

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : **2 872 041**  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **04 06958**

⑤1 Int Cl<sup>7</sup> : A 61 K 7/48, A 61 K 7/40, 47/46, 35/78, 47/30, A 61 P  
17/00

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 25.06.04.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 30.12.05 Bulletin 05/52.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été  
établi à la date de publication de la demande.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : LABORATOIRES MAURICE MESSE-  
GUE Société par actions simplifiée — FR.

⑦2 Inventeur(s) : LECLERE JACQUES.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : CABINET MORELLE ET BARDOU.

⑤4 COMPOSITION DERMIQUE COMPRENANT UN EXTRAIT DE FICAIRE.

⑤7 La présente invention a pour objet l'utilisation dans  
une composition ou pour la préparation d'une composition  
comprenant au moins un principe actif, d'une quantité effi-  
cace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la fa-  
mille des renonculacées, comme agent de pénétration  
cutanée dudit principe actif

Un autre objet de la présente invention est une compo-  
sition cosmétique comprenant un tel extrait cellulaire en as-  
sociation avec un principe actif dans un milieu  
physiologiquement acceptable. De préférence, la compo-  
sition selon l'invention comprend un extrait cellulaire de tuber-  
cules de *Ranunculus ficaria*. De manière particulièrement  
avantageuse, l'extrait utilisé est un jus cellulaire total obtenu  
par cryoextraction, contenant les constituants hydrosolu-  
bles à froid du suc dudit végétal, notamment des saponosi-  
des tels que l'hédéragénine et l'acide oléanolique, liés de  
manière stable à au moins un sucre. Cette forme associée  
a une activité accrue par rapport à la forme dissociée pré-  
sente dans les extraits conventionnels.

FR 2 872 041 - A1



COMPOSITION DERMIQUE  
COMPRENANT UN EXTRAIT DE FICAIRE

5

La présente invention se rapporte à la formulation de préparations à usage topique, notamment à l'utilisation de promoteurs de pénétration des principes actifs dans des crèmes à usage cosmétique.

10

Elle a pour objet l'utilisation d'un extrait cellulaire issu d'au moins un végétal appartenant à la famille des renonculacées comme agent de pénétration cutanée d'un principe actif. Un autre objet de la présente invention est une composition cosmétique comprenant un tel extrait cellulaire en association avec un actif dans un milieu physiologiquement acceptable pour favoriser la pénétration de l'actif lors de son application topique.

15

L'absorption percutanée se définit comme étant la pénétration de matière à travers la peau, sans incision de celle-ci. La peau est composée de trois grandes couches cellulaires en strates: l'épiderme, le derme et l'hypoderme, formant une enveloppe protectrice pour le corps en particulier par la limitation des échanges de matière entre l'intérieur et l'extérieur. Le franchissement de la barrière cutanée par les substances venant de l'extérieur s'effectue plus ou moins facilement en fonction d'un certain nombre de paramètres, soit par passage à travers les différentes couches cellulaires de la peau, soit par passage à travers les espaces intercellulaires.

20

25

La formulation de préparations incluant un principe actif à vocation cosmétique ou thérapeutique doit donc tenir compte des caractères physico-chimiques de la peau pour lui permettre de franchir ou non la barrière cutanée, ce qui lui confèrera une action plus ou moins rapide, durable et intense, en profondeur ou en surface. Dans le cas où le principe actif doit produire ses effet dans les couches cellulaires sous-cutanées, une pénétration sans transformation métabolique au niveau de la peau est recherchée.

30

35

De nombreuses études ont été menées pour mettre au point des compositions pénétrant plus efficacement à travers la peau. On sait que la nature de la peau, liée par exemple à l'âge, ainsi que le mode d'application des préparations peuvent influencer la pénétration cutanée. Bien évidemment, la nature des ingrédients joue aussi un rôle, qu'il s'agisse du principe actif, de l'excipient ou d'un éventuel additif destiné à favoriser l'absorption du principe actif. Cependant, si le principe actif peut participer à la pénétration cutanée de par ses propriétés

physico-chimiques propres (viscosité, liposolubilité, hydrosolubilité, concentration, poids moléculaire, ...), il est un élément obligatoire pour un usage donné, qu'il ne peut être question de modifier.

5 On sait que l'excipient joue aussi un rôle essentiel. Il influence la pénétration cutanée par ses propriétés d'affinité plus ou moins marquées avec les cellules constitutives de la peau. Il n'a pas d'effet pharmaceutique, mais il contient des substances inactives qui ont pour but d'acheminer le principe actif jusqu'à son lieu d'action.

10 Des ingrédients appelés promoteurs d'absorption peuvent également être utilisés. Ce sont des accélérateurs d'absorption qui ont pour fonction d'augmenter soit la solubilité, soit la diffusion des principes actifs à travers la peau. Les substances utilisées à ce jour appartiennent à trois classes principales. Une première classe est constituée de substances anioniques du type disodium laureth sulfosuccinate, dont l'efficacité est intéressante mais  
15 dont l'usage est limité en cosmétique car elles sont malheureusement irritantes. Une autre classe comprend les éthers glycol, aujourd'hui interdits en cosmétique, sauf l'éthoxydiglycol. Ce produit, connu sous le nom commercial de Transcutol™ (Gattefossé, France), n'est pas dénué de toxicité et est toujours suspecté par les consommateurs. La troisième classe est constituée du DMSO (Diméthylsulfoxyde), interdit pour un usage cosmétique.

20

Ainsi jusqu'à présent, les substances ou composants utilisés dans la préparation des produits cosmétiques n'ont pas donné entière satisfaction vis-à-vis de la pénétration transcutanée desdits produits.

25 Le problème posé est donc de favoriser la pénétration cutanée d'un actif afin d'en augmenter et/ou d'en prolonger l'action, en minimisant les risques d'apparition d'effets indésirables, notamment d'irritation cutanée ou de réactions allergiques. Il a été constaté, de manière tout à fait inattendue, que l'utilisation d'un extrait de cellules d'au moins un végétal de la famille des renonculacées présentaient des propriétés intéressantes pour stimuler la pénétration à  
30 travers la peau d'actifs présents dans des préparations destinées à une application topique.

On sait qu'à l'heure actuelle, il est fait appel de plus en plus largement à des produits d'origine végétale, en tant que principes actifs, que ce soit dans le domaine cosmétique ou pharmaceutique. Ces produits sont en effet réputés être moins allergènes et plus  
35 généralement mieux respecter les équilibres biologiques naturels. Cependant à ce jour, un extrait végétal n'a pas été utilisé en tant qu'agent de pénétration cutanée dans une composition cosmétique.

La présente invention a pour objet l'utilisation dans une composition ou pour la préparation d'une composition comprenant au moins un principe actif, d'une quantité efficace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la famille des renonculacées, comme agent de pénétration cutanée dudit principe actif. On entend par agent de pénétration un agent qui favorise la pénétration d'un principe actif à travers la barrière cutanée, de façon à accélérer, accroître ou prolonger l'action dudit principe actif. Outre les avantages exposés plus haut, leur emploi permet de réduire les doses d'actifs administrés, ce qui a également une répercussion sur la bonne tolérance des produits. La réduction des coûts de production en découlant est un aspect à prendre en compte également.

Ces extraits cellulaires peuvent être de préférence utilisés comme agents permettant de réduire la fixation dudit principe actif aux protéines des tissus de la peau. De manière encore préférée, ces extraits cellulaires peuvent être utilisés comme agents de pénétration cutanée d'un actif, permettant de saturer la voie métabolique dudit principe actif au niveau de la peau.

Il a été mis en évidence pour la première fois que les variétés de cette famille végétale contenaient dans leur suc des composants susceptibles d'agir sur la perméabilité cutanée. On sait que leurs racines renferment des saponosides de type triterpénique biologiquement actifs. Des extraits préparés à partir des racines tubérisées constituent l'ingrédient actif de médicaments prescrits de nos jours pour leur action sur la circulation sanguine. Le genre *Ranunculus ficaria* également appelé Ficaire notamment, est connu depuis des siècles pour ses propriétés antihémorroïdaires. On a maintenant découvert qu'un extrait cellulaire de renonculacée pouvait être utilisé en association avec un actif dans un milieu physiologiquement acceptable pour favoriser la pénétration de l'actif lors de son application topique.

Les saponosides de la Ficaire, hétérosides de l'hédéragénine et de l'acide oléanolique, sont particulièrement intéressants car parmi les moins irritants du règne végétal. C'est pourquoi, l'extrait cellulaire selon l'invention est de préférence un extrait de cellules de tubercules de *Ranunculus ficaria*.

L'extrait cellulaire de renonculacée agissant sur la perméabilité cutanée est associé dans une composition à un actif destiné à agir au niveau de la peau par application cutanée. De manière avantageuse dans l'utilisation selon l'invention, ledit au moins un principe actif est choisi parmi les agents amincissants, les agents apaisants, les agents cicatrisants.

Plus précisément, de préférence, on choisit ledit au moins un principe actif parmi les bases

puriques, les bases xanthiques, les flavones, les isoflavones, la caféine, la théophylline, la théobromine. L'utilisation en tant qu'agent de pénétration d'un extrait cellulaire de renonculacée est en effet particulièrement efficace vis-à-vis de ces composés. Une hypothèse a été émise selon laquelle les saponosides présents dans l'extrait cellulaire de renonculacée satureront les sites protéiques impliqués dans le métabolisme de ces composés au niveau de la peau. En effet, lesdits composés actifs comme les saponosides de l'extrait cellulaire, sont des bases xanthiques ou des structures voisines, dont le métabolisme au niveau de la peau est sous contrôle du système microsomal oxydatif lié aux cytochromes responsables des N-déméthylations, ce système étant saturable.

La présente invention a également pour objet des compositions cosmétiques contenant, dans un milieu physiologiquement acceptable, une quantité efficace d'au moins un principe actif et une quantité efficace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la famille des renonculacées. De préférence, la composition selon l'invention contient un extrait cellulaire de tubercules de *Ranunculus ficaria*.

Selon une autre caractéristique avantageuse de la composition revendiquée, ledit au moins un principe actif est choisi parmi les agents amincissants, les agents apaisants, et les agents cicatrisants. De préférence, ledit au moins un principe actif est choisi parmi les bases puriques, les bases xanthiques, les flavones, les isoflavones, la caféine, la théophylline, et la théobromine. Il peut être apporté dans la composition selon l'invention sous forme pure ou par le biais de substances complexes. Par exemple, un extrait de camomille, source végétale de flavones et de flavonoïdes, peut être employé comme agent apaisant; les terpènes de *Centella asiatica* peuvent être employés comme agents cicatrisants et antiprurigineux; la caféine est quant à elle utilisée comme agent lipolytique.

L'extrait cellulaire peut être préparé selon une des nombreuses méthodes connues de l'homme du métier pour extraire des composés des tissus végétaux. Cependant les extraits végétaux obtenus par les méthodes classiques d'extraction alcoolique ou hydro-alcoolique, par macération ou lixivation, présentent l'inconvénient de ne comporter qu'une fraction des substances contenues dans la plante, celles-ci n'étant soit pas extraites, soit dégradées durant les étapes d'extraction et de concentration. Ces procédés peuvent en particulier provoquer la dissociation d'unités moléculaires sensibles à la chaleur et d'amoindrir ainsi leur efficacité.

De manière particulièrement avantageuse, l'extrait utilisé dans une composition selon l'invention ou pour sa préparation, est un jus cellulaire total obtenu par cryoextraction, contenant les constituants hydrosolubles à froid appartenant au suc dudit végétal, notamment

des sucres, des sels minéraux, des protéines, etc ... . Selon cette méthode, le matériel végétal est broyé et tamisé à l'état congelé de sorte que les membranes celluloses soient rompues. Puis une ou plusieurs étapes de pressage des fractions obtenues sont réalisées à une température de quelques degrés au-dessus de zéro. Clarification et filtration sont réalisées après stabilisation par addition de propylène glycol. Ce jus peut être utilisé en l'état dans la composition selon l'invention. Il peut être conservé plusieurs mois à une température de réfrigération, à l'abri de la lumière. Le jus cellulaire dont il est question ici est donc une solution obtenue par pressage à froid du matériel végétal appelée "jus total". Ce jus présente l'avantage de posséder l'ensemble des principes actifs de la plante à une forte concentration. Il est exempt des composés celluloses et des protoplastes éliminés par filtration et il contient l'essentiel des substances hydrosolubles du suc de la plante, sous la forme active dans laquelle elles se trouvent naturellement dans le végétal.

En particulier, ledit jus cellulaire total contient des saponosides liés de manière stable à au moins un sucre, cette forme associée naturellement présente dans le suc cellulaire des renonculacées, ayant révélé une activité accrue par rapport à la forme dissociée obtenue par les méthodes d'extraction conventionnelles. Au contraire, dans les extraits utilisés à ce jour pour la préparation de compositions cosmétiques ou dermiques, la base et son sucre sont dissociés, principalement du fait des conditions thermiques de préparation des extraits, alors que cette association est conservée dans le jus cellulaire. La Ficaire contient principalement de l'hédéragénine, et secondairement de l'acide oléanolique. La Figure 1 présente la formule de ces hétérosides en association avec des sucres, qui peut être l'hédéragénine (avec  $R = CH_2OH$ ), ou l'acide oléanolique (avec  $R = CH_3$ ) (d'après Jean Bruneton, 1993, "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales", Ed. Lavoisier).

Selon un mode préféré de mise en œuvre, la composition selon l'invention contient ledit extrait cellulaire à raison de 0,1 % à 20 %, de préférence de 1 % à 10 %, en poids rapporté au poids total de la composition.

Dans une variante d'exécution, la composition selon l'invention peut contenir, outre les ingrédients décrits précédemment, un ou plusieurs autres composants dont l'action, complémentaire de celle du principe actif, est choisie en fonction de l'application recherchée pour la composition cosmétique considérée. Ces composants complémentaires peuvent être en particulier choisis parmi les agents drainants, les agents raffermissants, les agents anti-irritants, les filtres solaires, les anti-inflammatoires. La composition peut par exemple incorporer un extrait de thé vert pour ses propriétés drainantes, un extrait de Lierre grimpant qui facilite la microcirculation et diminue la sensibilité au pincement des capitons, un agent

raffermissant comme un extrait huileux de *Kigelia Africana*, un anti-irritant tel que le stéarate glycerhétinique, des filtres UV tels que l'acide octyl-méthoxycinnamique, l'acide octyl-salicylique ou le butyl-méthoxydibenzoyl-méthane, et également un anti-inflammatoire comme l' $\alpha$ -bisabolol. Ces composants sont connus de l'homme du métier qui sait les  
5 utiliser au dosage convenant à l'emploi prévu.

Pour former la composition selon l'invention, le ou les composants actifs ainsi que l'agent de pénétration sont introduits dans un milieu physiologiquement acceptable. Celui-ci peut être constitué d'eau et/ou d'au moins un solvant organique dans des proportions déterminées  
10 selon les règles de l'art. De même, la composition contient un ou plusieurs additifs choisis dans le groupe constitué par les gélifiants, les épaississants, les conservateurs, les émulsionnants, les parfums, les agents hydratants, les agents pigmentants, les émoullients, les tensioactifs.

Parmi les gélifiants, on peut citer la gomme xanthane, les carboxyvinyl polymères tel que l'Ultrez 10™ (BF Goodrich USA) ou leurs sels de triéthanolamine comme le Carbomer - TEA™ (BF Goodrich USA). Parmi les épaississants, on utilise par exemple l'alcool cétyle, le palmitate de cétyle ou les alcools cétostéaryliques comme le SténoC7 (Cognis, Allemagne) ou le Sipol C16,C18,C7 (Cognis, Allemagne). Un conservateur peut être le  
15 phénoxyéthanol, le méthyl-paraben, le propyl-paraben, l'EDTA trisodique, le benzoate de sodium. Un émulsionnant est choisi par exemple parmi le stéarate de glycérol, le sucrose sesquistéarate ou les nombreuses préparations commerciales disponibles, par exemple Polysorbate 60 (Quimasso, USA), Arlacel 60 (Quimasso, USA), Arlacel 165 (Quimasso, USA), Tween 60 (Quimasso, USA), Span 60 (Quimasso, USA), PEG 20 Méthyl-glucose  
20 sesquistéarate (Amerchol, USA), PEG 20 oleyl éther (Croda, Grande Bretagne). Également, un émoullient peut être incorporé, tel que les triglycérides capriques et capryliques, le méthyl polysiloxane, l'octyl dodécanol, l'isononyl isononanoate. Enfin, si on le souhaite on peut ajouter un pigment, un anti-oxydant, un agent hydratant, un tensioactif, un solvant des filtres solaires, par exemple un alkyl benzoate C12-C15, selon les règles de l'art connues.

30 La composition peut encore comprendre d'autres ingrédients communément utilisés pour la formulation des produits cosmétiques, par exemple un véhicule tel que l'huile de vaseline, ou l'huile de tournesol oléique, un agent humectant tel que la glycérine ou le butylène glycol, un neutralisant tel que la triéthanolamine, un complexant tel que l'EDTA disodique et trisodique  
35 ou encore un agent de consistance tel que le stéarate de glycol.

Les quantités de ces différents additifs et adjuvants sont celles classiquement utilisées. Des

exemples illustreront cet aspect de la mise en œuvre de l'invention, faisant appel aux pratiques établies dans le domaine technique de la formulation des produits destinés à une application topique.

5 Les compositions ainsi obtenues ont l'aspect d'une crème blanche ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion ou d'une pâte, en fonction de la formulation choisie pour l'usage envisagé.

10 Un autre objet de la présente invention est l'utilisation d'un extrait cellulaire issu d'un végétal de la famille des renonculacées dans une composition ou pour la préparation d'une composition telle que décrite ci-dessus. Selon un mode préféré de mise en œuvre, est revendiquée l'utilisation d'un jus cellulaire total issu de *Ranunculus ficaria* dans une composition ou pour la préparation d'une composition selon l'invention.

15 Les exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention, sans présenter un quelconque caractère limitatif.

#### 20 **EXEMPLE 1 - Caractéristiques de l'extrait de plante**

Un jus cellulaire préparé à partir de racines fraîches de Ficaire est conservé dans un mélange propylène glycol / eau sans conservateur. Ce produit, préparé selon les enseignements de la demande de brevet FR 89 14186, et commercialisé par Greentech (France), présente les caractéristiques suivantes:

25

- Caractéristiques organoleptiques

Aspect	limpide
Couleur	jaune brun cuivré
Odeur	caractéristique

30

- Caractéristiques physico-chimiques

Solubilité : 1% dans l'eau	soluble
Solubilité : 1% dans l'alcool 95°	soluble
Matière sèche (1 g à 100-105°C pendant 16-20 heures) : 0,5% ± 0,02%	
Densité à 25°C :	1,02
pH (direct) :	6,5 ± 0,5
Indice de réfraction à 25°C :	1,375 - 1,395

35

	• Caractéristiques microbiologiques	
	Germe aérobie totaux	< 100 cfu / ml
	Levures et moisissures	< 100 cfu / ml
5	Entérobactéries	< 1 cfu / ml

## EXEMPLE 2 - Mise en évidence de l'effet sur la pénétration cutanée

### 10 1) - Principe

Pour prouver le rôle d'agent de pénétration d'un extrait cellulaire de Ficaire, la capacité de celui-ci à véhiculer à travers la peau un actif utilisé comme amincissant a été étudiée. Pour ce faire, les cinétiques du passage transcutané de la caféine contenue dans une préparation en présence ou en absence d'un extrait de Ficaire ont été comparées. Les essais de perméabilité cutanée ont été réalisés *ex-vivo* sur peau humaine par la technique décrite par T.J. FRANZ (J. Invest. Dermatol., 1975, 64:190-195).

### 2) - Composition des crèmes Test et Témoin

Toutes les teneurs sont exprimées en gramme pour 100 gramme de composition.  
L'extrait cellulaire de Ficaire utilisé est tel que décrit à l'exemple 1.

COMPOSANTS	Test (% en poids)	//	Témoin (% en poids)
25 Ficaire Medulat (Greentech, France)	5,000	//	eau déminéralisée 5,000
Caféine	1,000		1,000
Glycérine	5,000		5,000
2-phénoxyéthanol	0,700		0,700
Ultrez 10	0,300		0,300
30 Polysorbate 60	1,900		1,900
Arlacel 60	1,100		1,100
Capriq. Capriq. Triglycéride	5,000		5,000
Stenol C7 / Sipol C16C18C7	1,500		1,500
Huile de vaseline A 50/Marc	3,000		3,000
35 Triéthanolamine	0,300		0,300
Eau déminéralisée filtrée	75,200		75,200

La préparation de la crème Témoin est réalisée comme suit:

Dans un récipient adapté, la caféine, la glycérine et le 2-phénoxyéthanol sont mélangés dans l'eau et portés à 70°C. Puis l'Ultrez 10 est dispersé jusqu'à obtention d'une pâte homogène.

5 En parallèle on mélange et on porte à 72°C le polysorbate 60, l'Arlacel 60, le triglycéride caprique caprylique, le Stenol C7 / Sipol C16,C18,C7 et l'huile de vaseline. On incorpore à ce mélange le contenu du premier récipient et on maintient sous agitation pendant 10 minutes avant de neutraliser la pâte avec la triéthanolamine. Lorsque la pâte est refroidie à 25°C, on complète à 100% avec l'eau filtrée restante.

10

La crème Test est préparée selon le même protocole, mais lorsque la pâte atteint la température de 35°C, on ajoute l'extrait cellulaire de Ficaire, puis on complète à 100% avec de l'eau filtrée.

15

### 3) - Protocole expérimental

Un fragment de peau (explant de peau humaine) fraîchement prélevé est positionné dans une cellule de Franz. La surface de transfert est d'environ 1 cm<sup>2</sup>. Le milieu récepteur d'un volume d'environ 1 ml est constitué d'une solution de milieu de culture. Le dispositif expérimental est représenté Figure 2.

20

La préparation est maintenue à 37°C dans un incubateur à 5% de CO<sub>2</sub>. Après application de la crème à la surface de la peau, des prélèvements du milieu récepteur sont réalisés aux intervalles de temps T + 1 heure, T + 2 heures, T + 4 heures, T + 8 heures, et T + 24 heures. La caféine est dosée par HPLC dans les échantillons de milieu récepteur prélevés. Cette procédure est réalisée dans les mêmes conditions, avec la crème à la caféine contenant l'extrait de Ficaire (crème Test) et celle sans extrait de Ficaire (crème Témoin).

25

### 4) - Dosage de la caféine dans le milieu récepteur

Le dosage de la caféine dans le milieu récepteur a été réalisé par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance), avec une détection par absorption UV à 280 nm. Les conditions d'analyse sont les suivantes:

30

- Colonne phase inverse greffée C18;
- Injection directe de l'échantillon après filtration (0,22µm);
- Débit : 1 ml / mn;
- Solvant A : eau / acide trifluoro-acétique (TFA) 1% (97,5 / 2,5; v/v)
- Solvant B : acétonitrile (ACN) / solvant A (80 / 20 ; v/v);
- Gradient d'élution : voir tableau 1

35

TABLEAU 1

	temps (mn)	% B	temps (mn)	% B
5	0,0	18	33,0	80
	11,5	18	36,0	100
	18,5	23	42,0	100
	22,5	24,5	43,0	18
10	28,5	31,5	48,0	18
	31,5	40		

### 5) - Résultats

15 Les valeurs de dosage obtenues sont lues par rapport à une courbe étalon, établie à partir de caféine pure (Sigma) et mettant en relation la quantité injectée de caféine avec l'absorbance à 280 nm. La courbe étalon est la droite d'équation

$$y = 1464,396 x + 13,756, \text{ avec } r^2 = 1,000.$$

20

Les résultats obtenus pour la crème avec extrait de Ficaire (Test) et sans extrait de Ficaire (Témoin) sont les suivants (Tableau 2). Ils sont représentés par la courbe Figure 3.

TABLEAU 2

25

Temps	Concentration en caféine ( $\mu\text{g} / 100 \mu\text{l}$ )		% Test / Témoin
	Crème Témoin	Crème Test	
1 h	0,53	0	-
30 2 h	0,40	0,34	-
4 h	0,48	0,95	-
8 h	2,48	2,97	-
24 h	9,80	13,62	40

35

### 6) - Conclusions

Dans les conditions expérimentales décrites, les résultats montrent une augmentation

progressive du passage transcutané de la caféine en fonction du temps. Ce passage transcutané est potentialisé dans la formulation Test comparativement à la formulation Témoin après 24 heures de contact.

5

### EXEMPLE 3 - Formulation d'une crème anti-irritante

Une crème anti-irritante comprenant 5% d'extrait cellulaire de Ficaire tel que décrit à l'exemple 1 et un agent apaisant (extrait de Camomille contenant des flavones et flavonoïdes), ainsi qu'un anti-inflammatoire ( $\alpha$ -bisabolol) est préparée à l'aide des ingrédients suivants:

10

COMPOSANTS	QUANTITÉ (% poids)	
15	Extrait cellulaire de Ficaire	5,000
	Extrait de camomille	1,000
	$\alpha$ -bisabolol	0,500
	Butylène glycol 1-3	5,000
	Phénoxyéthanol	0,500
20	Méthyl paraben	0,150
	EDTA disodique	0,100
	Triglycérade caprique caprylique	8,000
	Alcool cétylique	1,000
	Stéarate de glycérol	3,500
25	Tween 60	3,500
	Span 60	2,500
	Méthyl polysiloxane V 100	1,000
	Parfum	0,500
	Eau déminéralisée	QSP 100

30

#### Mode opératoire:

Dans un récipient adapté, on mélange le butylène glycol 1-3, le phénoxyéthanol, le méthyl paraben et l'EDTA disodique, à la température de 75°C. Dans un second récipient, on introduit avec environ 95% de l'eau, le triglycérade caprique caprylique, l'extrait de camomille, l' $\alpha$ -bisabolol, l'alcool cétylique, le stéarate de glycérol, le Tween 60, le Span 60 et le méthyl polysiloxane. Lorsque le mélange est homogène et que la température atteint 77°C,

35

les contenus des deux récipients sont réunis et placés sous agitation pendant 10 minutes, puis mis à refroidir. Lorsque la pâte est à 30°C, on ajoute l'extrait cellulaire de Ficaire et le parfum, et on mélange pendant 5 minutes, puis on ajuste avec l'eau restante et on laisse refroidir jusqu'à 25 °C avant de conditionner.

5

**EXEMPLE 4: Formulation d'une crème pour l'ovale du visage**

L'extrait cellulaire de Ficaire utilisé est celui décrit à l'exemple 1.

10

COMPOSANTS	QUANTITÉ (% poids)
Extrait cellulaire de Ficaire	3,000
Caféine	5,000
15 Extrait de thé vert	2,000
Octyl dodécanol	1,500
Isononyl isononanoate	2,000
Cétyl palmitate	1,500
Stéarate de glycol	2,500
20 Méthylglucose sesquistéarate	2,500
PEG20 méthylglucose sesquistéarate	1,500
Stéarate glycérrhétinique	0,100
Propyl paraben	0,150
Phénoxyéthanol	0,500
25 EDTA trisodique	0,100
Butylène glycol	5,000
Parfum	0,200
Eau déminéralisée	QSP 100

30

**Mode de préparation:**

La crème est préparée en deux phases. La phase A comprenant l'octyl dodécanol, l'isononyl isononanoate, le cétyl palmitate, le stéarate de glycol, le méthylglucose sesquistéarate, le PEG 20 méthylglucose sesquistéarate, le stéarate glycérrhétinique, le propyl paraben, est chauffée à 60°C. La phase aqueuse B comprenant 95% de l'eau, les conservateurs et la caféine, est chauffée à 65°C, puis est versée dans la phase A. Le tout est placé sous agitation pendant 30 minutes. Puis on laisse refroidir progressivement, et on ajoute à 40°C, l'extrait de thé vert; à

35

35°C, l'extrait cellulaire de Ficaire et à 30°C, le parfum. On complète avec l'eau restante et après homogénéisation, on transvase dans le conditionnement souhaité.

#### 5 **EXEMPLE 5: Formulation d'un lait amincissant**

L'extrait cellulaire de Ficaire utilisé est tel que décrit à l'exemple 1.

	COMPOSANTS	QUANTITÉ (% poids)
10	Extrait cellulaire de Ficaire	5,000
	Caféine	2,000
	Extrait de Lierre grimpant	2,000
	Arlacel 165	8,000
15	PEG 20 oleyl éther	2,000
	Alcool cétylique	1,200
	Huile de tournesol oléique	4,000
	Extrait huileux de <i>Kigelia Africana</i>	5,000
	Isononyl isononanoate	2,000
20	Propyl paraben	0,100
	Gomme xanthane	0,400
	Méthyl paraben	0,200
	Phénoxyéthanol	0,500
	Benzoate de sodium	0,500
25	EDTA trisodique	0,100
	Butylène glycol	5,000
	Parfum	0,500
	Eau déminéralisée	QSP 100

30

#### **La préparation du lait amincissant est conduite comme suit.**

Une phase A comprenant l'Arlacel 165, le PEG 20 oleyl éther, l'alcool cétylique, l'huile de tournesol oléique, l'isononyl isononanoate et le propyl paraben, est chauffée à 78°C. L'extrait de *Kigelia* est ajouté au dernier moment. Une phase B comprenant environ dans  
 35 95% de l'eau, le méthyl paraben, le phénoxyéthanol, le benzoate de sodium, l'EDTA trisodique, le butylène glycol et la caféine, est portée à 80°C. Au dernier moment la gomme xanthane est dispersée dans cette pâte. La phase B est ensuite versée dans la phase A et le

mélange est maintenu sous agitation 15 minutes. On laisse refroidir lentement et on ajoute l'extrait de Lierre à 40°C, l'extrait cellulaire de Ficaire à 35°C et finalement le parfum à 30°C. Le lait ainsi obtenu est laissé au repos 48 heures avant conditionnement.

5

**EXEMPLE 6: Formulation d'une crème solaire anti-irritante**

L'extrait cellulaire de Ficaire utilisé est tel que décrit à l'exemple 1.

10	COMPOSANTS	QUANTITÉ (% poids)
	Extrait cellulaire de Ficaire	5,000
	Octyl méthoxycinnamate	7,000
	Octyl salicylate	3,500
15	Butyl méthoxydibenzoylméthane	4,000
	Terpènes de <i>Centella asiatica</i>	0,100
	Extrait de thé vert	2,000
	$\alpha$ -bisabolol	0,200
	Arlacel 165	5,000
20	Tween 60	2,500
	Span 60	3,000
	Isononyl isononanoate	5,000
	Benzoate d'alkyl C <sub>12</sub> -C <sub>15</sub>	10,000
	Alcool cétylique	1,500
25	Méthyl paraben	0,100
	Propyl paraben	0,050
	Phénoxyéthanol	0,500
	EDTA trisodique	0,100
	Butylène glycol	5,000
30	Carbomer - TEA	0,200
	Gomme xanthane	0,400
	Parfum	0,300
	Eau déminéralisée	QSP 100

35

**Le mode de préparation est le suivant :**

Dans un récipient adapté, on introduit l'Arlacel 165, le Tween 60, le Span 60, l'isononyl

isononanoate, le benzoate d'alkyl C<sub>12</sub>-C<sub>15</sub> et l'alcool cétylique et on chauffe à 78°C. Puis on ajoute la moitié du méthyl paraben, le propyl paraben et l' $\alpha$ -bisabolol. On mélange jusqu'à dissolution complète et on rajoute au dernier moment l'octyl méthoxycinnamate, l'octyl salicylate et le butyl méthoxydibenzoylméthane. Dans un autre récipient, on introduit 95 %  
5 de l'eau et le reste du méthyl paraben, le phénoxyéthanol, l'EDTA trisodique et le butylène glycol, qu'on chauffe à 80°C. On ajoute alors le carbomer - TEA, on mélange jusqu'à formation d'un gel et on ajoute la gomme xanthane. L'agitation est poursuivie jusqu'à homogénéisation complète. Puis, le contenu du premier récipient est versé sur le gel. Le tout est mélangé et placé sous agitation 15 minutes. Durant le refroidissement, on incorpore à  
10 50°C les terpènes de *Centella asiatica*; à 35°C l'extrait cellulaire de Ficaire, et à 30°C le parfum. On complète avec l'eau filtrée restante et on laisse reposer 48 heures avant conditionnement.

15

20

25

30

35

## REVENDEICATIONS

- 5            1- Utilisation dans une composition ou pour la préparation d'une composition comprenant au moins un principe actif, d'une quantité efficace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la famille des renonculacées, comme agent de pénétration cutanée dudit principe actif.
- 10           2- Utilisation dans une composition ou pour la préparation d'une composition comprenant au moins un principe actif, d'une quantité efficace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la famille des renonculacées, comme agent permettant de réduire la fixation dudit principe actif aux protéines des tissus de la peau.
- 15           3- Utilisation dans une composition ou pour la préparation d'une composition comprenant au moins un principe actif, d'une quantité efficace d'un extrait cellulaire d'au moins un végétal de la famille des renonculacées, pour saturer la voie métabolique dudit principe actif au niveau de la peau.
- 20           4- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, *caractérisée en ce que* ledit extrait cellulaire est un extrait de cellules de tubercules de *Ranunculus ficaria*.
- 5- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, *caractérisée en ce que* ledit au moins un principe actif est choisi parmi les agents amincissants, les agents apaisants, les agents cicatrisants.
- 25           6- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, *caractérisée en ce que* ledit au moins un principe actif est choisi parmi les bases puriques, les bases xanthiques, les flavones, les isoflavones, la caféine, la théophylline, la théobromine.
- 30           7- Composition cosmétique *caractérisée en ce qu'elle* contient, dans un milieu physiologiquement acceptable, au moins
- une quantité efficace d'au moins un principe actif, et
  - une quantité efficace d'un extrait cellulaire issu d'au moins un végétal de la famille des
- 35           renonculacées.
- 8- Composition selon la revendication 7, *caractérisée en ce que* l'extrait cellulaire est

un extrait de tubercules de *Ranunculus ficaria*.

5 9- Composition selon l'une des revendications 7 ou 8, *caractérisée en ce que* ledit au moins un principe actif est choisi parmi les agents amincissants, les agents apaisants, et les agents cicatrisants.

10 10- Composition selon l'une des revendications 7 à 9, *caractérisée en ce que* ledit au moins un principe actif est choisi parmi les bases puriques, les bases xanthiques, les flavones, les isoflavones, la caféine, la théophylline, et la théobromine.

11- Composition selon l'une des revendications 7 à 10, *caractérisée en ce que* l'extrait cellulaire est le jus cellulaire total obtenu par cryoextraction, contenant les constituants hydrosolubles à froid appartenant au suc dudit végétal.

15 12- Composition selon la revendication précédente, *caractérisée en ce que* ledit jus cellulaire total contient des saponosides liés de manière stable à au moins un sucre.

20 13- Composition selon l'une des revendications 7 à 12, *caractérisée en ce qu'elle* contient ledit extrait cellulaire à raison de 0,1 % à 20 %, de préférence de 1 % à 10 %, en poids rapporté au poids total de la composition.

25 14 - Composition selon l'une des revendications 7 à 13, *caractérisée en ce que* elle contient en outre un ou plusieurs autres composants choisis parmi les agents drainants, les agents raffermissants, les agents anti-irritants, les filtres solaires, les anti-inflammatoires.

30 15- Composition selon l'une des revendications 7 à 14 *caractérisée en ce que* le milieu physiologiquement acceptable est constitué d'eau et/ou d'au moins un solvant organique.

35 16- Composition selon l'une des revendications 7 à 15 *caractérisée en ce qu'elle* contient en outre au moins un additif choisi dans le groupe constitué par les gélifiants, les épaississants, les conservateurs, les émulsionnants, les parfums, les agents pigmentants, les émoullients, les tensioactifs.

17- Composition selon l'une des revendications 7 à 16 *caractérisée en ce qu'elle a* l'aspect d'une crème blanche ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion ou d'une pâte.

18- Utilisation d'un extrait cellulaire issu d'un végétal de la famille des renonculacées dans une composition ou pour la préparation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 7 à 17.

5

19- Utilisation d'un jus cellulaire total issu de *Ranunculus ficaria* dans une composition ou pour la préparation d'une composition selon l'une quelconque des revendications 10 à 17.

10

15

20

25

30

35

1 / 2

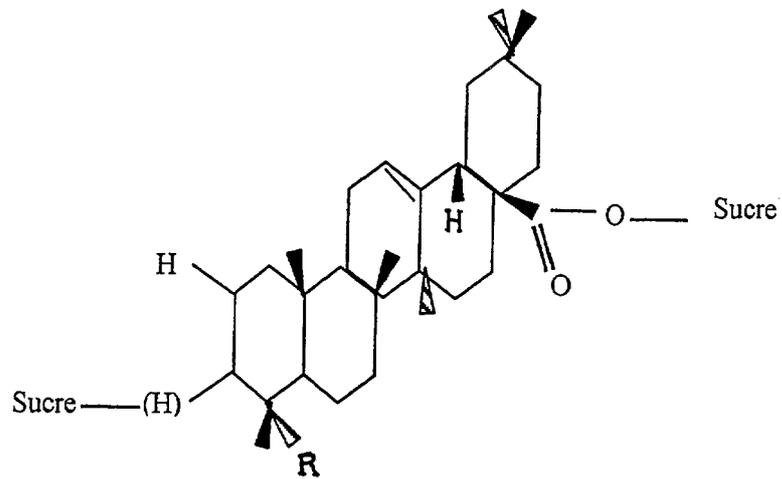


FIGURE 1

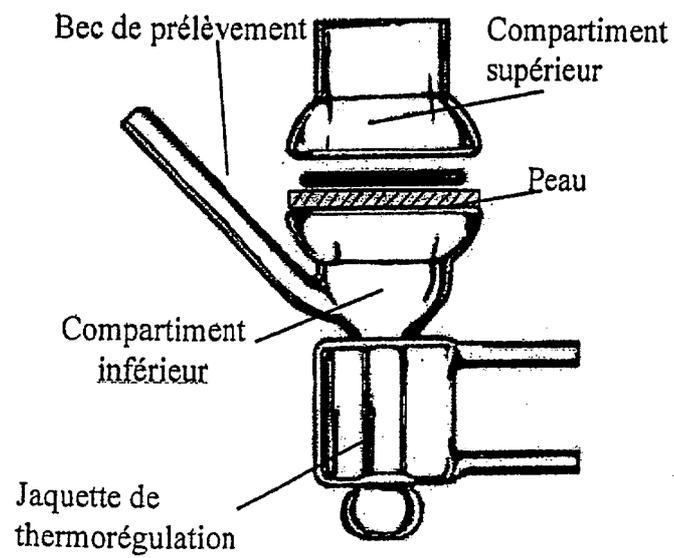


FIGURE 2

2 / 2

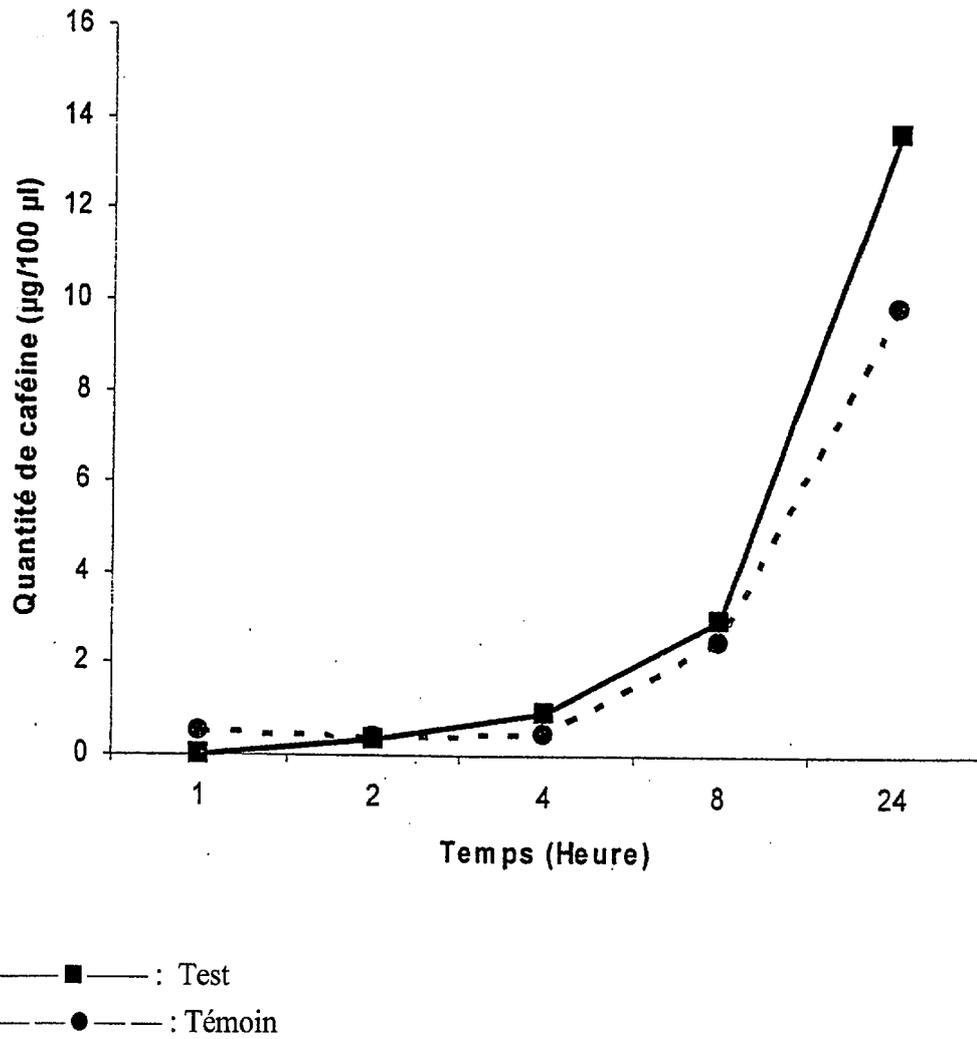


FIGURE 3



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FA 651195  
FR 0406958

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	FR 2 753 374 A (LABORATOIRES RIVADIS (FR)) 20 mars 1998 (1998-03-20) * revendications 1-4,8 * -----	7,8,13, 15,17,18	A61K7/48 A61K7/40 A61K47/46 A61K35/78
X	FR 2 742 055 A (ENNAGRAM SOCIETE (FR)) 13 juin 1997 (1997-06-13)  * page 2, ligne 28 - ligne 36 * * page 3, ligne 20 - page 4, ligne 3 * * page 5, ligne 9 - ligne 12 * * page 5, ligne 35 - ligne 36 * * page 6, ligne 4 - ligne 12 * * revendications 1,7,9,11 * -----	1,5-7,9, 10,13, 15,17,18	A61K47/30 A61P17/00
X	US 6 207 163 B1 (BOUBLIK JAROSLAV H ET AL) 27 mars 2001 (2001-03-27) * revendication 4; exemples 7,8 * -----	7,15-18	
X	WO 99/55299 A (WASSERMAN, TREVOR (ZA)) 4 novembre 1999 (1999-11-04) * page 2, alinéa 3 * * page 4, alinéa 2; revendication 1; exemple *	7,13,15, 18	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)  A61K
X	FR 2 838 646 A (I.N.E.A. S.L. (FR)) 24 octobre 2003 (2003-10-24) * page 1, ligne 3 - ligne 11 * * page 3, ligne 16 - ligne 22 * * page 4, ligne 15 - ligne 22 * * exemples 1,2 * -----	7,13-18	
X	EP 1 104 670 A (KANEBO LIMITED (JP)) 6 juin 2001 (2001-06-06) * page 4, ligne 16 - ligne 18 * * tableaux 1,2 * -----	7,9, 14-16,18	
-/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 février 2005		Diebold, A	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1  
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**  
établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FA 651195  
FR 0406958

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 5 401 503 A (MURAYAMA ET AL) 28 mars 1995 (1995-03-28) * colonne 1, ligne 63 - colonne 2, ligne 33 * * colonne 4, ligne 35 - colonne 5, ligne 4 * * colonne 21, ligne 51 - colonne 22, ligne 53 * * revendications * -----	7,13-18	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 février 2005		Diebold, A	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>	

1  
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0406958 FA 651195**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 08-02-2005

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2753374	A	20-03-1998	FR 2753374 A1	20-03-1998
FR 2742055	A	13-06-1997	FR 2742055 A1 JP 9291038 A	13-06-1997 11-11-1997
US 6207163	B1	27-03-2001	AT 195874 T AU 3601395 A WO 9611015 A1 CA 2201115 A1 CN 1160353 A DE 69518655 D1 DE 69518655 T2 DK 783315 T3 EP 0783315 A1 ES 2151609 T3 GR 3034935 T3 JP 10509133 T NZ 293541 A PT 783315 T RU 2153883 C2	15-09-2000 02-05-1996 18-04-1996 18-04-1996 24-09-1997 05-10-2000 03-05-2001 18-12-2000 16-07-1997 01-01-2001 28-02-2001 08-09-1998 26-08-1998 31-01-2001 10-08-2000
WO 9955299	A	04-11-1999	ZA 9901792 A AU 3389599 A WO 9955299 A1	16-09-1999 16-11-1999 04-11-1999
FR 2838646	A	24-10-2003	FR 2838646 A1	24-10-2003
EP 1104670	A	06-06-2001	WO 0002526 A1 CA 2337532 A1 EP 1104670 A1 JP 3571172 B2 JP 10298026 A US 6723667 B1	20-01-2000 20-01-2000 06-06-2001 29-09-2004 10-11-1998 20-04-2004
US 5401503	A	28-03-1995	JP 3226321 B2 JP 5255099 A JP 3226325 B2 JP 5286862 A CN 1079893 A ,C DE 69309810 D1 DE 69309810 T2 DE 584365 T1 EP 0584365 A1 WO 9317657 A1	05-11-2001 05-10-1993 05-11-2001 02-11-1993 29-12-1993 22-05-1997 24-07-1997 28-07-1994 02-03-1994 16-09-1993