

(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
7 février 2008 (07.02.2008)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2008/015341 A2

- (51) Classification internationale des brevets : **Non classée**
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2007/001333
- (22) Date de dépôt international : 2 août 2007 (02.08.2007)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
- | | | |
|---------|--------------------------|----|
| 0607092 | 3 août 2006 (03.08.2006) | FR |
| 0607102 | 3 août 2006 (03.08.2006) | FR |
| 0607099 | 3 août 2006 (03.08.2006) | FR |
| 0607103 | 3 août 2006 (03.08.2006) | FR |
| 0607105 | 3 août 2006 (03.08.2006) | FR |
- (71) **Déposant** (pour tous les États désignés sauf US) : **SO-CIETE D'EXTRACTION DES PRINCIPES ACTIFS SA (VINCIENCE)** [FR/FR]; 655 Route du Pin Montard, f-06410 Biot (FR).
- (72) **Inventeurs; et**
- (75) **Inventeurs/Déposants** (pour US seulement) : **DAL FARRA, Claude** [FR/FR]; 30 chemin de San Peyre, F-06650 Opio (FR). **DOMLOGE, Nouha** [FR/FR]; 10 traverse du Barri, F-06560 Valbonne (FR). **PEYRONEL, Dominique** [FR/FR]; 2bis chemin de la Source, F-05650 Opio (FR).
- (74) **Représentant commun** : **DAL FARRA, Claude**; 655 Route du Pin Montard -BP 212-, F-06904 Sophia Antipolis (FR).
- (81) **États désignés** (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, MT, 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).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

- relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii)
- relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)

Publiée :

- sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

(54) **Title:** USE OF A PLANT EXTRACT AS ACTIVE AGENT FOR INCREASING MELANIN SYNTHESIS IN MELANOCYTES

(54) **Titre :** UTILISATION D'UN EXTRAIT VEGETAL EN TANT QU'AGENT ACTIF POUR AUGMENTER LA SYNTHÈSE DE MELANINE DANS LES MELANOCYTES

(57) **Abstract:** The present invention relates to the use of a plant extract in a cosmetic composition or for the preparation of a pharmaceutical composition, as active agent intended to promote increased melanin synthesis in the melanocytes of the epidermis or of the hair bulb. The plant extract is mainly constituted of compounds of protein and peptide nature and is obtained from plants selected from the genus *Amaranthus* or *Oryza* or the species *Pisum sativum L.* (pea), *Phaseolus vulgaris* (bean) and *Theobroma cacao L.* (cocoa).

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait végétal dans une composition cosmétique ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, en tant qu'agent actif destiné à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux. L'extrait végétal est principalement constitué de composés de nature protéique et peptidique et est obtenu à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) et *Theobroma cacao L.* (cacao).

WO 2008/015341 A2

**UTILISATION D'UN EXTRAIT VEGETAL EN TANT QU'AGENT ACTIF POUR
AUGMENTER LA SYNTHÈSE DE MELANINE DANS LES MELANOCYTES**

5

La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait végétal dans une composition cosmétique ; l'extrait ou la composition étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux, en vue de lui donner un aspect bronzé, ou de préparer la peau à une exposition au soleil. La présente invention concerne également l'utilisation d'un extrait végétal pour la préparation d'une composition pharmaceutique ; l'extrait ou la composition étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux à des fins thérapeutiques, pour repigmenter la peau dépigmentée par exemple dans le cas du vitiligo, ou pour pigmenter les poils ou les cheveux, en particulier dans le traitement et la prévention de la canitie. L'extrait végétal est principalement constitué de composés de nature protéique et peptidique et est obtenu à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum* L. (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) et *Theobroma cacao* L. (cacao).

