(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
21 octobre 2021 (21.10.2021)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2021/209441 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 41/00 (2020.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 36/03 (2006.01) *A61P 17/10* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2021/059545

(22) Date de dépôt international :
13 avril 2021 (13.04.2021)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR2003712 14 avril 2020 (14.04.2020) FR

(71) Déposants : **IFREMER** [FR/FR] ; 1625 route de sainte anne, 29280 Plouzane (FR). **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)** [FR/FR] ; 3, rue Michel-Ange, 75794 Paris cedex 16 (FR). **CHU NANTES** [FR/FR] ; 5 Allée de l'île Gloriette, 44000 Nantes (FR). **UNIVERSITÉ DE LIMOGES** [FR/FR] ; 33 rue François Mitterrand, 87000 Limoges (FR). **UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE** [FR/FR] ; 23 avenue Albert Einstein BP 33060, 17031 La Rochelle (FR).

(72) Inventeurs : **BERARD, Jean-Baptiste** ; 16 rue du Docteur Maurice Nogues, 44400 REZE (FR). **LEFOULON, Louise** ; 192 boulevard Robert Schuman Appart. A307, 44300 Nantes (FR). **PICOT, Laurent** ; 4 rue de la Barrère L'aubertière, 17220 Saint Médard d'Aunis (FR). **OUK, Tan-Sothea** ; lieu-dit LE MAUPAS, 87620 Sereilhac (FR). **SAAD, Naïma** ; 6 rue Henri Guillaumet, 87570 Rilhac Rancon (FR). **LANDOLT, Cornelia** ; 21 rue Frédéric DARD, 87620 SEREILHAC (FR). **GRENIER, Karine** ; 45 rue de la Vialoube, 87000 LIMOGES (FR). **SOL, Vincent** ; 28 Chemin d'Antony, 87000 Limoges (FR).

(74) Mandataire : **BARBOT, Willy** ; SIMODORO 82 rue Sylvabelle, 13006 Marseille (FR).

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

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

Publiée:
— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

WO 2021/209441 A1

(54) **Title:** USE OF A POLAR EXTRACT OF *SKELETONEMA* IN PHOTODYNAMIC THERAPY

(54) **Titre :** UTILISATION D'UN EXTRAIT POLAIRE DE *SKELETONEMA* DANS UNE THÉRAPIE PHOTODYNAMIQUE

(57) **Abstract:** The invention relates to a dermatological composition comprising at least one polar extract of an alga of the genus *Skeletonema* or a photosensitizer derived therefrom, for the treatment of acne or bacterial infections, as well as to a method for decontaminating a surface using a polar extract of an alga of the genus *Skeletonema* or a photosensitizer derived therefrom.

(57) **Abrégé :** L'invention concerne une composition dermatologique comprenant au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci, pour le traitement de l'acné ou d'infections bactériennes; de même qu'un procédé de décontamination d'une surface utilisant un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci.

Utilisation d'un extrait polaire de *Skeletonema* dans une thérapie photodynamique

[1] La présente demande de brevet revendique la priorité de la demande de brevet Français FR20/03712 déposée en date du 14 avril 2020 et incorporée par la présente par référence.

Domaine de l'invention

[2] La présente invention concerne une composition destinée à être utilisée en thérapie photodynamique (PDT) notamment pour traiter des troubles de la peau comme l'acné.

Etat de l'art

[3] L'acné est associée à une hypersécrétion de sébum par les glandes sébacées qui entraine l'obturation des pores de la peau. Les lésions occasionnées peuvent alors se compliquer d'une inflammation, résultant d'une prolifération bactérienne dans le sébum associée à *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae* ou *Acarus folliculorum*.

[4] Pendant la puberté, l'acné débute lorsque les glandes sébacées subissent une maturation du fait de leur stimulation hormonale par les androgènes. Chez l'adulte, l'acné est consécutive d'une stimulation des glandes sébacées avec, parallèlement, une mauvaise sécrétion du sébum du fait de maquillage ou d'une augmentation de synthèse de l'hormone corticosurrénale du fait d'un stress.

[5] Le concept de base d'une thérapie photodynamique (PhotoDynamic Therapy ; PDT) consiste en l'exposition à la lumière d'un photosensibilisateur qui résulte en la production d'oxygène singulet et d'autres espèces réactives de l'oxygène (R.O.S) qui entrainent la mort des organismes à proximité (des bactéries causes de l'inflammation pour ce qui est de l'acné).

[6] Dans le cadre de cette PDT associée à l'acné, le photosensibilisateur est appliqué par voie topique sur la surface de la peau. Il est ensuite absorbé au niveau de la glande sébacée. On opère alors une illumination de la zone à traiter au moyen d'un laser ou d'une lumière pulsée, laquelle illumination permet l'activation du photosensibilisateur et la genèse de l'oxygène singulet et de R.O.S. La présence d'oxygène singulet, qui constitue une espèce chimique hyper-réactive, entraine la mort des bactéries proliférant dans les

pores de la peau et une desquamation localisée de la peau permettant de libérer les pores obstrués.

[7] Des exemples de traitement de l'acné par des thérapies photodynamiqques sont notamment décrits dans les brevets européens EP 1 755 676 B1, EP 2 152 259 B1, ou encore EP 3 082 788 B1.

[8] Pour être efficace, le photosensibilisateur, lorsqu'il n'est pas activé en l'absence de photostimulation, doit être stable *in vivo* et présenter une forte photoréactivité après illumination.

[9] Maintenant, il importe que le photosensibilisateur préserve, autant que possible, les cellules de la peau et n'augmente pas l'inflammation consécutive de l'acné.

Sommaire de l'invention :

[10] Les inventeurs ont maintenant mis en évidence qu'un extrait polaire de *Skeletonema marinoï* présentait simultanément les caractéristiques d'un photosensibilisateur, d'un anti-inflammatoire et d'un inhibiteur de la lipogenèse.

[11] Les algues ont besoin de la lumière pour se développer et se reproduire. Pour faire leur photosynthèse, elles absorbent la lumière grâce aux pigments présents dans leurs chloroplastes. Elles produisent ainsi du dioxygène et transforme ainsi l'énergie lumineuse pour fabriquer leur matière.

[12] De toute évidence, les composés de *Skeletonema marinoï* intervenant dans la photosynthèse présentent des propriétés particulièrement intéressantes, notamment pour le traitement de l'acné.

[13] En conséquence, un premier objet porte sur une composition pour un traitement photodynamique (PDT) comprenant au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci.

[14] De préférence, cette composition est une composition dermatologique.

[15] Avantageusement, cette composition peut aussi viser à prévenir et/ou traiter l'acné chez un sujet par l'application topique de la composition sur une surface de peau du sujet en combinaison avec une exposition lumineuse de cette surface de peau de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

[16] Plus largement, cette composition peut viser à prévenir et/ou à traiter une infection bactérienne chez un sujet par l'application topique de la composition sur une surface

d'épithélium du sujet en combinaison avec une exposition lumineuse de cette surface d'épithélium de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

[17] Un deuxième objet porte sur une méthode de traitement photodynamique qui comprend les étapes de :

[18] 1) application topique sur une surface d'épithélium d'un sujet d'une quantité thérapeutiquement efficace d'une composition telle que décrite précédemment ; et

[19] 2) exposition lumineuse de cette surface d'épithélium de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

[20] Avantageusement, le traitement photodynamique vise à prévenir et/ou à traiter l'acné chez un sujet.

[21] Avantageusement encore, le traitement photodynamique vise à prévenir et/ou à traiter une infection bactérienne chez un sujet.

[22] Un troisième objet de l'invention porte sur un procédé de traitement cosmétique en vue d'éliminer les imperfections de la peau comme les comédons et/ou les points noirs comprenant les étapes de :

[23] 1) application topique sur une surface d'épithélium d'un sujet d'une quantité efficace d'une composition telle que décrite précédemment ; et

[24] 2) exposition lumineuse de cette surface d'épithélium de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

[25] Un quatrième objet de l'invention porte sur un kit destiné à un traitement photodynamique, lequel comprend :

[26] 1) une composition telle que décrite précédemment ; et

[27] 2) une source lumineuse.

[28] Un cinquième objet de l'invention porte sur un procédé de décontamination d'une surface, lequel procédé comprend au moins les étapes de :

[29] 1) application d'une quantité efficace d'au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou d'un photosensibilisateur dérivé de celui-ci; et

[30] 2) exposition lumineuse de cette surface de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

[31] Avantageusement, ce procédé est utilisé en hygiène hospitalière. Dans ce cadre, la surface à décontaminer est une surface de dispositifs médicaux, de prothèses ou d'implants.

[32] Avantageusement encore, ce procédé est utilisé en agroalimentaire et la surface à décontaminer est une surface alimentaire (viande, poisson, etc.), une surface métallique (machine, plan de travail, etc…), un sol ou encore un mur.

[33] Un sixième objet de l'invention porte sur un procédé de photo-coagulation d'une plaie d'un sujet, lequel procédé comprend au moins les étapes de :

[34] 1) application d'une quantité efficace d'au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou d'un photosensibilisateur dérivé de celui-ci sur la surface d'une plaie du sujet; et

[35] 2) exposition lumineuse de cette surface de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

Description détaillée de l'invention

[36] Les algues du genre *Skeletonema* sont des algues unicellulaires qui sont également des diatomées (*Bacillariophyta*).

[37] A titre d'exemple de telles algues, on peut citer notamment *Skeletonema ardens, Skeletonema barbadense, Skeletonema costatum, Skeletonema cylindraceum, Skeletonema denticulatum, Skeletonema dohrnii, Skeletonema grethae, Skeletonema grevillei, Skeletonema japonicum, Skeletonema marinoi, Skeletonema mediterraneum, Skeletonema menzelii, Skeletonema mirabile, Skeletonema potamos, Skeletonema probabile, Skeletonema pseudocostatum, Skeletonema simbirskianum Skeletonema subsalum, Skeletonema tropicum, Skeletonema utriculosa et Skeletonema ventricosum.*

[38] De préférence, l'algue du genre *Skeletonema* est choisie dans le groupe comprenant *Skeletonema costatum, Skeletonema grethae, Skeletonema marinoi, Skeletonema menzellii et Skeletonema subsalsum.*

[39] De manière particulièrement préférée, l'algue du genre *Skeletonema* correspond *Skeletonema marinoï* ou *Skeletonema grethae*, et plus spécifiquement à *Skeletonema marinoï* qui est une espèce relativement commune en Atlantique (elle est souvent l'espèce majeure des eaux côtières en Atlantique). Les cellules de cette espèce restent accrochées entre elles après les divisions cellulaires. Aussi, les algues de cette espèce se présentent sous la forme de chaînes de 3 à 15 cellules.

[40] Par « extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* », on fait référence à une composition obtenue par une extraction réalisée sur une algue du genre *Skeletonema* par un solvant polaire.

[41] Par « solvant polaire », on entend un solvant constitué de molécules présentant un moment dipolaire. Ce solvant polaire peut être protique ou aprotique selon qu'il soit capable de libérer ou non des ions H^+ acides.

[42] A titre d'exemple de solvant polaire aprotique, on peut citer les cétones (ex. acétone ou butanone), les sulfoxydes (ex. DMSO), les amides N,N disubstituées (N,N diméthyl formamide), les nitriles (ex. acétonitrile), les esters (ex. acétate d'éthyle), les amines tertiaires (ex. triéthylamine), les hétérocycles azotés (ex. pyridine).

[43] A titre d'exemple de solvant polaire protique, on peut citer l'eau, les alcools, les acides carboxyliques (ex. acide formique et acide acétique) ou les amines primaires et secondaires.

[44] De préférence, le solvant polaire utilisé sera un solvant polaire protique et, parmi eux, on préfèrera utiliser un alcool.

[45] Parmi les alcools utilisables, on pourra citer le méthanol, l'éthanol, ou encore l'isopropanol avec une préférence pour l'éthanol et l'isopropanol.

[46] L'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* utilisé sera préférentiellement un extrait polaire obtenu sur une microalgue ayant subi une étape préalable de lyse cellulaire.

[47] Une telle étape de lyse cellulaire peut être réalisée simplement par congélation/décongélation (de préférence à une température inférieure à -20°C), par traitement microondes ou par traitement ultrasons de cette algue.

[48] L'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* résulte d'une macération de cette algue dans le solvant polaire pendant une durée d'au moins 5 minutes, de préférence d'au moins 10 minutes. Typiquement, ce temps de macération est inférieur à 24 heures, de préférence inférieur à 12, voire inférieur à 6 heures. A titre d'exemple, un tel extrait polaire de l'algue du genre *Skeletonema* sera obtenu par macération de cette algue dans le solvant polaire pendant une durée comprise entre 10 et 60 minutes, de préférence entre 20 et 40 minutes. Idéalement, cette macération avec un solvant polaire à température ambiante ou moins de sorte à préserver autant que possible les photosensibilisateurs de l'extrait polaire obtenu.

[49] Pour ce qui est de cet extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* toujours, il résulte d'une extraction utilisant au moins 1 mL de solvant polaire par gramme de microalgue (exprimé en poids sec), de préférence au moins 10 mL de solvant polaire par gramme de microalgue et, de manière particulièrement préférée au moins 20 mL de solvant polaire par gramme de microalgue. A titre d'exemple, l'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* est obtenu en utilisant entre 1 et 200 mL de solvant polaire par gramme de microalgue (exprimé en poids sec), de préférence entre 10 et 100 mL de solvant polaire par gramme de microalgue et, de manière particulièrement préférée entre 20 et 50 mL de solvant polaire par gramme de microalgue (exprimé en poids sec).

[50] Avantageusement, l'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* aura subi au moins une filtration (ex. filtre 0,2 µm, 0,4µm ou autre) et/ou au moins une centrifugation (avec récupération du seul surnageant) consécutivement à l'extraction.

[51] Par « photosensibilisateur dérivé d'un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* », on fait référence à un composé purifié d'un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* (par exemple par HPLC) ou à un composé présent dans un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* qui, quand il est activé par la lumière permet la production d'oxygène singulet et de R.O.S.

