(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
10 janvier 2013 (10.01.2013)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2013/004953 A2

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 8/98 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *A61K 8/96* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2012/051499

(22) Date de dépôt international :
28 juin 2012 (28.06.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1156035 5 juillet 2011 (05.07.2011) FR

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* : **LABORATOIRES M&L** [FR/FR]; Z.I Saint-Maurice, F-04100 Manosque (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **DEVILARD, Elisabeth** [FR/FR]; Résidence 1 lot Verger de Paul, Avenue des Marronniers, F-04130 Volx (FR). **DUGAS, Elodie** [FR/FR]; Route de Pradons, F-07120 Ruoms (FR). **SOUVIGNET, Bérengère** [FR/FR]; 10 Lotissement les Terrasses, F-30200 Saint Michel D'euzet (FR).

(74) Mandataire : **ENDERLIN, Eric**; Novagraaf Technologies, 122, rue Edouard Vaillant, F-92593 Levallois-perret (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g))*

— *avec la partie de la description réservée au listage des séquences (règle 5.2.a))*

WO 2013/004953 A2

(54) **Title** : COSMETIC COMPOSITION COMPRISING A MIXTURE OF HONEYS

(54) **Titre** : COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN MELANGE DE MIELS

(57) **Abstract** : The present invention relates to a cosmetic composition comprising acacia honey, orange tree honey and thyme honey. The subject matter of the present invention is also the cosmetic use of the composition for stimulating cell proliferation and/or for restoring the epidermal barrier function and/or for stimulating vasculogenesis of the skin, and a cosmetic treatment process for dry skin, comprising the application to the skin of a cosmetic composition of the invention.

(57) **Abrégé** : La présente invention se rapporte à une composition cosmétique comprenant du miel d'acacia, du miel d'oranger et du miel de thym. La présente invention a également pour objet l'utilisation cosmétique de la composition pour stimuler la prolifération cellulaire et/ou pour restaurer la fonction barrière épidermique et/ou pour stimuler la vasculogénèse de la peau, et un procédé de traitement cosmétique de la peau sèche comprenant l'application sur la peau d'une composition cosmétique de l'invention.

COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN MELANGE DE MIELS

DESCRIPTION

Domaine technique

La présente invention se rapporte à une composition cosmétique pour le traitement de la peau sèche et/ou une composition cosmétique anti-âge.

La présente invention se rapporte également à l'utilisation cosmétique de cette composition pour stimuler la prolifération cellulaire et/ou pour restaurer la fonction barrière épidermique et/ou pour stimuler la vasculogénèse de la peau, et à un procédé de traitement cosmétique. La présente invention trouve notamment une application dans le domaine cosmétique.

Dans la description ci-dessous, les références entre crochets (**[ ]**) renvoient à la liste des références présentées à la fin du texte.

Etat de la technique

La peau est un organe d'échange. Son aspect visuel mais aussi tactile occupe une place très importante, particulièrement dans la société actuelle. La peau forme l'enveloppe du corps et constitue l'ultime barrière entre l'individu et l'environnement. Sa finalité fonctionnelle est de protéger l'organisme de la perte en eau et des agressions externes diverses (rayonnements UV, pollution, micro-organismes). Cette propriété, appelée fonction barrière, est principalement assurée par la couche cornée (stratum corneum).

Dans certaines conditions, ou à certains moments de la vie, l'épiderme, et donc la barrière épidermique, peut être fragilisée ou altérée. Dans le cas des peaux sèches, la fonction de barrière cutanée s'avère peu efficace. C'est aussi le cas chez les peaux matures, soumises à une

baisse de la régénération épidermique et des synthèses cellulaires liées au vieillissement. De même, lors d'agressions extérieures (froid, rasoir, chirurgie, peeling...) ou d'affections dermatologiques (acné, brûlures, plaies...), l'épiderme et la fonction barrière de la peau se trouvent affectés. Il existe différents types de peaux sèches :

- La « vraie » peau sèche par réel manque d'eau dans la couche cornée. Il peut s'agir soit d'un trouble constitutionnel par manque de NMF entraînant une diminution du pouvoir de rétention de l'eau au sein du *stratum corneum,* soit d'une peau déshydratée par les agressions climatiques, environnementales etc. Dans ce cas, tous les types de peaux peuvent être temporairement concernés.

- Les peaux sèches alipidiques correspondant à un trouble constitutionnel impliquant une sécrétion de sébum trop faible.

- Les peaux sèches dites « apparentes » dont le mécanisme n'est pas un manque d'eau. On retrouve notamment ici les troubles de la desquamation liés à l'âge ou les conséquences d'une exposition aux ultraviolets avec un épaississement de la couche cornée.

- Les peaux sèches dermatologiques avec des pathologies telles que l'ichtyose, la kératose pilaire, le psoriasis. Dans ces cas, on observe une diminution d'eau dans le stratum corneum et des troubles de la desquamation.

En bref, le terme « sec » doit d'abord être compris comme « manquant d'eau », c'est-à-dire par opposition à une peau bien hydratée et non comme une peau manquant de lipides, appréhendée par opposition au phénomène des peaux grasses.

Une peau sèche peut se caractériser par une diminution du taux de lipides extracellulaires, un état déshydraté et un retard dans la reconstitution de la barrière épidermique (Seyfarth F, Schliemann S, Antonov D, Elsner P. Dry skin, barrier function, and irritant contact dermatisis in the ederly. Clin Dermatol 2011, 29 (1):31-6.[1]). Sur le plan sensoriel, la peau sèche est particulièrement inconfortable : elle est

douloureuse, peu souple, elle tire. Sur le plan visuel, elle possède un aspect parcheminé sans éclat. Une peau sèche peut révéler une carence alimentaire, une allergie, une maladie cutanée (comme l'ichtyose, l'eczéma ou le psoriasis) ou un autre problème de santé (par exemple, l'hypothyroïdie).

De nombreuses compositions pour le traitement de la peau sèche et/ou des compositions anti-âges sont connues dans l'état de la technique. Toutefois, ces compositions ne permettent pas de traiter efficacement les causes de la peau sèche ni de stimuler la fonction barrière de la peau lié à cet état.

Le miel est connu depuis des siècles, comme un aliment aux vertus bienfaisantes, adoucissantes et régénératrices qui ont un réel effet bénéfique sur l'organisme.

1/ Historique

Les premiers écrits faisant mention du miel non pas comme un aliment mais comme un médicament datent de l'époque mésopotamienne (2700 ans avant J-C). Les Egyptiens l'utilisaient pour panser les blessures, soigner les affections oculaires, embaumer les morts mais également pour embellir la peau. Des textes médicaux Assyriens préconisaient également l'usage du miel dans le traitement des affections de l'œil et de l'oreille mais également en gynécologie. Hippocrate le conseillait pour guérir les plaies, apaiser les douleurs d'oreilles, fortifier la vue. Aristote lui reconnaissait également des vertus médicinales pour les contusions et les plaies suppurantes. Au Moyen-âge, Avicenne loua également ses vertus cicatrisantes. En Afrique noire, le miel est reconnu pour son efficacité contre les brûlures, certaines morsures de serpents, la fièvre, les infections et inflammations variées.

Depuis quelques années, de nombreuses études scientifiques ont permis de confirmer les propriétés traditionnellement accordées au miel comme des propriétés antibactériennes (Taormina P.J., Niemira B.A., Beuchat L.R. « Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as

influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power." International Journal of Food Microbiology, 2001, 69(3), 217-225 [2]) (Dimitrova B., Gevrenova R., Anklam E. «Aromatic and arylaliphatic carboxylic acids as markers for th efloral origin of heather honey. » European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 2003, 28(1), special issue 44 [3]), des propriétés anti-inflammatoires (Tonks A., Cooper R.A., Price A.J., Molan P.C., Jones K.P. "Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey." Citokine, 2001, 14(4), 240-242 [4]) mais également de lui en découvrir de nouvelles notamment des propriétés antioxydantes (Gheldof N., Engeseth N.J. "Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum sample." J.Agric. Food Chem., 2002, 50(10), 3050-3055 [5]). Sous l'impulsion du Professeur B.Descottes, le miel a même fait son entrée à l'hôpital depuis le début des années 80 (Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années : B. Descottes Phytothérapie (2009) 7 :112-116 [6]).

2/Composition des miels

Le miel est un produit complexe d'origine 100% naturelle, issu du milieu végétal et animal. Il est produit par les abeilles mellifiques à partir du nectar de fleurs. Une fois récolté, les abeilles vont faire subir au nectar des réactions chimiques, physiques et enzymatiques (hydrolyse enzymatique des polysaccharides en fructose, glucose, déshydratation…). La maturation du nectar en miel consiste en une transformation des sucres et une diminution de la teneur en eau. Elle commence dès la récolte du nectar par les abeilles et se poursuit lors du stockage dans la ruche. Les miels de thym, d'oranger et d'acacia sont des miels dits de nectar (ou miel de fleurs). Pour d'autres miels, tel le sapin, le miel est issu des sécrétions des insectes parasites vivants sur la plante (pucerons, cochenilles, citadelles). On parle alors de miellat. Il existe une très grande variété de miels correspondants aux fleurs et plantes visitées par les abeilles.

La composition du miel dépend :

- De la composition initiale du nectar
- Du travail des abeilles : échanges successifs entre les abeilles qui vont enrichir le liquide en enzymes (présents dans les sécrétions des abeilles) et le déshydrater. Les sucres caractéristiques du miel apparaissent suite à différentes réactions enzymatiques.

Chaque miel présente donc une composition spécifique. Cependant, les miels européens présentent tous une composition moyenne détaillée ci-dessous dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composition biochimique des miels Européens exprimée pour les principaux composés en % en poids par rapport au poids total du miel, en mg par kg pour les composés minoritaires.

	Teneurs moyennes
EAU	15-20%
GLUCIDES	75-80% DONT 33% GLUCOSE 39% FRUCTOSE
PROTEINES ET ACIDES AMINES	0,2-2,2%
Acides Organiques	0,1-0,5%
Lipides	en quantités infimes
Vitamines	B, C en quantités infimes (A,D, K)
Potassium	200-1500 mg/kg
Sodium	16-170 mg/kg
Calcium	40-300 mg/kg
Magnésium	7-130 mg/kg
Fer	0,3-40 mg/kg
Zinc	0,5-20 mg/kg
Manganèse	0,2-10 mg/kg
Chrome	0,1-0,3 mg/kg
Cobalt	0,01-0,5 mg/kg
Nickel	0,3-1,3 mg/kg
Aluminium	3-60 mg/kg
Cuivre	0,2-6 mg/kg
Cadmium	< 0,15 mg/kg

Si les bienfaits du miel sont connus depuis fort longtemps dans le traitement de nombreuses affections, il n'a jamais été envisagé qu'une association de miels puisse être utile pour traiter en priorité la peau sèche. En particulier, malgré le grand nombre de compositions cosmétiques disponibles pour traiter des problèmes de peau, ces compositions ne permettent pas de traiter efficacement les causes de la peau sèche ni de stimuler la fonction barrière de la peau liée à cet état.

Il existe donc un réel besoin de trouver un nouveau composé, composition et/ou un moyen de traitement efficace de la peau sèche et/ou des causes à l'origine de cet état palliant l'ensemble des défauts, inconvénients et obstacles de l'art antérieur.

Description de l'invention

La présente invention a précisément pour but de répondre à ce besoin en fournissant une composition cosmétique comprenant des miels de printemps. Avantageusement, la composition cosmétique selon l'invention comprend du miel d'acacia, du miel de thym et du miel d'oranger.

La présente invention se rapporte également à l'utilisation cosmétique et/ou dermatologique de cette composition.

La composition selon l'invention peut être une composition cosmétique anti-âge et/ou pour le traitement de la peau sèche.

En outre, Les travaux réalisés par les inventeurs dans le cadre de l'invention ont permis de caractériser chacun de ces extraits et de mettre en évidence leur complémentarité et synergie d'action.

Dans la présente par « miel d'acacia » on entend un miel monofloral issu d'acacia appartenant, par exemple à la famille des *Fabacées*, de robinier, par exemple de l'espèce *Robinia pseudoacacia*. Il peut s'agir, par exemple, d'un miel qui se présente sous la forme d'un miel liquide clair, odeur puissante moyenne, florale et saveur douce, florale avec un spectre pollinique assez simple, c'est-à-dire comprenant par exemple une majorité

de pollens de *Robinia pseudoacacia* et une minorité de pollens de *Prunus/Pyrus* et de *Castanea sativa*. Il peut s'agir par exemple d'un miel avec une teneur en glucose et fructose supérieure à 66% par rapport au poids total. Il peut s'agir par exemple du miel d'acacia commercialisé par Guy Nicolas Les Charmes 52260 Marac. Il peut s'agir par exemple de miels issus de l'agriculture biologique.

