

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2022/129763 A1

(43) Date de la publication internationale
23 juin 2022 (23.06.2022)

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 8/9794 (2017.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2021/052301

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :
— *relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17(iv))*

(22) Date de dépôt international :
13 décembre 2021 (13.12.2021)

Publiée:
— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*
— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2(h))*

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR2013687 18 décembre 2020 (18.12.2020) FR

(71) Déposant : **L V M H RECHERCHE** [FR/FR] ; 185, avenue de Verdun, 45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE (FR).

(72) Inventeurs : **GOURGUILLON, Lorène** ; C/O LVMH RECHERCHE 185, Avenue de Verdun, 45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE (FR). **HEUSEULE, Catherine** ; C/O LVMH RECHERCHE 185, Avenue de Verdun, 45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE (FR). **BULTEAU, Anne-Laure** ; C/O LVMH RECHERCHE 185, Avenue de Verdun, 45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE (FR). **SOBILO, Lauren** ; C/O LVMH RECHERCHE 185, Avenue de Verdun, 45800 SAINT-JEAN-DE-BRAYE (FR).

(74) Mandataire : **REGIMBEAU** ; 20, rue de Chazelles, 75847 PARIS CEDEX 17 (FR).

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

(54) Title: DENDROBIUM FIMBRIATUM EXTRACT AND NO-RINSE COSMETIC COMPOSITION COMPRISING SAME

(54) Titre : EXTRAIT DE DENDROBIUM FIMBRIATUM ET COMPOSITION COSMÉTIQUE NON RINCÉE EN COMPRENANT

(57) Abstract: The present invention relates to a no-rinse cosmetic composition for topical application to keratin materials, in particular on the skin and/or the lips and in particular the skin of the face and/or of the neck, comprising an extract of *Dendrobium fimbriatum*.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une composition cosmétique non rincée pour une application topique sur les matières kératiniques, en particulier sur la peau et/ou les lèvres et notamment la peau du visage et/ou du cou, comprenant un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.



WO 2022/129763 A1

DESCRIPTION

TITRE : Extrait de *Dendrobium fimbriatum* et composition cosmétique non rincée en comprenant

5 DOMAINE TECHNIQUE DE L'INVENTION

La présente invention concerne le domaine de la cosmétique. Elle concerne notamment une composition cosmétique non rincée comprenant un extrait d'orchidée de l'espèce de *Dendrobium fimbriatum*, ainsi que son utilisation pour prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané. Elle concerne également un extrait particulier de *Dendrobium*
10 *fimbriatum* et un procédé d'extraction pour obtenir un tel extrait.

ETAT DE LA TECHNIQUE

La peau est la première barrière de protection de l'organisme vis-à-vis de l'environnement. Elle est donc soumise à de nombreux facteurs susceptibles d'induire des signes du vieillissement cutané, qu'ils soient d'origine exogène (ex : rayonnements UV, variations
15 de température, pollution atmosphérique, fumée de cigarette...) ou endogène (ex : hormones...). On parlera de vieillissement extrinsèque et vieillissement intrinsèque (ou physiologique), respectivement.

Le vieillissement extrinsèque entraîne des altérations cliniques telles que des rides profondes et la formation d'une peau ayant perdu sa fermeté, sa souplesse et son élasticité,
20 et l'apparition de tâches pigmentaires cutanées, autrement nommées tâches de vieillesse. De façon concomitante, le vieillissement intrinsèque ou physiologique provoque notamment un ralentissement du renouvellement des cellules de la peau et une altération de la jonction dermo-épidermique. Cette dernière est essentielle à l'ancrage des cellules de
25 l'épiderme sur le tissu sous-jacent, le derme. La matrice extracellulaire (MEC) est un réseau complexe composé d'un ensemble de macromolécules organisées de manière spécifique qui se lient les unes aux autres. Au niveau de la peau, elle confère des propriétés d'élasticité, de résistance et de compressibilité d'une part et d'autre part, régule diverses fonctions cellulaires telles que la prolifération, la migration ou la différenciation de cellules
30 cutanées. Ainsi, la MEC au niveau du derme joue des rôles essentiels dans la physiologie de la peau. Son altération va directement impacter la qualité de la peau, ce qui se traduit

essentiellement par une perte de fermeté, d'élasticité ainsi que l'apparition de fines rides ou ridules.

Dans ce contexte, il existe un besoin constant de trouver de nouveaux actifs « anti-âge » qui agissent sur des cibles biologiques particulières pour prévenir et/ou diminuer les signes
5 du vieillissement cutané.

De manière inattendue, la Demanderesse a mis en évidence *in vitro* les effets d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* sur certaines protéines de la MEC dermique. En particulier, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est capable d'augmenter de manière significative la synthèse d'élastine, de fibrilline 1, de collagène 1 et le nidogène. En outre,
10 cet extrait permet également de diminuer *in vitro* les marqueurs morphologiques de la sénescence des fibroblastes. Ainsi, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention présente un intérêt cosmétique comme actif anti-âge, en particulier pour à prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement tels que la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.

15

RESUME DE L'INVENTION

Le premier objet de l'invention porte sur une composition cosmétique non rincée pour une application topique sur les matières kératiniques, en particulier sur la peau et/ou les lèvres et notamment la peau du visage et/ou du cou, comprenant un extrait de *Dendrobium*
20 *fimbriatum*.

On entend par « composition cosmétique non rincée » selon l'invention une composition de soin destinée à rester en contact avec les matières kératiniques après application, pour conférer son effet bénéfique (hydratant, anti-âge...), comme par exemple les laits, crèmes, pommades, baumes, sticks, gels, lotions, sérums, etc..., par opposition aux « compositions
25 cosmétiques rincées » destinées au nettoyage des matières kératiniques (ex : gels douche, shampoings), destinées à être rincées après application.

On entend par « matières kératiniques » selon l'invention la peau et/ou ses phanères, et les lèvres. En particulier, il s'agira de la peau du visage, du cou et/ou du corps, et des lèvres.

L'invention porte encore sur l'utilisation cosmétique d'un extrait de *Dendrobium*
30 *fimbriatum*, comme agent pour prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané,

notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.

L'invention porte aussi sur un procédé cosmétique de soin et/ou maquillage des matières kératiniques, en particulier de la peau et/ou des lèvres, comprenant l'application topique
5 sur lesdites matières kératiniques, d'une composition cosmétique selon l'invention.

L'invention porte également sur un extrait de *Dendrobium fimbriatum*, caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes de :

- a) broyage de la matière végétale ;
- b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
- 10 c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
- d) ajout de butylène glycol, pentylène glycol, sorbate de potassium/sodium benzoate glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
- e) filtration, et
- f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

15 L'invention porte aussi sur un extrait de *Dendrobium fimbriatum*, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside cis et trans.

L'invention concerne encore un procédé d'obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* comprenant au moins les étapes de :

- a) broyage de la matière végétale ;
- 20 b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
- c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
- d) ajout de butylène glycol, pentylène glycol, sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
- e) filtration, et
- 25 f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

DESCRIPTION DETAILLÉE DE L'INVENTION

Composition cosmétique non rincée comprenant un extrait de *Dendrobium fimbriatum*

Dans son premier aspect, l'invention porte sur une composition cosmétique non rincée pour une application topique sur les matières kératiniques, en particulier sur la peau et/ou les
30 lèvres et notamment la peau du visage et/ou du cou, comprenant un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

Par « *Dendrobium fimbriatum* » au sens de l'invention on entend une plante de la famille des orchidées (*Orchidaceae*) et originaire d'Asie du sud-est. Elle est également connue sous le nom *Callista fimbriata*, *Dendrobium normale*, *Dendrobium fimbriatum* var. *oculatum*, *Dendrobium paxtonii*, *Callista oculata*. On parlera dans le reste de la description

5 d'extrait de *Dendrobium fimbriatum* ou de *Dendrobium fimbriatum* var. *oculatum*.

Selon la présente invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est notamment utilisé dans des compositions cosmétiques non rincées comme actif cosmétique et en particulier comme actif cosmétique « anti-âge ».

L'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est un extrait végétal. Par « extrait

10 végétal », on entend de manière générale une substance isolée, obtenue par extraction à partir d'une matière première végétale, et qui ne préexiste pas dans la nature en tant que telle.

On entend par « matière végétale » ou « matière première végétale » tout ou partie de la plante *Dendrobium fimbriatum* à partir de laquelle est préparé l'extrait de *Dendrobium*

15 *fimbriatum* selon l'invention.

L'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention peut notamment être préparé à partir d'une matière végétale choisie parmi, les racines, les tiges, les fleurs, les pétales et leurs mélanges ou à partir de la plante entière. De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est préparé à partir de la plante entière.

20 Préalablement à l'étape d'extraction elle-même, la matière végétale peut être séchée, lyophilisée et/ou broyée. Alternativement, la matière végétale peut être utilisée humide puis broyée. Selon un mode particulier, la matière végétale est broyée avant extraction, par exemple au moyen d'un mortier, d'un mixeur, d'un broyeur traditionnel, ou de toute autre méthode classiquement utilisée dans le domaine et connue de l'homme du métier.

25 Selon l'invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est un extrait polaire, obtenu avantageusement au moyen d'un solvant polaire cosmétiquement acceptable. Par « cosmétiquement acceptable », on entend compatible avec les matières kératiniques, en particulier la peau et/ou les lèvres.

Les solvants polaires préférés sont ceux constitués d'un composé comprenant au moins une

30 liaison covalente polaire de type O-H. A titre de solvant polaire particulièrement préféré, on choisit un solvant ou un mélange de solvants choisi(s) parmi l'eau, les alcools en C1-

C4, tel que l'éthanol, les glycols, tels que l'éthylène glycol, le glycérol, le butylène glycol et le propylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, le propanediol et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation préféré, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est un extrait
5 hydroalcoolique, obtenu par extraction de la matière végétale dans un mélange d'eau et d'alcool, l'alcool représentant de 1% à 99% v/v (volume/volume) du mélange eau/alcool. A titre d'exemples non limitatif, on peut extraire le matériel végétal à l'aide d'un mélange comprenant 10% v/v d'eau et 90% v/v d'alcool ; 20% v/v d'eau et 80% v/v d'alcool ; 30% v/v d'eau et 70% v/v d'alcool ; 40% v/v d'eau et 60% v/v d'alcool ; 50% v/v d'eau et 50%
10 v/v d'alcool ; 60% v/v d'eau et 40% v/v d'alcool ; 70% v/v d'eau et 30% v/v d'alcool ; 80% v/v d'eau et 20% v/v d'alcool ; 90% v/v d'eau et 10% v/v d'alcool. Selon un mode de réalisation préféré le matériel végétal est extrait à l'aide d'un mélange comprenant 50% v/v d'eau et 50% v/v d'alcool.

De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est obtenu par extraction de la matière
15 végétale dans un mélange d'eau et d'éthanol, notamment un mélange comprenant entre 45% et 55% v/v d'eau et entre 45 et 55% v/v d'éthanol, de préférence 50% v/v d'eau et 55% v/v d'éthanol.

L'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention peut être préparé par différents procédés d'extraction connus de l'homme du métier, mettant en œuvre des étapes de
20 broyage du matériel végétal, dispersion de la matière broyée dans un solvant polaire, séparation des phases soluble et insoluble par filtration, concentration et éventuelle remise en solution.

Selon l'invention l'extraction peut être menée à chaud par reflux ou bien par macération à température ambiante. L'extraction peut également être faite à l'aide de techniques
25 physicochimiques bien connues telles que notamment les ultrasons, micro-ondes, extrusion, champ électrique pulsé, eau subcritique et/ou cryo-extraction.

De préférence, l'extraction de la matière végétale est menée à chaud par reflux. Par « menée à chaud » on entend que la température d'extraction est d'au moins 60°C, de préférence au moins 65°C, de préférence encore au moins 70°C, de préférence au moins 75°C, de
30 préférence encore au moins 80°C.

Dans le cas d'une extraction par reflux, la durée de l'extraction pourra aller notamment de 15 à 180 minutes, de préférence de 30 à 120 minutes, de préférence de 45 à 90 minutes, de 50 à 70 minutes comme par exemple 50, 55, 60, 65 ou 70 minutes.

Le procédé d'extraction comprend avantageusement une étape de filtration visant à séparer
5 la phase liquide du matériel végétal. L'homme du métier choisira des tamis de filtration adaptés, en particulier avec des diamètres de filtration de 0,1 μ m à 0,5 μ m, notamment de 0,2 à 0,3 μ m.

On peut reproduire le cycle d'extraction puis filtration, plusieurs fois afin d'épuiser le matériel végétal des substances ayant une affinité pour le solvant d'extraction. Notamment,
10 le cycle d'extraction/filtration peut être répété au moins deux fois et de préférence au moins trois fois, voire quatre fois ou plus comme par exemple cinq fois.

A la fin de chaque cycle d'extraction/filtration le solvant est collecté et remplacé par du solvant non encore utilisé en vue de répéter l'étape d'extraction. La répétition successive d'étapes d'extraction permet avantageusement d'extraire un maximum de composés
15 d'intérêts à partir de la matière végétale à extraire, notamment en évitant que le solvant ne se sature en molécules d'intérêt.

A la fin des étapes successives d'extraction, les différents solvants collectés sont alors rassemblés.

Une fois le matériel végétal épuisé en substances ayant une affinité pour le solvant
20 d'extraction, ce dernier peut être éliminé. Alternativement, il peut être conservé pour d'autres utilisations.

On peut avantageusement concentrer l'extrait en éliminant une partie du solvant d'extraction. On peut ainsi obtenir un concentré aqueux dépourvu d'une quantité significative de solvants organiques ou bien encore, en éliminant tout le solvant
25 d'extraction, obtenir un résidu sec.

De façon alternative, le produit de l'étape d'extraction peut être, lyophilisé ou atomisé pour se présenter sous la forme d'une poudre.

De manière préférée, les solvants collectés à l'issue de chaque cycle d'extraction/filtration sont assemblés, et l'extrait est concentré sous vide puis l'éthanol est alors évaporé, au
30 moins partiellement. Enfin, l'extrait concentré est ensuite dilué dans du propanediol puis

filtré avant conditionnement. L'homme du métier choisira des tamis de filtration adaptés, en particulier avec des diamètres de filtration de 0,1µm à 0,5µm, notamment de 0,2 µm.

Par « conditionnement », on entend l'emballage de l'extrait obtenu dans des conditions permettant sa conservation, son stockage et sa manutention.

- 5 La présente invention porte donc également sur un extrait de *Dendrobium fimbriatum* caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes de :
- a) broyage de la matière végétale ;
 - b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
- 10 c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
- d) ajout de butylène glycol, pentylène glycol, sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
 - e) filtration, et
 - f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.
- 15 Selon un mode particulier de l'invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est obtenu selon un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes suivantes :
- a) broyage de la matière végétale, de préférence de la plante entière, sèche ;
 - b) extraction à reflux au moyen d'un solvant hydroalcoolique ;
 - c) filtration permettant la récupération du marc et de l'extrait ;
- 20 d) optionnellement, 1 à 4 répétitions des étapes b) et c) à partir du marc collecté à la fin de l'étape d'extraction/filtration précédente et récupération à l'issue chaque étape d'extraction/filtration d'un nouvel extrait ;
- e) assemblage des extraits collectés à l'issue de chaque étape d'extraction/filtration ;
 - f) évaporation d'une partie du solvant d'extraction et concentration de l'extrait sous
- 25 vide ;
- g) ajout de butylène glycol, pentylène glycol, sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence de propanediol ;
 - h) filtration, et
 - i) conditionnement de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

De préférence on utilise comme solvant hydroalcoolique un mélange d'eau et d'éthanol, notamment un mélange comprenant entre 45% et 55% v/v d'eau et entre 45 et 55% v/v d'éthanol, de préférence 50% v/v d'eau et 50% v/v d'éthanol.

- De préférence, l'extraction de la matière végétale par reflux est menée à chaud, notamment
- 5 à une température d'au moins 60°C, de préférence au moins 65°C, de préférence encore au moins 70°C, de préférence au moins 75°C, de préférence encore au moins 80°C.

- De préférence la durée de l'extraction pour chaque cycle d'extraction/filtration est comprise entre 15 et 180 minutes, de préférence entre 30 et 120 minutes, de préférence entre 45 et 90 minutes, entre 50 et 70 minutes comme par exemple 50, 55, 60, 65 ou 70
- 10 minutes.

De préférence, les étapes de filtrations utilisent des tamis de filtration avec des diamètres de filtration de 0,1µm à 0,5µm, notamment de 0,2 à 0,3µm.

Selon un mode particulier et préféré de l'invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est obtenu selon un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes suivantes :

- 15 a) broyage du végétal sec, de préférence de la plante entière ;
- b) extraction à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- c) filtration permettant la récupération du marc 1 et de l'extrait X ;
- d) extraction du marc 1 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- e) filtration permettant la récupération du marc 2 et de l'extrait Y ;
- 20 f) extraction du marc 2 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- g) filtration permettant la récupération du marc 3 et de l'extrait Z ;
- h) rassemblement des extraits X, Y et Z ;
- i) évaporation de l'éthanol et concentration de l'extrait sous vide ;
- j) ajout de propanediol ;
- 25 k) filtration, et
- l) conditionnement de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

L'extrait de *Dendrobium fimbriatum* obtenu selon le procédé d'extraction de l'invention a comme nom INCI : WATER (and) PROPANEDIOL (and) DENDROBIUM FIMBRIATUM OCULATUM EXTRACT.

- 30 De préférence, l'extrait *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention, sous forme d'une solution, comprend environ 1% de matière sèche, environ 35% de propanediol et environ

64% d'eau. Les pourcentages donnés sont des pourcentages en poids par rapport au poids total de l'extrait. Par « environ », on entend que les proportions mesurées peuvent varier de +/- 10%, de préférence +/- 5% et de préférence encore +/- 2%.

- De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention, en particulier obtenu
- 5 selon le procédé décrit précédemment, comprend une teneur totale en minéraux allant de 300 à 1000ppm (notamment phosphore, magnésium, calcium, sodium et potassium), mesuré par la méthode EN ISO 17294-2 – ICP-MS.

De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention comprend des sucres en une teneur allant de 0.1% à 0.5%, mesuré par la méthode à l'anthrone (Loewus, 1952).

- 10 De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* comprend des polyphénols en une teneur allant de 0.1% à 0.5%, mesuré par la méthode Folin Ciocalteu (Ainsworth, 2007).

Selon un mode de réalisation préféré, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* obtenu par le procédé décrit ci-dessus est caractérisé en ce qu'il comprend au moins un métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside *cis* et *trans*.

- 15 L'invention porte donc également sur un extrait de *Dendrobium fimbriatum*, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside *cis* et *trans*.

Selon un mode de réalisation préféré, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* utilisé dans les compositions cosmétique de l'invention est obtenu selon un procédé d'extraction tel que

20 décrit ci-dessus.

De préférence, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* utilisé dans les compositions cosmétique de l'invention est obtenu selon un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes suivantes :

- a) broyage du végétal sec, de préférence de la plante entière ;
- 25 b) extraction à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- c) filtration permettant la récupération du marc 1 et de l'extrait X ;
- d) extraction du marc 1 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- e) filtration permettant la récupération du marc 2 et de l'extrait Y ;
- f) extraction du marc 2 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- 30 g) filtration permettant la récupération du marc 3 et de l'extrait Z ;
- h) rassemblement des extraits X, Y et Z ;

- i) évaporation de l'éthanol et concentration de l'extrait sous vide ;
- j) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence de propanediol ;
- k) filtration, et

5 l) conditionnement de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

Selon un autre mode de réalisation l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* utilisé dans les compositions cosmétique de l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend au moins un métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside *cis* et *trans*, en particulier la bétaine.

L'invention porte également sur un procédé d'obtention d'un extrait de *Dendrobium*

10 *fimbriatum* comprenant au moins les étapes de :

- a) broyage de la matière végétale ;
- b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
- c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
- d) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium
- 15 benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
- e) filtration, et
- f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

Selon un mode particulier de l'invention, le procédé d'obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* comprend au moins les étapes suivantes :

- 20 a) broyage de la matière végétale, de préférence de la plante entière, sèche ;
- b) extraction à reflux au moyen d'un solvant hydroalcoolique ;
- c) filtration permettant la récupération du marc et de l'extrait ;
- d) optionnellement, 1 à 4 répétitions des étapes b) et c) à partir du marc collecté à la fin de l'étape d'extraction/filtration précédente et récupération à l'issue chaque l'étape
- 25 d'extraction/filtration d'un nouvel extrait ;
- e) assemblage des extraits collectés à l'issue de chaque étape d'extraction/filtration ;
- f) évaporation du solvant d'extraction et concentration de l'extrait sous vide ;
- g) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
- 30 h) filtration, et
- i) conditionnement.

De préférence on utilise comme solvant un hydroalcoolique un mélange d'eau et d'éthanol, notamment un mélange comprenant entre 45% et 55% v/v d'eau et entre 45 et 55% v/v d'éthanol, de préférence 50% v/v d'eau et 55% v/v d'éthanol.

- De préférence, l'extraction de la matière végétale par reflux est menée à chaud, notamment
- 5 à une température d'au moins 60°C, de préférence au moins 65°C, de préférence encore au moins 70°C, de préférence au moins 75°C, de préférence encore au moins 80°C.

De préférence la durée de l'extraction pour chaque cycle d'extraction/filtration est comprise entre 30 et 120 minutes, de préférence entre 45 et 90 minutes, entre 50 et 70 minutes comme par exemple 50, 55, 60, 65 ou 70 minutes.

- 10 De préférence, les étapes de filtrations utilisent des tamis de filtration avec des diamètres de filtration de 0,1µm à 0,5µm, notamment de 0,2 µm.

Selon un mode particulier et préféré de l'invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est obtenu selon un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes suivantes :

- a) broyage du végétal sec, de préférence de la plante entière ;
- 15 b) extraction à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- c) filtration permettant la récupération du marc 1 et de l'extrait X ;
- d) extraction du marc 1 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- e) filtration permettant la récupération du marc 2 et de l'extrait Y ;
- f) extraction du marc 2 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;
- 20 g) filtration permettant la récupération du marc 3 et de l'extrait Z ;
- h) rassemblement des extraits X, Y et Z ;
- i) évaporation de l'éthanol et concentration de l'extrait sous vide ;
- j) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence de propanediol ;
- 25 k) filtration, et
- l) conditionnement de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

Galénique

- Selon l'invention, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est utilisé dans les compositions
- 30 cosmétiques en une quantité efficace pour obtenir l'effet recherché. Dans un mode de réalisation particulier, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est présent dans ladite

composition cosmétique en une teneur allant de 0,01% à 10%, de préférence allant de 0,1% à 10%, en particulier de 0,2% à 5%, de préférence de 0,3% à 3% en poids de matière première par rapport au poids total de la composition, correspondant à une teneur allant de 0,0001% à 0,1%, de préférence de 0,002% à 0,05%, de préférence encore de 0,003% à 0,03% en poids de matière sèche par rapport au poids total de la composition.

Dans un mode de réalisation particulier et préféré, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* utilisé dans les compositions cosmétiques de l'invention est le produit commercialisé sous la dénomination FINGE GOLD ORCHID.

Dans un mode de réalisation préféré, ladite composition cosmétique comprenant l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est une composition de soin et/ou de maquillage des matières kératiniques, en particulier de la peau et/ou des lèvres et notamment de la peau du visage et/ou du cou.

Selon certains modes de réalisation, outre l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*, la composition cosmétique de l'invention peut également comprendre au moins un autre extrait végétal, comme par exemple un extrait d'orchidée de l'espèce *Gastrodia elata*, et de préférence l'extrait de nom INCI : GASTRODIA ELATA ROOT EXTRACT. L'extrait de *Gastrodia elata* est présent dans les compositions de l'invention dans une quantité efficace pour obtenir l'effet recherché, en particulier pour permettre de prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules. En particulier, ledit extrait de *Gastrodia elata* est présent en une teneur allant de 0,01% à 10%, en particulier de 0,02% à 5%, de préférence de 0,05% à 4% en poids de matière première (poids de produit) par rapport au poids total de la composition, correspondant à une teneur allant de 0,0001% à 0,1%, de préférence de 0,0002% à 0,05%, de préférence encore de 0,0005% à 0,04% en poids de matière sèche par rapport au poids total de la composition.

Selon certains modes de réalisation, la composition cosmétique de l'invention comprend au moins l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention et en outre un ou plusieurs excipients cosmétiques acceptables parmi ceux connus de l'homme du métier en vue d'obtenir une composition pour l'application topique par exemple sous forme de lait, de crème, de pommade, d'émulsion eau-dans-huile ou huile-dans-eau, de baume, de stick, de gel, de lotion, de sérum, ou encore de poudre.

Selon la nature de la composition, on sélectionnera un ou plusieurs excipients cosmétiquement acceptables parmi des polymères, des agents tensioactifs, des agents de rhéologie, des parfums, des électrolytes, des ajusteurs de pH, des agents anti-oxydants, des conservateurs, des colorants, des nacres, des pigments et leurs mélanges.

- 5 La composition cosmétique de l'invention peut se présenter sous toute forme galénique adaptée à une application topique sur les matières kératiniques en particulier de la peau et/ou des lèvres et notamment de la peau du visage et/ou du cou, comprenant outre l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention, au moins un adjuvant cosmétique choisi dans le groupe constitué par des agents anti-oxydants, des agents émollients, des agents
10 hydratants, des agents anti-âge, des parfums, et leurs mélanges.

Utilisations et procédés cosmétiques

- Les procédés cosmétiques et utilisations cosmétiques décrits ci-dessous sont destinés à une application sur des matières kératiniques, notamment des matières kératiniques saines, de préférence des peaux et/ou des lèvres saines et en particulier des lèvres saines (sujets
15 « sains »).

- Par « matières kératiniques saines » selon l'invention on entend des matières kératiniques ne présentant pas de troubles ou de désordres qui relèveraient d'un état pathologique (sujets « non sains », atteints d'une pathologie). On parlera indifféremment de peaux et/ou lèvres
20 saines ou de peaux et/ou lèvres dans le reste de la description.

- Comme illustré ci-après dans les exemples, l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est capable d'augmenter de manière significative la synthèse de plusieurs protéines de la matrice extracellulaire, notamment l'élastine, la fibrilline 1, le collagène 1 et le nidogène. L'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention présente donc un
25 intérêt cosmétique en particulier comme actif cosmétique « anti-âge ».

Par actif cosmétique « anti-âge » on entend que l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est efficace pour prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules, augmenter la longévité cellulaire

- 30 Ainsi l'invention porte également sur l'utilisation cosmétique, non thérapeutique d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*, tel que décrit ci-dessus comme agent pour prévenir

et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.

Selon un mode de réalisation particulier et préféré, l'invention porte sur l'utilisation d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* caractérisé en ce qu'il est commercialisé sous la
5 dénomination FINGE GOLD ORCHID.

Selon un mode de réalisation préféré, l'invention porte sur l'utilisation d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé d'extraction comprenant au moins les étapes de :

- a) broyage de la matière végétale ;
 - 10 b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
 - c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
 - d) ajout de propanediol ;
 - e) filtration, et
 - f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.
- 15 Selon un mode de réalisation préféré, l'invention porte sur l'utilisation d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* caractérisé en ce qu'il comprend au moins un métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside *cis* et *trans*, en particulier la bétaine.

La présente invention porte également sur un procédé cosmétique de soin et/ou maquillage des matières kératiniques, en particulier de la peau et/ou des lèvres, comprenant
20 l'application topique sur lesdites matières kératiniques, d'une composition cosmétique telle que décrite ci-dessus.

Selon un autre mode de réalisation particulier, la composition cosmétique mise en œuvre dans les utilisations ou procédés cosmétiques de l'invention comprend en outre un extrait d'orchidée de l'espèce *Gastrodia elata*, et préférence l'extrait de nom INCI : GASTRODIA

25 ELATA ROOT EXTRACT.

Selon la présente invention, le procédé cosmétique est destiné à prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.

De préférence, la composition cosmétique est appliquée sur une peau âgée ou présentant
30 des signes de vieillissement.

L'invention va désormais être illustrée dans les exemples non limitatifs suivants. Les pourcentages (%) sont exprimés en poids de matière première (MP) par rapport au poids total de la composition, sauf indication contraire.

5 EXEMPLES

EXEMPLE 1 : Préparation d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*

Etape 1 : broyage du plant de *Dendrobium fimbriatum* entier et sec ;

Etape 2 : extraction à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;

10 Etape 3 : filtration permettant la récupération du marc 1 et de l'extrait X ;

Etape 4 : extraction du marc 1 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;

Etape 5 : filtration permettant la récupération du marc 2 et de l'extrait Y ;

Etape 6 : extraction du marc 2 à reflux à l'éthanol 50% à 80°C pendant 1h ;

Etape 7 : filtration permettant la récupération du marc 3 et de l'extrait Z ;

15 Etape 8 : rassemblement des extraits X, Y et Z ;

Etape 9 : évaporation de l'éthanol et concentration de l'extrait sous vide ;

Etape 10 : ajout de propanediol ;

Etape 11 : filtration, et

Etape 12 : conditionnement de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum*.

20 L'extrait ainsi obtenu porte le nom INCI : WATER/AQUA, PROPANEDIOL DENDROBIUM FIMBRIATUM OCULATUM EXTRACT. Sa teneur de matière sèche est de 1%, il comprend 35% de propanediol et 64% d'eau.

EXEMPLE 2 : Caractérisation phytochimique de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* préparé selon l'exemple 1.

25

Dans cette étude, la Demanderesse a étudié le profil phytochimique d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* obtenu par le procédé de l'exemple 1.

2.1. Fractionnement des extraits par chromatographie de partage centrifuge (CPC)

30 Deux expériences de CPC ont été réalisées successivement.

2.1.1. CPC 1

- L'extrait sec préalablement solubilisé dans un mélange phase stationnaire / phase mobile, est injecté en CPC dans une colonne préalablement équilibrée (FCPE300® (Rousselet Robatel Kromaton)). Le débit a été de 20mL/min et la vitesse de rotation de la colonne de 1200 rpm. Le système de solvant à trois phases correspond à n-heptane/methyl-ter-butyl-ether/acétonitrile/eau (1/1/1/1, v/v), la séparation est effectuée en mode ascendant. Des fractions de 20 ml ont été collectées pendant toute l'expérience (élution et extrusion) et combinées selon leurs profils de chromatographie sur couche mince. 4 fractions ont ainsi été obtenues.
- Tous les composés retenus à l'intérieur de la colonne ont été récupérés par extrusion et séchés sous vide pour obtenir l'injection de CPC 2.

2.1.2. CPC2

- L'extrait sec préalablement solubilisé dans un mélange phase stationnaire / phase mobile, est injecté en CPC dans une colonne préalablement équilibrée (FCPE300® (Rousselet Robatel Kromaton)). Le débit a été de 20mL/min et la vitesse de rotation de la colonne de 1200 rpm. Le système de solvant à trois phases correspond à n-heptane/methyl-ter-butyl-ether/acétonitrile/eau (1/1/1/1, v/v), la séparation est effectuée en mode ascendant. Des fractions de 20 ml ont été collectées pendant toute l'expérience (élution et extrusion) et combinées selon leurs profils de chromatographie sur couche mince. 9 fractions ont ainsi été obtenues.

2.2. Analyses RMN et identification des principaux métabolites

- Une aliquote de chaque fraction de F1 à F13 a été dissoute dans du DMSO-d6 et analysée par RMN 13C à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance AVIII-600 (Karlsruhe, Allemagne) équipé d'une cryosonde. Après le traitement des spectres, les intensités absolues de tous les signaux RMN 13C ont été automatiquement collectées et regroupées sur les spectres des séries de fractions en utilisant un script informatique développé par Natexplore. Le tableau résultant a été soumis à une analyse de regroupement hiérarchique (PermutMatrix, 1.9.3, LIRMM, Montpellier, France). Les grappes de déplacement chimique RMN 13C résultantes ont été visualisées sous forme de dendrogrammes sur une

carte bidimensionnelle. Pour l'identification des métabolites, chaque grappe de décalage chimique RMN ¹³C obtenue par HCA a été manuellement soumise au moteur de recherche de structure du logiciel de gestion de base de données ACD/NMR Workbook Suite 2012 (ACD/Labs, Ontario, Canada) comprenant les structures et les décalages chimiques prévus des produits naturels de faible poids moléculaire. Des expériences de RMN 2D (HSQC, HMBC et COSY) ont été réalisées sur des fractions contenant des composés supposés identifiés afin de confirmer les structures moléculaires proposées par la base de données à la fin du processus de déréplication.

Les principaux métabolites identifiés par RMN dans chaque fraction sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Masse et composition globale des fractions de la CPC. Maj=majoritaire ; Med=Medium ; Min=minoritaire

[Tableau 1]

Fraction CPC	Masse (mg)	% d'extrait brut	Composition
Eluât 1	26	1.3%	Mélange d'acides aliphatiques (acides gras ou alcools poly-insaturés et saturés)
Eluât 2	21	1.0%	
Eluât 3	14	0.7%	
Eluât 4	16	0.8%	
Eluât 5	112	5.6%	Acide mélilotique (Med) ; Coumarine (Min--) ; acide ortho-coumarique (Min) ; Dendrophénol (Min)
Eluât 6	135	6.7%	Acide mélilotique (Maj) ; Coumarine (Min) ; acide ortho-coumarique (Min) ; Dendrophénol (Min)
Eluât 7	51	2.5%	Acide mélilotique (Med) ; Coumarine (Min--) ; acide ortho-coumarique (Min) ; Dendrophénol (Min) ; Syringaldéhyde (Min) ; Acide vanillique (Min) ; acide p-hydroxybenzoïque (Min)

Eluât 8	59	2.9%	Acide 3-hydroxy-3-(2-hydroxyphényl)-propanoïque (Maj)
Eluât 9	28	1.4%	Acide lévulinique (Maj) ; acide subérique (Med) ; acide 2,4-diméthyl-5-oxotétrahydrofurane-3-carboxylique (Min) ; acide 1,3,4-pentanetricarboxylique (Min)
Eluât 10	51	2.5%	Dihydromelilotoside (Min-)
Eluât 11	142	7.1%	Dihydromelilotoside (Maj) ; trans-melilotoside (Min) ; cis-melilotoside (Min)
Eluât 12	1321	65.7%	Hexitol (Maj) ; Glycérol (Maj) ; Choline (Min) ; Bétaine (Min)
Eluât 13	35	1.7%	Dihydromélilotoside (Min-) ; trans-mélilotoside (Min) ; cis-mélilotoside (Min) ; Adénosine (Min) ; Uridine (Min)

2.3. *Conclusion*

L'extrait brut a été fractionné par la technique de CPC en un total de 13 fractions au cours de deux expériences successives. Les fractions moins polaires F1-F4 (représentant environ 3,8 % de la masse de l'extrait brut) étaient composées de longues chaînes alkyles (acides gras ou alcools). Les fractions modérément polaires F5-F10 (représentant environ 21,6 % de la masse de l'extrait brut) contenaient une diversité de polyphénols (acide mélilotique, dendrophénol, dihydromélilotoside), ainsi que de la coumarine, du syringaldéhyde et plusieurs acides phénoliques tels que l'acide ortho-coumarique, l'acide vanillique, l'acide p-hydroxybenzoïque et l'acide 3-hydroxy-3-(2-hydroxyphényl)-propanoïque. D'autres acides non phénoliques ont également été identifiés dans ces fractions (acide lévulinique, acide subérique, acide 2,4-diméthyl-5-oxotétrahydrofurane-3-carboxylique et acide 1,3,4-pentanetricarboxylique). Les fractions les plus polaires F11-F13 récupérées lors de l'étape d'extrusion (représentant environ 74,5 % de la masse de l'extrait brut), étaient principalement composées de sucres simples, ainsi que de dihydromélilotoside, de trans-mélilotoside, de cis-mélilotoside, de glycérol, de choline, de bétaine, d'uridine et d'adénosine.

L'extrait ainsi obtenu et décrit a été testé pour ses effets biologiques dans les exemples suivants.

EXEMPLE 3 : Effet du *Dendrobium fimbriatum* sur l'expression de marqueurs de la matrice extracellulaire dermique dans les Fibroblastes Humains Normaux

Dans cette étude, la Demanderesse a souhaité évaluer l'effet de l'extrait d'orchidée *Dendrobium fimbriatum* préparé selon l'exemple 1, sur l'expression de différentes protéines impliquées dans la synthèse de la matrice extra cellulaire (MEC) dans des fibroblastes humains normaux en culture (FHN).

3.1. Culture et traitement des Fibroblastes Humains Normaux

Les Fibroblastes Humains Normaux (FHN) sont issus d'une plastie abdominale d'un donneur féminin de 37 ans. Les cellules ont étéensemencées dans du milieu DMEM 1 g/L glucose complémenté de 10 % de sérum de veau fœtal au passage 5 (P5) avec une densité d'ensemencement de 15 000 cellules par puits, dans des plaques 96 puits.

L'extrait sec de *Dendrobium fimbriatum* a été utilisé à la concentration 50 µg/ml dans de l'éthanol

A confluence (J1), les FHN ont été traités avec l'extrait décrit ci-dessus dans du milieu DMEM 1g/L glucose +10% SVF (sérum de veau fœtal). Le traitement a été réalisé en n = 4 pour chaque condition, pendant 5 jours avec un retraitement de la monocouche à J3. Pour les conditions témoin (non traité), le milieu a été remplacé par du milieu frais de culture.

3.2. Immunomarquage

3.2.1. Protocole de marquage

A l'issu des traitements, les cellules ont été rincées trois fois au PBS (PBS Tablets, Invitrogen GIBCO), puis fixées à la formaline (Formalin Solution 10% Neutral Buffered, Sigma) pendant 10 minutes.

Après 3 rinçages au PBS, les membranes des cellules ont été perméabilisées ou non (selon le marqueur étudié) avec une solution de PBS Triton 0,1% (Triton X-100, Sigma). Puis elles ont été de nouveau rincées 3 fois au PBS.

Les cellules ont été recouvertes d'une solution de PBS/BSA 1% (Albumin, from bovine serum, Sigma), pendant 30 minutes et à température ambiante.

La solution de PBS/BSA 1% a ensuite été remplacée par une solution d'anticorps primaire correspondant à chaque protéine marquée (voir tableau 1) diluée dans du PBS/BSA 1%. Les plaques ont été incubées une nuit à 4°C.

Les cellules ont ensuite été rincées trois fois au PBS et recouvertes d'une solution d'anticorps secondaire selon l'anticorps primaire à cibler (voir tableau 1) et de DAPI au 1/1000ème (4',6'-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride, Invitrogen Molecular Probes) dilués dans le PBS/BSA 1%. Les plaques ont été conservées une heure à l'obscurité et à température ambiante.

La solution d'anticorps secondaire a ensuite été aspirée et les cellules rincées deux fois au PBS et une fois à l'eau distillée. Du PBS a été déposé dans chaque puits à raison de 1mL. Les plaques ont été conservées à 4°C et à l'obscurité jusqu'à l'acquisition des images.

Tableau 2 : Liste des anticorps primaires et conditions d'utilisation

[Tableau 2]

Nom de la cible	Fournisseur	Reference	Perméabilisation	Dilution	Espèce
Elastine	Abcam	Ab 23747	-	1/200	Rb
Fibrilline 1	Thermo	MA12770	-	1/200	Ms
Collagène 1	Novotec	20111	-	1/200	Rb
Nidogène I	R&D system	AF2570	+	1/200	Goat

20

3.2.2. Acquisition d'image par HCS

Les plaques ont été scannées à l'ArrayScan XT_i de Thermo Cellomics.

Conditions d'acquisition :

Détection : DAPI : filtre XF53_386_23

25 Alexa Fluor 568 : filtre XF53_572_15

Résolution : 1104 x 1104

Objectif : 10x dry

Nombre d'images : 25 par puits

3.2.3. Analyse d'images

- 5 Les images ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel d'analyse du système arrayscan par la bio-application Spot detector.

Ce programme (pipeline) permet de détecter le marquage rouge de la protéine ciblée, correspondant à l'expression de celle-ci. La surface de la zone de mesure est délimitée comme étant la totalité de la surface de l'image.

- 10 Le nombre de cellules a été déterminé par le comptage des noyaux par détection du marquage bleu du DAPI.

Selon les marqueurs et leur expression cellulaire, les résultats peuvent être exprimés par :

- Intensité du marquage détecté (Seuillage) / Nb de cellules : cette méthode a été utilisée pour quantifier les structures sous forme de fibres par exemple.

- 15 - Intensité du marquage dans le champ total / Nb de cellules : cette méthode a permis d'avoir une quantification générale de la synthèse du marqueur étudié sans tenir compte de la structure.

3.3. Analyses statistiques

- 20 L'analyse statistique des résultats consiste en un calcul de la moyenne, de l'écart type et de l'intervalle de confiance ($\alpha = 0,05$).

La significativité des différences de ces rapports observées entre les témoins et les traités a été mesurée par le test de Student. Le test de Student est dit significatif si sa valeur est inférieure à 0,05.

25

3.4. Résultats

[Tableau 3]

	<i>D. fimbriatum</i> 50µg/mL
Elastine	+96%
Fibrilline 1	+35%

Collagène 1	+41%
Nidogène	+52%

- Les résultats montrent donc que le traitement des FHN par l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention a induit une très forte stimulation sur l'expression de l'élastine (+96%). Il induit également une forte stimulation sur l'expression d'autres marqueurs de la MEC tels que la fibrilline 1, le collagène 1 et le nidogène (+35% à +52 %).
- Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention est capable d'augmenter de manière importante la synthèse de plusieurs composantes de la matrice extracellulaire de l'environnement cutané. Cet extrait présente donc un intérêt cosmétique pour une utilisation en lien avec les fonctions physiologiques de la peau notamment prévenir et/ou prévenir la perte de fermeté, la perte d'élasticité de la peau, la diminution de l'épaisseur de la peau, et/ou l'apparition de rides et/ou ridules.

EXEMPLE 4 : Effet des extraits de *Dendrobium fimbriatum* ou de *Gastrodia elata* sur la longévité des FHN

- Dans cette étude, la Demanderesse a souhaité évaluer l'effet de l'extrait d'orchidée *Dendrobium fimbriatum* préparé selon l'exemple 1, sur la longévité de fibroblastes humains normaux.

4.1 Protocole d'étude

- 4.1.1. Modèle de fibroblastes sénescents étudié par cytométrie en flux**

Les fibroblastes provenant du derme d'un donneur (donneur féminin de 58 ans) ont été mis en culture et vieillies par une série de passages qui leur confère un phénotype âgé (modèle de fibroblastes sénescents).

- Certains marqueurs morphologiques de la sénescence ont été mesurés par cytométrie en flux. Cette technique permet avantageusement d'étudier à très haut débit et de manière quantitative les caractéristiques optiques (fluorescence, diffusion de la lumière liée à la morphologie cellulaire...) d'un grand nombre de cellules (plusieurs dizaines de milliers). Il est donc possible d'en tirer des données statistiquement significatives.

Les cellules à étudier ont été mises en suspension dans un milieu. Dans le cytomètre, les cellules sont envoyées une à une dans une chambre d'analyse où elles sont soumises à plusieurs faisceaux laser qui permettent de mesurer ou d'évaluer des paramètres cellulaires. La lumière diffractée mesurée en face du rayon laser permet d'évaluer la taille des cellules

5 (paramètre Forward SCatter, FSC). La lumière diffractée, mesurée sur le côté (paramètre Side SCatter SSC) donne une mesure de la granularité de la cellule. Cette granularité correspond à la complexité de la cellule, par exemple la densité des organites, des agrégats protéiques, des irrégularités internes ou de surface. Avec la sénescence, la taille et la granularité des cellules augmentent, notamment suite aux dommages oxydatifs sur les

10 organites, à l'accumulation de lipofuscine, ou encore aux dommages aux macromolécules.

4.1.2. Culture et traitement des Fibroblastes Humains Normaux

L'effet de l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention a été évalué comparativement à celui d'un extrait de racine d'orchidée de l'espèce *Gastrodia elata*.

15 Extrait de *Dendrobium fimbriatum* :

- Solution mère : à 1% (10 mg/mL d'extrait sec) dans un mélange EtOH/H₂O (50 :50)
- Solution finale : 0,0006% soit 6 µg/mL (diluée dans le milieu de culture à 1/1666,6)

Extrait de *Gastrodia elata* :

- 20
- Solution mère : à 100% en BG (butylène glycol)/H₂O (50:50) contenant 1% d'extrait de racine
 - Solution finale : 0,06% (diluée dans le milieu de culture à 1/1666,7)

Conditions de traitement :

- 25
- Non Traité : 10% (SVF)
 - Ctl Exp BG/H₂O (50:50) 1/400
 - *Gastrodia elata* 0,06% (correspondant à 6 µg/mL d'extrait sec)
 - *Dendrobium fimbriatum* 6 µg/mL d'extrait sec

Les fibroblastes sénescents obtenus au paragraphe 4.1.1. ont étéensemencés dans du milieu DMEM 1 g/L glucose complémenté de 10 % SVF et traités dans les conditions exposées ci-dessus à J1, J4, J6, J8, J11 et J13.

A J14 les cellules ont été lavées et récupérées par traitement à l'Accutase® puis les
5 marqueurs morphologiques de la sénescence ont été mesurés par cytométrie en flux.

4.2. Résultats

Pour chacun des paramètres, FSC et SCC, 4 conditions sont comparées 14 jours après la mise en contact des cellules avec les ingrédients :

- 10 – (1) : cellules non traitées à un passage précoce (Passage 7)
- (2) : cellules non traitées à un passage tardif (Passage 28) = cellules vieilles
- (3) : cellules à un passage tardif (P28) traitées par *Gastrodia elata* (eq. 6µg/mL extrait sec)
- (4) : cellules à un passage tardif (P28) traitées par *Dendrobium fimbriatum*
15 (6µg/mL extrait sec)

4.2.1. Mesure de FSC

[Tableau 4]

Condition	Passages	Ingrédient	FSC	Comparaison	p
(1)	7	NT	337056 +/- 9714	-	
(2)	28	NT	423576 +/- 10297	+27,5% vs. (1)	< 0,001
(3)	28	GE	355221 +/- 3842	-16,2% vs. (2)	< 0,001
(4)	28	DF	361729 +/- 3887	-14,6% vs. (2)	= 0,001

20

La taille des cellules est significativement plus élevée dans les fibroblastes vieillis. Le traitement par *Dendrobium fimbriatum* diminue ce signe morphologique de la sénescence cellulaire.

4.2.2. Mesure de SSC

[Tableau 5]

Condition	Passages	Ingrédient	SSC	Comparaison	p
(1)	7	NT	557682 +/- 13918	-	
(2)	28	NT	704152 +/- 31509	+26,3% vs. (1)	= 0,002
(3)	28	GE	684407 +/- 8569	-2,8% vs. (2)	ns
(4)	28	DF	651868 +/- 10784	-7,3% vs. (2)	= 0,053

- 5 La granularité des cellules est significativement plus élevée dans les fibroblastes vieilliss. Le traitement par *Dendrobium fimbriatum* diminue ce signe morphologique de la sénescence cellulaire alors que l'extrait de *Gastrodia elata* ne montre pas d'effet. Les résultats suggèrent donc que le traitement par l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'invention présente un bénéfice pour lutter contre la sénescence des fibroblastes. Cet
- 10 effet est notamment meilleur que pour l'extrait de *Gastrodia elata*. Au final, cet extrait peut être utilisé comme actif anti-âge.

EXEMPLE 5 : Formulations cosmétiques

15

5.1. Composition sous la forme d'une crème

[Tableau 6]

Ingrédients	% en poids
AQUA (EAU)	QSP100
TRIGLYCÉRIDE CAPRYLIQUE/CAPRIQUE	20,000
GLYCERINE	5,000
PENTYLÈNE GLYCOL	3,000
STÉARATE DE GLYCÉRYLE	1,500

ESTERS de JOJOBA	1,000
POLYGLYCÉRINE-3	2,000
STEARETH-21	1,000
MÉTHACRYLATE DE POLYMÉTHYLE	1,000
CARBOMER	0,200
ACÉTATE DE TOCOPHÉRYLE	0,200
EXTRAIT DE PHALAENOPSIS AMABILIS	0,002
EXTRAIT DE DENDROBIUM FIMBRIATUM	0.500

Outre sa texture agréable à l'application, cette composition présente une efficacité anti-âge remarquable, notamment pour prévenir la perte de fermeté et d'élasticité de la peau du visage et du cou.

5

5.2. Composition sous la forme d'une lotion

[Tableau 7]

<i>Ingrédients</i>	<i>% en poids</i>
AQUA (EAU)	QSP100
GLYCERIN	3,0000
PENTYLÈNE GLYCOL	2,0000
PEG-8	2,0000
PEG-7 GLYCERYL COCOATE	1,0000
PHENOXYETHANOL	0,8903
PEG-60 HUILE DE RICIN HYDROGÉNÉE	0,5000
CITRATE DE SODIUM	0,0850
HYALURONATE DE SODIUM	0,0400
ACIDE CITRIC	0,0138
PEG-40 HUILE DE RICIN HYDROGÉNÉE	0,0090
EXTRAIT DE PHALAENOPSIS AMABILIS	0,0003
EXTRAIT DE DENDROBIUM FIMBRIATUM	0,4000

Appliquée sur la peau, en particulier sur le visage, cette composition apporte une action anti-âge raffermissante et lissante.

REFERENCES

- 5 Loewus, Improvement in Anthrone Method for Determination of Carbohydrates; Analytical Chemistry, 24(1), 219-219 - Janvier 1952.
Ainsworth, E., Gillespie, K. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nat Protoc 2, 875–877 (2007).

REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique non rincée pour une application topique sur les matières kératiniques, en particulier sur la peau et/ou les lèvres et notamment la peau du visage et/ou
5 du cou, comprenant un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.
2. Composition cosmétique selon la revendication 1 dans laquelle l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est présent en une teneur allant de 0.01% à 10% en poids de matière première par rapport au poids total de la composition.
3. Composition cosmétique selon la revendication 1 ou la revendication 2 comprenant en
10 outre un extrait de racine d'orchidée de l'espèce *Gastrodia elata*.
4. Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 comprenant en outre au moins un adjuvant cosmétique choisi dans le groupe constitué par des agents anti-oxydants, des agents émollients, des agents hydratants, des agents anti-âge, des parfums, et leurs mélanges.
- 15 5. Utilisation cosmétique d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*, comme agent pour prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.
6. Procédé cosmétique de soin et/ou maquillage des matières kératiniques, en particulier de
20 la peau et/ou des lèvres, comprenant l'application topique sur lesdites matières kératiniques, d'une composition cosmétique telle que définie dans l'une quelconque des revendications 1 à 4.
7. Procédé cosmétique selon la revendication 6 destiné à prévenir et/ou diminuer les signes du vieillissement cutané, notamment la perte de fermeté, la perte d'élasticité, la diminution
25 de l'épaisseur de la peau, l'apparition de rides et/ou ridules.
8. Procédé cosmétique selon l'une quelconque des revendications 6 ou 7, dans lequel ladite composition cosmétique est appliquée sur une peau âgée ou présentant des signes de vieillissement.
9. Extrait de *Dendrobium fimbriatum*, caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé
30 d'extraction comprenant au moins les étapes de :
 - a) broyage de la matière végétale ;

- b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
 - c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
 - d) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence propanediol ;
- 5 e) filtration, et
- f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.
10. Extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon la revendication 9 caractérisé en ce qu'il est obtenu à partir de la plante entière.
11. Extrait de *Dendrobium fimbriatum*, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un
- 10 métabolite choisi parmi la bétaine et le melilotoside *cis* et *trans*.
12. Procédé d'obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* comprenant au moins les étapes de :
- a) broyage de la matière végétale ;
 - b) au moins une étape d'extraction suivie d'une étape filtration ;
- 15 c) concentration de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape b) ;
- d) ajout de butylène glycol, le pentylène glycol, le sorbate de potassium/sodium benzoate, glycérol ou propanediol, de préférence ce propanediol ;
 - e) filtration, et
 - f) obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum*.
- 20 13. Composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, utilisation cosmétique selon la revendication 5, procédé cosmétique selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, procédé d'obtention d'un extrait de *Dendrobium fimbriatum* selon la revendication 12, caractérisés en ce que l'extrait de *Dendrobium fimbriatum* est un
- 25 extrait de *Dendrobium fimbriatum* var. *oculatum*.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2021/052301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**A61K 8/9794**(2017.01)i; **A61Q 19/00**(2006.01)i; **A61Q 19/08**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, EMBL, FSTA, INSPEC, IBM-TDB, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2002205933 A (ICHIMARU PHARCOS INC) 23 July 2002 (2002-07-23) paragraph [0010] - paragraph [0014] examples paragraph [0102] paragraph [0112] paragraph [0118] paragraph [0125] paragraph [0013] paragraph [0033] - paragraph [0034]	1-8,13 1-13
X	Cakova Veronika ET AL. "Dendrobium: Sources of Active Ingredients to Treat Age-Related Pathologies" <i>Aging and disease</i> , United States, 01 December 2017 (2017-12-01), pages 827-849, Retrieved from the Internet: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5758354/pdf/ad-8-6-827.pdf [retrieved on 2021-10-06] DOI: 10.14336/AD.2017.0214 XP055848598	1,5
Y	the whole document	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 April 2022

Date of mailing of the international search report

25 April 2022

Name and mailing address of the ISA/EP

European Patent Office
p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk
Netherlands

Telephone No. (+31-70)340-2040

Facsimile No. (+31-70)340-3016

Authorized officer

Irwin, Lucy

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2021/052301**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 105998723 A (FRIENDSHIP PLASTIC SURGERY HOSPITAL CO LTD OF NANJING MEDICAL UNIV) 12 October 2016 (2016-10-12) abstract	1,5-8
X	CN 105617020 B (UNIV NANJING CHINESE MEDICINE ET AL.) 27 September 2019 (2019-09-27) abstract	1,2,4-8
A	WO 2019045259 A2 (LG HOUSEHOLD & HEALTHCARE LTD) 07 March 2019 (2019-03-07) paragraph [0001] - paragraph [0003] paragraph [0012] - paragraph [0020] paragraph [0023] - paragraph [0027] paragraph [0090] - paragraph [0102] claims	1-13
A	WO 2019234635 A1 (ACCESS BUSINESS GROUP INT LLC) 12 December 2019 (2019-12-12) the whole document	1-13
A	CN 110354008 A (SHENZHEN SHENGKAIYUAN TECH CO LTD) 22 October 2019 (2019-10-22) abstract	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2021/052301

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2002205933	A	23 July 2002	NONE			
CN	105998723	A	12 October 2016	NONE			
CN	105617020	B	27 September 2019	NONE			
WO	2019045259	A2	07 March 2019	CN	111093621	A	01 May 2020
				JP	2020532560	A	12 November 2020
				KR	20190026175	A	13 March 2019
				US	2021059927	A1	04 March 2021
				WO	2019045259	A2	07 March 2019
WO	2019234635	A1	12 December 2019	CN	110559394	A	13 December 2019
				EP	3804694	A1	14 April 2021
				JP	2021532064	A	25 November 2021
				KR	20210018893	A	18 February 2021
				TW	202000186	A	01 January 2020
				US	2021212926	A1	15 July 2021
				WO	2019234635	A1	12 December 2019
CN	110354008	A	22 October 2019	NONE			

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2021/052301

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K8/9794 A61Q19/00 A61Q19/08 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K A61Q		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, EMBL, FSTA, INSPEC, IBM-TDB, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	JP 2002 205933 A (ICHIMARU PHARCOS INC)	1-8, 13
Y	23 juillet 2002 (2002-07-23) alinéa [0010] - alinéa [0014] exemples alinéa [0102] alinéa [0112] alinéa [0118] alinéa [0125] alinéa [0013] alinéa [0033] - alinéa [0034] ----- --/--	1-13
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
13 avril 2022		25/04/2022
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Irwin, Lucy

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	Cakova Veronika ET AL: "Dendrobium: Sources of Active Ingredients to Treat Age-Related Pathologies", Aging and disease, 1 décembre 2017 (2017-12-01), pages 827-849, XP055848598, United States DOI: 10.14336/AD.2017.0214 Extrait de l'Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5758354/pdf/ad-8-6-827.pdf [extrait le 2021-10-06]	1, 5
Y	le document en entier -----	1-13
X	CN 105 998 723 A (FRIENDSHIP PLASTIC SURGERY HOSPITAL CO LTD OF NANJING MEDICAL UNIV) 12 octobre 2016 (2016-10-12) abrégé -----	1, 5-8
X	CN 105 617 020 B (UNIV NANJING CHINESE MEDICINE ET AL.) 27 septembre 2019 (2019-09-27) abrégé -----	1, 2, 4-8
A	WO 2019/045259 A2 (LG HOUSEHOLD & HEALTHCARE LTD) 7 mars 2019 (2019-03-07) alinéa [0001] - alinéa [0003] alinéa [0012] - alinéa [0020] alinéa [0023] - alinéa [0027] alinéa [0090] - alinéa [0102] revendications -----	1-13
A	WO 2019/234635 A1 (ACCESS BUSINESS GROUP INT LLC) 12 décembre 2019 (2019-12-12) le document en entier -----	1-13
A	CN 110 354 008 A (SHENZHEN SHENGKAIYUAN TECH CO LTD) 22 octobre 2019 (2019-10-22) abrégé -----	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2021/052301

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
JP 2002205933 A	23-07-2002	AUCUN	
CN 105998723 A	12-10-2016	AUCUN	
CN 105617020 B	27-09-2019	AUCUN	
WO 2019045259 A2	07-03-2019	CN 111093621 A	01-05-2020
		JP 2020532560 A	12-11-2020
		KR 20190026175 A	13-03-2019
		US 2021059927 A1	04-03-2021
		WO 2019045259 A2	07-03-2019
WO 2019234635 A1	12-12-2019	CN 110559394 A	13-12-2019
		EP 3804694 A1	14-04-2021
		JP 2021532064 A	25-11-2021
		KR 20210018893 A	18-02-2021
		TW 202000186 A	01-01-2020
		US 2021212926 A1	15-07-2021
		WO 2019234635 A1	12-12-2019
CN 110354008 A	22-10-2019	AUCUN	