10

15

20

25

La couleur des cheveux et de la peau humaine est fonction de différents facteurs et notamment des saisons de l'année, de la race, du sexe et de l'âge. Elle est principalement déterminée par la concentration de mélanine produite par les mélanocytes. Les mélanocytes sont les cellules spécialisées qui, par l'intermédiaire d'organites particuliers, les mélanosomes, synthétisent la mélanine. La synthèse de la mélanine ou mélanogénèse est un processus complexe dont les mécanismes précis ne sont pas encore élucidés et qui fait intervenir schématiquement les étapes suivantes :

Tyrosine \longrightarrow Dopa \longrightarrow Dopaquinone \longrightarrow Dopachrome \longrightarrow Mélanine

30

Dans l'épiderme, le mélanocyte est impliqué dans l'unité mélanique épidermique qui comporte un mélanocyte entouré d'environ 40 kératinocytes voisins. Au fur et à mesure que la mélanine est synthétisée dans les mélanosomes, ceux-ci se déplacent de la région périnucléaire vers l'extrémité des dendrites des mélanocytes. Par phagocytose, l'extrémité des dendrites est capturée par les kératinocytes, les membranes dégradées et les mélanosomes redistribués dans les kératinocytes, où ils assureront une protection jusqu'à la

desquamation naturelle des cellules. La production de mélanine, ainsi que son transport, sont régulés par différents facteurs tels que, par exemple, le rayonnement UV, les hormones ou les produits chimiques. Ainsi, une augmentation de l'exposition aux rayonnements UV provoque la synthèse de pigments et le brunissement de la peau.

5 La pigmentation du cheveu et des poils requiert la présence de mélanocytes au niveau du bulbe du follicule pileux. Le follicule pileux est une invagination tubulaire de l'épiderme qui s'enfonce jusqu'aux couches profondes du derme. Les mélanocytes au niveau du bulbe du follicule pileux sont dans un état actif, c'est-à-dire qu'ils synthétisent de la mélanine. Ces pigments sont transmis aux kératinocytes destinés à former la tige pileuse, ce qui conduira à
10 la pousse d'un cheveu ou d'un poil pigmenté.

Il est admis que la canitie (blanchiment naturel des cheveux) est associée à une diminution de mélanine dans la tige pileuse.

De nos jours, il est important d'avoir bonne mine et une peau bronzée est toujours signe de
15 bonne santé. Cependant, le bronzage naturel n'est pas toujours sans risque dans la mesure où il nécessite des expositions prolongées aux rayonnements UV, qui sont susceptibles en contrepartie d'induire une altération des cellules cutanées, notamment dans le cas des individus de phototypes clairs. La peau vieillit prématurément, devient sèche et se caractérise par de nombreuses rides et taches de vieillesse. Il est donc souhaitable de trouver
20 une alternative au bronzage naturel qui soit compatible avec les exigences de santé des individus. D'autre part, on sait que dans la plupart des populations le maintien d'une coloration constante de la chevelure, signe de jeunesse, est une aspiration forte.

La recherche de composés pouvant favoriser la synthèse de la mélanine dans la peau et les
25 cheveux est une préoccupation de la dermatologie et de la cosmétique. Ces nouveaux composés seraient notamment utiles comme alternative aux expositions solaires, pour préparer la peau et protéger celle-ci des rayons du soleil, pour obtenir un bronzage plus intense après une exposition au soleil, pour prolonger la pigmentation naturelle de la peau après une exposition au soleil ou pour prévenir et/ou limiter et/ou stopper le développement de la canitie et même maintenir la pigmentation naturelle des cheveux et/ou des poils gris ou
30 blancs.

On entend par pigmentation naturelle de la peau, la coloration de la peau ou des cheveux déterminée par la concentration en mélanine.

A cet égard, il a été proposé de nombreuses solutions par apport de colorants exogènes.

On entend par colorant exogène, un colorant, ou une substance chimique, capable de réagir avec les couches superficielles de l'épiderme pour provoquer l'apparition d'une pigmentation de la peau tout à fait indépendante de la présence de mélanine.

L'un des colorants exogènes le plus connu est la dihydroxyacétone, ou DHA. Toutefois, seule la stimulation de la pigmentation de la peau et/ou des cheveux par la voie naturelle permet une réelle protection vis à vis des rayonnements UV et reste la voie idéale de stimulation de la pigmentation. Ainsi il a été proposé dans l'art antérieur la préparation et l'utilisation d'activateurs de la biosynthèse de la mélanine (FR828097, FR 2831438, FR 2845285) faisant intervenir des hormones (alpha MSH ou ses dérivés WO2006037188) ou des prostaglandines (WO9511003).

D'autre part, il existe des pathologies liées à la pigmentation comme le vitiligo qui est une maladie auto-immune se caractérisant par l'apparition sur la peau de plaques blanches liées à un déficit de pigmentation ou encore le pityriasis versicolor, une mycose superficielle provoquant l'apparition de taches claires pouvant se manifester d'emblée ou après une exposition au soleil.

La présente invention a pour principal objectif de fournir un nouvel agent actif favorisant de façon importante la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme et du bulbe pileux. Les inventeurs ont en effet mis en évidence une activité biologique et, plus particulièrement dermatologique et cosmétique, d'extraits végétaux obtenus à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) et *Theobroma cacao L.* (cacao).

L'utilisation cosmétique d'extraits végétaux obtenus à partir de ce type de plantes a déjà été décrite dans de nombreux brevets. Ainsi les brevets FR 2 746 303, JP8012549, JP10330242 décrivent l'utilisation d'extraits d'amarante, dans le domaine de la cosmétique. De même, l'utilisation d'extraits de riz, dans le domaine de la cosmétique, a déjà été décrite, entre autre, dans les brevets US5853705 et JP9087133. D'autre part, des compositions cosmétiques pour contrôler la pigmentation de la peau, contenant des polyphénols de cacao ont été décrites (WO 2006/117465). Toutefois, à la connaissance de la demanderesse, l'utilisation d'extraits végétaux, principalement constitués de composés de nature protéique et peptidique, obtenus à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) et *Theobroma cacao L.*

(cacao), pour favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux, n'a pas encore été exposée.

5 Par agent actif pro-pigmentant, on entend un composé capable de favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux.

Par poils et cheveux on entend l'ensemble des annexes pileuses et notamment également les cils et les sourcils.

10 Les compositions selon l'invention pourront être appliquées par toute voie appropriée, notamment orale, parentérale ou topique externe, et leur formulation sera adaptée par l'homme du métier, en particulier pour des compositions cosmétiques ou dermatologiques. Avantageusement, les compositions selon l'invention sont destinées à une administration par voie topique. Elles contiennent un milieu physiologiquement acceptable, en particulier un milieu cosmétologiquement ou pharmaceutiquement, notamment dermatologiquement acceptable.

15

Ainsi, l'invention a pour objet premier l'utilisation dans une composition cosmétique d'un extrait végétal, principalement constitué de composés de nature protéique et peptidique ; l'extrait ou la composition étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux.

20

Le terme "extrait" désigne toute substance ou préparation isolée, obtenue à partir de matière végétale. Il s'obtient, par exemple, par dissolution des composants actifs au moyen de solvants (comme l'eau, l'alcool, etc.) puis par concentration et purification de ces actifs, par exemple, par évaporation des solvants.

25

Plus particulièrement selon l'invention on utilise une des nombreuses plantes des genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou des espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) ou *Theobroma cacao L.* (cacao).

30 Lorsque l'on utilise les plantes du genre *Amaranthus* on peut utiliser avantageusement selon l'invention l'espèce *Amaranthus hypochondriacus* (amarante).

Lorsque l'on utilise les plantes du genre *Oryza*, on peut utiliser avantageusement selon l'invention l'espèce *Oryza sativa L.* (riz).

Selon l'invention le matériel végétal utilisé sera la graine ou le grain et préférentiellement la

graine débarrassée de son enveloppe par une étape de décorticage.

Toute méthode d'extraction ou de purification connue de l'homme du métier peut être utilisée afin de préparer l'hydrolysate selon l'invention.

5 Dans une première étape, la plante est broyée à l'aide d'un broyeur à plantes. La poudre ainsi obtenue peut ultérieurement être "délipidée" à l'aide d'un solvant organique classique (comme par exemple un alcool, un hexane ou de l'acétone).

10 On réalise ensuite classiquement l'extraction des protéines de la plante (Osborne, 1924) ; le broyat de plante étant mis en suspension dans une solution alcaline. La fraction soluble est recueillie après des étapes de centrifugation et de filtration, cette solution brute constituant
15 alors une première forme de l'extrait contenant les protéines, les glucides et éventuellement des lipides. Les protéines sont ensuite précipitées en faisant varier la force ionique et en acidifiant le milieu, ce qui permet d'éliminer les composants solubles et les acides nucléiques. Le précipité est ensuite lavé à l'aide d'un solvant tel que, par exemple, l'éthanol ou le méthanol puis le solvant est évaporé par séchage sous vide. Le précipité riche en
20 protéines est remis en solution dans l'eau ou un autre solvant et constitue alors une forme plus purifiée de l'extrait.