Dans la présente par « miel d'oranger » on entend un miel monofloral produit à partir d'un nectar d'agrumes, en particulier d'oranger de l'espèce *Citrus*. Il peut s'agir, par exemple, d'un miel qui se présente sous la forme d'un miel liquide, ambré clair, odeur puissante, moyenne florale et de saveur fruitée, florale, acidulée avec un spectre pollinique assez complexe, c'est-à-dire comprenant majoritairement des pollens de vipérine et échium et minoritairement des pollens d'eucalyptus et de brassicacée. Il peut s'agir par exemple d'un miel avec une teneur en glucose et fructose supérieure à 69% en poids par rapport au poids total. Il peut s'agir par exemple du miel d'oranger commercialisé par Miels Villeneuve 81 rue de la Baraudière ZA Villemandeur 45203 Montargis. Il peut s'agir, par exemple, de miels issus de l'agriculture biologique.

Dans la présente par « miel de thym » on entend un miel monofloral issu de thyms de l'espèce *Thymus.* Il peut s'agir, par exemple, d'un miel qui se présente sous la forme d'un miel liquide, ambré moyen, odeur puissante et saveur complexe, fruitée, acidulée et assez persistante avec un spectre pollinique assez complexe. En effet, il comprend des pollens d'accompagnement de brassicacée et de thym et de pollens minoritaires de sainfoin de lamiacée de trèfle de bleuet et de genista type. Il peut s'agir, par exemple, d'un miel avec une teneur en glucose et fructose supérieure 60% par rapport au poids. Il peut s'agir par exemple du miel de thym commercialisé par Miels Villeneuve 81 rue de la Baraudière ZA Villemandeur 45203 Montargis. Il peut s'agir par exemple de miels issus de l'agriculture biologique.

Dans la présente par composition cosmétique on entend toute composition à visée cosmétique, par exemple une composition pouvant être mise en contact avec les parties superficielles du corps humain, par exemple l'épiderme, les systèmes pileux et capillaires, les organes externes, les dents et les muqueuses.

Selon l'invention, le mélange de miels peut être présent dans la composition par exemple à une concentration comprise de 0,05 à 100%, par exemple de 0,1 à 15%, par exemple de 0,1 à 5%, par exemple de 0,1 à 2% en poids par rapport au poids total de la composition.

Selon l'invention, les miels peuvent être dans la composition à une concentration identique ou différente en poids par rapport au poids total de ladite composition. Par exemple selon l'invention le rapport entre les différents miels peut être un rapport de 1 :1 :1 de 1 :2 :2 ou de 1 :2 :3

Avantageusement, la composition de l'invention comprenant du miel d'acacia, du miel de thym et du miel d'oranger permet de renforcer la fonction barrière épidermique.

En outre, la composition de l'invention comprenant du miel d'acacia, du miel de thym et du miel d'oranger permet avantageusement de stimuler la prolifération cellulaire ainsi que la vasculogénèse permettant ainsi de revitaliser la peau, en particulier la peau sèche et de restaurer l'éclat du teint.

La présente invention a donc également pour objet l'utilisation cosmétique de la composition comprenant le miel d'acacia, le miel de thym et le miel d'oranger.

La présente invention a également pour objet l'utilisation cosmétique de la composition de l'invention pour stimuler la prolifération cellulaire et/ou pour restaurer la fonction barrière épidermique et/ou pour stimuler la vasculogénèse de la peau.

Les inventeurs ont également clairement démontré que la présente invention permet avantageusement de stimuler la prolifération cellulaire

ainsi que la vasculogénèse permettant ainsi de revitaliser la peau, en particulier la peau sèche et de restaurer l'éclat du teint.

De plus, les inventeurs ont clairement démontré que la présente invention utilisant le miel d'acacia, le miel de thym et le miel d'oranger agissent de façon synergique sur la régénération et la restructuration de l'épiderme ainsi que sur l'éclat et la vitalité de la peau.

Selon l'invention, quel que soit l'extrait ou le mélange d'extraits utilisés, la composition cosmétique de la présente invention peut comprendre en outre au moins un agent actif additionnel choisi, par exemple parmi un agent anti-âge, un agent hydratant, un agent apaisant ou un mélange de ces agents. Ces agents peuvent être ceux couramment utilisés dans les produits cosmétiques et/ou dermatologiques. Des exemples d'agents anti-âges utilisables sont par exemple le silicium ou la vitamine C. Des exemples d'agents hydratants utilisables sont par exemple la glycérine ou l'acide hyaluronique. Des exemples d'agents apaisants utilisables sont par exemple le bisabolol, les extraits de *Boswellia serrata* ou l'azulène. Ce ou ces agent(s) peuvent être utilisé(s) dans la composition de la présente invention par exemple aux concentrations usuellement utilisées et connues de l'homme du métier dans les compositions cosmétiques ou dermatologiques.

La composition cosmétique selon l'invention peut comprendre un ou plusieurs adjuvants connus de l'homme du métier. Il peut s'agir par exemple d'un ou plusieurs adjuvant(s) choisi(s) parmi des agents de type esters, des agents hydratants, des agents émollients, des agents épaississants minéraux, obtenus par biotechnologie, associatifs ou non, des filtres solaires minéraux, des parfums, des conservateurs, des pseudo-céramides, des vitamines et des provitamines, des protéines, des agents séquestrants, des agents alcanisants, des agents acidifiants, des agents réducteurs, des agents oxydants, des charges minérales, des colorants naturels ou tout autre adjuvant pouvant être cité dans le dictionnaire INCI

(International Nomenclature Cosmetic Ingredients) publié par le CTFA (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association).

Selon l'invention, la composition cosmétique peut, par exemple, se présenter sous toute forme connue de l'homme du métier. Il peut s'agir, par exemple d'une forme choisie parmi une émulsion huile-dans-l'eau, eau-dans-l'huile, une émulsion multiple, une microémulsion, d'une émulsion solide, un gel aqueux ou hydro-alcoolique, une crème, un lait, une pommade, une huile, un baume, un onguent, un gel, d'un masque, une poudre, un support imbibé, par exemple un patch transdermique, une solution, une lotion aqueuse ou hydroalcoolique, un spray, une suspension et/ou une cire.

Selon l'invention, la composition peut être sous toute forme connue de l'homme du métier dans les domaines de la cosmétique et de la dermatologie, sans aucune restriction galénique particulière.

La composition selon la présente invention peut être, par exemple une composition pour le soin du visage, du corps, par exemple des compositions pour le visage et/ou le corps.

