

(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
2 juillet 2015 (02.07.2015)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2015/097601 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 8/97 (2006.01) A61K 36/27 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2014/067067

(22) Date de dépôt international :
18 décembre 2014 (18.12.2014)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
13 63527 24 décembre 2013 (24.12.2013) FR

(71) Déposant : LABORATOIRES CLARINS [FR/FR]; 4
Rue Berteaux Dumas, F-92200 Neuilly Sur Seine (FR).

(72) Inventeur : COURTIN, Olivier; 7 rue Jacques DULUD,
F-92200 Neuilly Sur Seine (FR).

(74) Mandataire : CABINET ORES; 36 rue de St Péters-
bourg, F-75008 Paris (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, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

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

(54) Title : COSMETIC USE OF AN EXTRACT OF *GYMNEMA SYLVESTRE*

(54) Titre : UTILISATION COSMETIQUE D'UN EXTRAIT DE *GYMNEMA SYLVESTRE*

(57) Abstract : The invention relates to the cosmetic use of an extract of *Gymnema sylvestre* and to cosmetic compositions comprising said extract for increasing the synthesis of ATP, for stimulating the activity of cytochrome c oxidase, for inducing the synthesis of ribose 5-phosphate, and thus for regulating the metabolic and energy processes relating to the skin.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à l'utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* et de compositions cosmétiques comprenant ledit extrait pour augmenter la synthèse d'ATP; pour stimuler l'activité du cytochrome C oxydase; pour induire la synthèse de ribose-5-phosphate; et ainsi pour réguler les processus métaboliques et énergétiques au niveau de la peau.



WO 2015/097601 A1

Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre*

La présente invention se rapporte au domaine du traitement cosmétique de la peau.

La peau est un organe particulier du corps humain. De fine épaisseur, elle est très étendue puisqu'elle recouvre toute la surface du corps et totalise chez l'adulte une surface d'environ 1,6 m². Elle a pour fonction de protéger les tissus profonds du milieu extérieur, tant au niveau de la pénétration physique de corps étrangers, que de l'immunité, de la régulation de la température, de la déperdition de fluides, etc... Enfin, les contraintes mécaniques auxquelles elle est soumise en permanence lui imposent une structure solide et cohérente associée à une grande souplesse. En raison des agressions environnementales que subit la peau, il est important d'entretenir son renouvellement et sa réparation en stimulant le métabolisme des cellules qui la constituent.

Dans le cadre de ses études sur la régulation des processus métaboliques et énergétiques au niveau des cellules cutanées, la Demanderesse a mis en évidence l'effet bénéfique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* sur le métabolisme des cellules de la peau ; elle a plus particulièrement démontré que cet extrait peut stimuler les mitochondries et augmenter le niveau énergétique cellulaire et permet ainsi de prévenir ou de lutter contre les signes du vieillissement cutané, mais aussi les dommages causés par les agressions extérieures, telles que le froid, le vent, les rayonnements UV, les radiations, ou les expositions à des toxines ou à des polluants.

Ces études ont plus particulièrement montré l'effet d'un extrait de *Gymnema sylvestre* sur :

- la synthèse d'ATP au niveau des kératinocytes humains en culture :

L'énergie dans la cellule est produite à partir de molécules basiques (glucides, protéines, lipides) obtenues pour l'essentiel par l'alimentation. L'oxydation de ces composés au niveau des mitochondries conduit à la libération d'énergie sous la forme d'un composé hautement énergétique, l'adénosine triphosphate (ATP).

Lorsque la cellule a besoin d'énergie, le groupement phosphate terminal de l'ATP est hydrolysé pour libérer l'énergie de la liaison et de l'adénosine diphosphate (ADP). En fonction des besoins des cellules, l'ATP est constamment hydrolysée, puis régénérée. Toutefois, avec l'âge et les stress oxydants variés que subissent les cellules de la peau, l'intégrité et la fonctionnalité des mitochondries sont altérées : la néosynthèse d'ATP est réduite.

Il apparait donc important d'identifier des actifs capables d'augmenter le taux intracellulaire d'ATP et de booster le métabolisme des cellules de la peau en stimulant la néosynthèse d'ATP.

Les résultats présentés dans la partie expérimentale qui suit montrent qu'un extrait de *Gymnema sylvestre* induit une augmentation significative de la synthèse d'ATP.

- l'activité du cytochrome C oxydase, complexe IV de la chaîne respiratoire, chez des kératinocytes humains en culture soumis ou non à un stress oxydant :

Le cytochrome C oxydase est présent dans les différents types cellulaires de la peau et du cheveu ; il est connu pour être impliqué dans le métabolisme énergétique au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale ou chaîne redox, qui contrôle le niveau énergétique, le métabolisme et l'homéostasie des cellules. Cette enzyme est un photo-accepteur activé par la lumière rouge : lorsque des photons sont absorbés par la chaîne redox, ils transfèrent leur énergie au système respiratoire conduisant, via le changement de potentiel électrochimique de la cellule photoactivée et la transduction de signaux intracellulaires médiés par le Ca^{2+} et l'AMPc, à une cascade d'événements dans la cellule (synthèse ADN et ARN, activité proliférative des cellules) et une production d'énergie sous forme d'ATP.

Cette enzyme a la capacité de catalyser le transfert d'électrons à l'oxygène moléculaire pour le transformer en molécules d'eau sans former de radicaux libres intermédiaires néfastes à la cellule, selon le schéma suivant :



Schéma de la réaction conduisant à la production d'ATP et de molécules d'eau à partir d'oxygène par le CytoC oxydase

Le cytochrome C, un de ses substrats, est un composant essentiel de la chaîne respiratoire. Le cytochrome C joue un rôle essentiel dans la fonction mitochondriale et dans la survie cellulaire. Le rôle principal du cytochrome C est d'assurer le transfert d'électrons, grâce au changement de valence de l'atome de fer. Le cytochrome C qui est soluble, transporte ainsi les électrons depuis le complexe III jusqu'au complexe IV (cytochrome oxydase). Les électrons, qui sont le substrat du cytochrome oxydase, sont alors transférés par l'enzyme vers l'oxygène.

De très nombreux éléments permettent actuellement d'affirmer que les radicaux libres, en induisant des réactions de peroxydation lipidique, sont responsables d'une part importante de la diminution de la fluidité membranaire et de la baisse d'activité de certains transporteurs tels que le cytochrome oxydase, dans les mitochondries de tissus
5 âgés ; l'identification de composés capables d'augmenter l'activité du cytochrome C oxydase s'avèrerait donc utile.

Il a été mis en évidence que l'extrait de *Gymnema sylvestre* stimule l'activité du cytochrome C oxydase des kératinocytes humains ; en complément, l'effet de l'extrait de *Gymnema sylvestre* a été testé sur des kératinocytes humains préalablement
10 traitées par du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) -qui a pour effet d'entraîner une diminution significative de l'activité du cytochrome C oxydase-, il a alors été démontré que l'extrait de *Gymnema sylvestre* rétablit significativement l'activité du cytochrome C oxydase.

En conclusion, l'extrait de *Gymnema sylvestre* présente un effet significatif sur la régulation des processus métaboliques et énergétiques au niveau des
15 kératinocytes humains en culture.

- la voie des pentoses chez des fibroblastes humains en culture par le dosage du ribose 5-phosphate :

Les essais de la Demanderesse ont également mis en évidence que l'extrait de *Gymnema sylvestre* présente un effet sur la régulation des processus
20 métaboliques et énergétiques au niveau des kératinocytes et des fibroblastes humains en culture en induisant une augmentation significative de la synthèse du ribose-5-phosphate.

Parallèlement à la glycolyse qui intervient dans la production d'ATP, la voie des pentoses phosphates est une voie métabolique qui produit du NADPH, donneur d'électrons favorisant notamment la respiration cellulaire (cycle de Krebs, chaîne
25 respiratoire), et du ribose-5-phosphate (biosynthèses ADN, ARNs).

De par ses propriétés, l'extrait de *Gymnema sylvestre* apparaît donc être un actif utile pour augmenter le métabolisme énergétique des cellules de la peau.

Gymnema sylvestre est une plante native des forêts tropicales du centre et du sud de l'Inde et du Sri Lanka ; cette plante est traditionnellement utilisée dans des
30 préparations médicinales pour diverses utilisations thérapeutiques, en particulier pour le traitement du diabète.

Il est connu d'utiliser des extraits de *Gymnema sylvestre* dans des compositions destinées à être appliquées sur la peau, notamment en raison du caractère

colorant de ce composé ou encore pour ses propriétés inhibitrices de la pousse du poil (WO 2005/067953).

Toutefois, à la connaissance de la Demanderesse, il n'a encore jamais été suggéré qu'un extrait de *Gymnema sylvestre* pouvait avoir les propriétés précitées et s'avérer utile comme agent activateur des voies métaboliques qui fournissent de l'énergie aux cellules de la peau.

La présente invention se rapporte ainsi à l'utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait pour activer les voies métaboliques productrices d'énergie des cellules de la peau ; pour augmenter la synthèse d'ATP ; pour stimuler l'activité du cytochrome C oxydase ; pour induire la synthèse de ribose-5-phosphate ; et ainsi pour réguler les processus métaboliques et énergétiques au niveau de la peau.

L'extrait de *Gymnema sylvestre* est de préférence obtenu à partir de la partie aérienne de la plante, encore préférentiellement à partir des feuilles, et peut être préparé par tout procédé d'extraction connu de l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation particulier, l'extraction est réalisée à partir de fragments de parties aériennes de *Gymnema sylvestre* par le traitement suivant :

- séchage puis broyage ;
- extraction solide/liquide en phase hydroalcoolique, par exemple dans un mélange d'eau et d'alcool inférieur en C_1 à C_4 tel que l'éthanol ;
- filtration grossièrement ;
- décoloration sur du charbon actif ;
- filtration sur plaque avec un seuil de coupure de 1 μm ;
- concentration.

Pour faciliter son usage ultérieur, l'extrait peut ensuite être solubilisé sur un support acceptable en cosmétique, tel que la glycérine.

On obtient ainsi un extrait liquide limpide et ambré.

De façon avantageuse, l'extrait de *Gymnema sylvestre* est un extrait hydroalcoolique et/ou est stabilisé par de la glycérine.

Pour son utilisation cosmétique, l'extrait de *Gymnema sylvestre* est formulé dans une composition cosmétique qui comprend entre 0,01 et 10%, de préférence entre 0,01 et 5%, d'extrait de *Gymnema sylvestre* en poids de matière sèche par rapport au poids total de la composition.

Cette composition peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées dans les domaines cosmétique et dermatologique, et elle peut être notamment sous forme d'une solution aqueuse éventuellement gélifiée, d'une dispersion du type lotion éventuellement biphasée, d'une émulsion obtenue par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H), ou d'une émulsion triple (E/H/E ou H/E/H) ou d'une dispersion vésiculaire de type ionique et/ou non ionique. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles.

Cette composition peut être plus ou moins fluide et avoir l'aspect d'une crème blanche ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion, d'un sérum, d'une pâte, d'une mousse. Elle peut éventuellement être appliquée sur la peau sous forme d'aérosol. Elle peut également se présenter sous forme solide, en particulier sous forme de stick. Elle peut être utilisée comme produit de soin et/ou comme produit de maquillage pour la peau.

