

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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



PCT

(43) Date de la publication internationale  
18 décembre 2008 (18.12.2008)

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2008/152268 A2**

(51) Classification internationale des brevets :  
*A61K 8/97* (2006.01)      *A61Q 19/02* (2006.01)  
*A61Q 1/02* (2006.01)      *A61Q 19/08* (2006.01)  
*A61Q 19/00* (2006.01)

(74) Mandataires : **PORTAL, Gérard** etc.; Cabinet Beau de Lomenie, 158 rue de l'Université, F-75340 Paris Cedex 07 (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2008/050811

(22) Date de dépôt international : 7 mai 2008 (07.05.2008)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0755042                            11 mai 2007 (11.05.2007) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) : **LVMH RECHERCHE** [FR/FR]; 185, avenue de Verdun, F-45800 Saint Jean De Braye (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **BONTE, Frédéric** [FR/FR]; 54 rue Tudelle, F-45100 Orleans (FR). **DUMAS, Marc** [FR/FR]; 18 allée du Vieux-Poirier, F-45650 Saint Jean Le Blanc (FR). **ARCHAMBAULT, Jean-Christophe** [FR/FR]; 10 rue Pavé de vendôme, F-45130 Meung Sur Loire (FR).

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, 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
- avec tous renseignements concernant l'incorporation par renvoi d'éléments ou de parties manquantes

(54) Title: COSMETIC COMPOSITION CONTAINING AN ADENIUM OBESUM EXTRACT, USE THEREOF AND METHOD FOR COSMETIC CARE INCLUDING THE USE THEREOF

(54) Titre : COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN EXTRAIT D'ADENIUM OBESUM, SON UTILISATION ET UNE METHODE DE SOIN COSMETIQUE EN COMPORTEANT L'APPLICATION

(57) Abstract: The invention relates to a cosmetic composition that comprises an extract of Adenium obesum and at least one cosmetically acceptable carrier. The composition can be used for strengthening the skin, reinforcing the cohesion of the dermal-epidermal junction, preventing or delaying skin ageing effects, or obtaining a protective, corrective, restructuring, hydrating or moisturising effect.

(57) Abrégé : L'invention concerne une composition cosmétique. Cette composition cosmétique comprend un extrait d'Adenium obesum et au moins un excipient cosmétiquement acceptable. Cette composition peut être utilisée pour renforcer la barrière cutanée, à renforcer la cohésion de la jonction dermo-épidermique, à prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, ou encore obtenir un effet protecteur, correcteur, restructuring, hydratant ou humectant.

WO 2008/152268 A2

Composition cosmétique comprenant un extrait d'Adenium obesum, son utilisation et une méthode de soin cosmétique en comportant l'application

La présente invention porte sur une composition cosmétique  
5 comprenant un extrait d'Adenium obesum, une nouvelle utilisation d'un extrait de cette plante dans le domaine de la cosmétique, son utilisation notamment pour renforcer la barrière cutanée et/ou la jonction dermo-épidermique, et une méthode de soin cosmétique en comportant l'application.

10 La peau est la couche la plus externe qui protège notre organisme.

La couche cornée et l'épiderme qui forment les couches les plus superficielles de la peau doivent présenter une résistance aux forces et contraintes mécaniques qui s'exercent sur celles-ci, et également une résistance à l'évaporation de l'eau.  
15

Les jonctions intercellulaires des cellules épithéliales, par exemple de l'épiderme, peuvent être classées en deux groupes selon leur ultrastructure et leur fonction :

- les jonctions adhérentes ou d'ancre, également appelées "desmosomes", qui permettent l'attache mécanique des cellules entre elles et renforcent la solidité mécanique des systèmes d'étanchéité,  
20

- les jonctions étanches, également appelées "jonctions serrées" capables de limiter la perméabilité de l'épithélium stratifié qu'est l'épiderme et qui assurent l'étanchéité vis-à-vis de l'eau entre deux compartiments cellulaires.  
25

Les desmosomes sont des sites de liaison pour les kératines entre deux cellules (kératinocytes ou cornéocytes) et ainsi renforcent l'adhésion des kératinocytes entre eux, des kératinocytes aux cornéocytes du stratum et des cornéocytes entre eux.

30 Ces jonctions adhérentes ou d'ancre permettent à des groupes de cellules d'agir comme des unités structurales solides en associant les éléments du cytosquelette d'une cellule à ceux d'une autre.

Les filaments de kératine au sein des kératinocytes et des cornéocytes forment une charpente structurale pour leur cytoplasme et 35 assurent leur résistance aux forces latérales et verticales et aux contraintes mécaniques que ces cellules subissent.

Pour plus de détails on pourra se rapporter au document de A H M Shabana et al dans Biologie infectiologie 1997, tome III, n° 1.

Les desmosomes sont des structures complexes qui contiennent deux protéines principales, la desmogléine, glycoprotéine de poids moléculaire 160 kDa, et la desmoplakine d'un poids moléculaire de 285 kDa qui fixent les filaments de kératine.

Les desmosomes jouent donc un rôle essentiel dans ces mécanismes de résistances aux efforts auxquels sont soumises les cellules de l'épiderme et dans la prévention de l'évaporation de l'eau intercellulaire, phénomène responsable de sécheresse cutanée et s'accélérant au cours du vieillissement de la peau.

#### ETAT DE LA TECHNIQUE

JP 2001288113 (LION CORP) divulgue une composition cosmétique comprenant une substance permettant l'expression de la desmogléine, la desmocolline ou la desmoplakine, protéines constitutives des desmosomes en vue d'obtenir un effet préventif ou améliorant des effets du vieillissement de la peau tels que la sécheresse cutanée ou la formation de rides.

FR 2 803 523 (TEXINFINE SA) a pour objet une composition cosmétique à base d'extraits d'algue de la famille des Dictyotales, plus particulièrement un extrait de *Padina pavonica* provoquant la maturation des kératinocytes, avec amplification de la synthèse des cytokératines 1 et 10, et augmentation des protéines desmosomales.

Cependant, c'est le mérite de la Demanderesse d'avoir découvert de manière totalement inattendue qu'il est possible de stimuler l'expression des protéines constitutives des desmosomes, dénommés aussi protéines desmosomales, des cellules de l'épiderme cutané humain par l'utilisation d'un extrait d'*Adenium obesum*.

L'*Adenium obesum*, également appelée "rose du désert", est une plante appartenant à la famille des apocynacées, originaire du Yémen et cultivée comme plante tropicale ornementale.

Des travaux antérieurs ont visé à identifier des composants extraits de différentes parties de l'*Adenium obesum* et l'éventuelle activité pharmacologique cytotoxique ou anti-oxydative de ceux-ci (voir Hoffman, J. Pharm. Sci. 66 (9), 1336-38 (1977)) ou encore Pale et al., Comptes-rendus

Chimie 7 (10-11), 973-80).

D'autre part, le document WO 96/11015 divulgue une composition hydratante homéopathique destinée à une absorption par voie orale.

5 En effet, l'effet hydratant vise à augmenter ou faciliter le passage de l'eau et d'ions au niveau de l'intestin. Ce document ne divulgue ni n'enseigne aucune application cosmétique, ni aucun effet sur la peau. Il ne fait mention d'aucun excipient.

10 Le document abrégé XP004852864 de Adamu et al, publié dans le "Journal of Ethnopharmacology, Elsevier Scientific Publishers limited pages 1-4, ISSN 0378-8741 vise l'étude de plantes médicinales utilisées localement dans le traitement de diverses maladies. Aucune utilisation cosmétique n'est décrite ni même envisagée.

15 Le document PALE E et al, intitulé "caractérisation des mesures anti-radicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina-Faso, publié en octobre 2004 dans "Compte-rendu Chimie" Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, pages 973-980; ISSN 1631-0748 inclut la mesure de l'activité anti-radicalaire de diverses plantes parmi lesquelles les fleurs d'Adenium obesum.

20 Cependant, il apparaît que les activités anti-radicalaires des extraits de la plante Adenium obesum dans lesquelles on note la présence d'un rhamnosyle sont faibles. De ce fait, pour un homme de l'art l'activité anti-radicalaire d'un extrait de cette plante n'est pas significative. Ce document ne prévoit pas d'utilisations cosmétiques.

25 Ainsi, aucun des travaux publiés à ce jour ne s'est intéressé aux éventuelles propriétés cosmétiques d'extraits d'Adenium obesum et en particulier à son effet stimulant sur les protéines desmosomales de l'épiderme.

30 La Demanderesse a mis en évidence qu'un extrait d'Adenium obesum stimule l'expression de protéines des desmosomes présents au niveau des jonctions intercellulaires des cellules formant l'épiderme et la couche cornée, et plus particulièrement permet de stimuler l'expression de la desmoglaine, et en particulier de la desmoglaine 1, ou de la desmplakine, qui sont deux des protéines constitutives des jonctions desmosomales de l'épiderme, impliquées dans la cohésion inter-kératinocytaire ou inter-cornéocytaire.

Une telle stimulation permet d'accroître l'efficacité de ces jonctions adhérentes et ainsi d'améliorer la résistance aux contraintes subies par ces couches cellulaires et de limiter l'évaporation de l'eau intercellulaire.

Ainsi le renforcement de la barrière cutanée résulte 5 principalement de ces deux phénomènes physiologiques qui sont d'une part, une résistance améliorée aux contraintes subies par les cellules de la couche cornée et de l'épiderme et d'autre part, une plus grande résistance à l'évaporation de l'eau intercellulaire.

La Demanderesse a également mis en évidence que ce même 10 extrait d'Adenium obesum permet de stimuler l'expression des protéines constitutives des hémidesmosomes et desmosomes à la base de l'épiderme, plus particulièrement à la jonction dermo-épidermique (JDE).

Une telle stimulation permet donc de renforcer la cohésion entre 15 les compartiments cellulaires, notamment entre la couche cornée (stratum corneum) et l'épiderme vivant, ou entre l'épiderme et le derme, c'est-à-dire le renforcement de la jonction dermo-épidermique.

#### BUTS DE L'INVENTION

La présente invention a pour but principal de fournir un nouvel 20 agent cosmétique ou une nouvelle composition cosmétique ayant une bonne activité de renforcement de la barrière cutanée, capable également de prévenir ou de ralentir les effets du vieillissement de la peau ou encore d'obtenir un effet hydratant ou humectant important ou amélioré.

L'invention a encore pour but de résoudre le problème technique 25 par une solution particulièrement simple, relativement peu coûteuse, utilisable à l'échelle industrielle et cosmétique.

#### DESCRIPTION DE L'INVENTION

La présente invention a ainsi pour objet une composition 30 cosmétique comprenant un extrait d'Adenium obesum à titre d'agent actif et au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

Elle a également pour objet une composition cosmétique dans laquelle ledit agent actif contribue au renforcement de la barrière cutanée et/ou au renforcement de la cohésion de la jonction dermo-épidermique.

35 La composition cosmétique selon l'invention comprend une quantité efficace d'extrait d'Adenium obesum pour obtenir l'effet recherché.

La composition selon l'invention comprend ainsi préférentiellement de 0,001% à 5% en poids, de préférence de 0,01% à 1% en poids d'extrait d'Adenium obesum.

L'extrait peut être obtenu à partir de la plante entière ou de 5 parties de cette plante, comme par exemple les feuilles, la tige, les fleurs ou encore les racines.

Ledit extrait peut également être obtenu par mise en culture de cellules de la plante entière ou de partie de la plante, en particulier de cellules des feuilles d'Adenium obesum, dans un milieu de culture de cellules végétales connu de l'homme de l'art. 10

L'extrait d'Adenium obesum est susceptible d'être obtenu par extraction d'une partie au moins de ladite plante par au moins un solvant choisi avantageusement dans le groupe comprenant l'eau, un alcool en C1-C4, par exemple l'éthanol, et un glycol choisi préférentiellement parmi le 15 butylèneglycol et le propylèneglycol.

L'extrait d'Adenium obesum obtenu par extraction peut ensuite, de façon optionnelle, être lyophilisé ou atomisé pour se présenter sous la forme d'une poudre.

La poudre peut être utilisée en l'état dans une composition 20 cosmétique selon l'invention ou être redispersée dans un solvant ou un mélange de solvants.

Le solvant ou le mélange de solvants dans lequel l'extrait sous forme de poudre est redispersé peut être identique ou différent de celui ayant servi à l'extraction.

25 L'extrait d'Adenium obesum peut également être adsorbé sur un support choisi par exemple dans le groupe comprenant des poudres de nylon, poreuses ou non poreuses, et des micas ou toute substance minérale lamellaire, en vue d'une incorporation dans une composition de maquillage telle qu'un rouge à lèvres ou un fond de teint hydratant.

30 Dans ce cas, l'extrait d'Adenium obesum est préférentiellement un extrait aqueux.

Il a été découvert de manière totalement inattendue que l'extrait de l'invention présente une activité telle qu'elle permet de contribuer au renforcement de la barrière cutanée, et à l'amélioration de la cohésion de la 35 jonction dermo-épidermique.

Il en résulte une amélioration de l'hydratation de la peau et un

effet anti-vieillissement.

Il est possible ainsi d'obtenir une belle peau, une peau douce ou une peau avec le grain plus fin.

- Les essais réalisés par les inventeurs de la présente invention ont
- 5 montré que les propriétés de l'extrait d'Adenium obesum peuvent être également obtenues ou améliorées dans des compositions cosmétiques, avec les associations dudit extrait avec d'autres agents actifs présentant des effets cosmétiques similaires et/ou complémentaires de l'extrait d'Adenium obesum.
- 10 Une première association avantageuse de l'extrait d'Adenium obesum est réalisée avec des saponines ou sapogénols . Ces saponines ou sapogénols peuvent être obtenus à partir de diverses plantes par extraction avec un solvant polaire, notamment avec un alcool ou un mélange eau/alcool. Des saponines particulières sont celles qui sont extraites à partir
- 15 du soja ou de la plante Medicago ou de la luzerne. Des saponines particulièrement intéressantes sont celles obtenues par extraction de la plante Panax notoginseng, en particulier sous forme de saponine de type gensenoside.

Il a été décrit dans le document antérieur du déposant

20 WO99/07338 que les saponines extraites de panax notoginseng, en particulier sous forme de saponine de type gensenoside, par exemple, saponine gensenoside GRb1; ou GRg1; ou GRd; ou GR1; ou GRe et leurs mélanges, sont particulièrement efficaces pour stimuler la synthèse de l'élastine par les fibroblastes du derme ; Ce qui permet une utilisation

25 comme agents actifs cosmétiques permettant de prévenir ou corriger une perte d'élasticité, de tonicité ou de fermeté cutanée.

L'homme de l'art pourra se reporter à ce document WO 99/07338 pour obtenir d'autres informations concernant l'utilisation des saponines de panax notoginseng et leurs conditions d'extraction.

30 En ce qui concerne les saponines de soja, celles-ci sont décrites dans la demande de brevet des parfums Christian DIOR publiée sous le n°US 6,149,148 B1 qui décrit des saponines ou des sapogénols utilisé(e)s en cosmétique pour améliorer la synthèse de collagène IV. L'homme de l'art pourra se reporter à ce document pour trouver les conditions d'extraction

35 de ces saponines et sapogénols et leurs conditions d'utilisation en cosmétique pour améliorer la jonction dermo-épidermique.

Les saponines ou sapogenols précité(e)s, quelle que soit leur origine, en particulier sous forme d'extraits de plantes sont utilisés par voie topique dans une composition cosmétique dans une concentration comprise entre 0.001% et 5 % en poids par rapport au poids total de la composition,  
5 de préférence comprise entre 0.01 % et 0.1% en poids total de la composition les contenant.

