

THE GLOBAL INFORMATION ON COSMETICS & FRAGRANCES

expression cosmétique

Guide 2023 des ingrédients cosmétiques of cosmetic ingredients

www.clariant.com/actives-naturalorigins

Stimuler la cicatrisation, une stratégie prometteuse pour combler les rides

De la mobilisation des cellules souches épidermiques au remodelage du derme : l'activation des voies biologiques de la cicatrisation apparaît comme une stratégie pertinente pour lutter contre les signes de l'âge et corriger les rides.

Stimulate skin's healing, a promising strategy to fill in wrinkles

From stem cell mobilization to dermal remodelling, the activation of biological healing pathways appears to be a relevant strategy to fight the signs of aging and remove wrinkles.

PAR/BY

Annabelle L'Hermitte,

Responsable innovation — actifs naturels / Innovation Manager — Active Naturals

Perrine Cancellieri,

Chef de projets R&D — actifs naturels / R&D Project Manager — Active Naturals

HALLSTAR BEAUTY

Comment combler les rides de façon efficace ?

Nous voulions mettre au point un ingrédient naturel capable de combler efficacement les rides de façon non-invasive. Un défi de taille ! Nous savons tous que lorsque les rides sont installées, il n'est pas facile de les faire disparaître. Nous nous sommes donc posé la question suivante : quels mécanismes biologiques devrions-nous activer pour éliminer nos rides ? Il faudrait réorganiser les couches cellulaires, remodeler, restructurer les tissus cutanés qui se trouvent sous les rides. Pourquoi pas également déclencher un processus de régénération, de renouvellement cellulaire.

Mais n'existerait-t-il pas une situation dans laquelle notre corps, notre peau, activerait spontanément ce type de mécanismes ? Si. Puisque tous ces mécanismes sont au cœur du processus naturel de la cicatrisation.

How to fill in wrinkles effectively?

We wanted to develop a natural ingredient that would effectively fill in wrinkles in a non-invasive way. A major challenge! We all know that once wrinkles have been formed, it is not easy to make them disappear. So, we asked ourselves the following question: What biological mechanisms should we activate to eliminate our wrinkles? We need to reorganize the cell layers, to remodel and restructure the skin tissue under the wrinkles. Why not also trigger a process of regeneration, of cellular renewal?

But is there not a situation in which our body, our skin, would spontaneously activate this type of mechanism? Yes, there is. Because all these mechanisms are at the heart of the natural healing process.

Aa

Une innovation bio-inspirée

La cicatrisation de la peau est le résultat d'un équilibre complexe entre les processus de stimulation et de migration de différents types de cellules, ainsi que le renouvellement et le remodelage des tissus correspondants. C'est pourquoi nous avons émis l'hypothèse suivante : l'activation des voies naturelles de la cicatrisation cutanée peut contrebalancer les signes de l'âge et conduire à un effet de comblement des rides. En effet, nous savons qu'avec le vieillissement, nos mécanismes de réparation sont altérés et ralentis. Notre système de défense antioxydant est également moins performant, ce qui n'arrange rien. Par conséquence, la surface de la peau apparaît plus irrégulière et ridée.

Un mode d'action unique

Pour concevoir un mode d'action stratégique visant à stimuler la capacité de la peau à cicatriser dans le but de combler les rides, nous devions mieux comprendre les effets du vieillissement sur le processus de cicatrisation. Avec l'âge, la régénération de l'épiderme ralentit en raison de la présence de kératinocytes âgés qui voient diminuer leur capacité à proliférer et migrer de la couche basale vers la surface de la peau⁽¹⁾. Le déclin du potentiel régénératriceur de l'épiderme est également dû au vieillissement des cellules souches épidermiques. Les cellules souches épidermiques se trouvent dans différentes niches, notamment la couche basale de l'épiderme et les follicules pileux. Dans la peau jeune, la structure de l'épiderme est maintenue par les capacités d'auto-renouvellement des cellules souches et par la différenciation terminale de leur progéniture en kératinocytes. Avec le vieillissement, les cellules souches épidermiques perdent leurs propriétés régénératrices, leur capacité à être mobilisées et à répondre aux signaux de prolifération et de différenciation⁽²⁾. Le vieillissement de la peau se caractérise également par l'appauvrissement du derme. Le nombre de fibroblastes est réduit, leur capacité proliférative est diminuée, ils deviennent sénescents. Le derme présente une perte des composants de la matrice extracellulaire normalement synthétisés par les fibroblastes tels que les fibres de collagène et d'élastine qui confèrent à la peau sa résistance. Outre le déséquilibre entre la production et la dégradation du collagène, la qualité du collagène restant est également altérée et présente un degré plus élevé de désorganisation. La morphologie des fibres d'élastine est également désordonnée, ce qui entraîne une diminution de l'élasticité de la peau⁽¹⁾. En raison de ces changements liés à l'âge, le derme perd sa capacité à bien soutenir l'épiderme. Enfin, au cours du vieillissement cutané, le stress oxydatif augmente car notre système de défense est moins efficace. Il contrecarre et retarde les processus naturels de réparation, de défense et de restructuration de la peau⁽³⁾.

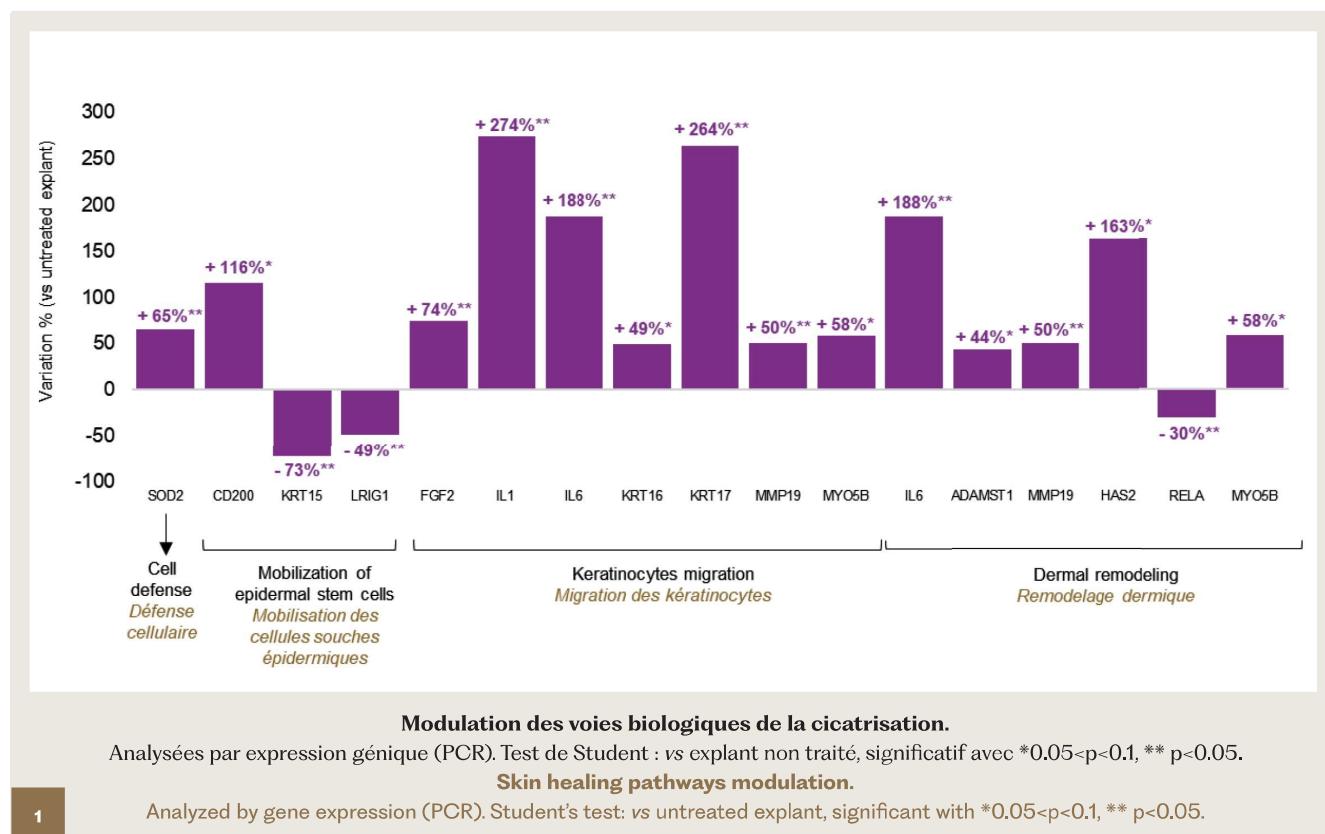
Tous ces effets du vieillissement sur le processus de cicatrisation de la peau confirment qu'un ingrédient anti-âge pourrait être développé en s'inspirant du processus de cicatrisation. Mais il doit agir sur des cibles stratégiques. C'est pourquoi nous avons imaginé un mode d'action unique qui agit sur : 1- le renforcement des défenses cellulaires, 2- la mobilisation des cellules souches

A bio-inspired innovation

Skin healing is a result of a complex balance between processes of stimulation and migration of different type of cells, as well as the renewal and remodelling of the corresponding tissues. Therefore, we have made the following hypothesis: the activation of our natural skin healing pathways can counter-balance skin aging and lead to a wrinkle-filler effect. Indeed, we know that with aging our skin repair mechanisms are altered, slowed down. Furthermore, our antioxidant defence system is less performant with each year, which does not help. As a result, the skin's surface appears more irregular and wrinkled.

A unique mode of action

To design a strategic mode of action that stimulates the skin's ability to heal with the goal of filling in wrinkles, we need to better understand the effects of aging on the healing process. With aging, the epidermis regeneration is slowing down because of the presence of aged keratinocytes that lose their ability to proliferate and migrate from the basal layer to the surface of the skin⁽¹⁾. The decline of the epidermis' regenerative potential is also due to epidermal stem cells aging. Epidermal stem cells are in different niches including the basal layer of epidermis and the hair follicles. In young skin, the epidermis structure is maintained by self-renewal capacities of stem cells and terminal differentiation of their progeny in keratinocytes. With aging, epidermal stem cells lose their regenerative properties, their ability to be mobilized and to respond to proliferative and differentiation signals⁽²⁾. Skin aging is also characterized by the depletion of the dermis. The number of fibroblasts is reduced, their proliferative ability is decreased, they become senescent. The dermis displays a loss in extracellular matrix components normally synthesized by fibroblasts such as collagen and elastin fibers that confer resistance to the skin. Besides the imbalance of collagen production and degradation, the quality of the remaining collagen is also altered showing a higher degree of disorganization. The morphology of elastin fibers is also disordered, resulting in decreased skin elasticity⁽¹⁾. Because of these age-related changes, the dermis loses its ability to effectively support the epidermis. Finally, during skin aging, oxidative stress is increased because our defence system is less effective. It counteracts and delays natural processes of skin repairing, defence and restructuring⁽³⁾.



Modulation des voies biologiques de la cicatrisation.

Analysées par expression génique (PCR). Test de Student : vs explant non traité, significatif avec * $0.05 < p \leq 0.1$, ** $p \leq 0.05$.

Skin healing pathways modulation.

Analyzed by gene expression (PCR). Student's test: vs untreated explant, significant with * $0.05 < p \leq 0.1$, ** $p \leq 0.05$.

épidermiques, 3- la régénération épidermique et 4- le remodelage du derme. Agir sur ces quatre piliers de la cicatrisation cutanée devrait nous permettre d'atteindre notre objectif ultime en comblant les rides.

Capturer le pouvoir des plantes

Pour développer cet ingrédient actif, nous avons passé au crible des plantes locales méditerranéennes en étudiant leurs composés phytochimiques afin d'identifier des molécules aux propriétés cicatrisantes. Nous avons ainsi sélectionné deux espèces botaniques emblématiques et ancestrales : le myrte (*Myrtus communis* L.) et l'olivier (*Olea europaea* L.). Dans ces deux plantes, nous avons confirmé par analyse HPLC la présence des molécules cicatrisantes précédemment identifiées. Ces composés prometteurs ont été nommés Phytoside™. «Phyto» fait référence au fait qu'ils proviennent de plantes et «oside» au fait qu'il s'agit de molécules liées à des sucres ; des polyphénols glycosylés (myricitrine, oleuropeïne).

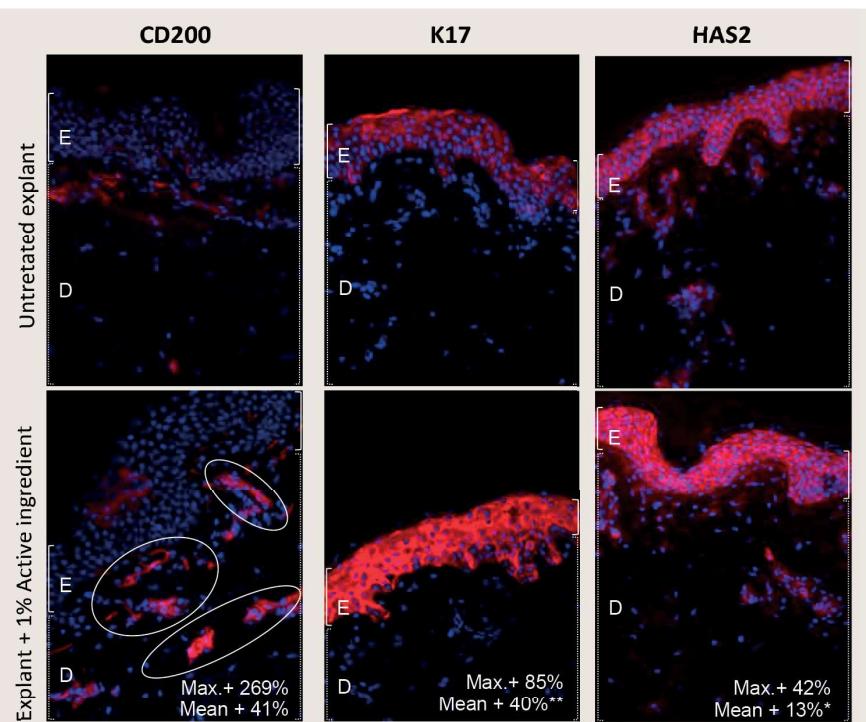
Grâce au procédé breveté d'Oléo-éco-extraction, ils ont été capturés et stabilisés dans une huile végétale. En effet, les conditions opératoires ayant été établies nous ont permises de modifier la polarité et la viscosité de l'huile végétale, rendant possible l'extraction de ces molécules

All these effects of aging on skin healing process confirm that an anti-aging ingredient could be developed by taking inspiration from healing process. But it must act on strategic targets. That is why we imagined a unique mode of action that acts on four different processes: the boost of cell defence, the mobilization of epidermal stem cells, epidermal regeneration, and dermal remodelling. Acting on these four pillars of skin healing should allow us to reach the ultimate wrinkle filler effect!

Capturing the power of plants

To develop the active ingredient, we have screened Mediterranean local plants, performing a phytochemical review to identify molecules with healing-related activities. We selected two emblematic and ancestral species: myrtle (*Myrtus communis* L.) and olive (*Olea europaea* L.). In these two plants, we confirmed the presence of the previously identified healing molecules thanks to HPLC analysis. These promising compounds were named Phytoside™. "Phyto" refers to the fact that they are coming

Aa



**Augmentation de l'expression des protéines CD200, K17 et HAS2 /
Increased expression of CD200, K17 and HAS2 proteins.**

Immunomarquages d'explants cutanés âgés de 54 ans.
E : épiderme, D : derme.

En bleu (DAPI) : noyau cellulaire, en rouge (Cy5) :
CD200 (*Cluster of Differentiation 200*), K17 (*keratin 17*),
HAS2 (*Hyaluronan Synthase 2*).

Test de Student : vs explant non traité,
significatif avec ***p<0.001.

Immunostaining of 54-old skin explants.
E: epidermis, D: dermis.

In blue (DAPI): cellular nucleus, in red (Cy5):
CD200 (Cluster of Differentiation 200),
K17 (keratin 17), HAS2
(Hyaluronan Synthase 2).
Student's test: vs untreated explant,
significant with ***p<0.001.

2

polaires glycosylées en son sein. La forme huileuse de cet ingrédient actif présente de nombreux avantages pour la peau. Elle favorise notamment la pénétration cutanée des molécules actives en comparaison de celle obtenue avec un extrait aqueux conventionnel (démontré *ex vivo*).

Efficacité de l'extrait enrichi en Phytoside™

Pour évaluer son efficacité, nous avons réalisé une étude protéo-génomique *ex vivo* sur des explants de peau mature. Cette étude a révélé la capacité de notre ingrédient à activer les mécanismes de cicatrisation *via* la modulation de gènes et protéines clés. En stimulant l'expression du gène CD200 et réduisant celles des gènes KRT15 et LRIG1, il induit la prolifération et la différenciation des cellules souches épidermiques. Par ailleurs, l'augmentation de l'expression des gènes FGF2, IL1, IL6, KRT16, KRT17, MMP19, MYO5B, ADAMST1 et HAS2 ainsi que la répression du gène RELA traduisent sa capacité à promouvoir le remodelage et la régénération des tissus (Figure 1). L'impact de l'ingrédient

from plants and "oside" refers to "sugar". They are glycosylated polyphenols (myricitrin, oleuropein).

Thanks to the patented, green Oleo-eco-extraction process, they have been captured and stabilized in a vegetable oil. Indeed, the established operating conditions allow us to modify the polarity and the viscosity of the vegetable oil, making possible the extraction of these glycosylated polar molecules within it. The oil-based form of this active ingredient has many advantages for the skin, such as increasing the penetration of active molecules into the epidermal cells compared to a conventional aqueous extract (demonstrated *ex vivo*).

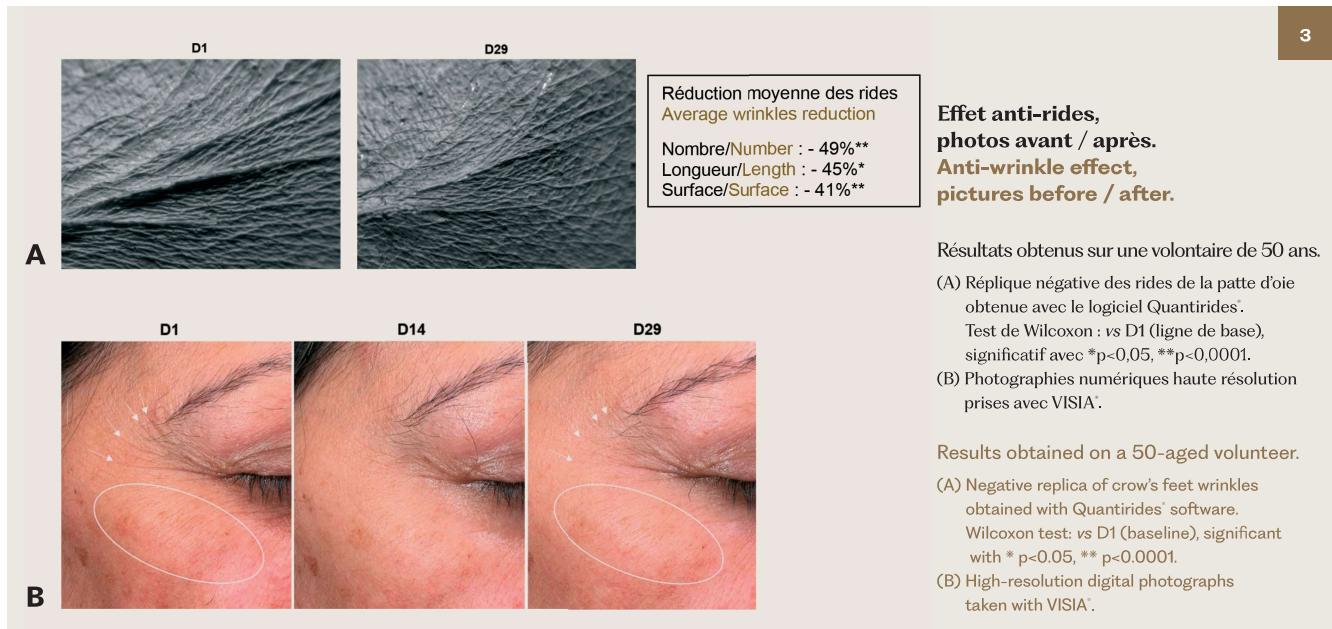
Efficacy of Phytoside™ enriched extract

To evaluate its efficacies, we performed an *ex vivo* proteo-genomic study on 54 years-old skin explants. This study revealed the ability of the active ingredient to stimulate skin healing mechanisms through the modulation of key genes and proteins. It induces the proliferation and differentiation of stem cells in aged skin by overexpressing CD200, reducing KRT15 and LRIG1. Furthermore, by upregulating FGF2, IL1, IL6, KRT16, KRT17, MMP19, MYO5B, ADAMST1 and HAS2 and inhibiting RELA, it appears to promote the remodelling and regeneration of aging skin (Figure 1).

The effect of the extract on skin regeneration associated pathways was confirmed at protein level thanks to immunostaining evaluations on CD200, K17 and HAS2 (Figure 2).

Reaching the ultimate goal

The regenerative and remodelling benefits for human skin were confirmed *in vivo* on volunteers with mature skin. The active ingredient exhibited anti-wrinkle and smoothing activity on the surface of the skin, significantly removing skin roughness after 14 days of application (-16%; p-value <0.0005). The efficacy is confirmed after 28 days of use (-22%; p-value <0.01). It significantly reduces the number by 49% (p-value <0.0001), the surface by 41% (p-value <0.0001) and the length by 45% (p-value <0.05) of crow's feet wrinkles / D0, compared to placebo (Figure 3).



Résultats obtenus sur une volontaire de 50 ans.

(A) Réplique négative des rides de la patte d'oie obtenue avec le logiciel Quantirides®.

Test de Wilcoxon : vs D1 (ligne de base), significatif avec *p<0,05, **p<0,0001.

(B) Photographies numériques haute résolution prises avec VISIA®.

Results obtained on a 50-aged volunteer.

(A) Negative replica of crow's feet wrinkles obtained with Quantirides® software.

Wilcoxon test: vs D1 (baseline), significant with * p<0.05, ** p<0.0001.

(B) High-resolution digital photographs taken with VISIA®.

sur ces thématiques a pu également être confirmé au niveau protéique grâce à des évaluations par immunomarquage des protéines CD200, K17 et HAS2 (**Figure 2**).

Atteindre l'objectif final

Afin d'évaluer les bénéfices cliniques, une étude a été réalisée sur 21 femmes matures d'origine caucasienne. L'ingrédient a été testé à 1 %, appliqué deux fois par jour, pendant 28 jours. Des activités anti-rides et lissante ont pu être démontrées. En effet, l'ingrédient élimine significativement la rugosité de la peau dès 14 jours d'application (-16 %, p < 0,0005). L'efficacité est confirmée et intensifiée après 28 jours d'utilisation (-22 %, p < 0,01). Il réduit également significativement le nombre (-49 %, p-value <0,0001), la surface (-41 %, p-value <0,0001) et la longueur (-45 %, p-value <0,05) des rides de la patte d'oie vs D0, par rapport au placebo (**Figure 3**).

Conclusion

Nous résultats ont démontré que l'activation des mécanismes de la cicatrisation cutanée permet de réduire visiblement les signes du vieillissement, notamment en comblant les rides. Par ailleurs cet ingrédient présente de nombreux atouts en termes de durabilité environnementale. Il est notamment à l'origine de l'obtention du deuxième IRCC (*Internationally Recognized Certificate of Compliance*) obtenu par Hallstar. Délivré par les autorités françaises le 31 mars 2023, il permet de garantir que l'accès aux feuilles de myrte et leur utilisation est conforme au protocole de Nagoya et aux lois locales qui en découlent (IRCC : ABSCH-IRCC-FR-263769-1). Hallstar s'implique en cofinançant les activités d'une association de cueilleurs professionnels de plantes sauvages afin de mettre en place et de promouvoir de bonnes pratiques de récolte. ●

Conclusion

We have demonstrated that the activation of skin healing mechanisms reduces the visible signs of aging, specifically by filling in wrinkles. Moreover, this ingredient has many advantages in terms of environmental sustainability. This ingredient was the basis of the second IRCC (*Internationally Recognized Certificate of Compliance*) obtained by Hallstar. Issued by the French authorities on March 31, 2023, it guarantees that access to and use of myrtle leaves complies with the Nagoya Protocol and local laws (IRCC: ABSCH-IRCC-FR-263769-1). Hallstar is involved in co-funding the activities of an association of professional wild plant harvesters to establish and promote good harvesting practices. ●

Références / Reference

⁽¹⁾ R.Sgong and J.Gruber. *Gerontol.* 2013; 59(2):159-164.

⁽²⁾ C.C. Zouboulis *et al.* *Exp. Gerontol.* 2008; 43:986–997.

⁽³⁾ B. Poljsak *et al.* *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2012;1(2):33-6.

A a