La composition de l'invention peut contenir également les adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les actifs hydrophiles ou lipophiles, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les charges, les filtres, les pigments, les absorbeurs d'odeur et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées dans le domaine considéré, et par exemple de 0,01 à 20% du poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse, dans les vésicules lipidiques et/ou dans les nanoparticules. En tout état de cause, ces adjuvants, ainsi que leurs proportions, seront choisis de manière à ne pas nuire aux propriétés recherchées de l'extrait de *Gymnema sylvestre* selon l'invention.

En fonction de la destination de la composition selon l'invention, l'extrait de *Gymnema sylvestre* peut être associé à d'autres actifs anti-âge, en particulier des actifs anti-rides, dépigmentants, raffermissants, drainants, tenseurs, anti-radicalaires et/ou immunoprotecteurs et/ou à des agents stimulant le métabolisme cellulaire (notamment la synthèse des protéines) et/ou la prolifération cellulaire.

La Demanderesse a démontré que l'extrait de *Gymnema sylvestre*, et ainsi la composition cosmétique selon l'invention qui le contient, peuvent être utilisés pour activer les voies métaboliques des cellules de la peau, en particulier celles fournissant de l'énergie cellulaire. On entend par cellules de la peau les kératinocytes, les fibroblastes et les mélanocytes, de préférence, il s'agit des kératinocytes et des fibroblastes.

En conséquence, l'utilisation d'un extrait de *Gymnema sylvestre* est un agent tonifiant des cellules de la peau et/ou stimulant du métabolisme des cellules de la peau ; cet extrait et/ou la composition cosmétique selon l'invention peuvent donc être utilisés comme agent tonifiant des cellules de la peau et/ou stimulant du métabolisme des
5 cellules de la peau.

L'extrait de *Gymnema sylvestre* et/ou la composition cosmétique selon l'invention peuvent encore être utilisés pour permettre un fonctionnement optimal des cellules de la peau, assurer leur homéostasie, leur renouvellement et leur réparation.

Ainsi, l'extrait de *Gymnema sylvestre* et/ou la composition selon
10 l'invention sont avantageusement utilisés pour énergiser, tonifier, revitaliser ou encore détoxifier la peau, en particulier la peau stressée et fatiguée, en améliorant l'éclat de son teint et l'aspect de sa surface ; ils sont également utilisés pour prévenir et/ou réparer les marques de fatigue du visage telles que le teint terne et/ou grisé ; ils sont aussi utilisés pour protéger les cellules cutanées et la peau des facteurs environnementaux qui les agressent,
15 tels que les facteurs climatiques, comme, le froid et le vent, ou encore la pollution.

L'extrait de *Gymnema sylvestre* et/ou la composition selon l'invention sont également utiles pour améliorer la couleur et/ou l'éclat du teint de la peau ; ils préviennent ainsi l'apparition d'une peau terne et/ou sans éclat.

L'extrait de *Gymnema sylvestre* et/ou la composition selon l'invention
20 sont encore utiles pour tonifier le contour des yeux, énergiser les yeux fatigués, réduire les poches et les cernes et globalement restaurer un regard détendu et reposé.

L'extrait de *Gymnema sylvestre* et/ou la composition selon l'invention peuvent être utilisés dans des soins énergisants ou défatiguants.

Les applications qui précèdent visent préférentiellement la peau du
25 visage, c'est-à-dire la peau de la face, du cou, du décolleté et/ou du contour des yeux mais permettent également des traitements cosmétiques spécifiques de la peau du corps.

La présente invention a également pour objet un procédé de traitement cosmétique pour activer les voies métaboliques apportant de l'énergie aux cellules de la peau ; énergiser, tonifier, revitaliser ou encore détoxifier la peau, et tonifier le contour des
30 yeux, énergiser les yeux fatigués, réduire les poches et les cernes et globalement retrouver un regard détendu et reposé ; comprenant l'application sur la peau d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un extrait de *Gymnema sylvestre* tels que décrits plus haut.

L'application sur la peau peut donc être réalisée en fonction de la forme galénique utilisée. Il peut s'agir, par exemple d'une simple application sur la peau ou d'une application accompagnée d'un massage de la peau avec la composition de la présente invention.

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

10 Les exemples ci-après concernent, d'une part l'évaluation des effets biologiques d'un extrait de *Gymnema sylvestre* et d'autre part des compositions objets de la présente invention.

Les exemples font référence aux figures suivantes dans lesquelles les histogrammes des **Figures 1, 2A, 2B et 3** représentent, respectivement, la teneur en ATP, l'activité de la cytochrome C oxydase sans et avec H_2O_2 et la teneur en ribose-5-phosphate
15 dans une culture cellulaire témoin non traitée ou traitée avec 0,125% ou 0,25% d'extrait de feuille de *Gymnema sylvestre*.

Dans l'ensemble des exemples qui suivent, le produit testé est un extrait de feuille de *Gymnema sylvestre* obtenu par le procédé d'extraction hydroalcoolique décrit plus tôt puis stabilisé dans de la glycérine (1,5% d'extrait sec dans un mélange
20 glycérine / eau à 70% / 30%).

EXEMPLE 1 - Etude des effets d'un extrait selon l'invention sur la synthèse d'ATP au niveau des kératinocytes humains en culture

1.1. Matériel et méthode

Constitution des lots :

25 Lot 1 : témoin non traité

Lot 2 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,125% dans le milieu de culture

Lot 3 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,25% dans le milieu de culture

Culture cellulaire :

Les cultures de kératinocytes ont été établies à partir de peau de prépuces humains récoltés
30 lors de circoncisions et ont été amplifiées dans du milieu KGM2 (Kératinocytes Growth Medium, KGM2, clonetics) supplémenté par l'insuline, l'EGF et de l'extrait pituitaire. Les essais ont été réalisés sur des kératinocytes au 3^{ème} passage. Les cellules ont été ensemencées dans des boîtes multipuits à raison de 1×10^5 cellules. Après 24 heures

d'incubation à 37°C (5% de CO₂), les cellules en phase exponentielle de croissance, ont été traitées par l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations de 0,125% et 0,25%. Après 24 heures de traitement, les cellules ont été prélevées et le dosage de l'ATP a été réalisé.

Dosage d'ATP :

- 5 Le dosage de l'ATP a été réalisé à l'aide du kit de quantification PROMOKINE (Promocell, France). La quantification colorimétrique a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 570 nm.

1.2. Résultats

	ATP (nmol/10 ⁶ cellules)		%
	moyenne	écart type	
témoin négatif	2,55	0,18	/
Gymnema 0,125%	3,04	0,14	+19
Gymnema 0,25%	3,11	0,21	+22

Tableau I

- 10 Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations 0,125% et 0,25% a induit une augmentation significative de la synthèse d'ATP de 19% et 22% respectivement.

EXEMPLE 2 - Etude des effets d'un extrait selon l'invention sur l'activité du cytochrome C oxydase, complexe IV de la chaîne respiratoire au niveau des

15 **kératinocytes humains en culture soumis ou non à un stress oxydant**

2.1. Matériels et Méthodes

Constitution des lots

Lot 1 : témoin non traité

Lot 2 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,125% dans le milieu de culture

- 20 Lot 3 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,25% dans le milieu de culture

Lot 4 : traité par H₂O₂

Lot 5 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,125% dans le milieu de culture + H₂O₂

- 25 Lot 6 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,25% dans le milieu de culture + H₂O₂

Culture cellulaire

Les cultures de kératinocytes ont été établies à partir de peau de prépuces humains récoltés lors de circoncisions et ont été amplifiées dans du milieu KGM2 (Kératinocytes Growth Medium, KGM2, clonetics) supplémenté par l'insuline, l'EGF et de l'extrait pituitaire. Les
5 essais ont été réalisés sur des kératinocytes au 3^{ème} passage. Les cellules ont été ensemencées dans des boîtes multipuits à raison de 1×10^6 cellules. Après 24 heures d'incubation à 37°C (5% de CO₂), les cellules en phase exponentielle de croissance, ont été traitées par l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations de 0,125% et de 0,25% seul ou en présence de H₂O₂.

Evaluation de l'activité du cytochrome C oxydase

Après 24 heures de traitement, les cellules ont été prélevées puis lavées et remises en suspension dans du PBS froid. L'évaluation de l'activité du cytochrome C oxydase a été ensuite réalisée à l'aide du kit d'analyse (Cytochrome C Oxydase Assay Kit - Sigma) selon le protocole indiqué.

2.2. Résultats

	Activité de la cytochrome C oxydase ($\mu\text{mole}/\text{min}/10^7$ cellules)		%
	moyenne	écart type	
témoin négatif	1,32	0,21	/
Gymnema 0,125%	1,55	0,07	+17
Gymnema 0,25%	1,63	0,05	+23
témoin positif (H ₂ O ₂)	0,87	0,05	-34
Gymnema 0,125% + H ₂ O ₂	0,98	0,07	+13
Gymnema 0,25% + H ₂ O ₂	1,01	0,06	+16

Tableau II

Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations 0,125% et 0,25% a stimulé l'activité du cytochrome C oxydase des kératinocytes humains en culture respectivement de 17% et 23% en comparaison avec le témoin négatif.

Le traitement des cellules par le peroxyde d'hydrogène seul (H₂O₂) a entraîné une diminution significative de l'activité du cytochrome C oxydase (-34%). En présence de

H₂O₂, l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations 0,125% et 0,25% a rétabli l'activité du cytochrome C oxydase (+13% et +16%).

En conclusion, l'extrait de *Gymnema sylvestre* présente un effet significatif sur la régulation des processus métaboliques et énergétiques au niveau des kératinocytes humains en culture.

EXEMPLE 3 - Etude des effets de l'extrait selon l'invention sur la voie des pentoses au niveau des fibroblastes humains en culture par le dosage du ribose 5-phosphate

3.1. Matériels et Méthodes

Constitution des lots

10 Lot 1 : témoin non traité

Lot 3 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,125% dans le milieu de culture

Lot 4 : traité par l'extrait de *Gymnema sylvestre* dilué à 0,25% dans le milieu de culture

Culture cellulaire

La méthode utilisée a été celle de la digestion enzymatique permettant d'obtenir à partir d'une biopsie de peau humaine des primocultures de fibroblastes. Les cellules obtenues ont été amplifiées dans un milieu RPMI 1640 supplémenté par du sérum de veau, de la L-glutamine et des antibiotiques. Les essais ont été réalisés sur des fibroblastes au 3^{ème} passage. Les cellules ont étéensemencées dans des boîtes multipuits à raison de 1x10⁵ cellules. Après 24 heures d'incubation à 37°C (5% de CO₂), les cellules en phase exponentielle de croissance, ont été traitées par l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations de 0,125% et de 0,25%.

Dosage du ribose-5-phosphate

Après 24 heures de traitement, les cellules ont été prélevées et les culots cellulaires ont été soniqués pendant 30s dans un bain glacé puis centrifugé pendant 5 min à 11000g à 10°C. Les surnageants ont été ensuite transférés dans de nouveaux tubes. L'activité enzymatique résiduelle a été stoppée en ajoutant 50 µl d'acide perchlorique (2,5%) contenant 3 µmol/L d'IS aux échantillons qui ont été ensuite conservés à -20°C pendant au moins 30 min. pour la déprotéinisation. Par la suite, 15µl du tampon phosphate (pH 11,5 ; 1 mol/L) a été ajouté pour neutraliser la solution et les échantillons ont été centrifugés pendant 5 min à 21000 g à 4°C. Les surnageants ont été transférés dans des flacons en verre qui ont été stockés à -20°C jusqu'à l'injection. Une gamme étalon a été préparée et consiste respectivement à 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 3,75 et 6,25 µmol/L du ribose-5-phosphate. La gamme étalon a été

traitée de la même manière que les échantillons. La quantification du taux du ribose-5-phosphate a été réalisé par LC-MS/MS.

3.2. Résultats

	Ribose 5 phosphate (nmol/10 ⁶ cellules)		%
	moyenne	écart type	
témoin négatif	0,256	0,01	/
Gymnema 0,125%	0,322	0,03	+26
Gymnema 0,25%	0,34	0,01	+33

Tableau III

- 5 Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Gymnema sylvestre* aux concentrations 0,125% et 0,25% a induit une augmentation significative de la synthèse du ribose-5-phosphate de 26% et 33% respectivement.

En conclusion, l'extrait de *Gymnema sylvestre* présente un effet significatif sur la régulation des processus métaboliques et énergétiques au niveau des
10 kératinocytes et des fibroblastes humains en culture.

EXEMPLE 4 – COMPOSITIONS

	<u>SERUM</u>	%
	CARBOMER.....	0,60
	CELLULOSE GUM.....	0,20
15	PENTYLENE GLYCOL.....	2,00
	TROMETHAMINE.....	0,52
	GLYCERIN & AQUA & PEG-8 & CAPRYLYL GLYCOL & SODIUM POLYACRYLATE.....	5,00
	AQUA & GLYCERIN & GLYCERYL ACRYLATE/ACRYLIC ACID & 20 COPOLYMER.....	10,00
	GYMNEMA SYLVESTRIS.....	3,00
	CONSERVATEURS.....	QS
	CHELATANT.....	QS
	PARFUM.....	QS
25	EAU DEMINERALISEE.....	QSP 100

	<u>CREME HYDRATANTE</u>	%
	CETEARYL ALCOHOL & SODIUM LAURYL SULFATE &	
	SODIUM CETEARYL SULFATE.....	1,70
	HYDROGENATED POLYISOBUTENE.....	7,00
5	ISONONYL ISONONANOATE.....	5,00
	GLYCERYL STEARATE SE.....	5,60
	C12-15 ALKYL BENZOATE.....	3,50
	PEG-20 METHYL GLUCOSE & SESQUISTEARATE.....	0,50
	GLYCERIN.....	3,00
10	CARBOMER.....	0,25
	SILICA.....	0,15
	MICA.....	0,10
	TALC.....	0,50
	GLYCERIN & AQUA & PEG-8 & CAPRYLYL GLYCOL &	
15	SODIUM POLYACRYLATE.....	5,00
	DIMETHICONE & DIMETHICONOL.....	0,15
	TOCOPHERYL ACETATE.....	0,20
	GYMNEMA SYLVESTRIS.....	1,00
	CONSERVATEURS.....	QS
20	CHELATANT.....	QS
	PARFUM.....	QS
	EAU DEMINERALISEE.....	QSP 100

	<u>GEL HYDRATANT</u>	%
25	TAPIOCA STARCH.....	1,00
	AMMONIUM & ACRYLOYLDIMETHYLTAURATE/VP &	
	COPOLYMER.....	1,00
	GLYCOLS.....	5,00
	ETHYLHEXYLGLYCERIN.....	0,20
30	AQUA & GLYCERIN & GLYCERYL ACRYLATE/ACRYLIC ACID &	
	COPOLYMER.....	5,00
	CAPRYLIC/CAPRIC TRIGLYCERIDE.....	1,50
	CYCLOMETHICONE.....	5,00

	PHENYL TRIMETHICONE.....	1,00
	CYCLOPENTASILOXANE & PEG/PPG-18/18 DIMETHICONE.....	1,00
	TOCOPHERYL ACETATE.....	0,20
	GYMNEMA SYLVESTRIS.....	1,00
5	TETRASODIUM EDTA.....	0,05
	CONSERVATEURS.....	QS
	PARFUM.....	QS
	EAU DEMINERALISEE.....	QSP 100

REVENDECATIONS

1) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait pour activer les voies métaboliques productrices d'énergie des cellules de la peau.

5 2) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon la revendication 1, dans laquelle l'extrait de *Gymnema sylvestre* est un extrait de feuilles.

 3) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon la revendication 1 ou 2, dans
10 laquelle l'extrait de *Gymnema sylvestre* est un extrait hydroalcoolique.

 4) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon la revendication 3, dans laquelle l'extrait de *Gymnema sylvestre* est stabilisé par de la glycérine.

 5) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une
15 composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que ladite composition cosmétique comprend de 0,01 à 10% d'extrait de *Gymnema sylvestre* en poids de matière sèche par rapport au poids total de la composition.

 6) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une
20 composition cosmétique comprenant un tel extrait selon la revendication 5, dans laquelle ladite composition comprend en outre un ou plusieurs agents de formulation ou additifs tels que des adoucissants, des colorants, des agents filmogènes, des tensio-actifs, des parfums, des conservateurs, des émulsionnants, des huiles, des glycols, filtres UV, et des vitamines.

25 7) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes pour augmenter la synthèse d'ATP.

 8) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des
30 revendications 1 à 6 pour stimuler l'activité du cytochrome C oxydase.