[52] La teneur en extrait d'une algue du genre *Skeletonema* dans la composition pour un traitement photodynamique est comprise entre 0,001% et 5% (en poids sec d'extrait par rapport au poids total de la composition), de préférence entre 0,01% et 2% et, de manière particulièrement préférée entre 0,1% et 1%.

[53] Lors de la préparation de la composition de l'invention, l'intégration de l'extrait polaire se fera préférentiellement sous atmosphère inerte (ex. azote ou argon) et/ou dans l'obscurité. De telles conditions d'intégration permettent de protéger au mieux les molécules actives de l'extrait.

[54] En ce qui concerne la forme de la composition, celle-ci peut prendre toute forme souhaitable en fonction du mode d'administration souhaitée. Maintenant, la composition est de préférence appliquée sur une surface d'épithélium comme la peau. Aussi, elle prendra préférentiellement la forme composition dermatologique comme une pommade, une crème, une lotion ou encore un gel.

[55] De préférence, la composition pourra comprendre en outre au moins un agent antioxydant. A titre d'exemple d'agent antioxydant utilisable dans une telle composition,

on peut citer les provitamines A, la vitamine C, la vitamine E, les polyphénols ou encore le lycopène. On optera de préférence pour une provitamine A, la vitamine C ou la vitamine E.

[56] Maintenant et de façon générale, cette composition pourra comprendre de nombreux types d'adjuvants ou de principes actifs utilisés dans les formulations pharmaceutiques ou cosmétiques, de préférence dermatologiques, qu'il s'agisse de corps gras, de solvants organiques, d'épaississants, de gélifiants, d'adoucissants, d'antioxydants, d'opacifiants, de stabilisants, de tensioactifs moussants et/ou détergents, d'émollients, de surgraissants, de parfums, d'émulsionnants ioniques ou non, de charges, de séquestrants, de chélateurs, de conservateurs, d'huiles essentielles, de matières colorantes, de pigments, d'actifs hydrophiles ou lipophiles, d'humectants, comme par exemple la glycérine ou les glycols, de conservateurs, de colorants, d'actifs cosmétiques, de filtres solaires minéraux et/ou organiques, de charges minérales, de charges synthétiques, d'élastomères siliconés, ou d'extraits de plantes ou encore de vésicules lipidiques, ou bien tout autre ingrédient habituellement utilisé en cosmétique.

[57] Comme exemples d'huiles, on peut citer les paraffines, les isoparaffines, les huiles blanches minérales, les huiles végétales (provenant de fleurs, de fruits, de légumes, d'arbres, de céréales, d'oléagineux ...), les huiles animales, les huiles de synthèse, les huiles siliconées et les huiles fluorées ; et plus particulièrement : les huiles d'origine végétale, telles que l'huile d'amandes douces, l'huile de coprah, l'huile de ricin, l'huile de jojoba, l'huile d'olive, l'huile de colza, l'huile d'arachide, l'huile de tournesol, l'huile de germes de blé, l'huile de germes de maïs, l'huile de soja, l'huile de coton, l'huile de luzerne, l'huile de pavot, l'huile de potiron, l'huile d'onagre, l'huile de millet, l'huile d'orge, l'huile de seigle, l'huile de carthame, l'huile de bancoulier, l'huile de passiflore, l'huile de noisette, l'huile de palme, le beurre de karité, l'huile de noyau d'abricot, l'huile de calophyllum, l'huile de sisymbre officinale, l'huile d'avocat, l'huile de calendula, les huiles issues de fleurs ou de légumes; les huiles végétales éthoxylées ; les huiles d'origine animale, telles que le squalène, le squalane ; les huiles minérales, telles que l'huile de paraffine, l'huile de vaseline et les isoparaffines ; les huiles synthétiques, notamment les esters d'acides gras tels que le myristate de butyle, le myristate de propyle, le myristate de cétyle, le palmitate d'isopropyle, le stéarate de butyle, le stéarate d'hexadécyle, le stéarate d'isopropyle, le stéarate d'octyle, le stéarate d'isocétyle, l'oléate dodécyle, le laurate

d'hexyle, le dicaprylate de propylène glycol ; les esters dérivés d'acide lanolique, tels que le lanolate d'isopropyle, le lanolate d'isocétyle, les monoglycérides, diglycérides et triglycérides d'acides gras comme le triheptanoate de glycérol, les alkylbenzoates, les polyalphaoléfines, les polyoléfines comme le polyisobutène, les isoalcanes de synthèse comme l'isohexadécane, l'isododécane, les huiles perfluorées et les huiles de silicone. Parmi ces dernières, on peut plus particulièrement citer les diméthylpolysiloxanes, méthylphénylpolysiloxanes, les silicones modifiées par des aminés, les silicones modifiées par des acides gras, les silicones modifiées par des alcools, les silicones modifiées par des alcools et des acides gras, des silicones modifiées par des groupements polyéther, des silicones époxy modifiées, des silicones modifiées par des groupements fluorés, des silicones cycliques et des silicones modifiées par des groupements alkyles.

[58] Comme autre matière grasse, on peut citer les alcools gras, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés, les mélanges d'alcools gras, linéaires et/ou ramifiés, saturés et/ou insaturés, ou les acides gras, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés, des mélanges d'acides gras linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés.

[59] Parmi les polymères épaississants et/ou émulsionnant utilisables, il y a par exemple, les homopolymères ou copolymères de l'acide acrylique ou de dérivés de l'acide acrylique, les homopolymères ou copolymères de l'acide méthacrylique ou dérivés de l'acide méthacrylique, les homopolymères ou copolymères de l'acrylamide, les homopolymères ou copolymères de dérivés de l'acrylamide, les homopolymères ou copolymères de l'acide acrylamidométhyl propanesulfonique, les homopolymères ou copolymères de monomères vinyliques, les homopolymères ou copolymères de chlorure de triméthylaminoéthylacrylate, les hydrocolloïdes d'origine végétale ou bio synthétique comme par exemple la gomme de xanthane, la gomme de karaya, les carraghénates, les alginates ; les silicates ; la cellulose et ses dérivés ; l'amidon et ses dérivés hydrophiles; les polyuréthanes.

[60] Parmi les polymères de type polyélectrolytes pouvant être mis en jeu dans la production d'une phase aqueuse gélifiée apte à être utilisée dans la préparation d'émulsions E/H, H/E, E/H/E ou H/E/H, ou d'un gel aqueux comprenant le SEPIBIO™ POTENTILLA 217, il y a par exemple, les copolymères de l'acide acrylique et de l'acide-2-méthyl-[(l-oxo-2-propényl)amino] 1-propane sulfonique (AMPS), les copolymères de l'acrylamide et de l'acide-2-méthyl-[(l-oxo-2-propényl)amino] 1-propane sulfonique, les

copolymères de l'acide-2-méthyl-[(l-oxo-2-propényl)amino] 1-propane sulfonique et de l'acrylate de (2-hydroxyéthyle), l'homopolymère de l'acide-2-méthyl-[(l-oxo-2-propényl)amino] 1-propane sulfonique, l'homopolymère de l'acide acrylique, les copolymères du chlorure d'acryloyl éthyl triméthyl ammonium et de l'acrylamide, les copolymères de l'AMPS et de la vinylpyrolidone, les copolymères de l'AMPS et du N,N-diméthylacrylamide., les terpolymères de l'AMPS, de l'acide acrylique et du N,N-diméthylacrylamide , les copolymères de l'acide acrylique et d'acrylates d'alkyle dont la chaîne carbonée comprend entre dix et trente atomes de carbone, les copolymères de l'AMPS et d'acrylates d'alkyle dont la chaîne carbonée comprend entre dix et trente atomes de carbone.

