

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫② Date de dépôt : 23.10.00.

⑫③ Priorité :

⑦① Demandeur(s) : SOCIETE INDUSTRIELLE LIMOUSINE D'APPLICATION BIOLOGIQUE SILAB Société anonyme — FR.

⑦② Inventeur(s) : PAUFIQUE JEAN JACQUES.

⑫④ Date de mise à la disposition du public de la demande : 26.04.02 Bulletin 02/17.

⑫⑤ Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑫⑥ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) :

⑫④ PRINCIPE ACTIF RICHE EN ISOFLAVONES, SON PROCEDE D'EXTRACTION ET SES APPLICATIONS COSMETIQUES.

⑫⑤ - L'objet de l'invention est un procédé d'extraction d'un principe actif anti-rides sous quelque forme galénique que ce soit, riches en isoflavones.

L'invention couvre aussi le principe actif obtenu et des compositions adaptées incluant ce principe actif.



PRINCIPE ACTIF RICHE EN ISOFLAVONES, SON PROCEDE D'EXTRACTION ET SES APPLICATIONS COSMETIQUES

La présente invention concerne un principe actif riche en isoflavones extrait au moyen d'un procédé adapté et envisage les applications cosmétiques de ce principe actif en cosmétique.

Au fur et à mesure de l'avancée en âge, il a été depuis longtemps
5 constaté que la peau subit un certain nombre de modifications et d'altérations.

Tout d'abord on peut constater une atrophie cutanée engendrée par un ralentissement des activités métaboliques et un aplatissement de la jonction épidermique, une destruction des réseaux collagène-élastine du derme.

Ces altérations provoquent l'apparition de rides et ridules, la sécheresse
10 et la perte des propriétés viscoélastiques de la peau.

On peut donc constater que la peau apparaît terne et présente une déshydratation certaine avec un effet barrière amoindri.

Il convient de lutter contre l'apparition et l'augmentation de ces rides, ce qui est un deuxième objectif du principe actif selon la présente invention.

15 Le principe actif selon la présente invention pallie ces problèmes ainsi que cela va être décrit en détail.

Cette description est accompagnée de résultats traduisant de façon concrète les effets et donc les solutions apportées aux problèmes évoqués ci-avant.

20 L'invention revendique le procédé d'extraction, le principe actif obtenu ainsi que des compositions incluant ce principe actif.

Les dessins annexés représentent sur les différentes figures :

- figure 1, un tableau des résultats de l'activité métabolique sur les protéines d'ancrage,

- figure 2, un tableau des résultats de l'activité anti-collagénase,

- figure 3, un tableau des résultats de la fatigabilité de la peau,

5 - figures 4 et 5, des tableaux des résultats de l'activité anti-rides,

- figure 6, un tableau récapitulatif de l'évolution de la perte insensible en eau, et

- figure 7, un tableau de l'évolution de l'action hydratante au cours du temps.

10 Le principe actif selon la présente invention résulte d'une extraction à partir de la racine ou rhizome d'*IRIS FLORENTINA*.

PROCEDE D'EXTRACTION

Le procédé d'extraction consiste en la succession des étapes suivantes :

- solubilisation du rhizome d'*IRIS FLORENTINA* séché et broyé à raison

15 d'une quantité de 20 à 500 g/l dans au moins un solvant,

- chauffage entre 30 et 70°C pendant au moins 30 mn,

- séparation des phases soluble et insoluble, par décantation, filtration ou centrifugation,

- concentration de la fraction active, et

20 - filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure 100 germes /g, et une absence de levures et de moisissures.

On procède à une solubilisation aqueuse ou alcoolique et on choisit les solvants par exemple parmi l'eau, le propylène glycol, le butylène glycol, la
25 glycérine. Ces solvants peuvent aussi être utilisés en combinaison.

1/ CARACTERISTIQUES DU PRINCIPE ACTIF OBTENU

1-1/ Matière sèche

Le taux de matière sèche est obtenu par passage à l'étuve à 105°C
30 jusqu'à obtention d'un poids constant et le taux du principe actif selon la présente invention est compris entre 10 et 100 g/l, notamment entre 20 et 50 g/l.

1-2/ Mesure du pH

Cette mesure est obtenue par la méthode potentiométrique, à température ambiante. La valeur varie entre 3,0 et 9,0 notamment entre 5,0 et 7,0.

5 *1-3/ Détermination de la quantité des composés phénoliques*

Cette détermination est conduite par une mesure de l'intensité de coloration car les composés phénoliques forment des complexes colorés en présence de ferricyanure de potassium.

10 Cette mesure est comparée à des valeurs étalons d'acide gallique couvrant la plage concernée, en l'occurrence 40 à 120 mg/l

Les valeurs obtenues se situent entre 0,5 et 4,0 g/l et plus particulièrement entre 1,0 et 3,0 g/l.

1-4/ Détermination de la quantité et de la nature des isoflavones

15 La quantité d'isoflavones est déterminée par chromatographie H.P.L.C. et ces isoflavones sont caractérisés par spectrométrie de masse.

Les résultats obtenus après ces analyses conduites avant et après hydrolyse acide sont les suivants :

20 - le taux d'isoflavones exprimé en équivalents génistéine, l'une des isoflavones, est compris entre 0,5 et 4,0 g/l et plus particulièrement entre 0,5 et 3,0.g/l.

- les isoflavones essentielles déterminées sont la tectorigénine, l'irigénine, l'irilone et l'irisolidone.

25 2/ EFFETS DU PRINCIPE ACTIF OBTENU :

2-1/ Effets sur l'activité métabolique

Cette étude porte sur l'augmentation de la synthèse des protéines d'ancrage telle que la laminine, plus particulièrement la laminine 1 et la laminine 5.

30 Les essais sont conduits sur des fibroblastes humains incubés en présence de 0,75 à 1 % de principe actif selon l'invention.

La technique RT-PCR permet d'évaluer l'expression des ARNm dans ces cultures.

Les ARNm de β -actine sont utilisés comme témoin de référence.

Les résultats consistent en un rapport de l'intensité de la bande
5 correspondant au gène analysé et celle correspondant au témoin.

Les résultats sont regroupés dans le tableau de la figure 1.

On constate que, dès 0,75%, la présence du principe actif induit la production de protéines d'ancrage, notamment de laminine 1 et de laminine 5.

10 *2-2/ Activité anti-collagénase*

L'objet de cette étude est d'évaluer l'activité anti-collagénase du principe actif de la présente invention.

A cet effet, on mesure la protection du solvant lors de l'activité enzymatique de la collagénase par un dosage spectrométrique.

15 On met des concentrations différentes de principe actif en présence d'une même quantité de solvant et d'enzyme.

Une activité anti-collagénase du principe actif se traduit par une diminution de la densité optique à $\lambda = 324$ nm comme montré sur la figure 2.

On constate que le principe actif selon la présente invention inhibe
20 l'activité enzymatique collagénase.

2-3/ Influence du principe actif sur la fatigabilité de la peau

Le test est conduit directement sur volontaires.

On prépare une émulsion avec 5% de principe actif. On effectue le test
25 sur les avant-bras de 6 personnes de sexe féminin.

On effectue la mesure à l'aide d'un appareillage du commerce connu sous la dénomination commerciale "Cutomètre SEM 575".

Avec cet appareil, on provoque une succession d'aspirations de la peau dans une sonde sous une dépression constante. Des moyens permettent de
30 mesurer optiquement la pénétration de la peau dans cette sonde sous l'effet de cette dépression.

On traite deux zones l'une placebo l'autre par l'émulsion à 5%.

Les résultats moyens sont regroupés dans le tableau de la figure 3.

On constate que la fatigabilité diminue de 18%. Cette variation est significative. La peau apparaît plus élastique, moins fatiguée.

5 *2-4/ Effet anti-rides*

Cette étude est également réalisée sur volontaires afin de qualifier *in vivo* l'efficacité d'une émulsion contenant 3% de principe actif contre placebo.

Une réplique des rides des deux pattes d'oie avant et après traitement bi-quotidien de 28 jours de cette empreinte est réalisée et analysée au moyen
10 d'un profilomètre.

Les deux paramètres suivants sont déterminés :

- surface totale ridée qui correspond à la quantité totale de rides, et
- la longueur moyenne des rides exprimée en millimètres.

On constate dans les tableaux des figures 4 et 5 qu'après traitement, le
15 principe actif conduit à une diminution statistiquement significative de la longueur moyenne des rides de 26%.

La surface totale des rides diminue de façon importante : 64%.

2-5/ Perte insensible en eau :

20 Cette étude permet de mesurer l'effet du principe actif sur la perte insensible en eau représentant l'effet barrière de la peau.

Lorsque la peau présente des dérèglements dans la régulation des échanges d'eau, cette eau migre plus facilement vers l'extérieur d'où une augmentation de la perte d'eau.

25 Pour mesurer cette perte en eau, on mesure le gradient de pression de la couche de vapeur d'eau qui entoure la peau pour calculer l'évaporation.

Pour les tests effectués également *in vivo* on lave la zone de la peau concernée au Lauryl Sulfate de Sodium à 10% et on applique de façon biquotidienne une crème à 3% de principe actif.

30 Les tests sont réalisés sur 8 volontaires sur deux zones des cuisses et la mesure est exprimée en g/m²/h.

Les résultats sont exprimés dans le tableau de la figure 6.

La diminution de la perte insensible d'eau est de 21,5%.

2-6/ Activité hydratante :

L'efficacité hydratante est déterminée *in vivo* par cornéométrie, les
5 volontaires ayant une teneur en eau, dans une plage de 50 à 65, considéré
dermatologiquement comme faible.

On applique sur la zone placebo comme sur la zone à traiter un hydrogel
à base de carbopol à 0,5% et de 3% de principe actif sur la zone à traiter et
de carbopol à 0,5% sur la zone placebo.

10 On obtient les résultats de la figure 7 qui montrent l'activité hydratante
immédiate mais aussi l'évolution de cet effet au cours du temps.

On constate ainsi une capacité hydratante de 7,2% après 2 heures et
au-delà de 5% après 6 heures.

A titre d'exemples non limitatifs, on indique ci-après des produits ou
15 compositions cosmétiques comprenant le principe actif selon la présente
invention en combinaison avec au moins un autre actif.

Exemple 1 : Gel/crème raffermissant corporel

- Huile silicone connu sous le nom commercial *DC 200* : 1%
- Cétearyl octanoate connu sous le nom commercial *Lanol 1688* : 5%
- 20 - *Sepigel 305* (polyacrylamide / C13-C14 isoparaffin/laureth-7) : 3%
- Principe actif selon la présente invention : 5%
- Conservateur : 0,5%
- Eau : qsp 100%

25 *Exemple 2 : Crème de jour anti-rides*

- Cétearyl octanoate connu sous le nom commercial *Lanol 1688* : 3%
- *Sepigel 305* (polyacrylamide / C13-C14 isoparaffin/laureth-7) : 3%
- Principe actif selon la présente invention : 3%
- Conservateur : 0,5%
- 30 - Eau : qsp 100%

Exemple 3 : Emulsion fluide anti-âge

- *Montanov 202* (arachidyl alcohol/Behenyl alcohol/Arachidyl glucoside)
: 4%
- *Montanov 14* (myristyl alcohol/myristyl glucoside) : 2%
- Cétéaryl octanoate connu sous le nom commercial *Lanol 1688* : 4%
- 5 - Huile de paraffine : 6%
- *Lanette O* (cétylestearyl alcool) : 2%
- Principe actif selon la présente invention : 3%
- Conservateur : 0,5%
- Eau : qsp 100%

RE V E N D I C A T I O N S

1. Procédé d'extraction d'un principe actif riche en isoflavones, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- solubilisation du rhizome d'*IRIS FLORENTINA* séché et broyé à raison d'une quantité comprise entre 20 et 500 g/l dans au moins un solvant,
- 5 - chauffage entre 30 et 70°C pendant au moins 30 mn,
- séparation des phases soluble et insoluble,
- concentration de la fraction active, et
- filtration stérilisante pour atteindre une flore mésophile totale inférieure 100 germes /g, et une absence de levures et de moisissures.

10 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la solubilisation est réalisée en phase aqueuse ou alcoolique.

3. Procédé d'extraction selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que les solvants sont choisis parmi l'eau, le propylène glycol, le butylène glycol ou la glycérine.

15 4. Principe actif obtenu par la mise en œuvre de la revendication 1, 2 ou 3, caractérisé en ce qu'il présente :

- un taux de matière sèche compris entre 10 et 100 g/l
- un pH compris entre 3,0 et 9,0
- un taux de composés phénoliques compris entre 0,5 et 4,0 g/l
- 20 - une quantité d'isoflavones exprimé en équivalents génistéine compris entre 0,5 et 4,0 g/l

5. Principe actif selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'il présente:

- un taux de matière sèche compris entre 20 et 50 g/l
- 25 - un pH compris entre 5,0 et 7,0
- un taux de composés phénoliques compris entre 1,0 et 3,0 g/l
- une quantité d'isoflavones exprimé en équivalents génistéine compris entre 0,5 et 3,0 g/l

6. Principe actif selon la revendication 4 ou 5, caractérisé en ce que les isoflavones obtenus sont une combinaison de tectorigénine, d'irigénine, d'irilone et d'irisolidone.

5 7. Composition cosmétique pour lutter contre l'apparition de rides et ridules, la sécheresse et la perte des propriétés viscoélastiques de la peau caractérisée en ce que, pour élaborer un gel/crème raffermissant corporel, on associe les composés suivants :

- Huile silicone : 1%
- Cétearyl octanoate : 5%
- 10 - Polyacrylamide / C13-C14 isoparaffin/laureth-7: 3%
- Principe actif selon l'une des revendications 4, 5 ou 6 : 5%
- Conservateur : 0,5%
- Eau : qsp 100%

15 8. Composition cosmétique pour lutter contre l'apparition de rides et ridules, la sécheresse et la perte des propriétés viscoélastiques de la peau caractérisée en ce que, pour élaborer une crème de jour, on associe les composés suivants :

- Cétearyl octanoate :3%
- Polyacrylamide / C13-C14 isoparaffin/laureth-7: 3%
- 20 - Principe actif selon l'une des revendications 4, 5 ou 6 : 3%
- Conservateur : 0,5%
- Eau : qsp 100%

25 9. Composition cosmétique pour lutter contre l'apparition de rides et ridules, la sécheresse et la perte des propriétés viscoélastiques de la peau caractérisée en ce que, pour élaborer une émulsion fluide, on associe les composés suivants :

- Arachidyl alcohol/Behenyl alcohol/Arachidyl glucoside: 4%
- Myristyl alcohol/myristyl glucoside: 2%
- Cétearyl octanoate : 4%
- 30 - Huile de paraffine : 6%
- Cétylestearyllic acohol: 2%
- Principe actif selon l'une des revendications 4, 5 ou 6 : 3%

- Conservateur : 0,5%
- Eau : qsp 100%

1/4

PRINCIPE ACTIF	%ARN/témoin	
	Laminine1	Laminine5
0.75%	142%	117%
1%	152%	127%

Fig. 1

% CONCENTRATION EN PRINCIPE ACTIF	ACTIVITE ANTI-COLLAGENASE %
5	24
10	92
20	99

Fig. 2

2/4

	Zone non traitée		Zone traitée	
Volontaire	J0	J28	J0	J28
Moyenne	0.055	0.061	0.059	0.05
L				-18%

Fig. 3

3/4

Volontaire	Zone traitée par PRINCIPE ACTIF		Zone traitée par placebo		Δ (%)
	J0	J28	J0	J28	
1	1.99	1.73	1.12	1.39	-23%
2	5.78	1.72	3.25	3.11	-70%
3	4.39	1.94	4.2	2.73	-34%
4	2.91	3.86	3.99	7.19	-37%
5	2.84	0.75	9.88	5.63	-153%
6	5.54	1.92	1.32	1.76	-68%

SURFACE

Moyenne	-64%
---------	------

Fig. 4

Volontaire	Zone traitée par PRINCIPE ACTIF		Zone traitée par placebo		Δ (%)
	J0	J28	J0	J28	
1	0.25	0.24	0.35	0.32	9%
2	0.39	0.29	0.31	0.29	-22%
3	0.36	0.29	0.30	0.24	-3%
4	0.29	0.33	0.36	0.44	-11%
5	0.36	0.29	0.45	0.48	-26%
6	0.48	0.25	0.30	0.27	-44%

LONGUEUR

Moyenne	-16%
---------	------

Fig. 5

4 / 4

	Zone non traitée		Zone traitée		
Volontaire	J0	J14	J0	J14	Δ (%)
Moyenne	32.6	15.4	38.1	14.7	-21.5

Fig. 6

	Zone traitée	Zone placebo	Zone d'hydratation
T0	51.60	51.40	
T2h	56.60	52.60	7.2%
T4h	58.40	55.20	5.4%
T6h	58.40	55.00	5.8%

Fig. 7

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	EP 0 797 985 A (L'OREAL) 1 octobre 1997 (1997-10-01) * le document en entier *	1-9	
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 01 (C & JP 09 241154 A (SHISEIDO) * abrégé *	1-9	
A	"L'Ami des Ingrédients Naturels- l'Encyclopédie" 'CD-ROM! 28 février 1997 (1997-02-28), ALBAN MULLER INTERNATIONAL XP002172920 * voir Famille Iridaceae, genre Iris, paragraphes chimie et fonction *	1-9	
A	WO 99 44579 A (L'OREAL) 10 septembre 1999 (1999-09-10) * le document en entier *	1-9	
A	DATABASE WPI Week 198802 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1988-009363 XP002172921 & JP 62 270700 A (SHISEIDO) * abrégé *	1-9	
A	DATABASE WPI Week 198921 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1989-155033 XP002172922 & JP 01 096106 A (SHISEIDO) * abrégé *	1-9	A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
31 juillet 2001		Fischer, J.P.	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			