

(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
01 février 2018 (01.02.2018)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2018/020101 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A01G 33/00 (2006.01) A61K 8/9722 (2017.01)
A01H 13/00 (2006.01) A61K 8/9706 (2017.01)
A61K 8/97 (2017.01)

(74) Mandataire : **CONAN, Philippe** ; L'AIR LIQUIDE S.A.,
Direction de la Propriété Intellectuelle, 75, Quai d'Orsay,
75321 PARIS CEDEX 07 (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2017/051920

(22) Date de dépôt international :

12 juillet 2017 (12.07.2017)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

1657174 26 juillet 2016 (26.07.2016) FR

(71) Déposants : **SOCIETE D'EXPLOITATION DE PRO-
DUITS POUR LES INDUSTRIES CHIMIQUES
SEPPIC** [FR/FR] ; 75, Quai d'Orsay, 75321 PARIS CE-
DEX 07 (FR). **BIOTECHMARINE** [FR/FR] ; ZI de
Quemper Guezennec, 22260 QUEMPEL GUEZENNEC
(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).

(72) Inventeurs : **CATTUZZATO, Laetitia** ; 5 rue des Ma-
çons, 81100 CASTRES (FR). **LE GELEBART, Erwan** ; 2
rue des Goelettes, 22620 PLOUBAZLANEC (FR).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17(iv))

(54) Title: METHOD FOR OBTAINING A UNIALGAL BIOMASS OF CELLS OF SMALL MULTICELLULAR MACROALGAE AND ENDOPHYTES OF HOST MACROALGAE, AND USE OF SAME IN COSMETICS

(54) Titre : PROCÉDÉ D'OBTENTION D'UNE BIOMASSE UNIALGALE DE CELLULES DE MACROALGUES PLURICELLULAIRES DE PETITES TAILLES ET ENDOPHYTES DE MACROALGUES HÔTES, ET SON UTILISATION EN COSMÉTIQUE

(57) Abstract: Method for obtaining a unialgal biomass of small multicellular macroalgae cells and endophytes of host macroalgae, characterised in that it comprises the following successive steps: -A step A) of collecting, from the natural environment, a sample of said host macroalgae; -A step B) of preparing a unialgal sample of cells of said small multicellular macroalgae and endophytes of host macroalgae, by separating them from their macroalgae hosts, from the sample taken in step A) above; -A step C) of culturing said unialgal sample of small multicellular macroalgae cells and endophytes of host macroalgae obtained in step B), in seawater to which at least one nitrogen source has been added, to obtain an aqueous suspension of said unialgal biomass of small multicellular macroalgae cells; -A step D) of harvesting said unialgal biomass of small multicellular macroalgae cells from said aqueous suspension obtained at the end of step C). Glycolic extract of said biomass, method for preparing same, use of same in cosmetics and pharmacy and compositions containing it.

(57) Abrégé : Procédé d'obtention d'une biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes: -Une étape A) de prélèvement du milieu naturel, d'un échantillon desdites macroalgues hôte; -Une étape B) de préparation d'un échantillon unialgal de cellules des dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, par leur séparation d'avec leurs dites macroalgues hôtes, à partir de l'échantillon prélevé à l'étape A) précédente; -Une étape C) de mise en culture dudit échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu à l'étape B), dans l'eau de mer additionnée d'au moins une source d'azote, pour obtenir une suspension aqueuse de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille; -Une étape D) de récolte de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille à partir de ladite suspension aqueuse obtenue à l'issue de l'étape C). Extrait glycolique de ladite biomasse, procédé pour sa préparation, son utilisation en cosmétique et en pharmacie et compositions le renfermant.

[Suite sur la page suivante]

Publiée:

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

Procédé d'obtention d'une biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petites tailles et endophytes de macroalgues hôtes, et son utilisation en cosmétique

5 La présente invention a pour objet un nouvel extrait de biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille, le procédé pour sa préparation ainsi que son utilisation comme actif cosmétique, et les compositions cosmétiques, pharmaceutiques, dermo-pharmaceutiques à usage topique en comprenant.

10 La peau humaine constitue la première image offerte au regard d'autrui, et par conséquent, l'amélioration de son aspect est un sujet de préoccupation constant pour les êtres humains. La peau est le reflet d'un état de bien-être, souvent associé à la jeunesse, et *a contrario* à un état de fatigue et/ou de vieillissement. Le vieillissement cutané est donc une préoccupation pour les humains et plus particulièrement pour les consommateurs de produits cosmétiques qui recherchent des solutions pour atténuer
15 et/ou pour prévenir les manifestations visibles liées audit vieillissement. Ce vieillissement cutané s'observe au niveau des différents tissus cutanés et se caractérise par des altérations métaboliques, fonctionnelles, cellulaires, architecturales et tissulaires, conduisant à des effets externes visibles caractérisés par l'apparition et l'accroissement des rides, par un teint terne, par un manque d'uniformité du teint (phénomène de
20 dyschromie), ou encore par une modification de la texture et des propriétés, notamment biomécaniques, de la peau du corps humain.

 Le vieillissement cutané résulte d'une part de facteurs propres à chaque individu (caractéristiques du patrimoine génétique propre à chaque individu) et d'autre part de facteurs environnementaux. Parmi les facteurs environnementaux qui peuvent provoquer
25 le vieillissement cutané, on peut citer l'exposition répétée et prolongée au soleil, et plus particulièrement l'exposition aux rayonnements ultra-violets, l'exposition à la pollution atmosphérique, à la fumée de cigarette, les stress oxydants divers pouvant résulter entre autres des facteurs précédemment cités, ainsi que les stress psychologiques, émotionnels et nerveux. L'exposition répétée et prolongée de la peau humaine aux
30 rayonnements du soleil, et plus particulièrement aux rayonnements ultra-violets, conduit à une forme de vieillissement que l'on nomme communément le photo-vieillissement. Ce photo-vieillissement est bien documenté dans la littérature scientifique et il provoque des altérations de la peau à différents niveaux dont une des altérations de la peau la plus connue est l'élastose solaire, qui se caractérise par des modifications profondes dans
35 l'architecture et l'organisation des fibres élastiques du derme. Ces modifications conduisent à un aspect caractéristique de ces peaux qui présentent des rides très profondes et marquées, induisant un aspect de peau tannée, à savoir raide, craquelée et

brunie, ainsi que des modifications de leurs propriétés mécaniques. Les modifications des propriétés mécaniques de la peau humaine, liées au vieillissement, sont dues à l'altération de la matrice extracellulaire dermique, composée par les fibres élastiques et les fibres de collagène, et également à l'altération des caractéristiques cellulaires.

5 Schulze et al. ont montré que les fibroblastes dermiques se rigidifiaient avec l'âge, influençant des fonctions cellulaires impliquant le cytosquelette, telles que les propriétés contractiles, migratoires et prolifératives, qui sont importantes pour la réorganisation de la matrice extracellulaire (Schulze et al., *"Stiffening of human skin fibroblasts with age"*; Clin. Plast. Surg.; 2012 ; 39(1):9-20).

10 Il est également connu que les espèces réactives de l'oxygène (connues sous le nom de « ROS ») en excès dans la peau humaine (que le stimulus soit exogène ou que la production soit endogène) créent des liaisons irréversibles avec les protéines, identifiées sous le terme « protéines carbonylées », qui perdent alors leur fonction. Un lien a récemment été mis en évidence entre ces protéines carbonylées et leur impact sur des
15 fonctions clés cellulaires telles que le métabolisme des carbohydrates, l'entretien des protéines, la mobilité cellulaire, incluant la migration, et l'homéostasie protéique [Baraibar et Friguet,; *"Oxidative proteome modifications target specific cellular pathways during oxidative stress, cellular senescence and ageing"*; Exp. Gerontol. 2013; 48(7):620-5].

Au niveau tissulaire et cellulaire, le vieillissement se caractérise par plusieurs
20 phénomènes :

- Dans l'épiderme, les cellules souches (CS) sont des cellules non différenciées qui se caractérisent par leur capacité à maintenir l'intégrité d'un organe ou à le reconstruire. Elles sont le plus souvent localisées dans des « niches » anatomiques, lesquelles sont associées à des propriétés structurales et fonctionnelles spécifiques. La
25 peau adulte contient des cellules souches qui régulent son renouvellement, son aspect de surface, voire ses modifications avec le temps (Jones et Watt, *"Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression"*, Cell. (1993) May 21;73(4):713-24). Dans l'épiderme, les cellules souches sont situées au sein de la couche basale, leur localisation étant très spécifique.
30 Elles représentent 1 à 10% des cellules basales [Papini et al., *"Isolation and clonal analysis of human epidermal keratinocyte stem cells in long-term culture"*, Stem Cells (2003) 21(4): 481-94 ; Schneider et al., *"Measuring stem cell frequency in epidermis: a quantitative in vivo functional assay for long-term repopulating cells"*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2003) 30, 100(20):11412-7]. Sous l'effet des facteurs environnementaux, la
35 division asymétrique des cellules souches aboutit à la génération d'une cellule fille amplificatrice transitoire (TA, 40% des cellules basales). Les cellules filles amplificatrices transitoires sont ainsi destinées à proliférer, avec un nombre de doublements de

population limité, puis à devenir des cellules engagées dans un processus de différenciation (cellules post-mitotiques), au sein des couches suprabasales [Jones et Watt, "*Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression*", Cell. (1993) May 21;73(4):713-24 ;

5 Papini et al., "*Isolation and clonal analysis of human epidermal keratinocyte stem cells in long-term culture*", Stem Cells (2003) 21(4): 481-94 ; Marconi et al., "*Survivin identifies keratinocyte stem cells and is down-regulated by anti-beta 1 integrin during anoikis*", Stem Cells (2007) 25(1):149-55). Au cours du vieillissement, le nombre de cellules souches épidermiques est diminué et leurs fonctions sont altérées (Papini et al., 2003 voir

10 référence ci-dessus ; Kwon et al., "*Photoaging-associated changes in epidermal proliferative cell fractions in vivo*", Dermatol. Res. (2008); 300(1):47-52).

- Dans le derme, de nombreux changements interviennent au cours du vieillissement. Les collagènes sont notamment affectés conduisant à une désorganisation et fragilisation du réseau de collagène. Les points d'attache cellules-matrice se raréfient

15 contribuant ainsi à diminuer les interactions entre les fibroblastes et la matrice. La réponse induite par les fibres de collagène est ainsi diminuée sous la tension appliquée à la MEC. Une diminution globale de la réponse aux stimuli mécano-chimiques est donc observée. De plus, le taux de protéoglycannes diminue également et les fibres élastiques se fragmentent (Silver et al., "*Role of mechanophysiology in aging of ECM: effects of changes in mechanochemical transduction* », J Appl Physiol. Nov. 2003;95:2134-41).

20

Les algues sont des organismes photosynthétiques chlorophylliens vivants dans l'eau ou des milieux très humides. Elles peuvent se développer dans l'eau de mer, l'eau douce, l'eau saumâtre, dans des milieux stagnants, battus ou turbulents. Les algues peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, elles peuvent être brunes, vertes ou rouges

25 et sont classées en fonction de caractéristiques d'ordre cytologique et biochimique. Ces organismes jouent un rôle important à l'échelle globale car ils constituent la base des réseaux trophiques et ils sont impliqués dans la production de l'oxygène de l'atmosphère et dans la fixation du dioxyde de carbone.

Les macroalgues sont des algues pluricellulaires eucaryotes, le plus souvent

30 visibles à l'œil nu et souvent qualifiées de macrophytes. Elles peuvent se reproduire de manière sexuée ou asexuée ; chez certaines espèces ces deux modes de reproduction se succèdent au cours du cycle de vie. Le cycle de vie peut comprendre une génération, une alternance de deux générations ou de trois générations. On parlera respectivement de cycles monogénétique, digénétique ou trigénétique.

35 En fonction du type de cycle de vie, l'espèce peut se présenter sous forme de gamétophytes, de sporophytes, de carposporophyte ou de tétrasporophyte. Au cours d'un

cycle, ces différentes formes de vie peuvent être soit de mêmes morphologies donc isomorphes, soit de morphologies différentes donc hétéromorphes.

La différence de morphologie peut être très significative, rendant impossible le rattachement de deux formes de vie à la même espèce pour une personne non avertie.

5 Cette différence peut également être marquée par la taille de l'algue, une forme de vie peut être macroscopique et une autre forme de vie peut être microscopique. Par exemple le sporophyte d'*Undaria pinnatifida* mesure près d'un mètre de longueur alors que le gamétophyte de cette algue mesure quelques dizaines de micromètres.

10 Il existe environ deux mille espèces d'algues brunes, sept mille espèces algues rouges et mille sept cents espèces d'algues vertes.

Les macroalgues mesurent de quelques dizaines de micromètres de longueur dans le cas des algues du genre *Acrochaetium* à une centaine de mètres pour l'espèce *Macrocystis pyrifera*.

15 Selon le registre mondial des espèce marines (WoRMS), dans la hiérarchie taxonomique du royaume végétal, la classe des Chlorophyceae, identifiée sous le numéro de série (AphiaID) : 802, fait partie de la division des chlorophytes (algues vertes) (AphiaID : 801). Cette classe des chlorophyceae. Les algues vertes contiennent des pigments rencontrés chez les autres végétaux tels que les chlorophylles a et b. Elles sont à l'origine de l'apparition des plantes terrestres.

20 Les algues vertes sont utilisées dans des préparations cosmétiques pour différentes activités. Le brevet coréen publié sous le numéro KR 10 135 653 5 B1 divulgue une composition cosmétique comprenant de 0,001 à 30% en poids d'un hydrolysât d'*Ulva pertusa* (AphiaID : 211460) comme actif et 1,0% d'acide glucuronique. La demande internationale publiée sous le numéro WO 2015/071502 A1 divulgue un
25 extrait d'algues de l'ordre des Ulvales, contenant des polysaccharides anioniques sulfatés et non sulfatés de taille inférieure à 50kDa, qui sont utilisés en tant qu'agents thérapeutiques pour prévenir et/ou traiter les infections bactériennes. Plus généralement Vera et al. divulgue l'utilisations d'extraits d'algues du genre *ulva linnaeus*, (AphiaID : 144296), comme *ulva rigida* (AphiaID : 145990) et *ulva compressa* (AphiaID : 234462),
30 comprenant des polysaccharides de poids moléculaire compris entre 50 et 60kDa comme agent antibactérien (Vera et al. Marin Drugs, Vol. 9, N° 12, décembre 2011, pp 2514-2525).

Parmi les dix mille espèces différentes de macroalgues, une centaine d'entre elles
35 seulement présentent aujourd'hui un intérêt économique. C'est ainsi que certaines macroalgues alimentaires, algues productrices d'hydrocolloïdes et algues productrices de molécules à activité biologique ont fait l'objet de recherches extensives pour mieux comprendre leur physiologie, leur métabolisme et leur reproduction.

Les algues utilisées en alimentation humaine comme *Undaria pinnatifida* plus connue sous le nom de Wakame, *Laminaria japonica* également dénommée Kombu, *Porphyra yezoensis* aussi dénommée Nori et *Enteromorpha intestinalis* aussi dénommée Ao Nori ont été étudiées pour maîtriser leur culture.

- 5 Les hydrocolloïdes produits par les algues comme *Chondrus crispus*, *Kappaphycus* spp. et *Eucheuma denticulatum* sont principalement utilisés comme épaississants et gélifiants dans les produits alimentaires et cosmétiques. Les biomasses produisant ces polymères présentent un intérêt économique certain [Ronelie C. et al. *Non-enzymatic isolation of somatic cells from Kappaphycus spp. and Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Rhodophyta). Eur. J. Phycol. (2014), 49(4): 486–492].
- 10

- La culture en bioréacteur de l'algue verte *Acrosiphonia coalita*, l'algue brune *Laminaria saccharina* et des algues rouges *Agardhiella subulata*, *Ochtodes secundiramea*, *Portieria hornemannii* a été étudiée dans le but de synthétiser des molécules à activité biologique [Gregory L. Rorrer et al. Production of bioactive metabolites by cell and tissue cultures of marine macroalgae in bioreactor systems. Plant Cell and Tissue Culture for the Production of Food Ingredients, edited by Fu et al. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 1999].
- 15

- Certaines d'entre elles sont fondées sur la connaissance et sur la maîtrise du cycle de reproduction de la macroalgue. Par exemple, chez les laminariales on peut observer l'alternance entre un sporophyte diploïde développé en thalle macroscopique et des gamétophytes mâles et femelles haploïdes microscopiques. Les sporophytes matures fertiles produisent des spores nageantes qui se déposent sur un substrat solide et qui donnent naissance à des gamétophytes. L'étude de leur cycle de vie comme celui d'*Undaria pinnatifida* plus connue sous le nom de Wakame ou de *Laminaria japonica* appelé Kombu a permis de développer la culture de gamétophytes, forme de vie microscopique de ces algues, pour ensemercer des supports sur lesquels se développeront des sporophytes macroscopiques valorisables en alimentation humaine. La culture de ces algues se fait d'abord en laboratoire pour la culture de la forme de vie microscopique et puis dans le milieu naturel pour produire la forme de vie macroscopique qui pourra être consommée.
- 20
- 25
- 30

- Le développement de la culture du sporophyte des algues brunes de l'ordre des laminariales telles qu'*Undaria pinnatifida* dans les années 1980 a conduit au développement d'une technique de culture de gamétophyte dite en « free living », qui consiste à récolter des sporophytes matures, provoquer la sporulation, capter les spores, former des gamétophytes puis les cultiver dans le but de créer des gamètes qui, après fécondation, donneront naissance à de nouveaux sporophytes (R. Perez et al., 1984).
- 35

Le développement de la culture du sporophyte de *Laminaria saccharina* a aussi nécessité le développement d'une méthode de culture de son gamétophyte, de manière semblable aux cultures d'*Undaria pinnatifida* [C. Zhi, G. L. Rorrer. Photolithotrophic cultivation of *Laminaria saccharina* gametophyte cells in a bubble-column bioreactor.

5 Enzyme and Microbial Technology. Volume 18, Issue 4, March 1996, Pages 291–299].

La demande de brevet chinois publiée sous le numéro CN 103858745 A, divulgue le développement de cultures artificielles de *Sytosiphon lomentaria* en maîtrisant les étapes de différenciation du plasma germinatif de l'algue, pour produire un sporange uniloculaire mature, puis provoquer sa sporulation dans le but d'ensemencer des supports
10 de culture en vue de produire en mer, de la biomasse de *Sytosiphon lomentaria* macroscopique.

La demande brevet chinois publiée sous le numéro CN 103931482 A, divulgue une méthode d'obtention de thalle du gamétophyte de l'algue rouge *Porphyra yezoensis*, qui est utilisé en alimentation humaine, notamment pour la confection de makis,
15 impliquant d'abord la culture « *in vitro* » de la phase conchocelis de l'algue afin de produire des conchospores qui se fixeront sur un support de culture pour permettre la croissance de thalles en mer.

D'autres méthodes impliquent l'induction de cals à partir d'explants d'algues rouges, lesdits cals entraînant le développement de plantules qui sont ensuite cultivées
20 en bioréacteur. On peut citer dans ce cadre, les travaux de Ronélie et al. [Ronelie C. et al. Non-enzymatic isolation of somatic cells from *Kappaphycus* spp. and *Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Rhodophyta), Eur. J. Phycol. (2014), 49(4): 486–492] ; ceux de J. Munoz [J. Munoz. Use of plant growth regulators in micropropagation of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) in airlift bioreactors. J Appl Phycol (2006) 18:209–218], ou
25 ceux de Maliakal et al. [S. Maliakal, D. Cheney. Halogenated monoterpenes production in regenerated plantlet cultures of *Ochtodes secundiramea*. J. Phycol. 37, 1010-1019 (2001)].

D'autres méthodes passent par la production de protoplastes à partir d'un thalle dans le but de reformer de nouveaux thalles, en utilisant, comme proposé par Rusig et al.
30 dans le cas d'*Enteromorpha intestinalis* (TSN 6535), algue utilisée en alimentation humaine et animale, un mélange enzymatique contenant de la cellulase et des enzymes d'aplysie permet de digérer la paroi des cellules du thalle de l'algue. Les cellules dont la paroi est digérée s'appelant protoplastes [A Rusig & J. Cosson, Plant regeneration from protoplasts of *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta, Ulvophyceae) as seedstock for
35 macroagal culture. Journal of Applied Phycology 13: 103–108, 2001].

Comme les macroalgues pluricellulaires de petites tailles ne sont pas suffisamment abondantes dans la nature pour permettre une récolte dans l'environnement

et que leur petite taille rend difficile l'identification des espèces recherchées ainsi que la récolte spécifique d'une espèce donnée, les inventeurs se sont attachés à développer un nouveau procédé permettant l'obtention d'une biomasse unialgale de cellules de macroalgues de pluricellulaires de petite taille, afin de pouvoir en extraire un principe actif utilisable en cosmétique.

Ils ont développé un procédé utilisable en bioréacteur, ne nécessitant pas d'avoir des explants axéniques et ne faisant pas intervenir de phytohormones ou d'enzymes.

Selon un premier aspect, l'invention a pour objet un procédé d'obtention d'une biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :

- Une étape A) de prélèvement du milieu naturel, d'un échantillon desdites macroalgues hôte ;
- Une étape B) de préparation d'un échantillon unialgal de cellules des dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, par leur séparation d'avec leurs dites macroalgues hôtes, à partir de l'échantillon prélevé à l'étape A) précédente ;
- Une étape C) de mise en culture dudit échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes isolé à l'issue de l'étape B), dans l'eau de mer additionnée d'au moins une source d'azote, pour obtenir une suspension aqueuse de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille;
- Une étape D) de récolte de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille à partir de ladite suspension aqueuse obtenue à l'issue de l'étape C).

Par macroalgue pluricellulaire de petite taille, on désigne dans le procédé tel que défini ci-dessus, une macroalgue pluricellulaire, mesurant entre 30µm et 3cm et organisée en amas cellulaires. Cette macroalgue pluricellulaire de petite taille se différencie d'une macroalgue pluricellulaire de grande taille car cette dernière mesure entre 5 cm et 200 cm et est organisée de façon tissulaire.

Par échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires, on entend dans le procédé tel que défini ci-dessus, une culture ne contenant qu'une seule espèce d'algues pluricellulaires.

Comme échantillon d'une macroalgue prélevée dans le milieu naturel, mis en œuvre à l'étape A) du procédé tel que défini ci-dessus, on désigne notamment un échantillon prélevé dans l'eau de mer, qu'il s'agisse d'un prélèvement d'eau de mer, d'un prélèvement à la surface de substrats solides comme les rochers, le sable, les coquilles,

les sédiments ou encore des supports artificiels tels qu'une coque de bateau, un ponton ou une digue ; il peut aussi s'agir d'un prélèvement à la surface ou à l'intérieur d'autres végétaux (épiphyte ou endophyte) comme les algues ou les plantes marines, à la surface ou à l'intérieur d'animaux (épiphyte ou endophyte) comme les éponges, les cnidaires, les
5 procordés, les échinodermes, les mollusques, les arthropodes, les annélides, ou les vertébrés marins.