L'extraction peut également être réalisée en milieu neutre ou acide. L'étape de précipitation s'effectue alors à l'aide d'un agent classique de précipitation tel que les sels (chlorure de sodium, sulfate d'ammonium). Le précipité obtenu peut être séparé des agents de
25 précipitation par dialyse après remise en solution dans de l'eau ou un autre solvant. A ce stade, l'extrait obtenu contient au minimum 70 % de composés de nature protéique et peptidique.

La fraction protéique isolée selon l'invention est ensuite hydrolysée dans des conditions ménagées pour générer des polypeptides et des peptides solubles. L'hydrolyse se définit
25 comme étant une réaction chimique impliquant le clivage d'une molécule par de l'eau, cette réaction pouvant se faire en milieu neutre, acide ou basique. Selon l'invention, l'hydrolyse est réalisée par voie chimique et/ou de façon avantageuse par des enzymes protéolytiques.

On peut alors citer l'utilisation des endoprotéases et exopeptidases d'origine végétale (papaine, bromélaïne, ficine) et de micro-organismes (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Bacillus*, etc.).

30 La solution obtenue constitue l'extrait actif. L'extrait actif peut être encore purifié par fractionnement, notamment par une méthode de type chromatographique ou purifié et concentré par un procédé de dialyse. L'une quelconque des formes plus ou moins purifiées de l'extrait est alors solubilisée dans de l'eau ou dans tout mélange contenant de l'eau, puis

stérilisée par ultrafiltration.

L'extrait végétal obtenu selon l'invention est analysé qualitativement et quantitativement pour sa teneur en composés de nature protéique et peptidique. On entend par composés de nature protéique et peptidique, les fragments de protéines, les peptides et les acides aminés libres présents dans le mélange. Les peptides, acides aminés et fragments de protéines sont dosés selon les techniques classiques, bien connues de l'homme du métier.

Ainsi, selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait végétal actif contient une quantité de composés de nature protéique et peptidique représentant entre 30 et 90 % du poids total de la matière sèche, plus particulièrement cette quantité est comprise entre 60 et 80 % du poids total de la matière sèche.

L'invention a pour deuxième objet l'utilisation d'un extrait selon l'invention pour la préparation d'une composition pharmaceutique ; l'extrait ou la composition étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux afin de repigmenter la peau dépigmentée par exemple dans le cas du vitiligo, ou afin de pigmenter les poils ou les cheveux, en particulier dans le traitement et la prévention de la canitie.

L'invention se rapporte aussi à l'utilisation d'un extrait végétal selon l'invention pour la préparation d'une composition pharmaceutique ; l'extrait ou la composition étant destinés à atténuer les désordres pigmentaires associés à une hypopigmentation de la peau, notamment le vitiligo.

L'invention a également pour objet l'utilisation dans une composition cosmétique, ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, d'un extrait végétal selon l'invention ; l'extrait ou la composition étant destinés à favoriser la pigmentation des poils et/ou des cheveux.

L'invention se rapporte encore à l'utilisation dans une composition cosmétique, ou pour la préparation d'une composition pharmaceutique, d'un extrait végétal selon l'invention ; l'extrait ou la composition étant destinés à préparer la peau à une exposition au soleil.

L'invention se rapporte encore à l'utilisation dans une composition cosmétique, ou pour la

préparation d'une composition pharmaceutique, d'un extrait végétal selon l'invention ; l'extrait ou la composition étant destinés, par l'augmentation de la synthèse de mélanine, à protéger la peau des rayonnements du soleil.

- 5 Selon une autre forme de l'invention, l'utilisation de l'extrait végétal ou de la composition le contenant est destinée à protéger la peau des stress environnementaux

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait végétal est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou pharmaceutiquement
10 acceptables comme l'eau, le glycérol, le propylène glycol, le butylène glycol, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, l'éthanol, le propanol ou l'isopropanol.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait végétal est préalablement solubilisé dans un vecteur cosmétique ou pharmaceutique comme les
15 liposomes ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, des supports minéraux comme les talcs et bentonites, et plus généralement solubilisé dans, ou fixé sur, tout vecteur cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable.

Pour donner un ordre de grandeur, dans les compositions cosmétiques ou dermatologiques
20 de la présente invention, l'extrait végétal est utilisé en une quantité représentant de 0,0001 % à 20 % du poids total de la composition, et préférentiellement en une quantité représentant de 0,05 % à 5 % du poids total de la composition.