Les associations préférées pour renforcer la barrière cutanée sont mises en œuvre avec un ou plusieurs agents actifs choisis dans le groupe  
10 comprenant un extrait de *Castanea sativa*, un extrait d'*Ajuga turkestanica*, des mélanges de céramides, d'acides gras libres et de stérols, l'ecdystérone, le gluconate de calcium, le D-xylose, la L-sérine ou l'acide pyrrolidone carboxylique et ses sels cosmétiquement acceptables comme par exemple un sel de calcium.

15 L'extrait d'*Adenium obesum*, seul ou en association avec d'autres agents actifs participant au renforcement de la barrière cutanée, peut être également associé de façon avantageuse avec un ou plusieurs agents actifs choisis dans le groupe comprenant un extrait glycolique d'ambre, l'acide succinique, l'acide malique, l'acide salicylique, l'acide gentisque, le gentisate  
20 de tocophérol, l'ectoïne et/ou ses dérivés hydroxylés, le mannitol, la forskoline, l'urée, la sarcosine, la triméthylglycine, la créatine, le glutathion, les filtres UVA et/ou UVB, les substances antiradicalaires telles que le tocophérol, le resvératrol, ses monomères ou oligomères, l'astringinine, le tocotriénol ou un extrait de *Sanguisorba officinalis*, les substances calmantes  
25 telles que le phosphate de tocophérol, les substances éclaircissantes du teint et /ou régulant les désordres pigmentaires cutanés telle que le Kushenol B, l'arbutine, l'acide kojique, le panthothènosulfonate de calcium, un extrait de réglisse, un extrait de lys ou un dérivé d'acide ascorbique ou d'acide érythorbique.

30 Outre l'extrait d'*Adenium obesum*, ladite composition cosmétique comprend au moins un excipient cosmétiquement acceptable qui peut être choisi dans le groupe comprenant les pigments, les colorants, les polymères, les agents tensioactifs, les agents de rhéologie, les parfums, les électrolytes, les ajusteurs de pH, les anti-oxydants, les conservateurs, et leurs mélanges.

35 La composition cosmétique selon l'invention est destinée à une application sur tout ou partie de la peau du visage ou du corps.

La composition cosmétique selon l'invention peut être par exemple un sérum, une lotion, une émulsion, une crème riche, une crème teintée ou bien encore un hydrogel, de préférence un masque, ou se présenter sous la forme d'un stick, par exemple un rouge à lèvres.

5 La composition présente un effet particulièrement recherché pour prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, et permet en particulier d'obtenir un effet protecteur, correcteur, restructurant, humectant ou hydratant lorsqu'on applique ladite composition cosmétique sur la peau du visage ou du corps.

10 La présente invention concerne également d'autres objets, et en particulier des utilisations de ces extraits dans le domaine de la cosmétique.

Selon un deuxième aspect, l'invention porte ainsi également sur une utilisation de l'extrait d'*Adenium obesum* comme agent cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée à renforcer la 15 barrière cutanée, à renforcer la cohésion de la jonction dermo-épidermique, à prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, en particulier la formation de rides, ou encore à obtenir un effet protecteur, correcteur, restructurant, hydratant ou humectant.

Selon un troisième aspect, l'invention concerne une méthode de 20 soin cosmétique destinée à renforcer la barrière cutanée, à renforcer la cohésion de la jonction dermo-épidermique, à prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, en particulier la formation de rides, à obtenir un effet protecteur, correcteur, restructurant, hydratant ou humectant sur la peau, ou encore à lutter contre une fragilité cutanée caractérisée en ce 25 qu'elle comprend l'application sur au moins une zone concernée de la peau d'une composition cosmétique contenant un extrait d'*Adenium obesum* telle que précédemment définie ou telle que décrite dans la description suivante.

Les variantes de réalisation de l'invention en particulier pour chacun des deuxièmes et troisièmes aspects de l'invention, résultent des 30 variantes de réalisation du premier aspect.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à la lumière de la description explicative qui va suivre faite en référence à plusieurs exemples de préparation d'extraits, et à des exemples de compositions cosmétiques utilisant de tels extraits, donnés 35 simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention. Dans les exemples, tous les pourcentages

sont donnés en poids, la température est en degrés Celsius, la pression est la pression atmosphérique, sauf indication contraire.

#### DESCRIPTION DES FIGURES

- 5 - La figure 1 représente les résultats obtenus dans le test de l'exemple 4 basé sur un extrait lyophilisé d'Adenium obesum obtenu à l'exemple 1, montrant en abscisse la concentration de l'extrait d'Adenium obesum en solution dans du DMSO en % poids/volume (%p/v) de solution d'essai, et en ordonnée l'expression de desmogléine 1 exprimée en pourcentage par rapport au contrôle ; les résultats sont exprimés sous forme d'histogrammes, d'une part pour une concentration à 0,02% p/v avec l'extrait d'Adenium obesum de l'invention de l'exemple 1 et 0,04% p/v du même extrait ; et
- 10 - la figure 2 représente des résultats similaires cette fois-ci relativement à l'expression de la protéine desmplakine, pour la même concentration de 0,02 et 0,04% p/v en extrait d'Adenium obesum de l'exemple 1.

#### EXEMPLES DE L'INVENTION

20 **Exemple 1 - Préparation d'extract à partir de feuilles d'Adenium obesum**

Des cellules de feuilles d'Adenium obesum sont cultivées par biotechnologie sur un milieu de culture de cellules végétales classiques bien connu par l'homme de l'art pour obtenir après quelques semaines des amas cellulaires indifférenciés appelés cals.

Des exemples de tels milieux de cultures de cellules végétales classiquement utilisés par l'homme de l'art sont décrits dans les ouvrages suivants :

E.F. Georges, D.J. Puttock and J.G. Heather, (1987) Plant Culture Media, 30 (Volume 1, Formulations and uses), Exegetics Ltd.

Dodds J.H. Roberts L. W. (1982). Experiments in Plant Tissus Culture. Cambridge Univ. Press, Cambridge. 178 pp.

Evans D.A., Sharp W.R., Ammirato P.V., Yamada Y. (1984). Handbook of Plant Cell Culture. Techniques for Propagation and Breeding. Macmillan

35 Publ. Co., New York, 970 pp., Vol. 1 à 6.

Reinert J., Yeoman M.M. (1982). Plant Cell and Tissue Culture. A

- Laboratory Manual. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 83 pp.
- Sala F., Parisi B., Cella R., Cifferi O. (1980). Plant cell cultures. Elsevier/Noth Holland, Amsterdam.
- Sharp W.R. , Larsen P.O., Paddock E.F., Raghavan V. (1979). Plant Cell and tissue culture. Principles and applications. Ohio State University Press, Columbus.
- Vasil I. (1985-1991). Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Vol. 1 à 8.
- Bhojwani S., Razdan I.Z.K. (1983). Plant tissue culture: theory and practice. Elsevier, Amsterdam.
- Debergh P., Zimmermann (1991). Micropropagation. Technology and application. Kluwer, London.
- Zyrd J.P. (1988). Cultures de cellules, tissus et organes végétaux. Presses Polytechniques Romandes, Lausanne.).
- Ces cals sont maintenus par repiquages successifs sur du milieu nutritif contenant de l'eau, des sucres, des sels minéraux et des vitamines.
- Les cellules sont lavées plusieurs fois avec précaution et lyophilisées, puis broyées finement et tamisées. Les lyophilisats sont riches en protéines, lipides, glucose, fructose, et saccharoses, en vitamines (PP, B1, B5, B6, B8, B9) et éléments constitutifs en particulier membranaires.
- Le lyophilisat est remis en solution à 10% dans de l'eau stérile.
- Cet extrait lyophilisé peut être utilisé tel quel comme agent cosmétique ou comme principe actif d'une composition cosmétique et notamment pour réaliser les essais de l'exemple 4.
- Exemple 2 - Préparation d'extrait à partir des parties aériennes d'Adenium obesum**
- Un extrait des parties aériennes est effectué à froid sous agitation avec de l'eau distillée et/ou de l'éthanol à 10 %. Le rapport plante/solvant est de 1 à 10 en poids. Puis l'extrait est filtré sur filtre 0,45 µm, concentré sous vide ou lyophilisé avant utilisation.
- Cet extrait sous vide ou lyophilisé peut être utilisé tel quel comme agent cosmétique ou comme principe actif d'une composition cosmétique.

**Exemple 3 - Préparation d'extrait à partir du caudex d'Adenium obesum**

Le caudex d'Adenium obesum est récupéré, broyé et extrait à froid par macération sous agitation 5 h avec de l'eau distillée dans un rapport en poids de 1 à 20, filtré puis lyophilisé.

Cet extrait sous vide ou lyophilisé peut être utilisé tel quel comme agent cosmétique ou comme principe actif d'une composition cosmétique.

Une variante sera la redispersion dans un milieu ad hoc, un glycol par exemple, dudit extrait.

**Exemple 4 - Traitement de kératinocytes humains et mesure par RT-PCR (transcription inverse - réaction en chaîne par polymérase) de l'activité des gènes codant pour les protéines desmosomales de l'épiderme**

Des kératinocytes humains normaux sont cultivées en triplicate dans un milieu SFM (milieu libre de sérum ; Invitrogen) contenant 0,25 ng/ml d'EGF (Facteur de croissance épidermique; Invitrogen) et 25 µg/ml d'extrait pituitaire (Invitrogen) dans une atmosphère saturée en humidité, à 37°C et sous 5% de CO<sub>2</sub>.

Les cultures sont amenées à confluence puis cultivées encore pendant 6 jours (postconfluence).

Elles sont alors traitées pendant 24h avec une solution d'extrait d'Adenium obesum obtenu selon l'exemple 1, à 10 % poids/volume (p/v) dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) aux concentrations finales dans les cultures de 0,02 et 0,04% p/v.

Des cultures témoins, également réalisées en triplicate, ont reçu la même quantité de solvant DMSO pendant le même temps.

A la fin de la période d'incubation de 24 h avec l'extrait, les surnageants de culture sont éliminés, le tapis cellulaire rincé deux fois au PBS (Tampon phosphate salin disponible chez Invitrogen).

Les cellules sont alors lysées en présence de 300 µl/puits de culture de Tireagent™ (Sigma) puis congelées à -80°C jusqu'à utilisation pour en extraire les ARN. Les ARN totaux de chaque échantillon cellulaire, sont extraits selon le protocole classique fourni par Sigma.