[61] Parmi les cires utilisables dans les compositions selon l'invention, on peut citer par exemple la cire d'abeille, la cire de carnauba, la cire de Candelilla, la cire d'Ouricoury, la cire du Japon, la cire de Chine, la cire de son de riz, la cire de Montan, la cire de fibre de liège ou de canne à sucre, les cires de paraffines, les cires de lignite, les cires microcristallines, la cire de lanoline, l'ozokérite, la cire de polyéthylène, les huiles hydrogénées, les cires de silicone, les cires d'alcénones, les cires végétales, les alcools gras et les acides gras solides à température ambiante, les glycérides solides à température ambiante.

[62] Parmi les émulsionnants utilisables dans les compositions selon l'invention, on peut citer :

[63] - les esters gras d'alkylpolyglycosides éventuellement alcoxylés ;

[64] - les esters gras alcoxylés ;

[65] - les carbamates de polyalkylène glycols à chaînes grasses ;

[66] - les acides gras, les acides gras éthoxylés, les esters d'acide gras et de sorbitol, les esters d'acides gras éthoxylés, les polysorbates, les esters de polyglycérol, les alcools gras éthoxylés, les esters de sucrose, les alkylpolyglycosides, les alcools gras sulfatés et phosphatés ou les mélanges d'alkylpolyglycosides et d'alcools gras ;

[67] - les associations de tensioactifs émulsionnants choisis parmi les alkylpolyglycosides ;

[68] - les associations d'alkylpolyglycosides et d'alcools gras, les esters de polyglycérols ou de polyglycols ou de polyols.

[69] Parmi les tensioactifs utilisables dans les compositions selon l'invention, on peut citer: les tensioactifs anioniques, cationiques, amphotères ou non ioniques topiquement acceptables habituellement utilisés dans ce domaine d'activité.

[70] Parmi les tensioactifs anioniques utilisables dans les compositions selon l'invention, on citera particulièrement les sels de métaux alcalins, les sels de métaux alcalino-terreux, les sels d'ammonium, les sels d'acides aminés, les sels d'aminoalcools des composés suivants : les alkyléthers sulfates, les alkylsulfates, les alkylamidoéthersulfates, les alkylarylpolyéthersulfates, les monoglycérides sulfates, les alpha-oléfînesulfonates, les paraffines sulfonates, les alkylphosphates, les alkylétherphosphates, les alkylsulfonates, les alkylamidesulfonates, les alkylarylsulfonates, les alkylcarboxylates, les alkylsulfosuccinates, les alkyléthersulfosuccinates, les alkylamidesulfosuccinates, les alkylsulfoacétates, les alkylsarcosinates, les acyliséthionates, les N-acyltaurates, les acyllactylates.

[71] Parmi les tensioactifs amphotères utilisables dans les compositions selon l'invention, on pourra citer les alkylbétaines, les alkylamidobétaines, les sultaines, les alkylamidoalkylsulfobétaines, les dérivés d'imidazolines, les phosphobétaïnes, les amphopolyacétates et les amphopropionates.

[72] Afin de potentialiser encore l'activité obtenue par la composition selon l'invention, celle-ci pourra être associée avec d'autres actifs notamment ceux connus pour leur action anti-âge, raffermissante, restructurante, stimulante, énergisante, anti-ride, décontractante, hydratante, antimicrobienne, séborrégulatrice, purifiante, apaisante, relaxante, décontractante, anti-stress, éclaircissante, immunomodulatrice, stimulatrice du renouvellement cellulaire, liftante, repulpante, amélioratrice de l'éclat du teint, etc.

[73] En ce qui concerne l'exposition lumineuse de la zone à traiter permettant l'activation du photosensibilisateur présent dans cet extrait, il s'agit d'une exposition à une onde lumineuse présentant une longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm, de préférence entre 450 et 700 nm, et une intensité (fluence) comprise entre 1J/cm^2 et 100 J/cm^2, de préférence entre 1 et 10 J/cm^2.

[74] Une telle onde lumineuse peut être obtenue au moyen d'un laser, d'une lumière pulsée, ou encore de LED. Dans le cadre d'utilisation thérapeutique et, notamment, dermatologique, on préfèrera l'utilisation de LED au regard de l'absence de chauffage subies par les cellules du sujet de sorte à limiter les dommages subis par son derme et son

épiderme. Maintenant, une telle onde lumineuse pourra éventuellement aussi correspondre à la lumière du jour.

[75] Le temps d'exposition sera compris entre 1 minute et 2 heures, de préférence entre 1 et 30 minutes, voir entre 1 et 10 minutes et, de manière particulièrement préférée entre 2 et 5 minutes.

[76] La mise en évidence d'une activité photosensibilisante associée à l'extrait polaire de *Skeletonema* rend envisageable son utilisation dans tout type de traitement photodynamique (PDT).

[77] Par « traitement photodynamique », on entend un traitement par une exposition lumineuse de la composition, après son application, de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur présent dans l'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema*.

[78] De multiples traitements photodynamiques sont envisageables comme par exemple le traitement de l'acné, le traitement d'infections bactériennes de la peau ou de la gencive, le traitement de l'hirsutisme par la destruction des follicules, le traitement de la calvitie par la stimulation du cuir chevelu dans les zones de perte de cheveux, le traitement des kératoses inflammatoires, le traitement de zones dermales pré-mélanomes, le traitement du psoriasis, le traitement d'affections cutanées bénignes telles que les tâches de vin, les verrues, le traitement des différentes formes de l'hydrosadénite tel que l'hydradénite suppurée, la maladie de Verneuil, ou encore un traitement anti-angiogénique, notamment celui de la rosace.

[79] De préférence, la composition dermatologique vise au traitement de l'acné chez un sujet par l'application topique de la composition sur une surface de peau du sujet en combinaison avec une exposition lumineuse de cette surface de peau de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur présent dans l'extrait.

[80] En lien avec l'acné, celui-ci peut correspondre tout aussi bien à l'acné vulgaire, à l'acné polymorphe, à l'acné nodulokystique, à l'acné conglobata qu'à une acné secondaire (ex. acné solaire ou acné associé à un traitement).

[81] Avantageusement, la composition selon l'invention vise à prévenir et/ou à traiter l'hypersécrétion de sébum par les glandes sébacées.

[82] Maintenant, la composition selon l'invention peut également viser la prévention et/ou le traitement d'une infection bactérienne chez un sujet par l'application topique de la composition sur une surface d'épithélium du sujet en combinaison avec une exposition

lumineuse de cette surface d'épithélium de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur présent dans l'extrait.

[83] A titre d'exemple, on peut notamment citer la prévention ou le traitement d'une gingivite (inflammation de la gencive consécutive d'une infection bactérienne) ou d'une parodontite (inflammation du parodonte consécutive d'une inflammation bactérienne), la prévention d'une infection bactérienne de la peau telle que la perlèche, l'intertrigo, l'érysipèle, l'impétigo, ou encore le panaris.

[84] De préférence, l'infection bactérienne est une infection de bactéries Gram positif.

[85] La surface d'épithélium sur laquelle la composition dermatologique est appliquée peut correspondre à la gencive (gingivite ou parodontite) ou encore à une surface de peau, comme le visage, le tronc, les jambes, le dos ou les doigts, de préférence au visage.

[86] Pour ce qui est du sujet, il s'agit d'un mammifère, de préférence d'un humain.

[87] Dans le cas du traitement de l'acné, le sujet aura typiquement entre 10 et 20 ans. Maintenant, l'apparition de l'acné pouvant se faire vers 7-8 ans et persister après 20 ans, le sujet pourra être plus jeune que 10 ans et plus vieux que 20 ans.

[88] La composition selon l'invention est appliquée sur la surface d'épithélium (peau, gencive, etc.) affectée au moins une fois par jour.

[89] La combinaison de l'application de la composition selon l'invention et de l'exposition lumineuse est réalisée pendant au moins une semaine pour obtenir la meilleure efficacité et, de préférence sur une période comprise entre 4 et 12 semaines.

[90] En lien avec la méthode de traitement photodynamique selon l'invention, cette dernière utilise naturellement la composition telle que décrite précédemment.

[91] Le traitement photodynamique correspond à l'un des traitements envisagés précédemment.

[92] Avantageusement, la méthode selon l'invention vise à prévenir et/ou à traiter l'acné chez un sujet.

[93] Avantageusement encore, la méthode selon l'invention vise à prévenir et/ou à traiter une infection bactérienne chez un sujet.

[94] Par « quantité thérapeutiquement efficace », on entend une quantité suffisante pour aboutir à l'effet biologique désiré.

[95] En lien maintenant avec le procédé de traitement cosmétique selon l'invention, ce dernier utilise également la composition telle que décrite précédemment.

[96] Pour celui-ci, le sujet est tel qu'envisagé précédemment.

[97] Avantageusement, celui-ci vise à éliminer comédons et/ou points noirs.

[98] Concernant maintenant le kit selon l'invention, celui-ci comprend, outre la composition telle que décrite précédemment, une source lumineuse à même d'induire l'activation du photosensibilisateur présent dans l'extrait d'algue

[99] Typiquement, une telle source lumineuse émet un rayonnement lumineux présentant une longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm, de préférence entre 450 et 700 nm, avec une intensité (fluence) comprise entre 1J/cm^2 et 100 J/cm^2, de préférence entre 1 et 10 J/cm^2

[100] Une telle source lumineuse est choisie typiquement parmi un laser, une lumière pulsée, ou encore une LED, de préférence entre une lumière pulsée et une LED.

[101] Concernant maintenant le procédé de décontamination d'une surface, celui-ci peut viser une utilisation alimentaire (agroalimentaire) ou hospitalière. Dans le domaine médical, il est envisageable pour la stérilisation de dispositifs médicaux, prothèses, implants ou autre. Dans le domaine agroalimentaire, il est alors utilisable pour la décontamination d'une surface alimentaire (viande, poisson, etc.) et on parlera alors de conservation, la décontamination d'une surface métallique (machine, plan de travail, etc…), ou encore celle d'un sol ou encore d'un mur.

[102] Dans le cas du procédé selon l'invention, on préfèrera utiliser une formulation de l'extrait permettant sa vaporisation sur la surface à décontaminer. A ce titre, une formulation de type spray constitue une formulation particulièrement adaptée.

[103] L'invention sera mieux comprise à la lumière des exemples suivants, qui ne sont donnés qu'à titre purement illustratif et n'ont pas pour but de limiter la portée de l'invention, définie par les revendications annexées.

Exemples

[104] Exemple 1 : Obtention d'un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* :

[105] De préférence, l'ensemble de l'extraction est réalisé sous atmosphère inerte (saturation en azote) afin d'éviter une dégradation prononcée des molécules actives.

[106] Pour cette extraction on utilise 10 grammes de biomasse (*Skeletonema marinoï, S. grethae, S. subsalsum ou S. menzelii)*

[107] De préférence, les algues sont congelées à -20°C avant d'être plongées dans 400 mL d'éthanol sous agitation à température ambiante pendant au moins une heure (typiquement 4heures).

[108] Après cette étape de macération, l'extrait est ensuite centrifugé pour éliminer le culot contenant la silice notamment, puis le surnageant est filtré (ex. filtre 0.2µm).

[109] Finalement, on obtient un extrait avec environ 40 ml par gramme de matière.

[110] L'extrait polaire ainsi obtenu est ensuite analysé par chromatographie HPLC (UV-DAD) en utilisant une colonne C18. Le gradient d'élution utilisé, à un débit de 1mL/min, est présenté dans le tableau 1 qui suit.

[111] [Tableau 1]

Temps (min)	%Méthanol/eau (80/20)	% Acétonitrile/eau (90/10)	%Acétate d'éthyle (100)
0	100	0	0
3	0	100	0
35	0	30	70
38	0	0	100
41	0	0	100
43	0	100	0
45	100	0	0
47	100	0	0

[112] L'analyse d'absorption des fractions d'élution fait apparaître de nombreux pics d'absorbance.

[113] Exemple 2 : Action antibactérienne d'un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* :

[114] L'activité antibactérienne de l'extrait polaire *S. marinoï* obtenu est évaluée au moyen d'un test de diffusion d'agar sur les souches suivantes : *Cutibacterium acnes* (CIP 53.117T), *Staphylococcus aureus* (CIP 76.25), *Staphylococcus epidermidis* (CIP 109.562).

[115] Pour chaque souche, une dilution au 1/10ème d'une suspension bactérienne prélevée en phase exponentielle de croissance est réalisée. 1 mL de suspension bactérienne diluée est ensemencé sur gélose nutritive en boîte de Pétri, puis des zones de dépôt sont créées dans la gélose.

[116] Ces zones de dépôt sont remplies avec :

[117] - 50µl d'extrait polaire dilué au 1/20ème

[118] - 50µl d'extrait polaire dilué au 1/2

[119] - 50µl de gentamicine, comme témoin du bon fonctionnement du test, l'antibiotique ayant une activité biologique avérée sur les souches testées

[120] - 50µl de milieu nutritif, supplémenté d'éthanol comme contrôle solvant (noté « Et5% »).

[121] Après dépôt des solutions, les boîtes de Pétri sont soumises ou non à une illumination avec des sources lumineuses délivrant soit une lumière blanche (fluence totale de 25 J/cm²), soit une lumière rouge (fluence totale de 37,5 J/cm²). Une condition sans illumination est effectuée pour déterminer si l'extrait a une activité antibactérienne (toxicité) ou non, en absence d'illumination.

[122] L'activité antibactérienne se révèle par la présence d'une zone d'inhibition de croissance autour des zones de dépôt des échantillons.

[123] Les résultats sous lumière blanche sont présentés dans le tableau 2 qui suit.

[124] [Tableau 2]

		Inhibition croissance bactérienne		
		C. acnes	*S. aureus*	*S. epidermidis*
Avec illumination	Extrait polaire 1/2	++	++	++
	Extrait polaire 1/20ème	+	+	+
	Gentamicine	++	++	+++
	Contrôle solvant	-	-	-
Sans illumination	Extrait polaire ½	+/-	+/-	+/-
	Extrait polaire 1/20ème	-	-	-
	Gentamicine	++	++	++
	Contrôle solvant	-	-	-

[125] Les résultats sous lumière rouge sont présentés dans le tableau 3 qui suit.

[126] [Tableau 3]

	Inhibition croissance bactérienne

		C. acnes	*S. aureus*	*S. epidermidis*
Avec illumination	Extrait polaire 1/2	++	+	++
	Extrait polaire 1/20ème	+	+	+
	Gentamicine	+	+++	+++
Sans illumination	Extrait polaire 1/2	+	+/-	+/-
	Extrait polaire 1/20ème	-	-	-
	Gentamicine	++	++	+++

[127] De façon attendue, les résultats montrent une zone d'inhibition de la croissance bactérienne pour chaque souche avec la gentamicine que ce soit sans illumination ou avec illumination avec une lumière blanche ou rouge. De même, on observe aucune inhibition de la croissance bactérienne en lien avec le contrôle négatif que ce soit avec ou sans illumination. Pour ce qui est de l'extrait polaire de l'algue *Skeletonema marinoï*, on observe peu ou pas d'inhibition de la croissance bactérienne en l'absence d'illumination. En revanche, on observe une inhibition de la croissance bactérienne de *S. aureus,* de *S. epidermidis* et de *C. acnes*, laquelle est d'autant plus forte que l'extrait est moins dilué.

[128] En conclusion, les résultats montrent que l'extrait polaire ne possède pas d'activité antibiotique ou de toxicité vis-à-vis des modèles bactériens à l'obscurité. En revanche, l'extrait est bien photoactivable puisqu'il génère des zones d'inhibition de croissance aussi bien en lumière blanche que rouge. De plus il existe un effet dose puisque l'on observe une zone d'inhibition de croissance plus importante avec l'extrait dilué au demi par rapport à l'extrait dilué au 20ème.

[129] Exemple 3 : Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et de la CMB (Concentration Bactéricide Minimale) d'un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* :

[130] La CMI et la CMB des extraits polaires *S. marinoï, S. grethae, S. subsalsum et S. menzelii* ont été déterminées par une microméthode en plaque 96 puits. La CMI (Concentration Minimale d'Inhibition) d'un extrait correspond à la plus petite concentration en extrait polaire suffisante pour inhiber la croissance d'une souche bactérienne. La CMB (Concentration Bactéricide Minimale) de l'extrait correspond à la plus petite concentration en extrait suffisante pour tuer 99,99% des bactéries de l'inoculum initial. Les bactéries (*C. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*) en phase

exponentielle de croissance sont incubées en présence de différentes concentrations d'un extrait polaire. Les bactéries en présence de l'extrait polaire sont ensuite soumises à une illumination, soit une lumière blanche (fluence totale de 25 J/cm²), soit une lumière rouge (fluence totale de 37,5 J/cm²). Une condition sans illumination est effectuée pour déterminer si l'extrait polaire testé a une activité antibactérienne (toxicité) ou non, en absence d'illumination (obscurité). Après la période d'illumination, les plaques 96 puits sont ensuite incubées dans une étuve en respectant les conditions optimales de croissance des bactéries.

[131] Les résultats des CMI et CMB sous lumière blanche sont présentés respectivement dans les tableaux 4 et 5 qui suivent. Les valeurs de CMI et de CMB sont exprimées en µg/mL d'extrait polaire.

[132] [Tableau 4]

	CMI (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S. aureus	62,5	31	125	250
S. epidermidis	16	63	16	63
C. Acnes	6,25	6	16	31

[133] [Tableau 5]

	CMB (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S. aureus	62,5	1000	>1000	>1000
S. epidermidis	31	>1000	250	>1000
C. Acnes	6,25	n.d.	n.d.	n.d.

[134] Les résultats des CMI et CMB sous lumière rouge sont respectivement présentés dans les tableaux 6 et 7 qui suivent. Les valeurs de CMI et de CMB sont exprimées en µg/mL d'extrait polaire.

[135] [Tableau 6]

	CMI (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S.aureus	125	125	>1000	>1000
S. epidermidis	63	250	125	250
C. Acnes	125	500	1000	>1000

[136] [Tableau 7]

	CMB (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S. aureus	1000	>1000	>1000	>1000
S. epidermidis	> 1000	>1000	>1000	>1000

C. Acnes	< 1000	n.d.	n.d.	n.d.

[137] Les résultats des CMI et CMB sans illumination sont présentés dans le tableau 8 et 9 qui suivent. Les valeurs de CMI et de CMB sont exprimées en µg/mL d'extrait polaire.

[138] [Tableau 8]

	CMI (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S.aureus	250	250	>1000	>1000
S. epidermidis	250	250	250	250
C. Acnes	<1000	>1000	>1000	>1000

[139] [Tableau 9]

	CMB (µg/mL)			
	S. marinoï	*S. grethae*	*S. subsalsum*	*S. menzelii*
S. aureus	< 1000	>1000	>1000	>1000
S. epidermidis	< 1000	>1000	>1000	>1000
C. Acnes	< 1000	n.d.	n.d.	n.d.

[140] Les résultats confirment bien que les photosensibilisateurs de l'extrait polaire de Skeletonema sont responsables de l'inhibition de la croissance bactérienne observée et, également de la lyse bactérienne observée surtout avec l'extrait de *S. marinoï* (Tableaux 4 et 5 *versus* Tableaux 8 et 9). Maintenant, il semble toutefois que d'autres composés de ces extraits contribuent également, mais légèrement, à l'inhibition de la croissance des bactéries *S. aureus* et *S. epidermidis* (cf. [Tableau 8]).

[141] Exemple 4 : Évaluation *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï*

[142] 4.1 Méthode

[143] [148] Les propriétés anti-inflammatoire de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* ont été évaluées sur des kératinocytes épidermiques humains normaux (NHEK)

[144] Ces kératinocytes épidermiques humains NHEK ont été ensemencés en milieu K-SFM supplémenté de 0,25 ng/mL d'EGF (Facteur de Croissance Epidermique), de 25 µg/mL d'extrait pituitaire et de 25 µg/mL de Gentamycine en plaque de 96 puits pour ensuite être incubés à 37°C sous une atmosphère contenant 5% de CO_2. Après au moins un jour de mise en culture, les cellules NHEK sont pré-incubées pendant 24 heures en présence ou en l'absence de différentes concentrations de l'extrait polaire *S. marinoï*. À titre de témoin positif d'activité anti-inflammatoire, les cellules NHEK ont été aussi pré-incubées en présence de bafilomycine (100 nM). Après cette pré-incubation, les traitements ont été renouvelés et les cellules NHEK sont ensuite incubées pendant 24

heures en présence de poly (I:C) de sorte à induire une inflammation. Une condition témoin sans inducteur de l'inflammation (témoin non stimulé) a été réalisée en parallèle.

[145] Après incubation, le surnageant des cultures a été collecté pour déterminer le niveau d'inflammation des kératinocytes par ELISA en mesurant les quantités d'IL-6 sécrétées.

[146] 4.2 Résultats

[147] [Tableau 10]

	IL6 (pg/mL) (% inhibition)	Viabilité cellulaire (WST-8)
Cellules non stimulées (contrôle)	< 9 (100)	124
Cellules stimulées avec du Poly(I :C) 1 µg/mL sans traitement	1495 (0)	100
Cellules stimulées avec du Poly(I :C) 1 µg/mL + Bafilomycine 100 nM (référence positive)	13 (100)	100
Cellules NHEK stimulées avec du Poly(I :C) 1 µg/mL + Extrait d'algue polaire *S. marinoï* (10 µg/mL)	1243 (17)	67

[148] 4.3 Interprétation et conclusions

[149] Comme attendu, la stimulation des cellules NHEK par 1 µg/mL de Poly (I:C) induit une forte production de cytokine pro-inflammatoire IL-6 en comparaison des cellules non stimulées (IL6 : 1495 vs <9 ;). En présence de 100 nM de Bafilomycine, l'effet du Poly (I :C) sur les cellules NHEK est complétement inhibé (référence positive).

[150] On constate que l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* induit une faible inhibition (17%), mais significative, sur la libération de cytokine pro-inflammatoire IL-6 induite par le Poly (I :C) lorsque les cellules NHEK stimulées sont traitées avec un extrait de concentration égale à 10 µg/mL.

[151] Exemple 5 : Evaluation *in vitro* de l'effet anti-lipogénique de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï*

[152] 5.1 Méthode

[153] L'effet de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* sur la surproduction de lipides a été étudié sur des sébocytes humains de la lignée SEBO662AR (lignée BIOALTERNATIVES) stimulé par facteurs lipogéniques et androgéniques.

[154] Les sébocytes humains SEBO662AR ont tout d'abord été mis en culture à 37°C en présence de 5% de CO_2 et d'antibiotiques dans un milieu de culture dédié. Après au moins un jour de mise en culture, la lipogenèse est induite dans les cellules SEBO662AR par leur incubation en présence de facteurs lipogéniques et androgéniques. Les cellules sont ensuite incubées en présence ou en l'absence de 3 concentrations distinctes de l'extrait polaire. A titre de témoin positif d'activité inhibitrice de la lipogenèse, les cellules SEBO662AR sont incubées en présence de cérulénine. Au terme de la période d'incubation, les lipides totaux sont marqués par fluorescence et l'inhibition de la lipogenèse est déterminée pour chaque condition.

[155] 5.2 Résultats

[156] [Tableau 7]

	Lipides (sonde Bodipy®) Intensité de fluorescence /Nombre de noyaux	% de stimulation	% d'inhibition relative
Cellules non stimulées (contrôle)	7 895 ***	3	100***
Cellules stimulées avec un mélange lipogénique contenant des androgènes sans traitement	298 525	100	0
Cellules stimulées avec un mélange lipogénique contenant des androgènes + Cérulénine 10 µM (référence positive)	188 853**	63	38**
Cellules stimulées avec un mélange lipogénique contenant des androgènes + Extrait d'algue polaire *S. marinoï* (10 µg/mL)	151 191***	51	51***
Cellules stimulées avec un mélange lipogénique contenant des androgènes + Extrait d'algue polaire *S. marinoï* (5 µg/mL)	187 489 **	63	38**
Cellules stimulées avec un mélange lipogénique contenant des androgènes + Extrait d'algue polaire *S. marinoï* (1 µg/mL)	238 893 *	80	21*

*** : $p < 0.001$ (extrêmement significatif) ; ** : $0.001 \leq p \leq 0.01$ (très significatif) ; * : $p > 0.05$ (non significatif)

[157] 5.3 Interprétation et conclusions

[158] Comme attendu, la stimulation des sébocytes SEBO662AR par un mélange lipogénique, contenant des androgènes, provoque la formation et l'accumulation de

gouttelettes lipidiques en comparaison des sébocytes non stimulés (Intensité de fluorescence / nombre de noyaux : 298525 *versus* 7895).

Les mesures consignées dans le tableau 7 montrent qu'un traitement des cellules stimulées avec de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* à 10 µg/mL permet d'inhiber la production de lipides de 51% par rapport aux cellules stimulées et non traitées,. A titre de comparaison, le traitement de ces mêmes cellules par la cérulénine (contrôle positif) permet d'inhiber la production de lipides seulement de 38% par rapport aux cellules stimulées et non traitées. Les mesures consignées dans le tableau 7 montrent que l'effet inhibiteur de la lipogenèse induit par l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* est dose dépendant. Une diminution par deux de la concentration en extrait engendre une inhibition de 38% ; et par dix, une inhibition de 21 %.)

[159] Enfin, il est à noter que l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* ne présente aucun effet sur la viabilité des cellules. En effet, le comptage du nombre de noyaux par champ indique un nombre de noyaux globalement comparable pour l'ensemble des conditions testées. De plus, aucune altération morphologique n'a pu être observée lors des observations microscopiques réalisées en fin d'incubation. Il en résulte que l'effet inhibiteur de l'extrait d'algue polaire *S. marinoï* sur la lipogenèse est spécifique et non lié à un phénomène de cytotoxicité partielle associé.

Revendications

1. Une composition dermatologique comprenant au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci caractérisé en ce qu'elle vise à prévenir ou à traiter l'acné ou une infection bactérienne chez un sujet par l'application topique de la composition sur une surface de peau du sujet en combinaison avec une exposition lumineuse de cette surface de peau de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

2. La composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle vise à traiter l'acné.

3. La composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'algue du genre *Skeletonema* est choisie dans le groupe comprenant *Skeletonema ardens, Skeletonema barbadense, Skeletonema costatum, Skeletonema cylindraceum, Skeletonema denticulatum, Skeletonema dohrnii, Skeletonema grethae, Skeletonema grevillei, Skeletonema japonicum, Skeletonema marinoï, Skeletonema mediterraneum, Skeletonema menzelii, Skeletonema mirabile, Skeletonema potamos, Skeletonema probabile, Skeletonema pseudocostatum, Skeletonema simbirskianum Skeletonema subsalum, Skeletonema tropicum, Skeletonema utriculosa et Skeletonema ventricosum.*

4. La composition selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'algue du genre *Skeletonema* est choisie dans le groupe comprenant *Skeletonema costatum*, *Skeletonema grethae*, *Skeletonema marinoï*, *Skeletonema menzellii* et *Skeletonema subsalsum.*

5. La composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* est obtenu par une extraction réalisée par un alcool, de préférence par l'éthanol ou l'isopropanol.

6. La composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la teneur en extrait d'une algue du genre *Skeletonema* dans la composition dermatologique pour le traitement de l'acné est comprise entre 0,001% et

5% en poids sec d'extrait par rapport au poids total de la composition, de préférence entre 0,01% et 1%.

7. La composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'exposition lumineuse de la zone à traiter de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur présent dans cet extrait correspond à une exposition à une onde lumineuse présentant une longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm, de préférence entre 450 et 700 nm.

8. La composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'exposition lumineuse de la zone à traiter de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur présent dans cet extrait correspond à une exposition à une onde lumineuse présentant une intensité (fluence) comprise entre 1J/cm^2 et 100 J/cm^2, de préférence entre 1 et 10 J/cm^2.

9. Un procédé traitement cosmétique en vue d'éliminer comédons et points noirs comprenant les étapes de :

a) application topique sur une surface d'épithélium d'un sujet d'une quantité efficace d'une composition comprenant au moins un extrait polaire d'une algue du genre *Skeletonema* ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci ; et

b) exposition lumineuse de cette surface d'épithélium de sorte à permettre l'activation du photosensibilisateur.

10. Un kit destiné à un traitement photodynamique, lequel comprend :

a) une composition comprenant au moins un extrait polaire d'une algue du genre Skeletonema ou un photosensibilisateur dérivé de celui-ci ; et

b) une source lumineuse.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2021/059545

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 41/00(2020.01)i; ***A61K 36/03***(2006.01)i; ***A61P 31/04***(2006.01)i; ***A61P 17/10***(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 0013660 A1 (DIOR CHRISTIAN PARFUMS [FR]; VIRON CECILE [FR] ET AL.) 16 March 2000 (2000-03-16) examples	1-10
Y	FR 2791568 A1 (LVMH RECH [FR]) 06 October 2000 (2000-10-06) examples	1-10
Y	SUSHANTH V R ET AL. "Antioxidant and antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from Arabian Sea of Karnataka Coast" , Vol. 44, No. 1, 31 December 2014 (2014-12-31), pages 69-75, INDIAN JOURNAL OF MARINE SCIENCES, Retrieved from the Internet: http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/346 27/1/IJMS%2044%281%29%2069-75.pdf ISSN: 0379-5136, XP009524124 abstract tables 2,3	1-10

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
02 June 2021	**14 June 2021**
Name and mailing address of the ISA/EP **European Patent Office** **p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk** **Netherlands** Telephone No. **(+31-70)340-2040** Facsimile No. **(+31-70)340-3016**	Authorized officer **Dullaart, Anwyn** Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TEREKHOVA V E ET AL. "Influence of extrametabolites of marine microalgae on reproduction of the bacterium Listeria monocytogenes" , Vol. 35, No. 4, 30 June 2009 (2009-06-30), pages 306-309, BIOLOGIYA MORYA, Retrieved from the Internet: https://link.springer.com/article/10.1134/S1063074 009040129 DOI: 10.1134/S1063074009040129 ISSN: 0134-3475, XP009524123 abstract figures page 358	1-10
Y	OSCAR GONZÁLEZ-DAVIS ET AL. "Bioprospection of Microalgae and Cyanobacteria as Biocontrol Agents Against Vibrio campbellii and Their Use in White Shrimp Litopenaeus vannamei Culture" *JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY,* Vol. 43, No. 3, June 2012 (2012-06), pages 387-399 DOI: 10.1111/j.1749-7345.2012.00567.x ISSN: 0893-8849, XP055751558 abstract figures; tables page 391 page 397	1-10
Y	M NAVINER ET AL. "Antibacterial activity of the marine diatom Skeletonema costatum against aquacultural pathogens" *AQUACULTURE,* Vol. 174, No. 1-2, April 1999 (1999-04), pages 15-24 DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00513-4 ISSN: 0044-8486, XP055751553 abstract figures; tables page 19, paragraph “Results” - page 22	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2021/059545

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 0013660 A1	16 March 2000	DE 69904343 T2	04 September 2003
		EP 1109529 A1	27 June 2001
		ES 2189470 T3	01 July 2003
		FR 2782921 A1	10 March 2000
		JP 4986322 B2	25 July 2012
		JP 2002524406 A	06 August 2002
		US 6447782 B1	10 September 2002
		WO 0013660 A1	16 March 2000
FR 2791568 A1	06 October 2000	EP 1165036 A1	02 January 2002
		FR 2791568 A1	06 October 2000
		JP 2002541084 A	03 December 2002
		WO 0059466 A1	12 October 2000

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2021/059545

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. A61K41/00 A61K36/03 A61P31/04 A61P17/10
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 00/13660 A1 (DIOR CHRISTIAN PARFUMS [FR]; VIRON CECILE [FR] ET AL.) 16 mars 2000 (2000-03-16) exemples -----	1-10
Y	FR 2 791 568 A1 (LVMH RECH [FR]) 6 octobre 2000 (2000-10-06) exemples -----	1-10

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée
"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
2 juin 2021	14/06/2021

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Dullaart, Anwyn

1

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	SUSHANTH V R ET AL: "Antioxidant and antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from Arabian Sea of Karnataka Coast", INDIAN JOURNAL OF MARINE SCIENCES , vol. 44, no. 1 31 décembre 2014 (2014-12-31), pages 69-75, XP009524124, ISSN: 0379-5136 Extrait de l'Internet: URL:http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/34627/1/IJMS%2044%281%29%2069-75.pdf abrégé tableaux 2,3 -----	1-10
Y	TEREKHOVA V E ET AL: "Influence of extrametabolites of marine microalgae on reproduction of the bacterium Listeria monocytogenes", BIOLOGIYA MORYA , vol. 35, no. 4 30 juin 2009 (2009-06-30), pages 306-309, XP009524123, ISSN: 0134-3475, DOI: 10.1134/S1063074009040129 Extrait de l'Internet: URL:https://link.springer.com/article/10.1134/S1063074009040129 abrégé figures page 358 -----	1-10
Y	OSCAR GONZÁLEZ-DAVIS ET AL: "Bioprospection of Microalgae and Cyanobacteria as Biocontrol Agents Against Vibrio campbellii and Their Use in White Shrimp Litopenaeus vannamei Culture", JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, vol. 43, no. 3, juin 2012 (2012-06), pages 387-399, XP055751558, ISSN: 0893-8849, DOI: 10.1111/j.1749-7345.2012.00567.x abrégé figures; tableaux page 391 page 397 ----- -/--	1-10

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	M NAVINER ET AL: "Antibacterial activity of the marine diatom Skeletonema costatum against aquacultural pathogens", AQUACULTURE, vol. 174, no. 1-2, avril 1999 (1999-04), pages 15-24, XP055751553, ISSN: 0044-8486, DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00513-4 abrégé figures; tableaux page 19, alinéa Results - page 22 -----	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/EP2021/059545

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0013660 A1	16-03-2000	DE 69904343 T2	04-09-2003
		EP 1109529 A1	27-06-2001
		ES 2189470 T3	01-07-2003
		FR 2782921 A1	10-03-2000
		JP 4986322 B2	25-07-2012
		JP 2002524406 A	06-08-2002
		US 6447782 B1	10-09-2002
		WO 0013660 A1	16-03-2000
FR 2791568 A1	06-10-2000	EP 1165036 A1	02-01-2002
		FR 2791568 A1	06-10-2000
		JP 2002541084 A	03-12-2002
		WO 0059466 A1	12-10-2000