Ainsi, la teneur en composés de nature protéique et peptidique, dans les compositions de la
25 présente invention, sera alors de 0,00003 % à 18% et préférentiellement de 0,015 % à 9 % du poids total de la composition, pour des extraits végétaux contenant entre 30 et 90 % de composés de nature protéique et peptidique. Ou encore, la teneur en composés de nature protéique et peptidique dans les compositions de la présente invention, sera de 0,0006 % à 16 % et préférentiellement de 0,03 % à 8 % du poids total de la composition, pour des
30 extraits végétaux contenant entre 60 et 80 % de composés de nature protéique et peptidique.

Outre l'intérêt majeur de la pigmentation de la peau dans la protection solaire, un composé pro-pigmentant selon l'invention offre des débouchés dans les produits auto-bronzants et les

produits favorisant le bronzage. Pour cela, l'invention se rapporte à l'utilisation d'extrait végétal pour la fabrication de produits pour le bronzage et/ou le brunissage artificiels de la peau.

- 5 L'invention se rapporte aussi à l'utilisation d'extrait végétal pour améliorer l'intensité et/ou l'homogénéité et/ou la persistance de la coloration produite sur la peau et/ou les cheveux.

Préférentiellement, les compositions selon la présente invention se présenteront sous une forme adaptée à l'administration par voie topique cutanée, et couvrent toutes les formes
10 cosmétiques ou dermatologiques. Ces compositions doivent donc contenir un milieu cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable, c'est-à-dire compatible avec la peau, les poils ou les cheveux. Ces compositions pourront notamment être sous forme de crèmes, émulsions H/E, E/H ou émulsions multiples, solutions, suspensions, gels, laits, lotions, sticks ou encore poudres, adaptés à une application sur la peau, les lèvres et/ou les cheveux.

15 Ces compositions comprennent les excipients nécessaires à leur formulation, tels que solvants, épaississants, diluants, tensioactifs, anti-oxydants, colorants, conservateurs, parfums.

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

La composition utilisable selon l'invention peut en particulier consister en une composition pour soins capillaires, et notamment un shampooing, un après-shampooing, une lotion de mise en plis, une lotion traitante, une crème ou un gel coiffant, une lotion restructurante
25 pour les cheveux, un masque, etc. La composition cosmétique selon l'invention peut être utilisée notamment dans les traitements mettant en oeuvre une application qui est suivie ou non suivie d'un rinçage, ou encore sous forme de shampooing.

Elle peut également se présenter sous forme de teinture ou de mascara à appliquer au pinceau ou au peigne, en particulier sur les cils, les sourcils ou les cheveux.

30

Il est bien entendu évident que les extraits végétaux selon l'invention, principalement constitués de composés de nature protéique et peptidique, pourront être utilisés en tant que seul agent pro-pigmentant ou bien en association avec au moins un autre agent actif, dans

une composition cosmétique ou pour la préparation d'une composition dermatologique et/ou pharmaceutique.

Avantageusement, les compositions utilisables selon l'invention contiennent en outre au moins un autre agent favorisant la pigmentation de la peau, des cheveux et/ou des poils.

De tels composés sont notamment des substrats de la tyrosinase, tels que la tyrosine ou la L-DOPA, des prostaglandines, ou des composés activateurs de la voie de l'AMPc tels que des dérivés de pro-opiomélanocortines, l'adénosine, ou la forskoline ou ses dérivés. On peut également citer des extraits de végétaux tels que le bigaradier (*Citrus aurantium*) ou de chrysanthème (*Chrysanthemum morifolium*), décrits notamment dans les brevets FR 2845285 et EP1014934.

De tels composés se trouvent également dans la famille des colorants exogènes des couches superficielles de l'épiderme, tels que la dihydroxyacétone (DHA), l'érythrose, les extraits de feuilles de henné, décrits notamment dans les brevets EP 0742002, FR2779958.

15

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples donnés à titre illustratif et non limitatif.

Exemple 1 : Préparation des extraits végétaux

20 L'agent actif peut être obtenu à partir d'un extrait de grains de l'espèce *Pisum sativum* L. (pois), mais bien entendu l'extrait peut être préparé à partir de plantes d'au moins l'une quelconque des nombreuses variétés et espèces appartenant au genre *Pisum*.

L'agent actif peut être obtenu à partir d'un extrait de grains de l'espèce *Phaseolus vulgaris* (haricot). Bien entendu l'extrait peut être préparé à partir de plantes d'au moins l'une quelconque des nombreuses variétés et espèces appartenant au genre *Phaseolus*.

25 L'agent actif peut être obtenu à partir d'un extrait de fèves (ou grains) de l'espèce *Theobroma cacao* L. (cacao). Bien entendu l'extrait peut être préparé à partir de plantes d'au moins l'une quelconque des nombreuses variétés et espèces appartenant au genre *Theobroma*.

30 L'agent actif peut être obtenu à partir d'un extrait de graines de l'espèce *Amaranthus hypochondriacus* (amarante). Bien entendu l'extrait peut être préparé à partir de plantes d'au moins l'une quelconque des nombreuses variétés et espèces appartenant au genre *Amaranthus*.

L'agent actif peut être obtenu à partir d'un extrait de grains de l'espèce *Oryza sativa L.* (riz). Bien entendu l'extrait peut être préparé à partir de plantes d'au moins l'une quelconque des nombreuses variétés et espèces appartenant au genre *Oryza*.

5 Dans une première étape, 1 kg de grains décortiqués sont délipidés par l'action d'un solvant organique : l'hexane. Les grains sont ensuite broyés dans un broyeur à couteau puis sont mis en suspension dans une solution aqueuse alcaline (dilution au 1/10). Ce mélange est maintenu sous agitation pendant un temps suffisamment long pour permettre la solubilisation des fractions solubles. La température d'extraction est variable (comprise entre
10 4 et 80°C) ; préférentiellement l'opération sera réalisée à froid. Après cette phase d'extraction le milieu est clarifié par centrifugation puis filtré sur filtre à plaque. Ce filtrat qui contient les fractions solubles du végétal est ensuite soumis à une précipitation des protéines en faisant varier la force ionique en milieu neutre ou acide, ce qui permet d'éliminer les composants glucidiques solubles, les lipides et les acides nucléiques. Le
15 surnageant est éliminé et le précipité est ensuite lavé à l'aide d'un solvant tel que, par exemple, l'éthanol ou le méthanol puis le solvant est évaporé par séchage sous vide.

A ce stade, on obtient environ 50 grammes de poudre de couleur jaune clair d'extrait protéique brut contenant :

- Protéines : 75 %
- 20 - Glucides : 20 %
- Lipides : 5 %

Le précipité riche en protéines est remis en solution dans l'eau ou un autre solvant. L'extraction peut également être réalisée en milieu neutre ou acide.

L'extrait protéique brut est alors soumis à une série d'hydrolyses ménagées et sélectives
25 consistant en des hydrolyses chimiques et enzymatiques. A titre d'exemple on peut citer l'hydrolyse en présence d'exopeptidases (papaïne, ficine).

L'hydrolysate est ensuite purifié puis dialysé sur membrane pour éliminer les composés de haut poids moléculaire.

On obtient alors un hydrolysate de couleur claire titrant de 15 à 30 g/l d'extrait sec et
30 contenant une quantité de composés de nature protéique et peptidiques représentant environ 70 % du poids total de la matière sèche. L'extrait hydrolysé selon l'invention est alors dilué de telle sorte que la concentration en protéines déterminée par la méthode de Lowry, soit comprise entre 0,5 et 2 g/l.

Exemple 2 : Etude *ex vivo* de l'effet de l'extrait végétal selon l'exemple 1 sur la synthèse de mélanine

Le but de cette étude *ex vivo* est de mettre en évidence l'augmentation de la mélanisation apportée par l'extrait selon l'exemple 1.

5 **Protocole** : Des biopsies de peau humaine de 6 mm de diamètre sont maintenues en culture *ex vivo* en présence d'un milieu spécifique (DMEM 1g/L, HAMF12, SVF et antibiotiques) sur des inserts déposés dans des plaques 6 puits. Les biopsies sont cultivées pendant 48 heures et reçoivent ou non 2 applications par jour d'extrait selon l'exemple 1 à une concentration de 1 %. Les biopsies sont ensuite fixées dans le formol 9 %, NaCl (150 mM)
10 pendant 10 heures puis incluses dans la paraffine. Des coupes de peau de 3 µm d'épaisseur sont ensuite réalisées et la mélanine est colorée spécifiquement par la technique de Fontana-Masson.