La composition de l'invention peut être obtenue par tout procédé approprié connu de l'homme du métier pour la fabrication d'une composition cosmétique et/ou dermatologique. Il peut s'agir, par exemple d'un simple mélange. Il peut s'agir également, par exemple, d'un procédé comprenant une étape d'incorporation d'une phase interne dans une phase externe au moyen d'un émulseur, par exemple d'une turbine de type rotor-stator. Il peut s'agir également par exemple d'un procédé utilisant la Température d'Inversion de Phase (TIP), procédé classiquement utilisé par l'homme de l'art pour obtenir des émulsions huile dans eau dont les gouttelettes dispersées sont particulièrement fines.

La présente invention a également pour objet un procédé de traitement cosmétique anti-âge comprenant l'application sur la peau d'une composition cosmétique comprenant du miel d'acacia, du miel de thym et du miel d'oranger.

Le miel d'acacia, le miel de thym et le miel d'oranger sont tels que définis ci-dessus.

Pour cette application, on peut, par exemple, utiliser les formes galéniques décrites ci-dessus. L'application sur la peau peut donc être réalisée en fonction de la forme galénique utilisée.

Il peut s'agir, par exemple d'une simple application sur la peau ou d'une application accompagnée d'un massage de la peau avec la composition de la présente invention.

L'application est de préférence réalisée avec une quantité suffisante de la composition afin que toute la surface de la peau à traiter soit traitée. Il peut s'agir par exemple d'une application classique, comme une crème sur la peau. Il peut s'agir par exemple aussi d'une application pour former un masque traitant.

L'application peut être, par exemple une application quotidienne, hebdomadaire et bi-mensuelle. Il peut s'agir par exemple d'une application une fois par jour, deux fois par jour ou plus.

Avantageusement, la présente invention permet de renforcer la fonction barrière épidermique ainsi que stimuler la vasculogénèse permettant ainsi de revitaliser la peau.

En outre, la présente invention permet avantageusement de favoriser la cohésion entre le derme et l'épiderme, de régénérer et restructurer l'épiderme pour un meilleur lissage en surface et un teint éclatant.

D'autres avantages pourront encore apparaître à l'homme du métier à la lecture des exemples ci-dessous, illustrés par les figures annexées, donnés à titre illustratif.

EXEMPLES

Exemple 1 : Exemple d'un soin du visage ou pour le corps réalisé à partir de la composition de la présente invention

On prépare par mélange des différents composants, une composition de base décrite dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Composition du soin visage exprimée en % par rapport au poids total

INGREDIENTS	Quantité en % par rapport au poids total de la composition (%)
Alkylglucoside	0,1 à 10%
Alcool gras	0,1 à 5%
Triglycéride caprylique/ caprique	1 à 20%
Glycérine	0,1 à 10%
Gomme xanthane	0,05 à 1%
Parfum	QS 100
Conservateurs	QS 100
Eau	QS 100

Exemple 2 : Caractérisation chimique des différents miels (thym, oranger et acacia)

La composition des trois miels utilisés conformément à la présente invention, à savoir miel d'Acacia, miel d'Oranger et miel de Thym a été étudiée afin de révéler les particularités chimiques de chacun des trois miels. Leurs teneurs en eau, en glucides et en acides aminés libres ont été ainsi caractérisées pour chacun. Les teneurs totales sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Composition moyenne des trois miels exprimée en % en poids par rapport au poids total du miel

	Acacia	**Oranger**	**Thym**
Eau	18%	18%	18%
Glucides	79,3%	81,1%	80,3%
Acides Aminés libres	0,04%	0,041%	0,082%
Substances diverses (vitamines, sels minéraux, enzymes, polyphénols)	2,6%	0,9%	1,6%

Conformément à la présente invention, la teneur en eau est un des critères de choix de qualité des miels. Concernant les miels d'acacia, d'oranger et de thym, la teneur en eau ne dépasse pas, de préférence, 21% en poids du miel, permettant avantageusement d'éviter la prolifération de microorganismes. Selon, l'invention, de préférence, la teneur moyenne en eau est de 18% en poids du miel. Les trois miels sélectionnés dans cet exemple répondent parfaitement aux exigences de qualité.

L'analyse des glucides ont confirmé que les sucres représentent les composés majoritaires des trois miels. Avantageusement, la richesse en sucre facilite la fixation des molécules d'eau protégeant ainsi la peau de la déshydratation tout en conservant souplesse et douceur. Les différents sucres de la fraction glucidique des miels sélectionnés pour cet exemple sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Composition des trois miels en sucres exprimée en % de poids par rapport au poids total du miel

	Acacia	**Oranger**	**Thym**
Fructose	43,8	38,5	38,8
Glucose	27,6	30,5	29,1
Saccharose	2,2	2,6	2,9
Isomaltose	1	1	3
Maltose	1,9	2,4	1,5
Raffinose	traces	-	0,7
Erlose	1,8	0,6	Nd
Turanose	1,9	1,3	1,7
Sucres Totaux	**79,3**	**81,1**	**80,3**
Glucose + Fructose	**71,3**	**69**	**67,9**

Les sucres majoritaires sont des monosaccharides (glucose et fructose). Le miel d'acacia sélectionné présente la teneur en fructose la plus élevée (43,8%) des trois miels tandis que le miel d'oranger sélectionné présente la teneur en glucose la plus importante (30,5%). De

nombreux autres sucres sont également présents dans les trois miels, en plus faible quantité, notamment des disaccharides (saccharose, maltose, isomaltose, turanose) ou encore des trisaccharides (raffinose et erlose). Ainsi, le miel d'oranger présente la teneur en erlose la plus élevée des trois miels, le miel d'oranger une teneur élevée en maltose et le miel de thym par des teneurs spécifiques en isomaltose et raffinose.

La caractérisation chimique des trois miels de l'invention confirme des compositions en glucides proches mais spécifiques à leur origine botanique.

Les vitamines, minéraux et les acides aminés contenus dans les miels permettent de tonifier et de nourrir la peau. Les acides aminés libres présents dans les miels peuvent avoir plusieurs origines : le nectar des fleurs butinées, le pollen présent dans les miels, l'abeille elle-même (cas de la proline). L'analyse des acides aminés présents dans les trois miels sélectionnés a permis de mettre en évidence de nouvelles particularités de la composition de chacun ces miels (tableau 5).

Tableau 5 : Composition des trois miels en acides aminés libres exprimée en mg par Kg.

	Acacia	Oranger	Thym
Acide aspartique	15,8	14,4	12,7
Acide glutamique	9,8	11,8	15,3
Asparagine	14,6	30,5	14,9
Serine	5,3	9,2	7,9
Glutamine	10,5	16,3	20
Histidine	8,8	4,1	7,2
Glycine	2,7	2,5	4,2
Thréonine	3	4,9	4,7
Alanine	6,4	7,7	14,9
Arginine	8,2	10,3	12
Tyrosine	3	6	47,3
Cystéine	3,4	3,1	7,9
Cystine	5,6	5	13,8

Valine	4,9	5,1	6,7
Méthionine	1	0,5	1,7
Tryptophane	2,8	3,7	5
Phénylalanine	7,4	7,6	236,3
Isoleucine	2,8	2,4	7,1
Leucine	2,1	1,2	3,6
Lysine	21	18,9	21,8
Proline	226,9	241	350,8
TENEUR TOTALE	366	406,2	815,8

Ces miels contiennent une grande diversité d'acides aminés. Ainsi, pour les trois miels sélectionnés l'acide aminé majoritaire est la proline. Après la proline, l'acide aspartique est l'acide aminé majoritaire du miel d'acacia. Le miel d'oranger se distingue par une teneur élevée en asparagine. Quant au miel de thym il présente la teneur la plus élevée des trois miels en acides aminés (815,8 mg/Kg). Sa teneur en phénylalanine (236,3 mg/Kg) est très supérieure à celle du miel d'acacia (7,4 mg/Kg) et du miel d'oranger (7,6 mg/Kg). La phénylalanine est donc un acide aminé caractéristique du miel de thym. Ce dernier contient également de l'alanine (14,9 mg/Kg) et de la tyrosine (47,3 mg/Kg) à des concentrations supérieures à celles analysées dans les deux autres miels.

Matériel et méthodes

1.1 Teneur en eau

Dosage au réfractomètre sans préparation préalable des échantillons réalisé à partir du protocole expérimental décrit dans Taormina P.J., Niemira B.A., Beuchat L.R. « Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power." International Journal of Food Microbiology, 2001, 69(3), 217-225 [2]. Dimitrova B., Gevrenova R., Anklam E. «Aromatic and arylaliphatic carboxylic acids as markers for th efloral origin of heather honey. » European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 2003, 28(1), special issue 44 [3]. Tonks A., Cooper

R.A., Price A.J., Molan P.C., Jones K.P. “Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey.” Citokine, 2001, 14(4), 240-242. [4], Gheldof N., Engeseth N.J. “Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum sample.” J.Agric. Food Chem., 2002, 50(10), 3050-3055. [5] Cicatrisation par le miel, l’expérience de 25 années : B. Descottes Phytothérapie (2009) 7 :112-116. [6], “Determination of honey sugars by HPLC with pulsed amperometric detection” dans "Harmonised methods of the international honey commission". International Honey Commission 2002 [7] ».

1.2 Dosage des glucides

Le protocole expérimental réalisé est décrit dans la publication Determination of honey sugars by HPLC with pulsed amperometric detection [7].

1.3 Dosage des acides aminés

Les acides aminés ont été identifiés et quantifiés par chromatographie liquide selon le protocole analytique décrit dans « Développement de méthodes analytiques et de banque de données appliquées au contrôle de la naturalité des miels monofloraux », Jean-François Cotte, thèse de l’université Claude Bernard-Lyon 1, école doctorale de chimie, 2003 [8].

Exemple 3 : Effet d’un extrait de miel de thym ou d’un extrait de miel d’oranger ou d’un extrait de miel d’acacia et/ou du mélange des trois pour restaurer les peaux sèches.

Les fonctions protectrices essentielles de la peau peuvent momentanément s’altérer et entrainer une sécheresse cutanée avec des sensations d’inconfort (manque de souplesse, tiraillement, tendance à rider

plus facilement). Ceci est dû principalement à un retard dans la reconstitution de la barrière épidermique et à un état déshydraté.

L'épiderme se régénère continuellement et ce turnover constant est réalisé à partir de cellules de la couche basale comprenant des cellules souches épidermiques qui présentent un haut potentiel prolifératif, une grande capacité à s'auto-renouveler et à générer des cellules dites transitoires. Après quelques cycles de division, les cellules transitoires entament un processus de différenciation terminale, dénommé kératinisation ou cornification. Lors du processus normal de différenciation, le passage des kératinocytes de la couche basale aux couches épineuse, granuleuse puis cornée aboutit à la formation des cornéocytes. La fonction barrière de la peau est en grande partie due au stratum corneum ou couche cornée.

Dans l'épiderme se trouve le facteur naturel d'hydratation, qui participe, avec les lipides épidermiques de structure, au maintien du taux idéal d'hydratation cutanée et au maintien de la fonction barrière. Constitué de nombreuses substances (sucres, lipides complexes), le facteur naturel d'hydratation forme un film de surface qui va aider à retenir l'eau à l'intérieur de la peau, les peaux sèches souffrant d'un manque d'eau, leurs réserves d'eau sont aussi amoindries.

Les expériences sont réalisées avec un miel de thym biologique, miel d'oranger biologique ou de miel d'acacia biologique et le mélange des trois.

Le miel de thym biologique provenait de Montargis par la Société Miels Villeneuve (81 rue de la Baraudière ZA Villemandeur 45203 Montargis).

Le miel d'oranger biologique provenait de Montargis par la Société Miels Villeneuve (81 rue de la Baraudière ZA Villemandeur 45203 Montargis).

Le miel d'acacia biologique provenait de Guy Nicolas à Marac (Les Charmes 52260 Marac).

Cet exemple démontre clairement par une analyse transcriptomique *ex-vivo* par Puces à ADN que la composition de l'invention permet de stimuler la restauration de la fonction barrière, le maintien d'une bonne hydratation ainsi que l'éclat du teint.

Le transcriptome est l'ensemble des ARN messagers (molécules servant de matrice pour la synthèse des protéines) issu de l'expression d'une partie du génome d'un tissu cellulaire ou d'un type de cellule. La caractérisation et la quantification du transcriptome dans un tissu donné et dans des conditions données permettent d'identifier les gènes actifs, de déterminer les mécanismes de régulation d'expression des gènes et de définir les réseaux d'expression des gènes. Une des techniques utilisées pour mesurer simultanément le niveau d'expression d'un grand nombre de types différents d'ARN messager est celle de la puce à ADN. Les puces à ADN permettent de mesurer et de visualiser très rapidement les différences d'expression entre les gènes et ceci à l'échelle d'un génome complet.

1. Matériel et méthode

1.1 Préparation des échantillons :

Des extraits de miel de thym, de miel d'oranger, de miel d'acacia et la combinaison de ces trois miels aux différentes concentrations présentées dans l'exemple 1 sont réalisés en vue des analyses transcriptomiques.

Après avoir réalisé un test de viabilité cellulaire tel que décrit dans la publication de Khalegi S *et al*. (Khaleghi S, Aziz AA, Razali N, Junit SM. Microarray analysis revealed different gene expression patterns in HepG2 cells treated with low and high concentrations of the extracts of Anacardium occidentale shoots. *Genes Nutr.* 2011 Mar 29. [9]) qui a permis de déterminer pour chaque composition une concentration maximale diluée à appliquer, 5 explants de peau provenant de lifting du visage d'une patiente âgée de 55 ans ont été incubés indépendamment en

présence de ces compositions pendant 24h dans du DMEM (Dulbecco/Vogt modified Eagle's minimal essential medium) sans sérum à 37°C en atmosphère humide à 5% de CO_2. Un explant de peau non traité a été incubé dans les mêmes conditions. Le tableau 6 récapitule les concentrations appliquées pour chaque composition.

Tableau 6 : concentrations maximales exprimées en % pour chaque miel et pour le mélange de ces trois miels

	Pourcentage en poids par rapport au poids total de la composition
Extrait biologique miel de thym	5
Extrait biologique miel d'oranger	5
Extrait biologique miel d'acacia	5
Mélange des 3 miels	5+5+5=15

1.2 Extraction des ARN totaux et amplification linéaire

Après incubation, les explants de peau ont été broyés puis les ARN totaux issus de chaque explant ont été extraits en utilisant le RNeasy Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Les ARN totaux ont été ensuite quantifiés puis la qualité a été vérifiée en utilisant le BIOanalyzer 2100 avec le RNA 6000 Nano LabChip Kit (Agilent Technologies, Boblingen, Germany). Un RIN entre 7,5 et 10 atteste de la bonne qualité des ARN totaux issus de chaque explant préalablement incubé ou non avec les trois extraits de miels biologiques de thym, d'oranger ou acacia ainsi que le mélange des 3.

1.3 Mesure de l'expression génique sur puce oligonucléotide et acquisition des data :

Les puces oligonucléotides Affymetrix Human Gene 1.0 ST Whole Genome ont été utilisées pour chaque analyse d'expression génique (GeneChip HU Gene 1.0, Affymetrix, Santa Clara, USA).

Une documentation complète ainsi que le protocole expérimental décrit dans Seitz G, Bonin M, Fuchs J et al. Inhibition of glutathione-S-transferase as a treatment strategy for multidrug resistance in childhood rhabdomyosarcoma. *International Journal of Oncology* 2010 *36:491-500.* [10] est disponible sur le site : http://media.affymetrix.com/support/technical/datasheets/gene_1_0_st_datasheet.pdf

Plus simplement, les cycles de rétrotranscription et d'amplification des ARN totaux en ARNc puis en ADNc sont réalisés à l'aide des kits Ambion WT Expression (Ambion, Applied Biosystem, USA) et du kit GeneChip WT terminal Labelling and Hybridization User (Affymetrix). L'hybridation des puces et les mesures ont été réalisées par les Microarray Facility Tubingen. Les Puces ont ensuite été scannées en utilisant le scanner GCS3000 Gene Chip (Affymetrix) et le software GCOS 1.4. Les images scannées sont ensuite analysées en utilisant la console Expression 1.0 (Affymetrix) afin de convertir des mesures d'intensité lumineuse en données numériques et de normaliser ces données. L'analyse complète des données et une analyse statistique sont réalisées grâce au logiciel Genespring GX 11 (Agilent Technologies) sur la base, en particulier, d'algorithmes de classification. Des différences d'expression de gènes ainsi obtenues suite à l'application des différents miels seuls et/ou du mélange des trois miels sur des explants de peau par rapport à un explant non traité sont rassemblées dans le tableau 7. La valeur des gènes différentiellement exprimés en regard de la peau traitée ou non à l'aide des trois miels biologiques et/ou du mélange des trois présente une p-value < 0,01 (valeur statistique très significative).

Tableau 7 : différence d'expression génique et signification biologique des gènes suite à l'application des différents miels biologiques et du mélange des 3 sur explants de peau par rapport à un même explant non traité.

GENES	db EST	FONCTIONS	STATUT dans étude: stimulation par rapport à la peau non traitée
CRABP2 ("cellular retinoic acid binding protein 2")	BT019827.1	protéine impliquée dans la voie liée par l'acide rétinoïque entrainant la prolifération des kératinocytes	X 2,5 avec le mélange des 3 miels
HBEGF ("heparin-binding epidermal growth factor")	NM_001945.2	protéine appartenant à la famille du facteur de croissance épidermique entrainant la prolifération des kératinocytes	X2 avec le mélange des 3 miels
ANGPTL1	NM_004673.3	protéine impliquée dans la vasculogénèse et angiogénèse	X3 avec le mélange des trois
ANGPTL2	AF169312.1	protéine impliquée dans la vasculogénèse et angiogénèse	X3 avec le mélange des trois
ANGPTL4	AY358275.1	protéine impliquée dans la vasculogénèse et angiogénèse	X3 avec le mélange des trois

Dans le tableau précité, Xn représente le facteur de stimulation par rapport à la peau non traitée, et db EST est une base de données regroupant la référence du gène ainsi que sa séquence correspondant au gène spotté sur la puce oligonucléotide Affymetrix Human Gene 1.0 ST Whole Genome.

1.4 Validation des données d'expression génique par PCR en temps réel

Afin de valider au niveau génique, par une autre méthode, ces données, une expérience de QPCR a été réalisée sur plusieurs gènes cibles impliqués respectivement dans le renouvellement épidermique et la microcirculation cutanée. Pour cela, des amorces en position 3' et 5 'de chaque gène ont été sélectionnées puis synthétisées afin d'amplifier chaque gène pris séparément. Le tableau 8 regroupe la séquence et les caractéristiques de ces amorces.

