

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
10 novembre 2005 (10.11.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2005/105123 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
A61K 35/78, 7/48, 31/198, A61P 37/00, 17/02

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2005/001076

(22) Date de dépôt international : 29 avril 2005 (29.04.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0404640 30 avril 2004 (30.04.2004) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **LABORATOIRES EXPANSCIENCE** [FR/FR]; 10, avenue de l'Arche, F-92400 Courbevoie (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **PICCIRILLI, Antoine** [FR/FR]; 39, avenue des Etats-Unis, F-78000 Versailles (FR). **PICCARDI, Nathalie** [FR/FR]; 47, rue Chapotier, F-38120 Saint Egrève (FR). **MSIKA, Philippe** [FR/FR]; 1, résidence Petite Place, F-78000 Versailles (FR). **PAUL, François** [FR/FR]; 69, chemin de Malepère, F-31400 Toulouse (FR). **BREDIF, Stéphanie** [FR/FR]; 1, rue des Champs Coquilles, F-28210 Chaudon (FR).

(74) Mandataires : **MARTIN, Jean-Jacques** etc.; Cabinet Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasienn (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: MEDICAMENT COMPRISING A PEPTIDE EXTRACT OF AVOCADO, WHICH IS INTENDED FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF ILLNESSES THAT ARE LINKED TO AN IMMUNE SYSTEM DEFICIENCY

(54) Titre : MEDICAMENT COMPRENANT UN EXTRAIT PEPTIDIQUE D'AVOCAT DESTINE AU TRAITEMENT ET A LA PREVENTION DES MALADIES LIEES A UNE DEFICIENCE DU SYSTEME IMMUNITAIRE

(57) Abstract: The invention relates to a medicament which comprises a peptide extract of avocado and which can also comprise a composition containing D-mannoheptulose and/or perseitol, such as a water-soluble extract of avocado sugars, and/or a peptide extract of lupine. The inventive medicament is intended for the treatment and/or prevention of illnesses that are linked to an alteration in innate and/or acquired immunity, through an increase in the production of anti-microbial peptides, preferably hBD-2, without inducing inflammatory reactions, irritations or intolerances.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un médicament comprenant un extrait peptidique d'avocat, et qui peut en outre comprendre une composition comprenant du D-mannoheptulose et/ou du perséitol, notamment un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat, et/ou un extrait peptidique de lupin. Le médicament est destiné au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une modification de l'immunité innée et/ou acquise, via l'augmentation de la production de peptides antimicrobiens, avantageusement de la hBD-2, sans induire de réactions inflammatoires, d'irritations ou d'intolérances.



WO 2005/105123 A1

**Médicament comprenant un extrait peptidique d'avocat destiné au traitement et à la prévention des maladies liées à une déficience du système immunitaire**

5 La présente invention concerne un médicament comprenant un extrait peptidique d'avocat, avantageusement destiné au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une déficience du système immunitaire, et plus particulièrement à une altération de l'immunité innée.

10 Toutes les espèces animales sont confrontées de façon quotidienne à un grand nombre de microorganismes, tels que des bactéries, des champignons, des parasites ou des virus, qui peuvent affecter leur santé voire leur survie. Deux systèmes de défense s'opposent à ces microorganismes : un système appelé immunité innée, qui est commun à tous les animaux, y compris l'homme, et un système immunitaire dit adaptatif ou  
15 spécifique qui est acquis grâce aux cellules et aux médiateurs de l'immunité après contact avec l'agresseur potentiel.

Une différence entre les réponses immunitaires innées ou adaptatives se situe au niveau des mécanismes de reconnaissance des microorganismes impliqués. Dans l'immunité innée, la spécificité des récepteurs est génétiquement déterminée dès la  
20 naissance et elle n'est pas variable. Ces récepteurs sont exprimés sur des cellules telles que certaines cellules épithéliales et endothéliales, les cellules dendritiques, les monocytes et les macrophages. Toutes les structures reconnues par les récepteurs de l'immunité innée sont communes à de très nombreux microorganismes. Contrairement à la réponse immunitaire adaptative, les mécanismes de la réponse immunitaire innée  
25 (phagocytose, peptides antimicrobiens, ...) sont activés dès le début de l'infection et contrôlent de façon quasi-immédiate la prolifération des pathogènes qui envahissent l'hôte. Ensuite, la réponse immunitaire adaptative prend le relais.

Les peptides anti-microbiens ont été retrouvés à la fois dans le règne végétal et animal, et plus de 500 peptides anti-microbiens différents ont été découverts des  
30 insectes à l'homme. Les peptides anti-microbiens sont des molécules de petite taille (10 à 50 acides aminés) capables de détruire une grande variété de micro-organismes (bactéries Gram+ et/ou Gram-, champignons, virus, cellules transformées), en

perméabilisant leur membrane cellulaire. En outre, certains de ces peptides antimicrobiens via des propriétés chemo-attractives sont capables de recruter des cellules participant à l'immunité adaptative telles que les cellules dendritiques ou bien encore les lymphocytes T. De nombreux peptides anti-microbiens ont été mis en évidence dans le vernix caseosa et dans le fluide amniotique, ainsi que dans la peau des nouveaux nés, suggérant leur rôle clé dans la défense anti-microbienne lors de l'accouchement, mais également dès les début de la vie alors que l'immunité acquise est encore immature.