Résultats : Les coupes de peau n'ayant pas reçu l'application d'extrait selon l'exemple 1 présentent une coloration de faible intensité. Au contraire, les coupes de peau ayant reçu les
15 applications d'extrait selon l'exemple 1 présentent une coloration d'intensité nettement augmentée. De plus, la mélanine est située dans la couche basale, mais aussi transportée dans les couches supra-basales.

Conclusions : 48 heures de traitement ont permis d'induire une forte augmentation de la synthèse de mélanine par les mélanocytes et de stimuler l'ensemble du processus de
20 répartition de la mélanine dans l'épiderme.

Exemple 3 : Préparation de compositions

Ces compositions ont été obtenues par simple mélange des différents composants. Les quantités indiquées sont données en pourcentage de poids.

25

1-Emulsion huile-dans-eau

Phase huileuse :

■ Montanov 68 (Cetearyl Alcohol and Cetearyl Glucoside)	5.00	%
■ Huile de Jojoba	5.00	%
30 ■ Huile de Vaseline	5.00	%
■ Isopropyl Palmitate	7.00	%

Phase aqueuse :

■ Glycérine	5.00	%
-------------	------	---

	■ Allantoïne	0.10	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	1.00	%
	■ Sepigel 305 (Polyacrylamide and C13-14 Isoparaffin and Laureth-7)	0.30	%
	■ Conservateur	0.50	%
5	■ Parfum	0.50	%
	■ Eau	qsp 100	%

2- Gel

	■ Carbopol Ultrez 10 (sol. à 2%)	25.00	%
10	■ Triéthanolamine	0.50	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	5.00	%
	■ Conservateur	0.20	%
	■ EDTA (séquestrant)	0.10	%
	■ Parfum	0.50	%
15	■ Eau	qsp 100	%

3- Lotion

	■ Mono Propylène Glycol	1.00	%
	■ Allantoïne	0.30	%
20	■ Glycérine	1.00	%
	■ Cetiol HE (PEG-7 Glyceryl Cocoate)	1.00	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	0.5	%
	■ Conservateur	0.20	%
	■ Parfum	0.50	%
25	■ Eau	qsp 100	%

4-Emulsion autobronzante huile-dans-eauPhase huileuse :

	■ Mélange mono/distéarate de glycérol	2.00	%
30	■ Alcool stéarylique	1.00	%
	■ Acide stéarique d'huile de palme	1.50	%
	■ Poly diméthylsiloxane	2.00	%
	■ Mélange poly diméthylsiloxane alpha-omega dihydroxyle/cyclopentadiméthylsiloxane (14,7/85,3)	3.00	%

	■ Lauroyl sarconisate d'isopropyle	15.00	%
	<u>Phase aqueuse :</u>		
	■ Dihydroxyacétone	5.00	%
	■ Glycérine	5.00	%
5	■ Phosphate d'alcool hexadécylique, sel de potassium	1.00	%
	■ Acide polyacrylique	0.30	%
	■ Triéthanolamine	qsp	pH : 7
	■ Acétate de dl-alpha-tocopheryle	0.50	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	1.00	%
10	■ Eau déminéralisée	qsp 100.00	%

5-Emulsion autobronzante eau-dans-huilePhase huileuse :

	■ Polydiméthyl	2.00	%
15	■ Phényl triméthylsiloxyle trisiloxane	3.00	%
	■ Lauroyl sarcosinate d'isopropyle	10.00	%
	■ Isohexadecane	5.00	%
	■ Cyclopenta diméthylsiloxane	3.00	%

Phase aqueuse :

20	■ Dihydroxyacétone	2.00	%
	■ Glycérine	5.00	%
	■ Sulfate de magnésium	0.70	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	1.00	%
	■ Eau déminéralisée	qsp 100.00	%

25

6- Lotion autobronzante

	■ Dihydroxyacétone	5.00	%
	■ Extrait lyophilisé d' <i>Eclipta prostrata</i>	0.40	%
	■ Ethanol à 96%	13.00	%
30	■ Ethoxydiglycol	7.00	%
	■ Eumulgin [®] L (PPG-1-PEG-9-Lauryl Glycol Ether)	5.00	%
	■ Parabens	0.25	%
	■ Extrait selon l'exemple 1	1.00	%

■ Eau déminéralisée	qsp	100.00	%
---------------------	-----	--------	---

7- Emulsion huile-dans-eau autobronzante

	■ Eau		66.80	%
5	■ Ethoxydiglycol		5.00	%
	■ Xanthan gum		0.30	%
	■ Cetyl hydroxyethylcellulose		0.30	%
	■ Cetyl alcohol		2.00	%
	■ Stearyl alcohol		2.00	%
10	■ Octyl palmitate		2.00	%
	■ Glucam P-20 distearate		2.00	%
	■ Steareth-20		1.00	%
	■ Dimethicone		1.00	%
	■ Polysorbate 60		1.00	%
15	■ Dimethicone Copolyol/IPDI Copolymer		1.00	%
	■ Glyceryl stearate and PEG-100 stearate		0.25	%
	■ Actiplex 335 Lipo OP		0.1	%
	■ Tocopheryl acetate		0.1	%
	■ Eau		10.975	%
20	■ Dihydroxyacetone		2.00	%
	■ Nipaguard MPA		0.60	%
	■ Panthenol, 50% aqueux		0.40	%
	■ Sorbic acid		0.05	%
	■ Sodium metabisulfite		0.025	%
25	■ Extrait selon l'exemple 1		1.00	%

REVENDEICATIONS

5

1. Utilisation d'un extrait végétal obtenu à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) ou *Theobroma cacao L.* (cacao), principalement constitué de composés de nature protéique et peptidique, seul ou en association avec au moins un autre agent actif, dans une composition cosmétique, l'extrait ou la composition le contenant étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux et à améliorer la pigmentation naturelle de la peau.

10

15

2. Utilisation d'un extrait végétal obtenu à partir de plantes choisies parmi les genres *Amaranthus* ou *Oryza* ou les espèces *Pisum sativum L.* (pois), *Phaseolus vulgaris* (haricot) ou *Theobroma cacao L.* (cacao), principalement constitué de composés de nature protéique et peptidique, seul ou en association avec au moins un autre agent actif, pour la préparation d'une composition dermatologique et/ou pharmaceutique, l'extrait ou la composition le contenant étant destinés à favoriser l'augmentation de la synthèse de mélanine dans les mélanocytes de l'épiderme ou du bulbe pileux et à atténuer les désordres pigmentaires associés à une hypopigmentation de la peau.

20

25

3. Utilisation selon les revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que les plantes appartenant au genre *Amaranthus* sont de l'espèce *Amaranthus hypochondriacus* (amarante).

4. Utilisation selon les revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que les plantes appartenant au genre *Oryza* sont de l'espèce *Oryza sativa L.* (riz).

30

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'extrait végétal contient une quantité de composés de nature protéique et peptidique, représentant entre 30 % et 90 % du poids total de la matière sèche et plus particulièrement entre 60 % et 80 % du poids total de la matière sèche.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition se présente sous une forme adaptée à l'application par voie topique comprenant un milieu cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable.
- 5 7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'extrait est utilisé en une quantité représentant de 0,0001 % à 20 % du poids total de la composition, et préférentiellement en une quantité représentant de 0,05 % à 5 % du poids total de la composition.
- 10 8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition contient en outre au moins un colorant exogène des couches superficielles de l'épiderme et/ou au moins un agent actif pro-pigmentant différent dudit extrait selon les revendications 1 à 5, choisi parmi les substrats de la tyrosinase ou les prostaglandines ou les composés activateurs de la voie de l'AMPc ou les extraits végétaux pigmentants.
- 15 9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que l'extrait ou la composition le contenant sont destinés, par l'augmentation de la synthèse de mélanine, à préparer la peau à une exposition au soleil ou à protéger la peau des rayonnements du soleil.
- 20 10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que l'extrait ou la composition le contenant sont destinés à protéger la peau des agressions extérieures, en particulier des rayons UV.
- 25 11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que l'extrait ou la composition le contenant sont destinés au bronzage et/ou au brunissage artificiels de la peau.
- 30 12. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que l'extrait ou la composition le contenant sont destinés à améliorer l'intensité et/ou l'homogénéité et/ou la persistance de la pigmentation de la peau et/ou des cheveux.

13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que l'extrait ou la composition le contenant sont destinés à prévenir ou à traiter le blanchiment des poils et/ou des cheveux.