Tableau 8 : séquence et caractéristique des amorces permettant d'amplifier *ANGPTL1, ANGPTL2, ANGPTL4, CRABP2 et HBEGF.*

Amorces	Séquences	TM	%GC	SEQ ID
ANGPTL1 L	atgatgtggcataatggtaaaca	59	35	1
ANGPTL1 R	aagtgggcgcagtttcct	60	56	2
ANGPTL2 L	gcccactatgcccactctc	60	63	3
ANGPTL2 R	ctgcaggcagtctctccat	59	58	4
ANGPTL4 L	gttgacccggctcacaat	59	56	5
ANGPTL4 R	ggaacagctcctggcaatc	60	58	6
CRABP2 L	cggaaaacttcgaggaattg	59	45	7
CRABP2 R	ccctcctgtttgatctccac	59	55	8
HBEGF L	tggggcttctcatgtttagg	60	50	9
HBEGF R	catgcccaacttcactttctc	59	48	10
GAPDH L	agccacatcgctcagacac	60	58	11
GAPDH R	gcccaatacgaccaaatcc	60	53	12

Une étape de rétrotranscription est tout d'abord réalisée en utilisant le système Superscript First-Srand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA) des ARN issus des explants de peau précédant (Devilard E, Bladou F, Ramuz O, Karsenty G, Dalès JP, Gravis G, Nguyen C, Bertucci F, Xerri L, Birnbaum D. FGFR1 and WT1 are markers of human prostate cancer progression. *BMC Cancer.* 2006 Nov 30;6:272. [11]).

Les expériences de PCR en temps réel ont été réalisées en utilisant le LightCycler 2.0 Detection (Roche Diagnostic, Suisse) en triplicate avec la *GAPDH* comme gène de référence et contrôle interne. Le kit d'amplification utilisé dans cette expérience est le FastStart DNA Master plus SYBR Green I Master Mix (Roche Diagnostics, Suisse) (Archambaud C, Sansoni A, Mingueneau M, Devilard E, Delsol G, Malissen B, Malissen M. STAT6 deletion converts the Th2 inflammatory pathology afflicting Lat(Y136F) mice into a lymphoproliferative disorder involving Th1 and CD8 effector T cells. *J Immunol.* 2009 Mar 1;182(5):2680-9.[12]).

2. RESULTATS

2.1 Profil d'expression génique

2.1.1. Impact sur la prolifération cellulaire et la restauration de la barrière épidermique du mélange composé de miel de thym, d'oranger et d'acacia.

Les résultats des analyses d'expression de gènes regroupés dans le tableau 7 ont permis de montrer que l'expression du gène codant pour le facteur de croissance se liant à l'héparine du type facteur de croissance épithélial (*HBEGF* « Heparin-binding EGF-like growth factor ») est multipliée par 2 (X2) en présence du mélange de miel d'acacia, d'oranger et de thym par rapport à la peau non traitée et par rapport à chaque extrait pris séparément. Aucune surexpression de ce gène ne fut détectée dans la peau non traitée ainsi que dans la peau traitée respectivement avec les trois miels. De plus, le mélange des 3 miels stimule par 2,5 l'expression du gène codant pour la protéine cellulaire de liaison à l'acide rétinoïque

(*CRABP2* « Cellular retinoic acid-binding protein 2 ») avec aucune surexpression de ce gène dans la peau non traitée et la peau traitée respectivement avec les trois miels. De ce fait, il existe un réel effet synergique de ces trois miels constituant le mélange concernant ces deux gènes et leur effet. Le gène *HBEGF* code pour un facteur de croissance apparenté à l'EGF (Fitsialos G, Chassot AA, Turchi L, Dayem MA, LeBrigand K, Moreilhon C, Meneguzzi G, Buscà R, Mari B, Barbry P, Ponzio G. Transcriptional signature of epidermal keratinocytes subjected to in vitro scratch wounding reveals selective roles for ERK1/2, p38, and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *J Biol Chem.* 2007 May 18;282(20):15090-102.[13]) entrainant la prolifération des kératinocytes, signal transmis via ses récepteurs spécifiques EGFR (Fitsialos G, Chassot AA, Turchi L, Dayem MA, LeBrigand K, Moreilhon C, Meneguzzi G, Buscà R, Mari B, Barbry P, Ponzio G. Transcriptional signature of epidermal keratinocytes subjected to in vitro scratch wounding reveals selective roles for ERK1/2, p38, and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *J Biol Chem.* 2007 May 18;282(20):15090-102. [13]). Le gène *CRABP2* code quand à lui pour une protéine impliquée dans la signalisation de l'acide rétinoïque (Amann PM, Eichmüller SB, Schmidt J, Bazhin AV. Regulation of gene expression by retinoids. *Curr Med Chem.* 2011; 18(9):1405-12. [14]). Cela donne lieu à un pool de cellules kératinocytaires plus important qui vont ensuite se différencier et ainsi reconstruire efficacement la barrière épidermique.

Tel que démontré ici, le mélange comprenant des miels de thym, d'oranger et d'acacia stimule la prolifération kératinocytaire et permet de restaurer efficacement la fonction barrière (Bellemère G, Stamatas GN, Bruère V, Bertin C, Issachar N, Oddos T. Antiaging action of retinol: from molecular to clinical. *Skin Pharmacol Physiol.* 2009;22(4):200-9.[15]).

2.1.2. Impact sur la vasculogénèse et l'éclat du teint du mélange composé de miel de thym, d'oranger et acacia.

Les résultats des analyses d'expression génique (tableau 8) permettent de montrer que plusieurs gènes d'une même famille impliqués dans la vasculogénèse, l'angiogénèse sont surexprimés en présence du mélange des trois miels par rapport à chaque miel pris séparément et par rapport à la peau non traitée. De ce fait, il existe un réel effet synergique de ces trois miels constituant le mélange. En effet, l'expression des gènes *ANGPTL1, ANGPTL2 et ANGPTL4* codant respectivement pour la protéine 1, 2 et 4 liée à l'angiopoietine (*ANGPTL1* « Angiopoietin-related protein 1 », *ANGPTL2* « Angiopoietin-related protein 2 » *et ANGPTL4* « Angiopoietin-related protein 4)) a été multipliée par 3 en présence du mélange des trois miels. Ces gènes régulent l'angiogénèse et la vasculogénèse (Morisada T, Kubota Y, Urano T, Suda T, Oike Y. Angiopoietins and angiopoietin-like proteins in angiogenesis. *Endothelium.* 2006 Mar-Apr;13(2):71-9.[16]). De ce fait, il existe un réel effet synergique du mélange comprenant les trois miels ce qui permet de revitaliser les peaux sèches avec un apport de nutriments et d'oxygène facilités aux cellules cutanées par une micro-circulation renforcée.

Tel que démontré ici, le mélange comprenant le miel d'acacia, de thym et d'oranger stimule la vasculogénèse permettant ainsi de revitaliser les peaux sèches et de restaurer également l'éclat du teint puisqu'une peau sèche manque d'éclat.

2.2 PCR en temps réel

Les résultats de PCR en temps réel permettant de valider sur les gènes *HBEGF, CRABP2, ANGPTL1, ANGPTL2 et ANGPTL4* les données de micro-array sont regroupées dans le tableau 9.

Tableau 9 : expression génique de *HBEGF, CRABP2, ANGPTL1, ANGPTL2 et ANGPTL4* par RT-QPCR suite à l'application du mélange des 3 miels sur explants de peau par rapport à un même explant non traité.

GENES	Miel de thym	Miel d'oranger	Miel d'Acacia	Mélange des 3 Miels
HBEGF	*	*	*	X3
CRABP2	*	*	*	X3
ANGPTL1	*	*	*	X3
ANGPTL2	*	*	*	X 3,5
ANGPTL4	*	*	*	X3

Dans le tableau 9 ci-dessus, * signifie qu'aucune augmentation génique n'a été observé, Xn correspond au facteur d'augmentation de l'expression.

L'expression des gènes *HBEGF, CRABP2, ANGPTL1,4* est multipliée par 3 en présence du mélange des 3 Miels et par 3,5 pour *ANGPTL2*. Aucune surexpression ne fut retrouvée en présence de chaque miel pris séparément ainsi que dans la peau non traitée.

Les résultats obtenus lors de cette expérience sont identiques à l'expérience sur puces à ADN ce qui confirme et valide les données de micro-arrays.

Ces exemples démontrent que l'association du miel de thym, du miel d'oranger et du miel d'acacia génère plusieurs effets synergiques et permet de lutter efficacement contre la sécheresse cutanée. La richesse en sucre apportée par les trois miels sélectionnés améliore la fixation des molécules d'eau protégeant ainsi la peau de la déshydratation tout en conservant souplesse et douceur. Elle permet également de nourrir, d'hydrater, de revitaliser la peau et de restaurer la fonction barrière, permettant ainsi d'améliorer encore le traitement des peaux sèches De plus, ce mélange de miels particuliers favorise la vasculogénèse, l'angiogénèse et la prolifération kératinocytaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Seyfarth F, Schliemann S, Antonov D, Elsner P. Dry skin, barrier function, and irritant contact dermatisis in the ederly. Clin Dermatol 2011, 29 (1):31-6.
2. Taormina P.J., Niemira B.A., Beuchat L.R. « Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power." International Journal of Food Microbiology, 2001, 69(3), 217-225.
3. Dimitrova B., Gevrenova R., Anklam E. «Aromatic and arylaliphatic carboxylic acids as markers for th efloral origin of heather honey.» European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 2003, 28(1), special issue 44.
4. Tonks A., Cooper R.A., Price A.J., Molan P.C., Jones K.P. "Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey." Citokine, 2001, 14(4), 240-242.
5. Gheldof N., Engeseth N.J. "Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum sample." J.Agric. Food Chem., 2002, 50(10), 3050-3055.
6. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années : B. Descottes Phytothérapie (2009) 7 :112-116.
7. "Determination of honey sugars by HPLC with pulsed amperometric detection" dans "Harmonised methods of the international honey commission". International Honey Commission 2002
8. Développement de méthodes analytiques et de banque de données appliquées au contrôle de la naturalité des miels monofloraux. Jean-François Cotte, thèse de l'université Claude Bernard-Lyon 1, Ecole Doctorale de chimie, 2003.

9. Khaleghi S, Aziz AA, Razali N, Junit SM. Microarray analysis revealed different gene expression patterns in HepG2 cells treated with low and high concentrations of the extracts of Anacardium occidentale shoots. *Genes Nutr.* 2011 Mar 29.

10. Seitz G, Bonin M, Fuchs J et al. Inhibition of glutathione-S-transferase as a treatment strategy for multidrug resistance in childhood rhabdomyosarcoma. *International Journal of Oncology* 2010 *36:491-500.*

11. Devilard E, Bladou F, Ramuz O, Karsenty G, Dalès JP, Gravis G, Nguyen C, Bertucci F, Xerri L, Birnbaum D. FGFR1 and WT1 are markers of human prostate cancer progression. *BMC Cancer.* 2006 Nov 30;6:272.

12. Archambaud C, Sansoni A, Mingueneau M, Devilard E, Delsol G, Malissen B, Malissen M. STAT6 deletion converts the Th2 inflammatory pathology afflicting Lat(Y136F) mice into a lymphoproliferative disorder involving Th1 and CD8 effector T cells. *J Immunol*. 2009 Mar 1;182(5):2680-9.

13. Fitsialos G, Chassot AA, Turchi L, Dayem MA, LeBrigand K, Moreilhon C, Meneguzzi G, Buscà R, Mari B, Barbry P, Ponzio G. Transcriptional signature of epidermal keratinocytes subjected to in vitro scratch wounding reveals selective roles for ERK1/2, p38, and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *J Biol Chem.* 2007 May 18;282(20):15090-102.

14. Amann PM, Eichmüller SB, Schmidt J, Bazhin AV. Regulation of gene expression by retinoids. *Curr Med Chem.* 2011; 18(9):1405-12.

15. Bellemère G, Stamatas GN, Bruère V, Bertin C, Issachar N, Oddos T. Antiaging action of retinol: from molecular to clinical. *Skin Pharmacol Physiol.* 2009;22(4):200-9.

16. Morisada T, Kubota Y, Urano T, Suda T, Oike Y. Angiopoietins and angiopoietin-like proteins in angiogenesis. *Endothelium.* 2006 Mar-Apr;13(2):71-9.

Revendications

1. Composition cosmétique comprenant du miel d'acacia, du miel de thym et du miel d'oranger.

2. Composition selon la revendication 1, dans laquelle le mélange de miel est compris de 0,05 à 100% en poids par rapport au poids total de la composition.

3. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 2, ladite composition étant sous l'une des formes choisies parmi une crème, un lait, une lotion, une huile, un baume, un onguent un gel, un masque.

4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, ladite composition étant une composition cosmétique antiâge.

5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ladite composition étant une composition cosmétique pour le traitement de la peau sèche.

6. Composition l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle les miels sont en quantité équivalente.

7. Procédé de fabrication d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 comprenant un mélange de miel d'acacia, de miel de thym et de miel d'oranger.

8. Utilisation cosmétique de la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour stimuler la prolifération cellulaire.

9. Utilisation cosmétique de la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour la restauration de la fonction barrière.

10. Utilisation cosmétique de la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour la stimulation de la vasculogénèse.

11. Procédé cosmétique comprenant l'application sur la peau d'une composition cosmétique selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.