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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
14 septembre 2006 (14.09.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2006/095098 A2

(51) Classification internationale des brevets : Non classée

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2006/000538

(22) Date de dépôt international : 10 mars 2006 (10.03.2006)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
60/660,544 11 mars 2005 (11.03.2005) US

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* : **L'OREAL** [FR/FR]; 14, rue Royale, F-75008 Paris (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant *(pour US seulement)* : **BRETON, Lionel** [FR/FR]; 14, rue de Satory, F-78000 Versailles (FR).

(74) Mandataire : **L'OREAL**; Bernstein, Claire - D.I.P.I, 25-29, Quai Aulagnier, F-92600 Asnières (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: USE OF A NON-PHOTOSYNTHETIC, NON-FRUCTIFYING FILAMENTOUS BACTERIA EXTRACT AS A $G(G)$G(D)T LYMPHOCYTE ACTIVATION AND/OR PROTECTION AGENT

(54) Titre : UTILISATION D'UN EXTRAIT DE BACTERIE FILAMENTEUSE NON FRUCTIFIANTE NON PHOTOSYNTHETIQUE COMME AGENT PROTECTEUR ET/OU ACTIVATEUR DES LYMPHOCYTES γδT

(57) Abstract: The invention relates to the use of at least one non-photosynthetic, non-fructifying filamentous bacteria extract as an agent that protects and/or stimulates the activity and/or proliferation of T lymphocytic cells of the gamma-delta type (γδT cells) in a composition containing a cosmetically- or pharmaceutically-acceptable medium. The composition can be used to promote skin tissue repair, to counteract disorders relating to epidermal differentiation and proliferation resulting from a lack of sleep and to improve the appearance of hair and to limit hair loss.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non fructifiante non photosynthétique comme agent protecteur et/ou stimulant de l'activité et/ou de la prolifération des cellules lymphocytaires T de type gamma-delta (γδT cells) dans une composition renfermant un milieu cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable. La composition trouvera des applications pour favoriser la réparation tissulaire de la peau, pour rééquilibrer les désordres de prolifération et de différenciation épidermique qui apparaissent avec le manque de sommeil, pour améliorer l'aspect de la chevelure et limiter la chute des cheveux.

WO 2006/095098 A2

La présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non fructifiante non photosynthétique comme agent protecteur et/ou stimulant de l'activité et/ou de la prolifération des cellules lymphocytaires T de type gamma-delta (γδT cells) dans une composition renfermant un milieu cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable.

La composition trouvera des applications pour favoriser la réparation tissulaire de la peau, pour rééquilibrer les désordres de prolifération et de différenciation épidermique qui apparaissent avec le manque de sommeil, pour améliorer l'aspect de la chevelure et limiter la chute des cheveux.

La peau humaine est constituée d'un compartiment superficiel, l'épiderme et d'un compartiment profond, le derme. L'épiderme est composé principalement, de trois types de cellules qui sont les kératinocytes (majoritaires), les mélanocytes et les cellules de Langerhans. Chacun de ces types cellulaires contribue par ses fonctions propres au rôle essentiel joué dans l'organisme par la peau, notamment le rôle de protection de l'organisme des agressions extérieures. Le derme fournit à l'épiderme un support solide. C'est également son élément nourricier. Il est principalement constitué de fibroblastes et d'une matrice extracellulaire composée elle-même principalement de collagène, d'élastine et d'une substance fondamentale. On y trouve aussi des leucocytes, des mastocytes et des macrophages tissulaires. Enfin, Le derme est traversé par des vaisseaux sanguins et des fibres nerveuses.

La peau constitue une barrière contre les agressions extérieures, notamment chimiques, mécaniques, et à ce titre un certain nombre de réactions de défense contre l'environnement (climat, rayons ultraviolets, tabac, pollutions...) et/ou les xénobiotiques (comme par exemple certains médicaments) se produisent à son niveau.

Chez les sujets en bonne santé, les cellules endommagées par les agressions extérieures sont éliminées par le système immunitaire cutané. Cependant, par exemple lors du manque de sommeil, le système immunitaire est immunodéprimé et ne peut jouer son rôle dans la surveillance de la peau.

Les lymphocytes humains sont caractérisés par un récepteur pour l'antigène (TCR, T cell receptor) spécifique. 95% de la population lymphocytaire est constituée de lymphocytes dont les récepteurs de l'antigène des lymphocytes T sont des hétéro dimères transmembranaires composés d'une chaîne *alpha* et *beta* (αβT). Seuls 5% des lymphocytes expriment des

chaînes gamma et delta (γδT), cette population a été mis en évidence par Tonegawa *et al.* en 1984.

Les lymphocytes γδT sont principalement localisés soit dans le sang (pour le sous-type Vδ2) soit dans l'épiderme et les muqueuses (pour le sous-type résident Vδ1). Ils expriment les récepteurs CD3 et les récepteurs TCR gamma-delta (respectivement avec deux régions variables en fonction de leur localisation circulante : Vγ9Vδ2 ou résidante : Vγ9Vδ1) et sont souvent CD4(-) CD8(-), leur activation n'est pas restreinte au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et on leur attribue un rôle d'homéostasie cellulaire. La chaîne gamma est codée par le chromosome 7 et la chaîne delta par le 14.

Les lymphocytes γδT constituent une population lymphocytaire T dont l'analyse des caractéristiques structurales a modifié les connaissances sur les interactions entre la cellule T et son antigène. L'importance des fonctions immunorégulatrices exercées par ces cellules ouvre de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes qui concourent au maintien de l'homéostasie du système immunitaire. Les lymphocytes γδT semblent intervenir très précocement dans la régulation de l'immunité innée.

De récents travaux démontrent que ces cellules T spécifiques jouent un rôle important dans l'homéostasie de l'épiderme (Nature Immunology, 6,1 2005, 73-76). En effet, les lymphocytes γδT de la peau et/ou des muqueuses induisent la sécrétion et la libération d'IGF1 dans la peau et la libération d'IGF1 par les keratinocytes conduit à un contrôle de l'homéostasie épidermique notamment, l'équilibre entre prolifération et différenciation des cellules épidermiques.

La peau subit un remodelage constant, certaines de ces transformations observées avec le temps, sont notamment, la résultante d'une modification de la sécrétion naturelle de l'organisme en hormones (hormones de croissance, prolactine, œstrogène, etc...) et en facteurs de croissance (TGFα et TGFβ, EGF, IGF...).

Le rôle de ces hormones et/ou de ces facteurs de croissance est d'autant plus important qu'avec le temps, leur libération et leur impact sur les tissus cibles diminuent, la croissance des tissus se stabilise, tandis que la dégradation matricielle qui s'amplifie, n'est plus compensée par l'action de régénération de ces facteurs hormonaux et/ou de croissance.

Parmi ces facteurs de croissance, les IGFs (Insulin Growth Factors) jouent un rôle prépondérant. Ces facteurs ont été découverts lors de l'exploration du mécanisme d'action

de l'hormone de croissance GH (Growth Hormone), qui stimule la croissance de tous les tissus, y compris cutanés. L'hormone de croissance (GH) est constituée de 191 acides aminés liés en une séquence spécifique et est sécrétée par la partie antérieure de la glande hypophyse, cette sécrétion peut être renforcée par l'exercice physique ainsi que par d'autres facteurs. Le rôle biologique de la GH est fondamental, non seulement pour la croissance staturale d'un organisme jeune, mais également pour le maintien de son intégrité à l'âge adulte. La GH agit sur les organes périphériques et le cerveau soit directement, soit indirectement en stimulant la synthèse des facteurs de croissance, tels les *insulin-like growth factors* (IGF I et II) ou l'*epidermal growth factor* (EGF) ou celle de leurs récepteurs. L'action directe de la GH est de type anti-insulinique en favorisant la lipolyse au niveau des tissus adipeux.

Par l'intermédiaire de l'IGF1, la GH stimule l'incorporation des acides aminés dans les protéines, la croissance des cartilages et des os (croissance staturale) et la prolifération cellulaire de nombreux organes, dont la peau.

L'hormone de croissance et les autres hormones somatotropes, telle la somatomédine C (ou IGF1) sont aptes à maintenir son aspect jeune au corps. Elles interviennent, en effet, dans la gestion de son métabolisme, déterminant non seulement la taille finale du corps adulte mais donnant encore, volume, tonus et fermeté aux organes et tissus, particulièrement aux muscles. En fait, l'hormone de croissance participe à tout ce qui procure une bonne image de soi et un mental positif. Elle raffermit le corps et rend le dos plus droit, développe les muscles des épaules et du bassin. Elle diminue également la graisse, surtout au ventre, augmente la libido et l'énergie sexuelle, la repousse et la coloration des cheveux, ainsi que l'élasticité de la peau. De façon peut-être moins apparente mais tout aussi bénéfique, ses effets se constatent dans une meilleure résistance à l'effort, un sommeil moins prolongé et plus profitable, une pression artérielle équilibrée, une meilleure acuité visuelle, auditive et cérébrale.

Chez tous les mammifères étudiés, y compris l'homme, la GH est sécrétée de façon pulsatile et ce caractère constitue un facteur déterminant pour un grand nombre d'effets biologiques de l'hormone.

Les causes du déclin de GH lié à l'âge sont mal connues. Chez l'homme, à partir de la puberté, on observe une diminution de la sécrétion de GH de l'ordre de 10 % tous les dix ans. Au cours du vieillissement, la perte de masse musculaire, l'accumulation de tissu adipeux, la déminéralisation osseuse, la perte de la capacité de régénération tissulaire sont

concomitantes avec la diminution de la sécrétion de GH. Cette dernière favorise un rapport catabolisme sur anabolisme accru entraînant ainsi une situation de déséquilibre qui aggrave les effets du vieillissement.

Des facteurs additionnels, comme l'obésité liée à l'âge, les taux d'hormones stéroïdiennes, le manque de sommeil ou un certain niveau de résistance tissulaire à l'action de la GH peuvent également être importants.

Parallèlement, il existe une diminution notable de la qualité du sommeil avec l'âge (diminution du sommeil à ondes lentes, du sommeil paradoxal et augmentation des périodes et de la durée de l'éveil interrompant les phases de sommeil). Le premier phénomène du vieillissement est une baisse marquée du sommeil profond (slow wave sleep ou SWS), qui peut survenir aussi tôt qu'à l'âge de 36 ans et qui est remplacé par un sommeil plus léger. Le passage de la quarantaine à l'âge avancée est ensuite associé à une baisse de la quantité de sommeil et de la durée de la phase paradoxale (rapid eye movement ou REM) et du sommeil profond (non-REM). Les statistiques démontrent que la population affectée par les troubles du sommeil totalise 93 millions en Amérique du Nord, en Europe et au Japon.

Il est concevable que le manque de sommeil ou la baisse qualitative du sommeil liée à l'âge, contribue aux modifications hormonales et à leurs conséquences métaboliques. En effet, des traitements pharmacologiques tendant à augmenter le sommeil à ondes lentes entraînent également une augmentation de la sécrétion de GH.

Le déficit en hormone de croissance se traduit par des symptômes physiques : perte des cheveux, cheveux fins, lèvres et ensemble maxillaire amincis, peau déshydratée, ventre pendant, coussinets de graisse au niveau des genoux... et des symptômes psychologiques : fatigue permanente, difficultés à contrôler ses émotions, épuisement après un effort physique, faible estime de soi, dépression...

Les taux d'hormones de croissance circulant dans le sang stimulent la production, à partir du foie, d'une autre hormone, l'IGF1 (*Insuline like Growth Factor 1*), dont le rôle de médiateur permet à l'hormone de croissance de développer ses effets positifs. La mesure du taux d'IGF1, également appelé Somatomédine C, est considérée comme plus sûre que celle de la GH, pratiquement indétectable de jour chez l'homme. Le foie est le plus important site de production des IGFs mais de nombreuses cellules sont capables de produire des IGFs. Deux types sont classiquement décrits : IGF1 et IGF2. Ce sont deux peptides dont la séquence en acide aminé s'apparente à celle de l'insuline, d'où leur nom. Il existe deux récepteurs,

respectivement pour l'IGF1 et pour l'IGF2. Le récepteur à l'IGF1 présente une affinité partagée avec l'insuline. Ce n'est pas le cas pour le récepteur à l'IGF2.
Avec le vieillissement, le taux des IGFs, diminue pour se stabiliser à l'âge adulte : il s'agit de la somatopause (D. Radman *« Effects of human growth hormone in men over 60 yeard old »; N. Engl J. Med 1990, Juls ; 323(1) : 1-6).*

Il est connu dans l'état de la technique que l'IGF1 seul stimule la prolifération des kératinocytes *(Neely EK – Insulin-like growth factors are mitogenic for human keratinocytes and a squamous cell carcimona – J Invest Dermatol 1991 Jan ; 96(1) :104-10).* En ce qui concerne les fibroblastes, il est également connu que l'IGF1 stimule la synthèse des GAGs, et la synthèse du collagène. Par ailleurs, des études ont mis en évidence une participation non négligeable des IGFs dans la cicatrisation. Enfin, une étude réalisée *in vivo* chez l'homme a démontré qu'un traitement percutané par IGF1 pendant un mois se traduisait par une argumentation de l'épaisseur cutanée.
Il a aussi été démontré que la diminution de l'expression d'IGF1 était associée à la chute accrue des cheveux (Tang et al. 2003, J. Am. Acad. Dermatol. Aug;49(2):229-33).

La demanderesse a mis en évidence qu'un extrait de *Vitreoscilla filiformis*, total ou sous la forme d'une fraction LPS, stimule et/ou protége les cellules γδT et qu'ainsi cet extrait peut induire la sécrétion et la libération d'IGF1 dans la peau. Ce contrôle de la libération d'IGF1 par les keratinocytes participe au maintien de l'homéostasie épidermique qui régule notamment, l'équilibre entre prolifération et différenciation des cellules épidermiques.

Ainsi, selon un premier de ses objets, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non fructifiante non photosynthétique pour maintenir et/ou rétablir l'équilibre entre prolifération et différentiation des cellules épidermiques.

Les extraits bactériens utilisables dans cette invention seront choisis parmi les bactéries filamenteuses non photosynthétiques et non fructifiantes telles que définies selon la classification du *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, volume 3, section 23, 9ème édition 1989.
Parmi les bactéries utilisables, on citera plus particulièrement les bactéries appartenant à l'ordre des Beggiatoales, et notamment les bactéries appartenant au genre *Beggiotoa*, telles que par exemple diverses souches de *Beggiotoa alba* suivant la définition de *B. alba* correspond aux anciennes appellations *Beggiotoa arachnoidea, B. gigantea,*

B. leptomiformis, B. minima, B. mirabilis du Bergey's manual, 8ème édition. On peut citer par ailleurs les bactéries appartenant au genre *Vitreoscilla*, dont on sait qu'il est proche et souvent difficilement discernable du genre *Beggiatoa*. Les bactéries qui viennent d'être définies, et dont plusieurs ont été décrites, ont généralement un habitat aquatique, et peuvent être trouvées notamment dans les sources d'eau thermale.

Parmi les bactéries utilisables, on peut citer par exemple, *Vitreoscilla beggiatoïdes* (ATCC 43181) et *Beggiatoa alba* (ATCC33555).

Et préférentiellement selon l'invention, l'utilisation de l'extrait de *Vitreoscilla filiformis*, en particulier, la souche ATCC 15551, ses métabolites et ses fractions sont revendiquées.

D'autre part, il est connu que la culture des bactéries filamenteuses non photosynthétiques et non fructifiantes est relativement difficile, de même que l'obtention de cultures pures. On utilisera préférentiellement la culture décrite dans la demande de brevet WO 94/02158.

Par extrait de bactéries filamenteuses non photosynthétiques et non fructifiantes, on entend aussi bien le surnageant de culture, la biomasse obtenue après culture des dites bactéries, les enveloppes ou fractions d'enveloppes, ou les extraits de la biomasse obtenus par traitement de cette biomasse.

Pour préparer l'extrait selon l'invention, on peut cultiver lesdites bactéries puis les séparer de la biomasse obtenue par exemple par filtration, centrifugation, coagulation et/ou lyophilisation.

Par exemple, après culture, les bactéries sont concentrées par centrifugation. La biomasse obtenue est autoclavée. Cette biomasse peut-être lyophilisée pour constituer ce que l'on appelle l'extrait lyophilisé. Toute méthode de lyophilisation connue de l'homme du métier est utilisable pour préparer cet extrait.

La fraction surnageante de cette biomasse peut également être filtrée dans un récipient stérile pour éliminer les particules en suspension.

On appelle ici enveloppes ou fractions d'enveloppes, plus particulièrement la fraction lipopolysaccharidique (LPS), la paroi bactérienne et éventuellement les membranes sous jacentes.

L'extrait peut aussi se rapporter au lipide A qui peut être obtenu selon le procédé décrit EP 1 531 158.

L'extrait bactérien peut-être utilisé sous forme de poudre lyophilisée de 0,001% à 5% et de préférence de 0,05% à 3% dans des compositions liquides et jusqu'à 10% dans des compositions pulvérulentes.

L'utilisation d'un agent protecteur et/ou stimulant des lymphocytes γδT de la peau et/ou des muqueuses conduit à la libération accrue d'IGF1 par les cellules épidermiques et favorise la prolifération physiologique des keratinocytes et/ou diminue la différenciation épidermique.

Compte tenu du fait que la libération de l'IGF1 est dépendante de la sécrétion de GH et de prolactine et que ces hormones sont libérées de façon pulsatile lors de la phase d'endormissement et uniquement lors de la phase d'endormissement (il s'agit d'une alternance veille/sommeil et non d'une alternance jour/nuit), la présente invention concerne également l'utilisation cosmétique d'un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthétique non fructifiante pour mimer l'effet du sommeil sur le renouvellement cellulaire épidermique ou pour soit compléter l'effet du sommeil sur la peau au cours d'un repos normal ou, encore, pour supplémenter le dysfonctionnement des fonctions épidermiques cutanées qui peuvent apparaître lors d'une absence de sommeil.

L'utilisation selon l'invention visera donc plus particulièrement à mimer les effets du sommeil sur le renouvellement cellulaire épidermique pour prévenir et/ou corriger les effets cutanés caractéristiques du manque de sommeil et/ou à stimuler la peau lors de l'absence de sommeil et induire le renouvellement des cellules épidermiques.
Ainsi l'utilisation selon l'invention permet de prévenir et/ou de traiter les manifestations cutanées générées par le ralentissement du renouvellement des cellules, conduit ainsi à la régénération cellulaire de l'épiderme et améliore l'apparence de la surface de la peau.
Les conséquences de cette activité est que l'utilisation de l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante selon l'invention sur un sujet en manque de sommeil permet plus particulièrement de traiter les traits tirés et/ou creusés, d'uniformiser le teint.

Selon un second objet, la présente invention se rapporte à un procédé de traitement cosmétique pour effacer les signes cutanés de la fatigue en stimulant la régénération des cellules épidermiques caractérisé en ce qu'il comprend l'application sur le visage d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante.

L'invention de l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante permet aussi de prévenir et/ou traiter des désordres capillaires tels qu'une modification de la densité, de la quantité ou de la qualité des cheveux, conséquence par exemple d'un ralentissement, d'un arrêt de la croissance ou d'une chute des follicules pileux.

Ainsi selon un autre de ses objet, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante pour prévenir l'amincissement de la fibre kératinique et/ou induire la pousse de cheveux et/ou des poils ;pour induire la repousse de cheveux ou de poils plus denses.

Aussi, l'invention se rapporte encore à l'utilisation d'un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante comme agent pour induire et/ou stimuler la croissance des fibres kératiniques, cheveux ou poils en particulier humains et/ou freiner leur chute et/ou augmenter leur densité.

Par augmenter la densité des fibres kératiniques, et notamment la densité capillaire, on entend augmenter le nombre de fibres kératiniques, notamment de cheveux, par cm^2 de peau telle que le cuir chevelu.

Ainsi, une autre utilisation de l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante se rapporte aux compositions de traitement capillaire (shampooing, lotion, masques...) pour limiter et/ou éviter la chute des cheveux et ainsi traiter l'alopécie de quelque nature qu'elle soit et/ou favoriser la pousse de cheveu sain.

L'utilisation cosmétique selon l'invention de l'un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante peut se faire à l'aide d'une composition cosmétique de soin et/ou de maquillage des fibres kératiniques.

L'invention s'applique aussi aux fibres kératiniques des mammifères de l'espèce animale (chien, cheval ou chat par exemple).

Les fibres kératiniques humaines auxquelles s'applique l'invention sont notamment les cheveux, les sourcils, les cils, les poils de barbe et de moustache. Plus spécialement, l'invention s'applique aux cheveux et/ou aux cils humains.

La présente invention a également pour objet un procédé de traitement cosmétique des fibres kératiniques humaines et/ou de la peau d'où émergent les dites fibres, y compris le cuir chevelu, destiné notamment à stimuler la croissance des fibres kératiniques humaines telles que les cheveux et les cils d'être humain et/ou freiner leur chute, caractérisé par le fait qu'il consiste à appliquer sur les fibres kératiniques humaines et/ou la peau d'où émergent les dites fibres, une composition cosmétique comprenant une quantité efficace d'un extrait

de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante, à laisser celle-ci en contact avec les fibres kératiniques et/ou la peau d'où émergent les dites fibres, et éventuellement à rincer les fibres kératiniques et/ou ladite peau.

Ce procédé de traitement présente les caractéristiques d'un procédé cosmétique dans la mesure où il permet d'améliorer l'esthétique des fibres kératiniques et en particulier des cheveux et des cils en leur donnant une plus grande vigueur et un aspect amélioré. En outre, il peut être utilisé quotidiennement pendant plusieurs mois, sans prescription médicale.

Plus spécialement, la présente invention a pour objet un procédé de soin cosmétique des cheveux et/ou du cuir chevelu humains, en vue d'améliorer leur état et/ou leur aspect, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer sur les cheveux et/ou le cuir chevelu, une composition cosmétique comprenant un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante, à laisser celle-ci au contact des cheveux et/ou du cuir chevelu, et éventuellement à rincer les cheveux et/ou le cuir chevelu.

L'invention a encore pour objet un procédé de soin cosmétique et/ou de maquillage ces cils humains, en vue d'améliorer leur état et/ou leur aspect, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer une composition de mascara comprenant un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante et à laisser celle-ci au contact des cils. Cette composition de mascara peut être appliquée seule ou en sous-couche d'un mascara pigmenté classique et être éliminée comme un mascara pigmenté classique.

Les compositions utilisées selon l'invention peuvent être administrées par voie orale, entérale ou encore par voie topique, on préférera l'administration par voie topique.

Dans le cas d'une administration par voie orale, les compositions peuvent se présenter sous toute forme adaptée telle qu'une solution buvable, des gélules, dragée, capsule molle ou dure, comprimés à avaler ou à croquer, granulés à dissoudre, sirop, aliment solide ou liquide...

La composition peut aussi se présenter sous les formes galéniques classiquement utilisées pour une application topique et notamment sous forme de dispersions du type lotion ou sérum, d'émulsions de consistance liquide ou semi-liquide du type lait, obtenues par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H), ou de suspensions ou émulsions de consistance molle, semi-solide ou solide du type crème ou gel, ou encore d'émulsions multiples (E/H/E ou H/E/H), de microémulsions, de nanoémulsions, de

dispersions vésiculaires de type ionique et/ou non ionique, ou des dispersions cire/phase aqueuse. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles.
Elle peut également se présenter sous la forme d'un système transdermique permettant une libération active ou passive du(des) actif(s) par transdermie, par exemple de type patch ou gel patch (hydrogel).

La composition utilisée selon l'invention peut ainsi constituer une composition de traitement ou de soin de la peau (y compris le cuir chevelu), des fibres kératiniques (cheveux, cils, sourcils), des ongles ou des lèvres, ou une composition de protection solaire ou de bronzage artificiel, ou encore un produit nettoyant ou démaquillant de la peau, des cheveux, des sourcils ou des cils, un produit déodorant ou encore un composé parfumant. Elle est alors généralement non colorée ou faiblement colorée, et elle peut contenir éventuellement des actifs cosmétiques ou dermatologiques. Elle peut alors être utilisée comme base de soin pour la peau ou les lèvres (baumes à lèvres, protégeant les lèvres du froid et/ou du soleil et/ou du vent), comme crème de soin de jour ou de nuit pour la peau du visage et/ou du corps. Elle peut, en outre, se présenter sous forme de shampooing traitant ou non, colorant ou non, et d'après-shampooing.

La composition utilisée selon l'invention peut également constituer une composition cosmétique colorée et notamment une composition de maquillage de la peau, des fibres kératiniques (cheveux ou cils) et/ou des muqueuses, en particulier un fond de teint, un blush, un fard à joues ou à paupières, un composé anti-cernes en stick, un rouge à lèvres ou un brillant à lèvres, présentant éventuellement des propriétés de soin ou de traitement. De préférence, il pourra s'agir d'une composition de maquillage colorée (beige ou verte) destinée à corriger la couleur du teint.

Selon la destination de la composition utilisée selon l'invention, elle pourra également comprendre des actifs qui seront choisis par l'homme du métier de telle sorte qu'ils ne nuisent pas à l'effet de l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante.

- des agents apaisants

Comme exemples 'd'agents apaisants' utilisables dans les compositions de l'invention, on peut citer:

- l'acide bêta-glycyrrhétinique, les extraits en contenant comme par exemple l'extrait de *Glycyrrhiza glabra* (réglisse) et les complexes en contenant comme le complexe allantoïne/acide glycyrrhétinique ;

- les planctons, lyophilisés ou non, leurs extraits et leurs complexes ;
- l'escine et les extraits végétaux en contenant comme l'extrait de marron d'inde ;
- les dérivés de xanthine comme le chlorhydrate de di-éthylaminoéthyl théophylline et la caféine ;
- les eaux et extraits (par exemple aqueux, hydroalcooliques ou hydroglycoliques) de fleurs et de plantes, comme l'eau de bleuet, l'eau de camomille, l'eau de menthe, l'eau de tilleul, l'eau de rose, les extraits de Rosacées (ex : *Rosa gallica, Rosa canina*), les extraits de pivoine, les extraits d'aubépine, les extraits de millefeuille, les extraits de mauve, les extraits de souci, les extraits de melilot, les extraits de sauge, l'eau de sureau, les extraits de ginkgo biloba, les extraits d'arnica, les extraits d'origan, les extraits de thé vert, les extraits de fleurs de nénuphar, les extraits d'Iris, les extraits d'écorce de bouleau, les extraits d'*Aloe vera* ;
- l'acide asiatique et les extraits végétaux en contenant comme la *Centella asiatica* ;
- les extraits de fruits, comme l'extrait d'ananas, l'extrait de papaye ; de goyave ;
- les algues notamment du type *Laminaria* (par exemple rouges ou brunes) ;
- les pyrrolidone carboxylates et notamment de zinc (Zn-PCA) ou de cuivre (Cu-PCA) ;
- les huiles d'origine végétale, comme l'huile de graine de canola et l'huile de karité ;
- les huiles essentielles, par exemple de coriandre, de mélisse, de lavande, de menthe, de camomille et leurs mélanges ;
- l'acide acexamique et l'acide transexamique (acide trans-4, aminométhylcyclohexane carboxylique) ;
- l'acide ursolique et les extraits en contenant comme l'extrait de feuille de romarin ;
- les polysaccharides contenant du fucose, comme le FUCOGEL 1000, vendu par Solabia (solution aqueuse comprenant 1% de matière sèche de polysaccharide comprenant du fucose, du galactose et de l'acide galacturonique) ;
- les électrolytes et en particulier un mélange aqueux comprenant de 30 à 35 % du chlorure de magnésium, de 20 à 28 % de chlorure de potassium, de 3 à 10 % de chlorure de sodium, de 0,2 à 1 % de chlorure de calcium, de 0,1 à 0,6 % de bromure de magnésium et de 0,1 à 0,5 % d'insolubles, le dit mélange étant ici appelé "mélange des sels de la mer Morte" (« Dead Sea Bath Salts ») car il correspond aux principaux sels contenus dans la mer Morte ;
- les galactolipides par exemple issus d'avoine, tels que par exemple le digalactosyl diglycéride ou le monogalactosyl diglycéride ;
- les acides aminés, leurs dérivés et leurs sels, tels que le sel de sodium d'aminoacides greffés sur des chaînes cocoyle, commercialisé sous forme d'un mélange sous la

dénomination SEPICALM S par la société SEPPIC, le capryloylglycine commercialisé sous la dénomination LIPACIDE C8G par la société SEPPIC et le mélange de capryloylglycine, de cannelle et de sarcosine commercialisé sous la dénomination SEPICONTROL A5 par la société SEPPIC ;

- les antagonistes de TNF-alpha tels que par exemple, la lisophylline, l'A802715, la sulfasalazine, le CDP-571 (anticorps anti-TNF-alpha), le MDL-201112 ;
- les antagonistes de substance P tels que le sendide, le spantide II, et les peptides décrits dans la demande EP-A-680749, les extraits de bactérie filamenteuse décrits dans la demande EP-A-761204 ;
- les antagonistes de CGRP, tels que le CGRP 8-37, les anticorps anti-CGRP, ou des extraits végétaux à activité antagoniste du CGRP (ex : *Iris pallida*).
- les sels divalents de strontium, de zinc, de manganèse, de magnésium, de calcium, tels que ceux décrits dans les documents WO-A-96/19184, WO-A-96/19182 et WO-A-96/19228 ;

et leurs mélanges.

<u>- les agents desquamants et hydratants</u>

Par « agent desquamant », on entend tout composé capable d'agir :

- soit directement sur la desquamation en favorisant l'exfoliation, tel que les β-hydroxyacides, en particulier l'acide salicylique et ses dérivés (dont l'acide n-octanoyl 5-salicylique) ; les α-hydroxyacides, tels que les acides glycolique, citrique, lactique, tartrique, malique ou mandélique ; l'urée ; l'acide gentisique ; les oligofucoses ; l'acide cinnamique ; l'extrait de Saphora japonica ; le resvératrol et certains dérivés d'acide jasmonique ;
- soit sur les enzymes impliquées dans la desquamation ou la dégradation des cornéodesmosomes, les glycosidases, la stratum corneum chymotryptic enzym (SCCE) voire d'autres protéases (trypsine, chymotrypsine-like). On peut citer les agents chélatant des sels minéraux : l'EDTA ; l'acide N-acyl-N,N',N' éthylène diaminetriacétique ; les composés aminosulfoniques et en particulier l'acide (N-2 hydroxyéthylpiperazine-N-2-éthane) sulfonique (HEPES) ; les dérivés de l'acide 2-oxothiazolidine-4-carboxylique (procystéine) ; les dérivés d'acides alpha aminés de type glycine (tels que décrits dans EP-0 852 949, ainsi que le méthyl glycine diacétate de sodium commercialisé par BASF sous la dénomination commerciale TRILON M ; le miel ; les dérivés de sucre tels que l'O-octanoyl-6-D-maltose et la N-acétyl glucosamine.

Par « agent hydratant », on entend :

- soit un composé agissant sur la fonction barrière, en vue de maintenir l'hydratation du stratum corneum, ou un composé occlusif. On peut citer les céramides, les composés à base

sphingoïde, les lécithines, les glycosphingolipides, les phospholipides, le cholestérol et ses dérivés, les phytostérols (stigmastérol, β-sitostérol, campestérol), les acides gras essentiels, le 1-2 diacylglycérol, la 4-chromanone, les triterpènes pentacycliques tels que l'acide ursolique, la vaseline et la lanoline ;

- soit un composé augmentant directement la teneur en eau du stratum corneum, tel que le thréalose et ses dérivés, l'acide hyaluronique et ses dérivés, le glycérol, le pentanediol, le pidolate de sodium, la sérine, le xylitol, le lactate de sodium, le polyacrylate de glycérol, l'ectoïne et ses dérivés, le chitosane, les oligo- et polysaccharides, les carbonates cycliques, l'acide N-lauroyl pyrrolidone carboxylique, et la N-α-benzoyl-L-arginine ;
- soit un composé activant les glandes sébacées tel que les dérivés stéroïdiens (dont la DHEA, ses dérivés 7-oxydés et/ou 17-alkylés et les sapogénines), le dihydrojasmonate de méthyle, et la vitamine D et ses dérivés.

Ces composés peuvent représenter de 0,001% à 30%, et de préférence de 0,01 à 20%, du poids total de la composition selon l'invention.

La composition selon la présente invention comprenant les agents desquamants et hydratants cités ci-dessus est avantageusement destinée à la prévention ou au traitement du dessèchement de la peau et notamment des xéroses.

- les agents dépigmentants, anti-pigmentants ou pro-pigmentants

Les agents dépigmentants ou anti-pigmentants susceptibles d'être incorporés dans la composition selon la présente invention comprennent par exemple les composés suivants : l'acide kojique ; l'acide ellagique ; l'arbutine et ses dérivés tels que ceux décrits dans les demandes EP-895 779 et EP-524 109 ; l'hydroquinone ; les dérivés d'aminophénol tels que ceux décrits dans les demandes WO 99/10318 et WO 99/32077, et en particulier le N-cholestéryloxycarbonyl-para-aminophénol et le N-éthyloxycarbonyl-para-aminophénol ; les dérivés d'iminophénol, en particulier ceux décrits dans la demande WO 99/22707 ; l'acide L-2-oxothiazolidine-4-carboxylique ou procystéine, ainsi que ses sels et esters ; le D-panthétéine sulfonate de calcium, l'acide ascorbique et ses dérivés, notamment le glucoside d'ascorbyle ; et les extraits de plantes, en particulier de réglisse, de mûrier, de scutellaire et de Bacopa monnieri, sans que cette liste soit limitative.

Comme agent pro-pigmentant, on peut citer l'extrait de pimprenelle (Sanguisorba officinalis) commercialisé par MARUZEN et les extraits de chrysanthème (Chrysanthemum morifolium).

- les agents anti-glycation

Par « agent anti-glycation », on entend un composé prévenant et/ou diminuant la glycation des protéines de la peau, en particulier des protéines du derme telles que le collagène.

Des exemples d'agents anti-glycation sont les extraits végétaux de la famille des Ericaceae, tels qu'un extrait de myrtille (*Vaccinium angusfifollium*) ; l'ergothionéine et ses dérivés ; et les

hydroxystilbènes et leurs dérivés, tels que le resvératrol et le 3,3', 5,5'-tétrahydroxystilbène. Ces agents anti-glycation sont décrits dans les demandes FR 2 802 425, FR 2 810 548, FR 2 796 278 et FR 2 802 420, respectivement. Le resvératrol est particulièrement préféré pour une utilisation dans cette invention.

La composition selon l'invention comprenant un agent anti-glycation tel que défini ci-dessus peut avantageusement être utilisée pour prévenir ou traiter les signes du vieillissement cutané, en particulier pour prévenir ou traiter la perte de tonicité et/ou d'élasticité de la peau.

- les inhibiteurs de NO-synthase

Des exemples d'inhibiteurs de NO-synthase convenant à une utilisation dans la présente invention comprennent notamment un extrait de végétal de l'espèce *Vitis vinifera* qui est notamment commercialisé par Euromed sous la dénomination Leucocyanidines de raisins extra, ou encore par Indena sous la dénomination Leucoselect®, ou enfin par Hansen sous la dénomination Extrait de marc de raisin ; un extrait de végétal de l'espèce *Olea europaea* qui est de préférence obtenu à partir de feuilles d'olivier et est notamment commercialisé par VINYALS sous forme d'extrait sec, ou par Biologia & Technologia sous la dénomination commerciale Eurol BT ; et un extrait d'un végétal de l'espèce *Gingko biloba* qui est de préférence un extrait aqueux sec de ce végétal vendu par Beaufour sous le nom commercial Ginkgo biloba extrait standard.

La composition selon l'invention comprenant un inhibiteur de NO-synthase tel que défini ci-dessus peut avantageusement être utilisée pour prévenir ou traiter les signes du vieillissement cutané et/ou les peaux sensibles.

- les agents anti-séborrhéiques

Lorsque la composition selon l'invention comprend un agent anti-séborrhéique tel qu'un inhibiteur de 5α-réductase, celui-ci peut notamment être choisi parmi :

- les rétinoïdes, et en particulier le rétinol ;
- le soufre et les dérivés soufrés ;
- les sels de zinc tels que le lactate, le gluconate, le pidolate, le carboxylate, le salicylate et/ou le cystéate de zinc ;
- le chlorure de sélénium ;
- la vitamine B6 ou pyridoxine ;
- le mélange de capryloyl glycine, de sarcosine et d'extrait de cinnamomum zeylanicum commercialisé notamment par SEPPIC sous la dénomination commerciale Sepicontrol A5® ;
- un extrait de Laminaria saccharina commercialisé notamment par SECMA sous la dénomination commerciale Phlorogine® ;
- un extrait de Spiraea ulmaria commercialisé notamment par SILAB sous la dénomination commerciale Sebonormine® ;

- des extraits de végétaux des espèces Arnica montana, Cinchona succirubra, Eugenia caryophyllata, Humulus lupulus, Hypericum perforatum, Mentha piperita, Rosmarinus officinalis, Salvia oficinalis et Thymus vulgaris, tous commercialisés par exemple par MARUZEN ;
- un extrait de Serenoa repens commercialisé notamment par EUROMED ;
- des extraits de plantes du genre Silybum ; et
- des extraits d'Eugenia caryophyllata contenant de l'eugénol et du glucoside d'eugényle.

L'inhibiteur de 5α-réductase représente par exemple de 0,001% à 10%, et de préférence de 0,01 à 5%, du poids total de la composition selon l'invention. Lorsque celle-ci renferme un tel composé, elle est particulièrement bien adaptée à prévenir ou traiter la séborrhée et/ou l'hirsutisme et/ou l'alopécie androgéno-dépendante.

- les Inhibiteurs de lysyl et/ou prolyl hydroxylase

Des exemples préférés d'inhibiteurs de lysyl et/ou propyl hydroxylase utilisables dans la composition selon la présente invention sont le 2,4-diamino-pyrimidine 3-oxyde ou 2,4-DPO décrit dans la demande de brevet WO 96/09048 et le 2,4-diamino-6-pipéridino pyrimidine 3-oxyde ou "Minoxidil" décrit dans les brevets US-4,139,619 et US-4,596,812.

Ces composés sont par exemple présents dans la composition selon l'invention à hauteur de 0,001 à 5% en poids et, mieux, à hauteur de 0,01 à 5% en poids, par rapport au poids total de la composition.

La composition renfermant l'inhibiteur de lysyl et/ou prolyl hydroxylase et le dérivé de DHEA selon l'invention est avantageusement utilisée pour la prévention ou le traitement de l'alopécie.

- les agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou épidermiques et/ou empêchant leur dégradation

Parmi les actifs stimulant les macromolécules du derme ou empêchant leur dégradation, on peut citer ceux qui agissent :

- soit sur la synthèse du collagène, tels que les extraits de *Centella asiatica* ; les asiaticosides et dérivés ; l'acide ascorbique ou vitamine C et ses dérivés ; les peptides de synthèse tels que la iamin, le biopeptide CL ou palmitoyloligopeptide commercialisé par SEDERMA ; les peptides extraits de végétaux, tels que l'hydrolysat de soja commercialisé par COLETICA sous la dénomination commerciale Phytokine® ; et les hormones végétales telles que les auxines et les lignanes.

-soit sur la synthèse des GAGs tels que le C-β-D-xylopyranoside-2-hydroxy-propane.

- soit sur la synthèse d'élastine, tels que l'extrait de *Saccharomyces cerivisiae* commercialisé par LSN sous la dénomination commerciale Cytovitin® ; et l'extrait d'algue Macrocystis pyrifera commercialisé par SECMA sous la dénomination commerciale Kelpadelie® ;
- soit sur la synthèse des glycosaminoglycanes, tels que le produit de fermentation du lait par lactobacillus vulgaris, commercialisé par la société BROOKS sous la dénomination commerciale Biomin yogourth® ; l'extrait d'algue brune Padina pavonica commercialisé par ALBAN MÜLLER sous la dénomination commerciale HSP3® ; et l'extrait de *Saccharomyces cerevisiae* disponible notamment auprès de SILAB sous la dénomination commerciale Firmalift® ou auprès de LSN sous la dénomination commerciale Cytovitin® ;
- soit sur la synthèse de la fibronectine, tels que l'extrait de zooplancton Salina commercialisé par SEPORGA sous la dénomination commerciale GP4G® ;
l'extrait de levure disponible notamment auprès de ALBAN MÜLLER sous la dénomination commerciale Drieline® ; et le palmitoyl pentapeptide commercialisé par SEDERMA sous la dénomination commerciale Matrixil® ;
- soit sur l'inhibition des métalloprotéinases (MMP) telles que plus particulièrement les MMP 1, 2, 3, 9. On peut citer : les rétinoïdes et dérivés, les oligopeptides et les lipopeptides, les lipoaminoacides, l'extrait de malt commercialisé par COLETICA sous la dénomination commerciale Collalift® ; les extraits de myrtille ou de romarin ; le lycopène ; les isoflavones, leurs dérivés ou les extraits végétaux en contenant, en particulier les extraits de soja (commercialisé par exemple par ICHIMARU PHARCOS sous la dénomination commerciale Flavostérone SB®), de trèfle rouge, de lin, de kakkon ou de sauge ;
- soit sur l'inhibition des sérine protéases telles que l'élastase leucocytaire ou la cathepsine G. On peut citer : l'extrait peptidique de graines de légumineuse (*Pisum sativum*) commercialisé par LSN sous la dénomination commerciale Parelastyl® ; les héparinoïdes ; et les pseudodipeptides tels que l'acide {2-[acétyl-(3-trifluorométhyl-phényl)-amino]-3-méthyl-butyrylamino} acétique et ses derivés.

Parmi les actifs stimulant les macromolécules épidermiques, telles que la fillagrine et les kératines, on peut citer notamment l'extrait de lupin commercialisé par SILAB sous la dénomination commerciale Structurine® ; l'extrait de bourgeons de hêtre *Fagus sylvatica* commercialisé par GATTEFOSSE sous la dénomination commerciale Gatuline® ; et l'extrait de zooplancton Salina commercialisé par SEPORGA sous la dénomination commerciale GP4G®.

La composition selon l'invention renfermant un ou plusieurs des composés ci-dessus convient particulièrement bien à une utilisation dans la prévention ou le traitement des signes cutanés du vieillissement, en particulier de la perte de fermeté et/ou d'élasticité de la peau.

- les agents stimulant la prolifération des fibroblastes ou des kératinocytes et/ou la différenciation des kératinocytes

Les agents stimulant la prolifération des fibroblastes utilisables dans la composition selon l'invention peuvent par exemple être choisis parmi les protéines ou polypeptides végétaux, extraits notamment du soja (par exemple un extrait de soja commercialisé par LSN sous la dénomination Eleseryl SH-VEG 8® ou commercialisé par SILAB sous la dénomination commerciale Raffermine®) ; et les hormones végétales telles que les giberrellines et les cytokinines.

Les agents stimulant la prolifération des kératinocytes, utilisables dans la composition selon l'invention, comprennent notamment les rétinoïdes tels que le rétinol et ses esters, dont le palmitate de rétinyle ; l'adénosine ; le phloroglucinol ; les extraits de tourteaux de noix commercialisés par GATTEFOSSE ; et les extraits de *Solanum tuberosum* commercialisés par SEDERMA.

Les agents stimulant la différenciation des kératinocytes comprennent par exemple les minéraux tels que le calcium ; un extrait peptidique de lupin tel que celui commercialisé par SILAB sous la dénomination commerciale Structurine®; le beta-sitosteryl sulfate de sodium tel que celui commercialisé par SEPORGA sous la dénomination commerciale Phytocohésine® ; et un extrait hydrosoluble de maïs tel que celui commercialisé par SOLABIA sous la dénomination commerciale Phytovityl® ; un extrait peptidique de *Voandzeia substerranea* tel que celui commercialisé par les Laboratoires Sérobiologiques sous la dénomination commerciale Filladyn LS 9397® ; et les lignanes tels que le sécoisolaricirésinol.

La composition selon l'invention comprenant ces composés est préférentiellement destinée à être utilisée pour prévenir ou traiter les signes cutanés du vieillissement.

- les agents myorelaxants ou dermo-décontractants

Les agents myorelaxants ou dermo-décontractants utilisables dans la composition selon l'invention comprennent l'alvérine et ses sels, le gluconate de manganèse, le diazepam, l'hexapeptide Argireline R commercialisé par LIPOTEC, certaines amines secondaires et tertiaires carbonylées, l'adénosine et ses derivés, ainsi que les sapogénines et les extraits naturels, en particulier de Wild Yam, en contenant, ainsi que les extraits de *Boswellia serrata*.

La composition selon l'invention comprenant ces composés est préférentiellement destinée à être utilisée pour prévenir ou traiter les signes cutanés du vieillissement et en particulier les rides.

- les agents tenseurs

Par "agent tenseur", on entend un composé capable d'exercer une traction sur la peau, qui a pour effet d'estomper temporairement les irrégularités de la surface de la peau, telles que les rides et ridules.

Parmi les agents tenseurs utilisables dans la composition selon la présente invention, on peut citer notamment :

(1) les polymères synthétiques, tels que les latex de polyuréthanne ou les latex acrylique-silicone, en particulier ceux décrits dans la demande de brevet EP-1038519, tels qu'un polydiméthyl siloxane greffé propylthio(polyacrylate de méthyle), propylthio(polyméthacrylate de méthyle) et propylthio(polyacide méthacrylique), ou encore un polydiméthyl siloxane greffé propylthio(polyméthacrylate d'isobutyle) et propylthio(polyacide méthacrylique). De tels polymères siliconés greffés sont notamment vendus par 3M sous les dénominations commerciales VS 80, VS 70 ou LO21,

(2) les polymères d'origine naturelle, notamment (a) les polyholosides, par exemple (i) sous forme d'amidon issu notamment de riz, de maïs, de pomme de terre, de manioc, de pois, de froment, d'avoine, etc... ou (ii) sous forme de carraghénanes, alginates, agars, gellanes, polymères cellulosiques et pectines, avantageusement en dispersion aqueuse de microparticules de gel, et (b) les latex constitués par la résine shellac, la gomme de sandaraque, les dammars, les élémis, les copals, les dérivés cellulosiques, et leurs mélanges,

(3) les protéines et hydrolysats de protéines végétales, en particulier de maïs, de seigle, de froment, de sarrasin, de sésame, d'épautre, de pois, de fève, de lentille, de soja et de lupin,

(3) les silicates mixtes, notamment les phyllosilicates et en particulier les Laponites,

(4) les microparticules de cire, choisies par exemple parmi les cires de Carnauba, de Candelila ou d'Alfa,

(5) les particules colloïdales de charge inorganique ayant un diamètre moyen en nombre compris entre 0,1 et 100 nm, de préférence entre 3 et 30 nm, et choisies par exemple parmi : la silice, les composites silice-alumine, l'oxyde de cérium, l'oxyde de zirconium, l'alumine, le carbonate de calcium, le sulfate de baryum, le sulfate de calcium, l'oxyde de zinc et le dioxyde de titane.

Les compositions selon l'invention comprenant les agents tenseurs ci-dessus sont avantageusement destinées au traitement des signes cutanés du vieillissement, en particulier des rides et ridules.

- les agents anti-pollution ou anti-radicalaire

Par l'expression "agent anti-pollution", on entend tout composé capable de piéger l'ozone, les composés aromatiques mono- ou polycycliques tels que le benzopyrène et/ou les métaux

lourds tels que le cobalt, le mercure, le cadmium et/ou le nickel. Par "agent anti-radicalaire", on entend tout composé capable de piéger les radicaux libres.

Comme agents piégeurs d'ozone utilisables dans la composition selon l'invention, on peut citer en particulier la vitamine C et ses dérivés dont le glucoside d'ascorbyle ; les phénols et polyphénols, en particulier les tannins, l'acide ellagique et l'acide tannique ; l'épigallocatéchine et les extraits naturels en contenant ; les extraits de feuille d'olivier ; les extraits de thé, en particulier de thé vert ; les anthocyanes ; les extraits de romarin ; les acides phénols, en particulier l'acide chorogénique ; les stilbènes, en particulier le resvératrol ; les dérivés d'acides aminés soufrés, en particulier la S-carboxyméthylcystéine ; l'ergothionéine ; la N-acétylcystéine ; des chélatants comme la N,N'-bis-(3,4,5-triméthoxybenzyl)éthylènediamine ou l'un de ses sels, complexes métalliques ou esters ; des caroténoïdes tels que la crocétine ; et des matières premières diverses comme le mélange d'arginine, ribonucléate d'histidine, mannitol, adénosinetriphosphate, pyridoxine, phénylalanine, tyrosine et ARN hydrolysé commercialisé par les Laboratoires Sérobiologiques sous la dénomination commerciale CPP LS 2633-12F®, la fraction hydrosoluble de maïs commercialisée par SOLABIA sous la dénomination commerciale Phytovityl®, le mélange d'extrait de fumeterre et d'extrait de citron commercialisé sous la dénomination Unicotrozon C-49® par Induchem, et le mélange d'extraits de ginseng, de pomme, de pêche, de blé et d'orge vendu par PROVITAL sous la dénomination commerciale Pronalen Bioprotect®.

Comme agents piégeurs de composés aromatiques mono- ou polycycliques utilisables dans la composition selon l'invention, on peut citer en particulier les tannins tels que l'acide ellagique ; les dérivés indoles, en particulier l'indol-3-carbinol ; les extraits de thé en particulier de thé vert, les extraits de Jacinthe d'eau ou eichornia crassipes ; et la fraction hydrosoluble de maïs commercialisée par SOLABIA sous la dénomination commerciale Phytovityl®.

Enfin, comme agents piégeurs de métaux lourds utilisables dans la composition selon l'invention, on peut citer en particulier les agents chélatants tels que l'EDTA, le sel pentasodique d'éthylènediamine tétraméthylène phosphonique, et la N,N'-bis-(3,4,5-triméthoxybenzyl)éthylènediamine ou l'un de ses sels, complexes métalliques ou esters ; l'acide phytique ; les dérivés de chitosan ; les extraits de thé, en particulier de thé vert ; les tannins tels que l'acide ellagique ; les acides aminés soufrés tels que la cystéine ; les extraits de Jacinthe d'eau (Eichornia crassipes) ; et la fraction hydrosoluble de maïs commercialisée par SOLABIA sous la dénomination commerciale Phytovityl®.

Les agents anti-radicalaires utilisables dans la composition selon l'invention comprennent, outre certains agents anti-pollution mentionnés précédemment, la vitamine E et ses dérivés tels que l'acétate de tocophéryle ; les bioflavonoïdes ; le co-enzyme Q10 ou ubiquinone ; certaines enzymes comme la catalase, le superoxyde dismutase et les extraits de germes de blé en contenant, la lactoperoxydase, le glutathion peroxydase et les quinones réductases ; le glutathion ; le benzylidène camphre ; les benzylcyclanones ; les naphtalénones substituées ; les pidolates ; le phytantriol ; le gamma-oryzanol ; la guanosine ; les lignanes ; et la mélatonine.

- les agents agissant sur la microcirculation

Les actifs agissant sur la microcirculation (vasoprotecteur ou vasodilatateur) peuvent être choisis parmi les flavonoïdes, les ruscogénines, les esculosides, l'escine extraite du marron d'Inde, les nicotinates, l'héperidine méthyl chalcone, les huiles essentielles de lavande ou de romarin, les extraits de Ammi Visnaga.

La quantité de ces actifs peut varier dans une large mesure. De manière générale, ces actifs sont présents en une concentration allant de 0,01 à 15 % et de préférence de 0,05 à 10 % en poids par rapport au poids total de la composition.

- et les agents agissant sur le métabolisme énergétique des cellules

Les actifs concernés sont ceux qui agissent sur le métabolisme énergétique cutané tel que, par exemple, et de façon non limitative, la synthèse d'ATP, ceux qui sont interviennent sur la chaîne respiratoire de la cellule ou sur les réserves énergétiques. On peut citer le Coenzyme Q10 (ubiquinone), le cytochrome C, la créatine ou encore la phosphocréatine.

Dans le cadre de l'utilisation selon l'invention pour prévenir et/ou traiter des désordres capillaire, les compositions seront à usage cosmétique et en particulier d'application topique sur la peau et les fibres kératiniques, et plus spécialement sur le cuir chevelu, les cheveux et les cils, elles peuvent se présenter sous les toutes formes galéniques connues adaptées au mode d'utilisation, par exemple, celles mentionnées plus haut.

En particulier, la composition à application sur le cuir chevelu ou les cheveux peut se présenter sous forme d'une lotion de soin capillaire, par exemple d'application journalière ou bihebdomadaire, d'un shampooing ou d'un après-shampooing capillaire, en particulier d'application bi-hebdomadaire ou hebdomadaire, d'un savon liquide ou solide de nettoyage du cuir chevelu d'application journalière, d'un produit de mise en forme de la coiffure (laque, produit pour mise en pli, gel coiffant), d'un masque traitant, d'une crème ou d'un gel moussant de nettoyage des cheveux. Elle peut encore se présenter sous forme de teinture ou de mascara capillaire à appliquer au pinceau ou au peigne.

Par ailleurs, pour une application sur les cils ou les poils, la composition à laquelle s'applique l'invention peut se présenter sous forme d'un mascara, pigmenté ou non, à appliquer à la brosse sur les cils ou encore sur les poils de barbe ou de moustache.

Selon un mode de réalisation particulier, la composition selon l'invention se présente sous forme de crème ou lotion capillaire, de shampooing ou d'après-shampooing capillaire, de mascara capillaire ou pour cils.

Lors qu'elle est destinée à être utilisée pour le traitement des cheveux ou des poils, la composition peut contenir un autre actif additionnel que l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante qui peut être hydrophile et choisi parmi les protéines ou les hydrolysats de protéine, les acides aminés, les polyols, l'urée, l'allantoïne, les sucres et les dérivés de sucre, les vitamines hydrosolubles, les extraits végétaux (ceux d'Iridacées ou de soja) et les hydroxy-acides (acide de fruit, acide salicylique) ; ou lipophile et choisi parmi le rétinol (vitamine A) et ses dérivés notamment ester (palmitate de rétinol), le tocophérol (vitamine E) et ses dérivés notamment ester (acétate ou palmitate de tocophérol), les acides gras essentiels, les céramides, les huiles essentielles, les dérivés de l'acide salicylique comme le n-octanoyl-5 salicylique, les esters des hydroxy acides, les phospholipides comme la lécithine, leurs mélanges.

Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, on peut associer à l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante au moins un composé actif additionnel favorisant la repousse et/ou limitant la chute des fibres kératiniques et notamment des cheveux. Ces composés additionnels sont notamment choisis parmi les inhibiteurs de lipoxygénase tels que décrits dans EP 0648488, les inhibiteurs de bradykinine décrits notamment dans l'EP 0 845 700, les prostaglandines et leurs dérivés notamment ceux décrits dans WO 98/33497, WO 95/11003, JP 97-100091, JP 96-134242, les agonistes ou antagonistes des récepteurs des prostaglandines, les analogues non prostanoïques de prostaglandines tels que décrits dans EP 1 175 891 et EP 1 175 890, WO 01/74307, WO 01/74313, WO 01/74314, WO 01/74315 ou WO 01/72268, leurs mélanges.

Comme autres composés actifs additionnels favorisant la pousse des fibres kératiniques et notamment du cheveu pouvant être présents dans la composition selon l'invention on peut citer les vasodilatateurs, les antiandrogènes, les cyclosporines et leurs analogues, les antimicrobiens et antifongiques, les anti-inflammatoires, les rétinoïdes, seuls ou en mélange.

Les vasodilatateurs utilisables sont notamment les agonistes des canaux potassium (différents de ceux de l'invention) incluant le minoxidil ainsi que les composés décrits dans les documents US 3,382,247, US 5,756,092, US 5,772,990, US 5,760,043, US 5,466,694, US 5,438,058, US 4,973,474, la cromakalim, le nicorandil et le diaxozide, seuls ou en association.

Les antiandrogènes utilisables incluent notamment les inhibiteurs stéroïdiens ou non stéroïdiens de 5α-réductase, comme le finastéride et les composés décrits dans US 5,516,779, l'acétate de cyprostérone, l'acide azélaïque, ses sels et ses dérivés et les composés décrits dans US 5,480,913, le flutamide et les composés décrits dans les brevets US 5,411,981,US 5,565,467 et US 4,910,226.

Les composés antimicrobiens ou antifongiques peuvent être choisis parmi les dérivés du sélénium, le kétoconazole, l'octopirox, le triclocarban, le triclosan, le pyrithione zinc, l'itraconazole, l'acide asiatique, l'hinokitiol, la mipirocine, les tétracyclines, notamment l'érythromycine et les composés décrits dans l'EP 0 680 745, le chlorhydrate de clinycine, le peroxyde de benzoyle ou de benzyle et la minocycline.

Les anti-inflammatoires peuvent être choisis parmi les anti-inflammatoires stéroïdiens comme les glucocorticoïdes, les corticostéroïdes (par exemple : l'hydrocortisone) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'acide glycyrrhétinique et l'α-bisabolol, la benzydamine, l'acide salicylique et les composés décrits dans l'EP 0 770 399, WO 94/06434 et FR 2 268 523.

Les rétinoïdes peuvent être choisis parmi l'isotrétinoïne, l'acitrétine et le tazarotène.

Comme autres composés actifs additionnels pour favoriser la pousse et/ou limiter la chute des fibres kératiniques (cheveux ou cils) utilisables en association avec le l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante on peut citer l'aminexil, le 6-O-[(9Z,12Z)-octadéca-9,12-diènoyl]hexapyranose, le chlorure de benzalkonium, le chlorure de benzéthonium, le phénol, l'œstradiol, le maléate de chlorphéniramine, les dérivés de chlorophylline, le cholestérol, la cystéine, la méthionine, le menthol, l'huile de menthe poivrée, le panthoténate de calcium, le panthénol, le résorcinol, les activateurs de la protéine kinase C, les inhibiteurs de la glycosidase, les inhibiteurs de glycosaminoglycanase, les esters d'acide pyroglutamique, les acides hexosaccharidiques ou acyl-hexosacchariques, les

éthylènes aryl substitués, les amino-acides N-acylés, les flavonoïdes, les dérivés et analogues d'ascomycine, les antagonistes d'histamine, les saponines, les inhibiteurs de protéoglycanase, les agonistes et antagonistes d'estrogènes, les pseudotèrines, les cytokines et les promoteurs de facteurs de croissance, les inhibiteurs d'IL-1 ou d'IL-6, les promoteurs d'IL-10, les inhibiteurs de TNF, les hydroxy-acides, les benzophénones, l'hydantoïne, l'acide rétinoïque ; les vitamines comme la vitamine D, les analogues de la vitamine B12 et le panthoténol ; les triterpènes comme l'acide ursolique et les composés décrits dans les documents US 5529769, US 5468888, US 5631282 ; les agents antiprurigineux comme la thénaldine, la triméprazine ou la cyproheptadine ; les antiparasitaires, en particulier le métronidazole, le crotamiton ou les pyréthrinoïdes ; les antifongiques, en particulier l'octopirox et les composés appartenant à la classe des imidazoles tels que l'éconazole, le kétoconazole ou le miconazole ou leurs sels, les esters d'acide nicotinique, dont notamment le nicotinate de tocophérol, le nicotinate de benzyle et les nicotinates d'alkyles en C_1-C_6 comme les nicotinates de méthyle ou d'hexyle ; les agents antagonistes de calcium, comme la cinnarizine, le diltiazem, la nimodipine, vérapamil, l'alvérine et la nifédipine ; les hormones telles que l'estriol ou ses analogues, la thyroxine et ses sels, la progestérone ; les agents antiandrogènes tels que l'oxendolone, la spironolactone, le diéthylstilbestrol et la flutamide ; les agonistes du récepteur FP (récepteur aux prostaglandines du type F) tels que le latanoprost, le bimatoprost, le travoprost, l'unoprostone ; les inhibiteurs de 15-hydroxyprostaglandine désydrogénase ; leurs mélanges.

La composition selon l'invention peut être appliquée sur les zones alopéciques du cuir chevelu et des cheveux d'un individu, et éventuellement laissée en contact plusieurs heures et éventuellement rincée.

<u>Exemple 1 - Préparation d'un extrait de *Vitreoscilla filiformis* contenant des LPS</u>

(MA Apicella, J Mc Leod Gritliss and H Schneider, 1994, Methods in enzymology, vol 235, 242-252)

Technique au phénol modifiée :

Préparation des lipopolysaccharides bruts

A 5 g de bactéries *Vitreoscilla filiformis* (ATCC 15551) congelées ou séchées à l'acétone sous forme de poudre sont ajoutés 25 ml de tampon 50 mM phosphate de Na pH7 contenant 5 mM d'EDTA, le mélange est agité.

Sont alors réalisées les étapes suivantes :

- ajout de 100 mg de lysosyme, agitation pendant 1 nuit à 4°C, puis incubation à 37°C pendant 20 min ;
- centrifugation pendant 3 min à basse vitesse ;
- ajustement du volume à 100 ml avec du tapon phosphate de Na (50 mM) à pH 7 contenant 20 mM MgCl2 ;
- ajout de Rnase, Dnase (à 1 mg/ml), incubation pendant 60 min à 37°C puis pendant 60 min à 60°C ;
- la suspension bactérienne est alors placée dans un bain à 70°C, et on lui ajoute un volume égal de phénol 90% (w/v) préchauffé à 70°C ;
- elle est refroidie par agitation pendant 15min dans un bain glacé ;
- centrifugation à 18 000g pendant 15min à 4°C.

Une interface marquée se fait entre les phases aqueuse et phénolique. La phase aqueuse contient les lipopolysaccharides, après dialyse contre l'eau, cette phase est lyophilisée.

Purification des lipopolysaccharides bruts

20 à 35 mg des lipopolysaccharides/ml d'eau distillée sont centrifugés à basse vitesse (1100g, 5min). Le surnageant obtenu est alors centrifugé à haute vitesse (105 000g, 16h, 4°C). Le culot est suspendu dans de l'eau, la centrifugation est répétée jusqu'à obtenir des lipopolysaccharides purifiés. Le culot final est resuspendu dans de l'eau puis lyophilisé.

Exemple 2 - Mise en évidence de l'activité immunostimulante d'un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthétique non fructifiante

L'activité immunostimulante est testée de la façon suivante : des cellules de sang périphérique humain sont mises en culture en présence d'un milieu de culture de type RPMI supplémenté par de la L-Glutamine (2mM), de la pénicilline/streptomycine (50µg/50Ui/ml), et du sérum de veau fœtal (10%). Les extraits de *Vitreoscilla filiformis* sont ajoutés à différentes concentrations (10 à 0.05mM) ainsi que la phytohemagglutine (PHA à 5 *G/ml), contrôle positif de la prolifération lymphocytaire. Après 3 jours de culture la prolifération est révélée par un marquage au BrdU.

EXEMPLE 3 : Compositions selon l'invention

Composition 1 - Lotion démaquillante pour le visage

Extrait de *Vitreoscilla filiformis*	1,00

Chlorure de strontium		5,00
Antioxydant		0,05
Isopropanol		40,00
Conservateur		0,30
Eau	qsp	100 %.

Composition 2 - Gel pour le soin du visage

Extrait de *Vitreoscilla filiformis*		5,00
Eau thermale de Vichy		10,00
Hydroxypropylcellulose (Klucel H vendu par la société Hercules)		1,00
Antioxydant		0,05
Isopropanol		40,00
Conservateur		0,30
Eau	qsp	100 %.

Composition 3 - « crème réparatrice Sommeil »

Fraction LPS de *Vitreoscilla filiformis*		1,00
Stéarate de glycérol		2,00
Polysorbate 60 (Tween 60 vendu par la société ICI)		1,00
Acide stéarique		1,40
Triéthanolamine		0,70
Carbomer		0,40
Fraction liquide du beurre de karité		12,00
Perhydrosqualène		12,00
Antioxydant		0,05
Conservateur		0,30
Eau	qsp	100 %

Composition 4 - Lotion capillaire anti-chute

- l'extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante		5,00 %
- Propylène glycol		30,00 %
- Alcool éthylique		40,00 %
- Eau	qsp	100,00 %

On applique cette lotion sur le cuir chevelu, une à deux fois par jour, à raison d'1 ml par application, en massant légèrement le cuir chevelu pour faire pénétrer l'actif. La chevelure est ensuite séchée à l'air libre. Cette lotion permet de diminuer la chute des cheveux et de favoriser leur repousse.

Composition 5 - Mascara cire/eau

- Cire d'abeilles		6,00 %
- Cire de paraffine		13,00 %
- Huile de jojoba hydrogénée		2,00 %
- Polymère filmogène hydrosoluble		3,00 %
- Stéarate de triéthanolamine		8,00 %
- Fraction LPS de *Vitreoscilla filiformis*		1,00 %
- Pigment noir		5,00 %
- Conservateur		qs
- Eau	qsp	100,00 %

Ce mascara s'applique sur les cils comme un mascara classique avec une brosse à mascara.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthétique et non fructifiante pour maintenir et/ou rétablir l'équilibre entre prolifération et différentiation des cellules épidermiques.

2. Utilisation selon la revendication 1 caractérisée en ce que ledit extrait est choisi parmi le surnageant de culture, la biomasse totale des bactérie après culture, la fraction LPS ou le lipide A.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite bactérie est *Vitreoscilla filiformis*.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour mimer les effets du sommeil sur le renouvellement cellulaire épidermique.

5. Utilisation selon la revendication 4, pour corriger les effets cutanés provoqués par le manque de sommeil.

6. Utilisation selon la revendication 4 ou 5, pour induire le renouvellement des cellules épidermiques.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, pour induire la régénération cellulaire de l'épiderme.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, pour améliorer l'apparence de la surface de la peau et/ou traiter les traits tirés ou creusés et/ou uniformiser le teint.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour prévenir l'amincissement de la fibre kératinique et/ou induire la pousse de cheveux et/ou des poils.

10. Utilisation selon la revendication 9, pour induire la repousse de cheveux ou de poils plus denses.

11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour prévenir et/ou traiter la chute des cheveux et/ou des poils.

12. Utilisation selon la revendication 11, pour prévenir et/ou traiter l'alopécie.

13. Procédé de traitement cosmétique pour effacer les signes cutanés de la fatigue en stimulant la régénération des cellules épidermiques caractérisé en ce qu'il comprend l'application sur le visage d'au moins un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante.

14. Procédé de traitement cosmétique des fibres kératiniques humaines et/ou de la peau d'où émergent les dites fibres, y compris le cuir chevelu, destiné à stimuler la croissance des fibres kératiniques humaines et/ou freiner leur chute, caractérisé par le fait qu'il consiste :
- à appliquer sur les fibres kératiniques humaines et/ou la peau d'où émergent les dites fibres, une composition cosmétique comprenant au moins un extrait de bactérie filamenteuse non photosynthètique non fructifiante,
- à laisser celle-ci en contact avec les fibres kératiniques et/ou la peau d'où émergent les dites fibres, et
- optionnellement à rincer les fibres kératiniques et/ou ladite peau.