L'échantillon de macroalgues prélevé dans le milieu naturel, mis en œuvre à l'étape A) du procédé tel que défini ci-dessus, est généralement très riche en biodiversité et contient une vaste sélection d'organismes vivants tels que des petits animaux, des
10 protozoaires, des microalgues procaryotes, des microalgues eucaryotes et des macroalgues pluricellulaires.

Selon l'étape A) du procédé tel que défini ci-dessus, l'échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille est obtenu en isolant les macroalgues visées des autres organismes. A cet effet, on peut mettre en œuvre des
15 moyens de séparation physiques et/ou des moyens de séparation chimiques.

Comme moyen de séparation physique, il y a par exemple la séparation effectuée à l'aide d'une pipette en verre en utilisant l'extrémité du capillaire pour découper quelques cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille visées, en contrôlant l'opération visuellement, sous microscope ou sous loupe binoculaire. Il y a aussi la séparation par
20 dilution successive des cellules de l'espèce visée de l'échantillon naturel.

Comme moyen de séparation chimique, il y a par exemple l'utilisation, d'antibiotiques pour éliminer des microalgues du type cyanobactéries, ou celle du dioxyde de germanium pour éliminer des microalgues du type diatomée.

Les différents moyens d'isolement sont combinés pour obtenir le meilleur résultat d'isolement possible. Toutes les méthodes d'isolement, physiques et chimiques, sont
25 réalisées dans des réceptacles translucides laissant passer la lumière, contenant de l'eau de mer stérile, contenant au moins une source d'azote telle que le nitrate de sodium (NaNO_3) à une concentration comprise entre 50mg/dm^3 et 250mg/dm^3 avec une préférence pour 150mg/dm^3 et une source de phosphore telle que le
30 dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) à une concentration comprise entre 5mg/dm^3 et 75mg/dm^3 avec une préférence pour 50mg/dm^3 .

Il est également possible d'ajouter à l'eau de mer d'autres éléments minéraux, par addition par exemple d'un milieu nutritif dans les proportions souhaitées comme le milieu de Provasoli de composition suivante :

Milieu de Provasoli	
NaNO ₃	350mg
glycérophosphate de sodium	50mg
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ , 6H ₂ O	18mg
Na ₂ EDTA	15mg
H ₃ BO ₃	28,5mg
FeCl ₃ , 6H ₂ O	1,225mg
MnSO ₄ , H ₂ O	4,1mg
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0,55mg
CoSO ₄ , 7H ₂ O	0,12mg
Vitamine B12	10µg
Thiamine	0,5mg
Biotine	5µg
Tampon Tris	500mg
eau distillée	100ml

La mise œuvre de l'étape B) du procédé tel que défini ci-dessus est généralement effectuée en opérant les étapes successives suivantes :

5 - Au moins une étape B1) au cours de laquelle les macroalgues hôtes isolées à l'issue de l'étape A), sont découpées en fragment de deux à cinq centimètres de longueur, plus particulièrement trois centimètres de longueur ;

10 - Au moins une étape B2) de nettoyage desdits fragments obtenus à l'issue de l'étape B1), par action physique avec du papier absorbant à l'aide d'une solution aqueuse comprenant environ de 0,1% à 0,5% en poids de tensioactif non-ionique, de type huile-dans-eau, et plus particulièrement d'un ester de sorbitan comme l'oléate de sorbitan polyéthoxylé à 20 moles d'oxyde d'éthylène ou le stéarate de sorbitan polyéthoxylé à 20 moles d'oxyde d'éthylène, afin d'éliminer un maximum de contaminants épiphytes ;

15 - Au moins une étape B3), au cours de laquelle, les fragments nettoyés à l'issue de l'étape B2) sont rincés dans de l'eau de mer stérile ;

- Au moins une étape B4), lesdits fragments nettoyés et rincés à l'issue de l'étape B3), sont découpés longitudinalement de manière à favoriser le contact direct des macroalgues de petites taille et endophytes de leur dites macroalgues hôtes avec le milieu extérieur ;

20 - Au moins une étape B5), de séparation chimique des endophytes de leur hôte, en baignant les fragments d'algues découpés lors de l'étape B4) soit dans un milieu

composé d'eau de mer stérile et comprenant au moins une source d'azote et du dioxyde de germanium à 1mg/l, soit dans un milieu composé d'eau de mer stérile contenant au moins une source d'azote et un mélange antibiotique composé d'ampicilline à 50mg/l, de streptomycine à 50mg/l, et de chloramphénicol à 25mg/l.

- 5 Par eau de mer stérile, on signifie que l'eau de mer mise en œuvre dans les étapes décrites ci-dessus, a subi un traitement en autoclave à 121°C pendant vingt minutes, afin d'en éliminer les éventuels microorganismes présents.

Par source d'azote on désigne notamment un sel d'ammonium, un nitrate alcalin ou alcalino-terreux, ou une mélange de ces sels.

- 10 L'étape C) du procédé tel que défini précédemment, est réalisé dans un photobioréacteur contenant de l'eau de mer contenant au moins une source d'azote telle que le nitrate de sodium (NaNO_3) à une concentration comprise entre 50mg/dm³ et 250mg/dm³ avec une préférence pour 150mg/dm³ et une source de phosphore telle que le dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) à une concentration comprise entre
15 5mg/dm³ et 75mg/dm³ avec une préférence pour 50mg/dm³.

Il est également possible d'ajouter à l'eau de mer d'autres éléments minéraux, par addition par exemple dans les proportions souhaitées du milieu de Provasoli.

Les cultures sont conduites dans des cuves de culture translucides sous bouillonnement d'air optionnellement enrichi en dioxyde de carbone.

- 20 Les cultures sont généralement conduites entre 10°C et 25°C avec une préférence pour 17°C, sous une illumination constante.

- Les cultures sont conduites sur des périodes de quinze jours dans des volumes allant de 500cm³ pour les premières étapes de culture jusqu'à 20m³ pour les étapes de production de biomasse industrielle. Cependant, lorsque des observations à la loupe
25 binoculaire et/ou au microscope faites à l'issue de la première période de quinze jours mettent en évidence la croissance d'autres algues que celle visée à l'issue de l'étape A), cela constitue le signe que le résultat de l'étape A) et/ou celui de l'étape B) n'est pas satisfaisant. L'une, l'autre ou l'ensemble de ces étapes A) et B) du procédé tel que défini précédemment, doit donc être réitéré jusqu'à l'obtention d'un échantillon unialgal de
30 cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille de qualité satisfaisante.

- L'étape D) du procédé tel que défini ci-dessus, est généralement réalisée en utilisant une toile filtrante au seuil de coupure compris entre 25µm et 100µm en fonction de la taille des macroalgues pluricellulaires de petite taille mises en culture. La culture de biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille est filtrée,
35 l'eau de mer passant à travers la toile et la biomasse restant à sa surface. Le retentât constitué par la biomasse est ensuite pressé pour éliminer l'eau libre encore présente.

Selon un aspect particulier du procédé tel que défini ci-dessus, lesdites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, sont des algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix* (AphiaID : 146012, selon le registre mondial des espèces marines (WoRMS)).

Selon un autre aspect particulier du procédé tel que défini ci-dessus, lesdites macroalgues hôtes sont des algues rouges issues de la classe de Florideophyceae, de l'ordre des Ceramiales, de la famille des Rhodomelaceae, du genre *Osmundea* et de l'espèce *Osmundea hybrida*. (AphiaID : 144842 selon le registre mondial des espèces marines (WoRMS))

Selon un autre aspect particulier du procédé tel que défini ci-dessus, celui-ci comprend en outre une étape E) de préparation d'une poudre de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D).

L'étape E) du procédé tel que défini ci-dessus est effectuée par des méthodes connue de l'homme du métier. On peut par exemple sécher ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) du procédé tel que défini précédemment, puis la broyer et la tamiser pour obtenir une poudre du diamètre moyen souhaité.

Selon un aspect particulier, lors de l'étape E) du procédé tel que défini précédemment, ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) est congelée, lyophilisée puis broyée pour obtenir la poudre souhaitée.

L'invention a aussi pour objet un procédé de préparation d'un extrait glycolique de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, obtenue par le procédé tel que défini précédemment, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :

- Une étape F) au cours de laquelle la poudre de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) ou à l'étape E) du procédé tel que défini précédemment, est dispersée sous agitation dans un mélange eau-glycol à raison de 0,2% massique à 20% massique et plus particulièrement de 0,2% à 10% massique, de biomasse pour 100% massique de dispersion ;

- Une étape G) au cours de laquelle la dispersion obtenue à l'étape F) précédente, est séparée en ses phases non miscibles, pour obtenir l'extrait glycolique attendu.

Comme glycol mis en œuvre dans le procédé tel que défini ci-dessus, il y a notamment le 1,3-propanediol, le butylèneglycol ou 1,4-butanediol, le 1,3-butanediol, le 1,2-butanediol, le 1,2-pentanediol, le 1,5-pentanediol, le 1,2-hexanediol ou le 1,6-hexanediol.

Selon un aspect particulier du procédé tel que défini ci-dessus le glycol utilisé est le 1,3-propanediol.

Lors de l'étape F) du procédé tel que défini précédemment, la proportion massique du glycol dans le mélange eau-glycol mis en œuvre dans le procédé tel que défini ci-dessus, est généralement supérieure ou égale à 10% massique et inférieure ou égale à 100% massique, plus particulièrement supérieure ou égale à 25% massique et inférieure ou égale à 75% massique. Si nécessaire ou si désiré après avoir maintenu l'agitation du mélange pendant une à deux heures, ce ratio massique est ajusté par ajout d'eau en fin de cette étape F) de façon à ce que la teneur massique en 1,3-propanediol soit entre 40% et 60%.

L'invention a aussi pour objet un extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu par le procédé comprenant les étapes successives suivantes :

- Une étape A) de prélèvement du milieu naturel, d'un échantillon desdites macroalgues hôte ;

- Une étape B) de préparation d'un échantillon unialgal de cellules des dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, par leur séparation d'avec leurs dites macroalgues hôtes, à partir de l'échantillon prélevé à l'étape A) précédente ;

- Une étape C) de mise en culture dudit échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu à l'étape B), dans l'eau de mer additionnée d'au moins une source d'azote, pour obtenir une suspension aqueuse de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille ;

- Une étape D) de récolte de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille à partir de ladite suspension aqueuse obtenue à l'issue de l'étape C) ;

- Optionnellement une étape E) de préparation d'une poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) ;

- Une étape F) au cours de laquelle ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) ou à l'étape E), est dispersée sous agitation dans un mélange eau-glycol à raison de 0,2% massique à 20% massique et plus particulièrement de 0,2% à 10% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ;

- Une étape G) au cours de laquelle la dispersion obtenue à l'étape F) précédente, est séparée en ses phases non miscibles, pour obtenir l'extrait glycolique attendu.

Selon un aspect particulier de la présente invention, celle-ci a pour objet l'extrait glycolique tel que défini ci-dessus, dans lequel le glycol utilisé est le 1,3-propanediol.

5 Selon un autre aspect particulier de la présente invention, celle-ci a pour objet l'extrait glycolique tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que la poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille mise en œuvre à l'étape E) du procédé pour sa préparation, est une poudre de ladite biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix*.

10 Selon un aspect plus particulier de la présente invention, celle-ci a pour objet l'extrait glycolique tel que défini ci-dessus, caractérisée en ce que lors de l'étape F) du procédé pour sa préparation :

- le mélange eau-glycol mis en œuvre est un mélange eau-1,3-propanediol dont la teneur massique en 1,3-propanediol (ratio masse 1,3-propanediol sur masse totale 1,3-propanediol et eau) est comprise entre 25% et 100%,
15

- la dispersion dans ledit mélange eau-glycol, est effectuée à raison de 0,2% à 10% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ; et

- l'agitation est maintenue pendant une à deux heures, puis si nécessaire ou si désiré,

20 - la teneur massique en 1,3-propanediol est ajustée entre 40% et 60%.

L'invention a aussi pour objet, l'utilisation de l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille tel que défini ci-dessus, comme actif cosmétique anti-âge, et plus particulièrement l'utilisation telle que définie ci-dessus dans laquelle l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de
25 macroalgues pluricellulaires de petite taille est l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix*, tel que défini précédemment.

L'invention aussi pour objet une composition cosmétique (C1), à usage topique
30 comprenant au moins un excipient cosmétiquement acceptable et une quantité efficace de l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille tel que défini ci-dessus, et plus particulièrement une composition (C1) telle que définie ci-dessus dans laquelle l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille, est l'extrait glycolique d'une
35 biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix* tel que défini précédemment.

Dans le procédé tel que défini ci-dessus, ladite composition (C1) est généralement étalée sur la surface de la peau à traiter, puis la peau est massée quelques instants.

L'expression "à usage topique" utilisée dans la définition de la composition (C1) objet de la présente invention, signifie que ladite composition (C1) est mise en œuvre par application sur la peau, qu'il s'agisse d'une application directe ou d'une application indirecte lorsque ladite composition (C1) selon l'invention est imprégnée sur un support destiné à être mis en contact avec la peau (papier, lingette, textile, dispositif transdermique, etc...).

L'expression « cosmétiquement acceptable » utilisée dans la définition de la composition (C1) objet de la présente invention, signifie selon la directive du Conseil de la Communauté Economique Européenne N°76/768/CEE du 27 juillet 1976 modifiée par la directive N°93/35/CEE du 14 juin 1993, qu'elle comprend toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties du corps humain (épiderme, système pileux et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux) ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue, exclusivement et principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect et/ou d'en corriger les odeurs corporelles et/ou de les protéger ou de les maintenir en bon état.

Par quantité efficace de l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille tel que défini précédemment, on entend pour 100% de la masse de ladite composition (C1), la quantité comprise entre 0,1% et 5% massique, plus particulièrement entre 0,1% et 3% massique, et encore plus particulièrement entre 0,5% et 2 % massique dudit extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille.

La composition (C1) objet de la présente invention, se présente généralement sous forme d'une solution aqueuse ou hydro-alcoolique ou hydro-glycolique, sous forme d'une suspension, d'une émulsion, d'une microémulsion ou d'une nano-émulsion, qu'elles soient de type eau-dans-huile, huile-dans-eau, eau-dans-huile-dans-eau ou huile-dans-eau-dans-huile, ou sous forme d'une poudre.

La composition (C1) objet de la présente invention, peut être conditionnée dans un flacon, dans un dispositif de type "flacon" pompe, sous forme pressurisées dans un dispositif aérosol, dans un dispositif muni d'une paroi ajourée comme une grille ou dans un dispositif muni d'un applicateur à billes (dit "roll-on").

De façon générale, l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille objet de la présente invention, est associé à des additifs chimiques habituellement mis en œuvre dans le domaine des formulations à usage topique, comme les tensioactifs moussants et/ou détergents, les tensioactifs épaississants et/ou gélifiants, les agents épaississants et/ou gélifiants, les agents

stabilisants, les composés filmogènes, les solvants et co-solvants, les agents hydrotropes, les eaux thermales ou minérales les agents plastifiants, les agents émulsionnants et co-émulsionnants, les agents opacifiants, les agents nacrants, les agents surgraissants, les séquestrants, les agents chélatants, les huiles, les cires, les agents antioxydants, les parfums, les huiles essentielles, les agents conservateurs, les agents conditionneurs, les agents déodorants, les agents blanchissants destinés à la décoloration des poils et de la peau, les principes actifs destinés à apporter une action traitante et/ou protectrice vis à vis de la peau ou des cheveux, les filtres solaires, les charges minérales ou les pigments, les particules procurant un effet visuel ou destinées à l'encapsulation d'actifs, les particules exfoliantes, les agents de texture, les azurants optiques, les répulsifs pour les insectes.

Comme exemples de tensioactifs moussants et/ou détergents que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les tensioactifs moussants et/ou détergents anioniques, cationiques, amphotères ou non ioniques.

Parmi les tensioactifs anioniques moussants et/ou détergents, on peut citer les sels de métaux alcalins, de métaux alcalino-terreux, d'ammonium, d'amines, ou d'aminoalcools d'alkylether sulfates, d'alkyl sulfates, d'alkylamidoéther sulfates, d'alkylaryl polyéthersulfates, de monoglycérides sulfates, d'alpha-oléfinesulfonates, de paraffines sulfonates, d'alkyl phosphates, d'alkyléther phosphates, d'alkyl sulfonates, d'alkylamide sulfonates, d'alkylaryl sulfonates, d'alkyl carboxylates, d'alkyl sulfosuccinates, d'alkyléther sulfosuccinates, d'alkylamide sulfosuccinates, d'alkyl sulfoacétates, d'alkyl sarcosinates, d'acyl iséthionates, de N-acyl taurates, d'acyl lactylates, de dérivés N-acylés d'acides aminés, de dérivés N-acylés de peptides, de dérivés N-acylés de protéines, de dérivés N-acylés d'acides gras.

Parmi les tensioactifs amphotères moussants et/ou détergents, on peut citer les alkylbétaines, les alkylamidobétaines, les sultaïnes, les alkylamidoalkylsulfobétaines, les dérivés d'imidazolines, les phosphobétaines, les amphopolyacétates et les amphopropionates.

Parmi les tensioactifs cationiques moussants et/ou détergents, on peut citer particulièrement les dérivés d'ammoniums quaternaires.

Parmi les tensioactifs non ioniques moussants et/ou détergents, on peut citer plus particulièrement les alkylpolyglycosides comportant un radical aliphatique, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, et comportant de 8 à 16 atomes de carbone, comme l'octyl polyglucoside, le décyl polyglucoside, l'undécylényl polyglucoside, le dodécyl polyglucoside, le tétradécyl polyglucoside, l'hexadécyl polyglucoside, le 1-12 dodécanediyl polyglucoside ; les dérivés d'huile de ricin hydrogénée éthoxylés comme le produit commercialisé sous le nom INCI « Peg-40 hydrogenated castor oil » ; les

polysorbates comme le Polysorbate 20, le Polysorbate 40, le Polysorbate 60, le Polysorbate 70, le Polysorbate 80, le Polysorbate 85 ; les amides de coprah ; les N-alkylamines.

Comme exemples de tensioactifs épaississants et/ou gélifiants que l'on peut
5 associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les esters gras d'alkylpolyglycosides éventuellement alcoylés, comme les esters de méthylpolyglucoside éthoxylés tels que le PEG 120 méthyl glucose trioléate et le PEG 120 méthyl glucose dioléate commercialisés respectivement sous les appellations GLUCAMATE™ LT et
10 GLUMATE™ DOE120 ; les esters gras alcoylés tels que le PEG 150 pentaérythryl tétrastéarate commercialisé sous l'appellation CROTHIX™ DS53, le PEG 55 propylène glycol oléate commercialisé sous l'appellation ANTIL™ 141 ; les carbamates de polyalkylène glycols à chaînes grasses comme le PPG-14 laureth isophoryl dicarbamate commercialisé sous l'appellation ELFACOS™ T211, le PPG-14 palmeth-60 hexyl
15 dicarbamate commercialisé sous l'appellation ELFACOS™ GT2125.

Comme exemples d'agents épaississants et/ou gélifiants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les polymères de type polyélectrolytes, linéaires ou branchés ou réticulés, comme l'homopolymère de l'acide
20 acrylique partiellement ou totalement salifié, l'homopolymère de l'acide méthacrylique partiellement ou totalement salifié, l'homopolymère de l'acide 2-méthyl-[(1-oxo-2-propényl)amino]-1-propanesulfonique (AMPS) partiellement ou totalement salifié, les copolymères de l'acide acrylique et de l'AMPS, les copolymères de l'acrylamide et de l'AMPS, les copolymères de la vinylpyrrolidone et de l'AMPS, les copolymères de l'AMPS
25 et de l'acrylate de (2-hydroxyéthyle), les copolymères de l'AMPS et du méthacrylate de (2-hydroxyéthyle), les copolymères de l'AMPS et de l'hydroxyéthylacrylamide, les copolymères de l'AMPS et du N,N-diméthyl acrylamide, les copolymères de l'AMPS et du tris(hydroxy- methyl)acrylamido methane (THAM), les copolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique et de l'acrylate de (2-hydroxy éthyle), les copolymères de l'acide acrylique
30 ou méthacrylique et du méthacrylate de (2-hydroxy éthyle), les copolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique et de l'hydroxyéthylacrylamide, les copolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique et du THAM, les copolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique et du N,N-diméthyl acrylamide, les terpolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique, de l'AMPS et de l'acrylate de (2-hydroxy éthyle), les terpolymères de
35 l'acide acrylique ou méthacrylique, de l'AMPS et du méthacrylate de (2-hydroxy éthyle), les terpolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique, de l'AMPS et du THAM, les terpolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique, de l'AMPS et du N,N-diméthyl

acrylamide, les terpolymères de l'acide acrylique ou méthacrylique, de l'AMPS et de l'acrylamide, les copolymères de l'acide acrylique ou de l'acide méthacrylique et d'acrylates d'alkyle dont la chaîne carbonée comprend entre quatre et trente atomes de carbone et plus particulièrement entre dix et trente atomes de carbone, les copolymères de l'AMPS et d'acrylates d'alkyle dont la chaîne carbonée comprend entre quatre et trente atomes de carbone et plus particulièrement entre dix et trente atomes de carbone, les terpolymère linéaire, branché ou réticulé d'au moins un monomère possédant une fonction acide fort, libre, partiellement salifiée ou totalement salifiée, avec au moins un monomère neutre, et au moins un monomère de formule (VIII) :



dans laquelle R'_3 représente un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, R'_4 représente un radical alkyle linéaire ou ramifié comportant de huit à trente atomes de carbone et n représente un nombre supérieur ou égal à un et inférieur ou égal à cinquante.

Les polymères de type polyélectrolytes, linéaires ou branchés ou réticulés que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), peuvent se présenter sous la forme d'une solution, d'une suspension aqueuse, d'une émulsion eau-dans-huile, d'une émulsion huile-dans-eau, d'une poudre. Les polymères de type polyélectrolytes, linéaires ou branchés ou réticulés que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), peuvent être sélectionnés parmi les produits commercialisés sous les appellations SIMULGEL™ EG, SIMULGEL™ EPG, SEPIGEL™ 305, SIMULGEL™ 600, SIMULGEL™ NS, SIMULGEL™ INS 100, SIMULGEL™ FL, SIMULGEL™ A, SIMULGEL™ SMS 88, SEPI NOV™ EMT 10, SEPI PLUS™ 400, SEPI PLUS™ 265, SEPI PLUS™ S, SEPI MAX™ Zen, ARISTOFLEX™ AVC, ARISTOFLEX™ AVS, NOVEMER™ EC-1, NOVEMER™ EC 2, ARISTOFLEX™ HMB, COSMEDIA™ SP, FLOCARE™ ET 25, FLOCARE™ ET 75, FLOCARE™ ET 26, FLOCARE™ ET 30, FLOCARE™ ET 58, FLOCARE™ PSD 30, VISCOLAM™ AT 64, VISCOLAM™ AT 100.

Comme exemples d'agents épaississants et/ou gélifiants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les polysaccharides constitués uniquement d'oses, comme les glucanes ou homopolymères du glucose, les glucomannoglucanes, les xyloglycanes, les galactomannanes dont le degré de substitution (DS) des unités de D-galactose sur la chaîne principale de D-mannose est compris entre 0 et 1, et plus particulièrement entre 1 et 0,25, comme les galactomannanes provenant de la gomme de cassia (DS = 1/5), de la gomme de caroube

(DS = 1/4), de la gomme de tara (DS = 1/3), de la gomme de guar (DS = 1/2), de la gomme de fenugrec (DS = 1).

Comme exemples d'agents épaississants et/ou gélifiants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les polysaccharides constitués de dérivés d'oses, comme les galactanes sulfatés et plus particulièrement les carraghénanes et l'agar, les uronanes et plus particulièrement les algines, les alginates et les pectines, les hétéropolymères d'oses et d'acides uroniques et plus particulièrement la gomme xanthane, la gomme gellane, les exsudats de gomme de arabique et de gomme de karaya, les glucosaminoglycanes.

Comme exemples d'agents épaississants et/ou gélifiants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer la cellulose, les dérivés de cellulose comme la méthyl-cellulose, l'éthyl-cellulose, l'hydroxypropyl cellulose, les silicates, l'amidon, les dérivés hydrophiles de l'amidon, les polyuréthanes.

Comme exemples d'agents stabilisants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les cires microcristallines, et plus particulièrement l'ozokérite, les sels minéraux tels que le chlorure de sodium ou le chlorure de magnésium, les polymères siliconés tels que les copolymères polysiloxane polyalkyl polyéther.

Comme exemples de solvants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer l'eau, les solvants organiques comme le glycérol, le diglycérol, les oligomères du glycérol, l'éthylène glycol, le propylène glycol, le butylène glycol, le 1,3-propanediol, le 1,2-propanediol, l'hexylène glycol, le diéthylène glycol, le xylitol, l'érythritol, le sorbitol, les alcools hydrosolubles tels que l'éthanol, l'isopropanol ou le butanol, les mélanges d'eau et desdits solvants organiques.

Comme exemples d'eaux thermales ou minérales que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les eaux thermales ou minérales ayant une minéralisation d'au moins 300 mg/l, en particulier l'eau d'Avene, l'eau de Vittel, les eaux du bassin de Vichy, l'eau d'Uriage, l'eau de la Roche Posay, l'eau de la Bourboule, l'eau d'Enghien-les-bains, l'eau de Saint-Gervais-les bains, l'eau de Nérès-les-bains, l'eau d'Allevard-les-bains, l'eau de Digne, l'eau des Maizieres, l'eau de Neyrac-les-bains, l'eau de Lons le Saunier, l'eau de Rochefort, l'eau de Saint Christau, l'eau des Fumades et l'eau de Tercis-les-bains.

Comme exemples d'agents hydrotropes que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les xylènes sulfonates, les cumènes sulfonates, l'hexyl polyglucoside, le (2-éthyl hexyl) polyglucoside ou le n-heptyl polyglucoside.

5 Comme exemples d'agents tensioactifs émulsionnants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les tensioactifs non ioniques, des tensioactifs anioniques, des tensioactifs cationiques.

10 Comme exemples de tensioactifs non-ioniques émulsionnants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les esters d'acides gras et de sorbitol, comme les produits commercialisés sous les appellations MONTANE™40, MONTANE™60, MONTANE™70, MONTANE™80 et MONTANE™85 ; les compositions comprenant du stéarate de glycérol et l'acide stéarique éthoxylé entre
15 cinq moles et cent cinquante moles d'oxyde d'éthylène, comme la composition comprenant de l'acide stéarique éthoxylé à cent trente-cinq moles d'oxyde d'éthylène et du stéarate de glycérol commercialisée sous l'appellation SIMULSOL™ 165 ; les esters de mannitan ; les esters de mannitan éthoxylés ; les esters de sucrose ; les esters de méthyl glucoside ; les alkyl polyglycosides comportant un radical aliphatique, linéaire ou
20 ramifié, saturé ou insaturé, et comportant de quatorze à trente-six atomes de carbone, comme le tétradécyl polyglucoside, l'hexadécyl polyglucoside, l'octadécyl polyglucoside, l'hexadécyl polyxyloside, l'octadécyl polyxyloside, l'eicosyl polyglucoside, le dodécosyl polyglucoside, le (2-octyl dodécyl) polyxyloside, le (12-hydroxy stéaryl) polyglucoside ; les compositions d'alcools gras linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés, et comportant de
25 quatorze à trente-six atomes de carbone, et d'alkyl polyglycosides tels que décrits précédemment, par exemple les compositions commercialisées sous les noms de marque MONTANOV™68, MONTANOV™14, MONTANOV™82, MONTANOV™202, MONTANOV™S, MONTANOV™WO18, MONTANOV™L, FLUIDANOV™20X et EASYNOV™.

30 Comme exemples de tensioactifs anioniques que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer le glycéryl stéarate citrate, le cétéarylsulfate, les savons comme le stéarate de sodium ou le stéarate de triéthanolammonium, les dérivés N-acylés d'acides aminés salifiés comme par exemple le
35 stéaroyl glutamate.

Comme exemples de tensioactifs cationiques émulsionnants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues

pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les aminoxydes, le quaternium-82 et les tensioactifs décrits dans la demande de brevet WO 96/00719 et principalement ceux dont la chaîne grasse comprend au moins seize atomes de carbone.

Comme exemples d'agents opacifiants et/ou nacrants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer le palmitate de sodium, le stéarate de sodium, l'hydroxystéarate de sodium, le palmitate de magnésium, le stéarate de magnésium, l'hydroxystéarate de magnésium, le monostéarate d'éthylène glycol, le distéarate d'éthylène glycol, le monostéarate de polyéthylène glycol, le distéarate de polyéthylène glycol, les alcools gras comportant de douze à vingt-deux atomes de carbone.

Comme exemples d'agents de texture que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer des dérivés N-acylés d'acides aminés, comme la lauroyl lysine commercialisée sous l'appellation AMINOHOPE™LL, l'octenyl starch succinate commercialisé sous l'appellation DRYFLO™, le myristyl polyglucoside commercialisé sous l'appellation MONTANOV™ 14, les fibres de cellulose, les fibres de coton, les fibres de chitosane, le talc, la séricite, le mica.

Comme exemples d'agents déodorants que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les silicates alcalins, les sels de zinc comme le sulfate de zinc, le gluconate de zinc, le chlorure de zinc, le lactate de zinc ; les sels d'ammonium quaternaires comme les sels de cétyltriméthylammonium, les sels de cétylpyridinium ; les dérivés du glycérol comme le caprate de glycérol , le caprylate de glycérol, le caprate de polyglycérol ; le 1,2-décanediol ; le 1,3-propanediol ; l'acide salicylique ; le bicarbonate de sodium ; les cyclodextrines ; les zéolithes métalliques ; le TRICLOSAN™ ; le bromohydrate d'aluminium, les chlorhydrates d'aluminium, le chlorure d'aluminium, le sulfate d'aluminium, les chlorhydrates d'aluminium et de zirconium, le trichlorhydrate d'aluminium et de zirconium, le tétrachlorhydrate d'aluminium et de zirconium, le pentachlorhydrate d'aluminium et de zirconium, l'octochlorhydrate d'aluminium et de zirconium, le sulfate d'aluminium, le lactate de sodium et d'aluminium, les complexes de chlorhydrate d'aluminium et de glycol, comme le complexe de chlorhydrate d'aluminium et de propylène glycol, le complexe de dichlorhydrate d'aluminium et de propylène glycol, le complexe de sesquichlorhydrate d'aluminium et de propylène glycol, le complexe de chlorhydrate d'aluminium et de polyéthylène glycol, le complexe de dichlorhydrate d'aluminium et de polyéthylène glycol, le complexe de sesquichlorhydrate d'aluminium et de polyéthylène glycol.

Comme exemples d'huiles que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les huiles minérales telles que l'huile de paraffine, l'huile de vaseline, les isoparaffines ou les huiles blanches minérales ; les huiles d'origine animale, telles que le squalène ou le squalane ; les huiles végétales, telles que le phytosqualane, l'huile d'amandes douces, l'huile de coprah, l'huile de ricin, l'huile de jojoba, l'huile d'olive, l'huile de colza, l'huile d'arachide, l'huile de tournesol, l'huile de germes de blé, l'huile de germes de maïs, l'huile de soja, l'huile de coton, l'huile de luzerne, l'huile de pavot, l'huile de potiron, l'huile d'onagre, l'huile de millet, l'huile d'orge, l'huile de seigle, l'huile de carthame, l'huile de bancoulier, l'huile de passiflore, l'huile de noisette, l'huile de palme, le beurre de karité, l'huile de noyau d'abricot, l'huile de graines de coriandre, l'huile de faines, l'huile de calophyllum, l'huile de sysymbrium, l'huile d'avocat, l'huile de calendula, les huiles issues de fleurs ou de légumes les huiles végétales éthoxylées ; les huiles synthétiques comme les esters d'acides gras tels que le myristate de butyle, le myristate de propyle, le myristate d'isopropyle, le myristate de cétyle, le palmitate d'isopropyle, le palmitate d'octyle, le stéarate de butyle, le stéarate d'hexadécyle, le stéarate d'isopropyle, le stéarate d'octyle, le stéarate d'isocétyle, l'oléate dodécyle, le laurate d'hexyle, le dicaprylate de propylèneglycol, les esters dérivés d'acide lanolique, tels que le lanolate d'isopropyle, le lanolate d'isocétyle, les monoglycérides, diglycérides et triglycérides d'acides gras comme le triheptanoate de glycérol, les alkylbenzoates, les huiles hydrogénées, les poly(alpha-oléfine), les polyoléfines comme le poly(isobutane), les isoalcanes de synthèse comme l'isohexadécane, l'isododécane, les huiles perfluorées ; les huiles de silicone comme les diméthylpolysiloxanes, les méthylphényl - polysiloxanes, les silicones modifiées par des amines, les silicones modifiés par des acides gras, les silicones modifiés par des alcools, les silicones modifiés par des alcools et des acides gras, des silicones modifiés par des groupements polyéther, des silicones époxy modifiés, des silicones modifiées par des groupements fluorés, des silicones cycliques et des silicones modifiées par des groupements alkyles. Par « huiles », on entend dans la présente demande les composés et/ou les mélanges de composés insolubles dans l'eau, se présentant sous un aspect liquide à une température de 25°C.

Comme exemples de cires que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer la cire d'abeille, la cire de carnauba, la cire de candelilla, la cire d'ouricoury, la cire du Japon, la cire de fibre de liège, la cire de canne à sucre, les cires de paraffines, les cires de lignite, les cires microcristallines, la cire de lanoline ; l'ozokérite ; la cire de polyéthylène ; les cires de silicone ; les cires végétales ; les alcools gras et les acides gras solides à température ambiante ; les glycérides solides à

température ambiante. Par « cires », on entend dans la présente demande les composés et/ou les mélanges de composés insolubles dans l'eau, se présentant sous un aspect solide à une température supérieure ou égale à 45°C.

Comme exemples de principes actifs que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unialgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les vitamines et leurs dérivés, notamment leurs esters, tels que le rétinol (vitamine A) et ses esters (palmitate de rétinyle par exemple), l'acide ascorbique (vitamine C) et ses esters, les dérivés de sucre de l'acide ascorbique (comme l'ascorbyl glucoside), le tocophérol (vitamine E) et ses esters (comme l'acétate de tocophérol), les vitamines B3 ou B10 (niacinamide et ses dérivés); les composés montrant une action éclaircissante ou dépigmentante de la peau comme le ω -undecylénol phénylalanine commercialisé sous l'appellation SEPIWHITE™MSH, le SEPICALM™VG, le mono ester et/ou le diester de glycérol du ω -undecylénol phénylalanine, les ω -undecylénol dipeptides, l'arbutine, l'acide kojique, l'hydroquinone, la composition commercialisée sous le nom de marque Seashine™, la culture de cellules de *Crithmum maritimum* commercialisée sous le nom de marque Celtosome™ *Crithmum maritimum*; les composés montrant une action apaisante notamment le SEPICALM™ S, l'allantoïne et le bisabolol; les agents anti-inflammatoires; les composés montrant une action hydratante comme l'urée, les hydroxyurées, le glycérol, les polyglycérols, le glycérolglucoside, le diglycérolglucoside, les polyglycérylglucosides, le xylitylglucoside, la composition commercialisée sous le nom de marque AQUAXYL™, la composition commercialisés sous le nom de marque PRO-XYLANE™, les dérivés de C-glycosides et plus particulièrement les dérivés de C-glucosides, de C-xylosides; les extraits d'algues *Codium Tomentosum* comme ceux compris dans la composition commercialisée sous le nom de marque Codiavelane™, les extraits de planctons comme ceux compris dans la composition commercialisée sous le nom de marque Bioplasma™(nom INCI; Aqua-Butylene glycol - Plankton extract - Arginine ferrulate), les extraits végétaux riches en polyphénols comme les extraits de raisin, les extraits de pin, les extraits de vin, les extraits d'olives; les composés montrant une action amincissante ou lipolytique comme la caféine ou ses dérivés, l'ADIPOSLIM™, l'ADIPOLESS™, la fucoxanthine, la composition commercialisée sous le nom de marque Rhodysterol™; les protéines N-acylées; les peptides N-acylés comme le MATRIXIL™; les acides aminés N-acylés; les hydrolysats partiels de protéines N-acylés; les acides aminés; les peptides; les hydrolysats totaux de protéines; les extraits de soja, par exemple la Raffermin™; les extraits de blé par exemple la TENSINE™ ou la GLIADINE™; les extraits végétaux, tels que les extraits végétaux riches en tanins, les extraits végétaux riches en isoflavones ou les extraits végétaux riches en terpènes; les extraits d'algues d'eau douce ou marines; les extraits

de plantes marines ; les extraits marins en général comme les coraux ; les cires essentielles ; les extraits bactériens ; les céramides ; les phospholipides ; les composés montrant une action antimicrobienne ou une action purifiante, comme le LIPACIDE™ C8G, le LIPACIDE™ UG, le SEPICONTROL™ A5, le FLUIDIPURE™8G ;
5 l'OCTOPIROX™ ou le SENSIVA™ SC50 ; les composés montrant une propriété énergisante ou stimulante comme le PHYSIOGENYL™, le panthénol et ses dérivés comme le SEPICAP™ MP ; les actifs anti-âge comme le SEPILIFT™ DPHP, le LIPACIDE™ PVB, le SEPIVINOL™, le SEPIVITAL™, le MANOLIVA™, le PHYTO-AGE™, le TIMECODE™ ; le SURVICODE™ ; les actifs anti-photo vieillissement ; les
10 actifs protecteurs de l'intégrité de la jonction dermo-épidermique ; les actifs augmentant la synthèse des composants de la matrice extracellulaire comme le collagène, les élastines, les glycosaminoglycanes ; les actifs agissant favorablement sur la communication cellulaire chimique comme les cytokines ou physiques comme les intégrines ; les actifs créant une sensation de « chauffe » sur la peau comme les activateurs de la
15 microcirculation cutanée (comme les dérivés de l'acide nicotinique) ou des produits créant une sensation de « fraîcheur » sur la peau (comme le menthol et des dérivés) ; les actifs améliorant la microcirculation cutanée, par exemple les veinotoniques ; les actifs drainants ; les actifs à visée décongestionnante comme les extraits de ginko biloba, de lierre, de marron d'inde, de bambou, de ruscus, de petit houx, de *centalla asiatica*, de
20 fucus, de romarin, de saule ; les agents de bronzage ou de brunissement de la peau, par exemple la dihydroxyacétone (DHA), l'érythrose, l'aldéhyde mésotartrique, le glutaraldéhyde, le glycéraldéhyde, l'alloxane, la ninhydrine, les extraits végétaux par exemple les extraits de bois rouges du genre *Pterocarpus* et du genre *Baphia* comme le *Pterocarpus santalinus*, le *Pterocarpus osun*, le *Pterocarpus soyauxii*, le *Pterocarpus*
25 *erinaceus*, le *Pterocarpus indicus* ou le *Baphia nitida* comme ceux décrits dans la demande de brevet Européen EP 0 971 683 ; les agents connus pour leur action de facilitation et/ou d'accélération du bronzage et/ou du brunissement de la peau humaine, et/ou pour leur action de coloration de la peau humaine, par exemple les caraténoïdes (et plus particulièrement le beta carotène et le gamma carotène), le produit commercialisé
30 sous le nom de marque « Carrot oil » (Nom INCI : *Daucus Carota*, *helianthus annuus* Sunflower oil) par la société Provital, qui contient des caroténoïdes, de la vitamine E et de la vitamine K ; la tyrosine et/ou ses dérivés, connus pour leur effet sur l'accélération du bronzage de la peau humaine en association avec une exposition aux rayonnements ultra-violets, par exemple le produit commercialisé sous le nom de marque « SunTan
35 Accelerator™ » par la société Provital qui contient de la tyrosine et des riboflavines (vitamine B), le complexe de tyrosine et de tyrosinase commercialisé sous le nom de marque « Zymo Tan Complex » par la société Zymo Line, le produit commercialisé sous

le nom de marque MelanoBronze™ (nom INCI : Acetyl Tyrosine, Monk's pepper extract (Vitex Agnus-castus)) par la société Mibelle qui contient de l'acétyl tyrosine, produit commercialisé sous le nom de marque Unipertan VEG-24/242/2002 (nom INCI : butylene glycol and Acetyl Tyrosine and hydrolyzed vegetable protein and Adenosine triphosphate)

5 par la société UNIPEX, le produit commercialisé sous le nom de marque « Try-Excell™ » (nom INCI : Oleoyl Tyrosine and Luffa Cylindrica (Seed) Oil and Oleic acid) par la société Sederma qui contient des extraits de pépins de courge (ou huile de Loofah), le produit commercialisé sous le nom de marque « Actibronze™ » (nom INCI : hydrolyzed wheat protein and acetyl tyrosine and copper gluconate) par la société Alban Muller, le produit

10 commercialisé sous le nom de marque Tyrostan™ (nom INCI : potassium caproyl tyrosine) par la société Synerga, le produit commercialisé sous le nom de marque Tyrosinol (nom INCI : Sorbitan Isostearate, glyceryl oleate, caproyl Tyrosine) par la société Synerga, le produit commercialisé sous le nom de marque InstaBronze™ (nom INCI : Dihydroxyacetone and acetyl tyrosine and copper gluconate) commercialisé par la

15 société Alban Muller, le produit commercialisé sous le nom de marque Tyrosilane (nom INCI : méthylsilanol and acétyl tyrosine) par la société Exymol ; les peptides connus pour leur effet d'activation de la mélanogénèse par exemple le produit commercialisé sous le nom de marque Bronzing SF Peptide powder (nom INCI : Dextran and Octapeptide-5) par la société Infnitec Activos, le produit commercialisé sous le nom de marque Melitane

20 (nom INCI : Glycerin and Aqua and Dextran and Acetyl hexapeptide-1) comprenant l'acétyl hexapeptide-1 connu pour son action agoniste de l'alpha-MSH, le produit commercialisé sous le nom de marque Melatimes Solutions™ (nom INCI : Butylene glycol , Palmitoyl Tripeptide-40) par la société LIPOTEC, les sucres et les dérivés de sucres par exemple le produit commercialisé sous le nom de marque Tanositol™ (nom INCI :

25 inositol) par la société Provital, le produit commercialisé sous le nom de marque Thalitan™ (ou Phycosaccharide™ AG) par la société CODIF international (nom INCI : Aqua and hydrolyzed algin (Laminaria Digitata) and magnesium sulfate and manganese sulfate) contenant un oligosaccharide d'origine marine (acide guluronique et acide mannuronique chélatés avec les ions magnésium et manganèse), le produit

30 commercialisé sous le nom de marque Melactiva™ (nom INCI : Maltodextrin, Mucuna Pruriens Seed extract) par la société Alban Muller, les composés riches en flavonoïdes par exemple le produit commercialisé sous le nom de marque « Biotanning » (nom INCI : Hydrolyzed citrus Aurantium dulcis fruit extract) par la société Silab et connu pour être riche en flavonoides de citron (de type hespéridines) ; les agents destinés au traitement

35 des cheveux et/ou des poils, par exemple des agents protecteurs des mélanocytes du follicule pileux, destinés à protéger lesdits mélanocytes contre les agents cytotoxiques responsables de la sénescence et/ou de l'apoptose desdits mélanocytes, tels que les

agents mimétiques de l'activité de la DOPAchrome tautomérase choisis parmi ceux décrits dans la demande de brevet européen publiée sous le numéro EP 1 515 688 A2, les molécules synthétiques mimétiques de la SOD par exemples les complexes de manganèse, des composés antioxydants par exemple les dérivés de cyclodextrine, des
5 composés silicés dérivés d'acide ascorbique, de la pyrrolidone carboxylate de lysine ou d'arginine, , des associations de mono- et diester d'acide cinnamique et de vitamine C, et plus généralement ceux cités dans la demande de brevet européen publiée sous le numéro EP 1 515 688 A2.

Comme exemples d'agents antioxydants que l'on peut associer à l'extrait
10 glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer l'EDTA et ses sels, l'acide citrique, l'acide tartarique, l'acide oxalique, le BHA (butylhydroxyanisole), le BHT (butylhydroxytoluène), les dérivés de tocophérol tels que l'acétate de tocophérol, des mélanges de composés antioxydants tels que la DISSOLVINE™ GL 47S commercialisé
15 par la société Akzo Nobel sous le nom INCI : Tetrasodium Glutamate Diacetate.

Comme exemples de filtres solaires que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer tous ceux figurant dans la directive cosmétique 76/768/CEE modifiée annexe VII.

20 Parmi les filtres organiques solaires que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer la famille des dérivés de l'acide benzoïque comme les acides para-aminobenzoïques (PABA), notamment les esters de monoglycérol de PABA, les esters éthyliques de N,N-propoxy PABA, les esters éthyliques de N,N-diéthoxy PABA,
25 les esters éthyliques de N,N-diméthyl PABA, les esters méthyliques de N,N-diméthyl PABA, les esters butyliques de N,N-diméthyl PABA; la famille des dérivés de l'acide anthranilique comme l'homomenthyl-N-acétyl anthranilate ; la famille des dérivés de l'acide salicylique comme le salicylate d'amyle, le salicylate d'homomenthyle, le salicylate d'éthylhexyle, le salicylate de phényle, le salicylate de benzyle, le salicylate de (p-
30 isopropanol phényle) ; la famille des dérivés de l'acide cinnamique comme le cinnamate d'éthylhexyle, le cinnamate d'éthyl-4-isopropyle, le cinnamate de méthyl-2,5-diisopropyle, le cinnamate de p-méthoxypropyle, le cinnamate de p-méthoxyisopropyle, le cinnamate de p-méthoxyisoamyle, le cinnamate de p-méthoxyoctyle, le cinnamate de (p-méthoxy 2-éthylhexyle), le cinnamate de (p-méthoxy 2-éthoxy éthyle), le cinnamate de (p-méthoxy
35 cyclohexyle), le cinnamate d'éthyl- α -cyano- β -phényle, le cinnamate de (2-éthyl hexyl)- α -cyano- β -phényle, le cinnamate de diparaméthoxy mono-2-éthylhexanoyl de glycéryle ; la famille des dérivés de la benzophénone comme la 2,4-dihydroxy benzophénone, la 2,2'-

dihydroxy 4-méthoxy benzophénone, la 2,2',4,4'-tétrahydroxy benzophénone, la 2-hydroxy 4-méthoxy benzophénone, la 2-hydroxy 4-méthoxy 4'-méthyl benzophénone, la 2-hydroxy 4-méthoxy benzophénone-5-sulfonate, la 4-phényl benzophénone, le (2-éthyl hexyl) 4'-phényl benzophénone-2-carboxylate, la 2-hydroxy 4-(n-octyloxy) benzophénone, la 4-hydroxy 3-carboxy benzophénone ; le 3-(4'-méthyl benzylidène) d,l-camphre, le 3-(benzylidène) d,l-camphre, le benzalkonium méthosulfate camphre ; l'acide urocanique, l'urocanate d'éthyle ; la famille des dérivés de l'acide sulfonique comme l'acide sulfonique 2-phényl benzimidazole-5 et ses sels ; la famille des dérivés de la triazine comme l'hydroxyphényl triazine, l'(éthylhexyloxy) (hydroxyphényl) (4-méthoxy phényl) triazine, le 2,4,6-trianillino-(p-carbo-2'-éthylhexyl-1'-oxy)-1,3,5-triazine, le 4,4-((6-(((1,1-diméthyl éthyl) amino) carbonyl) phenyl) amino)-1,3,5-triazine-2,4-diyl diimino) bis(2-éthyl hexyl) ester de l'acide benzoïque, le 2-phényl-5-méthyl benzoxazole, le 2-(2'-hydroxy 5'-méthyl phényl) benzotriazole, le 2-(2'-hydroxy 5'-t-octyl phényl) benzotriazole, le 2-(2'-hydroxy 5'-méthy phényl) benzotriazole ; la dibenzazine ; le dianisoylméthane, le 4-méthoxy 4"-t-butyl benzoyl méthane ; la 5-(3,3-diméthyl 2-norbornylidène)-3-pentan-2-one ; la famille des dérivés du diphenylacrylate comme le (2-éthyl hexyl) 2-cyano 3,3-diphényl 2-propénoate, l'éthyl-2-cyano 3,3-diphényl 2-propénoate ; la famille des polysiloxanes comme le malonate de benzylidène siloxane.

Parmi les filtres inorganiques solaires, également appelés "écrans minéraux", que l'on peut associer à l'extrait glycolique de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille dans la composition (C1), on peut citer les oxydes de titane, les oxydes de zinc, l'oxyde de cérium, l'oxyde de zirconium, les oxydes de fer jaune, rouge ou noir, les oxydes de chrome. Ces écrans minéraux peuvent être micronisés ou non, avoir subi ou non des traitements de surface et être éventuellement présentés sous formes de pré-dispersions aqueuses ou huileuses.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois la limiter.

Echantillons testés pour montrer l'effet technique

Extrait A : Extrait glycolique (mélange eau-1,3-propanediol 60/40 massique) contenant 4% massique d'un extrait de biomasse lyophilisée de l'algue *Ochlochaete hystrix*, obtenu par le procédé selon l'invention

Efficacité biologique

Choix du modèle et pertinence :

Le modèle choisi pour mettre en évidence l'effet technique de nos produits est un modèle d'étude de l'expression de gènes sur des explants de peau humaine. Les tests dits génomiques et transcriptomiques sont très largement utilisés pour mettre en évidence des bénéfices biologiques.

Protocole :

On prépare des explants de peau humaine abdominale d'environ dix millimètres de diamètre, prélevés d'un donneur caucasien de sexe féminin âgé d'environ cinquante ans. Ils sont mis en survie dans un milieu spécifique BEM (Bio-Ec's™ Explants Medium), à 37°C en atmosphère humide contenant à 5% de dioxyde carbone.

- 5 On ajoute ensuite l'extrait A, à la fois dans le milieu de culture, solubilisé avec 1% d'éthanol et en topique, sur trois explants, vectorisé au sein d'un gel hydro-alcoolique à 2,5% d'éthanol. Les explants ainsi traités sont laissés vingt-quatre heures.

On opère de la même manière sur trois autres explants avec le vecteur seul, c'est-à-dire sans extrait A. (témoin)

- 10 A l'issue de cette période, on extrait les ARN totaux et l'on en détermine leur concentration et leurs niveaux de pureté et d'intégrité avant de leur faire subir une étape d'amplification.

500ng d'ARN sont amplifiés ce qui permet d'obtenir des ARN complémentaires (ARNc), marqués avec un fluorophore.

- 15 750ng de ces ARNc sont hybridés sur des lames humaines HT12v4 comportant des séquences synthétiques d'ADN correspondant à chaque gène humain. L'hybridation du transcriptome avec certaines de ces séquences ADN est ensuite révélée à l'aide d'un scanner de lames et les données analysées à l'aide d'un logiciel adapté. On obtient ainsi des valeurs d'expression relative de certains gènes ($\Delta_{\text{expr.}}$) en comparaison avec les
- 20 témoins.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Gène	Nom complet (en langue anglaise)	($\Delta_{\text{expr.}}$)
CREB1	cAMP responsive element binding protein 1	1,36
CTNNB1	β 1-catenin	1,31
FUT8	Fucosyl transferase 8	1,41
MACF1	Microtubule-actin crosslinking factor	1,34
DST	Dystonin	1,32
MBNL2	Muscleblind-Like Splicing Regulator 2	1,60
LIN7C	lin-7 homolog C, crumbs cell polarity complex component	1,52
G3BP1	GTPase Activating Protein (SH3 Domain) Binding Protein 1	1,32
DEK	DEK (DEK Proto-Oncogene)	1,47
GNA13	Guanine Nucleotide Binding Protein (G Protein), Alpha 13	1,43
BNIP3L	BCL2/Adenovirus E1B 19kDa Interacting Protein 3-Like	1,66
CD164	cluster of differentiation 164	1,60
COPS2	cOP9 signalosome subunit 2	1,72

NOC3L	(Nucleolar complexes associated 3 homolog/FAD24)	1,39
MTHFD2	Methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase (NADP+ Dependent) 2	1,39
SACM1L	SAC1 Suppressor Of Actin Mutations 1-Like	1,41
HECA	Hdc Homolog, Cell Cycle Regulator	1,33
KLF5	Kruppel-like Factor 5	1,51
KFL3	Kruppel-like Factor 3	1,27
ITGA6	Integrin- α 6	1,39
LAMB1	Laminin- β 1	1,36
UGDH	UDP-glucose 6-dehydrogenase	1,40
THBS1	Thrombospondin 1	1,38
LCE3D	Late cornified envelop 3D	0,58
SPRR1B	Small proline-rich protein 1B	0,59
SPRR2A	Small proline-rich protein 2A	0,57
SPRR2B	Small proline-rich protein 2B	0,54
SPRR2C	Small proline-rich protein 2C	0,60
SPRR2G	Small proline-rich protein 2G	0,72
CRCT1	Cysteine-rich C-terminal 1	0,64
DEFB4	Defensin- β 4	0,50
HSPE1	Heat shock 10kDa protein 1	0,77
MKKS	McKusick-Kaufman Syndrome	0,89
GSDMA	Gasdermin A	0,70
MMP9	Matrix metalloproteinase-9	0,61

- Sur deux cent vingt-deux gènes modulés en réponse à l'extrait A, une sur-expression relative a été observée pour quatre-vingt-treize d'entre eux ($\Delta_{\text{expr}} \geq 1,25$) et une sous-expression relative pour cent vingt-neuf d'entre eux ($\Delta_{\text{expr}} \leq 0,80$). Seuls les résultats les plus représentatifs sont indiqués dans le tableau précédent.
- Ces gènes peuvent être regroupés en différents processus et fonctions biologiques, ainsi qu'il l'est indiqué dans le tableau suivant :

Gène	Processus biologique	Action biologique
CREB1, CTNNB1	Régulation de la différenciation épidermique	Inhibition de la différenciation cellulaire et promotion de la prolifération des cellules souches par activation de la voie Wnt
NOC3L	Régulation de la différenciation épidermique	Favorise la prolifération cellulaire
KLF5	Régulation de la différenciation épidermique	Favorise la maintenance état souche des cellules et la migration des kératinocytes
LCE3D, SPRR 1B, 2A, 2B, 2C, 2G, CRCT1	Régulation de la différenciation épidermique	Implication dans la différenciation terminale et la formation de l'enveloppe cornée
DEFB4	Régulation de la différenciation épidermique	Surexprimé lors de la différenciation kératinocytaire
MACF1, DST	Renforcement des liens cellules/matrice	Implication dans le cytosquelette cellulaire et les jonctions d'adhésion
THNS1, ITGA6	Renforcement des liens cellules/matrice	Rôle dans l'adhésion cellule/matrice
UGDH	Renforcement de la matrice extracellulaire dermique	Rôle dans la biosynthèse des glycosaminoglycanes
MMP-9	Renforcement de la matrice extracellulaire dermique	Rôle dans la dégradation de la matrice dermique

L'Extrait A permet ainsi de réguler trois grands processus cutanés :

- La différenciation épidermique, qui est limitée au profit de la prolifération
5 cellulaire et de la protection des cellules souches ;
- Le renforcement des liens cellules matrices, au profit d'une meilleure cohésion
entre les cellules et les matrices ainsi qu'entre les cellules elles-mêmes ;
- Le renforcement de la matrice extracellulaire dermique, qui passe par une
augmentation des composants essentiels à sa structure et aux signalisations cellulaires
10 (CAG) et par une limitation de sa dégradation.

Exemples de formulations cosmétiques contenant l'extrait A

Emulsion Huile-dans-eau dermo-purifiante

	Eau	qsp 100%
5	Glycérine	3%
	Solagum™AX	0,3%
	Montanov™202	2%
	Lanol™ 99	7%
	Cétiol™OE	3%
10	Lanol™P	0,25%
	Sepiplus™400	0,8%
	Euxyl™PE9010	1%
	Sensiva™PA40	0,5%
	Extrait A	1%
15	Acide lactique à 20%	qs pH = 5,5

Emulsion Huile-dans-eau anti-sébum

	Eau	qsp 100%
20	Montanov™202	3%
	Montanov™14	1,5%
	Pelemol™BB	2%
	Beurre de Karité	1,5%
	Phytosqualane	3%
25	Huile de jojoba	3%
	Triglycéride C8-C10	3%
	DUB ISIP	3%
	D,L α-tocophérol	0,1%
	Solagum™Tara	0,6%
30	Extrait A	2%
	Acide sorbique	0,3%
	Soude 48%	0,07%

Sérum apaisant

	Sepimax™Zen	0,5%
	Eau	qsp 100%
5	Butylène glycol	2%
	Aquaxyl™	2%
	Extrait A	1%
	Montanox 20	1%
	Phenoxyethanol & Ethylhexyl Glycerin	0,80%
10	SOLAGUM™AX : Mélange de gomme d'acacia et de gomme de xanthane utilisé comme agent émulsionnant ;	
	MONTANOV™202 (nom INCI : Arachidyl Alcohol & Behenyl Alcohol & Arachidyl Glucoside) : Agent émulsionnant ;	
15	LANOL™ 99 : Isononanoate d'isononyle ;	
	Cétiol™OE (nom INCI : Dicaprylyl ether) : Phase grasse ;	
	LANOL™ P : Glycol palmitate ;	
	SEPIPLUS™400 (nom INCI : Polyacrylate-13 & Polyisobutene & Polysorbate 20) : Agent épaississant polymérique ;	
20	EUXYL™PE9010 (nom INCI : phenoxyethanol and ethylhexylglycerin) : Agent conservateur ;	
	SENSIVA™PA40 (nom INCI : Phenethyl Alcohol (and) Ethylhexylglycerin) / Agent antimicrobien .	
	MONTANOV™14 (nom INCI : Myristyl Alcohol & Myristyl Glucoside) : Agent émulsionnant;	
25	PELEMOL™BB : Behenyl Behenate ;	
	SOLAGUM™Tara : Gomme de Tara utilisée comme agent émulsionnant ;	
	SEPIMAX™Zen (nom INCI : polyacrylate crosspolymer-6) : Agent épaississant, émulsionnant et stabilisant	
30	AQUAXYL™ (nom INCI : Xylitylglucoside and Anhydroxylitol and Xylitol) : Composition hydratante ;	
	MONTANOX™ 20 (nom INCI : Polysorbate 20) : Agent émulsionnant de type huile-dans-eau	

REVENDEICATIONS

1. Procédé d'obtention d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :
- Une étape A) de prélèvement du milieu naturel, d'un échantillon des dites macroalgues hôtes ;
 - Une étape B) de préparation d'un échantillon unialgal de cellules des dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, par leur séparation d'avec leurs dites macroalgues hôtes, à partir de l'échantillon prélevé à l'étape A) précédente ;
 - Une étape C) de mise en culture dudit échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu à l'étape B), dans l'eau de mer additionnée d'au moins une source d'azote, pour obtenir une suspension aqueuse de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille;
 - Une étape D) de récolte de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille à partir de ladite suspension aqueuse obtenue à l'issue de l'étape C).
2. Procédé tel que défini à la revendication 1, caractérisé en ce que les dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, sont des algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix*.
3. Procédé tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que les dites macroalgues hôtes sont des algues rouges issues de la classe de Polypodiopsida, de l'ordre des Osmundales, de la famille des Osmundaceae, du genre *Osmundea* et de l'espèce *Osmundea hybrida*.
4. Procédé tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape E) de préparation d'une poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D).
5. Procédé tel que défini à la revendication 4, caractérisé en ce que, lors de l'étape E), ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille

obtenue à l'étape D) est congelée, lyophilisée puis broyée pour obtenir la poudre souhaitée.

6. Procédé d'obtention préparation d'un extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :

- Une étape F) au cours de laquelle la poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) ou à l'étape E) du procédé tel que défini à l'une quelconques des revendications 1 à 5, est dispersée sous agitation dans un mélange eau-glycol à raison de 0,2% massique à 20% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ;

- Une étape G) au cours de laquelle la dispersion obtenue à l'étape F) précédente, est séparée en ses phases non miscibles, pour obtenir l'extrait glycolique attendu.

7. Procédé tel que défini à la revendication 6, dans lequel le glycol utilisé est le 1,3-propanediol.

8. Procédé tel que défini à la revendication 7, caractérisée en ce que lors de l'étape E) :

- Le mélange eau-glycol mis en œuvre est un mélange eau-1,3-propanediol dont la teneur massique en 1,3-propanediol (ratio masse 1,3-propanediol sur masse totale 1,3-propanediol et eau) est comprise entre 25% et 100%,

- La dispersion dans ledit mélange eau-glycol, est effectuée à raison de 0,2% massique à 10% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ; et

- L'agitation est maintenue pendant une à deux heures, puis si nécessaire ou si désiré,

- La teneur massique en 1,3-propanediol est ajustée entre 40% et 60% par ajout d'eau ;

9. Extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu par le procédé comprenant les étapes successives suivantes :

- Une étape A) de prélèvement du milieu naturel, d'un échantillon desdites macroalgues hôte ;

- Une étape B) de préparation d'un échantillon unialgal de cellules des dites macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes, par leur

séparation d'avec leurs dites macroalgues hôtes, à partir de l'échantillon prélevé à l'étape A précédente ;

- Une étape C) de mise en culture dudit échantillon unialgal de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille et endophytes de macroalgues hôtes obtenu à l'étape B), dans l'eau de mer additionnée d'au moins une source d'azote, pour obtenir une suspension aqueuse de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille;

- Une étape D) de récolte de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille à partir de ladite suspension aqueuse obtenue à l'issue de l'étape C).

- Optionnellement étape E) de préparation d'une poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D).

- Une étape F) au cours de laquelle la poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille obtenue à l'étape D) ou à l'étape E), est dispersée sous agitation dans un mélange eau-glycol à raison de 0,2% massique à 20% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ;

- Une étape G) au cours de laquelle la dispersion obtenue à l'étape F) précédente, est séparée en ses phases non miscibles, pour obtenir l'extrait glycolique attendu.

10. Extrait glycolique tel que défini à la revendication 9, dans lequel le glycol utilisé est le 1,3-propanediol.

11. Extrait glycolique tel que défini à l'un des revendications 9 ou 10, caractérisé en ce que la poudre de ladite biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille mise en œuvre à l'étape E) du procédé pour sa préparation, est une poudre de ladite biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix*.

12. Extrait glycolique tel que défini à la revendication 11, caractérisée en ce que lors de l'étape F) du procédé pour sa préparation :

- le mélange eau-glycol mis en œuvre est un mélange eau-1,3-propanediol dont la teneur massique en 1,3-propanediol (ratio masse 1,3-propanediol sur masse totale 1,3-propanediol et eau) est comprise entre 25% et 100%,

- la dispersion dans ledit mélange eau-glycol, est effectuée à raison de 0,2% massique à 10% massique de biomasse pour 100% massique de dispersion ; et

- l'agitation est maintenue pendant une à deux heures, puis si nécessaire ou si désiré,

- la teneur massique en 1,3-propanediol est ajustée entre 40% et 60%.

5 13. Utilisation de l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille tel que défini à l'une quelconques des revendications 9 à 12, comme actif cosmétique anti-âge

10 14. Utilisation telle que définie à la revendication 13, dans laquelle l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille est l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix* tel que défini précédemment.

15 15. Composition cosmétique (C1), à usage topique comprenant au moins un excipient cosmétiquement acceptable et une quantité efficace de l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille tel que défini à l'une quelconque des revendications 9 à 12.

20 16. Composition telle que définie à la revendication 15, dans laquelle l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules de macroalgues pluricellulaires de petite taille, l'extrait glycolique d'une biomasse unalgale de cellules d'algues vertes issues de la classe des Ulvophyceae, de l'ordre des Ulvales, de la famille des Ulvellaceae, du genre *Ochlochaete* et de l'espèce *Ochlochaete hystrix* tel que défini précédemment.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2017/051920

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A01G33/00 A01H13/00 A61K8/97 A61K8/9722 A61K8/9706
ADD.

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)
A01G A01H C12M A61K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RUTH NIELSEN: "VARIATION IN OCHLOCHAETE HYSTRIX (CHAETOPHORALES, CHLOROPHYCEAE) STUDIED IN CULTURE", JOURNAL OF PHYCOLOGY, vol. 14, no. 2, 1 January 1978 (1978-01-01), pages 127-131, XP055350474, DOI: doi/10.1111/j.1529-8817.1978.tb02436.x abstract page 127, right-hand column, paragraph 2 - paragraph 3 ----- -/--	1-16



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

28 September 2017

Date of mailing of the international search report

10/10/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Surdej, Patrick

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2017/051920

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHARLES J. O'KELLY ET AL: "GENE SEQUENCE DIVERSITY AND THE PHYLOGENETIC POSITION OF ALGAE ASSIGNED TO THE GENERA PHAEOPHILA AND OCHLOCHAETE (ULVOPHYCEAE, CHLOROPHYTA)1", JOURNAL OF PHYCOLOGY., vol. 40, no. 4, 9 July 2004 (2004-07-09), pages 789-799, XP055350505, US ISSN: 0022-3646, DOI: 10.1111/j.1529-8817.2004.03204.x abstract page 790, right-hand column, paragraph 2 -----	1-16
A	WO 2013/184884 A1 (BASF CORP [US]; BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS F [FR]; MILOW CLIFFORD A [U]) 12 December 2013 (2013-12-12) paragraphs [0004] - [0005], [0010] - [0011], [0024], [0075] - [0077] -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2017/051920

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013184884 A1	12-12-2013	EP 2858641 A1	15-04-2015
		US 2015140141 A1	21-05-2015
		WO 2013184884 A1	12-12-2013

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2017/051920

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A01G33/00 A01H13/00 A61K8/97 A61K8/9722 A61K8/9706 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) A01G A01H C12M A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, 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
X	RUTH NIELSEN: "VARIATION IN OCHLOCHAETE HYSTRIX (CHAETOPHORAE, CHLOROPHYCEAE) STUDIED IN CULTURE", JOURNAL OF PHYCOLOGY, vol. 14, no. 2, 1 janvier 1978 (1978-01-01), pages 127-131, XP055350474, DOI: doi/10.1111/j.1529-8817.1978.tb02436.x abrégé page 127, colonne de droite, alinéa 2 - alinéa 3 ----- -/--	1-16
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ 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 28 septembre 2017		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 10/10/2017
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Surdej, Patrick

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CHARLES J. O'KELLY ET AL: "GENE SEQUENCE DIVERSITY AND THE PHYLOGENETIC POSITION OF ALGAE ASSIGNED TO THE GENERA PHAEOPHILA AND OCHLOCHAETE (ULVOPHYCEAE, CHLOROPHYTA)1", JOURNAL OF PHYCOLOGY., vol. 40, no. 4, 9 juillet 2004 (2004-07-09), pages 789-799, XP055350505, US ISSN: 0022-3646, DOI: 10.1111/j.1529-8817.2004.03204.x abrégé page 790, colonne de droite, alinéa 2 -----	1-16
A	WO 2013/184884 A1 (BASF CORP [US]; BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS F [FR]; MILOW CLIFFORD A [U]) 12 décembre 2013 (2013-12-12) alinéas [0004] - [0005], [0010] - [0011], [0024], [0075] - [0077] -----	1-16

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

PCT/FR2017/051920

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (avril 2005)