Les traces d'ADN potentiellement contaminants sont éliminées

par traitement avec le système DNA Free (Ambion).

Les ARNm totaux sont ensuite soumis à la transcription inverse en présence des amorces oligo(dT) et de l'enzyme transcriptase inverse (Superscript II de chez Gibco) afin d'obtenir les ADN complémentaires

5 (ADNc) totaux correspondants.

Une réaction de PCR (réaction en chaîne par polymérase) quantitative a été réalisée avec le système Lightcycler de Roche Molecular System selon les procédures recommandées par le fournisseur.

Le mélange réactionnel final se compose :

- 10 - d'ADNc,
- des amorces spécifiques (oligonucléotides) des différentes cibles de l'étude (desmogléine 1 et desmoplakine),
  - du mélange réactionnel (Roche) contenant l'enzyme DNA polymérase (qui va permettre de former des répliques successives d'ADN à partir de l'ADNc initial et des amorces spécifiques), du fluorochrome SYBR Green I (composé organique aromatique de formule C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>S faisant partie des cyanines asymétriques qui s'intercale dans les répliques d'ADN double brin), et du chlorure de magnésium MgCl<sub>2</sub>.
- 15

20 Un contrôle cellulaire interne sur les ARNm correspondant à un gène de ménage (G3PDH), c'est à dire un gène exprimé de manière constitutive par les cellules, a été réalisé simultanément à la quantification des ARNm d'intérêt comme classiquement décrit pour cette méthode. Ce contrôle permet de s'affranchir des variations d'ARNm d'intérêts qui ne résulteraient pas de l'action de l'extrait.

25 Les résultats obtenus pour chacune des protéines desmogléine-1 et desmoplakine sont représentés en figures 1 et 2 annexées.

30 Les résultats sont exprimés en unités arbitraires par lesquelles la quantité exprimée pour chacune des protéines dans les cultures témoins (dénommées « contrôle » sur les figures) est ramenée à une valeur de 100.

35 Les résultats indiqués ci-dessous et représentés sur les figures correspondent à la moyenne arithmétique des valeurs d'expression mesurées sur trois cultures tests, moyenne elle-même normalisée par

rapport au contrôle représenté par la moyenne arithmétique des valeurs obtenues pour les trois cultures témoins.

- Cultures traitées par un extrait d'Adenium obesum à la concentration de 5 0,02%p/v dans du DMSO :

	Test	Témoin
Desmogléine 1	112	100
Desmplakine	113	100

10

- Cultures traitées par un extrait d'Adenium obesum à la concentration de 0,04%p/v dans du DMSO :

	Test	Témoin
Desmogléine 1	143	100
Desmplakine	120	100

### **Conclusion :**

L'extrait d'Adenium obesum testé stimule à la fois l'expression de la desmogléine 1 et de la desmplakine, qui sont les principales protéines constitutives des jonctions desmosomales. Ainsi, les extraits d'Adenium obesum selon l'invention permettent de réaliser des stimulations de l'expression des ARNm qui permettent la biosynthèse des protéines desmosomales.

On peut donc en conclure que, grâce à l'amélioration des jonctions desmosomales qu'ils procurent, les extraits d'Adenium obesum permettent de renforcer la barrière cutanée et/ou la cohésion de la jonction dermo-épidermique.

Ces extraits constituent donc des agents cosmétiques ou des principes actifs permettant de prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau ou encore d'obtenir un effet hydratant ou humectant.

### **Exemple 5 – Sérum hydratant régénérant comprenant un extrait d'Adenium obesum**

On prépare un sérum hydratant régénérant comprenant un

extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition) :

5	Extrait d'Adenium obesum	0,15%
	Ecdystérone	0,08%
	Acide hyaluronique	0,4%
	Acétate de tocophérol	0,1%
	Acide glycolique	0,15%
10	D-Xylose	0,05%
	Parfums conservateurs	0,2 %
	Excipients gélifiés et eau	qsp 100%

Le sérum hydratant régénérant comprenant l'extrait d'Adenium obesum est à appliquer et faire pénétrer avant de mettre le maquillage.

#### **Exemple 6 - Crème de jour hydratante haute protection**

On prépare une crème de jour hydratante haute protection comprenant un extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 20 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition) :

	Extrait d'Adenium obesum	0,2%
	Extrait de Castanea sativa	1,0%
25	Extrait glycolique de Sanguisorba officinalis	0,1%
	Hyaluronate de sodium	0,4%
	L-sérine	0,2%
	Ascorbyltéraisopalmitate	0,05%
	Parsol MCX	5,0%
30	Glycérol:	3,0%
	Excipient parfumé et eau	qsp 100%

La crème de jour hydratante haute protection est à appliquer le matin.

### **Exemple 7 - Crème de nuit restructurante anti-rides**

On prépare une crème de nuit restructurante comprenant un extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition) :

Extrait d'Adenium obesum	0,2%
Céramide 3	0,1%
Acide hyaluronique	0,4%
Palmitate de vitamine A	0,05%
10 Tocotriénol	0,05%
Beurre de karité	1,0%
Glycérine	2,0%
Huile de camélia	2,0%
Madécassoside	0,5%
15 Excipients et eau	qsp 100%

La crème de nuit restructurante est à appliquer le soir au coucher. Elle possède une double action, à savoir qu'elle hydrate la peau en profondeur par renforcement de la barrière cutanée et agit contre la formation de rides par renforcement de la cohésion de la jonction dermo-épidermique.

### **Exemple 8 - Soin de jour hydratant et éclaircissant**

On prépare un soin de jour hydratant et éclaircissant comprenant un extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition) :

Extrait d'Adenium obesum	0,2%
Panthoténosulfonate de calcium	0,1%
30 Extrait de réglisse	0,5%
Glycérol	2,0%
Excipients et eau	qsp 100%

### **Exemple 9 - Masque hydrogel**

On prépare un masque hydrogel comprenant un extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition)

	Extrait d'Adenium obesum	0,05%
	Gluconate de calcium	0,2%
5	Acide hyaluronique	0,2%
	Excipients et eau	qsp 100%

#### **Exemple 10 - Fond de teint hydratant protecteur**

On prépare un fond de teint hydratant protecteur comprenant un  
10 extrait d'Adenium obesum obtenu selon un des exemples 1 à 3.

La formule est la suivante (% exprimés en poids sec par rapport au poids de la composition) :

	Extrait d'Adenium obesum	0,02%
	Poudre de nylon adsorbante	2,0%
15	Pigments colorés	5,0%
	Huile de jojoba	2,0%
	Filtres UV	4,0%
	Dioxyde de titane micronisé	2,0%
	Glycérine	2,0%
20	Excipients	qsp 100%

L'extrait d'Adenium obesum est préalablement adsorbé sur la poudre de nylon pour être mis en œuvre dans un fond de teint hydratant.

REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique comprenant un extrait d'Adenium obesum à titre d'agent actif et au moins un excipient cosmétiquement acceptable.
2. Composition cosmétique selon la revendication 1 dans laquelle ledit agent actif contribue au renforcement de la barrière cutanée et/ou au renforcement de la cohésion de la jonction dermo-épidermique.
3. Composition selon les revendications 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,001% à 5% en poids, de préférence de 0,01% à 1% en poids d'extrait d'Adenium obesum.
4. Composition selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum est obtenu à partir de la plante entière ou de parties de cette plante, par exemple les feuilles, la tige, les fleurs ou les racines.
5. Composition selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum est obtenu par mise en culture de cellules de la plante entière ou de partie de la plante, en particulier de cellules des feuilles d'Adenium obesum, sur un milieu de culture de cellules végétales.
6. Composition selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum est obtenu par extraction au moyen d'au moins un solvant choisi avantageusement dans le groupe comprenant l'eau, un alcool en C1-C4, par exemple l'éthanol, et un glycol choisi préférentiellement parmi le butylèneglycol et le propylèneglycol.
7. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum ainsi obtenu est ensuite lyophilisé ou atomisé pour se présenter sous la forme d'une poudre.
8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que la poudre est utilisée en l'état dans ladite composition ou est redispersée dans un solvant ou un mélange de solvants.
9. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum obtenu est adsorbé sur un support choisi dans le groupe comprenant des poudres de nylon, poreuses ou non poreuses, et des micas ou toute substance minérale lamellaire.

10. Composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que l'extrait d'Adenium obesum adsorbé sur un support est un extrait aqueux.

11. Composition selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un agent actif comprenant des saponines ou sapogénols, en particulier des saponines ou sapogénols de soja, de medicago, de panax notoginseng, ou en particulier des saponines ginsenosides, par exemple le ginsenoside Rb1 et Rd.

12. Composition selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un ou plusieurs agents actifs choisis dans le groupe comprenant un extrait de Castanea sativa, un extrait d'Ajuga turkestanica, les céramides, les acides gras libres, les stérols, l'ecdystérone, le gluconate de calcium, le D-xylose, la L-sérine ou l'acide pyrrolidone carboxylique et ses sels cosmétiquement acceptables, en particulier un sel de calcium

13. Composition selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un ou plusieurs agents actifs choisis dans le groupe comprenant un extrait glycolique d'ambre, l'acide succinique, l'acide malique, l'acide salicylique, l'acide gentisque, le gentisate de tocophérol, l'ectoïne et/ou ses dérivés hydroxylés, le mannitol, la forskoline, l'urée, la sarcosine, la triméthylglycine, la créatine, le glutathion, les filtres UVA et/ou UVB, les substances antiradicalaires telles que le tocophérol, le resvératrol, ses monomères ou oligomères, l'astringinine, le tocotriénol ou un extrait de Sanguisorba officinalis, les substances calmantes et/ou régulant les désordres pigmentaires cutanés telles que le phosphate de tocophérol, les substances éclaircissantes du teint telle que le Kushenol B, l'arbutine, l'acide kojique, le panthothènosulfonate de calcium, un extrait de réglisse, un extrait de lys ou un dérivé d'acide ascorbique ou d'acide érythorbique.

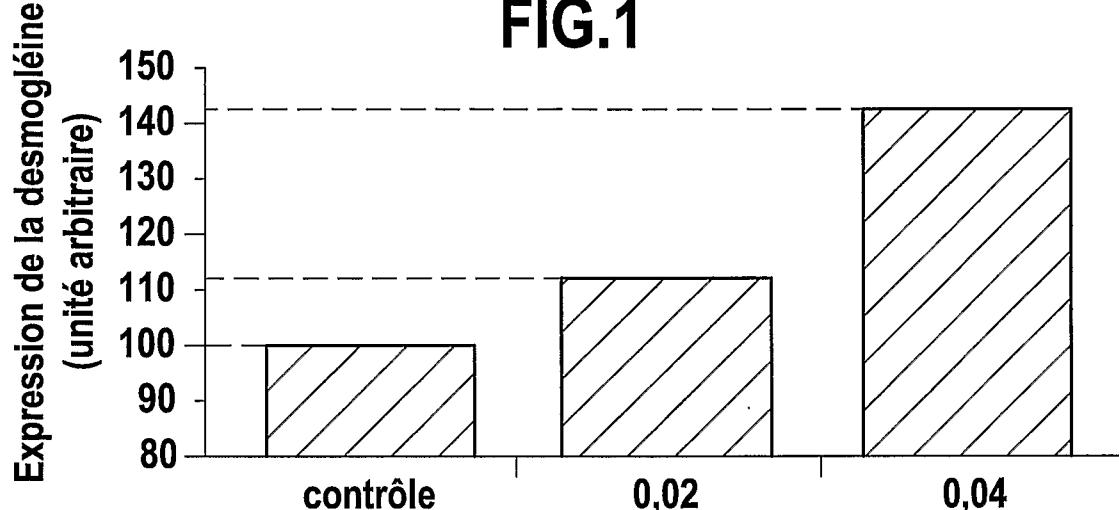
14. Composition selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme appropriée pour une application sur tout ou partie de la peau du visage ou du corps, en particulier sous forme d'un sérum, d'une lotion, d'une émulsion, d'une crème riche, d'une crème teintée, d'un hydrogel, de préférence un masque, ou se présenter sous la forme d'un stick, par exemple un rouge à lèvres.

15. Utilisation d'un extrait d'Adenium obesum tel que défini

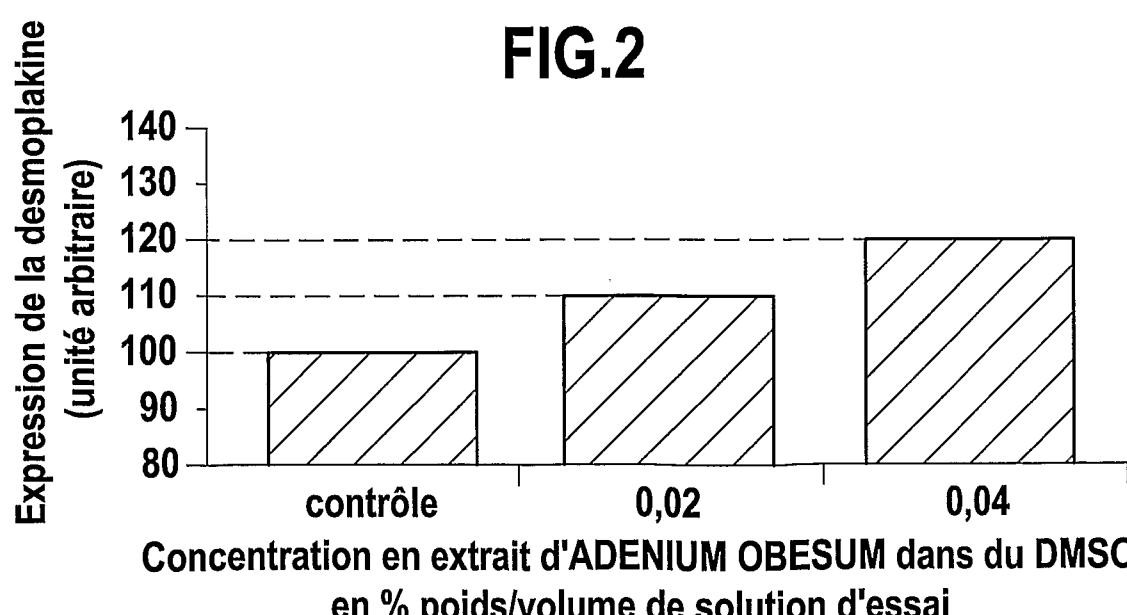
dans l'une quelconque des revendications 1 à 11, comme agent cosmétique, pour la fabrication d'une composition cosmétique destinée notamment à renforcer la barrière cutanée, à renforcer la cohésion de la jonction dermo-épidermique, à prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, en particulier la formation de rides, ou encore à obtenir un effet protecteur, correcteur, restructurant, hydratant ou humectant.

16. Méthode de soin cosmétique destinée à renforcer la barrière cutanée, à renforcer la cohésion de la jonction dermo-épidermique, à prévenir ou ralentir les effets du vieillissement de la peau, en particulier la formation de rides, à obtenir un effet protecteur, correcteur, restructurant, hydratant ou humectant sur la peau ou encore à lutter contre une fragilité cutanée, caractérisée en ce qu'elle comprend l'application sur au moins une zone concernée de la peau, d'une composition cosmétique comprenant un extrait d'*Adenium obesum* telle que définie ou telle que décrite dans l'une des revendications 1 à 14.

1/1

**FIG.1**

**Concentration en extrait d'ADENIUM OBESUM dans du DMSO  
en % poids/volume de solution d'essai**

**FIG.2**

**Concentration en extrait d'ADENIUM OBESUM dans du DMSO  
en % poids/volume de solution d'essai**