

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①① N° de publication : **3 143 370**

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

②① N° d'enregistrement national : **22 13489**

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 8/972 (2023.01), A 61 Q 19/00**

①②

BREVET D'INVENTION

B1

⑤④ Extrait de Metschnikowia rubicola et ses utilisations cosmétiques.

②② Date de dépôt : 15.12.22.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public
de la demande : 21.06.24 Bulletin 24/25.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 20.12.24 Bulletin 24/51.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : *SOCIETE INDUSTRIELLE
LIMOUSINE D'APPLICATION BIOLOGIQUE Société
anonyme — FR.*

⑦② Inventeur(s) : PAUFIQUE Jean.

⑦③ Titulaire(s) : *SOCIETE INDUSTRIELLE LIMOUSINE
D'APPLICATION BIOLOGIQUE Société anonyme.*

⑦④ Mandataire(s) : AQUINOV.

FR 3 143 370 - B1



Description

Titre de l'invention : Extrait de *Metschnikowia rubicola* et ses utilisations cosmétiques

Domaine technique

[0001] L'invention concerne un principe actif cosmétique obtenu à partir d'une levure de l'espèce *Metschnikowia rubicola* et ses utilisations cosmétiques, en particulier pour améliorer la fonction barrière et l'hydratation cutanée.

[0002] **Etat de l'art**

[0003] Depuis la crise sanitaire, les consommateurs recherchent des produits cosmétiques reflétant leurs aspirations à un mode de vie sain ainsi que leurs préoccupations environnementales et éthiques. Ainsi, près de 2/3 des consommateurs sont plus attentifs aux indications mentionnées sur l'emballage des produits qu'ils consomment et s'intéressent à des produits plus respectueux de l'environnement et de la santé. On peut notamment citer les produits naturels, biologiques, certifiés végan, respectueux de l'environnement etc. En particulier, les produits à base d'ingrédients naturels respectueux de l'environnement constituent une forte attente de la part des consommateurs.

[0004] A ce titre, il existe donc un besoin pour de nouveaux produits cosmétiques à base d'ingrédients naturels, permettant d'améliorer la fonction barrière et l'hydratation cutanée.

[0005] Pour répondre à ce besoin, l'inventeur s'est intéressé à des matières premières naturelles et originales pour développer de tels principes actifs, prélevés à partir de plantes cultivées de la famille des *Rosaceae*.

[0006] Dans le cadre de ses travaux, l'inventeur s'est particulièrement intéressé aux levures présentes sur les plantes cultivées de la famille des *Rosaceae*. L'inventeur a identifié une levure spécifique appartenant à l'espèce *Metschnikowia rubicola* sur ces plantes cultivées de la famille des *Rosaceae*.

[0007] La levure *Metschnikowia rubicola* n'a jamais été utilisée en cosmétique, et de façon étonnante, selon l'invention, un extrait issu de cette levure permet d'améliorer la fonction barrière et donc l'hydratation cutanée.

Résumé de l'invention

[0008] Ainsi, l'invention propose un nouveau principe actif cosmétique obtenu à partir d'une levure de l'espèce *Metschnikowia rubicola*.

[0009] La levure *Metschnikowia rubicola* a été prélevée en France sur des plantes cultivées de la famille des *Rosaceae*, en conformité avec la réglementation APA en vigueur.

[0010] Ainsi, l'invention vise un principe actif cosmétique comprenant au moins un extrait

issu de la biomasse de la levure de l'espèce *Metschnikowia rubicola*, en particulier ledit extrait est un hydrolysate de *Metschnikowia rubicola*. Préférentiellement l'hydrolysate de *Metschnikowia rubicola* est un hydrolysate enzymatique.

- [0011] L'hydrolysate de *Metschnikowia rubicola* peut être obtenu par au moins une hydrolyse, préférentiellement au moins une hydrolyse enzymatique. Selon un objet particulièrement préféré, l'hydrolysate est obtenu par deux hydrolyses enzymatiques, en particulier les deux hydrolyses sont simultanées.
- [0012] Selon un autre objet préféré de l'invention, l'extrait comprend des saccharides.
- [0013] La fraction saccharidique représente au moins 15% en poids de matière sèche de l'extrait, selon la méthode de DUBOIS ((Dubois M. et al., *Analytical chemistry*, 28, 3, 350-356, 1956), préférentiellement entre 28 et 75% en poids de matière sèche de l'extrait.
- [0014] La fraction saccharidique présente dans l'extrait selon l'invention comprend majoritairement des oligosaccharides de masse moléculaire inférieure à 3600 Da constitués de glucose et de mannose.
- [0015] L'extrait selon l'invention peut également comprendre des peptides. La fraction peptidique représente au moins 20% en poids de matière sèche de l'extrait. De façon préférée, la fraction peptidique représente moins de 50% en poids de matière sèche de l'extrait.
- [0016] L'invention se rapporte également à un procédé de préparation du principe actif selon l'invention, comprenant notamment une culture de la biomasse de *Metschnikowia rubicola* dans un milieu de culture adapté, suivie d'une solubilisation de la biomasse de *Metschnikowia rubicola* dans l'eau, au moins une hydrolyse, préférentiellement enzymatique, une inactivation thermique, une séparation de la phase soluble et insoluble. Après récupération de la phase soluble, un tri moléculaire est réalisé, et éventuellement une désodorisation ou décoloration, et/ou une filtration de l'extrait suivie d'une filtration stérilisante.
- [0017] Le principe actif selon l'invention est un ingrédient cosmétique dérivé de matériaux naturels selon la définition de la norme ISO 16128, internationalement reconnue. Il présente avantageusement un effet hydratant et améliore la fonction barrière de la peau, permettant ainsi de répondre aux problématiques du marché cosmétique. Aussi, il peut être utilisé pour des applications cosmétiques et être intégré dans une composition cosmétique sous une forme adaptée à une application topique.
- [0018] L'invention se rapporte donc également à une utilisation cosmétique du principe actif selon l'invention ou d'une composition comprenant au moins 0,5% en poids du principe actif selon l'invention, en particulier pour améliorer la fonction barrière et l'hydratation de la peau.
- [0019] D'autres caractéristiques et avantages ressortiront de la description détaillée de

l'invention et des exemples qui vont suivre.

Description détaillée de l'invention

[0020] Définition

[0021] Par « *Metschnikowia rubicola* » au sens de l'invention, on entend toute levure de la famille des *Metschnikowiaceae*, du genre *Metschnikowia* et de l'espèce *Metschnikowia rubicola*. Préférentiellement, une souche de la levure *Metschnikowia rubicola* a été enregistrée dans une collection de levures (CIRM), sous le numéro 2141. Cette levure *Metschnikowia rubicola* a été isolée à partir de plantes de la famille des *Rosaceae*.

[0022] Par « principe actif cosmétique » au sens de l'invention, on entend un extrait comprenant au moins un ensemble de molécules présentant un effet cosmétique sur la peau. Préférentiellement l'effet est un effet hydratant et le principe actif améliore la fonction barrière de la peau.

[0023] Par « extrait de *Metschnikowia rubicola* » au sens de l'invention, on entend un extrait comprenant au moins un ensemble de molécules, préférentiellement un extrait de la biomasse de la levure *Metschnikowia rubicola*, ledit extrait étant un hydrolysate, comprenant, préférentiellement au moins des sucres représentant au moins 15% en poids du poids total de l'extrait. Ledit extrait constituant un ingrédient dérivé des matériaux naturels, selon la définition de la norme ISO 16128.

[0024] Par « ingrédient cosmétique dérivé de matériaux naturels » au sens de l'invention, on entend un ingrédient cosmétique obtenu par des procédés chimiques et/ou biologiques définis visant à le modifier chimiquement. Ces modifications chimiques sont intentionnelles, associées au procédé réalisé, les structures et les ratios des molécules obtenues ne sont plus identiques à ce que l'homme du métier sait présent naturellement dans la levure.

[0025] Par « hydrolysate de *Metschnikowia rubicola* » au sens de l'invention, on entend tout extrait issu de la levure *Metschnikowia rubicola*, obtenu par un procédé comprenant au moins une étape d'hydrolyse, préférentiellement au moins une étape d'hydrolyse enzymatique.

[0026] Principe actif

[0027] La présente invention a donc pour objet un principe actif cosmétique comprenant au moins un extrait de *Metschnikowia rubicola*, ledit extrait est un hydrolysate de la levure de *Metschnikowia rubicola*.

[0028] L'extrait selon l'invention peut être obtenu par tout type de procédé d'extraction ou de transformation des molécules de la levure comprenant au moins une étape d'hydrolyse. Aussi, l'extrait est un hydrolysate, c'est-à-dire qu'il est obtenu par hydrolyse de la levure. Il est préférentiellement obtenu par au moins une hydrolyse enzymatique. Ainsi, l'extrait selon l'invention est préférentiellement un hydrolysate en-

zymatique. De façon particulièrement avantageuse, l'extrait est obtenu par deux hydrolyses enzymatiques simultanées.

- [0029] L'extrait selon l'invention comprend des sucres, ceux-ci représentent au moins 15% en poids de matière sèche de l'extrait, plus préférentiellement entre 28% et 75% en poids de matière sèche de l'extrait. La teneur en sucres dans l'extrait peut être déterminée par la méthode de DUBOIS (Dubois M. et al., *Analytical chemistry*, 28, 3, 350-356, 1956).
- [0030] De façon préférée les sucres présents dans l'extrait selon l'invention sont majoritairement des oligosaccharides de masses molaires inférieures à 3600Da et des polysaccharides de masses molaires inférieures à 306 kDa. Les sucres présents majoritairement dans l'extrait sont des oligosaccharides de masses molaires comprises entre 180 et 3 600 Da.
- [0031] Préférentiellement les oligosaccharides et les polysaccharides de l'extrait sont composés de glucose et de mannose.
- [0032] L'extrait de *Metschnikowia rubicola* peut également comprendre des peptides.
- [0033] Préférentiellement, l'extrait de *Metschnikowia rubicola* comprend des peptides ayant un poids moléculaire inférieur à 10 kDa, préférentiellement inférieur à 3500 Da, très préférentiellement inférieur à 2000 Da. La répartition et la quantité de la fraction protéique peut être déterminée par le dosage de l'azote total selon la méthode de KJELDHAL (référence : Official method of analysis of the A.O.C., 12th ed. W Horwitz, E.D., New-York, 15-60, 1975).
- [0034] De façon préférée, les peptides ayant un poids moléculaire inférieur à 3500 Da représentent au moins 90% en poids de la fraction protéique de l'extrait, encore plus préférentiellement les peptides ayant un poids moléculaire inférieur à 2000Da représentent au moins 75% en poids de la fraction protéique de l'extrait, selon la méthode de KJELDHAL.
- [0035] Dans l'extrait, la fraction peptidique représente au moins 20% en poids de matière sèche de l'extrait, préférentiellement entre 20 et 60%.
- [0036] L'inventeur a également déterminé le taux de cendres de l'extrait selon l'invention. Le taux de cendres est préférentiellement compris entre 10 et 40% en poids de matière sèche de l'extrait. La teneur en cendres brutes peut être déterminée par la pesée des résidus issus de l'incinération des échantillons de l'extrait selon l'invention à 550°C dans un four à moufle électrique.
- [0037] Dans le cadre de ses travaux de caractérisation, l'inventeur a également déterminé la teneur en matières sèches de l'extrait. Celle-ci peut être déterminée par la pesée des résidus issus du séchage de l'extrait selon l'invention à 105°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Préférentiellement, l'extrait selon l'invention sous forme liquide a une teneur en matières sèches de : 15 g/L à 38 g/L, encore plus préfé-

rentiellement de 20 g/L à 32g/L.

- [0038] Le principe actif selon l'invention peut également comprendre d'autres ingrédients ajoutés par l'Homme du métier, en particulier des excipients. Aussi, le principe actif selon l'invention comprend préférentiellement au moins un excipient choisi parmi un conservateur, un antioxydant, un stabilisant, un support d'atomisation, et leur combinaison. De tels excipients permettent de stabiliser, conserver, éviter la dégradation de l'extrait, en particulier des molécules comprises dans l'extrait responsables de l'effet hydratant dudit principe actif cosmétique.
- [0039] Le principe actif cosmétique selon l'invention peut se présenter sous différentes formes, préférentiellement sous forme liquide ou sous forme solide.
- [0040] Lorsqu'il se présente sous forme liquide, le principe actif selon l'invention est exclusivement constitué par l'extrait de *Metschnikowia rubicola* accompagné d'excipients, préférentiellement de stabilisant et/ou conservateur, et/ou d'antioxydant.
- [0041] L'extrait sous forme liquide se présente préférentiellement sous forme d'un liquide limpide, de couleur jaune clair et présentant une faible odeur. Il peut toutefois être plus coloré et/ou être décoloré par tout procédé connu de l'homme du métier. Le principe actif peut également être combiné à des agents de stabilisation ou des agents de conservation.
- [0042] Lorsqu'il se présente sous forme solide le principe actif selon l'invention est préférentiellement constitué par l'extrait de *Metschnikowia rubicola* tel que précédemment décrit et par au moins un excipient tel qu'un support choisi parmi la maltodextrine, la gomme arabique ou la lécithine de soja. Selon un mode de réalisation, particulièrement adapté, l'extrait représente au moins 10% en poids du principe actif et le support au plus 90% en poids du principe actif.
- [0043] Dans le cas d'une forme solide dans laquelle le principe actif est associé à un support, les teneurs en protéines, en sucres et en cendres dans le principe actif sont modifiées, le support étant généralement constitué majoritairement de sucres.
- [0044] Le principe actif selon l'invention peut éventuellement être intégré dans une composition cosmétique, notamment une composition comprenant au moins 0,5% en poids dudit principe actif. Le principe actif selon l'invention est en effet préférentiellement utilisé dans des compositions, en particulier des compositions comprenant un milieu cosmétiquement acceptable. Il peut s'agir de compositions sous différentes formes galéniques, adaptées à une application topique.
- [0045] Ces compositions peuvent se présenter notamment sous forme d'émulsions huile-dans-eau, émulsions eau-dans-huile, émulsions multiples (Eau/Huile/Eau ou Huile/Eau/Huile) qui peuvent être éventuellement des microémulsions ou des nanoémulsions, ou sous forme de solutions, suspensions, hydrodispersions, ou gels aqueux. Elles peuvent être plus ou moins fluides et avoir l'aspect de lotion, crème, ou mousse.

[0046] Il peut s'agir de compositions comprenant au moins 0,5% en poids du principe actif selon l'invention. Ces compositions comprennent, outre l'actif, un milieu physiologiquement acceptable et de préférence cosmétiquement acceptable, c'est-à-dire qui ne provoque pas de sensations d'inconfort inacceptables pour l'utilisateur telles que des rougeurs, tiraillements ou picotements.

[0047] Les compositions selon l'invention peuvent contenir comme adjuvant au moins un composé choisi parmi :

- les huiles, qui peuvent être choisies notamment parmi les huiles de silicone, linéaires ou cycliques, volatiles ou non volatiles ;
- les cires, telles que l'ozokérite, la cire de polyéthylène, la cire d'abeille ou la cire de carnauba,
- les élastomères de silicone,
- les tensioactifs, de préférence émulsionnants, qu'ils soient non ioniques, anioniques, cationiques ou amphotères,
- les co-tensioactifs, tels que les alcools gras linéaires,
- les épaississants et/ou gélifiants,
- les humectants, tels que les polyols comme la glycérine,
- les colorants, les conservateurs, les charges,
- les tenseurs,
- les séquestrants,
- les parfums,
- et leurs mélanges, sans que cette liste soit limitative.

[0048] Des exemples de tels adjuvants sont cités notamment dans le Dictionnaire *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook* publié par le *Personal Care Product Council*.

[0049] Bien entendu, l'homme du métier veillera à choisir les éventuels composés complémentaires, actifs ou non-actifs, et leur quantité, de telle sorte que les propriétés avantageuses du mélange ne soient pas, ou sensiblement pas, altérées par l'adjonction envisagée.

[0050] Les compositions comprenant un principe actif selon l'invention sont notamment destinées à être utilisées pour améliorer la fonction barrière et l'hydratation de la peau.

[0051] Procédé d'extraction

[0052] L'extrait constituant ou contenu dans le principe actif selon l'invention peut être obtenu par tout procédé comprenant au moins une étape d'extraction de la biomasse de la levure de *Metschnikowia rubicola* et au moins une étape d'hydrolyse. Selon la présente invention, l'extraction de la biomasse de la levure ne consiste pas en la récupération du surnageant de la culture de la levure.

[0053] Préalablement au procédé d'obtention de l'extrait en tant que tel, il convient de

produire la biomasse de *Metschnikowia rubicola*. Cette étape est réalisée selon le mode de culture des levures dans un milieu adapté à leur développement, par exemple un milieu de culture adapté, de manière classique pour l'homme de métier. A partir de la biomasse, une extraction des molécules actives, préférentiellement des sucres, est réalisée. L'extraction est réalisée par au moins une hydrolyse, selon tout moyen connu de l'homme du métier, préférentiellement par hydrolyse enzymatique.

[0054] Selon un mode de réalisation particulièrement adapté, le principe actif selon l'invention est obtenu par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- a. Culture de la biomasse de *Metschnikowia rubicola* dans un milieu de culture adapté à leur développement,
- b. Solubilisation à raison d'au moins 80 g/L de la biomasse de *Metschnikowia rubicola* dans l'eau,
- c. Au moins une hydrolyse enzymatique, préférentiellement au moins deux hydrolyses enzymatiques simultanées,
- d. Traitement permettant l'inactivation des activités enzymatiques, par exemple par traitement thermique de l'hydrolysate,
- e. Séparation de la phase soluble et insoluble, et récupération de la phase soluble,
- f. Tri moléculaire des molécules de la phase soluble, par tout moyen permettant le tri moléculaire, par exemple par ultrafiltration ou chromatographie ionique,
- g. Éventuellement, désodorisation ou décoloration, et
- h. Éventuellement, filtration et filtration stérilisante.

[0055] Une étape d'hydrolyse, préférentiellement au moins une hydrolyse enzymatique, et encore plus préférentiellement au moins deux hydrolyses enzymatiques simultanées peuvent être envisagées dans le procédé de préparation du principe actif selon l'invention.

[0056] Le procédé peut éventuellement comprendre une étape de traitement thermique de l'extrait, en particulier pour éliminer les activités enzymatiques résiduelles.

[0057] La séparation de la phase soluble et insoluble est réalisée par tout moyen connu de l'homme du métier, par exemple par centrifugation, filtration ou décantation. Préférentiellement la séparation des phases soluble et insoluble est réalisée pour récupérer la phase soluble contenant entre autres les sucres solubles, tels que les oligosaccharides et les polysaccharides et la fraction peptidique.

[0058] Le procédé comprend une étape de filtration, préférentiellement par tri moléculaire adapté, par exemple par ultrafiltration ou chromatographie ionique.

[0059] Des étapes de décoloration ou désodorisation peuvent aussi être ajoutées.

[0060] Le produit obtenu à ce stade peut éventuellement être encore concentré et/ou purifié, préférentiellement par des étapes d'ultrafiltrations successives à travers des filtres de

porosité différentes, en conservant les filtrats à chaque étape et/ou par une méthode de type chromatographique.

[0061] Le produit obtenu après filtration, avant ou après concentration et filtration stérilisante, est un extrait de *Metschnikowia rubicola*, et constitue une première forme du principe actif selon l'invention, et se présente alors sous forme liquide.

[0062] L'extrait obtenu peut ensuite être séché et associé ou non à un support, pour se présenter sous forme solide. Cette phase peut être réalisée par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- un support d'atomisation, de préférence la maltodextrine, est ajouté dans l'extrait de *Metschnikowia rubicola*, d'au plus 90% (en masse/volume) ;
- cette solution est ensuite concentrée sous vide ;
- une élimination des bactéries éventuellement présentes est réalisée par traitement thermique ;
- l'atomisation permet d'obtenir une poudre.

[0063] Les étapes des procédés décrits ci-avant, prises individuellement sont usuelles dans le domaine des extractions d'actifs à partir de matières premières naturelles et l'homme du métier est à même d'en ajuster les paramètres réactionnels sur la base de ses connaissances générales.

[0064] Utilisation cosmétique

[0065] Le principe actif selon l'invention est particulièrement d'intérêt pour renforcer/améliorer la fonction barrière de la peau et pour améliorer l'hydratation de la peau.

[0066] L'invention vise ainsi une utilisation cosmétique, non thérapeutique, du principe actif selon l'invention pour ses effets cosmétiques, seul ou dans une composition, en particulier pour au moins un effet cosmétique hydratant et pour améliorer la fonction barrière cutanée.

[0067] Par utilisation non thérapeutique, on entend au sens de l'invention une utilisation cosmétique du principe actif selon l'invention ou d'une composition cosmétique le comprenant, destinée à des personnes saines non malades, en particulier à des personnes présentant une peau saine.

[0068] Préférentiellement le principe actif selon l'invention, seul ou dans une composition, vise à être utilisé pour un traitement cosmétique en application topique sur la peau. Aussi, l'utilisation cosmétique selon l'invention vise également l'utilisation d'une composition comprenant le principe actif selon l'invention.

[0069] L'invention est à présent illustrée par des exemples non limitatifs de composition selon l'invention et par des résultats.

Exemples

[0070] Exemple 1 – Principe actif selon l'invention

- [0071] Le principe actif de l'exemple 1 est obtenu à partir d'une levure de *Metschnikowia rubicola*. Le principe actif de l'exemple 1 est obtenu par le procédé suivant :
- a. Culture de *Metschnikowia rubicola* dans un milieu de culture adapté
 - b. Solubilisation de la biomasse de la levure *Metschnikowia rubicola* dans l'eau, à raison de 80g/l,
 - c. Au moins deux hydrolyses enzymatiques simultanées par des carbohydrases,
 - d. Inactivation enzymatique par traitement thermique,
 - e. Séparation des phases soluble et insoluble par décantation et récupération de la phase soluble,
 - f. Purification par tri moléculaire, en particulier par ultrafiltration,
 - g. Filtration, et filtration stérilisante.

- [0072] Le principe actif obtenu possède les caractéristiques suivantes :
- Teneur en Matières Sèches = 32 g/L
 - Teneur en Sucres Totaux (selon la méthode de Dubois) = 15,4 g/L (48%, en poids par rapport à la matière sèche)
 - Teneur en peptides (selon la méthode KJELDHAL) = 11,3 g/L (35,3%, en poids par rapport à la matière sèche)
 - Liquide limpide, jaune clair, il présente une odeur faible.

[0073] La fraction saccharidique du principe actif selon l'exemple 1 est composé de glucose et d'au moins 20% de mannose.

[0074] Exemple 2 – Principe actif selon l'invention

- [0075] Le principe actif de l'exemple 2 est obtenu à partir d'une levure de *Metschnikowia rubicola*. Le principe actif de l'exemple 2 est obtenu par le procédé suivant :
- a. Culture de *Metschnikowia rubicola* dans un milieu de culture adapté
 - b. Solubilisation de la biomasse de la levure *Metschnikowia rubicola* dans l'eau, à raison de 90g/l,
 - c. Hydrolyse enzymatique des protéines,
 - d. Inactivation enzymatique,
 - e. Séparation des phases soluble et insoluble par décantation et récupération de la phase soluble,
 - f. Tri moléculaire, en particulier par ultrafiltration,
 - g. Filtration, et filtration stérilisante.

- [0076] Le principe actif obtenu possède les caractéristiques suivantes :
- Teneur en Matières Sèches = 24,6 g/L
 - Teneur en Sucres Totaux = 6,1 g/L (24,8%, en poids par rapport à la matière sèche)
 - Teneur en peptides (selon la méthode KJELDHAL) = 10,2 g/L (41,5%, en poids par rapport à la matière sèche)

- Teneur en cendres minérales = 8,3 g/L (33,7%, en poids par rapport à la matière sèche)

La fraction saccharidique du principe selon l'exemple 2 est composé à 100% de glucose.

[0077] Exemple 3 – Composition selon l'invention

[0078] Un exemple de formulation comprenant le principe actif selon l'invention sous forme d'un gel de jour est présenté dans le tableau 1 ci-après.

[0079] [Tableaux1]

	Ingrédient	%
A	Eau	qsp 100%
	Conservateur	1%
	Glycerol	2%
B	DUB 1632	3%
	DUB MM	1,5%
	DUB STGAE30	3%
	DUB ININ	2%
	Sophiderme	4%
	Easynov	4%
C	Principe actif selon l'invention	2,5%

[0080] La composition se présente sous forme d'une émulsion fluide, blanche, sans odeur, brillante, avec une application aisée, un étalement doux et glissant.

[0081] La composition peut être obtenue comme suit :

- Mélanger A. Chauffer au bain-marie à 80°C sous agitation magnétique.
- Mélanger B. Chauffer au bain-marie à 80°C sous agitation magnétique.
- A 80°C, émulsionner A dans B sous rotor stator à 1800 tr/min.
- A 30°C additionner C.
- Laisser sous agitation jusqu'à complet refroidissement.

[0082] Essais – Efficacité du principe actif selon l'invention sur la fonction barrière et l'hydratation

[0083] L'étude *in vitro* a été réalisée sur des kératinocytes humains normaux, cellules de l'épiderme, en culture monocouche avec ou sans traitement avec les principes actifs selon l'exemple 1 ou l'exemple 2 pendant 24h. Une analyse du profil transcriptomique par PCR quantitative en temps réel des gènes impliqués dans le métabolisme de l'épiderme, en particulier en lien avec la fonction barrière et l'hydratation, a été

conduite.

[0084] Les variations d'activité transcriptionnelle statistiquement significatives des gènes décrits ci-dessous entre les kératinocytes humains normaux témoins non traités et les kératinocytes humains normaux traités avec le principe actif selon l'exemple 1 ou l'exemple 2 sont présentés dans les tableaux 2 et 3 ci-après. Seules les valeurs de variation d'expression génique significativement supérieures à 1,5 (surexpression du gène) ou significativement inférieures à 0,75 (sous-expression du gène) sont reportées. Si aucune variation significative de l'expression génique n'est mesurée, alors aucune valeur n'est reportée dans les tableaux (/).

[0085] Effet sur la fonction barrière

[0086] L'inventeur a analysé l'expression de gènes impliqués dans le renforcement de la fonction barrière cutanée, à savoir :

- TGM1 (Transglutaminase 1) : code pour l'enzyme impliquée dans la formation de l'enveloppe cornée, une structure protéique rigide et insoluble qui entoure les kératinocytes en différenciation terminale et contribue à former une barrière protectrice entre le corps et son environnement.
- SPRR1B (Small Proline-Rich Protein 1B) ou Cornifin : code pour une protéine qui est réticulée aux protéines de la membrane des kératinocytes et participe ainsi à la formation de l'enveloppe cornée.
- ZNF750 (Zinc Finger Protein 750) ou Epigenin : code pour un facteur de transcription impliqué dans l'activation des gènes de différenciation épidermique terminale.
- DSG1 (Desmoglein) : code pour une protéine impliquée dans la formation des desmosomes, des jonctions inter-kératinocytaires qui confèrent aux kératinocytes leur résistance et leur extensibilité. Ces jonctions jouent un rôle clef dans la cohésion de l'épiderme et sa fonction barrière physique.
- OCLN (Occludin) et CLDN1 (Claudin-1) : codent pour des protéines constitutives des jonctions serrées, qui assurent la cohésion entre les kératinocytes au niveau de la couche granuleuse et participent à la fonction barrière mécanique épidermique. Les jonctions serrées assurent aussi l'étanchéité de l'épiderme et préviennent la perte en eau.
- FABP5 (Fatty Acid Binding Protein 5) : code pour une protéine impliquée dans le métabolisme des lipides épidermiques, lipides qui jouent un rôle important dans la formation de la fonction barrière cutanée.
- PI3 (Peptidase Inhibitor 3) ou Elafin ou SKALP (Sin-derived anti-leukoproteïnase) : code pour une protéine inhibitrice des protéinases, elle participe à la formation de l'enveloppe cornée. Elle est décrite également pour son activité bactéricide et participe ainsi à la fonction barrière épidermique.

dermique antimicrobienne.

- BIRC5 (baculoviral IAP repeat containing 5) ou Survivin : code pour une protéine régulatrice du cycle cellulaire, exprimée particulièrement dans les cellules souches kératinocytaires, elle participe au renouvellement de l'épiderme.
- TLR2 (Toll-like receptor 2) : code pour un récepteur transmembranaire qui permet aux kératinocytes de discriminer la présence de microorganismes commensaux des microorganismes transitoires et d'activer des voies de signalisation distinctes pour induire une réponse immunitaire innée spécifique et adaptée, notamment antimicrobienne.

[0087] Les résultats de l'expression des gènes décrits ci-dessus sont présentés dans le tableau 2 ci-après.

[0088] [Tableaux2]

	TGM1	SPRR1B	ZNF750	DSG1	OCLN	CLDN1	FABP5	PI3	BIRC5	TLR2
Témoin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Exemple 1 - 2.5%	2.279	2.903	3.106	3.656	1.571	1.669	1.697	3.832	1.544	1.548
Exemple 2 - 2.5%	/	2.074	/	1.890	/	/	/	3.556	/	1.563

[0089] Le principe actif selon l'exemple 1 augmente significativement l'expression des gènes TGM1, SPRR1B, ZNF750, DSG1, OCLN, CLDN1, FABP5, PI3, BIRC5 et TLR2, gènes essentiels pour renforcer la fonction barrière épidermique mécanique et immunitaire. En particulier, le principe actif selon l'exemple 1 module l'expression des gènes TGM1, ZNF750, OCLN, CLDN1, FABP5 et BIRC5 que le principe actif selon l'exemple 2 ne module pas.

[0090] Effet sur l'hydratation

[0091] L'inventeur a poursuivi ses travaux en analysant l'expression de gènes impliqués dans l'hydratation cutanée, à savoir :

- HAS3 (Hyaluronan Synthase 3) : code pour une enzyme intervenant dans la synthèse de l'acide hyaluronique, une molécule à fort pouvoir hygroscopique qui retient l'eau dans l'épiderme.
- AQP3 (Aquaporin 3) et AQP9 (Aquaporin 9) : codent pour des protéines transmembranaires des kératinocytes impliquées dans le transport sélectif de l'eau, du glycérol ou de l'urée à travers l'épiderme. Ces protéines jouent un rôle majeur dans l'hydratation cutanée.

[0092] Les résultats de l'expression des gènes décrits ci-dessus sont présentés dans le tableau 3 ci-après.

[0093] [Tableaux3]

	HAS3	AQP3	AQP9
Témoin	1	1	1
Exemple 1 - 2.5%	1.518	1.945	3.050
Exemple 2 - 2.5%	/	/	2.380

[0094] Le principe actif selon l'exemple 1 augmente significativement l'expression des gènes HAS3, AQP3 et AQP9 et améliore ainsi l'hydratation cutanée. En particulier, le principe actif selon l'exemple 1 augmente significativement l'expression des gènes HAS3 et AQP3 que le principe actif selon l'exemple 2 ne module pas.

Revendications

- [Revendication 1] Principe actif cosmétique comprenant au moins un extrait de *Metschnikowia rubicola* caractérisé en ce que l'extrait est un hydrolysate de *Metschnikowia rubicola*.
- [Revendication 2] Principe actif selon la revendication précédente, caractérisé en ce que l'extrait est un hydrolysate enzymatique de *Metschnikowia rubicola*.
- [Revendication 3] Principe actif selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'extrait est un hydrolysate enzymatique de *Metschnikowia rubicola* obtenu par au moins deux hydrolyses enzymatiques.
- [Revendication 4] Principe actif selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'extrait comprend au moins des sucres.
- [Revendication 5] Principe actif selon la précédente revendication, caractérisé en ce que les sucres représentent au moins 15% en poids de matière sèche de l'extrait, selon la méthode de DUBOIS.
- [Revendication 6] Principe actif selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce que les sucres représentent entre 28% et 75% en poids de matière sèche de l'extrait, selon la méthode de DUBOIS.
- [Revendication 7] Principe actif cosmétique selon l'une des revendications 4 à 6, caractérisé en ce que les sucres sont composés de glucose et de mannose.
- [Revendication 8] Principe actif cosmétique selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'extrait comprend également des peptides.
- [Revendication 9] Principe actif selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'extrait de *Metschnikowia rubicola* est susceptible d'être obtenu par un procédé d'extraction comprenant les étapes suivantes :
- a. Solubilisation de la biomasse de *Metschnikowia rubicola* dans l'eau à raison d'au moins 80 g/l,
 - b. Au moins une hydrolyse enzymatique,
 - c. Inactivation enzymatique,
 - d. Séparation des phases soluble et insoluble par décantation, et récupération de la phase soluble,
 - e. Tri moléculaire,
 - f. Éventuellement, désodorisation ou décoloration,
 - g. Éventuellement, filtration et filtration stérilisante.
- [Revendication 10] Composition cosmétique comprenant au moins 0,5% d'un principe actif cosmétique selon l'une des précédentes revendications.

[Revendication 11] Utilisation d'un principe actif cosmétique selon l'une des revendications 1 à 11 ou d'une composition selon la revendication 12 pour un traitement cosmétique en application topique sur la peau.

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

NEANT

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

US 9 023 827 B2 (LIMOUSINE D APPLIC BIOLOG
SOC IND [FR]) 5 mai 2015 (2015-05-05)

US 2021/059928 A1 (PAUFIQUE JEAN [FR])
4 mars 2021 (2021-03-04)

WO 2017/195870 A1 (SUNTORY HOLDINGS LTD
[JP]) 16 novembre 2017 (2017-11-16)

FR 3 108 037 A1 (FAREVACARE [FR])
17 septembre 2021 (2021-09-17)

FR 3 008 891 A1 (LIMOUSINE D APPLIC BIOLOG
SOC IND [FR]) 30 janvier 2015 (2015-01-30)

FR 3 104 998 A1 (SOC IND LIMOUSINE
DAPPLICATION BIOLOGIQUE [FR])
25 juin 2021 (2021-06-25)

KURTZMAN CLETUS P ET AL: "Four new
species of Metschnikowia and the transfer
of seven Candida species to Metschnikowia
and Clavisporaas new combinations",
ANTONIE VAN LEEUWENHOEK, SPRINGER,
DORDRECHT NL,
vol. 111, no. 11, 12 mai 2018 (2018-05-12)
, pages 2017-2035, XP036616140,
ISSN: 0003-6072, DOI:
10.1007/S10482-018-1095-8
[extrait le 2018-05-12]

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT