

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 **N° de publication :** **3 070 110**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)
②1 **N° d'enregistrement national :** **17 57743**
⑤1 Int Cl⁸ : **A 01 N 35/02** (2017.01), A 01 N 35/08, A 01 P 1/00,
A 61 K 8/34, A 61 K 8/35

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 MELANGE ANTIMICROBIEN CONTENANT DU 4-(3-ETHOXY-4-HYDROXYPHENYL)BUTAN-2-ONE ET D'UN COMPOSE CRESOL, ET COMPOSITION COSMETIQUE LE CONTENANT.

②2 **Date de dépôt :** 18.08.17.

③0 **Priorité :**

④3 **Date de mise à la disposition du public
de la demande :** 22.02.19 Bulletin 19/08.

④5 **Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention :** 30.08.19 Bulletin 19/35.

⑤6 **Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :**

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 **Références à d'autres documents nationaux
apparentés :**

Demande(s) d'extension :

⑦1 **Demandeur(s) :** L'OREAL Société anonyme — FR.

⑦2 **Inventeur(s) :** GALVAN JULIEN et CUPPERMAN
SYLVIE.

⑦3 **Titulaire(s) :** L'OREAL Société anonyme.

⑦4 **Mandataire(s) :** L'OREAL Société anonyme.

FR 3 070 110 - B1



a présente invention a pour objet un mélange antimicrobien contenant du 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one et d'un composé crésol, ainsi qu'une composition cosmétique contenant un tel mélange.

5 Le 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one (composé cétonique) est une substance intéressante en tant que conservateur de compositions cosmétiques pour protéger les compositions de la contamination microbienne, comme décrit dans la demande WO2011/039445.

10 Toutefois, il est souhaitable de pouvoir incorporer ledit composé cétonique en concentration réduite dans des compositions, notamment cosmétiques ou dermatologiques, tout en conservant une bonne performance de conservation antimicrobienne. Il est donc recherché à cet effet des associations du composé cétonique avec d'autres composés présentant une efficacité antimicrobienne.

15 Les inventeurs ont découvert, de façon inattendue, que l'association du 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one avec un composé crésol, en particulier le 4-isopropyl-3-méthylphenol, permet d'obtenir un mélange antimicrobien présentant une synergie d'activité antimicrobienne, en particulier sur bactéries Gram +, notamment sur *Enterococcus faecalis*, et sur les levures, en particulier sur *Candida albicans*. Les résultats de l'exemple 1 décrits ci-après montrent l'activité antimicrobienne synergique obtenue avec les mesures de concentrations minimales inhibitrices (CMI) faites avec plusieurs mélanges. L'activité antimicrobienne est considérée comme étant synergique lorsque le mélange antimicrobien permet d'obtenir un pourcentage de croissance de la souche inférieur ou égal à 20 %.

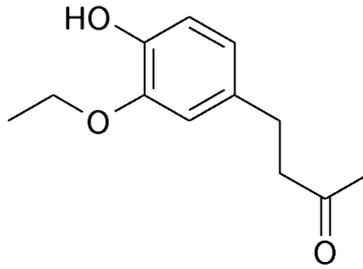
De façon plus précise, l'invention a pour objet un mélange antimicrobien comprenant, ou constitué (ou consistant en), de la 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one et d'un composé crésol particulier tel que défini ci-après.

25 L'invention a également pour objet une composition, notamment cosmétique ou dermatologique, comprenant dans un milieu physiologiquement acceptable, le dit mélange décrit précédemment.

30 L'invention a encore pour objet un procédé de traitement cosmétique non thérapeutique des matières kératiniques comprenant l'application sur les matières kératiniques d'une composition telle que décrite précédemment. Le procédé peut être un procédé cosmétique de soin ou de maquillage ou de nettoyage des matières kératiniques.

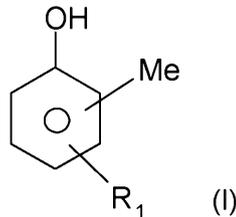
35 L'invention a également pour objet un procédé de conservation d'une composition comprenant un milieu physiologiquement acceptable, en particulier une composition cosmétique ou dermatologique, caractérisé en ce qu'il consiste à incorporer à ladite composition un mélange antimicrobien tel que décrit précédemment.

La 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one est un composé de formule :



Le composé crosol utilisé selon l'invention est un composé de formule (I):

5



dans laquelle R1 désigne H ou un radical isopropyl.

10 Le composé de formule (I) peut être choisi parmi 3-méthylphénol (numéro CAS 108-39-4), 2-méthylphénol (numéro CAS 95-48-7), 4-méthylphénol (numéro CAS 106-44-5), 4-isopropyl-3-méthylphénol (numéro CAS 3228-02-2). De préférence le composé de formule (I) est le 4-isopropyl-3-méthylphénol.

15 Avantageusement, la 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one et le composé crésol de formule (I) sont présents dans ledit mélange en une teneur telle que le ratio pondéral 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one / composé (I) va de 0.5 à 15, de préférence va de 1 à 15, et plus préférentiellement va de 1 à 12.

Préférentiellement, le mélange antimicrobien selon l'invention contient le 4-isopropyl-3-méthylphénol.

20 Le mélange antimicrobien peut avoir un ratio pondéral 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl) butan-2-one / composé crésol (I) (en particulier 4-isopropyl-3-méthylphénol) allant de 2 à 15, de préférence allant de 2.2 à 15, et plus préférentiellement allant de 2.2 à 12. Un tel mélange présente une bonne activité antimicrobienne sur la bactérie Gram + *Enterococcus faecalis*

25 Le mélange antimicrobien peut avoir un ratio pondéral 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl) butan-2-one / composé crésol (I) (en particulier 4-isopropyl-3-méthylphénol), allant de 0.5 à 15, de préférence allant de 1 à 15, de préférence allant de 1 à 12, et plus préférentiellement allant de 2 à 8. Un tel mélange présente une bonne activité antimicrobienne sur les levures, notamment sur *Candida Albicans*.

30 L'invention a aussi pour objet une composition comprenant, dans un milieu physiologiquement acceptable, le mélange antimicrobien décrit précédemment.

On entend par milieu physiologiquement acceptable, un milieu compatible avec les matières kératiniques d'êtres humains tels que la peau, le cuir chevelu, les cheveux, les ongles. Le dit milieu peut comprendre un ou plusieurs ingrédients additionnels, distinct du composé cétonique et du composé crésol de formule (I).

Le composé 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one peut être présent dans la composition selon l'invention, en une teneur allant de 0,01 % à 5 % en poids, par rapport au poids total de la composition, de préférence allant de 0,01 % à 3 % en poids, préférentiellement allant de 0,01 à 2, 5 % en poids, et plus préférentiellement allant de 0,01 à 2 % en poids.

- 5 La composition peut comprendre au moins un ingrédient additionnel choisi parmi l'eau, les huiles, les polyols ayant de 2 à 10 atomes de carbone, les gélifiants, les tensioactifs, les polymères filmogènes, les matières colorantes, les parfums, les charges, les filtres UV, les extraits végétaux, les actifs cosmétiques et dermatologiques, et les sels.

La composition selon l'invention peut comprendre une phase aqueuse.

- 10 La composition peut comprendre de l'eau qui peut être présente en une teneur allant de 5 % à 90 % en poids, par rapport au poids total de la composition, et de préférence allant de 35% à 75% en poids.

- 15 La composition peut comprendre en outre un polyol miscible à l'eau à la température ambiante (25 °C) notamment choisi parmi les polyols ayant notamment de 2 à 10 atomes de carbones, de préférence ayant de 2 à 6 atomes de carbone, tels que la glycérine, le propylène glycol, le 1,3-propanediol, le butylène glycol, le pentylène glycol, l'hexylène glycol, le dipropylène glycol, le diéthylène glycol, la diglycérine. Avantagusement, la composition selon l'invention comprend du 1,3-propanediol, notamment en une teneur allant de 0,1 à 20 % en poids, par rapport au poids total de la composition, et de préférence allant de 0,1 à 10 % en poids, préférentiellement allant de 0,5 à 5 % en poids.
- 20

Les compositions selon l'invention peuvent se présenter sous forme d'émulsions huile dans-eau (H/E) ou eau-dans-huile (E/H) ou multiple (triple : E/H/E ou H/E/H), de solutions huileuses, de gels huileux, de solutions aqueuses, de gels aqueux, de compositions solides. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles.

- 25 Les compositions selon l'invention peuvent être plus ou moins fluides 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. Elles peuvent être éventuellement appliquées sur la peau sous forme d'aérosol. Elles peuvent aussi se présenter sous forme solide, et par exemple sous forme de stick ou de poudre compacte.

- 30 La composition selon l'invention peut notamment se présenter sous la forme :

- d'un produit de maquillage, notamment de la peau du visage, du corps ou des lèvres ou des cils ;

- d'un gel ou lotion après-rasage; de produit de rasage ;

- d'un déodorant (stick, roll-on, aérosol)

- 35 - d'une crème dépilatoire;

- sous la forme d'une composition d'hygiène corporelle telle qu'un gel douche ou un shampooing;

- d'une composition pharmaceutique;

- d'une composition solide telle qu'un savon ou un pain de nettoyage;
- d'une composition aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression;
- d'une lotion de mise en plis, d'une crème ou d'un gel coiffant, d'une composition de teinture, d'une composition de permanente, d'une lotion ou d'un gel antichute, d'un après shampoing ;

5 - d'une composition de soin ou de nettoyage de la peau.

L'invention a aussi pour objet un procédé de préparation d'une composition, notamment cosmétique ou dermatologique, comprenant une étape de mélange du 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one, du composé crésol (I), et d'un ou plusieurs ingrédients additionnels, notamment cosmétiques ou dermatologiques, tels que ceux décrits précédemment.

L'invention est illustrée plus en détail dans l'exemple suivant. Les teneurs des ingrédients sont exprimées en pourcentage pondéral.

Exemple 1 : Détermination de la synergie d'activité antimicrobienne en CMI

La démonstration d'un effet de synergie d'activité antimicrobienne avec un mélange de 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one (appelée substance A) et du 4-isopropyl-3-méthylphenol (appelée substance B) est réalisée par le calcul de l'indice de synergie (ou FIC index), selon la formule suivante :

$$\text{FIC Index} = (\text{CMI de A avec B} / \text{CMI de A}) + (\text{CMI de B avec A} / \text{CMI de B})$$

avec :

- 20 - CMI de A avec B : concentration minimale en produit A dans l'association A + B permettant d'obtenir un effet inhibiteur ;
- CMI de B avec A : concentration minimale en produit B dans l'association A + B permettant d'obtenir l'effet inhibiteur ;
- CMI de A : concentration minimale inhibitrice du produit A seul ;
- 25 - CMI de B : concentration minimale inhibitrice du produit B seul.

Cette formule a été décrite pour la première fois dans l'article de F.C. Kull, P.C. Eisman, H.D. Sylwestrowka, and R.L. Mayer, Applied Microbiology 9:538-541, 1961.

Pour chaque composé testé seul, la CMI est considérée comme la première concentration permettant l'obtention d'un pourcentage de croissance microbienne inférieur ou égal à 20%.

30 Concernant les associations testées, CMI de A avec B et CMI de B avec A sont les concentrations respectives de A et de B dans les associations permettant l'obtention d'un pourcentage de croissance microbienne inférieur ou égal à 20%.

35 **Interprétation du FIC Index :**

Lorsque la valeur du FIC index est inférieure ou égale à 1, on considère que l'association des composés testés présente un effet synergique.

La synthèse des résultats obtenus est présentée dans les tableaux suivants.

5 L'association des composés A et B a été testée sur les souches suivantes *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*.

On a utilisé la souche microbienne *Enterococcus faecalis* ATCC 33186 et un milieu de culture liquide bouillon BHI (Brain Heart Infusion) à double concentration.

On a utilisé la souche microbienne *Candida albicans* ATCC 10231 et un milieu de culture liquide bouillon Sabouraud, à double concentration.

10 On utilise une microplaque 96 puits à une température d'incubation de 32,5 °C.

La durée d'incubation de la microplaque pour les souches précitées est de

- 18 à 24h en aérobiose pour *Candida albicans*.
- de 24 à 48h en aérobiose pour *Enterococcus faecalis*.

Essais

15 Pour chaque composé :

A = composé 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one

B = composé 4-isopropyl-3-méthylphenol

20 On a préparé une solution mère à 10 % (poids/volume) en mélangeant 1 g de composé dans 9 ml de solution aqueuse d'agar à 1‰. Des dilutions successives ont été effectuées avec la solution d'agar à 1‰.

Essais des composés A et B seul

25 50 µL de chacune des solutions filles obtenues contenant le composé A ou B est ajouté dans les puits de la microplaque. On y ajoute également 100 µL de bouillon nutritif liquide de Sabouraud ensemencé à double concentration par la souche *Candida albicans* et 50 µL de solution aqueuse d'agar à 1‰.

Essais des composés A et B en mélange

30 50 µL de chacune des solutions filles obtenues contenant le composé A et 50 µL de chacune des solutions filles obtenues contenant le composé B sont ajoutées dans les puits de la microplaque. On y ajoute également 100 µL de bouillon nutritif liquide de Sabouraud ensemencé à double concentration par la souche *Candida albicans*.

Témoin de croissance microbienne

On a également réalisé un témoin positif de croissance microbienne. Le témoin positif de croissance microbienne correspond au mélange de 100 µL d'une solution aqueuse d'agar 1‰ avec 100 µL de bouillon nutritif liquide de Sabouraud ensemencé à double concentration par la souche *Candida albicans* en l'absence des composés A et B.

5 Témoin d'absorbance des composés A et B seul

On a réalisé parallèlement un témoin d'absorbance des composés A et B seul. Ce témoin correspond à 100 µL de bouillon nutritif liquide de Sabouraud stérile à double concentration + 100 µL du composé A ou B à double concentration.

10 Dans les trois cas (témoin absorbance, témoin de croissance et essai) le volume final présent dans chacun des puits de la microplaque est de 200 µL.

Dans les deux cas (essai et témoin), l'inoculum représente la concentration de la souche *Candida albicans* présente dans le volume final des puits (200 µL) et est compris entre 2 et $6 \cdot 10^5$ UFC/mL en *Candida albicans*.

15 La concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque composé A et B seul et en association a été déterminée de façon connue à l'aide des mesures de densité optique à la longueur d'onde de 620 nm.

Le test tel que décrit ci-dessus (essais, témoins absorbance et témoin de croissance) a de nouveau été réalisé pour tester l'association A + B sur la souche *Enterococcus faecalis*.

On a obtenu les résultats suivants :

20 *Candida Albicans*

Concentrations testées (en % poids)	0 de A	0,025 A	0,05 A	0,1 A	0,2 A
0 de B		69	63	38	4
0,0025 B	87	77	63	41	6
0,005 B	82	58	54	28	2
0,01 B	73	52	41	18 (FIC 0.75)	2
0,02 B	35	18 (FIC 0.63)	8 (FIC 0.75)	3 (FIC 1)	1
0.04 B	1	1	1	1	0

CMI de A seul en %	CMI de B seul en %	CMI de chaque composé en mélange		FIC Index	Ratio
		A %	B %		
0,2	0,04	0,025	0,2	0,63	1.25

Les résultats obtenus montrent une synergie de l'activité inhibitrice pour les mélanges :

- i) 0,025 % de A et 0,02 % de B soit ratio A/B = 1.25
- ii) 0,05 % de A et 0,02 % de B soit ratio A/B = 2.5
- 5 iii) 0,1 % de A et 0,02 % de B soit ratio A/B = 5
- iv) 0,1 % de A et 0,01 % de B soit ratio A/B = 10

Enterococcus Faecalis

Concentrations testées (en % poids)	0 de A	0.0625 A	0.125 A	0.25 A	0.5 A	1 A
0 de B		42	42	33	34	24
0.0125 B	45	41	41	37	40	21
0.025 B	44	36	38	30	36	-19
0.05 B	27	39	12 (FIC 0.625)	11 (FIC 0.75)	11 (FIC 1)	-27
0.1 B	23	-18	7	8	-4	-90

CMI de A seul en %	CMI de B seul en %	CMI de chaque composé en mélange		FIC Index	Ratio
		A %	B %		
1	0,1	0,125	0,05	0,63	1.25

Les résultats obtenus montrent une synergie de l'activité inhibitrice pour les mélanges :

i) 0,125 % de A et 0,05 % de B soit ratio A/B = 1.25

ii) 0,25 % de A et 0,05 % de B soit ratio A/B = 2.5

iii) 0,5 % de A et 0,05 % de B soit ratio A/B = 5

5

10

15

20

25

30

35

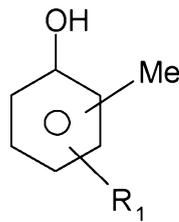
40

45

REVENDEICATIONS

1. Mélange antimicrobien comprenant de la 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one et un composé crésol de formule (I) :

5



(I)

10

dans laquelle R1 désigne H ou un radical isopropyl.

2. Mélange selon la revendication précédente dans lequel le composé crésol de formule (I) est choisi parmi 2-méthylphénol, 3-méthylphénol, 4-méthylphénol, 4-isopropyl-3-méthylphénol.

15

3. Mélange selon l'une des revendications précédentes dans lequel le composé crésol de formule (I) est le 4-isopropyl-3-méthylphénol.

20

4. Mélange selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend la 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one et le composé crésol (I) en quantités telles que le rapport pondéral 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one / composé crésol (I) va de 0.5 à 15, de préférence va de 1 à 15, et plus préférentiellement va de 1 à 12.

25

5. Mélange antimicrobien selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il présente une activité antimicrobienne sur les levures, notamment sur *Candida albicans*, et sur les bactéries Gram +, notamment sur *Enterococcus faecalis*.

30

6. Mélange antimicrobien selon les revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il présente une activité antimicrobienne sur la levure *Candida Albicans*.

7. Mélange antimicrobien selon les revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il a un ratio pondéral 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl) butan-2-one / composé crésol (I) allant de 2 à 15, de préférence allant de 2.2 à 15, et plus préférentiellement allant de 2.2 à 12.

35

8. Mélange antimicrobien selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'il présente une activité antimicrobienne sur la bactérie Gram + *Enterococcus faecalis*.

9. Composition comprenant, dans un milieu physiologiquement acceptable, un mélange antimicrobien selon l'une des revendications 1 à 8.

40

10. Composition selon la revendication précédente, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un ingrédient additionnel choisi parmi l'eau, les huiles, les polyols ayant de 2 à 10 atomes de carbone, les gélifiants, les tensioactifs, les polymères filmogènes, les matières colorantes, les parfums, les charges, les filtres UV, les extraits végétaux, les actifs cosmétiques et dermatologiques, et les sels.

11. Composition selon l'une des revendications 9 ou 10, caractérisée en ce que la 4-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)butan-2-one est présente en une teneur allant de 0,01 % à 5 % en poids, par rapport au poids total de la composition, de préférence allant de 0,01 % à 3 % en poids, préférentiellement allant de 0,01 à 2, 5 % en poids, et plus préférentiellement allant de 0,01 à 2 % en poids.
12. Procédé de traitement cosmétique non thérapeutique de soin et/ou de maquillage et/ou de nettoyage des matières kératiniques comprenant l'application sur lesdites matières kératiniques d'une composition selon l'une quelconque des revendications 9 à 11.
13. Procédé de conservation d'une composition comprenant un milieu physiologiquement acceptable, en particulier une composition cosmétique ou dermatologique, caractérisé en ce qu'il consiste à incorporer à ladite composition un mélange antimicrobien tel que défini à l'une des revendications 1 à 8.

15

20

25

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

US 2004/059005 A1 (WHITE MICHAEL JOHN ROBERT [NL] ET AL) 25 mars 2004 (2004-03-25)

WO 2011/039445 A1 (OREAL [FR]; DALKO MARIA [FR]) 7 avril 2011 (2011-04-07)

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT