(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication : **2 533 438**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **82 15559**

(51) Int Cl³ : A 61 K 7/48 // C 07 C 103/52.

(12) DEMANDE DE CERTIFICAT D'ADDITION À UN BREVET D'INVENTION

A2

(22) Date de dépôt : 15 septembre 1982.

(30) Priorité

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 13 du 30 mars 1984.

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés : 1re addition au brevet 79 31731 pris le 27 décembre 1979.

(71) Demandeur(s) : *SEDERMA SARL.* — FR.

(72) Inventeur(s) : Daniel Greff.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) :

(54) Utilisation en cosmétologie des facteurs de croissance et d'extraits biologiques contenant ceux-ci.

(57) L'invention concerne plus généralement l'utilisation en cosmétologie des facteurs de croissance tels qu'ils sont définis en biologie cellulaire depuis une vingtaine d'années, ainsi que l'utilisation d'extraits biologiques préparés de manière à concentrer ces facteurs de croissance et à des doses ajustées de façon à obtenir un effet optimum sur la croissance de lignées de cellules en culture d'origine cutanée, humaines ou animales.

FR 2 533 438 - A2

Le brevet principal cité, concerne de "Nouveaux extraits biologiques utilisables en Cosmétologie et les procédés d'obtention de ces extraits". Ces extraits contiennent des facteurs de croissance, constituants peptidiques de bas poids moléculaires (500 à 50 000 daltons), thermorésistants jusqu'à 80° C et stables dans une gamme de pH comprise entre 2 et 9. Ils sont obtenus par dégradation thermique, digestion enzymatique et tamisage moléculaire des substances de départ. Les caractéristiques de ces extraits : activité démontrable in vitro, sur des cultures de cellules, innocuité et stabilité sont particulièrement avantageuses pour l'utilisation dans des produits cosmétiques. On a revendiqué dans le brevet principal (revendication 9) l'utilisation de produits possédant une activité au moins partielle de "facteurs de croissance".

Le présent certificat d'addition concerne plus généralement, l'utilisation en Cosmétologie des "facteurs de croissance" (growth factor, des auteurs anglo-saxons) tels qu'ils sont définis en biochimie et biologie cellulaire, depuis une vingtaine d'années et dont on trouve des revues de synthèse dans les articles suivants, par exemple :

E. ROZENGURT "Biochemical basis of the early events stilated by serum and mitogenic factors in cultures of quiescent cells", Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation, vol. 6A & 6B, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1978, pp. 773-788.

M. PRUNIERAS "Recent Advances in Epidermal Cell Cultures" Arch. Dermatol. Res., 1979, 164 : 2, 243-248.

On rappelle que les facteurs de croissance, en biochimie et en biologie cellulaire, sont des substances qui sont capables de stimuler la prolifération des cellules (c'est-à-dire, qui présentent une action mitogène). De façon plus pratique, ce sont des substances qui peuvent remplacer au

moins en partie le sérum de veau, ou encore, présentent une synergie avec celui-ci, pour la survie et la croissance de lignées de cellules mises en culture dans un milieu nutritif minimum, par exemple le milieu MEM selon HANKS. Les facteurs de croissance peuvent éventuellement présenter des spécificités pour certaines classes de cellules.

Les inventeurs ont étudiés en vue d'une utilisation cosmétique des facteurs de croissance, ceux d'entre eux qui présentent une activité mitogène sur des lignées de cellules de peau en culture : cellules épidermiques, fibroblastes et chondrocytes. Le tableau en annexe présente des exemples de facteurs de croissance définis dont l'utisisation cosmétique a été étudiée, sans que cette liste ne soit limitative.

Les inventeurs ont mis en évidence un parallélisme satisfaisant entre les propriétés in vitro de ces facteurs de croissance et les propriétés chimiques des préparations cosmétiques renfermant ceux-ci. Ils ont découvert que ces substances incorporées à des préparations cosmétiques finies, à faibles doses (0,001 % à 0,1 % de substances actives sèches par rapport à la préparation finie) présentent des activités cosmétologiques remarquables.

On a également examiné à cet égard, des extraits biologiques contenant des facteurs de croissance non encore parfaitement identifiés. Ces extraits présentent des propriétés mitogènes très similaires sur des lignées de cellules en culture d'origine cutanée. Ces extraits proviennent entre autres de :

1- sérums animaux ou humains
2- peau embryonnaire d'origine animale
3- lait ou lactosérum humain ou bovin

Ces trois sources étant déjà concernées par le brevet principal.

4- des milieux de culture "conditionnés" (c'est-à-dire, où l'on a fait préalablement croitre des cultures de cellules spécialement des cultures de fibroblastes de peau humaine. La croissance de la première culture libérant dans le milieu des facteurs de croissance, actifs vis-à-vis des cultures subséquentes.

5- des extraits protéolytiques d'organes tels que :

- cartilages animaux
- peau animale, porcine ou bovine
- rate de bovins
- foie de bovins
- duodénum de porc
- embryons de bovins entiers

sans que cette liste ne soit limitative.

Ces extraits sont obtenus de la même manière décrite dans le brevet principal, à savoir : hydrolyses enzymatiques spécifiques, traitements thermiques et tamisage moléculaire, dans le but d'en recueillir les facteurs de croissance qui ont généralement de faibles poids moléculaires (500 à 50 000 daltons) et d'en éliminer des composants de hauts poids moléculaires qui sont parfois responsables de phénomènes d'inhibition de la croissance cellulaire.

A titre de variante, l'hydrolyse des organes précédents peut également être obtenue par fermentation bactérienne. Il a été mis à incuber un broyat d'organes, en particulier du tissu cutané animal, avec des cultures de souches bactériennes choisies de façon à ce que l'extrait obtenu, présente des propriétés de facteur de croissance actives sur des lignées de cellules d'origine épidermique ou

dermique, humaines ou animales.

Après hydrolyse, les extraits protéolysés subissent un ou plusieurs traitements thermiques, puis si nécessaire, un tamisage moléculaire, de manière à récupérer des fragments de bas poids moléculaire (de 500 à 50 000 daltons, comme précédemment).

Les extraits biologiques étant déjà connus et pour certains, utilisés en Cosmétologie. La présente invention consiste donc en leur utilisation en tant que facteur de croissance et pour ce faire :

- premièrement, à ajuster le mode de préparation pour favoriser la formation et la libération de ces facteurs de croissance selon les descriptions précédentes ;

- deuxièmement, à ajuster les doses d'utilisation à des valeurs optimales situées entre 0,01 % et 1 % d'extrait sec d'organes par rapport au produit cosmétique terminé.

Facteur de Croissance		Origine courante	Structure chimique	Poids moléculaire approx.
Nom (anglais)	Abréviation			
Facteur de croissance épidermique (epidermal growth factor)	EGF	Glande submaxillaire de souris	Polypeptide acide	6 000
Facteur de croissance fibroblastique (fibroblast growth factor)	FGF	Cerveau de bovins	Polypeptide basique	13 000
Facteur de croissance plaquettaire (platelet growth factor)	PGF	Plaquettes du sang	Polypeptide basique	13 000
Somatomédines A,C,MSA (MSA = multiplication stimulating activity)	SM-A SM-C MSA	Milieux de culture d'hépatocytes,sérum sanguin	Polypeptides	10 000 à 20 000

REVENDICATIONS

1- Utilisation en Cosmétologie, d'extraits de substances biologiques naturelles selon la revendication 1 du brevet principal, caractérisés en ce que ces extraits sont des facteurs de croissance, présentant une action mitogène sur des lignées de cellules en culture, d'origine cutanée, humaine ou animale.

2- Utilisation en Cosmétologie de facteurs de croissance selon la revendication 1 ci-dessus, choisis dans la liste suivante: facteur de croissance épidermique EGF, facteur de croissance fibroblastique FGF, facteur de croissance plaquettaire PGF, somatomédines A ou C ou MSA.

3- Utilisation en Cosmétologie d'extraits d'organes selon l'une des revendications 1 à 4 du brevet principal, caractérisés en ce qu'ils contiennent des facteurs de croissance présentant une action mitogène sur des lignées de cellules en culture d'origine cutanée, animale ou humaine.

4- Utilisation en Cosmétologie, d'extraits d'organes selon la revendication 3 ci-dessus, provenant d'une ou plusieurs des sources suivantes :

- sérums animaux ou humains
- peau embryonnaire d'origine animale
- lait ou lactosérum humain ou bovin
- milieux de cultures "conditionnés"
- extraits protéolytiques de cartilages animaux, peau animale porcine ou bovine, rate de bovins, foie de bovins, duodénum de porc, embryons de bovins entiers, sans que cette liste ne soit limitative.

5- Procédé de préparation d'extraits d'organes selon les revendications 3 et 4 ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'hydrolyse est effectuée par fermentation bactérienne.

6-Préparation cosmétique caractérisée en ce qu'elle contient de 0,001 % à 0,1 % de facteurs de croissance selon les revendications 1 et 2, en poids sec de facteur de croissance par rapport à la préparation cosmétique terminée.

7-Préparation cosmétique caractérisée en ce qu'elle contient de 0,01 % à 1 % d'extraits d'organes selon les revendications 3 et 4, en poids d'extraits secs d'organes par rapport à la préparation cosmétique terminée.