones sexuelles), le pH ou les variations osmotiques. Les membranes cellulaires sont

de nature hydrophobes et donc peu perméables à l'eau, mais il existe des canaux hydriques, sortes de pores facilitant le passage de l'eau et de certains solutés.

Les aquaporines sont une classe de protéines transmembranaires transporteurs d'eau et de petites molécules en solution, telles que le glycérol et l'urée, qui facilitent le transport
5 de l'eau dans les épithéliums et les endothéliums.

La fonction déterminante des aquaporines dans les épithéliums impliqués dans le transport de l'eau ou des solutés, tels que le rein, a été bien étudiée (Deen et al., 1994). De même, les aquaporines ont été rapidement identifiées dans les glandes exocrines productrices de la salive ou des pleurs. Toutefois, la découverte d'aquaporines de type 3,
10 ou AQP3, dans l'épiderme humain, et plus précisément dans la membrane plasmique des kératinocytes des couches prolifératives de l'épiderme (SOUGRAT R. et al., J. Invest. Dermatol., 2002), a mis en lumière l'importance des flux hydriques régulés dans la peau. Les AQP3 sont capables de transporter l'eau et le glycérol, ce dernier jouant un rôle important dans la constitution du film hydrolipidique de surface ainsi que dans le
15 maintien de la souplesse et des qualités sensorielles du *stratum corneum*.

L'importance des AQP3 a été démontrée chez la souris. En effet, l'inactivation du gène provoque l'apparition de multiples déficiences de la peau, telles qu'un faible taux d'hydratation, une fonction barrière inefficace, un temps de régénération tissulaire augmenté et une diminution de l'élasticité (Ma T. et al., J. Mol. Biol., 2002). On a
20 découvert depuis que l'aquaporine 3 est exprimée dans les fibroblastes dermiques où elle intervient dans la migration de ces cellules lors de la régénération des plaies (Cao C. et al., Biochem J., 2006). D'autre part, les aquaporines jouent un rôle dans la fonction barrière en régulant positivement l'établissement des liaisons et communications cellulaires de type tight junction (KAwedia J. et al., PNAS 104(9), 2007).

25 L'hydratation et la teneur en AQP3 des kératinocytes sont étroitement liées. Ainsi, l'augmentation d'AQP3 dans la peau provoque une meilleure hydratation de l'épiderme (Dumas M., J. Drugs Dermatol., Jun6, 2007).

Les pertes cutanées en eau peuvent avoir plusieurs origines, héréditaires, acquises ou
30 liées à l'environnement. Dans un environnement très sec, les pertes en eau par évaporation à partir du *stratum corneum* sont significatives et peuvent excéder le taux de remplacement par diffusion transcellulaire.

Au cours du vieillissement cutané, la peau devient sèche. Ainsi, il est très souvent constaté chez les sujets âgés, et notamment de plus de 50 ans, la manifestation d'une xérose ou d'une sécheresse des muqueuses, liée à une moindre sécrétion de sébum, à des modifications hormonales ou à des ralentissements du flux hydrique à travers l'épiderme.

5 La peau est alors le siège de démangeaisons et de tiraillements, deux symptômes caractéristiques d'une peau sèche. Parmi les pathologies acquises se traduisant par une sécheresse de la peau, on peut citer la xérose induite par la photo-chimiothérapie et l'eczéma. Parmi les pathologies acquises provoquant une sécheresse de la bouche, ou xérostomie, on peut citer le syndrome de Sjogren ou la radiothérapie du cou. Enfin, parmi

10 les pathologies impliquant une sécheresse des muqueuses, on peut citer les sécheresses oculaires ou vaginales.

Une première alternative de traitement des peaux sèches consiste à administrer par voie topique des produits destinés à restaurer la barrière cutanée, tels que des agents

15 humectants capables de fixer l'eau, parmi lesquels on peut citer l'urée et l'acide lactique qui entrent dans la composition du NMF (Natural Moisturizer Factor ; dérivés protéolytiques de la filaggrine), des agents filmogènes destinés à retenir l'eau, ou encore des agents capables de reconstruire la barrière cutanée (squalènes, céramides acides gras). Toutefois, ces produits ont une action superficielle qui ne corrige pas les défauts

20 biologiques d'une peau souffrant de déshydratation chronique.

Dans ce contexte, les propriétés particulières des aquaporines en font des cibles biologiques possibles pour améliorer l'hydratation de la peau et diminuer les signes de sécheresse cutanée. Ainsi, le brevet FR 2 801 504 décrit l'augmentation d'AQP3 dans la

25 peau par un extrait de plantes *Ajuga turkestanica*, et a permis d'améliorer l'hydratation de la peau. Un extrait de grenade a, part ailleurs, été décrit comme principe actif par voies orale et topique pour stimuler l'activité des aquaporines et réguler les mouvements d'eau et de glycérol dans les tissus (FR 2 874 502). Toutefois, à ce jour, aucune composition cosmétique ou pharmaceutique comprenant un hydrolysate peptidique de fève (*Zea mays*

30 L.) capable d'activer la synthèse des aquaporines, tel que divulgué dans la présente invention, n'a encore été décrite.

La présente invention a pour principal objectif de fournir un nouveau principe actif d'origine végétale, capable d'activer la synthèse des aquaporines et ainsi de prévenir et de lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses et les manifestations du vieillissement cutané. Les inventeurs ont en effet mis en évidence une activité biologique
5 utile dans le domaine cosmétique et thérapeutique, notamment dermatologique, d'un hydrolysate peptidique de fève (*Vicia faba* L.) capable d'activer la synthèse des aquaporines.

Il a en particulier été mis en évidence que cet hydrolysate peptidique de fève (*Vicia faba* L.), lorsqu'il est appliqué sur la peau, améliore l'hydratation et la fonction barrière
10 de l'épiderme et des muqueuses et stimule la régénération cutanée. Ces propriétés ont été démontrées par une protection du tissu cutané et une diminution de l'apoptose à la suite d'un stress hydrique.

On entend par « principe actif capable de prévenir et de lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses et les manifestations du vieillissement cutané », toute substance
15 capable d'améliorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme et des muqueuses ou de diminuer l'apoptose dans des cellules ou des tissus soumis à un stress hydrique.

On entend par « hydrolysate peptidique », un mélange de composés majoritairement représentés par des peptides ou des oligopeptides.

On entend par « application topique », le fait d'appliquer ou d'étaler le principe actif
20 selon l'invention, ou une composition le contenant, à la surface de la peau ou d'une muqueuse.

On entend par « cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable », que le principe actif selon l'invention, ou une composition le contenant, est approprié pour entrer en contact avec la peau ou une muqueuse sans provoquer de réactions de toxicité
25 ou d'intolérance.

On entend par « nutraceutique » une méthode de soin de la peau, qui implique l'administration de principes actifs par des voies autres que la voie topique, à des sujets en bonne santé qui veulent améliorer ou entretenir leur apparence physique.

Par l'expression « biologiquement actif », on entend « qui possède une activité *in vivo*
30 ou *in vitro* caractéristique de l'activité du principe actif selon l'invention ».

Le terme « hydrolysate ou issu de l'hydrolyse », désigne toute substance ou mélange de substances, ou préparation isolée, obtenue après hydrolyse de matière végétale.

On entend par « principe actif capable d'activer la synthèse des aquaporines », toute substance capable d'augmenter l'activité des aquaporines, soit par l'augmentation de la synthèse protéique de l'aquaporine (par modulation directe ou indirecte de l'expression génique de l'aquaporine), soit par l'augmentation de l'activité biochimique de l'aquaporine, soit par d'autres processus biologiques tels que la stabilisation de la protéine aquaporine ou encore la stabilisation des transcrits d'ARN messager.

Préférentiellement, selon la présente invention, l'aquaporine sera l'aquaporine 3, ou AQP3, présente dans les membranes des kératinocytes.

10 Le principe actif selon l'invention peut être obtenu par extraction de protéines d'origine végétale, suivie d'une hydrolyse contrôlée qui libère des fragments peptidiques biologiquement actifs.

De très nombreuses protéines trouvées dans les plantes sont susceptibles de contenir des fragments peptidiques biologiquement actifs au sein de leur structure. L'hydrolyse ménagée permet de dégager ces fragments peptidiques. Il est possible, mais non nécessaire pour réaliser l'invention, d'extraire soit les protéines concernées d'abord et de les hydrolyser ensuite, soit d'effectuer l'hydrolyse d'abord sur un extrait brut et de purifier les fragments peptidiques ensuite. Il est également possible d'utiliser certains extraits hydrolysés sans en purifier les fragments peptidiques correspondant aux peptides biologiquement actifs selon l'invention, mais en s'assurant toutefois de la présence desdits fragments par des moyens analytiques appropriés.

Pour réaliser l'extraction, on peut utiliser la plante entière, ou une partie spécifique de la plante (feuille, grain, etc.)

Plus particulièrement selon l'invention on utilise des graines de plante de la famille des Fabacées (légumineuses), de l'espèce *Vicia faba* L., ou fève. La fève est une plante annuelle, cultivée pour ses graines comestibles. Le terme « fève » désigne aussi la graine qui, consommée à l'état frais ou sec, est l'un des légumes les plus anciennement cultivés.

Préférentiellement, le principe actif capable d'activer la synthèse des aquaporines selon l'invention est un hydrolysât peptidique et provient de l'hydrolyse des protéines des graines de fèves (*Vicia faba* L.).

Toute méthode d'extraction ou de purification connue de l'homme du métier peut être utilisée afin de préparer l'hydrolysât selon l'invention.

Dans une première étape, la plante est broyée à l'aide d'un broyeur à plantes. La poudre ainsi obtenue peut ultérieurement être "délipidée" à l'aide d'un solvant organique classique (comme par exemple un alcool, l'hexane ou de l'acétone).

On réalise ensuite l'extraction des protéines de la plante suivant le procédé classique (Osborne, 1924) modifié ; le broyat de plante est mis en suspension dans une solution alcaline contenant un produit adsorbant de type polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) insoluble (0.01 -20 %) ; en effet il a été observé que les opérations d'hydrolyses et de purifications ultérieures étaient facilitées par ce moyen. En particulier, la concentration en substances de type phénoliques, interagissant avec les protéines, se trouve nettement
10 réduite.

La fraction soluble, contenant les protéines, les glucides et éventuellement des lipides, est recueillie après des étapes de centrifugation et de filtration. Cette solution brute est ensuite hydrolysée dans des conditions ménagées pour générer des peptides solubles. L'hydrolyse se définit comme étant une réaction chimique impliquant le clivage d'une
15 molécule par de l'eau, cette réaction pouvant se faire en milieu neutre, acide ou basique. Selon l'invention, l'hydrolyse est réalisée par voie chimique et/ou de façon avantageuse par des enzymes protéolytiques. On peut alors citer l'utilisation des endoprotéases d'origine végétale (papaïne, bromelaïne, ficine) et de micro-organismes (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Bacillus*, etc.). Cette forme brute d'hydrolysate constitue une première forme du
20 principe actif selon l'invention.

Pour les mêmes raisons que précédemment, c'est-à-dire l'élimination des substances polyphénoliques, une quantité de polyvinylpolypyrrolidone est additionnée au milieu réactionnel lors de cette étape d'hydrolyse ménagée. Après filtration la solution obtenue constitue l'hydrolysate actif. L'hydrolysate actif peut être encore purifié afin de sélectionner
25 les poids moléculaires et la nature des peptides générés. Le fractionnement peut s'effectuer avantageusement par ultrafiltration et/ ou par une méthode de type chromatographique.

L'une quelconque des formes plus ou moins purifiées de l'hydrolysate est alors solubilisée dans de l'eau ou dans tout mélange contenant de l'eau, puis stérilisée par
30 ultrafiltration.

L'hydrolysate végétal obtenu selon l'invention est analysé qualitativement et quantitativement pour ses caractéristiques physico-chimiques et sa teneur en composés de nature protéique et peptidique. On entend par composés de nature peptidique, les

fragments de protéines, les peptides et les acides aminés libres présents dans le mélange. Les peptides, acides aminés et fragments de protéines sont dosés selon les techniques classiques, bien connues de l'homme du métier.

- 5 Ainsi, selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'hydrolysât végétal actif a un pH compris entre 4 et 7, et préférentiellement, entre 5 et 6, un extrait sec titrant entre 1 et 10 g/l, et de manière préférée entre 2 et 5 g/l, sa teneur en composés de nature peptidique est comprise entre 0,5 et 8 g/l, et préférentiellement entre 3,5 et 5,5 g/l et sa teneur en sucres est de 0,5 à 5 g/l, et préférentiellement entre 0,5 et 2,5 g/l.
- 10 Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, le principe actif selon l'invention est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptables, classiquement utilisés par l'homme du métier, comme l'eau, le glycérol, l'éthanol, le propylène glycol, le butylène glycol, le dipropylène glycol, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les polyols cycliques, la vaseline, une huile
- 15 végétale ou tout mélange de ces solvants.

- Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le principe actif selon l'invention est préalablement solubilisé dans un vecteur cosmétique ou pharmaceutique comme les liposomes ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, des supports minéraux comme les talcs et bentonites, et plus généralement
- 20 solubilisé dans, ou fixé sur, tout vecteur cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable.

- La composition utilisable selon l'invention peut en particulier consister en une composition pour soins capillaires, et notamment un shampoing, un après-shampoing, une lotion traitante, une crème ou un gel coiffant, une lotion restructurante pour les
- 25 cheveux, un masque, etc. La composition cosmétique selon l'invention peut être utilisée notamment dans les traitements mettant en œuvre une application qui est suivie ou non d'un rinçage, ou encore sous forme de shampoing. La composition selon l'invention pourra avantageusement être utilisée dans les soins antipelliculaires.

- Elle peut également se présenter sous forme de teinture ou de mascara à appliquer au
- 30 pinceau ou au peigne, en particulier sur les cils, les sourcils ou les cheveux.

Il est bien entendu que le principe actif selon l'invention peut être utilisé seul ou bien en association avec d'autres principes actifs, dans une composition cosmétique ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique et/ou dermatologique.

Avantageusement, les compositions utilisables selon l'invention contiennent en outre divers agents actifs hydratants, destinés, notamment, à la prévention et/ou au traitement des désordres liés au vieillissement. Ainsi, la composition selon l'invention peut associer du glycérol, en tant que principe actif adjuvant, au principe actif décrit dans la présente invention. Cette association est particulièrement avantageuse et procure une efficacité d'hydratation optimale, comparée à l'utilisation du glycérol seul.

La composition utilisable selon l'invention pourra être appliquée par toute voie appropriée, notamment orale, parentérale ou topique externe, et la formulation des compositions sera adaptée par l'homme du métier, en particulier pour des compositions cosmétiques ou dermatologiques. Avantageusement, les compositions selon l'invention sont destinées à une administration par voie topique cutanée. Ces compositions doivent donc contenir un milieu cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable, c'est-à-dire compatible avec la peau et les phanères, et couvrent toutes les formes cosmétiques ou dermatologiques. Ces compositions pourront notamment être sous forme de crèmes, émulsions huile-dans-eau, ou eau-dans-huile ou émulsions multiples, solutions, suspensions, gels, laits, lotions, sticks ou encore de poudres, et adaptées à une application sur la peau, les lèvres et/ou les phanères. Ces compositions comprennent les excipients nécessaires à leur formulation, tels que solvants, épaississants, diluants, tensioactifs, antioxydants, colorants, conservateurs, parfums.

Selon une autre forme de l'invention, les compositions utilisables pour l'invention seront appropriées à une administration orale pour un usage pharmaceutique ou nutraceutique. Ainsi les compositions pourront notamment se présenter sous forme de comprimés, capsules, gélules, pâtes à mâcher, poudres à consommer telles quelles ou à mélanger extemporanément avec un liquide, sirop, gels, et toute autre forme connue de l'homme du métier. Elles contiendront des excipients de formulation appropriés, tels que colorants, édulcorants, aromatisants, agents de charge, liants, conservateurs.

Il est bien évident que l'invention s'adresse aux mammifères en général, et plus particulièrement aux êtres humains.

La quantité efficace de principe actif correspond à la quantité nécessaire pour obtenir le résultat recherché, à savoir, améliorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme, et/ou stimuler la régénération cutanée, et/ou réguler ou stimuler l'activité des

aquaporines, et/ou prévenir ou lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses et les manifestations du vieillissement cutané.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, le principe actif selon l'invention est présent dans les compositions de l'invention à une concentration comprise
5 entre 0,0001 % à 20 % environ, et préférentiellement à une concentration comprise entre 0,05 % et 5 % environ par rapport au poids total de la composition finale.

Ces compositions pourront notamment se présenter sous forme d'une solution aqueuse, hydroalcoolique ou huileuse ; d'une émulsion huile-dans-eau, eau-dans-huile ou
10 émulsions multiples ; elles peuvent aussi se présenter sous forme de crèmes, de suspensions, ou encore de poudres, adaptées à une application sur la peau, les muqueuses, les lèvres et/ou les phanères. Ces compositions peuvent être plus ou moins fluides et avoir l'aspect d'une crème, d'une lotion, d'un lait, d'un sérum, d'une pommade, d'un gel, d'une pâte ou d'une mousse. Elles peuvent aussi se présenter sous forme solide, comme un stick
15 ou être appliquées sur la peau sous forme d'aérosol. Elles peuvent être utilisées comme produit de soin et/ou comme produit de maquillage de la peau.

Ces compositions comprennent, en outre, tout additif communément utilisé dans le domaine d'application envisagé ainsi que les adjuvants nécessaires à leur formulation, tels que des solvants, des épaississants, des diluants, des anti-oxydants, des colorants, des
20 filtres solaires, des agents auto-bronzants, des pigments, des charges, des conservateurs, des parfums, des absorbeurs d'odeur, des actifs cosmétiques ou pharmaceutiques, des huiles essentielles, des vitamines, des acides gras essentiels, des tensioactifs, des polymères filmogènes, etc.

Dans tous les cas, l'homme de métier veillera à ce que ces adjuvants ainsi que leurs
25 proportions soient choisis de telle manière à ne pas nuire aux propriétés avantageuses recherchées de la composition selon l'invention. Ces adjuvants peuvent, par exemple, correspondre à 0,01 à 20 % du poids total de la composition. Lorsque la composition de l'invention est une émulsion, la phase grasse peut représenter de 5 à 80 % en poids et de préférence de 5 à 50 % en poids par rapport au poids total de la composition. Les
30 émulsionnants et co-émulsionnants utilisés dans la composition seront choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine considéré. Par exemple, ils peuvent être utilisés en une proportion allant de 0,3 à 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

Par ses activités particulières, le principe actif selon l'invention pourra être utilisé avantageusement dans une composition cosmétique ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique.

En particulier, le principe actif selon l'invention pourra être utilisé avantageusement dans une composition cosmétique destinée à lutter de manière préventive et/ou curative contre les manifestations du vieillissement cutané et, plus spécifiquement, afin de lutter contre et/ou de prévenir le vieillissement photo-induit (photo-vieillissement). Par manifestations cutanées du vieillissement, on entend toutes modifications de l'aspect extérieur de la peau et des phanères dues au vieillissement comme, par exemple, les rides et ridules, la peau flétrie, la peau molle, la peau amincie, le manque d'élasticité et/ou de tonus de la peau, la peau terne et sans éclat ou les taches de pigmentation de la peau, la décoloration des cheveux ou les taches sur les ongles, mais également toute modification interne de la peau qui ne se traduit pas systématiquement par un aspect extérieur modifié comme, par exemple, toute dégradation interne de la peau consécutive à une exposition aux rayonnements ultraviolets (UV). Le principe actif selon l'invention, ou la composition le contenant, permettra de lutter, en particulier, contre la perte d'élasticité et de fermeté de la peau.

Le principe actif selon l'invention permet de protéger la peau et les muqueuses contre tous types d'agressions extérieures.

On entend par l'expression « agression extérieure », les agressions que peut produire l'environnement. A titre d'exemple, on peut citer des agressions telles que la pollution, les UV, ou encore les produits à caractère irritant tels que les tensioactifs, les conservateurs ou les parfums. Par pollution, on entend aussi bien la pollution « extérieure » due par exemple aux particules de diesel, à l'ozone ou aux métaux lourds, que la pollution « intérieure » qui peut être due notamment aux émissions de solvants de peintures, de colles, ou de papier-peints (tels que toluène, styrène, xylène ou benzaldehyde), ou bien encore la fumée de cigarette. La sécheresse de l'atmosphère est également une cause importante de dessèchement cutané.

Les agressions que subissent la peau et les cheveux sont dues, par exemple, à un déséquilibre du gradient électrochimique à travers la membrane cellulaire, ce qui peut aboutir à des variations importantes de la pression osmotique et cela peut avoir pour conséquence des chocs osmotiques et donc la lyse des cellules.

Or les inventeurs ont démontré, d'une manière surprenante, que le principe actif selon l'invention protège les cellules contre ces chocs osmotiques.

La peau peut également être agressée par des traitements tels que le rasage. Avantageusement, l'invention a pour objet l'utilisation dans une composition cosmétique, d'une quantité efficace de principe actif tel que décrit précédemment, le principe actif, ou la composition le contenant, étant destiné à prévenir ou à traiter les dommages causés à la peau par le rasage.

L'invention a également pour objet l'utilisation dans une composition cosmétique, ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, d'une quantité efficace de principe actif tel que décrit précédemment, le principe actif, ou la composition le contenant, étant destiné à stimuler la régénération cutanée.

L'invention a également pour objet l'utilisation dans une composition cosmétique, ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, d'une quantité efficace de principe actif tel que décrit précédemment, le principe actif, ou la composition le contenant, étant destiné à prévenir les dommages causés à la peau par une exposition au soleil ou à un environnement desséchant.

L'invention consiste encore en l'utilisation du principe actif selon l'invention, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à réguler et/ou stimuler l'activité des aquaporines et prévenir ou traiter ainsi les pathologies provoquées par les dysfonctionnements des aquaporines de la peau et des muqueuses, tels que l'eczéma, la xérose, les dermatites atopiques, les sècheresses buccales, oculaires ou vaginales.

L'invention consiste encore en un procédé de traitement cosmétique destiné à améliorer l'aspect de la peau et prévenir ou à lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses, selon lequel on applique une quantité efficace d'un peptide selon l'invention capable d'activer l'aquaporine ou une composition le contenant sur les zones à traiter.

L'invention consiste encore en un procédé de traitement cosmétique destiné à prévenir et/ou à lutter contre les signes cutanés du vieillissement et/ou du photo-vieillissement, selon lequel on applique une quantité efficace d'un peptide selon l'invention capable d'activer l'aquaporine ou une composition le contenant, sur les zones à traiter.

Des modes de réalisation particuliers de ce procédé de traitement cosmétique résultent également de la description précédente. D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples donnés à titre illustratif et non limitatif.

5 **Exemple 1 : Préparation d'un hydrolysats peptidique de graines de fève (*Vicia faba* L.)**

Les graines de fève (*Vicia faba* L.) sont mises en solution dans 10 volumes d'eau en présence de 2% de POLYCLAR® 10 (polyvinylpyrrolidone – PVPP - insoluble). Le mélange est ajusté à un pH compris entre 6 et 8 avec une solution aqueuse de soude 1 M.

10 Une précipitation en milieu acide est ensuite réalisée. Le culot est remis en solution et après ajustement du pH, de la papaïne à 2% est ajoutée dans le milieu réactionnel. L'hydrolyse est obtenue après 2 heures d'agitation à 55°C. On procède ensuite à l'inactivation de l'enzyme par chauffage de la solution à 80°C pendant 2 heures. Après centrifugation, la solution aqueuse surnageante correspondant à un hydrolysats brut de

15 fève est récupérée.

Le procédé de purification de l'hydrolysats brut commence par des filtrations successives à l'aide de filtres-plaques Seitz-Orion de porosité décroissante (jusqu'à 0.2 µm) afin d'obtenir une solution jaune clair, brillante et limpide, qualifié d'hydrolysats 1.

A cette étape, l'hydrolysats 1 de fève est caractérisé par un extrait sec titrant de 40 à

20 50 g/kg, un taux de protéines de 20 à 30 g/l et un taux de sucres de 3 à 5 g/l.

La nature protéique de l'hydrolysats 1 est mise en évidence après analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide NuPAGE® Bis-Tris Pre-cast (Invitrogen). L'hydrolysats protéique de fève est chauffé à 70°C pendant 10 minutes dans des conditions réductrices dénaturantes dans un tampon de préparation d'échantillon NuPAGE® LDS.

25 Une solution de NuPAGE® Antioxydant est ajoutée dans la cuve intérieure (cathode) pour éviter que les protéines réduites ne se réoxydent durant l'électrophorèse. La migration des protéines est réalisée dans du tampon de migration NuPAGE® MES avec le standard SeeBlue Plus2 comme marqueur de poids moléculaire. La coloration des protéines est effectuée à l'aide de Bleu de Coomassie® R-250. Dans ces conditions, on observe que les

30 peptides obtenus ont un poids moléculaire inférieur à 10 kDa.

L'hydrolysats 1 est ensuite purifié afin de ne conserver que les peptides de poids moléculaire inférieur à 5 à 8 kDa, à l'aide de filtrations à flux tangentiel. Pour cela,

l'hydrolysat 1 est pompé sous pression à travers un support Pellicon® équipée de cassette Pellicon® 2 Biomax 5 kDa. En fin de purification, on obtient un hydrolysat peptidique brillant et limpide. On procède ensuite à une phase de dilution afin d'obtenir un hydrolysat peptidique caractérisé par une teneur en protéines de 3,5 à 5,5 g/l. Cet hydrolysat peptidique correspond au principe actif selon l'invention.

Cet hydrolysat peptidique est alors analysé en chromatographie liquide haute pression (HPLC) à l'aide d'un appareil HP1100 piloté par le logiciel ChemStation. La colonne utilisée lors de l'élution de l'hydrolysat 2 est une Nucleosil® 300-5 C4 MPN (125 x 4 mm), permettant de chromatographier des protéines ayant des poids moléculaires de 0.2 à 25 kDa (selon un gradient de solvants approprié). Dans ces conditions chromatographiques, plusieurs fractions peptidiques ont pu être isolées. Ces diverses fractions sont ensuite analysées par spectrométrie de masse afin d'identifier leurs pics moléculaires.

La détermination de la composition en acides aminés du principe actif selon l'invention a également été réalisée. Celle-ci est réalisée après hydrolyse acide et identification par chromatographie liquide haute pression à l'aide d'une pré-dérivation au PICT (phenylisothiocyanate).

Un exemple de composition en acides aminés de l'hydrolysat est donné dans le tableau suivant (en %) :

Acides aminés	%
Alanine	4,8
Acide Aspartique	12,8
Arginine	10,6
Acide Glutamique	20,7
Glycine	4,8
Histidine	2,6
Isoleucine	4,8
Leucine	8,5
Lysine	7,4
Phénylalanine	5,3
Proline	4,8
Serine	5,8
Thréonine	4,2
Tyrosine	4,8
valine	5,8
Tryptophane	5,3

Exemple 2 : Evaluation de l'effet protecteur du principe actif selon l'exemple 1 vis-à-vis d'un choc osmotique

Le but de cette étude est de déterminer l'effet protecteur du principe actif selon l'exemple 1 vis-à-vis de kératinocytes humains normaux soumis à un choc osmotique provoqué par le sorbitol. L'évaluation de l'état cellulaire s'effectue ensuite par un test de viabilité au MTT.

Protocole :

Des kératinocytes humains normaux en culture ont été mis en présence du principe actif selon l'exemple 1 à 0,5 %, 1 % et 3 %, 24 heures avant et pendant le choc osmotique. Les conditions de culture hypertoniques sont réalisées en ajoutant du sorbitol à 250 mM au milieu de culture pendant 24 heures. Des contrôles non traités sont réalisés.

Des tests de viabilité cellulaire ont ensuite été réalisés par la technique au MTT. L'agent MTT (3-[4, 5-diméthylthiazol-2-yl]-2, 5-diphényltétrazolium bromide) est utilisé pour évaluer la viabilité cellulaire. Les kératinocytes sont incubés dans une solution contenant 0,1 mg/ml de MTT (3-[4, 5-diméthylthiazol-2-yl]-2, 5-diphényltétrazolium bromide). Ce composé est absorbé par les cellules vivantes puis métabolisé par les enzymes mitochondriales (succinate déshydrogénase) en un composé bleu violet, le formazan, qui se présente sous forme de cristaux violets insolubles en milieu aqueux.

Les cristaux de formazan sont solubilisés dans du DMSO, ils donnent une densité optique (D.O.) proportionnelle au nombre de cellules vivantes présentes dans l'échantillon. Des mesures de densité optique ont ensuite été réalisées pour chaque échantillon étudié (La D.O. se lisant à 540 nm). La D.O. est alors directement proportionnelle à l'activité enzymatique ainsi qu'au nombre de cellules vivantes.

Résultats :

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la viabilité, dose-dépendante, des cellules soumises au choc osmotique lorsque les cellules sont traitées avec le principe actif selon l'exemple 1, en comparaison avec les cellules non traitées. L'augmentation de viabilité est de 12 % lorsque les cellules sont traitées avec le principe actif selon l'exemple 1 à 3 %,

Conclusions :

Le principe actif selon l'exemple 1 protège efficacement les kératinocytes humains normaux soumis à un choc osmotique.

Exemple 3 : Evaluation de l'effet protecteur du principe actif selon l'exemple 1 vis-à-vis d'une déshydratation cutanée induite

Le but de cette étude est de déterminer l'effet protecteur du principe actif selon l'exemple 1, vis-à-vis de cultures d'épiderme *ex vivo* soumises à un stress par une déshydratation cutanée induite.

Protocole :

Des biopsies de peau humaine sont débarrassées de leur couche cornée par arrachage à l'aide de ruban adhésif (tape stripping) puis maintenues en culture *ex vivo*, traitées avec une solution à 1 %, de principe actif selon l'exemple 1, pendant 24 heures. L'absence de couche cornée induit une déshydratation importante. Des coupes et des colorations histologiques hématoxyline-éosine (H&E) permettent d'évaluer la qualité des structures cutanées.

Résultats :

L'observation des coupes de peau montrent une nette diminution des signes de stress cellulaire et une meilleure préservation des structures cutanées dans les biopsies de peau traitées par le principe actif selon l'exemple 1, comparées aux biopsies de peau non traitées. D'autre part, l'aspect des kératinocytes de l'assise basale montre un effet régénérant du principe actif selon l'exemple 1.

Conclusions :

Le principe actif selon l'exemple 1 protège efficacement la peau du stress induit par la déshydratation. D'autre part, le principe actif selon l'exemple 1 permet une régénération de l'épiderme.

Exemple 4 : Mise en évidence de l'effet activateur du principe actif selon l'exemple 1 sur l'expression des claudines et de la kératine K10

Le but de cette étude est de déterminer l'influence du principe actif selon l'exemple 1 sur l'expression des claudines et de la kératine K10. Les claudines sont les principales protéines transmembranaires des structures d'adhésion intercellulaires nommées tight-junction, qui jouent un rôle dans la communication cellulaire et la cohésion épidermique. La kératine K10 est une kératine spécifique des couches épidermiques différenciées (*stratum granulosum*) et intervient dans la fonction barrière de la peau. La quantité de protéine a été évaluée par immunofluorescence sur des coupes de peau humaine.

Protocole : Des échantillons de peau humaine sont mis en culture à l'interface air/liquide. Une solution à 1 % de principe actif selon l'exemple 1 est appliquée topiquement, puis les échantillons sont incubés durant 24 heures.

- 5 Ces échantillons de peau sont ensuite fixés avec du formaldéhyde puis inclus dans la paraffine. Des coupes de 2 à 3 µm sont alors réalisées. L'immunomarquage est effectué après différentes étapes de lavage et d'incubation de ces coupes.

L'immunomarquage de la Claudin-1 est réalisé à l'aide d'un anticorps spécifique de la claudin-1 (anticorps claudin-1: rabbit polyclonal, ref: Ab15098, Abcam, dilution 10 1/200^{ème}), puis d'un anticorps secondaire, couplé à un marqueur fluorescent (alexa Fluor 488 donkey anti-rabbit IgG, A21206, Molecular Probes, 1/1000^{ème}).

L'immunomarquage de la Kératine 10 est réalisé à l'aide d'un anticorps spécifique de la kératine 10 (anticorps K10: mouse monoclonal, ref: LHP1, Novocastra, dilution 15 1/50^{ème}), puis d'un anticorps secondaire, couplé à un marqueur fluorescent (alexa Fluor 488 donkey anti-mouse IgG, A21202, Molecular Probes, 1/1000^{ème}).

Les coupes de peau sont alors examinées au microscope à Epi-fluorescence (Nikon Eclipse E600 microscope).

Résultats : Les observations microscopiques montrent une fluorescence plus forte dans les peaux traitées par le principe actif selon l'exemple 1 à 1 %, en particulier les 20 couches supérieures de l'épiderme aussi bien pour la protéine claudin-1 que pour la kératine K10.

Conclusions : Le principe actif selon l'exemple 1 stimule fortement l'expression des claudines, en particulier dans les couches supérieures de l'épiderme. De même, le principe actif selon l'exemple 1 stimule fortement l'expression de la kératine K10, et plus 25 généralement les fonctions barrières de l'épiderme.

Exemple 5 : Mise en évidence de l'effet stimulant du principe actif selon l'exemple 1 sur l'expression d'aquaporines

Le but de cette étude est de déterminer l'influence du principe actif selon l'exemple 1 sur l'expression de l'aquaporine 3 dans des échantillons de peau *ex vivo*.

30 Protocole : Des échantillons de peau humaine sont mis en culture à l'interface air/liquide. Une solution à 1 % de principe actif selon l'exemple 1 est appliquée topiquement, puis les échantillons sont incubés durant 24 heures ou 48 heures.

Ces échantillons de peau sont ensuite fixés avec du formaldéhyde puis inclus dans la paraffine. Des coupes de 2 à 3 µm sont alors réalisées. L'immunomarquage est effectué après différentes étapes de lavage et d'incubation de ces coupes. L'immunomarquage est réalisé à l'aide d'un anticorps polyclonal spécifique de l'aquaporine 3 (Anti-aquaporin 3 (C-18): goat polyclonal, sc-9885, Santa Cruz, dilution 1/100^{ème}), puis d'un anticorps secondaire, couplé à un marqueur fluorescent (Alexa-fluor 488 donkey anti-goat Ig G, Molecular Probes, dilution 1/1000^{ème}). Les coupes de peau sont alors examinées au microscope à Epi-fluorescence (Nikon Eclipse E600 microscope).

Résultats : Les observations microscopiques montrent une fluorescence plus forte dans les peaux traitées par le principe actif selon l'exemple 1 à 1 %, en particulier dans les couches supérieures de l'épiderme par rapport au contrôle non traité.

Conclusions : Le principe actif selon l'exemple 1 stimule l'expression de l'aquaporine 3, en particulier dans les couches supérieures de l'épiderme.

Exemple 6 : Préparation de compositions

1 - Crème de jour

<i>Noms commerciaux</i>	<i>Noms INCI</i>	<i>% massique</i>
PHASE A		
MONTANOV 68	Cetearyl Alcohol (and) Cetearyl Glucoside	5,00
HUILE DE JOJOBA	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil	3,00
HUILE DE VASELINE	Paraffinum Liquidum (Mineral Oil)	2,00
SQUALANE	Squalane	3,00
CERAPHYL 368	Ethylhexyl palmitate	4,00
CERAPHYL 41	C12-C15 Alkyl Lactate	3,00
RAPITHIX A-60	Sodium polyacrylate (and) Hydrogenated Polydecene (and) Trideceth -6	0,30
PHASE B		
GLYCERINE	Glycerin	5,00
ALLANTOÏNE	Allantoin	0,10
EAU DEMINERALISEE	Aqua (Water)	qsp 100
PHASE C		

<i>Noms commerciaux</i>	<i>Noms INCI</i>	<i>% massique</i>
ROKONSAL MEP	Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Propylparaben	0,50
PHASE D		
PRINCIPE ACTIF SELON EXEMPLE 1		5 %
PHASE E		
PARFUM	Parfum (Fragrance)	qsp

Mode Opérateur :

- Peser les ingrédients de la phase grasse et chauffer à 70°C sous agitation. Préparer la phase B et la chauffer à 70°C. Emulsionner la phase A dans la phase B. Ajouter la phase
- 5 D vers 50°C sous agitation. En dessous de 40°C, additionner le principe actif (Phase D). Parfumer et refroidir jusqu'à température ambiante.

2 - Crème hydratante W/O

<i>Noms commerciaux</i>	<i>Noms INCI</i>	<i>% massique</i>
PHASE A		
ARLACEL P 135	PEG-30 Dipolyhydroxystearate Isononanoate	2,00
CERAPHYL 375	Isostearyl Neopentanoate	3,00
PANALANE L-14E	Hydrogenated Polyisobutene	3,00
CERAPHYL ODS	Octyldodecyl Stearate	9,00
CERAPHYL 368	Ethylhexyl Palmitate	3,00
PHASE B		
EAU DEMINERALISEE	Aqua (Water)	qsp 100
ATLAS G-2330	Sorbeth-30	4,00
SULFATE DE MAGNESIUM 7 H ₂ O	Magnesium Sulfate	0,70
PRINCIPE ACTIF SELON EXEMPLE 1		2 %
PHASE C		
LIQUAPAR OPTIMA	Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Isopropylparaben (and) Isobutylparaben (and) Butylparaben	0,50

<i>Noms commerciaux</i>	<i>Noms INCI</i>	<i>% massique</i>
PHASE D		
PARFUM	Parfum (Fragrance)	qsp

Mode Opératoire :

Peser la phase A et chauffer à 75°C sous agitation. Préparer la phase B et la chauffer à 75°C. Emulsionner la phase B dans la phase A sous forte agitation rotor-stator.

- 5 Homogénéiser quelques minutes. Refroidir brutalement à l'aide d'un bain d'eau glacée sous vive agitation. Ajouter la phase C aux environs de 50°C et additionner le parfum (phase D) à 40°C. Poursuivre le refroidissement jusqu'à température ambiante.

3 - Lotion hydratante

<i>Noms commerciaux</i>	<i>Noms INCI</i>	<i>% massique</i>
EAU DEMINERALISEE	Aqua (Water)	qsp 100
GLYCERINE	Glycerin	2,00
PROPYLENE GLYCOL	Propylene Glycol	2,00
GLUCAM E-10	Methyl Gluceth -10	1,00
NEOSORB	Sorbitol	5,00
ALLANTOINE	Allantoin	0,10
ROKONSAL BSB	Benzoic Acid (and) Sorbic Acid (and) Benzyl Alcohol	0,30
PRINCIPE ACTIF SELON EXEMPLE 1		0,5 %
PARFUM hydrosoluble	Parfum (Fragrance)	qsp

10

Mode Opératoire :

Incorporer les ingrédients un à un à la quantité d'eau nécessaire et agiter jusqu'à parfaite dissolution. Réajuster le pH aux environs de 5,5 si nécessaire. Incorporer l'actif en fin de formulation. Parfumer avec un parfum hydrosoluble sous faible agitation.

15

REVENDECATIONS

1. Utilisation d'une quantité efficace d'hydrolysate peptidique de fève (*Vicia faba L.*), en
5 tant que principe actif capable d'activer la synthèse des aquaporines, seul ou en association avec d'autres principes actifs, dans une composition cosmétique ou nutraceutique destinée à améliorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme.
2. Utilisation d'une quantité efficace d'hydrolysate peptidique de fève (*Vicia faba L.*), en
10 tant que principe actif capable d'activer la synthèse des aquaporines, seul ou en association avec d'autres principes actifs, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir ou traiter les sècheresses pathologiques de la peau ou des muqueuses.
- 15 3. Utilisation selon les revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que le principe actif, contient entre 0,5 et 8 g/l, et préférentiellement entre 3,5 et 5,5 g/l de composés de nature peptidique.
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce
20 que le principe actif est utilisé en une quantité représentant de 0,0001 % à 20 % du poids total de la composition, et préférentiellement en une quantité représentant de 0,05 % à 5 % du poids total de la composition.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce
25 que le principe actif est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptables, comme l'eau, le glycérol, l'éthanol, le propylène glycol, le butylène glycol, le dipropylène glycol, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les polyols cycliques, la vaseline, une huile végétale ou tout mélange de ces solvants.
- 30 6. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que les aquaporines sont des aquaporines de type 3.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition se présente sous une forme adaptée à l'application par voie topique comprenant un milieu cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.
- 5
8. Utilisation selon les revendications 1 à 6, caractérisée en ce que la composition se présente sous une forme adaptée à l'administration orale.
9. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif, tel que défini dans l'une
10 quelconque des revendications 1 à 5, dans une composition cosmétique destinée à améliorer l'hydratation et la fonction barrière de l'épiderme.
10. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif, tel que défini dans l'une
15 quelconque des revendications 1 à 5, dans une composition cosmétique destinée à prévenir ou à traiter la sécheresse cutanée.
11. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif, tel que défini dans l'une
20 quelconque des revendications 1 à 5, dans une composition cosmétique destinée à protéger la peau et les muqueuses des agressions extérieures.
12. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif, tel que défini dans l'une
25 quelconque des revendications 1 à 5, dans une composition cosmétique ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, destinée à stimuler la régénération cutanée.
13. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif, tel que défini dans l'une
30 quelconque des revendications 1 à 5, dans une composition cosmétique destinée à prévenir ou à traiter les signes cutanés du vieillissement et/ou du photo-vieillissement.
14. Procédé de traitement cosmétique destiné à améliorer l'aspect de la peau et à prévenir et/ou lutter contre la sécheresse de la peau et des muqueuses, caractérisé en ce que l'on applique topiquement sur la peau ou les muqueuses à traiter une composition telle que définie selon l'une quelconque des revendications 1 à 7.

15. Procédé de traitement cosmétique destiné à prévenir et/ou à lutter contre les signes cutanés du vieillissement et/ou du photo-vieillissement, caractérisé en ce que l'on applique topiquement sur la peau à traiter une composition telle que définie selon
- 5 l'une quelconque des revendications 1 à 7.



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

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

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 702548
FR 0708984

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	DATABASE WPI Week 199714 Thomson Scientific, London, GB; AN 1997-149759 XP002488093 & JP 09 025225 A (SANSEI SEIYAKU KK) 28 janvier 1997 (1997-01-28) * abrégé *	1-12,14	A61K8/97 A61K36/00 A61P17/00 A61Q19/00
X	----- JP 09 025225 A (SANSEI SEIYAKU KK) 28 janvier 1997 (1997-01-28) * alinéas [0011], [0019], [0042] - [0049], [0051] * * exemples 1-8 * * revendication 1 *	1-12,14	
X	----- EP 1 352 626 A (OREAL [FR]) 15 octobre 2003 (2003-10-15) * alinéas [0012], [0026], [0039], [0040] * * revendications 12,22,23 *	1-7,9, 13,15	
X	----- FR 2 878 438 A (OREAL [FR]) 2 juin 2006 (2006-06-02) * page 1, ligne 1-3,13 * * page 6, ligne 2 * * page 10, ligne 6 * * revendication 7 *	1-7,9, 13,15	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61Q
	----- -/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 août 2008		Cimpeanu, Valentin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		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	
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			

11
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

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

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 702548
FR 0708984

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A,D	DUMAS M. ET AL: "Hydrating skin by stimulating biosynthesis of aquaporins" JOURNAL OF DRUGS IN DERMATOLOGY, [Online] vol. Supplement., no. 6, juin 2006 (2006-06), pages 20-24, XP002488654 New York Extrait de l'Internet: URL:http://findarticles.com/p/articles/mi_m0PDG/is_6_6/ai_n19328745/pg_1?tag=artBody;coll> [extrait le 2008-07-08] * le document en entier * -----	1,2,6	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 août 2008		Cimpeanu, Valentin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		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	
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			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE**RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0708984 FA 702548**

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 **08-08-2008**

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
JP 9025225 A	28-01-1997	AUCUN	

EP 1352626 A	15-10-2003	AT 280568 T	15-11-2004
		DE 60300114 D1	02-12-2004
		DE 60300114 T2	13-10-2005
		ES 2231761 T3	16-05-2005
		FR 2838343 A1	17-10-2003
		JP 2003321326 A	11-11-2003
		JP 2005290017 A	20-10-2005

FR 2878438 A	02-06-2006	AUCUN	

RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C

Numéro de la demande

FA 702548
FR 0708984

Bien que les revendications 14 et 15 en partie concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.

Revendications ayant fait l'objet de recherches complètes:
1-13

Revendications ayant fait l'objet de recherches incomplètes:
14,15 en partie

Raison pour la limitation de la recherche (invention(s) non brevetable(s)):

Méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal