

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①① N° de publication :

3 101 774

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

②① N° d'enregistrement national :

19 11192

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 38/39** (2019.12), A 61 K 35/60, A 61 P 17/02

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 09.10.19.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 16.04.21 Bulletin 21/15.

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

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

☐ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : **MONDERNA HEALTH & WELLNESS**
Société par actions simplifiée — FR.

⑦② Inventeur(s) : **MONDERNA Emanuele.**

⑦③ Titulaire(s) : **MONDERNA HEALTH & WELLNESS**
Société par actions simplifiée.

⑦④ Mandataire(s) : **AQUINOV.**

⑤④ **COMPOSITION CICATRISANTE ET CONDUCTRICE COMPRENANT AU MOINS DEUX COLLAGENES.**

⑤⑦ L'invention concerne une composition adaptée à une application topique sur la peau ou les muqueuses, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins de l'eau et au moins un mélange de collagènes, ledit mélange de collagène comprenant au moins :- du collagène natif, les molécules de collagène natif présentant des poids moléculaires compris entre 150 et 300 000 Daltons, et - du collagène en gel, les molécules de collagène en gel présentant des poids moléculaires compris entre 100 et 150 000 Daltons.

L'invention a également pour objet une telle composition pour son utilisation dans le traitement de la peau et/ou des muqueuses et un procédé de fabrication d'une telle composition.

FR 3 101 774 - A1



Description

Titre de l'invention : COMPOSITION CICATRISANTE ET CONDUCTRICE COMPRENANT AU MOINS DEUX COLLAGENES

- [0001] La présente invention concerne une composition particulière à base de collagènes pour son utilisation sur la peau et/ou les muqueuses, en particulier pour la cicatrisation et/ou comme crème conductrice pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses par diathermie et/ou radiofréquence.
- [0002] La radiofréquence ou la diathermie est utilisée en thérapie et en cosmétique pour différents objectifs tels que par exemple lutter contre la perte de tonicité de la peau, lutter contre les rougeurs de la couperose, lutter contre la cellulite, favoriser la disparition de marques résiduelles sur la peau, etc.
- [0003] En fonction de la zone à traiter et du but recherché, on positionne une plaque de retour métallique et l'opérateur tient un manipulateur dans sa main. Ce manipulateur peut être en céramique (mode capacitif) ou en métal (mode résistif). Selon une variante, le manipulateur en métal peut être en mode résistif polaire, sphérique ou plat, et dans ce cas il n'est pas nécessaire d'utiliser une plaque de retour car les deux polarisations sont dans le manipulateur.
- [0004] Entre le manipulateur et la peau du sujet, l'opérateur applique une crème conductrice neutre sans principe actif. Il se crée alors un champ magnétique grâce aux deux polarisations. Le corps joue le rôle de conducteur de par ses ions, qui sont les molécules d'eau chargées. Ces molécules sont mobilisées et créent une chaleur endogène. Elle se traduit par une augmentation de la température des tissus créant une activation du derme, productrice d'acide hyaluronique, de fibres de collagène et de fibres d'élastine. Cette chaleur endogène induit également une vascularisation, donc une amélioration de tous les échanges internes. Ainsi la technique de radiofréquence induit à la fois des effets biochimiques, des effets mécaniques et des effets thermiques.
- [0005] Actuellement, les radiofréquences oscillent entre 300 KHz et 4 MHz, chaque fréquence correspondant à un niveau de résistance tissulaire. La fréquence utilisée est déterminée par la zone à traiter et le but recherché.
- [0006] Pour la mise en œuvre de cette technique et le bon fonctionnement des dispositifs, il est obligatoire d'utiliser une crème permettant la conduction des ondes entre le manipulateur et le tissu.
- [0007] Les crèmes conductrices actuelles sont généralement neutres et contiennent des ingrédients de synthèse ou issus de la pétrochimie. La crème est conductrice car elle contient une majorité de composants aqueux.

[0008] Les crèmes conductrices existantes ne sont pas satisfaisantes car ce sont des crèmes neutres sans efficacité cosmétique ou thérapeutique en tant que telles, et sont donc sans valeur ajoutée. Leur seul effet est de permettre la conduction et le glissement du manipulateur. En outre, elles sont constituées de composants pétrochimiques, certaines avec des parabènes donc non naturels et avec des perturbateurs endocriniens. De plus, ces crèmes ont la propriété de pelucher ce qui oblige à en appliquer une quantité plus importante pour permettre le glissement du manipulateur.

[0009] L'objectif de l'invention est de pallier ces différentes problématiques de l'art antérieur.

Résumé de l'invention

[0010] Selon l'invention, l'efficacité de la radiofréquence peut être augmentée en introduisant dans la crème conductrice des molécules de collagène, molécules d'origine naturelle, permettant ainsi également l'utilisation de cette même crème sans application de radiofréquence.

[0011] C'est pourquoi, pour répondre à l'objectif de l'invention, l'inventeur a mis au point une composition comprenant un mélange d'au moins deux sortes, deux formes, de collagènes différents.

[0012] Le collagène est la protéine structurelle la plus abondante dans le corps. Il représente environ 70% du tissu conjonctif du corps et est nécessaire à la constitution de la peau, des muscles, des os et du cartilage. Le collagène assure la cohésion, l'élasticité et la régénération de tous ces tissus. Cette protéine est largement reconnue en tant qu'ingrédient fonctionnel grâce à ses propriétés bien connues et identifiées pour ses effets santé. 75% du derme est constitué de collagène. A partir d'environ 25-35 ans, le corps perd du collagène à un taux de 1.5% par an.

[0013] L'apport en collagène sous forme orale ou topique a été largement étudié. Il a été démontré que l'ingestion orale de polypeptides de collagène a des effets positifs sur diverses fonctions du corps : les os, les articulations, la peau et les tissus et ligaments.

[0014] Les premières utilisations du collagène dans une crème de beauté sont assez anciennes, et on peut trouver des traces de son utilisation dès 1936. L'intensification de son utilisation par l'industrie cosmétique se situe à partir des années 70. Ceci provient des études menées sur le vieillissement cutané. Son rôle dans la peau était connu depuis longtemps, mais de nombreuses équipes ont alors montré les modifications de la matrice extracellulaire lors du vieillissement cutané, et, en particulier, le rôle et l'implication du collagène dans le vieillissement.

[0015] Le collagène est caractérisé par sa forme en triple hélice. On trouve traditionnellement trois sortes de collagène :

- Le collagène en gel ou collagène gel : la gélatine est obtenue généralement par extraction aqueuse à chaud à partir de peaux, de cartilage et autres tissus contenant du

collagène. Très utilisée pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (gélule), elle contient 84 à 90 % de protéines et 1 à 2% de sels minéraux. L'extraction à chaud provoque la dépolymérisation de la triple hélice de collagène, il est dénaturé.

- L'hydrolysate de collagène : il s'agit de collagène dénaturé constitué de l'ensemble des acides aminés constitutifs du collagène. Il est obtenu par hydrolyse (enzymatique ou acide) à partir de matières premières contenant du collagène comme des peaux de poissons. Il peut être également obtenu par hydrolyse du collagène gel. Il est constitué de peptides et polypeptides.

- Le collagène non dénaturé ou natif : le collagène natif a gardé sa structure tridimensionnelle native et les épitopes qui lui permettent les interactions avec le système immunitaire. Il est généralement extrait en voie douce à basse température en milieu acide car il est acido-soluble.

[0016] Selon l'invention, pour répondre aux objectifs recherchés, il est nécessaire d'utiliser au moins du collagène en gel et du collagène natif.

[0017] En particulier l'invention a pour objectif une composition adaptée à une application topique sur la peau ou les muqueuses, comprenant au moins de l'eau et au moins un mélange de collagènes, ledit mélange de collagène comprenant au moins :

- du collagène natif, les molécules de collagène natif présentant des poids moléculaires compris entre 150 et 300 000 Daltons, et

- du collagène en gel, les molécules de collagène en gel présentant des poids moléculaires compris entre 100 et 150 000 Daltons.

[0018] Avantageusement une telle crème contient des composants d'origine naturelle, a une bonne tenue, présente une bonne conductivité, et peut être utilisée sur la peau et/ou les muqueuses pour des applications cosmétiques ou thérapeutiques, comme médicament ou dispositif médical, seule ou avec l'application de radiofréquences

[0019] L'invention a donc également pour objet une composition pour son utilisation pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses, en particulier comme médicament ou dispositif médical, ou encore comme composition cosmétique lorsqu'elle est appliquée sur une peau et/ou des muqueuses saine(s) c'est-à-dire non malade(s). Notamment l'invention a pour objet la composition pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses pour un effet cicatrisant ou pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses comme composition conductrice pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses par diathermie ou radiofréquence.

Brève description des Figures

[0020] [fig.1a] : la figure 1a est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale d'une zone lésée, sans traitement à J0.

[0021] [fig.1b] : la figure 1b est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale d'une zone lésée, sans traitement à J4.

[0022] [fig.1c] : la figure 1c est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale d'une zone lésée, avec traitement avec la composition selon l'invention à J4.

[0023] [fig.2a] : la figure 2a est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale sans traitement à J0.

[0024] [fig.2b] : la figure 2b est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale sans traitement à J4.

[0025] [fig.2c] : la figure 2c est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale avec traitement avec la composition selon l'invention à J4.

[0026] [fig.2d] : la figure 2d est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale d'une zone lésée, sans traitement à J10.

[0027] [fig.2e] : la figure 2e est une photographie d'un explant de peau présentant la morphologie générale avec traitement avec la composition selon l'invention à J10.

[0028] [fig.3a] : la figure 3a est une photographie de l'abdomen d'une femme de 46 ans présentant des vergetures post-partum et des cicatrices suite à une abdominoplastie.

[fig.3b] : la figure 3b est une photographie de contrôle de l'abdomen un mois après la fin du traitement (3 séances de radiofréquence avec application d'une composition selon l'invention – 3 séances réparties sur 45 jours).

Description détaillée

Composition

[0029] L'invention a donc pour objet une composition adaptée à une application topique sur la peau ou les muqueuses, comprenant :

- au moins de l'eau, et
- au moins un mélange de collagènes, ledit mélange de collagènes comprenant au moins :

* du collagène natif, les molécules de collagène natif présentant des poids moléculaires compris entre 150 et 300 000 Daltons, et

* du collagène en gel, les molécules de collagène en gel présentant des poids moléculaires compris entre 100 et 150 000 Daltons.

[0030] Préférentiellement les collagènes présents dans la composition selon l'invention sont des collagènes de type I.

[0031] Le mélange de collagènes comprend préférentiellement entre 10 et 40% de collagène natif et entre 60 et 90% de collagène en gel, les pourcentages étant donnés en poids par rapport au poids total de matières sèches du mélange de collagènes. Selon un mode de réalisation le mélange de collagènes comprend entre 15 et 35 % de collagène natif et entre 65 et 85% de collagène en gel, les pourcentages étant donnés en poids par rapport au poids total de matières sèches du mélange de collagènes.

[0032] Dans la composition selon l'invention, le mélange de collagènes comprenant au

moins du collagène natif et du collagène en gel, représente au moins 0,1% en poids par rapport au poids total de la composition, préférentiellement entre 0,1 et 10%, notamment entre 0,1 et 5%.

[0033] Selon l'invention, il est préféré que le collagène natif soit obtenu par la mise en œuvre d'un procédé à une température inférieure à 35°C, de façon à préserver toute la structure du collagène sans dénaturation.

[0034] Les collagènes utilisés dans les compositions selon l'invention peuvent être de toute origine.

Il peut s'agir par exemple de collagènes d'origine mammalienne, tels que des collagènes bovins extraits de la peau de vaches mortes.

Il peut s'agir également de collagènes marins. Le collagène marin peut être extrait de résidus de l'industrie agroalimentaire, tels que de déchets de poissons ou de crevettes ou bien directement de peaux de poissons. Avantagusement, le collagène marin a une plus grande capacité d'absorption que le collagène d'origine mammalienne. Par ailleurs, le collagène marin a une teneur en proline et hydroxyproline en moyenne plus élevée que le collagène animal, ce qui lui confère une moins grande résistance mécanique et une plus faible viscosité.

Il peut s'agir aussi de collagènes obtenus à partir de peaux de poissons d'eau douce.

[0035] Selon un mode de réalisation préféré, la composition selon l'invention comprend des collagènes obtenus à partir de peaux de poissons. Préférentiellement, les collagènes sont obtenus à partir de peaux de poissons d'eau douce et encore plus préférentiellement de peaux d'esturgeons, et en particulier de peaux ventrales d'esturgeons. Dans la présente demande on utilise indifféremment le singulier et le pluriel pour les termes « peau » et « esturgeon » le ou les collagène(s) pouvant être issus d'une ou plusieurs peau(x) d'un ou plusieurs esturgeon(s).

Avantageusement, le collagène issu de la peau d'esturgeons permet d'éviter la présence de métaux lourds dans les collagènes et donc dans la composition selon l'invention. Les esturgeons utilisés sont préférentiellement élevés dans des bassins clos alimentés en eau de source d'excellente qualité et peuvent recevoir une alimentation dite biologique. Cela permet d'éliminer l'entrée de contaminants qui se retrouvent généralement dans la peau des poissons.

[0036] Selon un mode de réalisation particulièrement adapté, les collagènes utilisés dans les compositions selon l'invention présentent un aminogramme présentant au moins les caractéristiques suivantes :

- une teneur en Glycine comprise entre 21 et 26%,
- une teneur en hydroxyproline comprise entre 8 et 18%,
- une teneur en proline comprise entre 9 et 14%.

[0037] En plus du mélange de collagènes, la composition selon l'invention comprend au

moins de l'eau. Préférentiellement, la composition selon l'invention comprend entre 50 et 95% d'eau en poids par rapport au poids total de la composition, très préférentiellement entre 65 et 80% d'eau.

[0038] L'eau présente dans la composition selon l'invention peut être de toute origine.

Préférentiellement au moins une partie de l'eau présente dans la composition selon l'invention est de l'eau source. De façon préférée au moins 3% de l'eau présente dans la composition selon l'invention est de l'eau de source, le pourcentage étant donné en poids par rapport au poids total d'eau présente dans la composition.

Préférentiellement au moins une partie de l'eau présente dans la composition selon l'invention est de l'eau d'origine marine.

Selon un mode de réalisation, au moins une partie de l'eau présente dans la composition est de l'eau de source marine. De façon préférée au moins 3% de l'eau présente dans la composition selon l'invention est de l'eau de source marine, le pourcentage étant donné en poids par rapport au poids total d'eau présente dans la composition.

[0039] En plus de l'eau et du mélange de collagènes, la composition selon l'invention peut comprendre d'autres constituants, ceux-ci devant être dermatologiquement et/ou cosmétiquement acceptables. Il peut s'agir notamment d'excipients ou de principes actifs. Préférentiellement, la composition selon l'invention comprend :

- au moins une huile végétale, comme par exemple une huile de tournesol ou de grenade ou de pépin de raisin, et/ou

- au moins un principe actif cicatrisant et/ou hydratant et/ou antibactérien et/ou apaisant et/ou anti-irritant, comme par exemple squalane ou gel d'aloé vera, et/ou

- au moins un extrait végétal, comme par exemple extrait de punica granatum, ou extrait de fleur de sophora japonica, ou extrait de feuille de romarin, et/ou

- au moins un émulsionnant, comme par exemple Sorbitan isostearate ou polyacrylamide ou polysorbate 20, et/ou

- au moins un émollient, comme par exemple octyldodecanol ou propanediol ou caprylic, et/ou

- au moins un conservateur, comme par exemple sorbate de potassium, benzoate de sodium, alcool benzylique, acide dehydroacétique, et/ou

- au moins un stabilisateur, comme par exemple tocophérol, et/ou

- de la glycérine.

[0040] La composition, selon l'invention peut se présenter sous différentes formes adaptées à une application topique sur la peau et/ou les muqueuses. Il peut s'agir en particulier d'une crème, d'un sérum ou d'un gel ou d'une solution.

Procédé de fabrication de la composition

[0041] La composition selon l'invention peut être obtenue par tout procédé de fabrication

adapté. En particulier la composition selon l'invention peut être obtenue par un procédé de fabrication comprenant au moins la mise en œuvre des étapes suivantes :

- a. obtention d'une solution de collagène natif,
- b. obtention d'une solution de collagène en gel,
- c. mélange des deux solutions pour obtenir une solution de collagène natif et de collagène en gel,
- d. mélange des constituants de la composition à température ambiante.

[0042] La solution de collagène natif peut être obtenue par tout moyen adapté.

Selon un mode de réalisation, l'étape a. comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Lavage de la matière première contenant du collagène, préférentiellement de peaux de poisson, encore plus préférentiellement de peaux d'esturgeon et en particulier de peaux ventrales d'esturgeon ; le lavage est préférentiellement réalisé en deux sous-étapes :

- * un lavage basique à la soude NaOH, pour nettoyer les peaux
- * puis à l'eau pour neutraliser
- extraction à l'acide,
- filtration et centrifugation,
- précipitation du collagène par NaCl et centrifugation,
- solubilisation par ajout d'acide,
- dialyse pour éliminer le sel (NaCl),
- concentration tangentielle.

[0043] Le procédé d'obtention du collagène natif est préférentiellement réalisé à une température inférieure à 35°C. Il garde ainsi sa triple hélice et ses propriétés de collagène natif.

[0044] La solution de collagène en gel peut être obtenue par tout moyen adapté. Selon un mode de réalisation, l'étape b. comprend la mise en œuvre des étapes suivantes :

- Lavage de la matière première contenant du collagène, préférentiellement de peaux de poisson, encore plus préférentiellement de peaux d'esturgeon et en particulier de peaux ventrales d'esturgeon ; le lavage est préférentiellement réalisé en deux sous-étapes :

- * un lavage basique à la soude NaOH, pour nettoyer les peaux
- * puis à l'eau pour neutraliser
- extraction à l'acide
- filtration et centrifugation
- précipitation du collagène par NaCl et centrifugation
- solubilisation par ajout d'acide
- dialyse pour éliminer le sel (NaCl)

- concentration tangentielle
- cuisson à 60°C, préférentiellement sous agitation
- tamisage
- filtration sur charbon actif.

[0045] Les deux solutions (collagène natif et collagène en gel) sont ensuite mélangées pour former une solution de collagènes.

[0046] La solution de collagènes est ensuite mélangée à l'eau et aux autres constituants éventuels de la composition, préférentiellement à température ambiante pour préserver les qualités originelles des actifs et notamment des ingrédients d'origine naturelle constituant la composition selon l'invention. Avantageusement, la mise en œuvre du procédé à température ambiante présente un intérêt économique et environnemental.

Utilisations de la composition

[0047] La composition selon l'invention présente une efficacité sur la peau et/ou les muqueuses, en particulier une efficacité cicatrisante.

[0048] L'invention a donc également pour objet la composition pour son utilisation dans le traitement de la peau et/ou des muqueuses. La composition peut être utilisée comme médicament, essentiellement comme médicament dermatologique, ou comme dispositif médical ou encore comme composition cosmétique ou dermocosmétique.

[0049] Notamment l'invention a pour objet la composition pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses pour un effet cicatrisant.

[0050] L'invention vise aussi l'utilisation de la composition sur une peau ou des muqueuses saine(s) en application topique pour un effet cosmétique, notamment pour un effet cosmétique anti-âge, pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané.

[0051] Avantageusement, la composition selon l'invention peut également être utilisée comme crème conductrice pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses par diathermie et/ou radiofréquence. L'utilisation thérapeutique ou cosmétique de la composition selon l'invention peut donc consister en cela. Aussi l'invention a également pour objet la composition pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses comme composition conductrice pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses par diathermie et/ou radiofréquence.

[0052] Aussi la composition selon l'invention peut être utilisée avec ou sans application de radiofréquences.

[0053] En application avec des radiofréquences, préférentiellement la composition est appliquée de façon circulaire sur la zone à traiter avec l'appareil de radiofréquences de manière à recouvrir toute la surface et 2mm d'épaisseur environ. Le praticien passe alors le manipulateur sur la zone à traiter en suivant un protocole adapté à chaque problème pathologique ou cosmétique à traiter. Si besoin, il est possible de remettre de la crème en cours de réalisation du protocole. La conductivité de la composition selon

l'invention est importante.

Avantageusement, à la fin de la séance il n'est pas nécessaire d'essuyer la composition comme c'est le cas avec les crèmes conductrices ou gels conducteurs actuels. En effet, grâce à son double usage, la composition selon l'invention est absorbée par la peau et agit en tant que telle par ses propriétés intrinsèques, soutenant ainsi les propriétés régénérantes cosmétiques ou thérapeutiques reconnues de la radiofréquence.

La radiofréquence provoque la vasodilatation dans la zone d'application, augmentant le flux sanguin et élevant la température localement provoquant un meilleur apport de nutriment et d'oxygène, et l'élimination des catabolites. Les effets de la température de la radiofréquence provoquent la dénaturation du collagène du derme favorisant la contraction immédiate et efficace de ses fibres, activant les fibroblastes et entraînant la néo-collagénisation conduisant à la réorganisation des fibres de collagène et au remodelage du tissu. Pendant le traitement, la température à la surface de la peau atteint 40 à 42°C, et 50 à 60°C en profondeur. Le collagène natif présent dans la composition selon l'invention est dénaturé lors de l'utilisation de la radiofréquence. La chaîne en triple hélice est défaite sous l'effet de la chaleur (dès 35°C) ; elle vient pénétrer plus facilement le derme car son poids moléculaire sera plus faible et la vasodilatation des pores favorise sa pénétration dans le derme. Cela vient renforcer l'effet du collagène gel. La radiofréquence peut amener plus loin en profondeur les molécules de collagène dans les couches du derme.

[0054] L'invention est à présent illustrée par des exemples et des résultats d'essais.

Exemple de composition selon l'invention

[0055] Un exemple de composition selon l'invention, se présentant sous forme de crème est obtenu par le mélange à température ambiante de constituants, qui dans la composition finie est constituée par (les teneurs étant données en pourcentage en poids par rapport au poids de la composition) :

- collagène natif de peaux d'esturgeon : 0,01 à 1
- collagène gel de peaux d'esturgeon : 0,01 à 1
- glycérine : 0,2 à 3
- squalane : 3 à 6
- huile de grenade : 1 à 2
- extrait de fleur de sophora japonica : 0,001 à 0,05
- extrait de grenade : 0,001 à 0,05
- huile essentielle de niaouli : 0,01 à 0,1
- huile de tournesol : 0,1 à 1
- eau de source marine : 2 à 5
- Eau : 75 à 88
- caprylic/capric triglyceride : 5 à 8

-émulsionnant : 1 à 3

- conservateurs : QS

Démonstration de l'efficacité de la composition selon l'invention

I. Etude sur explants de peau de l'effet cicatrisant et anti-âge de la composition selon l'invention

[0056] Différents produits ont été testés contenant des concentrations différentes de collagène et des formes différentes de collagène. Les différentes compositions testées sont décrites dans le tableau 1 (valeurs de teneur en collagène, pourcentage en poids par rapport au poids total de la composition ; le reste de la composition est celle de l'exemple de composition selon l'invention).

[0057] [Tableaux1]

Produit (composition)	COLLAGE NE GEL	COLLAGENE HYDROLYSE	COLLAGENE NATIF
P1	0,09	0,045	0,02
P2	0,21	0,21	0,28
P3	0,09	-	0,04
P4	0,09	0,03	-
P5	-	0,09	0,04

[0058] Les tests d'effet cicatrisant et anti-âges de ces compositions ont été réalisés sur des explants de peau. Pour les deux tests, les résultats ont été obtenus après traitement histologique et étude de la morphologie générale :

- Traitements histologiques : Après 24h dans le formol tamponné, les prélèvements ont été déshydratés et imprégnés en paraffine à l'aide d'un automate de déshydratation Leica PEARL. Ils ont été mis en bloc à l'aide d'une station d'enrobage Leica EG 1160. Des coupes de 5 µm ont été réalisées à l'aide d'un microtome type Minot, Leica RM 2125 et montées sur des lames de verre histologiques Superfrost®. Les échantillons congelés ont été coupés en sections de 7µm d'épaisseur à l'aide d'un cryostat Leica CM 3050. Les sections ont ensuite été montées sur lames de verre Superfrost® Plus. Les observations microscopiques ont été réalisées en microscopie optique, à l'aide d'un microscope Leica type DMLB ou Olympus BX43. Les prises de vue ont été réalisées avec une caméra Olympus DP72 et le logiciel Cell^D.

- Morphologie générale : La morphologie générale a été observée sur coupes en paraffine après coloration au trichrome de Masson variante de Goldner. Elle a été évaluée par un examen microscopique.

I.1. Effet cicatrisant de la composition selon l'invention

[0059] Afin de tester les propriétés cicatrisantes de la composition selon l'invention (P3) et

des autres produits P1 à P5, une étude a été menée sur des explants de peaux.

[0060] Le protocole opératoire de l'essai est le suivant :

- Préparation des explants: 6 explants rectangulaires de 10x15 mm, avec blessure par lot, ont été préparés à partir d'une plastie abdominale d'une femme caucasienne de 60 ans. Les explants ont été mis en survie en milieu de culture à 37°C en atmosphère humide, enrichie de 5 % de CO₂.

- Réalisation des lésions par Blessure mécanique : A J0 sur les explants, deux blessures par explant ont été réalisées à l'aide d'un punch à biopsies de 3.5 mm de diamètre. Les lésions ont été réalisées juste avant l'application des produits testés.

- Application des produits : A J0 (après blessures) et J3, J5 et J7, les produits testés ont été appliqués en topique, à raison de 3 µl pour les explants rectangulaires afin d'obtenir une concentration de 2mg par cm². Successivement les produits ont été étalés à l'aide d'une spatule.

Les explants des lots témoin n'ont reçu aucun traitement à l'exception du renouvellement du milieu de culture, pour moitié (1mL/puits) à J3.

- Prélèvements : A J0, les 3 explants des lots T0 et Bo ont été prélevés et coupés en deux. Une partie a été fixée dans une solution de formol tamponnée, et l'autre a été congelée à -80°C. A J4 et J10, 3 explants de chaque lot ont été prélevés et traités de la même façon qu'à J10.

[0061] Les résultats obtenus avec la composition P3 sont présentés sur les figures 1a (morphologie générale), 1b (témoin à J4) et 1c (invention à J4).

La figure 1a représente la morphologie générale de la zone lésée. Il n'y a pas de bourgeon de croissance.

La figure 1b représente la morphologie générale de la zone lésée du témoin non traité à J4. Le bourgeon de croissance présente une longueur de 150µm.

La figure 1c représente la morphologie générale de la zone lésée après 4 jours de traitement avec la composition selon l'invention (P3). La morphologie générale est bonne dans l'épiderme et dans le derme. Le *stratum corneum* présente un aspect peu épais et peu feuilleté, le relief de la jonction dermo-épidermique (JDE) est faible et la densité du derme papillaire est nette.

[0062] On constate que la composition selon l'invention, après 4 jours de traitement présente une activité cicatrisante plus importante que le témoin, principalement en favorisant à la fois la prolifération et la migration des kératinocytes du bourgeon de croissance.

[0063] De plus, les résultats obtenus pour les produits P1 à P5 sont présentés ci-après :

- Le produit P1, après 4 jours de traitement, présente une activité cicatrisante principalement en favorisant la migration des kératinocytes et donc l'avancé du bourgeon de croissance. Cette activité n'est plus observée après 10 jours.

- Le produit P2 après 4 jours de traitement, présente une activité cicatrisante, principalement en favorisant la prolifération des kératinocytes au niveau du bourgeon de croissance.
- Le produit P3, après 4 jours de traitement, présente une activité cicatrisante, principalement en favorisant à la fois la prolifération et la migration des kératinocytes du bourgeon de croissance. Après 10 jours de traitement, il ne favorise que la prolifération des kératinocytes du bourgeon de croissance.
- Le produit P4, après 4 jours de traitement, ne présente pas d'activité cicatrisante. Mais après 10 jours de traitement, il favorise la prolifération des kératinocytes du bourgeon de croissance.
- Le produit P5, après 4 ou 10 jours de traitement, ne présente pas d'activité cicatrisante.

[0064] Ainsi l'association de collagène natif et de collagène en gel est importante pour obtenir l'effet cicatrisant.

I.2. Effet anti-âge de la composition selon l'invention

[0065] Afin de tester les propriétés anti-âges de la composition selon l'invention (P3) et des autres produits P1 à P5, une étude a été menée sur des explants de peaux.

[0066] Le protocole opératoire de l'essai est le suivant :

- Préparation des explants : 45 circulaires avec un diamètre de 12 ± 1 mm, ont été préparés à partir d'une plastie abdominale d'une femme caucasienne de 60 ans (référence: P2124-AB60). Les explants ont été mis en survie en milieu de culture à 37°C en atmosphère humide, enrichie de 5 % de CO₂

- Application des produits : A J0, J3, J5 et J7, les produits testés ont été appliqués en topique, à raison de 2mg par cm². Successivement les produits ont été étalés à l'aide d'une spatule.

Les explants des lots témoin n'ont reçu aucun traitement à l'exception du renouvellement du milieu de culture, pour moitié (1mL/puits) à J3, J5 et J7.

Prélèvements : A J0, les 3 explants des lots T0 ont été prélevés et coupés en deux. Une partie a été fixée dans une solution de formol tamponnée, et l'autre a été congelée à -80°C. A J4 et J10, 3 explants de chaque lot ont été prélevés et traités de la même façon qu'à J0. Selon les dispositions prévues dans le plan d'étude, les jours de traitements et de prélèvements ont été modifiés pour adapter le planning de l'étude en fonction des jours ouvrés.

[0067] Les résultats sont présentés sur les figures 2a (morphologie générale), 2b (témoin à J4), 2c (invention à J4), 2d (témoin à J10) et 2e (invention à J10).

La figure 2a représente la morphologie de l'explant sur peau normale. La morphologie générale est bonne dans l'épiderme et dans le derme. Le *stratum corneum* présente un aspect peu épais et peu feuilleté, le relief de la jonction dermo-épidermique

(JDE) est faible et la densité du derme papillaire est nette.

La figure 2b représente la morphologie de l'explant sans traitement à J4 : La morphologie générale est assez bonne dans l'épiderme et bonne dans le derme. Le *stratum corneum* présente un aspect modérément épais et feuilleté, le relief de la jonction dermo-épidermique (JDE) est modéré et la densité du derme papillaire est modérée.

La figure 2c représente la morphologie de l'explant après 4 jours d'application de la composition P3 : l'invention induit une augmentation de la densité du derme papillaire.

La figure 2d représente la morphologie de l'explant sans traitement après 10 jours : la morphologie générale est très légèrement altérée dans l'épiderme et bonne dans le derme. Le *stratum corneum* présente un aspect assez épais et modérément feuilleté, le relief de la jonction dermo-épidermique (JDE) est modéré et la densité du derme papillaire est faible.

La figure 2e représente la morphologie de l'explant après 10 jours d'application de la composition P3 : l'invention induit une augmentation de la densité du derme papillaire.

[0068] On constate que la composition selon l'invention est bien tolérée par la peau et n'induit pas d'altération de la viabilité cellulaire dans l'épiderme ni le derme. A J4, la composition selon l'invention présente une activité anti-âge en améliorant la densité du derme nettement visible, et qui se poursuit à J10.

[0069] De plus, les résultats obtenus pour les produits P1 à P5 sont présentés ci-après :

- Le produit P1, après 4 jours de traitement, n'induit pas d'augmentation de la densité du derme papillaire. Une augmentation est constatée au bout de 10 jours.

- Le produit P2, après 4 jours de traitement, n'induit pas une augmentation du derme papillaire.

- Le produit P3, après 4 jours de traitement et après 10 jours de traitement, induit une augmentation de la densité du derme papillaire.

- Le produit P4, après 4 jours de traitement, n'induit pas d'augmentation de la densité du derme papillaire. Une augmentation est constatée au bout de 10 jours.

- Le produit P5, après 4 jours de traitement n'induit pas d'augmentation de la densité du derme papillaire.

II. Effet de la composition selon l'invention avec l'application de radiofréquences

[0070] Les tests effectués avec application de radiofréquences montrent une conductivité importante.

[0071] De plus, un exemple d'efficacité est présenté ci-après.

- Sujet : Femme de 46 ans présentant des vergetures post-partum de 15 ans et la cicatrice d'une abdominoplastie de 2,5 ans.

- Matériel utilisé : Appareil de radiofréquence de la marque Fisioline, modèle Radiant

- Protocole utilisé : Préparation de la patiente (installation de la plaque de retour).

Application de la composition de l'exemple sur la zone traitée puis passage du manipulateur en mouvement circulaire pendant 7 à 15 min selon un programme spécifique :

- 1^{er} passage en multifréquence en mode capacitif
- 2^{ème} passage en mode résistif
- dernier passage en mode bipolaire.

[0072] Deux autres séances ont lieu suivant le même procédé à 15 jours (2 semaines) d'intervalle soit 3 séances sur une durée de traitement effectué dans un délai de 45 jours.

[0073] Les résultats sont présentés sur les figures 3a et 3b.

La figure 3a est une photographie de l'abdomen d'une femme de 46 ans présentant des vergetures post-partum et des cicatrices suite à une abdominoplastie. On y voit des vergetures marquées d'apparence « peau d'écaille », et des cicatrices verticale et horizontale adhérentes.

La figure 3b est une photographie de contrôle de l'abdomen un mois après la fin du traitement (3 séances de radiofréquence avec application de composition selon l'invention réparties sur 45 jours). La peau est plus lisse, tonique et élastique. La cicatrice horizontale et verticale est atténuée. Les vergetures sont extrêmement réduites. L'adhérence de la cicatrice verticale a disparu.

Revendications

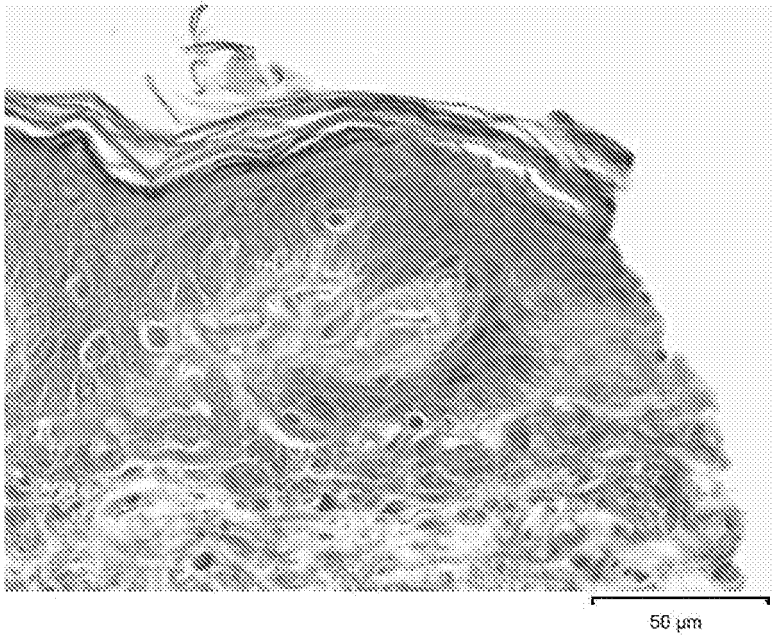
- [Revendication 1] Composition adaptée à une application topique sur la peau ou les muqueuses, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins de l'eau et au moins un mélange de collagènes, ledit mélange de collagènes comprenant au moins :
- du collagène natif, les molécules de collagène natif présentant des poids moléculaires compris entre 150 et 300 000 Daltons, et
 - du collagène en gel, les molécules de collagène en gel présentant des poids moléculaires compris entre 100 et 150 000 Daltons.
- [Revendication 2] Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins 0,1% du mélange de collagènes en poids par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 3] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 0,1 et 5% du mélange de collagènes en poids par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 4] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le mélange de collagènes comprend entre 10 et 40% de collagène natif et entre 60 et 90% de collagène en gel, les pourcentages étant donnés en poids par rapport au poids total de matières sèches du mélange de collagènes.
- [Revendication 5] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le collagène natif a été obtenu par un procédé mis en œuvre à une température inférieure à 35°C.
- [Revendication 6] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que les collagènes sont des collagènes obtenus à partir de peaux de poissons d'eau douce.
- [Revendication 7] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que les collagènes sont des collagènes obtenus à partir de peaux d'esturgeon.
- [Revendication 8] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 50 et 95% d'eau en poids par rapport au poids total de la composition.
- [Revendication 9] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'au moins une partie de l'eau est de l'eau de source.
- [Revendication 10] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'au moins une partie de l'eau est d'origine marine.
- [Revendication 11] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en

ce qu'elle comprend également :

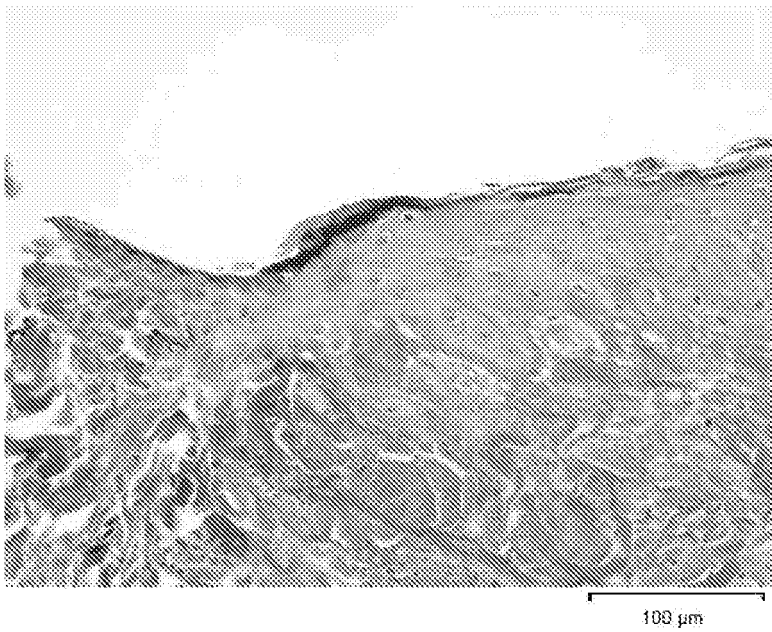
- au moins une huile végétale, et/ou
- au moins un principe actif cicatrisant et/ou hydratant et/ou anti-bactérien et/ou apaisant et/ou anti-irritation,
- au moins un extrait végétal, et/ou
- au moins un émulsionnant, et/ou
- au moins un émollient, et/ou
- au moins un conservateur, et/ou
- au moins un stabilisateur, et/ou
- de la glycérine.

- [Revendication 12] Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de crème, de sérum, d'une solution ou de gel.
- [Revendication 13] Composition selon l'une des précédentes revendications, pour son utilisation dans le traitement de la peau et/ou des muqueuses.
- [Revendication 14] Composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses pour un effet cicatrisant.
- [Revendication 15] Composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour son utilisation en application topique sur la peau et/ou les muqueuses comme composition conductrice pour le traitement de la peau et/ou des muqueuses par diathermie et/ou radiofréquence.
- [Revendication 16] Composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour son utilisation cosmétique en application topique sur une peau saine et/ou sur les muqueuses saines.
- [Revendication 17] Composition pour son utilisation selon la précédente revendication, pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané.
- [Revendication 18] Procédé de fabrication d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend au moins la mise en œuvre des étapes suivantes :
- a. obtention d'une solution de collagène natif,
 - b. obtention d'une solution de collagène en gel,
 - c. mélange des deux solutions pour obtenir un mélange de collagène natif et de collagène gel,
 - d. mélange des constituants de la composition à température ambiante.
- [Revendication 19] Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que l'étape a est réalisée à une température inférieure à 35°C.

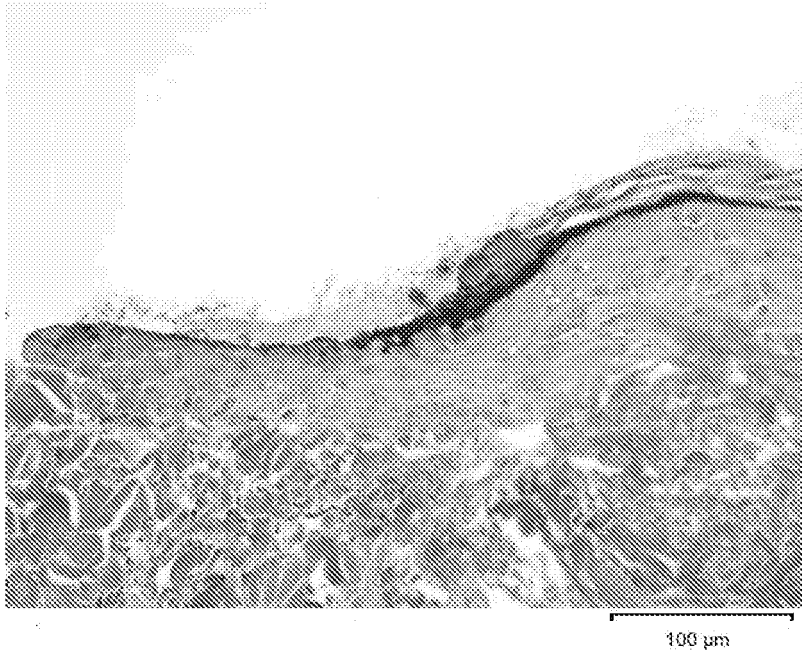
[Fig. 1a]



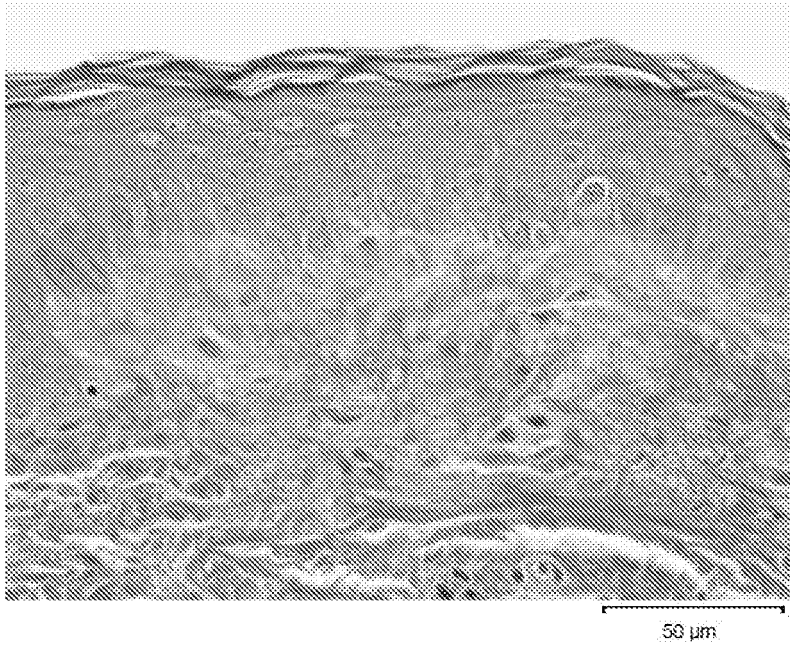
[Fig. 1b]



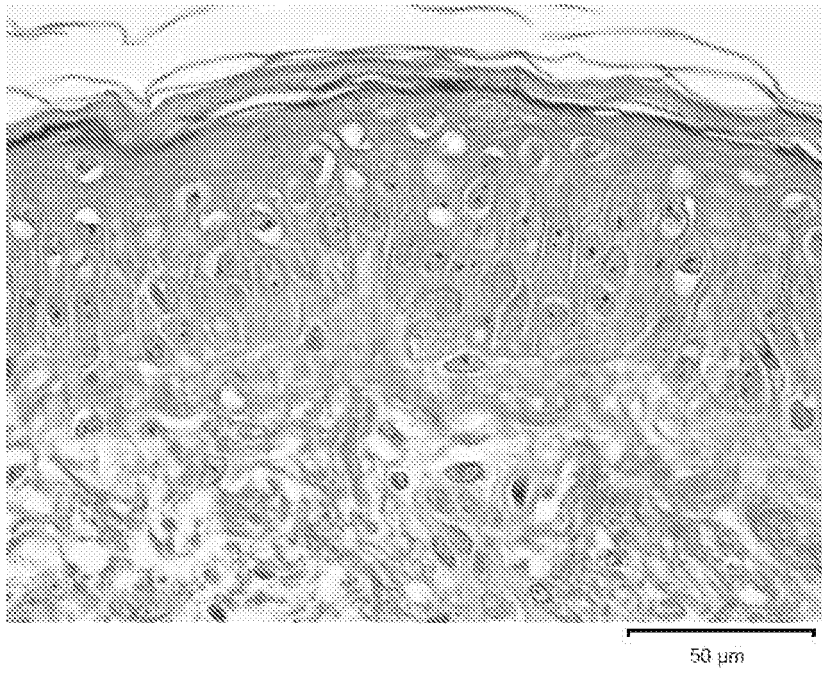
[Fig. 1c]



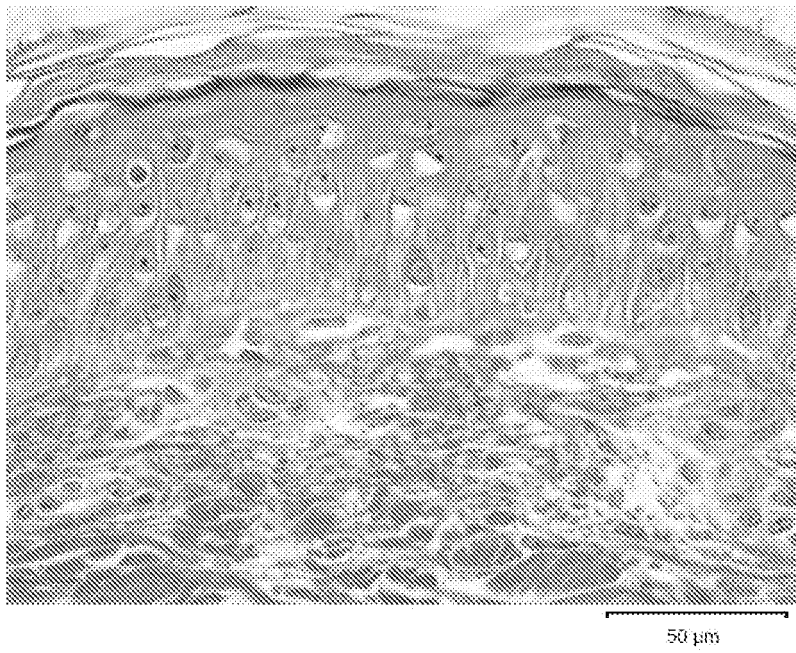
[Fig. 2a]



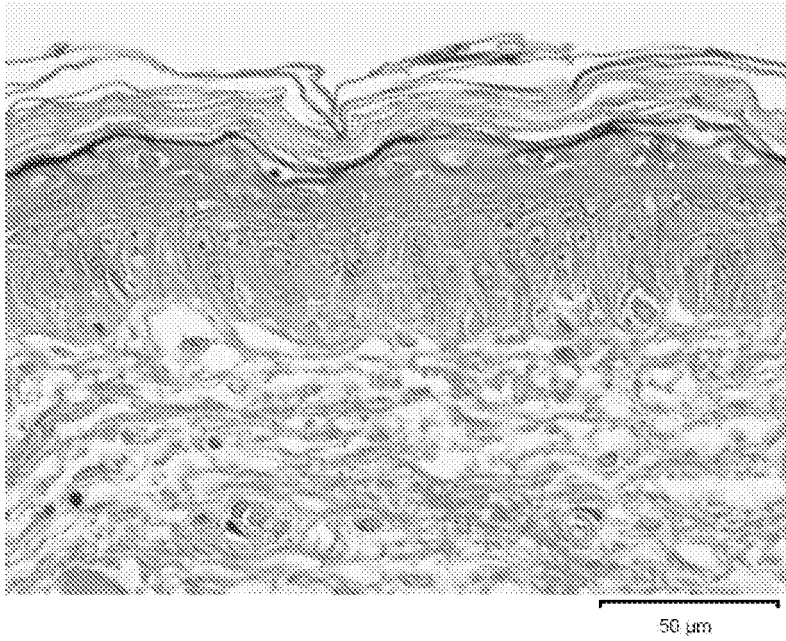
[Fig. 2b]



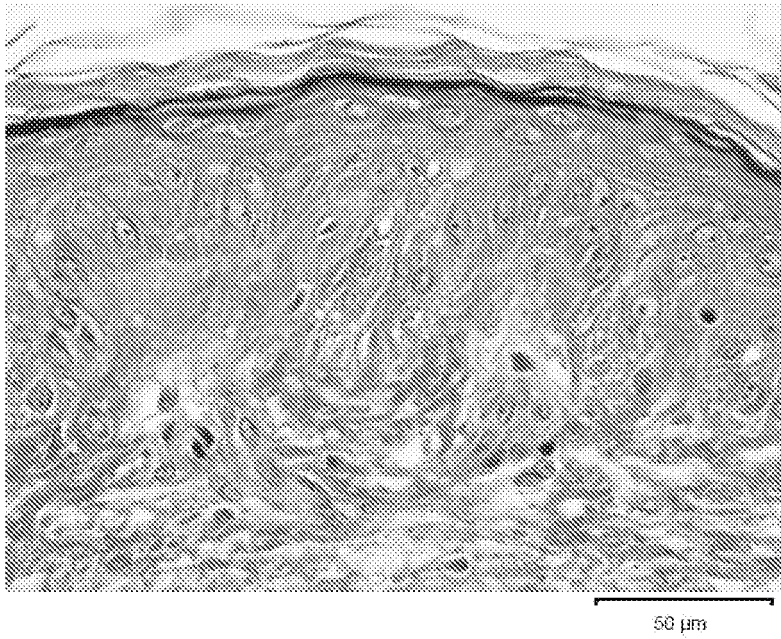
[Fig. 2c]



[Fig. 2d]



[Fig. 2e]



[Fig. 3a]



[Fig. 3b]



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

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

N° d'enregistrement
national

FA 873794
FR 1911192

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	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 1 août 2007 (2007-08-01), anonymous: "Extra Relief Collagen Elastin Body Lotion", XP055697057, extrait de www.gnpgd.com Database accession no. 746239 * abrégé *	1,5-7, 11,12, 16,17	A61K38/39 A61K35/60 A61P17/02
X	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 22 août 2018 (2018-08-22), anonymous: "Collagen Dietary Supplement", XP055697063, extrait de www.gnpgd.com Database accession no. 5922127 * abrégé *	1,5-7, 11,12, 16,17	
X	FR 2 732 972 A1 (MATHE LAB [FR]) 18 octobre 1996 (1996-10-18) * page 1 * * exemple 5 *	1,2,12	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61N A61Q
X	US 2010/303898 A1 (LAU FRANCIS C [US] ET AL) 2 décembre 2010 (2010-12-02) * alinéa [0002] * * alinéa [0018] *	1,2,5	
X	FR 2 657 352 A1 (FRANCE ETAT ARMEMENT [FR]) 26 juillet 1991 (1991-07-26)	1,2,4,5, 11-14, 18,19	
Y	* page 1 * * exemple 1 *	1-19	
Y	CN 108 938 448 A (BAI JIN) 7 décembre 2018 (2018-12-07) * page 1 * * exemple 1 *	1-19	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
25 mai 2020		Durand-Oral, Ilknur	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS 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 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			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1911192 FA 873794

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 **25-05-2020**
 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 2732972	A1	18-10-1996	AUCUN	

US 2010303898	A1	02-12-2010	KR 20120015317 A	21-02-2012
			TW 201041901 A	01-12-2010
			US 2010303898 A1	02-12-2010
			WO 2010118345 A1	14-10-2010

FR 2657352	A1	26-07-1991	AUCUN	

CN 108938448	A	07-12-2018	AUCUN	
