

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 727 313

②① N° d'enregistrement national :

94 14176

⑤① Int Cl[®] : A 61 K 7/06, 7/48

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 25.11.94.

③⑦ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 31.05.96 Bulletin 96/22.

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

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

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

⑦② Inventeur(s) : ROUILLARD FRANCOISE, JOSSE
ANNABELLE et ROBIN JEAN RENAUD.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire : CABINET LAVOIX.

⑤④ COMPOSITION COSMETIQUE A BASE D'UN EXTRAIT D'APHLOIA.

⑤⑦ L'invention a pour objet une composition cosmétique
comprenant un extrait de feuilles d'Aphloïa en tant que
principe actif.

FR 2 727 313 - A1



La présente invention concerne une composition cosmétique contenant à titre de principe actif un extrait de feuille d'Aphloïa qui peut être utilisée notamment pour protéger la peau contre les rayons ultra-violets, lutter contre le vieillissement cutané et améliorer la qualité structurelle de la peau.

L'Aphloïa est un arbuste entièrement glabre, de 3 à 4 m de hauteur, originaire de la côte est de Madagascar et des îles voisines (Réunion, Maurice, Seychelles, Comores). Les feuilles alternes sont simples, lancéolées, plus ou moins dentées sur les bords sauf à la base et non stipulées.

Les fleurs hermaphrodites, solitaires, en cymes pauciflores, sont apétales. Elles possèdent 4 à 6 sépales imbriqués; les plus internes sont pétaloïdes.

Les fruits sont des baies, blanches à maturité.

Les feuilles de cette plante sont connues pour leurs propriétés diurétiques, veino-toniques et cicatrisantes qui les ont fait utiliser en infusion en médecine traditionnelle.

Les inventeurs auteurs de la présente invention ont à présent découvert que l'extrait des feuilles d'Aphloïa a des activités anti-UV, anti-radicalaire, anti-collagénase et anti-hyaluronidase, qui les rend particulièrement utiles dans des compositions cosmétiques destinées à la protection de l'épiderme contre les rayons ultra-violets, pour lutter contre le vieillissement cutané dû à l'âge et pour améliorer la qualité structurelle de la peau.

L'extrait d'Aphloïa selon l'invention est obtenu à partir de toutes les sous-espèces d'Aphloïa, par exemple Aphloïa theaformis (Vahl) Benn, et Aphloïa

madagascariensis Clos.

Les principaux constituants, actuellement identifiés dans l'extrait de feuilles d'Aphloïa de l'invention sont :

- 5 . un C-glucosyltétrahydroxyxanthane (l'Aphloïol)
- . des flavonoïdes
- . des tannins
- . trois triterpène glucosides (ester glucosidique de l'acide tormentique et de l'acide 23 hydroxytormentique
- 10 et ester glucosidique de l'acide 6- β -hydroxytormentique).

Il est exempt de substances alcaloïdes.

Les extraits d'Aphloïa de l'invention peuvent être obtenus en soumettant les feuilles d'Aphloïa fraîches ou sèches, à une extraction par un solvant polaire, notamment par un solvant tel que l'eau, un

15 alcanol (par exemple l'éthanol, le méthanol), le propylène glycol, le butylène glycol ou un mélange de ces solvants. On peut par exemple utiliser un mélange alcanol/eau ou bien un mélange propylène glycol/eau.

20 Le poids de solvant utilisé est de préférence égal à 2 à 20 fois le poids des feuilles rapporté au poids sec. On effectue avantageusement l'extraction, sous agitation, à une température située entre 10°C et la température d'ébullition du solvant. La durée de l'ex-

25 traction est de préférence de 1 à 5 heures.

On concentre éventuellement les solutions extractives, on sèche éventuellement les concentrats obtenus par les moyens connus de l'homme du métier (étuve à vide, micro-ondes...).

30 L'extrait peut être utilisé sous forme d'extrait liquide plus ou moins concentré ou sous forme sèche.

On décrira ci-après les propriétés des extraits d'Aphloïa de l'invention ou se référant aux

35 figures annexées sur lesquelles :

- la fig. 1 représente le spectre d'absorption de la lumière UV en fonction de la longueur d'onde d'un extrait d'Aphloïa selon l'invention;

5 - la fig. 2 représente la photostabilité en fonction du temps d'irradiation;

- la fig. 3 représente les courbes d'activité antiradicalaire d'un extrait d'Aphloïa selon l'invention et d'un témoin sans inhibiteur en fonction du temps;

10 - la fig. 4 représente les courbes d'activité anti-élastase d'un extrait d'Aphloïa selon l'invention et d'un témoin sans inhibiteur;

- la fig. 5 représente l'activité anti-hyaluronidase d'un extrait d'Aphloïa selon l'invention.

15 Exemple d'extrait d'Aphloïa

L'extrait étudié a été obtenu de la manière suivante :

6% (p/p) de feuilles sèches d'Aphloïa theaformis d'origine Malgache, grossièrement broyées,
20 sont mis en contact sous agitation et à 55°C avec un mélange propylène glycol/eau (40/60). L'extraction se déroule pendant 1h30. La plante est écartée par filtration sur une toile (55 µm). Puis l'extrait est filtré sur un filtre plaque (5 µm).

25 Le pH de l'extrait se situe vers 5,5 et son extrait sec entre 0,8 et 1,3%.

Effet photoprotecteur

30 L'extrait d'Aphloïa décrit ci-dessus présente un spectre d'absorption dans l'UV très intéressant pour une application de protection contre l'érythème solaire, avec un maximum aux alentours de 320 nm, correspondant aux UVB et un autre aux environs de 360 nm, correspondant à la zone des UVA, comme représenté à la fig. 1.

35 Par ailleurs, l'absence de phototoxicité a

été vérifiée.

Compte tenu de l'innocuité de cet extrait, la résistance de l'extrait à l'irradiation, c'est à dire sa photostabilité, par rapport à celles de filtres synthétiques déjà commercialisés, comme par exemple l'octylméthoxycinnamate (PARSOL MCX, Givaudan, Bâle, Suisse) a été vérifiée.

Un filtre solaire est une molécule qui, par définition absorbe les radiations ultra violettes fortement énergétiques. Ainsi excitée, elle est susceptible de perdre son énergie, soit en émettant un rayonnement de longueur d'onde supérieur, soit en subissant des transformations intramoléculaires.

Ces réarrangements modifient ses propriétés physico-chimiques et en particulier sa faculté d'absorber la lumière dans la zone du spectre considéré.

L'extrait a donc été soumis, à un rayonnement continu dont le spectre est comparable à celui de la lumière solaire et de niveau énergétique contrôlable, émis par une lampe au xénon. L'évolution du spectre d'absorption a été suivie au cours du temps et le temps de demi-vie mesuré (durée d'irradiation nécessaire pour une perte d'absorption de 50% à une longueur d'onde fixée).

Comme représenté à la fig. 2, l'extrait d'Aphloïa, comparé au PARSOL MCX dans les mêmes conditions s'est révélé aussi résistant à l'irradiation avec un temps de demi-vie très comparable.

Enfin l'extrait d'Aphloïa préparé comme décrit dans le procédé de l'invention a été testé dans une composition cosmétique afin d'évaluer l'indice de protection SPF, selon la méthode SOLATEX, méthode d'évaluation du facteur de protection solaire in vitro commercialisée par IN VITRO INTERNATIONAL (Irvine, Californie, USA).

Une base cosmétique contenant 10% en poids de l'extrait ci-dessus a été comparée à la même base contenant 10% en poids de propylène glycol pur. Après application du protocole SOLATEX, les résultats suivants ont été obtenus :

base + propylène glycol \Rightarrow SPF = 1
base + extrait de l'invention \Rightarrow SPF = 4,5
L'extrait de l'invention s'avère donc

efficace pour protéger la peau contre l'irradiation ultraviolette; l'extrait peut être utilisé seul, ou en association avec des filtres chimiques synthétiques ou des écrans minéraux, dont il vient renforcer l'efficacité.

D'autre part les tests d'activité in vitro suivants montrent l'intérêt de l'extrait obtenu selon l'invention dans la protection de la peau au niveau moléculaire.

Activité anti radicalaire (déterminée selon V. Ponti, M.U. Dianzani, K. Cheeseman and T.F. Slater, Cehm - Biol interaction, 23 (1978) 281-291).

Des anions superoxydes sont générés par la réaction de la NADH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide sous forme réduite) sur le PMS (Phénazine Méthosulfate). Les anions superoxydes réduisent le NBT (Nitro bleu de Tetrazolium) en diformazan de couleur bleu-violet.

L'apparition de NBT réduit est suivi dans le temps, au spectrophotomètre. Les résultats sont représentés sur la figure 3.

On exprime l'activité anti-radicalaire des extraits en équivalent rutine pour une inhibition de 50%. Un extrait d'Aphloïa (extrait sec à 1%) présente une activité 6 à 12 fois plus importante que le témoin rutine (1 mg/ml) en fonction de la polarité du solvant d'extraction utilisé.

L'efficacité des extraits considérés dans la protection par rapport aux radicaux superoxydes est tout à fait significative.

5 Compte tenu de la part active des radicaux libres dans le processus du vieillissement, l'extrait selon l'invention a potentiellement une activité intéressante dans la protection de la peau contre le vieillissement dû à l'altération des structures moléculaires de
10 l'épiderme.

D'autre part, les extraits selon l'invention ont une activité protectrice par rapport aux protéines de structure : élastine et collagène.

15 Détermination de l'activité anti-élastase (déterminée selon J. Bieth, B. Spices et Camille G. Wermecth, Biochemical medecine 11, 350-357, 1974, modifié).

 Une élastase pancréatique est mise à agir sur un substrat hydrophile, spécifique de l'enzyme MeO Suc -
20 Ala - Ala - Pro - Val - pNa et ayant la caractéristique de libérer un produit chromogène, le p-nitroanilide (pNa). La cinétique enzymatique est suivie au spectrophotomètre. Les résultats sont représentés à la fig. 4.

 L'activité anti-élastase d'un extrait
25 permettant d'obtenir une inhibition de 50% est exprimée par l'inverse de la quantité d'extrait nécessaire multiplié par 100.

 Ainsi 200 µl de l'extrait ci-dessus dilué au 1/5ème permettent d'obtenir 50% d'inhibition par rapport
30 au témoin sans inhibiteur. L'activité est donc de
 $1 \times 100 \times 5 = 2,5$ unités arbitraires.

200

 L'extrait d'Aphloïa (1% d'extrait sec) présente une activité de 1 à 6 unités arbitraires.

35

Activité anti-collagénase (déterminée selon Erich Wünsels and Hans Georg Heidrich 15.07.1963).

Une collagénase de *Clostridium histolyticum* est mise à agir sur un substrat hydrophile (p. phenylazo - benzylcarbonyl - L propyl - L leucyl - glycyl - L Propyl - D arginine). Le produit résultant de la coupure entre Leu et Gly est lipophile et absorbe la lumière UV à 320 nm.

L'activité anti-collagénase est exprimée en unités arbitraires et correspond à l'inverse de la quantité d'extrait (1% extrait sec) nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition multipliée par 100. Pour l'extrait d'Aphloïa de l'invention l'activité est de 0,5 à 3.

Activité anti-hyaluronidase (déterminée selon José L. Reissig, Jack L. Strominger and Luis F. Leloior, 05.12.1955).

La N-acétyl glucosamine libérée au bout de 45 minutes lors de la réaction de la hyaluronidase sur l'acide hyaluronique est mesurée au spectrophotomètre. Un procédé de réduction des sucres, qui en milieu acide sont transformés en dérivés furanne est utilisé; ces derniers réagissent avec le para-diméthyl- aminobenzaldéhyde pour former un complexe coloré.

L'activité est exprimée en μg de N-acétylglucosamine formée par minute.

L'activité anti hyaluronidase est exprimée en quantité d'extrait pour obtenir 50% d'inhibition.

Les résultats sont exprimés à la fig. 5.

La CI_{50} de l'extrait d'Aphloïa est de 95 à 120 μl . A titre de comparaison l'héparine, inhibiteur reconnu de la hyaluronidase (Sigma 10 USP/ml) a une CI_{50} de 380 μl .

Les extraits d'Aphloïa selon l'invention possèdent un effet protecteur vis à vis des agressions moléculaires au niveau de la peau tout à fait considérable qui permet d'envisager leur application comme cosmétique en particulier pour la protection de la peau et des cheveux contre les rayons ultraviolets, pour lutter contre le vieillissement cutané dû à l'âge et de manière générale pour améliorer l'apparence et la qualité de la structure de l'épiderme.

Les extraits obtenus selon l'invention sont donc utilisables en cosmétique de soins et/ou de décoration pour la protection contre les UVA et UVB en raison de leur rôle filtrant et anti radicalaire, protégeant de l'effet nocif des radicaux produits sous l'effet des UVA; pour les peaux fragilisées par le temps (âge) ayant subi des pertes d'hydratation et de tonicité des tissus, en raison de leurs propriétés anti-hyaluronidase limitant la dégradation de l'acide hyaluronique (protéoglycane ayant un pouvoir hydratant très puissant), ainsi qu'en raison de leurs propriétés anti-collagénase et anti-élastase limitant la dégradation du collagène et de l'élastine, l'état de ces molécules étant notamment responsable de la qualité structurelle de la peau.

Les extraits de feuilles d'Aphloïa selon l'invention peuvent être utilisés tels quels, vectorisés, microencapsulés, en association avec un mélange d'excipients tels que : huiles végétales, minérales; cires végétales ou minérales; silicones; alcools et acides gras; agents tensio actifs; dérivés de protéines, gélifiants inorganiques ou organiques; lanoline et ses dérivés; filtres UV organiques ou inorganiques, eau; ou en association avec d'autres extraits végétaux.

Les compositions se présentent sous forme d'émulsion simple H/E ou E/H, émulsions multiples ou micro émulsions; gels aqueux, hydroalcooliques; huiles;

lotions aqueuses ou hydroalcooliques; bâton; shampoing ou après-shampoing.

5 Les compositions selon l'invention comprennent de 0,01% à 20% en poids d'extrait de feuilles d'Aphloïa, exprimé en poids d'extrait sec par rapport au poids total de la composition, la proportion d'extrait pouvant aller jusqu'à 50% dans le cas d'un extrait liquide.

REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique comprenant un extrait de feuilles d'Aphloïa en tant que principe actif.

5 2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,01% à 20% en poids d'extrait de feuilles d'Aphloïa, exprimé en poids d'extrait sec par rapport au poids total de la composition.

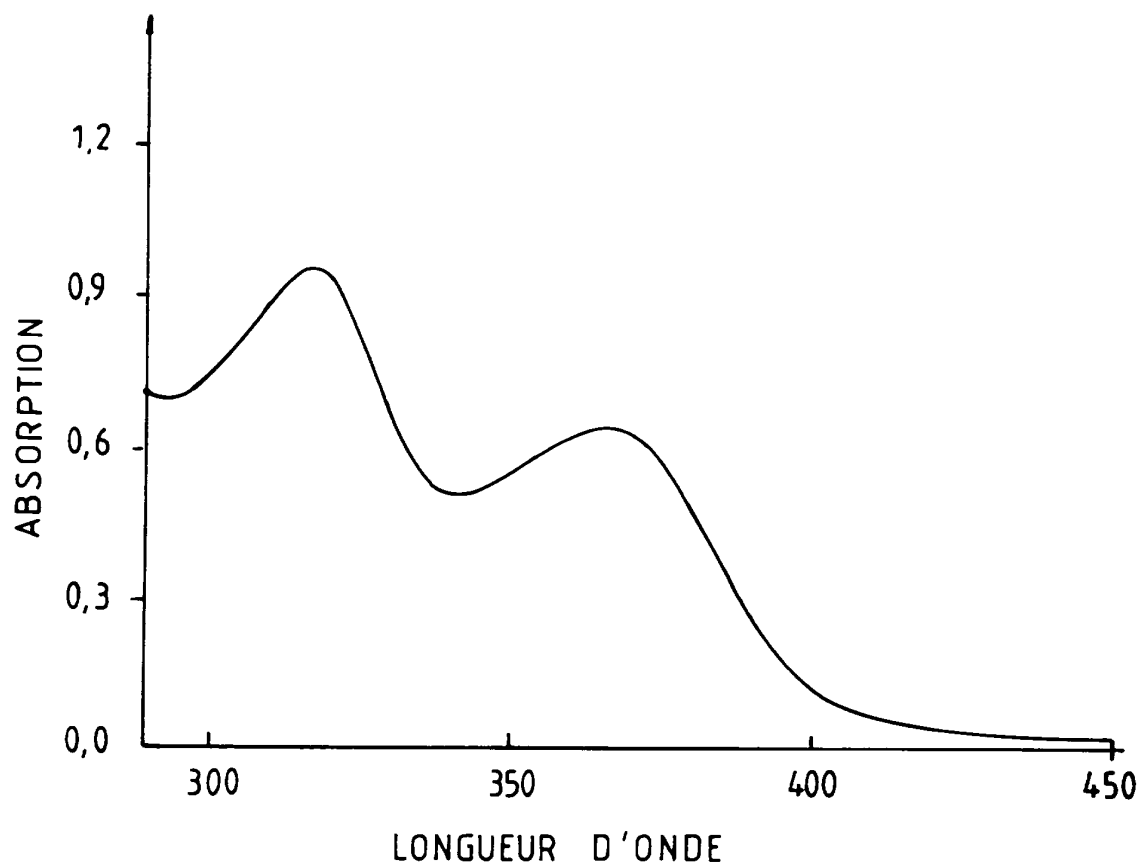
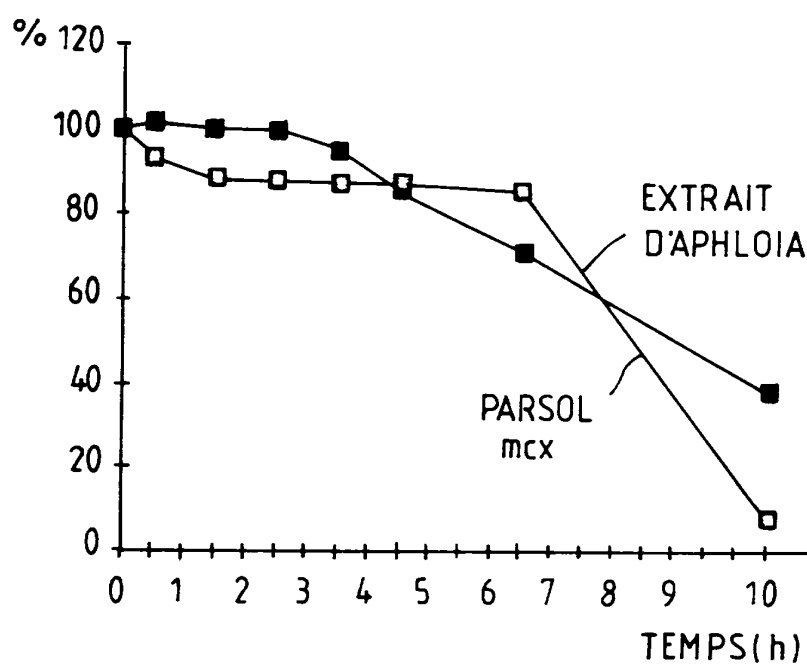
10 3. Utilisation d'un extrait de feuilles d'Aphloïa pour la protection de la peau ou des cheveux contre les rayons ultraviolets.

4. Utilisation d'un extrait de feuilles d'Aphloïa pour lutter contre le vieillissement cutané.

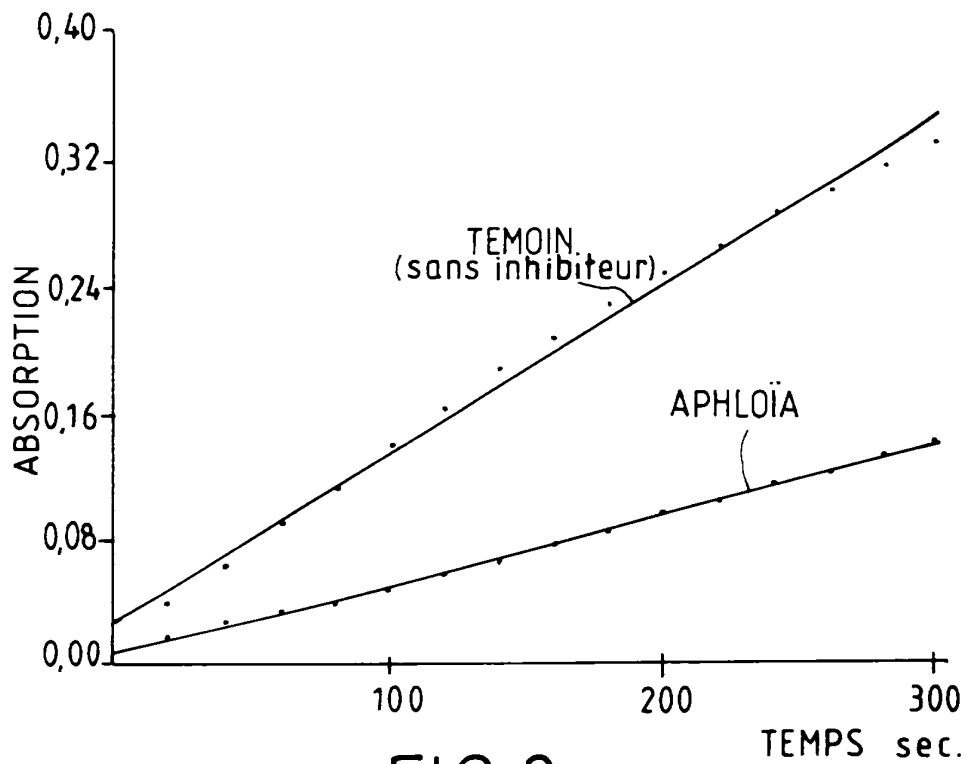
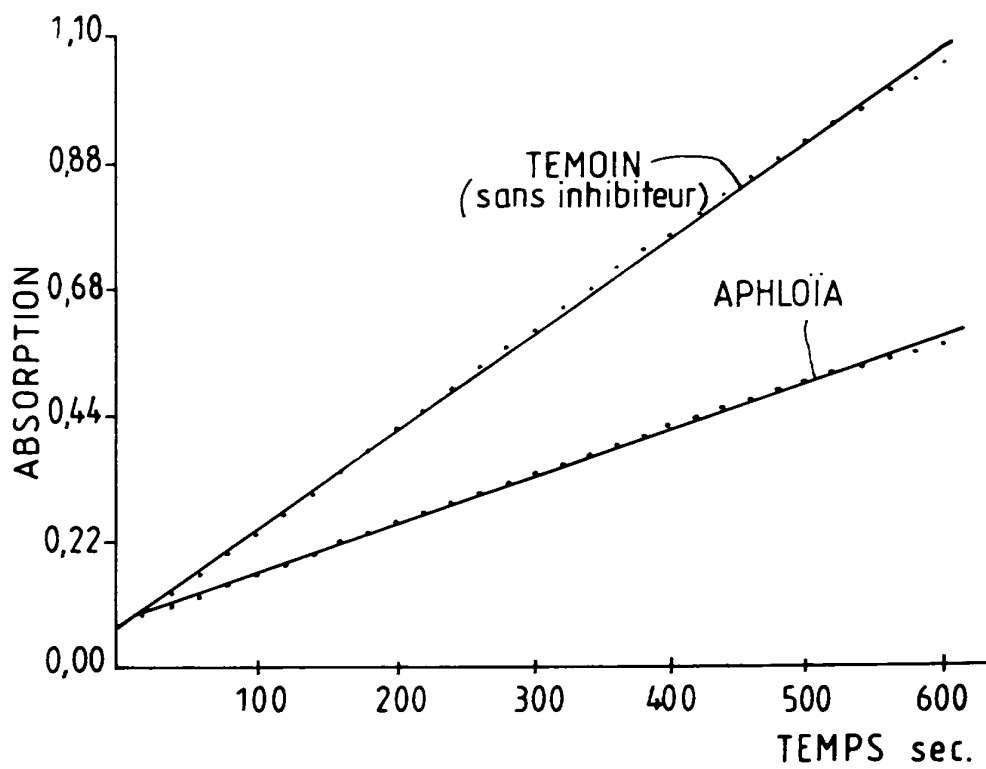
15 5. Utilisation d'un extrait de feuilles d'Aphloïa pour améliorer la qualité structurelle de la peau.

20 6. Procédé de traitement cosmétique consistant à appliquer sur la peau ou les cheveux une composition telle que définie à la revendication 1 ou la revendication 2.

1/3

FIG.1FIG.2

2 / 3

FIG. 3FIG. 4

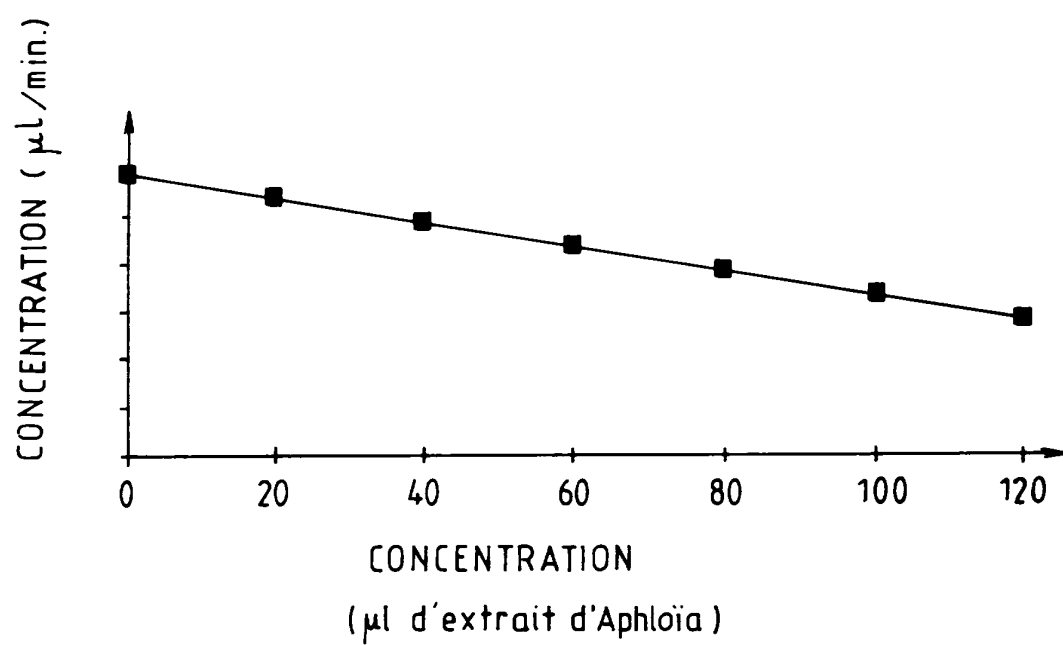


FIG.5

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 508644
FR 9414176

| DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | Revendications concernées de la demande examinée | |
|--|---|--|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| A | BE-A-689 583 (C. MENTZER ET AL) * revendications 1-4 * ---- | 1-6 | |
| A | DATABASE CHEMABS CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US DN: 110:132161, GOPALSAMY ET AL & Phytochemistry (1988), 27(11), 3593-5 * abrégé * --- | 1-6 | |
| A | DATABASE CHEMABS CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US DN: 120:4665, DIJOUX ET AL & Phytochemistry (1993), 34(2), 497-9 * abrégé * --- | 1-6 | |
| A | DATABASE CHEMABS CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US DN: 116:248385, SATO ET AL & Chem. Pharm. Bull. (1992), 40(3), 721-4 * abrégé * --- | 1-6 | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. CL. 6) |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 15 no. 440 (C-0883) ,11 Novembre 1991 & JP-A-03 188019 (SHISEIDO CO LTD) * abrégé * ----- | 1-6 | A61K |
| Date d'achèvement de la recherche | | Examineur | |
| 8 Août 1995 | | Siatou, E | |
| CATEGORIE 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 : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire | | | |