

**Matières premières anciennes / *Historic raw materials***

## Substances naturelles « historiques » : comment valoriser leur utilisation aujourd'hui ?

Certaines substances d'origine naturelle sont utilisées depuis de nombreuses années en cosmétique, elles proviennent notamment de la pomme pour ses vertus anti-âge et anti-oxydantes, de la gelée royale pour son pouvoir cicatrisant et régénérant ou encore du raisin pour son effet sur l'éclat du teint et ses propriétés anti-oxydantes. Aujourd'hui, de nouvelles technologies ainsi qu'une connaissance plus fine de ces substances permettent de développer des extraits et molécules inédits aux propriétés bénéfiques pour la peau tout en préservant le végétal dont ils sont issus.

► **La culture cellulaire pour produire des cellules souches d'une pomme rare**

La pomme Uttwiler spätlauber, originaire de la région de Zürich a la particularité

de rester fraîche très longtemps. Cette qualité de conservation très appréciée au 18<sup>ème</sup> siècle n'étant plus indispensable de nos jours, sa culture a fortement diminué au profit de variétés au goût plus sucré et moins acide. Ainsi, cette

pomme s'est raréfiée. La technique de culture cellulaire, qui ne requiert qu'une seule fois une infime partie de végétal a été choisie pour développer un actif à partir de cette pomme. La technique, basée sur la propagation des cellules

### ***Historic natural substances: how to promote their use today?***

*Certain natural substances are used since many years in cosmetics, they notably come from the apple for its anti-aging and antioxidant virtues, the royal jelly for its healing and regenerating power or the grape for its effect on skin radiance and its antioxidant properties. Today, new technologies and a more in-depth knowledge of these substances helps to develop original and unique extracts and molecules with beneficial properties for the skin while preserving the plant from which they come.*

► **Plant cell culture to produce stem cells from a rare apple**

The Uttwiler spätlauber apple which is native from the Zürich area has the particularity of staying fresh over months. This storage's quality that was very appreciated in the 18<sup>th</sup> century is no longer necessary today. This is the reason why the culture of this apple

has declined in favor of sweeter, less acidic varieties. Thus, this apple became rare.

The plant tissue culture technique, which only requires once a small tissue sample was used to produce an active ingredient from this apple. The technique, based on the propagation of plant stem cells allows the production of plant material under sterile and standardized conditions independent of

season and other environmental restraints. Wounding of the plant tissue leads to a self-healing phenomenon characterized by the formation of callus composed of undifferentiated cells. These cells are stem cells comparable to those in the meristematic regions. The extract of apple stem cells was obtained after lysis of the plant cells using a high pressure homogenizer.

souches végétales permet la production de matériel végétal dans des conditions stériles et normalisées indépendantes de la saison et d'autres contraintes environnementales. On incise le végétal, ce qui provoque un phénomène d'auto-guérison caractérisé par la formation d'un cal composé de cellules dédifférenciées. Ces cellules sont des cellules souches comparables à celles des régions méristématiques. L'extrait de cellules souches de pomme a été obtenu après lyse des cellules végétales en utilisant un homogénéisateur à haute pression.

► **Préserver le potentiel de régénération de la peau**

Des cellules souches épidermiques humaines ont été isolées puis ensemencées sur un équivalent dermique. Leur capacité à construire un épiderme pluristratifié a été analysée à l'aide d'un microscope sur des sections transversales. Comme on le voit sur la **Figure 1**, la jeune culture de cellules souches épidermiques (P5) est capable de former

► **Preserving the regenerative potential of the skin**

Human epidermal stem cells were isolated and seeded onto a dermal equivalent. Their ability to build a pluristratified epidermis was analyzed using a microscope on cross sectional areas. As shown in **Figure 1**, a young culture of epidermal stem cells (P5) is able to form a perfect 3D epidermis. However, cells which were cultured for several weeks (P14) have lost their stem cell potential and are no longer able to form a pluristratified epidermis. Surprisingly, cells that were grown during the same period in the presence of the apple stem cell extract were perfectly able to form a 3D epidermis. This clearly shows that this extract helps epidermal stem cells to maintain their stem cell characteristics and thus ensure the skin repair and regeneration.

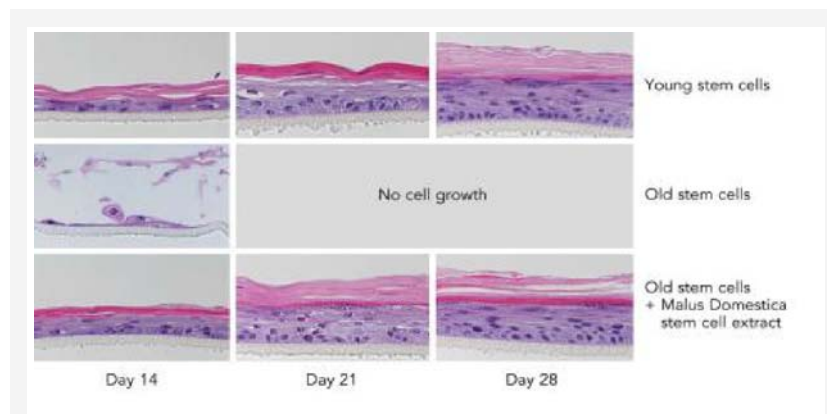
Other in vitro studies were performed and a clinical investigation revealed the anti-wrinkle effect of PhytoCellTec™ Malus Domestica (Uttwiler spätlauber apple stem cells) on the crow's feet area.

un épiderme 3D parfait. Cependant, les cellules qui ont été cultivées pendant plusieurs semaines (P14) ont perdu leur potentiel de cellules souches et ne sont plus en mesure de former un épiderme pluristratifié. Or, les cellules cultivées durant la même période en présence de l'extrait de cellules souches de pomme étaient parfaitement capables de former un épiderme 3D. Ceci montre clairement que cet extrait aide les cellules souches épidermiques à maintenir leurs caractéristiques de cellules souches et à assurer ainsi la réparation et la régénération de la peau.

D'autres études *in vitro* ont été réalisées et une étude clinique a révélé l'effet antirides de PhytoCellTec™ Malus Domestica (cellules souches de la pomme Uttwiler spätlauber) au niveau de la patte d'oie.

► **Découverte dans la gelée royale d'une molécule responsable de la programmation épigénétique de la reine des abeilles**

Au sein de la ruche, les ouvrières diffèrent des reines en de nombreux points tels que l'apparence, la longévité et le comportement et ce, bien qu'elles partagent exactement le même ADN. De récentes découvertes ont montré que ces différences résultaient de changements épigénétiques causés par la gelée royale, l'aliment exclusif de la reine et notamment par l'un de ses composants : une protéine, nommée royalactine. Cette dernière est capable d'activer le récepteur de l'EGF, un régulateur



**FIGURE 1 :**  
MAINTIEN DE LA CAPACITÉ À FORMER UN ÉPIDERME 3D.  
MAINTENANCE OF THE CAPACITY TO FORM A 3D EPIDERMIS.

► **Discovery in royal jelly of a molecule responsible for the epigenetic programming of the queen bee**

Although identical on a genetic level, worker bees and the queen bee differ in terms of lifespan, fertility and size. Recent findings have shown that these differences result from epigenetic changes caused by royal jelly, which is the exclusive food of the queen-to-be, and in particular one of its components: a protein, named royalactin. Royalactin is capable of activating the EGF receptor, an important regulator of the aging and healing processes

in humans. Royalactin's activity is optimal in fresh royal jelly but decreases rapidly with time. To overcome this, Mibelle Biochemistry has designed a peptide that mimics the function of this protein. This peptide was then encapsulated in a nanoemulsion type carrier system based of shea butter in order to "trap" it and allow its penetration into the heart of the skin.

► **Making the skin smoother and more radiant**

A clinical study was conducted on twenty women (average age 49) presenting an uneven skin tone. A

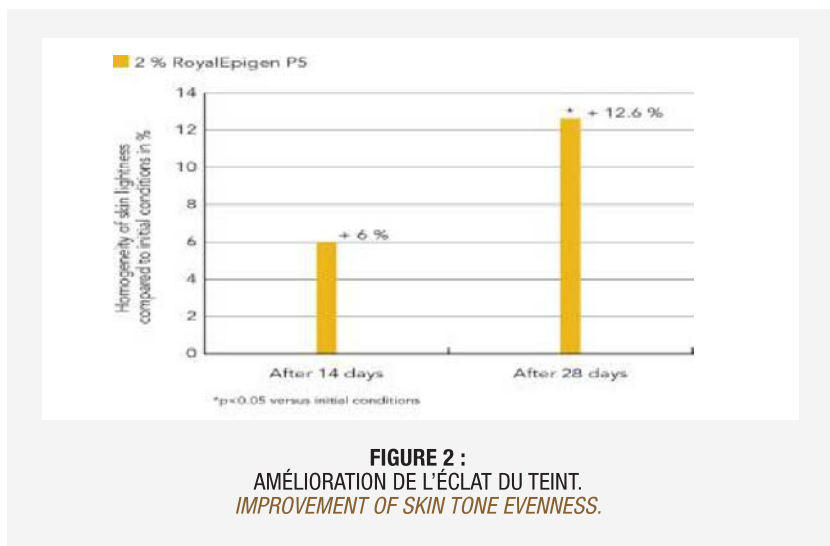
important du processus de vieillissement et de cicatrisation chez l'être humain. L'activité de la royalactine est maximale dans la gelée royale fraîche mais diminue très rapidement avec le temps. Pour pallier à ce problème, Mibelle Biochemistry a créé un peptide qui mime la fonction de cette protéine et l'a encapsulé dans un système de vectorisation de type nano-émulsion à base de beurre de karité afin de l'« emprisonner » et de permettre sa pénétration au cœur de la peau.

### ► Rendre la peau plus lisse et le teint plus uniforme

L'une des études cliniques a été menée sur vingt femmes (moyenne d'âge 49 ans) présentant un teint hétérogène. Une crème contenant 2% de

RoyalEpigen P5 (peptide « Royalactine-like ») a été appliquée deux fois par jour pendant 28 jours sur leur visage. L'hétérogénéité du teint des volontaires a été évaluée en mesurant la clarté de la peau ( $L^*$ ) à six endroits sélectionnés sur le visage (front, tempes et joues) à l'aide d'un chromamètre puis en calculant l'écart type entre ces six mesures. Plus l'écart-type est grand, plus le teint est hétérogène. Les résultats (Figure 2) ont montré que RoyalEpigen P5 diminuait rapidement l'écart type entre les valeurs  $L^*$  mesurées. RoyalEpigen P5 améliore donc l'homogénéité du teint: +6% par rapport aux conditions initiales après 14 jours et +12,6% par rapport aux conditions initiales après 28 jours.

De plus, nos études *in vitro* et cliniques ont montré l'activité



**FIGURE 2 :**  
AMÉLIORATION DE L'ÉCLAT DU TEINT.  
IMPROVEMENT OF SKIN TONE EVENNESS.

cream containing 2% of RoyalEpigen P5 was applied twice a day for 28 days to the face. The heterogeneity of the complexion of the volunteers was analyzed by measuring the skin lightness ( $L^*$ ) on six selected locations across the face (the forehead, temples and cheeks) using a chromameter. From there, the standard deviation of these six measurements was calculated. The higher the standard deviation, the higher was the heterogeneity of the complexion. Results showed (Figure 2) that RoyalEpigen P5 led to a rapid decrease in standard deviation of the  $L^*$  values measured. RoyalEpigen P5 therefore increased the homogeneity of the skin: +6%

compared to initial conditions after 14 days and +12.6% compared to initial conditions after 28 days.

Besides, our *in vitro* and clinical studies have shown the EGF-like activity of RoyalEpigen P5 ("royalactine-like" peptide) as well as its capacity to boost epidermal regeneration and smooth the skin.

### ► Stabilisation of procyanidins from Swiss Pinot noir grape for optimized antioxidant efficacy and easier formulation

Pinot Noir grape is particularly rich in procyanidins which are powerful antioxidants. This grape is native from the

« EGF-like » de RoyalEpigen P5 ainsi que sa capacité à stimuler le renouvellement de l'épiderme et lisser la peau.

### ► Stabilisation de procyanidines du raisin Pinot noir suisse pour une efficacité anti-oxydante optimisée et une formulation facilitée

Le raisin Pinot noir est particulièrement riche en procyanidines, de puissants anti-oxydants. Originaire de la Bourgogne, la culture de ce raisin en Suisse lui permet de bénéficier de conditions particulières (altitude, climat froid et sec, sol calcaire) qui influencent positivement sa concentration en procyanidines. Mibelle Biochemistry a créé un complexe « procyanidines de raisin Pinot noir suisse / tocophérol (antioxydant naturellement présent dans la peau) » qui, en plus de stabiliser ces deux substances en solution aqueuse, décuple leur pouvoir de façon synergique.

Burgundy region in France. Its culture in Switzerland has advantages because of the altitude, the cool and dry climate and the chalky soils which allow the grapes to produce and store more procyanidins. Mibelle Biochemistry has designed a complex combining Swiss Pinot noir grape procyanidins and tocopherol which is a naturally occurring antioxidant in the skin. Besides stabilizing these two substances in aqueous solution, this complex enhances their power in a synergistic way.

### ► Protecting efficiently skin and hair against daily aggressions

In order to study the biological interactions of antioxidants with cells, we developed a method <sup>(1)</sup> that consists in incubating TK6 lymphoblastoid cells with different concentrations of a nanoemulsion filled with squalene, one of the most important skin lipids. This nanoemulsion was irradiated or not with UVA. After two days, the number of surviving cells was compared to those of untreated cultures or cultures which had been

## ► Protéger efficacement la peau et les cheveux contre les agressions quotidiennes

Afin d'étudier les interactions biologiques des antioxydants avec les cellules, nous avons développé une méthode <sup>(1)</sup> qui consiste à incuber des cellules lymphoblastoïdes TK6 avec différentes concentrations d'une nano-émulsion contenant du squalène encapsulé, l'un des plus principaux lipides de la peau. Cette nano-émulsion était irradiée ou pas avec des UVA. Au bout de deux jours, le nombre de cellules ayant survécu a été comparé à celui des cultures « contrôle » et des cultures traitées avec la nano-émulsion non irradiée. Les résultats ont montré que le squalène encapsulé dans la nano-émulsion était très bien toléré par les cellules. Cependant, après l'irradiation UVA, ces nano-émulsions contenant du squalène deviennent très toxiques. Dans les cultures qui contenaient 1% de nano-émulsion de squalène irradiée, 50% des cellules n'étaient plus viables (données non présentées). Nous avons étudié la

capacité de GSP-T et de ses composants seuls à inhiber la formation de composés toxiques induits par les UVA dans les nano-émulsions de squalène. La **Figure 3** montre que 0,5% de GSP seul et 0,025% de tocophérol seul ne parviennent pas à inhiber la formation de composés toxiques dans une mesure raisonnable. Cependant, GSP-T qui combine les deux antioxydants dans la même concentration que lorsqu'ils sont testés seuls a été capable d'inhiber la formation de composés toxiques par 100%.

D'autres études *in vitro* et cliniques ont montré la capacité de les procyanidines du raisin Pinot noir suisse stabilisées (GSP-T) à protéger la fibre capillaire contre les stress chimiques (tensio-actifs, eau de mer) et physiques (sèche-cheveux, UV) et améliorer la rémanence des colorations sur les cheveux. De plus, nous avons pu démontrer les propriétés antioxydantes, anti-glycation et anti-inflammatoires de GSP-T sur la peau ainsi que son effet anti-rougeurs immédiat.

## ► Conclusion

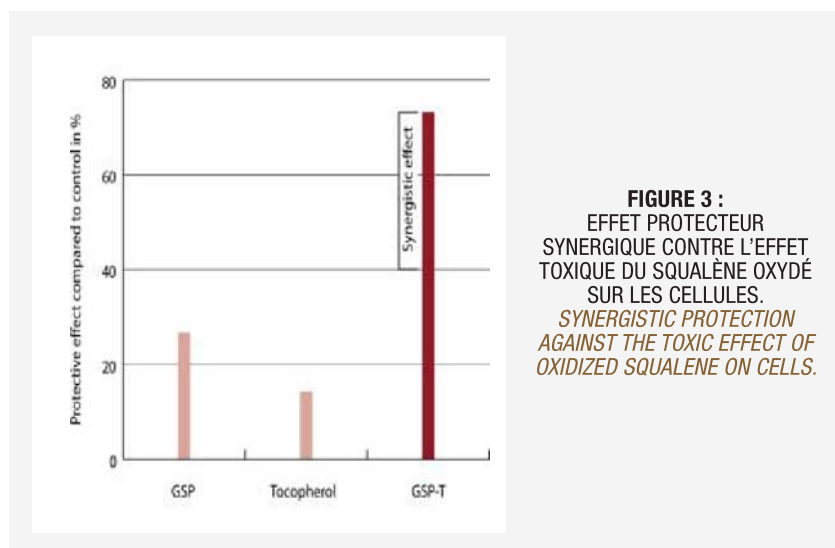
La pomme, la gelée royale ou encore le raisin sont utilisés depuis de nombreuses années en cosmétique pour leurs nombreuses vertus. Aujourd'hui, de nouvelles technologies telles que la culture cellulaire nous permettent d'utiliser des variétés de plantes rares tout en les préservant. D'autre part, une connaissance plus fine de ces substances, de leur mode d'action et de leur stabilité nous permet de développer des extraits, combinaisons et molécules inédits aux propriétés toujours plus bénéfiques pour la peau. ■

D. Schmid, E. Belser, F. Züllli & E. Mauger

MIBELLE GROUP BIOCHEMISTRY

### References :

Züllli, F., Liechti, Ch. and Suter, F. Controlled delivery of lipophilic agents to cell cultures for *in vitro* toxicity and biocompatibility assays. *Int. J. Cosmetic Science*, 22, 265-270, 2000



**FIGURE 3 :**  
EFFET PROTECTEUR SYNERGIQUE CONTRE L'EFFET TOXIQUE DU SQUALÈNE OXYDÉ SUR LES CELLULES.  
SYNERGISTIC PROTECTION AGAINST THE TOXIC EFFECT OF OXIDIZED SQUALENE ON CELLS.

treated with a not-irradiated nanoemulsion. We found that squalene encapsulated in nanoemulsions is very well tolerated by the cells. However, after UVA irradiation these squalene nanoemulsions became very toxic. In cell cultures which contained 1% of the irradiated squalene nanoemulsion, 50% of the cells died (data not shown). We studied the capacities of GSP-T as well as

its components alone to inhibit the formation of UVA induced toxic compounds in these squalene nanoemulsions.

**Figure 3** shows that GSP alone at a concentration of 0.5% and tocopherol alone at a concentration of 0.025% did not inhibit the formation of toxic compounds to a reasonable extent. However, GSP-T that combines both antioxidants in the same concentration

as when tested alone was able to inhibit the formation of toxic compounds by 100%.

Other *in vitro* and clinical studies showed the capacity of stabilized Swiss Pinot noir grape procyanidins (GSP-T) to protect the hair from chemical stress (surfactants, sea water) and physical stress (hair-dryer, UV) as well as improve the resistance of the hair dye color on hair. Besides, we could prove the antioxidant, anti-glycation and anti-inflammation properties of GSP-T on the skin as well as its immediate anti-redness effect.

## ► Conclusion

Apple, royal jelly and grape are used since many years in cosmetics for their interesting properties.

Today, new technologies such as plant cell culture makes possible the use of rare plants while preserving them. Furthermore, a more in-depth knowledge of these substances, their mechanism and their stability helps to develop original and unique extracts, combination and molecules with an improved effect on the skin. ■