(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
09 janvier 2020 (09.01.2020)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/008117 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 8/64 (2006.01) *A61K 8/9789* (2017.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2018/051693

(22) Date de dépôt international :
06 juillet 2018 (06.07.2018)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(71) Déposant : **LABORATOIRES DE BIOLOGIE VEGETALE YVES ROCHER** [FR/FR] ; LA CROIX DES ARCHERS LA GACILLY, 56200 GACILLY (FR).

(72) Inventeurs : **LAPERDRIX, Céline** ; 85 bis rue de Port Royal, 78280 SAINT REMY LES CHEVREUSES (FR). **PORTET, Bénédicte** ; 49 avenue de la résistance, 92370 CHAVILLE (FR). **LUBRANO, Christian** ; 10 rue des réservoirs, 92310 SEVRES (FR).

(74) Mandataire : **NOVAGRAAF TECHNOLOGIES** ; Bâtiment O2, 2 rue Sarah Bernhardt, CS90017, 92665 ASNIÈRES-SUR-SEINE CEDEX (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, 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, 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, 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))*

(54) Title: COSMETIC USE OF HRGP (HYDROXYPROLINE-RICH GLYCOPROTEINS) FROM AJUGA REPTANS CELLS TO PREVENT AND/OR COMBAT THE EFFECTS OF SKIN AGEING

(54) Titre : UTILISATION COSMETIQUE DE HRGP (HYDROXYPROLIN RICH GLYCOPROTEINS) ISSUES DE CELLULES D'AJUGA REPTANS POUR PREVENIR ET/OU LUTTER CONTRE LES EFFETS DU VIEILLISSEMENT DE LA PEAU

(57) Abstract: The present invention relates to the cosmetic use of HRGP from *Ajuga reptans* cells, in particular for at least one action chosen among anti-ageing action, smoothing, softening and moisturising of the skin and/or its appendages and/or mucous membranes. The present invention also relates to an anti-ageing cosmetic or dermatological composition comprising HRGP from *Ajuga reptans* cells and a cosmetically and/or dermatologically acceptable vehicle, said composition comprising 0.00001% to 2% by weight of HRGP from *Ajuga reptans* relative to the total weight of the composition. The present invention also relates to a device provided in a form chosen among a pot, a pump bottle, a wipe, a mask, a transdermal device, a patch or a spray, said device comprising a composition according to the invention, as well as a non-therapeutic cosmetic method for improving the appearance of the skin, which comprises applying to the skin a composition according to the invention.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à l'utilisation cosmétique de HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans*, notamment pour au moins une action choisie parmi l'action anti-âge, le lissage, l'adoucissement et l'hydratation de la peau et/ou de ses annexes et/ou des muqueuses. La présente invention se rapporte en outre à une composition cosmétique ou dermatologique anti-âge comprenant des HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* et un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable, ladite composition comprenant 0,00001 à 2% en poids de HRGP d'*Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition. La présente invention se rapporte également à un dispositif se présentant sous une forme choisie parmi un pot, un flacon-pompe, une lingette, un masque, un dispositif transdermique, un patch, un spray, ledit dispositif comprenant une composition selon l'invention, ainsi qu'à un procédé cosmétique non thérapeutique pour améliorer l'aspect de la peau, comprenant une application sur la peau d'une composition selon l'invention.

WO 2020/008117 A1

UTILISATION COSMETIQUE DE HRGP (HYDROXYPROLIN RICH GLYCOPROTEINS) ISSUES DE CELLULES D'AJUGA REPTANS POUR PREVENIR ET/OU LUTTER CONTRE LES EFFETS DU VIEILLISSEMENT DE LA PEAU

Domaine technique

La présente invention se rapporte à l'utilisation cosmétique de glycoprotéines riches en hydroxyproline (HRGP, « hydroxyprolin rich glycoproteins »), issues de cellules d'*Ajuga reptans,* ainsi qu'à une composition cosmétique ou dermatologique comprenant des glycoprotéines riches en hydroxyproline, issues de cellules d'*Ajuga reptans,* et à un procédé et un dispositif impliquant cette composition.

La présente invention trouve des applications dans le domaine de la cosmétique et de la dermatologie, plus particulièrement de la cosmétique cutanée.

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

Etat de la technique

La peau est un organe vital à part entière qui se compose de trois tissus distincts, assumant chacun différents rôles grâce à différents types cellulaires et différentes structures.

Le tissu le plus en surface, et donc le plus exposé, est l'épiderme. Cet épithélium pluristratifié (Malpighien) et kératinisé, se compose de différentes cellules associées à de nombreuses fonctions de barrière et de protection. Les cellules majoritaires sont les kératinocytes qui se divisent dans la couche basale et entament leur différenciation jusqu'à la couche cornée (couche la plus externe), puis sont éliminés par desquamation en 21 à 28 jours en moyenne. Le rôle majeur de l'épiderme est d'apporter à la peau, et

donc au corps humain, une première ligne de protection contre les agressions extérieures, comme les agressions physiques, chimiques, hydriques et bactériologiques. Cette protection est notamment assurée par les couches les plus différenciées et la couche cornée connue pour ses propriétés hydrophobes, son aspect compacte et étanche. Une bonne différenciation et donc une bonne desquamation sont essentielles pour une surface lisse, homogène et régulière. L'ensemble de ces mécanismes dépend directement des capacités prolifératives des kératinocytes. Or, les stress extérieurs et l'âge ralentissent ce processus qui peut alors devenir plus long et plus irrégulier. La desquamation devenant irrégulière et/ou anarchique, des défauts de lissage et d'homogénéité de surface de la peau s'installent.

En position intermédiaire, le derme est un tissu conjonctif investi majoritairement de fibroblastes et de protéines matricielles donnant à la peau ses qualités de compressibilité et d'élasticité connues. Les modifications de sa texture et de sa composition sont largement responsables des altérations de la peau qui surviennent au cours du vieillissement. Le relief de la couche cornée est, par ailleurs, directement conditionné par la qualité et la densité du derme qui la sous-tend. Plus que l'épiderme, dont le renouvellement est rapide et constant, le derme subit des troubles importants liés à l'âge, par le vieillissement de ses cellules et de sa matière. En vieillissant, les fibroblastes sont de moins en moins réactifs et de moins en moins prolifératifs. Avec l'âge, les synthèses des macromolécules de la matrice ne sont plus assurées par les fibroblastes. De plus, ces macro-molécules constitutives du derme, telles que les fibres de collagène, les fibres élastiques, les protéoglycanes et les glycosaminoglycanes (acide hyaluronique notamment), ont tendance à dégénérer et à se fragmenter. Leurs réseaux se désorganisent et se réorientent parallèlement à la jonction dermo-épidermique, notamment sous l'action d'enzymes de dégradations des protéines matricielles, les MMP (Matrix Metallo Proteases), aussi appelées collagénases ou élastases. Ces

phénomènes d'altération du tissu dermique provoquent en surface un défaut d'organisation de l'épiderme et, d'une façon plus visible et plus directe, une perte de fermeté pouvant aller jusqu'à la ptose cutanée et/ou la formation de rides.

Au sein de la trame conjonctive, s'intercalent aussi d'autres cellules et structures, tel un important réseau circulatoire et nutritif, constitué des vaisseaux sanguins et des capillaires lymphatiques, ainsi que les annexes épidermiques : cheveux, poils, ongles, glandes pilosébacées et glandes sudoripares, qui prennent naissance dans le derme profond.

L'hypoderme, situé en profondeur et constitué en majeure partie de lobules graisseux (adipocytes), assure une fonction de support primaire, de protection mécanique et thermique et joue aussi un rôle de stockage des réserves énergétiques rapidement mobilisables pour tous les besoins biologiques, comme par exemple le renouvellement cellulaire, la défense de l'organisme ou la contraction musculaire.

Les attentes en terme d'anti-âge s'orientent de plus en plus vers des produits naturels, efficaces et éco-conçus. Des actifs comme la vitamine C sont généralement présents dans les produits anti-âge, mais ce composé est très instable et nécessite donc l'ajout de conservateurs ou l'utilisation de dérivés non naturels, peu appréciés des consommateurs.

Il reste donc un réel besoin de trouver de nouvelles compositions et/ou composés permettant d'assurer de façon effective et complète un effet anti-âge au niveau des cellules de la peau, de ses annexes et des muqueuses. En particulier, il existe un réel besoin de trouver des composés naturels qui permettent de prévenir, c'est-à-dire inhiber ou, à tout le moins, retarder ou traiter les effets du vieillissement des structures et des cellules de la peau, de ses annexes et des muqueuses, à la fois en stimulant les cellules de la peau et la synthèse d'éléments de la matrice extracellulaire.

Description de l'invention

La présente invention a précisément pour but de répondre à ces besoins et inconvénients de l'art antérieur.

Les inventeurs sont les tout premiers à utiliser des glycoprotéines riches en hydroxyproline (HRGP), issues de cellules d'*Ajuga reptans*, permettant de répondre efficacement aux besoins précités.

Les inventeurs ont en effet découvert que les HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* possèdent de manière inattendue un effet anti-âge sur la peau.

Les inventeurs ont mis en évidence un effet de ces HRGP sur la synthèse d'élastine et d'acide hyaluronique, sur le renouvellement et le métabolisme des fibroblastes dermiques.

Ainsi, les inventeurs sont les premiers à proposer ces HRGP en tant qu'agent cosmétique anti-âge pour améliorer l'aspect de la peau, notamment par la régénération de la peau et/ou l'amélioration de la fermeté, et/ou de l'élasticité et/ou l'amélioration des propriétés biomécaniques de la peau et de lutter contre les effets visibles de l'âge notamment le relâchement et/ou la perte de fermeté et/ou la perte d'élasticité et/ou la formation des rides. Avantageusement, ces HRGP permettent également d'apporter un effet cosmétique sur la surface de la peau, notamment de lissage, et/ou de douceur. L'utilisation des HRGP de l'invention permet avantageusement à la peau de présenter un aspect plus jeune.

Ajuga reptans, également appelée bugle rampante, est une plante vivace de la famille des lamiacées originaire de l'Europe, du Caucase et de l'Iran. Elle est commune en France jusque 2 000 mètres d'altitude mais plus rare en région méditerranéenne. C'est une plante rhizomateuse persistante qui produit des stolons permettant une tenue au sol plus forte et favorisant sa propagation. D'une taille de 10 à 40 cm de haut, son étalement peut aller jusqu'à 1 m de diamètre. *Ajuga reptans* est traditionnellement utilisée pour l'ornementation ou pour ces propriétés anti-inflammatoires, notamment pour soulager les douleurs rhumatismales bénignes.

Les glycoprotéines riches en hydroxyproline (HRGP) sont les composants principaux de la paroi pecto-cellulosique des cellules végétales. La paroi des cellules végétales comporte une fraction polysaccharidique, une fraction polypeptidique et des ions minéraux, en particulier du calcium. La fraction polypeptidique comprend des protéines de structure et des protéines enzymatiques. Dans le groupe des HRGP, on distingue les lectines riches en hydroxyproline et les extensines (Quel rôle pour les extensines dans la structure des parois des cellules végétales, Regard sur la biochimie, Cathy Hirsinger, Elisabeth Jamet, 1997 **([1])**). Parmi les protéines de structure, les extensines sont donc des protéines majoritaires et peuvent représenter jusqu'à 15% de la matière sèche de la paroi. L'extensine est une glycoprotéine d'environ 86 kDa, constitué de 35% d'acides aminés et de 65% d'oses. La séquence d'acides aminés des extensines est très répétitive et contient un motif pentapeptidique caractéristique (SER-PRO-PRO-PRO-PRO) dans lequel les résidus proline sont d'abord hydroxylés (riche en hydroxyproline : 33 à 42% du total des acides aminés) puis glycosylés. Elle est pourvue de chaines latérales osidiques (arabinane, galactane) (Physiologie végétale, DUNOD **([2])**). L'extensine contient aussi de la serine, susceptible de se lier à un hexose, le galactose. D'autres acides aminés sont également présents : Lysine, Valine, tyrosine, Thréonine.

Des effets biologiques concernant l'inflammation et la cicatrisation, dus à la présence de polyphénols dans les extraits de Syringa vulgaris et d'Ajuga reptans, précisément de verbascoside et de teupolioside, ont été décrits (Korkina et al. : « Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides », Cell Mol Biol. 2007 May 30;53(5):84-91 **([3])**). Ces polyphénols sont contenus dans le cytoplasme des cellules et ne font en aucun cas partie des molécules de la paroi cellulaire.

Des compositions cosmétiques et pharmaceutiques contenant des extensines ont également été décrites, pour leurs propriétés humectantes et hydratantes (EP0533408 **([4])**).

Ainsi, un premier objet de l'invention se rapporte à l'utilisation cosmétique de HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans.*

Avantageusement, l'utilisation cosmétique peut être toute utilisation permettant une action d'amélioration de l'aspect de la peau, et notamment au moins une action choisie parmi l'action anti-âge, le lissage, l'adoucissement et l'hydratation de la peau et/ou de ses annexes et/ou des muqueuses.

On entend par « améliorer l'aspect de la peau », au sens de la présente invention, tout effet permettant d'obtenir un avantage sur l'aspect de la peau par rapport à l'aspect de la peau avant utilisation de l'extrait selon l'invention.

On entend par « action anti-âge », au sens de la présente invention, une action de prévention et/ou de retard et/ou de limitation des signes du vieillissement cutané, notamment du vieillissement accéléré (exogène) provoqué par les stress environnementaux, par exemple les ultraviolets (photo-induit), ou du vieillissement chronologique (endogène). L'action anti-âge peut passer par une action de régénération et/ou de diminution du relâchement/perte de fermeté/perte d'élasticité, notamment une prévention et/ou un retard et/ou une limitation du relâchement, et/ou une action de raffermissement et/ou une amélioration des qualités bio-mécaniques de la peau, notamment favorisant un raffermissement des structures de la peau et/ou une diminution de la formation des rides de la peau, de ses annexes ou des muqueuses.

On entend par « régénération de la peau », au sens de la présente invention, la stimulation métabolique des cellules cutanées épidermiques ou dermiques dont le renouvellement est directement ou indirectement lié ou cible du vieillissement intrinsèque ou extrinsèque.

On entend par « diminution du relâchement/ de la perte de fermeté/ de la perte d'élasticité » au sens de la présente invention, une action de stimulation de la synthèse d'élastine et d'acide hyaluronique de la peau, de ses annexes et/ou des muqueuses. Avantageusement, cette action peut permettre d'améliorer les qualités biomécaniques du derme, notamment la fermeté, le volume et la résistance.

L'utilisation cosmétique de l'invention peut avantageusement permettre d'améliorer les qualités de surface, donc esthétiques, de l'épiderme, comme de lisser la peau et/ou adoucir la peau.

On entend par « lisser la surface de la peau », au sens de la présente invention, la diminution qualitative et quantitative des microreliefs de la peau, notamment de leur profondeur. Il peut s'agir par exemple de la diminution de la profondeur des rides et/ou des ridules et/ou des stries.

On entend par « adoucir la peau », au sens de la présente invention, l'obtention d'un effet plus soyeux, plus doux de la peau au toucher après utilisation des HRGP, et/ou une diminution de l'effet de rugosité de la peau au toucher.

On entend par « annexes », au sens de la présente invention, les annexes épidermiques qui prennent naissance dans le derme profond, comprenant au moins un élément choisi parmi les poils, notamment les cheveux et les ongles.

On entend par « muqueuse », au sens de la présente invention, notamment les muqueuses externes comme les lèvres.

On entend par « HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* », un extrait comprenant des HRGP issu de cellules d'*Ajuga reptans*, ou des HRGP isolées d'un extrait de parois de cellules d'*Ajuga reptans.* Par exemple, les cellules peuvent être obtenues par un procédé de cultures *in-vitro* de cals de cellules dédifférenciées ou de cals de cellules méristématiques.

Avantageusement, ledit extrait est un extrait riche en HRGP, comprenant notamment de 1 à 100% en poids de HRGP. Les cellules

d'*Ajuga reptans* peuvent être obtenues à partir de toute technique adaptée connue de l'homme du métier.

Il peut s'agir par exemple d'une culture *in vitro* de cellules *d'Ajuga reptans*, comme décrite par Trevor A.Thorpe (History of plant tissue culture. Molecular biotechnology, 2007, 37, 2, 169-180 **([5])**) et permettant l'obtention de cals soit d'amas de cellules méristématiques indifférenciées, soit d'amas de cellules dédifférenciées. Dans le cas de cellules dédifférenciées, le principe consiste, à partir d'un échantillon d'un organe de la plante, à dédifférencier les cellules constitutives de l'échantillon en faisant croître un cal sur une blessure, tandis que les cellules méristématiques, qui sont des cellules indifférenciées, sont directement prélevées dans les régions méristématiques de la plante. On induit ensuite la multiplication cellulaire de ces cellules dédifférenciées ou meristématiques. Le but est d'accroître la biomasse afin qu'un grand nombre de cellules soient récupérées, entières, ou fragmentées. On peut alors récupérer le contenu cellulaire avec avantageusement une concentration importante en métabolites d'intérêt, ou les macromolécules des parois des cellules, ou conserver l'ensemble. De nombreux avantages existent en ce qui concerne l'utilisation de culture cellulaire *in vitro* pour produire des actifs cosmétiques, en particulier l'impact très faible sur l'environnement grâce à un usage faible voire nul de surfaces agricoles.

Alternativement, les cellules d'*Ajuga reptans* peuvent appartenir à une lignée cellulaire préétablie et pouvant être conservées par un organisme habilité.

A partir de la biomasse obtenue et récoltée de cellules dédifférenciées ou méristématiques d'*Ajuga reptans* entières, toute technique de purification des HRGP adaptée connue de l'homme du métier peut être mise en œuvre. Il peut s'agir par exemple d'un protocole d'obtention mettant en œuvre les étapes suivantes :

- casser les cellules végétales par exemple par une lyse mécanique ou chimique, ou par digestion enzymatique, préférentiellement par une

lyse acide, à l'aide d'un acide minéral, par exemple H_3PO_4 et HCl, ou d'un acide organique, par exemple l'acide acétique, l'acide lactique ou l'acide citrique, ajouté à la biomasse cellulaire ; lorsqu'une lyse acide est utilisée pour casser les cellules, de préférence une période d'incubation d'au moins 30 min est mise en œuvre, de préférence d'au moins 2h, de préférence encore d'au moins 6h et de préférence encore plus d'au moins 18h, et à une température inférieure à 25°C, de préférence inférieure à environ 5°C ;

- récupérer les parois cellulaires végétales (PCV) en éliminant les molécules intracellulaires solubles par lavage de l'homogénat cellulaire avec une solution aqueuse, par exemple par diafiltration sur un filtre de 0,2 µm, ou par centrifugation ;
- extraire les HRGP des PCV en ajoutant un sel de manière à former une suspension d'extrait salin enrichi en HRGP ; de préférence par ajout de cations inorganiques ;
- récupérer la suspension d'extrait salin enrichi en HRGP en éliminant les débris de PCV, par toute méthode connue, par exemple par filtration ou par centrifugation.

La suspension est collectée pour un traitement ultérieur. Elle peut par exemple ensuite être simultanément dessalée et concentrée à la concentration souhaitée d'HRGP, par exemple par une ultrafiltration sur une membrane de 10 kDa. Le tampon final de l'extrait HRGP peut être tout tampon adapté connu, par exemple le tampon citrate, 0,05 M, à pH 4.

De préférence la biomasse est récoltée après la phase de prolifération cellulaire exponentielle, pendant la phase de croissance stationnaire, plus précisément de préférence après environ 12-16 jours de culture, de préférence encore à 14 jours de culture de la biomasse, correspondant à une croissance de la biomasse après la phase de prolifération exponentielle de 50% à 90%, de préférence 75% à 80%.

Après l'ultrafiltration avec la membrane de 10 kDa, la solution de retentât, qui constitue l'extrait d'HRGP, peut être lyophilisée.

Avantageusement, l'extrait d'HRGP comprend principalement des glycoprotéines monomériques avec plus de 76% de la masse moyenne protéique mesurée supérieure à 5 kDa et 24% inférieure à la masse moyenne des peptides de 5 kDa. Une analyse de la séquence d'acides aminés peut être effectuée après une étape supplémentaire de précipitation des protéines avec de l'acide trichloracétique pour encore augmenter la pureté de HRGP. La masse moyenne des protéines peut être mesurée par toute technique connue de l'homme du métier, comme par exemple par spectrométrie de masse.

L'extrait de HRGP peut subir ensuite une hydrolyse pour améliorer sa fonctionnalité et sa biodisponibilité cutanée.

Les peptides d'HRGP hydrolysés peuvent être préparés en utilisant des protéases après déglycosylation. L'élimination des branches glycosidiques de la protéine HRGP monomérique peut être obtenue par traitement avec une carbohydrase. La déglycosylation des HRGP permet avantageusement l'accès des protéases, telles que la trypsine, à l'ossature de la protéine pour obtenir des fragments peptidiques de plus petite taille par hydrolyse enzymatique. Une combinaison de carbohydrase et de protéases peut être utilisée pour réduire la taille des peptides des extraits de HRGP, comme décrit dans le document WO2011/124848 **([6])**, qui enseigne comment utiliser une séquence ou une combinaison de carbohydrases et de protéases pour extraire les peptides HRGP des fibres de soja.

Après l'hydrolyse enzymatique avec les carbohydrases et les protéases, la quantité totale de peptides détectés avec une masse moyenne inférieure à 5 kDa passé de 24% à 57,2% et la fraction de peptides ayant une masse moyenne supérieure à 5 kDa est réduite de 76% à 43%.

L'échantillon peut être analysé par toute technique connue de l'homme du métier, par exemple par HPLC-MS / MS après digestion avec de la trypsine, dans laquelle plusieurs peptides sont identifiés comme des fragments d'HRGP: un peptide présent dans l'échantillon extrait est identique à la protéine 1 de Solanum lycopersicum proche de l'extensine et

riche en leucine (accession gi | 460408850) dans laquelle la proline est de 19,8% de la masse totale de la séquence d'acides aminés.

Un autre objet de l'invention se rapporte à une composition cosmétique ou dermatologique, notamment anti-âge, comprenant des HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* et un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable, ladite composition comprenant 0,00001 à 5 % en poids de HRGP *d'Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition.

Toutes les caractéristiques des HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* mentionnées ci-avant pour l'utilisation de l'invention, ainsi que toutes les caractéristiques de l'utilisation des HRGP décrites ci-avant, s'appliquent *mutatis mutandis* à la composition de l'invention.

On entend par « composition cosmétique », dans la présente invention, toute composition à visée cosmétique, c'est à dire esthétique, une composition pouvant être mise en contact avec les parties superficielles du corps humain, par exemple l'épiderme, les systèmes pileux et capillaires. Avantageusement, une composition cosmétique permet, exclusivement ou principalement de les protéger, parfumer, maintenir en bon état, modifier leur aspect ou en corriger les défauts superficiels.

Dans la présente, on entend par « composition dermatologique » toute composition à visée dermatologique, c'est à dire une composition pouvant être mise en contact avec les parties superficielles du corps humain, pour un traitement de la peau, des muqueuses, et des phanères, comme les ongles, les cheveux, ou les poils.

Par « véhicule cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable », on entend un véhicule adapté pour une utilisation en contact avec des cellules humaines et animales cutanées, en particulier les cellules de l'épiderme, sans toxicité, irritation, réponse allergique indue et similaire, et proportionné à un rapport avantage/risque raisonnable.

Le véhicule cosmétiquement acceptable peut être choisi parmi l'eau, l'allantoïne, la glycérine, le méthylpropanediol ; cette liste n'étant pas limitative.

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 ou dermatologique. Il peut s'agir, par exemple d'un simple mélange des HRGP *d'Ajuga reptans* avec les autres composants présents dans la composition cosmétique ou dermatologique de l'invention. Il peut s'agir alternativement, 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), ce procédé étant classiquement utilisé par l'homme de l'art pour obtenir des émulsions huile dans eau dont les gouttelettes dispersées sont particulièrement fines, par exemple avec un diamètre de 0,1 à 1 µm.

Selon l'invention, la composition cosmétique ou dermatologique peut comprendre avantageusement au moins 0,00001% en poids d'HRGP issues de cellules méristématiques d'*Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition, notamment de 0,00001 à 2% en poids d'HRGP issues de cellules méristématiques d'*Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition. Il peut s'agir par exemple de 0,0001 à 1%, ou de 0,001 à 1%, ou de 0,01 à 1%, ou de 0,1 à 1%, ou de 0,0001 à 2%, ou de 0,001 à 2%, ou de 0,01 à 2%, ou de 0,1 à 2% en poids d'HRGP issues de cellules méristématiques d'*Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition.

La composition cosmétique ou dermatologique de la présente invention peut se trouver sous toute forme appropriée pour une application cosmétique ou dermatologique. Avantageusement, la composition est une composition à usage topique.

Il peut s'agir par exemple d'une composition sous une forme choisie dans le groupe comprenant une émulsion huile dans eau ou eau dans huile ou un mélange de ces émulsions.

Selon l'invention, la composition cosmétique ou dermatologique peut par exemple se trouver sous une forme choisie dans le groupe comprenant un gel aqueux ou hydroalcoolique, une crème aqueuse ou hydroalcoolique et une lotion aqueuse ou hydroalcoolique. Ces formulations utilisables pour la mise en œuvre de la présente invention sont connues dans l'état de la technique par les formulateurs. Dans ces exemples de composition, il suffit d'ajouter les HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* de la présente invention pour obtenir une composition conforme à la présente invention.

Selon l'invention, la composition peut être sous une forme choisie parmi un onguent, une crème, une huile, un lait, une pommade, une poudre, un tampon imbibé, une solution, un gel, un sérum, un baume, un beurre, une lotion, une suspension, un savon ou une émulsion.

L'extrait de la présente invention peut être utilisé dans une composition cosmétique ou dermatologique seul ou en combinaison avec d'autres ingrédients biologiquement actifs et/ou de substances permettant notamment d'accompagner l'extrait, de constituer une formulation particulière, de conserver l'extrait actif dans le temps, cette liste n'étant pas limitative. Il peut s'agir en d'autres termes de tout produit de base pouvant se trouver dans les compositions cosmétiques ou dermatologiques classiques.

Un autre objet de l'invention se rapporte à un dispositif pouvant se présenter sous une forme choisie parmi un pot, un flacon-pompe, une lingette, un masque, un dispositif transdermique, un patch, un spray, ledit dispositif comprenant un extrait ou une composition selon l'invention.

Un autre objet de l'invention se rapporte à un procédé de soin cosmétique ou dermatologique permettant d'apporter notamment un effet anti-âge, par exemple d'au moins un effet choisi parmi l'amélioration de la régénération de la peau, la diminution de relâchement/perte de

fermeté/perte d'élasticité, du lissage, l'amélioration de l'aspect général de la peau.

Dans le cadre des procédés cosmétiques selon l'invention, ou de l'utilisation selon l'invention, l'utilisation s'entend d'une utilisation non-thérapeutique, par exemple pour le traitement des peaux normales, c'est-à-dire des peaux saines ne présentant pas un état pathologique, à l'exclusion de toute utilisation thérapeutique.

Ainsi, toute utilisation cosmétique et tout procédé cosmétique selon l'invention sont respectivement des utilisations cosmétiques non-thérapeutiques et procédés cosmétiques non-thérapeutiques.

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

EXEMPLES

Exemple 1 : Préparation d'extrait *d'Ajuga reptans*

Un échantillon végétal *d'Ajuga reptans* est soumis à une étape de dédifférenciation des cellules constitutives de l'échantillon par la formation de cals par blessure dudit échantillon, puis à une série d'étapes de culture/stabilisation en milieu liquide d'un cal sélectionné, pour induire la formation d'une biomasse par multiplication cellulaire de ces cellules dédifférenciées (phase de prolifération rapide exponentielle), puis une phase d'augmentation de volume de ces cellules (phase de croissance stationnaire) comme décrit dans Thorpe TA **([5])**.

A partir de la biomasse obtenue de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* après 14 jours de culture, les HRGP sont extraites selon le protocole suivant :

- lyse acide: un acide minéral, le H_3PO_4, est ajouté à la biomasse cellulaire à un pH=2;
- incubation de l'homogénat cellulaire pendant 16 heures à 4°C;
- lavage de l'homogénat cellulaire avec de l'eau par diafiltration sur un filtre de 0,2 µm, afin d'éliminer les molécules intracellulaires solubles et d'obtenir une fraction enrichie en parois cellulaires végétales;
- extraction au moyen de 200 mM de $CaCl_2$ et de L-acide ascorbique (1g / L), ajoutés directement à la fraction en parois cellulaires végétales, puis agitation de la suspension pendant 10 minutes à 4 °C;
- récupération des HRGP : La solution enrichie en HRGP est séparée de la fraction épuisée de parois cellulaires végétales par filtration, et collectée pour un traitement ultérieur. La solution d'HRGP riche en calcium est ensuite être dessalée et concentrée à la concentration souhaitée d'hydroxyproline par une ultrafiltration sur une membrane de 10 kDa. Le tampon final de l'extrait HRGP est le tampon citrate, 0,05 M, à pH 4.
- Après l'ultrafiltration avec la membrane de 10 kDa, la solution de retentât, qui constitue l'extrait d'HRGP, est lyophilisée.

Exemple 2 : Effet d' HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* obtenues dans l'Exemple 1 sur le renouvellement des fibroblastes dermiques

Les études ont été réalisées sur des fibroblastes dermiques humains normaux, obtenus à partir de plasties abdominales d'un donneur âgé de 63 ans, ensemencés en monocouche dans les conditions de culture adéquates, à savoir dans un milieu DMEM (« Dulbecco's Modified Eagle Medium ») supplémenté à 1% de sérum de veau fœtal (SVNN), à une température de 37°C, sous atmosphère à 5% de CO_2 et saturée en humidité. Les cellules

ont été traitées avec les HRGP issues de cellules méristématiques d'*Ajuga reptans* (à 5.10-2%, 0,1 %, 0,5%, 1%).

Après 1 à 6 jours de traitement, la viabilité cellulaire a été évaluée par quantification de l'activité métabolique des déshydrogénases mitochondriales, par mesure d'hydrolyse du MTT (« MethylThiazoleTetrazolium »).

La référence positive est le milieu DMEM avec 5% de SVNN.

Les données du tableau I ci-dessous concernent le pourcentage de viabilité des fibroblastes, ayant subi différents traitements.

Tableau I : Pourcentage de viabilité des fibroblastes

Durée Traitement (jours)	DMEM 1% SVNN	DMEM 5% SVNN	HRGP d'Ajuga reptans			
			0,05%	0,1%	0,5%	1%
1	100	124	105	112	112	104
3	100	162	116	117	111	115
6	100	210	126	125	143	136

Cet exemple montre que l'adjonction de HRGP issues de cellules méristématiques d'*Ajuga reptans* dans le milieu de culture permet aux fibroblastes de proliférer d'avantage, jusqu'à 43% à 0,5%. Les fibroblastes étant des cellules peu prolifératives ce test valide l'intérêt de l'extrait dans le domaine de l'anti-âge.

Exemple 3 : Effet de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* obtenues dans l'Exemple 1 sur la synthèse d'élastine par les fibroblastes.

L'étude de la synthèse de tropoélastine est réalisée sur des cultures monocouches de fibroblastes cultivées dans les conditions de culture adéquates avec du milieu DMEM (milieu de Dulbecco - Invitrogen®), en plaques 96 puits (test réalisé en sextuplicata).

Les cellules sont traitées avec les HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* (à 0.2% et 1%) durant 72h. A la fin de l'incubation les tapis cellulaires sont fixés puis marqués avec un anticorps primaire dirigé contre la tropoélastine lui-même révélé par un anticorps secondaire fluorescent (GAR-Alexa 488). L'intensité de la fluorescence induite par le marquage de la tropoélastine est ensuite quantifiée et rapportée au nombre de noyaux (coloration Hoechst 33258). La référence interne positive est le TGF-β (10ng/ml). Les calculs présentés dans le tableau II suivant sont réalisés à partir du milieu seul (de dilution) rapport à une base 100.

Tableau II :

Eléments testés	Concentrations	Synthèse de tropoélastine
TGF-β	10ng/mL	+1275%
HRGP d'Ajuga reptans	0,2%	+58%
	1%	+101%

L'adjonction de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* à 1% permet de stimuler la synthèse de tropoélastine de 101%, et donc d'améliorer les qualités biomécaniques du derme, notamment l'élasticité.

Exemple 4 : Effet de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* obtenues dans l'Exemple 1 sur la synthèse d'acide hyaluronique par les cellules.

L'étude de la synthèse de tropoélastine est réalisée sur des cultures monocouches de fibroblastes cultivées dans les conditions de culture adéquates avec du milieu DMEM (milieu de Dulbecco - Invitrogen®), en plaques 96 puits (test réalisé en sextuplicata).

Les cellules sont traitées avec les HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* à 1% durant 72h. A la fin de l'incubation la quantité d'acide hyaluronique est évaluée dans les surnageants à l'aide d'un kit Elisa R&D Systems (Ref. DY3614).

La référence interne positive est le TGF-β (10ng/ml). Les calculs présentés dans le tableau II suivant sont réalisés à partir du milieu seul (de dilution) rapport à une base 100.

Tableau II :

Eléments testés	Concentrations	Synthèse d'acide hyaluronique
TGF-β	10ng/mL	+119%
HRGP d'Ajuga reptans	1%	+13%

L'adjonction d'extrait *d'Ajuga reptans* à 1% permet de stimuler la synthèse d'acide hyaluronique de 13%, et donc d'améliorer les qualités biomécaniques du derme, notamment de fermeté.

Exemple 5 : Formulation de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* dans un soin de type sérum

Composants	Pourcentage (% en poids)
EAU PURIFIEE	qsp 100
EAU DE BLEUET BIO	1,1
MANGIFERINE	2
GLYCERINE 100% VEG	3
GOMME XANTHANE	0,1
GOMME TARA	0,2
ALCOOL C16/C18	1
ACETATE DE TOCOPHEROL	0,1
HUILE DE SESAME BIO	1,1
VITAMINE A	0,1
VITAMINE F	0,3

AMIDON DE MAIS	1
EXTENSINE	1
ALCOOL AGRICOLE 96% VOL	6

Exemple 6 : Formulation de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* dans un soin de jour

Composants	Pourcentage (% en poids)
EAU PURIFIEE	qsp 100
MANGIFERINE	2
EAU DE BLEUET BIO SB YR	1,1
GLYCERINE 100% VEG	5
ACIDE SORBIQUE	0,1
METHYLPROPANE DIOL	4
GOMME XANTHANE standard	0,15
GOMME TARA	0,5
CIRES	2
METHYL GLUCOSE STEARATE	2
ACETATE DE TOCOPHEROL	0,1
LECITHINE DE SOJA	0,2
HUILE DE SESAME BIO DESODORISEE°°	2
HUILE DE COLZA RAFFINEE	3
HUILE DE SOJA IP°°	3
EXTENSINE	1
HYDROXYDE DE SODIUM	0,05

Exemple 7 : Formulation de HRGP issues de cellules dédifférenciées d'*Ajuga reptans* dans un soin de nuit.

Composants	Pourcentage (% en poids)
EAU PURIFIEE	qsp 100
GOMME XANTHANE	0,15
BUTYLENE GLYCOL	3
GOMME TARA	0,5
GLYCERINE 100% VEG	6
EAU DE BLEUET BIO	1,1
ACIDE SORBIQUE	0,1
ALCOOL C18-C22	3

BEURRE DE KARITE	2
HUILE DE COPRAH	2
ACETATE DE TOCOPHEROL	0,1
LECITHINE DE SOJA D 300	0,2
HUILE DE SOJA	4
VITAMINE A	0,1
VITAMINE F	0,3
EXTENSINE	1

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Quel rôle pour les extensines dans la structure des parois des cellules végétales, Regard sur la biochimie, Cathy Hirsinger, Elisabeth Jamet, 1997.

2. Physiologie végétale, DUNOD.

3. Korkina et al. : « Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides », Cell Mol Biol. 2007 May 30;53(5):84-91.

4. EP0533408.

5. Thorpe TA : “History of plant tissue culture”. Molecular biotechnology, 2007, 37, 2, 169-180.

6. WO2011/124848.

REVENDICATIONS

1. Utilisation cosmétique de HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans*.

2. Utilisation cosmétique selon la revendication 1, pour au moins une action choisie parmi l'action anti-âge, le lissage, l'adoucissement et l'hydratation de la peau et/ou de ses annexes et/ou des muqueuses.

3. Utilisation selon la revendication 2, dans laquelle ladite action anti-âge est au moins une action choisie parmi une diminution du relâchement, de la perte de fermeté ou de la perte d'élasticité de la peau, et une diminution de la formation des rides de la peau.

4. Utilisation cosmétique selon la revendication 1, dans laquelle lesdites HRGP comprennent des glycoprotéines monomériques, consistant en :

- Des protéines de masse moyenne supérieure à 5 kDa à hauteur de 43 à 76% en poids de la quantité totale de protéines,
- Des protéines de masse moyenne inférieure à 5 kDa à hauteur de 24 à 57% en poids de la quantité totale de protéines.

5. Utilisation cosmétique selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle l'action anti-âge est une action de stimulation de la synthèse d'élastine et/ou de stimulation de la synthèse d'acide hyaluronique et/ou de stimulation du renouvellement des fibroblastes.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle lesdites cellules d'*Ajuga reptans* sont des cellules méristématiques ou dédifférenciées.

7. Composition cosmétique ou dermatologique anti-âge comprenant des HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* et un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable, ladite composition comprenant 0,00001 à 2% en poids de HRGP *d'Ajuga reptans* par rapport au poids total de la composition.

8. Composition cosmétique ou dermatologique anti-âge selon la revendication 4, dans laquelle ledit HRGP comprend des glycoprotéines monomériques, consistant en :

- Des protéines de masse moyenne supérieure à 5 kDa à hauteur de 43 à 76% en poids de la quantité totale de protéines,
- Des protéines de masse moyenne inférieure à 5 kDa à hauteur de 24 à 57% en poids de la quantité totale de protéines.

9. Composition selon la revendication 7 ou 8, ladite composition étant sous une forme choisie parmi un onguent, une crème, une huile, un lait, une pommade, une poudre, un tampon imbibé, une solution, un gel, un sérum, un baume, un beurre, une lotion, une suspension, un savon ou une émulsion.

10. Dispositif se présentant sous une forme choisie parmi un pot, un flacon-pompe, une lingette, un masque, un dispositif transdermique, un patch, un spray, ledit dispositif comprenant une composition selon l'une quelconque des revendications 7 à 9.

11. Procédé cosmétique non thérapeutique pour améliorer l'aspect de la peau, comprenant une application sur la peau d'une composition selon l'une quelconque des revendications 7 à 9.

12. Utilisation d'une composition cosmétique ou dermatologique non thérapeutique telle que définie dans l'une quelconque des revendications 7 à 9, dans un produit dermatologique destiné à l'amélioration de l'aspect la peau d'un sujet.

13. Procédé de préparation d'une composition cosmétique ou dermatologique telle que définie dans la revendication 7 à 9, comprenant le mélange de HRGP issues de cellules d'*Ajuga reptans* et d'un véhicule cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FR2018/051693

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/64(2006.01)i; ***A61Q 19/08***(2006.01)i; ***A61K 8/9789***(2017.01)i; ***A61Q 19/00***(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; A61Q

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, WPI 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 2011124848 A1 (SILAB SA [FR]; PAUFIQUE JEAN [FR]) 13 October 2011 (2011-10-13) cited in the application claims 1, 2, 12-15, 18, 19	1-13
Y	EP 0800585 A1 (INDENA SPA [IT]) 15 October 1997 (1997-10-15) paragraphs [0001] - [0008] claims; examples	1-13
Y	EP 1736166 A2 (I R B ISTITUTO DI RICERCHE BIO [IT]) 27 December 2006 (2006-12-27) examples 1, 2, 4	1-13
Y	US 5882664 A (SOMA TSUZURU [JP] ET AL) 16 March 1999 (1999-03-16) claims	1-13
Y	US 2011020476 A1 (GIULIANI GIAMMARIA [IT] ET AL) 27 January 2011 (2011-01-27) paragraphs [0055] - [0061]; example 16	1-13

☐ 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
06 March 2019	**13 June 2019**
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 **Perrone Dunet, S** Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/FR2018/051693

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2011124848 A1	13 October 2011	FR 2958546 A1	14 October 2011
		WO 2011124848 A1	13 October 2011
EP 0800585 A1	15 October 1997	AT 200518 T	15 April 2001
		AU 692654 B2	11 June 1998
		CA 2208960 A1	04 July 1996
		CN 1171822 A	28 January 1998
		CZ 295489 B6	17 August 2005
		DE 69520693 D1	17 May 2001
		DE 69520693 T2	30 August 2001
		DK 0800585 T3	07 May 2001
		EP 0800585 A1	15 October 1997
		ES 2155541 T3	16 May 2001
		FI 972757 A	18 August 1997
		GR 3035842 T3	31 August 2001
		HK 1003652 A1	20 July 2001
		HU 220456 B1	28 February 2002
		IT MI942663 A1	28 June 1996
		JP 2997063 B2	11 January 2000
		JP H10510432 A	13 October 1998
		NO 318552 B1	11 April 2005
		PL 321004 A1	24 November 1997
		PT 800585 E	31 July 2001
		RU 2163266 C2	20 February 2001
		SI 9520146 A	28 February 1998
		SK 86097 A3	10 December 1997
		US 6072030 A	06 June 2000
		WO 9620284 A1	04 July 1996
EP 1736166 A2	27 December 2006	EP 1736166 A2	27 December 2006
		EP 1997501 A2	03 December 2008
		JP 5443664 B2	19 March 2014
		JP 5788936 B2	07 October 2015
		JP 2007001977 A	11 January 2007
		JP 2013253099 A	19 December 2013
		US 2007015262 A1	18 January 2007
US 5882664 A	16 March 1999	AU 734341 B2	14 June 2001
		CA 2212314 A1	02 February 1998
		CN 1176098 A	18 March 1998
		EP 0821967 A1	04 February 1998
		KR 19980018315 A	05 June 1998
		TW 492865 B	01 July 2002
		US 5882664 A	16 March 1999
US 2011020476 A1	27 January 2011	AT 495725 T	15 February 2011
		AU 2006226535 A1	28 September 2006
		BR PI0606328 A2	10 November 2009
		CA 2587665 A1	28 September 2006
		CN 101098677 A	02 January 2008
		CY 1111393 T1	05 August 2015
		DK 1863430 T3	16 May 2011
		EA 200701190 A1	28 February 2008
		EP 1863430 A1	12 December 2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/FR2018/051693

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
		ES 2359933	T3	30 May 2011
		IL 183292	A	30 June 2011
		JP 5209465	B2	12 June 2013
		JP 2008534464	A	28 August 2008
		KR 20070113193	A	28 November 2007
		NZ 555150	A	29 April 2011
		PT 1863430	E	19 April 2011
		UA 89510	C2	10 February 2010
		US 2008003308	A1	03 January 2008
		US 2011020476	A1	27 January 2011
		WO 2006100101	A1	28 September 2006

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2018/051693

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. A61K8/64 A61Q19/08 A61K8/9789 A61Q19/00
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 A61Q

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, WPI 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 2011/124848 A1 (SILAB SA [FR]; PAUFIQUE JEAN [FR]) 13 octobre 2011 (2011-10-13) cité dans la demande revendications 1, 2, 12-15, 18, 19 -----	1-13
Y	EP 0 800 585 A1 (INDENA SPA [IT]) 15 octobre 1997 (1997-10-15) alinéas [0001] - [0008] revendications; exemples -----	1-13
Y	EP 1 736 166 A2 (I R B ISTITUTO DI RICERCHE BIO [IT]) 27 décembre 2006 (2006-12-27) exemples 1, 2, 4 -----	1-13
Y	US 5 882 664 A (SOMA TSUZURU [JP] ET AL) 16 mars 1999 (1999-03-16) revendications -----	1-13
	-/--	

[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
6 mars 2019	13/06/2019

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	Perrone Dunet, S

2

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (avril 2005)

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	US 2011/020476 A1 (GIULIANI GIAMMARIA [IT] ET AL) 27 janvier 2011 (2011-01-27) alinéas [0055] - [0061]; exemple 16 -----	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/FR2018/051693

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2011124848 A1	13-10-2011	FR 2958546 A1	14-10-2011
		WO 2011124848 A1	13-10-2011
EP 0800585 A1	15-10-1997	AT 200518 T	15-04-2001
		AU 692654 B2	11-06-1998
		CA 2208960 A1	04-07-1996
		CN 1171822 A	28-01-1998
		CZ 9702024 A3	12-11-1997
		DE 69520693 D1	17-05-2001
		DE 69520693 T2	30-08-2001
		DK 0800585 T3	07-05-2001
		EP 0800585 A1	15-10-1997
		ES 2155541 T3	16-05-2001
		FI 972757 A	18-08-1997
		GR 3035842 T3	31-08-2001
		HK 1003652 A1	20-07-2001
		HU 220456 B1	28-02-2002
		IT MI942663 A1	28-06-1996
		JP 2997063 B2	11-01-2000
		JP H10510432 A	13-10-1998
		NO 972984 A	26-06-1997
		PL 321004 A1	24-11-1997
		PT 800585 E	31-07-2001
		RU 2163266 C2	20-02-2001
		SI 9520146 A	28-02-1998
		SK 86097 A3	10-12-1997
		US 6072030 A	06-06-2000
		WO 9620284 A1	04-07-1996
EP 1736166 A2	27-12-2006	EP 1736166 A2	27-12-2006
		EP 1997501 A2	03-12-2008
		JP 5443664 B2	19-03-2014
		JP 5788936 B2	07-10-2015
		JP 2007001977 A	11-01-2007
		JP 2013253099 A	19-12-2013
		US 2007015262 A1	18-01-2007
US 5882664 A	16-03-1999	AU 734341 B2	14-06-2001
		CA 2212314 A1	02-02-1998
		CN 1176098 A	18-03-1998
		EP 0821967 A1	04-02-1998
		TW 492865 B	01-07-2002
		US 5882664 A	16-03-1999
US 2011020476 A1	27-01-2011	AT 495725 T	15-02-2011
		AU 2006226535 A1	28-09-2006
		BR PI0606328 A2	10-11-2009
		CA 2587665 A1	28-09-2006
		CN 101098677 A	02-01-2008
		CY 1111393 T1	05-08-2015
		DK 1863430 T3	16-05-2011
		EA 200701190 A1	28-02-2008
		EP 1863430 A1	12-12-2007
		ES 2359933 T3	30-05-2011
		IL 183292 A	30-06-2011
		JP 5209465 B2	12-06-2013
		JP 2008534464 A	28-08-2008
		KR 20070113193 A	28-11-2007

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/FR2018/051693

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
		NZ 555150 A	29-04-2011
		PT 1863430 E	19-04-2011
		UA 89510 C2	10-02-2010
		US 2008003308 A1	03-01-2008
		US 2011020476 A1	27-01-2011
		WO 2006100101 A1	28-09-2006