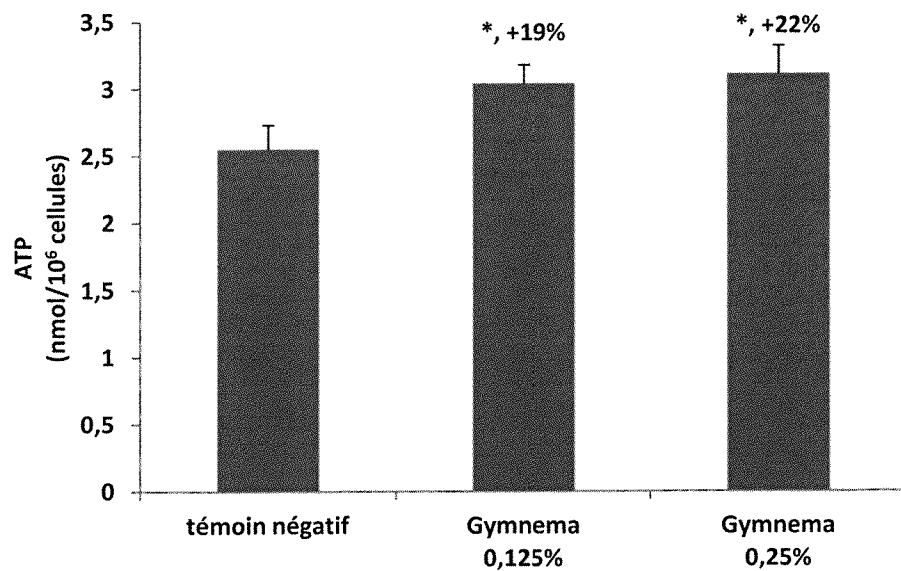
 9) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour induire la synthèse de ribose-5-phosphate.

10) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes pour tonifier des cellules de la peau et/ou stimuler du métabolisme des cellules de la peau.

5 11) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes pour permettre un fonctionnement optimal des cellules de la peau, assurer leur homéostasie, leur renouvellement et leur réparation.

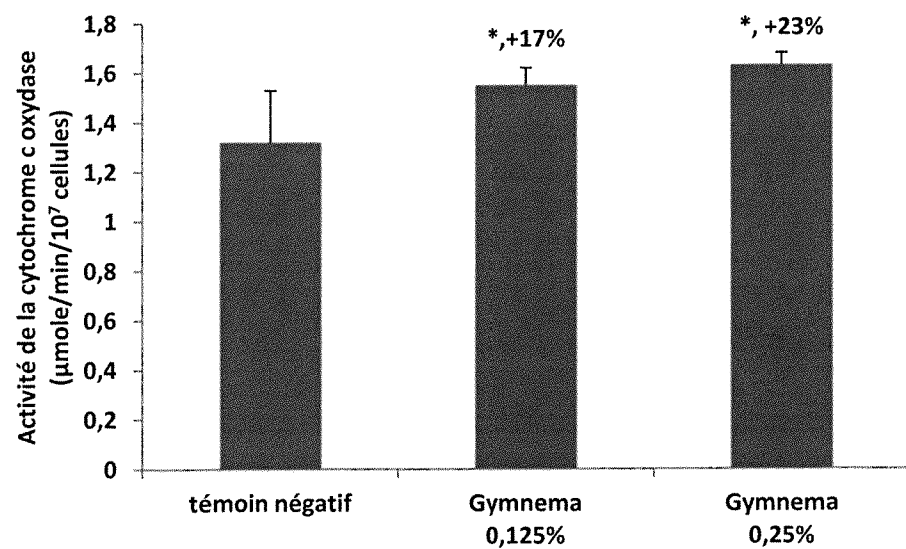
10 12) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes pour énergiser, tonifier, revitaliser ou détoxifier la peau, en particulier la peau stressée et fatiguée ; améliorer la couleur et/ou l'éclat du teint de la peau ; prévenir l'apparition d'une peau terne et/ou sans éclat ; prévenir et/ou réparer les marques de fatigue du visage telles que le teint terne et/ou grisé ; protéger les cellules
15 cutanées et la peau des facteurs environnementaux qui les agressent tels que le froid, le vent, la pollution.

20 13) Utilisation cosmétique d'un extrait de *Gymnema sylvestre* ou d'une composition cosmétique comprenant un tel extrait selon l'une quelconque des revendications précédentes pour tonifier le contour des yeux, énergiser les yeux fatigués, réduire les poches et les cernes et/ou retrouver un regard détendu et reposé.



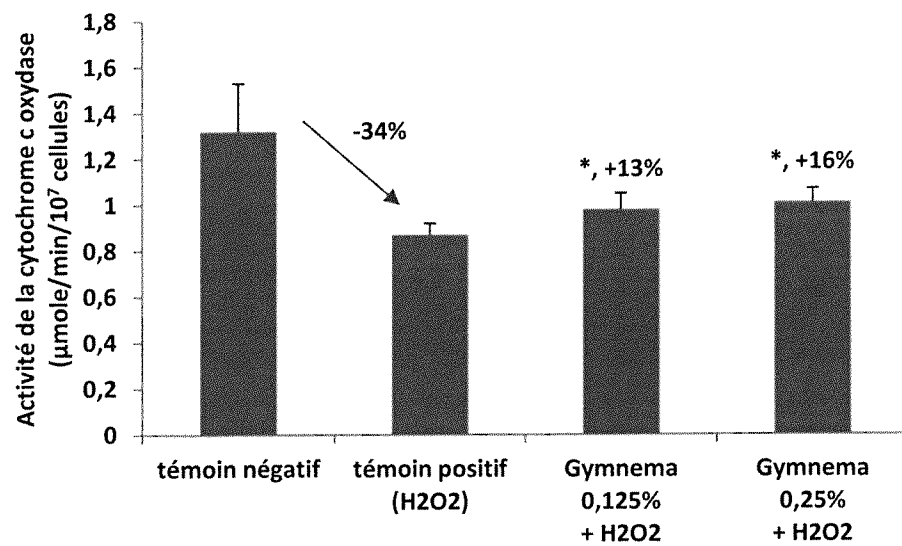
* significativement différent par rapport au témoin négatif $p < 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test)

Figure 1



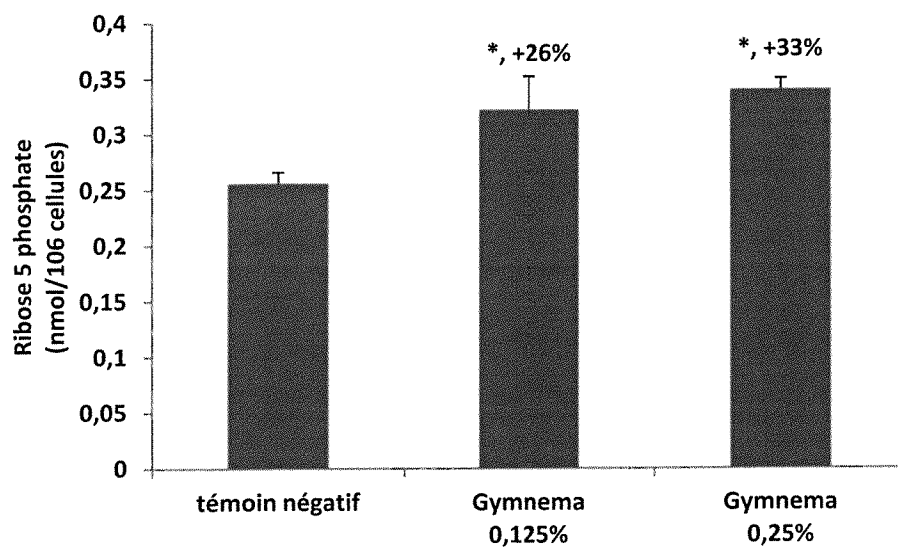
* significativement différent par rapport au témoin négatif $p < 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test)

Figure 2A



* significativement différent par rapport au témoin négatif p<0,05 (Wilcoxon Rank Sum Test)

Figure 2B



* significativement différent par rapport au témoin négatif p<0,05 (Wilcoxon Rank Sum Test)

Figure 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2014/067067

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K8/97 A61Q19/08 A61K36/27 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) A61K A61Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 1 July 2009 (2009-07-01), Noevir: "Face Conscious Serum", XP002729691, Database accession no. 1146474 product description ingredients -----	1-13
X	DATABASE WPI Week 201082 Thomson Scientific, London, GB; AN 2010-N26827 XP002729692, & KR 2010 0110990 A (HANKOOK COSMETICS MFG CO LTD) 14 October 2010 (2010-10-14) abstract ----- -/--	1-13
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 March 2015		Date of mailing of the international search report 10/04/2015
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 Grillenberger, Sonja

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2014/067067

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2009 143833 A (NICCA CHEMICAL CO; LIU YUAN YING) 2 July 2009 (2009-07-02) abstract -----	1-13
X	JP H02 292208 A (SANKO SEIBUTSU KAGAKU KENKYUSH) 3 December 1990 (1990-12-03) abstract -----	1-13
X	JP H02 207012 A (RYUHODO SEIYAKU KK) 16 August 1990 (1990-08-16) abstract -----	1-13
X	DATABASE WPI Week 201346 Thomson Scientific, London, GB; AN 2013-G14659 XP002729693, & KR 2013 0024168 A (HANKOOK COSMETICS MFG CO LTD) 8 March 2013 (2013-03-08) abstract -----	1-13
X	EP 0 923 937 A2 (COUNCIL SCIENT IND RES [IN] COUNCIL SCIENT IND RES) 23 June 1999 (1999-06-23) claims 1,8,11,18 page 7; example 4 page 15, paragraph 102 -----	1-13
X	WO 2005/067953 A1 (COGNIS FRANCE SAS [FR]; FREIS OLGA [FR]; DANOUX LOUIS [FR]; MOSER PHIL) 28 July 2005 (2005-07-28) claims 3,4 page 7, paragraph 3-4 page 23; example 1 -----	1-13
X	WO 01/17486 A2 (GHISALBERTI CARLO [BR]) 15 March 2001 (2001-03-15) claims 1,2,8,22,24 page 1 page 22; example 2 -----	1-13
Y	WO 2008/015698 A2 (BHAWARLAL JAIN BABULAL [IN]) 7 February 2008 (2008-02-07) claims 1,2,4 section 2; pages 5-6 en bas; page 8 -----	1-13
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2014/067067

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RAY ET AL: "Ethnomedicinal plants used by tribals of East Nimar region, Madhya Pradesh", INDIAN JOURNAL OF TRADITIONAL KNOWLEDGE, NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE COMMUNICATION AND INFORMATION RESOURCES, NEW DELHI - INDIA, vol. 10, no. 2, 1 April 2011 (2011-04-01), pages 367-371, XP018029482, page 369, column d	1-13
Y	----- WO 98/20851 A1 (LANATECH [FR]; VACHER ANNE MARIE [FR]; FRITSCH MARIE CLAIRE [FR]) 22 May 1998 (1998-05-22) claims tests; pages 9-12 -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2014/067067

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
KR 20100110990 A	14-10-2010	NONE	
JP 2009143833 A	02-07-2009	NONE	
JP H02292208 A	03-12-1990	JP 2810107 B2 JP H02292208 A	15-10-1998 03-12-1990
JP H02207012 A	16-08-1990	JP H0825865 B2 JP H02207012 A	13-03-1996 16-08-1990
KR 20130024168 A	08-03-2013	NONE	
EP 0923937 A2	23-06-1999	NONE	
WO 2005067953 A1	28-07-2005	EP 1750736 A1 ES 2343528 T3 JP 5070434 B2 JP 2007517824 A US 2008102143 A1 WO 2005067953 A1	14-02-2007 03-08-2010 14-11-2012 05-07-2007 01-05-2008 28-07-2005
WO 0117486 A2	15-03-2001	AU 6720600 A EP 1242044 A2 IT MI991898 A1 WO 0117486 A2	10-04-2001 25-09-2002 09-03-2001 15-03-2001
WO 2008015698 A2	07-02-2008	NONE	
WO 9820851 A1	22-05-1998	DE 881898 T1 DE 69718294 D1 DE 69718294 T2 EP 0881898 A1 ES 2123485 T1 FR 2755609 A1 US 6096316 A WO 9820851 A1	06-05-1999 13-02-2003 14-08-2003 09-12-1998 16-01-1999 15-05-1998 01-08-2000 22-05-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2014/067067

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K8/97 A61Q19/08 A61K36/27 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K A61Q		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS 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	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 1 juillet 2009 (2009-07-01), Noevir: "Face Conscious Serum", XP002729691, Database accession no. 1146474 product description ingredients -----	1-13
X	DATABASE WPI Week 201082 Thomson Scientific, London, GB; AN 2010-N26827 XP002729692, & KR 2010 0110990 A (HANKOOK COSMETICS MFG CO LTD) 14 octobre 2010 (2010-10-14) abrégé ----- -/--	1-13
☒ 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 30 mars 2015		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 10/04/2015
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 Grillenberger, Sonja

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2014/067067

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	JP 2009 143833 A (NICCA CHEMICAL CO; LIU YUAN YING) 2 juillet 2009 (2009-07-02) abrégé -----	1-13
X	JP H02 292208 A (SANKO SEIBUTSU KAGAKU KENKYUSH) 3 décembre 1990 (1990-12-03) abrégé -----	1-13
X	JP H02 207012 A (RYUHODO SEIYAKU KK) 16 août 1990 (1990-08-16) abrégé -----	1-13
X	DATABASE WPI Week 201346 Thomson Scientific, London, GB; AN 2013-G14659 XP002729693, & KR 2013 0024168 A (HANKOOK COSMETICS MFG CO LTD) 8 mars 2013 (2013-03-08) abrégé -----	1-13
X	EP 0 923 937 A2 (COUNCIL SCIENT IND RES [IN] COUNCIL SCIENT IND RES) 23 juin 1999 (1999-06-23) revendications 1,8,11,18 page 7; exemple 4 page 15, alinéa 102 -----	1-13
X	WO 2005/067953 A1 (COGNIS FRANCE SAS [FR]; FREIS OLGA [FR]; DANOUX LOUIS [FR]; MOSER PHIL) 28 juillet 2005 (2005-07-28) revendications 3,4 page 7, alinéa 3-4 page 23; exemple 1 -----	1-13
X	WO 01/17486 A2 (GHISALBERTI CARLO [BR]) 15 mars 2001 (2001-03-15) revendications 1,2,8,22,24 page 1 page 22; exemple 2 -----	1-13
Y	WO 2008/015698 A2 (BHAWARLAL JAIN BABULAL [IN]) 7 février 2008 (2008-02-07) revendications 1,2,4 section 2; pages 5-6 en bas; page 8 -----	1-13
	----- -/--	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2014/067067

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	RAY ET AL: "Ethnomedicinal plants used by tribals of East Nimar region, Madhya Pradesh", INDIAN JOURNAL OF TRADITIONAL KNOWLEDGE, NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE COMMUNICATION AND INFORMATION RESOURCES, NEW DELHI - INDIA, vol. 10, no. 2, 1 avril 2011 (2011-04-01), pages 367-371, XP018029482, page 369, colonne d -----	1-13
Y	WO 98/20851 A1 (LANATECH [FR]; VACHER ANNE MARIE [FR]; FRITSCH MARIE CLAIRE [FR]) 22 mai 1998 (1998-05-22) revendications tests; pages 9-12 -----	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2014/067067

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
KR 20100110990 A	14-10-2010	AUCUN	
JP 2009143833 A	02-07-2009	AUCUN	
JP H02292208 A	03-12-1990	JP 2810107 B2 JP H02292208 A	15-10-1998 03-12-1990
JP H02207012 A	16-08-1990	JP H0825865 B2 JP H02207012 A	13-03-1996 16-08-1990
KR 20130024168 A	08-03-2013	AUCUN	
EP 0923937 A2	23-06-1999	AUCUN	
WO 2005067953 A1	28-07-2005	EP 1750736 A1 ES 2343528 T3 JP 5070434 B2 JP 2007517824 A US 2008102143 A1 WO 2005067953 A1	14-02-2007 03-08-2010 14-11-2012 05-07-2007 01-05-2008 28-07-2005
WO 0117486 A2	15-03-2001	AU 6720600 A EP 1242044 A2 IT MI991898 A1 WO 0117486 A2	10-04-2001 25-09-2002 09-03-2001 15-03-2001
WO 2008015698 A2	07-02-2008	AUCUN	
WO 9820851 A1	22-05-1998	DE 881898 T1 DE 69718294 D1 DE 69718294 T2 EP 0881898 A1 ES 2123485 T1 FR 2755609 A1 US 6096316 A WO 9820851 A1	06-05-1999 13-02-2003 14-08-2003 09-12-1998 16-01-1999 15-05-1998 01-08-2000 22-05-1998