La plupart des organismes synthétisent plusieurs types de peptides antimicrobiens au niveau de leurs différents épithélia, de manière à définir un large spectre d'activité. Chez les mammifères, deux grandes classes de peptides anti-microbiens, dont la production est induite lors d'un contact avec un micro-organisme, ont été décrites : les cathélicidines et les défensines.

La cathélicidine humaine (LL-37) a été isolée pour la première fois à partir de cellules de la moelle osseuse. LL-37 est exprimée notamment dans la peau humaine, au niveau des ongles, ainsi qu'au niveau de la membrane synoviale saine et inflammatoire, notamment chez des patients atteints d'arthrose. LL-37 possède un large spectre d'activité, et semble agir en synergie avec d'autres peptides antimicrobiens notamment les défensines. LL-37 possède également des propriétés chemo-attractantes, ce qui lui confère la capacité de pouvoir recruter des cellules de l'immunité adaptative.

Les défensines sont elles-mêmes divisées en deux familles,  $\alpha$  et  $\beta$ , sur la base de leur structure secondaire. Les  $\alpha$ -défensines (6 connues à ce jour) sont principalement localisées dans les granules de stockage des cellules spécialisées telles que les neutrophiles, ou les cellules de Paneth intestinales, alors que les  $\beta$ -défensines sont caractéristiques des tissus épithéliaux. Outre leur rôle dans l'immunité innée, les défensines sont également connues pour leurs propriétés mitogéniques, ce qui suggère leur implication potentielle dans les processus de cicatrisation.

Chez l'homme, 4  $\beta$ -défensines ont été identifiées à ce jour (il existerait plus de 20 gènes codant pour des peptides anti-microbiens dans notre génome). La  $\beta$ -défensine 1 (hBD-1) humaine est généralement produite de manière constitutive et est exprimée en quantité importante dans les reins et dans une moindre proportion au niveau du pancréas, des glandes salivaires, des épithélia des voies respiratoires, dans le système uro-génital de la femme, dans la membrane synoviale saine, ainsi que dans le placenta.

hBD-1 est également exprimée dans la peau. Les autres formes de  $\beta$ -défensines, hBD-2, 3 et 4, sont inductibles. hBD-3 est induite au niveau des membranes synoviales inflammatoires comme par exemple dans les pathologies arthrosiques. L'expression de hBD-2 a été rapportée, à ce jour, dans la peau, le tractus uro-génital, les glandes sudorales, et au niveau de l'unité pilo-sébacée.

Au niveau de la peau, d'autres peptides ou protéines, tels que l'adrénomédulline, la cystatine, l'inhibiteur spécifique de l'élastase/SKALP/elafin, posséderaient des activités anti-microbiennes. Plus récemment, la dermicidine (large spectre d'activité) a été caractérisée comme un peptide anti-microbien spécifique de la peau qui serait produit au niveau des glandes sudorales eccrines, et dont la sécrétion simultanée avec la sueur constituerait une part importante du système de défense inné contre les infections locales et systémiques. hBD-2 a été caractérisée pour la première fois dans les squames de psoriasis. L'expression de hBD-2 et -3, ainsi que de LL-37, est augmentée au niveau des lésions de psoriasis, ce qui expliquerait la plus grande résistance aux infections des patients atteints de cette pathologie. A l'inverse, dans la dermatite atopique (lésions chroniques et lésions en poussée), l'expression de LL-37 et de hBD-2 est diminuée sous l'influence de l'interleukine-4 (IL-4) et de l'interleukine-13 (IL-13), médiateurs de l'atopie. Cette déficience pourrait expliquer la susceptibilité accrue aux infections des patients atteints de dermatite atopique. Dans l'acné, l'expression des  $\beta$ -défensines (hBD-1 et -2) est augmentée en réaction à la prolifération de *P. acnes*. En outre, il est supposé que les acnéiques souffriraient d'un déséquilibre initial en peptides anti-microbiens, responsable de la prolifération bactérienne, bactéries qui en retour stimuleraient les défenses immunitaires innées.

L'inflammation semble donc être un facteur prépondérant dans l'induction des peptides anti-microbiens. Ainsi, il a été également montré que l'interleukine-1, le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis alpha), et l'irradiation ultra-violette stimulaient la production de hBD-2. L'expression de hBD-2 est également liée à l'état de différenciation des kératinocytes. Ainsi, la stimulation de la production des peptides anti-microbiens, notamment de la famille des défensines, et plus particulièrement de hBD-2, permettrait de promouvoir et/ou de rétablir l'immunité innée, notamment au niveau des yeux et des épithélia (épiderme, muqueuses vaginale, intestinale, nasale et auriculaires, voies respiratoires).

La cavité buccale est constamment exposée à une grande variété de microbes (bactéries, virus, champignons). Entre autre, il est bien établi que des bactéries telles que *actinobacillus actinomycetemcomitans*, *porphyromonas gingivalis* sont des facteurs clé participant au développement des maladies parodontales (gingivite et parodontite).

5 L'épithélium gingival constitue le premier rempart contre les différents pathogènes présents dans la sphère buccale. A ce titre, les kératinocytes gingivaux produisent un large panel de peptides anti-microbiens, hBD-1, -2, -3, LL37. Ces peptides sont également produits au niveau de la muqueuse buccale, ainsi que par les glandes salivaires.

10 Plus particulièrement, la stimulation des peptides antimicrobiens permettrait de promouvoir et/ou de rétablir l'immunité innée au niveau de la peau saine ou pathologique des nourrissons et des enfants, dont l'immunité est généralement déficiente, et au niveau de la peau des adultes ou des personnes âgées en bonne santé ou malades (immuno-déprimés). Cette stimulation permettrait ainsi de compléter  
15 avantageusement le système de défense passif de la peau que constitue le stratum corneum (cornéocytes + ciment intercellulaire), et de préparer la réponse immunitaire adaptative chez les nourrissons, les enfants, les adultes et les personnes âgées, en bonne santé ou malades. Parallèlement, cette stimulation permettrait de promouvoir la cicatrisation.

20

D'une manière surprenante, les inventeurs ont découvert qu'une composition comprenant un extrait peptidique d'avocat permet l'augmentation de la production de peptides antimicrobiens, avantageusement de la hBD-2.

Ainsi, la présente invention a pour objet un médicament comprenant un extrait  
25 peptidique d'avocat, qui comprend 2 à 10 % en poids d'azote alpha-aminé, par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique, et un excipient approprié.

Dans le cadre de la présente invention, on entend par les termes « azote alpha-aminé », la teneur en azote des peptides sous la forme de groupes alpha-aminés libres. La mesure de la teneur en azote alpha-aminé des peptides permet d'évaluer le degré  
30 d'hydrolyse des protéines ainsi que la masse molaire moyenne des peptides.

L'extrait peptidique d'avocat peut directement être obtenu à partir de n'importe quelle partie de l'avocat ou de l'avocatier, telle que le fruit, la peau, le noyau, la feuille

ou les racines de l'avocatier. Il est aussi possible d'obtenir un extrait peptidique d'avocat à partir des co-produits de l'industrie de transformation de l'avocat, parmi lesquels on peut citer de façon non exhaustive : la pulpe fraîche d'avocat, la pulpe congelée, déshydratée, les tourteaux d'avocat issus des procédés d'extraction d'huile (extraction mécanique et/ou par solvant du fruit préalablement déshydraté), les matières solides déshuilées issues des procédés d'extraction d'huile par voie humide (procédé dit de centrifugation), les matières solides déshuilées issues des procédés d'extraction d'huile d'avocat par voie enzymatique, les purées d'avocat brutes (guacamole), les déchets solides issus des unités de production de ces purées. L'extrait est avantagement obtenu à partir du fruit frais de l'avocatier. Les fruits pourront être choisis parmi les variétés *Hass*, *Fuerte*, *Ettinger*, *Bacon*, *Nabal*, *Anaheim*, *Lula*, *Reed*, *Zutano*, *Queen*, *Criola Selva*, *Mexicana Canta*, *Region Dschang*, *Hall*, *Booth*, *Peterson*, *Collinson Red*, plus avantagement, les variétés *Hass*, *Fuerte* et *Reed*. De préférence, on retiendra les variétés *Hass*, *Fuerte*, *Ettinger* et *Bacon*, et plus avantagement les variétés *Hass* et *Fuerte*.

Le fruit de l'avocatier est principalement constitué d'eau, de pulpe, d'huile et de noyau. Les proportions de ces constituants sont, à l'instar de toutes matières naturelles et végétales, extrêmement variables. Toutefois, on admet généralement les données de composition moyennes suivantes, exprimées en pourcentage de fruit frais, données dans le tableau 1 suivant :

Eau	70-85 %
Protéines	1,5-4,5 %
Lipides	12-23 %
Sucres	1,5-5 %
Fibres	1,1-1,6 %

Tableau 1

Par rapport à la pulpe, les protéines de l'avocat représentent 1,5 à 2,5 % (J.P. Gaillard, l'Avocatier, Ed. G.P. Maisonneuve et Larose, 1987, pp 266-67). La répartition en acides aminés, exprimée en pourcentage en poids par rapport au poids total des acides aminés, est donnée dans le tableau 2 suivant :

Alanine	5-7
Arginine	3-5
Acide aspartique	8-12
Cystine-cysteine	< 1
Acide glutamique	11-13
Glycine	4-6
Histidine	4-6
Isoleucine	4-7
Leucine	8-11
Lysine	4-7
Méthionine	1-3
Phénylalanine	4-6
Proline	4-7
Sérine	4-6
Thréonine	4-6
Tyrosine	3-6
Valine	4-7

Tableau 2

Les principaux acides aminés sont l'acide glutamique, l'acide aspartique et la  
5 leucine.

Par comparaison aux plantes oléoprotéagineuses classiques telles que le soja, le  
tournesol ou le colza, l'avocat est nettement plus pauvre en protéines. Par ailleurs, la  
relative richesse du fruit en fibres, rend très difficile l'accessibilité à ces protéines par  
les voies classiques, chimique ou biochimique. De plus, le caractère très peu  
10 hydrosoluble de ces macromolécules naturelles invite à préparer des fractions  
hydrolysées de ces protéines (peptides), présentant une très grande solubilité dans l'eau,  
et une bien meilleure biodisponibilité. Par ce biais, leur potentiel allergisant peut aussi  
être éliminé. L'invention aura donc également pour but, la préparation d'un extrait  
peptidique d'avocat, par une voie de synthèse ménagée et non dénaturante des protéines  
15 hydrolysées.

Plus particulièrement, l'extrait peptidique d'avocat est susceptible d'être obtenu  
par un procédé comprenant les étapes suivantes :

- obtention d'un tourteau d'avocat, avantageusement du fruit de l'avocat, par  
séchage puis extraction de l'huile (lipides); ensuite
- 20 - cryobroyage et délipidation complète dudit tourteau puis décantation,  
centrifugation et récupération du gâteau ; puis

- première hydrolyse en présence de glucanases, suivie d'une centrifugation et de l'élimination de la fraction soluble ;
- seconde hydrolyse en présence d'une ou plusieurs protéases, suivie d'une centrifugation et de l'élimination du culot ; ensuite
- 5 - concentration de la phase peptidique par nanofiltration ;
- décoloration, en présence de charbon actif par exemple, suivie d'une filtration simple (10  $\mu\text{m}$ ) puis d'une ultrafiltration (seuil de coupure de 10 kD) ; enfin
- le cas échéant, microfiltration stérilisante finale (0,2  $\mu\text{m}$ ), ajout de conservateur et conditionnement.

10 Selon une variante avantageuse de l'invention, la première étape du procédé consiste à sécher le fruit puis à le déshuiler. Ainsi, après tranchage du fruit en fines lamelles, son séchage peut être réalisé par l'ensemble des techniques connues de l'homme de métier, parmi lesquelles on peut citer le séchage à l'air chaud, la lyophilisation ou encore le séchage osmotique. D'une façon générale, la température

15 lors de cette étape de séchage sera avantageusement maintenue, quelle que soit la technique employée, inférieure ou égale à 80°C. Dans le cadre du présent procédé, pour des raisons de facilité de mise en œuvre et pour des raisons de coût, le séchage en séchoirs ventilés, en couche mince et sous courant d'air chaud, à une température comprise entre 70 et 75°C est préféré. La durée de l'opération peut varier de 5 à 72

20 heures.

Les lipides du fruit séché sont par la suite extraits soit par voie mécanique dans une presse à vis continue ou encore par voie chimique, à l'aide d'un solvant tel que l'hexane dans un extracteur de type Soxhlet ou dans un extracteur continu à bande, de type De Smet®, notamment selon le procédé décrit dans la demande FR 2 843 027, ou

25 encore par un procédé utilisant le CO<sub>2</sub> supercritique. Parmi les intérêts majeurs du procédé, l'huile co-produite constitue un produit bien évidemment directement valorisable. C'est pourquoi, on préfère l'extraction des lipides par voie mécanique.

Le fruit sec et déshuilé, ou encore appelé tourteau peut subir ensuite les étapes suivantes :

- 30 - cryobroyage
- délipidation complet, notamment par un solvant alimentaire non toxique tel que l'éthanol et/ou l'acétone

- décantation, puis lavage du tourteau à l'eau,
- centrifugation, et récupération du gâteau,
- première hydrolyse en présence d'une ou plusieurs glucanases,
- centrifugation et élimination de la fraction soluble,
- 5 - seconde hydrolyse en présence d'une ou plusieurs protéases,
- centrifugation et élimination du culot,
- concentration par nanofiltration,
- décoloration en présence de charbon actif,
- filtration simple (10 µm) puis ultrafiltration (seuil de coupure de 10 kD),
- 10 - ajout de conservateur, microfiltration stérilisante finale (0,2 µm) et conditionnement.

L'extrait aqueux final peut contenir en poids 1 à 60 % de matière sèche, ou encore 3 à 20 % de matière sèche, de préférence 5 à 6 % de matière sèche. Par rapport au poids de la matière sèche, la teneur massique en azote alpha-aminé pourra être comprise entre 2 et 10 %, de préférence entre 5 et 7 %. Le pH d'une solution aqueuse à 1,2 % en poids d'extrait sec, sera généralement compris entre 3 et 6, plus avantageusement entre 4 et 5. Les données analytiques moyennes d'une solution aqueuse à 1,2 % en poids d'extrait sec, obtenue par le procédé décrit précédemment, sont données dans le tableau 3 suivant :

Azote $\alpha$ -aminé (méthode dite « o-phthalaldéhyde » ou « ninhydrine ») (en pourcentage massique dans la matière sèche)		4 - 10
Protéines (en pourcentage massique dans la matière sèche) ( $N \times 6,25$ ) <sup>1</sup>		10 - 30
pH (dilution ¼)		4,5 - 7,0
Absorbance (dilution ¼)	420 nm	0,1 - 0,6
	550 nm	0,02 - 0,1

20

Tableau 3

<sup>1</sup>  $N \times 6,25$  correspond au dosage de l'azote total (N) d'un échantillon multiplié par un coefficient spécifique pour la protéine dosée. Quand on ne connaît pas précisément le coefficient des protéines dosées, on utilise par convention le coefficient 6,25.

25

Le tableau 4 suivant donne la composition moyenne en acides aminés de l'extrait peptidique obtenu par le procédé selon l'invention, dans lequel les valeurs sont exprimées en pourcentage en poids par rapport au poids total des acides aminés dosés.

Les valeurs pour l'acide aspartique et l'acide glutamique incluent également les teneurs en asparagine et en glutamine, respectivement.

Acide aminé	Valeur minimale	Valeur maximale
Alanine	6,4	7,8
Arginine	4,7	5,7
Acide aspartique	10,3	12,7
Cystine-cystéine	2,9	3,5
Acide glutamique	13,0	15,8
Glycine	5,3	6,5
Histidine	2,2	2,6
Isoleucine	4,8	5,8
Leucine	7,6	9,4
Lysine	3,0	3,8
Méthionine	1,2	1,6
Phénylalanine	4,7	5,7
Proline	4,1	5,2
Sérine	5,5	6,7
Thréonine	4,6	5,6
Tyrosine	3,6	4,4
Valine	5,8	7,2

Tryptophane non dosé

Tableau 4

5

L'extrait obtenu pourra éventuellement être lyophilisé dans le but d'obtenir une poudre solide (extrait sec), mais totalement hydrosoluble par rapport aux protéines originelles de l'avocat.

10 Selon une variante avantageuse de l'invention, 50 % au moins des peptides de l'extrait sont constitués de 10 à 30 motifs d'acides aminés. La taille de ces peptides est donc beaucoup plus petite par comparaison à celle des protéines natives de l'avocat. Ces peptides présentent donc à ce titre une bien meilleure bio disponibilité, notamment cutanée.

15 Le médicament selon l'invention est particulièrement approprié au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une modification de l'immunité innée et/ou acquise, par augmentation de la production de peptides antimicrobiens, de la famille des cathélicidines et/ou des bêta-défensines, avantageusement de la hBD-2. Au sens de la présente invention, le terme « modification » peut signifier augmentation ou diminution.

20 Le médicament selon l'invention est également particulièrement approprié au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une modification de l'immunité

innée et/ou acquise par stimulation des peptides anti-microbiens like, tels qu'un inhibiteur spécifique de l'élastase, particulièrement l'élafin (SKALP).

Le médicament selon l'invention permet avantageusement de stimuler et/ou de compléter l'immunité innée et/ou l'immunité acquise.

5 D'une manière générale, dans le cadre de la présente invention, lesdites maladies peuvent être liées à la présence de micro-organismes, notamment de bactéries Gram+ et/ou Gram-, de champignons ou de virus.

Plus particulièrement, lesdites maladies peuvent être des infections des systèmes oculaire et auditif, des épithélia non kératinisés (muqueuse vaginale, intestinale, 10 gingivale, nasale, pulmonaire, tractus respiratoire, anale et uréthrale, pulmonaire) et kératinisés telle que la peau. Les dites maladies peuvent également être des infections des phanères ou annexes cutanées (cheveux, ongles, glandes sudorales, glandes sébacées). Ainsi lesdites maladies peuvent être des pathologies telles que la folliculite, le furoncle, l'abcès, l'impétigo ou le panaris.

15 Lesdites maladies peuvent-être des pathologies du cuir chevelu telles que les pellicules, et plus largement des affections liées à une hyper-séborrhée.

Lesdites maladies peuvent être des pathologies liées à une modification de la balance Th1/Th2 telles que la dermatite atopique.

Lesdites maladies peuvent être des pathologies associées à une modification de 20 la synthèse de cytokines, telles que l'IL-4 et/ou l'IL-13, notamment dans le cadre de la dermatite atopique.

Lesdites maladies peuvent également être des dermatoses inflammatoires, telles que la dermatite atopique, l'eczéma atopique et/ou de contact, le psoriasis, l'acné, et des dermatites irritatives.

25 Lesdites maladies peuvent aussi être des brûlures, en particulier des brûlures du premier ou second degré.

Lesdites maladies peuvent également être des pathologies liées à un déficit de la barrière cutanée. Ainsi, le médicament selon l'invention peut être utilisé pour le traitement des peaux hyper-réactives (sensibles, irritées, allergiques), atopiques, sèches 30 ou âgées. Lesdites maladies peuvent aussi être des pathologies liées à des peaux fragilisées par une agression environnementale, notamment due au froid, à la pollution, au stress, au tabac, à des expositions solaires.

Dans le cadre de la présente invention, le médicament est également approprié pour la protection des peaux immatures, saines ou pathologiques, des nourrissons et des enfants. En effet, il permet de renforcer les défenses naturelles de l'épiderme de l'enfant dont l'immunité est généralement déficiente.

5 Dans le cadre de la présente invention, le médicament est également approprié pour la protection des peaux saines ou pathologiques des adultes ou des personnes âgées, notamment des individus immuno-déprimés.

Le médicament selon l'invention est également approprié pour favoriser la cicatrisation, dans les processus de cicatrisation normaux ou pathologiques, tels que les  
10 ulcères et les escarres.

Dans le cadre de la présente invention, le médicament est aussi destiné à traiter et/ou prévenir les maladies parodontales, les pathologies articulaires inflammatoires telle que l'arthrose, les infections des muqueuses, notamment des muqueuses vaginale, intestinale, respiratoire, nasale ou auriculaire, ou les infections du système oculaire.

15 Selon une variante avantageuse de l'invention, le médicament comprend 0,01 à 20% en poids sec d'extrait peptidique d'avocat, par rapport au poids total dudit médicament, encore plus avantageusement 0,1 à 15% en poids sec d'extrait peptidique d'avocat, encore plus avantageusement 0,5 à 10% en poids sec d'extrait peptidique d'avocat, encore plus avantageusement 0,7 à 8% en poids sec d'extrait peptidique  
20 d'avocat, et encore plus avantageusement 1 à 5% en poids sec d'extrait peptidique d'avocat.

Selon une variante avantageuse de l'invention, le médicament comprend en outre du D-mannoheptulose et/ou du perséitol (sucres en C7) ou d'un de leurs dérivés chimiques, avantageusement en une quantité de 0,001 à 30 % en poids sec, par rapport  
25 au poids total du médicament, encore plus avantageusement 0,01-20% en poids sec, encore plus avantageusement 0,1-10% en poids sec, encore plus avantageusement 0,5-5% en poids sec.

On observe alors avantageusement un effet de synergie.

La source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est avantageusement soit un  
30 extrait hydrosoluble de sucres d'avocat ou d'une autre plante. Autrement, le D-mannoheptulose et le perséitol sont disponibles commercialement (origine synthétique).

Selon une variante avantageuse de l'invention, la source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat comprenant au moins 50% en poids, par rapport au poids total de la matière sèche de l'extrait, de sucres en C7.

L'extrait hydrosoluble de sucres d'avocat est susceptible d'être obtenu par un  
5 procédé comprenant les étapes successives suivantes :

- obtention d'un tourteau d'avocat, avantageusement du fruit de l'avocat, par séchage de l'avocat puis extraction des lipides (huile) ; ensuite
- cryobroyage et délipidation complète dudit tourteau, puis décantation et centrifugation afin de récupérer une fraction soluble riche en sucres en C7  
10 (élimination du gâteau) ;
- déminéralisation sur résine ionique de ladite fraction soluble, obtenue à l'étape précédente ; puis
- ultrafiltration à 10 000 daltons ;
- le cas échéant, concentration par évaporation sous vide, ajout de conservateur,  
15 stérilisation par micro filtration (0,2 µm) et conditionnement.

Selon une variante avantageuse de l'invention, l'obtention du tourteau d'avocat et l'extraction des lipides sont avantageusement effectuées d'une manière identique pour l'extrait peptidique d'avocat et les sucres d'avocat.

Le fruit sec et déshuilé, ou encore appelé tourteau peut subir ensuite les étapes  
20 suivantes :

- cryobroyage
- délipidation complète, avantageusement à l'éthanol et/ou à l'acétone,
- décantation puis lavage du tourteau à l'eau,
- centrifugation et récupération de la fraction soluble (élimination du gâteau),  
25 - déminéralisation par passage sur des résines échangeuses d'ions
- ultrafiltration avec un seuil de coupure de 10 kD,
- concentration sous vide, ajout de conservateur et conditionnement.

De façon générale, l'extrait aqueux final peut contenir 0,1 à 10 % en poids de  
30 matière sèche, avantageusement 1 à 7 % en poids de matière sèche, encore plus  
avantageusement 3 à 5 % en poids de matière sèche. La teneur en sucres en C7, c'est-à-dire en D-mannoheptulose et en perséitol, dans la matière sèche est avantageusement supérieure à 50% en poids, encore plus avantageusement comprise en 65 à 90% en

poids, par rapport au poids total de la matière sèche.

La composition relative en sucres de l'extrait hydrosoluble d'avocat, en poids par rapport au poids total de la matière sèche de l'extrait, répond avantageusement aux critères suivants (composition relative déterminée par HPLC):

5	- D-mannoheptulose	5 à 80 %
	- Perséitol	5 à 80 %
	- Saccharose	inférieur à 10%
	- Glucose	inférieur à 10%
	- Fructose	inférieur à 10%

10 L'extrait hydrosoluble de sucre d'avocat comprend avantageusement, par rapport au poids total de la matière sèche, 1 à 99% en poids de mannoheptulose, plus avantageusement 5 à 80% en poids de mannoheptulose, encore plus avantageusement 10 à 80% en poids de mannoheptulose. L'extrait hydrosoluble de sucre d'avocat comprend avantageusement, par rapport au poids total de la matière sèche, 20 à 80% en

15 poids de perséitol, plus avantageusement 25 à 70% en poids de perséitol.

De préférence, la composition relative en sucres de l'extrait hydrosoluble, en poids par rapport au poids total de la matière sèche de l'extrait, répond aux critères suivants (composition relative déterminée par HPLC) :

	- D-mannoheptulose	25 à 60 %
20	- Perséitol	25 à 60 %
	- Saccharose	inférieur à 10 %
	- Glucose	inférieur à 10 %
	- Fructose	inférieur à 10 %

L'extrait obtenu pourra éventuellement être lyophilisé dans le but d'obtenir une

25 poudre solide (extrait sec), totalement hydrosoluble.

Selon une variante avantageuse de l'invention, le médicament selon l'invention comprend en outre un extrait peptidique de lupin, avantageusement en une quantité massique, par rapport au poids total du médicament, de 0,001 à 30% en poids sec, encore plus avantageusement de 0,01 à 10% en poids sec. L'extrait peptidique de lupin,

30 ajouté dans la composition selon l'invention, comprend au moins 70%, avantageusement au moins 80%, en poids de peptides, par rapport au poids de la

matière sèche de l'extrait peptidique. On observe alors avantageusement un effet de synergie.

En particulier, l'extrait peptidique de lupin est susceptible d'être obtenu par un procédé comprenant les étapes suivantes :

- 5 - préparation d'un tourteau de lupin broyé ou d'une farine de lupin micronisée ;
- puis, délipidation par extraction avec un solvant
- extraction des fractions protéiques et osidiques solubles, ou précipitation des protéines au point isoélectrique ;
- éventuellement séparation de la fraction protéique ;
- 10 - hydrolyse enzymatique de la fraction protéique, et récupération, éventuellement après filtration, de l'extrait peptidique.

Le procédé de préparation d'un extrait peptidique est décrit dans le brevet FR 2 792 202, déposé par les laboratoires Expanscience.

Le médicament selon l'invention peut en outre comprendre au moins un  
15 composé choisi dans le groupe constitué par les émoullients, les actifs hydratants, les activateurs de la synthèse de kératine, les kératorégulateurs, les kératolytiques, les agents restructurant de la barrière cutanée (activateurs de la synthèse des lipides cutanés, agonistes PPARs ou Peroxysome Proliferator Activated Receptor), les activateurs de la différenciation des kératinocytes (rétinoïdes, calcidone®, le calcium),  
20 les antibiotiques, les agents anti-bactériens, les composés antifongiques, les agents anti-viraux, les sébo-régulateurs, tels que les inhibiteurs de 5-alpha réductase, notamment l'actif 5-alpha Avocuta® commercialisé par les Laboratoires Expanscience, les immunomodulateurs, tels que le tacrolimus, le pimécrolimus, les oxazolines, les conservateurs, les agents anti-irritants, les agents apaisants, des filtres et écrans solaires,  
25 les agents anti-oxydants, les facteurs de croissance, les agents cicatrisants ou les molécules eutrophiques, les médicaments et les agents anti-inflammatoires, et les composés contenant des insaponifiables d'huiles végétales.

Les activateurs de la synthèse de kératine pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont  
30 avantageusement les rétinoïdes, les peptides de lupin (commercialisés par la société Silab), des protéines clés du stratum corneum ou granulosum (kératines).

Les antibiotiques pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement l'acide fucidique, la pénicilline, les tétracyclines, la pristinamycine, l'érythromycine, la clindamycine, la mupirocine, la minocycline, la doxycycline. Les agents anti-viraux pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement l'acyclovir et le valacyclovir. Les agents anti-irritants pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement la glycine, les sucres et/ou peptides de lupin, le Cyclocéramide®.

Les agents apaisants pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement l'alpha bisabolol, les dérivés de réglisse. Les kératorégulateurs pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement les alpha hydroxy acides et leurs dérivés. Un kératolytique pouvant être utilisé dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat est notamment l'acide salicylique et ses dérivés. Les agents anti-oxydants pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement les vitamines (C, E), les oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium). Les facteurs de croissance pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement la becaplermine et le TGF-beta (Transforming Growth Factor beta).

Les agents cicatrisants pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement la vitamine A, le panthénol, l'Avocadofurane®, l'oxyde zinc, le magnésium, le silicium, l'acide madécassique ou asiatique.

Les médicaments pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention, en association avec l'extrait peptidique d'avocat, sont avantageusement les médicaments, appropriés pour une administration pour voie topique ou orale, pour la prévention et/ou le traitement de l'atopie (corticoïdes, émoullients), de l'acné (antibiotiques, peroxyde de benzoyle, rétinoïdes, acide azélaïque, vitamine PP, zinc, cyclines), de l'eczéma (immunomodulateurs, émoullients, huile de saumon, de bourrache, les pré-biotiques) ou

du psoriasis (corticoïdes, calcipotriol, calcitriol, tazarotène, huile de cade, acitrétine, PUVA thérapie).

Les agents anti-inflammatoires pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des agents anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), tels que les corticoïdes, ou non-stéroïdiens (AINS). Les agents restructurant de la barrière cutanée, permettant de stimuler la synthèse des lipides clés de l'épiderme, et pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des concentrats de tournesol, encore plus avantageusement des concentrats de tournesol linoléiques, tels que l'actif commercialisé par les Laboratoires Expanscience, Soline® (cf. la demande internationale WO 01/21150), des insaponifiables d'huile végétale, tel que l'Avocadofurane® (cf. la demande internationale WO 01/21150), des agonistes PPARs (rosiglitazone, pioglitazone). Les agents restructurants sont avantageusement présent en une proportion allant de 0,001 à 30 % en poids, par rapport au poids total du médicament. Les composés antifongiques pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement l'econazole et le ketoconazole.

Les conservateurs antiseptiques pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont par exemple le triclosan, la chlorhexidine, les ammoniums quaternaires.

Les immunomodulateurs pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement le tacrolimus, le pimécrolimus et les oxazolines.

Les oxazolines pouvant être utilisées dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des oxazolines choisies dans le groupe constitué par la 2-undécyl-4-hydroxyméthyl-4-méthyl-1,3-oxazoline, la 2-undécyl-4,4-diméthyl-1,3-oxazoline, la (E)-4,4-diméthyl-2-heptadéc-8-ényl-1,3-oxazoline, la 4-hydroxyméthyl-4-méthyl-2-heptadécyl-1,3-oxazoline, la (E)-4-hydroxyméthyl-4-méthyl-2-heptadéc-8-ényl-1,3-oxazoline, la 2-undécyl-4-éthyl-4-hydroxyméthyl-1,3-oxazoline. De manière

encore plus avantageuse, ladite oxazoline est la 2-undécyl-4,4-diméthyl-1,3-oxazoline, appelée OX-100 ou Cyclocéramide®.

Les composés contenant des insaponifiables d'huiles végétales pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement choisis dans le groupe constitué par les lipides furaniques d'avocat, les insaponifiables d'avocat et de soja, les concentrats d'huile de lupin, les concentrats d'huile de tournesol et leurs mélanges.

Les lipides furaniques d'avocat pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des 2-alkyl furanes naturels, notamment l'actif Avocadofurane® commercialisé par les Laboratoires Expanscience, pouvant être obtenus par le procédé décrit dans la demande internationale WO 01/21605.

Les insaponifiables d'avocat et de soja pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement un mélange d'insaponifiables d'avocat furanique et d'insaponifiables de soja, dans un rapport respectif d'environ 1/3-2/3. Les insaponifiables d'avocat et de soja sont encore plus avantageusement le produit Piasclédine®, commercialisé par les Laboratoires Expanscience.

Les concentrats d'huile de lupin pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des concentrats obtenus par distillation moléculaire d'huile de lupin, avantageusement d'huile de lupin blanc doux, tels que ceux décrits dans la demande internationale WO 98/47479. Ils contiennent avantageusement environ 60% en poids d'insaponifiables.

Les concentrats d'huile de tournesol pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention en association, avantageusement avec un effet de synergie, avec l'extrait peptidique d'avocat sont avantageusement des concentrats de tournesol linoléiques, tels que l'actif commercialisé par les Laboratoires Expanscience, Soline® (cf. la demande internationale WO 01/21150).

Le médicament selon l'invention est destiné au traitement et/ou à la prévention de maladies pouvant affecter l'être humain et/ou les animaux, notamment les

mammifères. Le médicament selon l'invention peut être formulé sous la forme de différentes préparations adaptées à une administration topique, à une administration orale, rectale, vaginale, nasale, auriculaire ou bronchique, à une administration parentérale. De préférence les différentes préparations sont adaptées à l'administration topique et incluent les crèmes, les pommades, les lotions, les huiles, les patches, les sprays ou tout autres produits pour application externe. Les modes d'administration, les posologies et les formes galéniques optimales des composés et compositions selon l'invention peuvent être déterminés selon les critères généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement pharmaceutique, en particulier dermatologique ou vétérinaire, adapté à un patient ou à un animal comme par exemple l'âge ou le poids corporel du patient ou de l'animal, la gravité de son état général, la tolérance au traitement, les effets secondaires constatés, le type de peau. En fonction du type d'administration souhaitée, le médicament et/ou les composés actifs selon l'invention peuvent en outre comprendre au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable, notamment dermatologiquement acceptable. De préférence, on utilise un excipient adapté pour une administration par voie topique externe. Le médicament selon la présente invention peut en outre comprendre au moins un adjuvant pharmaceutiquement connu de l'homme du métier, choisi parmi les épaississants, les conservateurs, les parfums, les colorants, des filtres chimiques ou minéraux, les agents hydratants, les eaux thermales, etc.

La présente invention concerne également une composition cosmétique comprenant un extrait peptidique d'avocat et un excipient approprié cosmétiquement acceptable. L'extrait peptidique d'avocat comprend avantageusement 2 à 10% en poids d'azote alpha-aminé, par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique.

La composition cosmétique selon l'invention comprend avantageusement 0,001 à 30 % en poids sec d'extrait peptidique d'avocat, par rapport au poids total de ladite composition, encore plus avantageusement 0,01% à 10 % en poids sec d'extrait peptidique d'avocat. Selon une variante avantageuse de l'invention, l'extrait peptidique d'avocat peut être obtenu selon un procédé tel que décrit précédemment.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition comprend en outre du D-mannoheptulose et/ou du perséitol (effet de synergie), avantageusement en une quantité de 0,001 à 30 % en poids sec, encore plus avantageusement 0,01 à 5% en

poids sec, par rapport au poids total de la composition. La source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est avantageusement un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat, dont la teneur en sucres en C7, c'est-à-dire en D-mannoheptulose et en perséitol, dans la matière sèche est avantageusement comprise entre 65 à 90% en poids, par rapport au poids total de la matière sèche. Ces sucres de type heptitol peuvent aussi être obtenus à partir d'une autre source végétale ou par synthèse.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition comprend en outre un extrait peptidique de lupin (effet de synergie), avantageusement en une quantité de 0,001 à 30 % en poids sec, par rapport au poids total de la composition. L'extrait peptidique de lupin, ajouté dans la composition selon l'invention, comprend au moins 70%, avantageusement au moins 80%, en poids de peptides, par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique. Il peut être obtenu selon un procédé tel que décrit précédemment.

La composition peut en outre comprendre au moins un composé choisi dans le groupe constitué par les agents restructurant de la barrière cutanée et les composés contenant des insaponifiables d'huiles végétales, tels que définis précédemment. En particulier, la composition cosmétique peut comprendre un actif choisi dans le groupe constitué par Soline®, Avocadofurane® et Piasclédine®, commercialisées par les Laboratoires Expanscience.

La composition cosmétique selon l'invention comprend avantageusement 0,001 à 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition, d'au moins un agent restructurant de la barrière cutanée.

La composition cosmétique selon l'invention peut être formulée sous la forme de différentes préparations adaptées à une administration topique, à une administration orale, rectale, ou vaginale, à une administration parentérale. De préférence les différentes préparations sont adaptées à l'administration topique et incluent les crèmes, les pommades, les lotions, les huiles, les patches, les sprays ou tout autres produits pour application externe. En fonction du type d'administration souhaitée, la composition et/ou les composés actifs selon l'invention peuvent en outre comprendre au moins un excipient cosmétiquement acceptable. La composition cosmétique selon la présente invention peut en outre comprendre au moins un adjuvant cosmétiquement connu de l'homme du métier, choisi parmi les épaississants, les conservateurs, les parfums, les

colorants, des filtres chimiques ou minéraux, les agents hydratants, les eaux thermales, etc.

La présente invention concerne également une méthode de traitement cosmétique des peaux et/ou des muqueuses sensibles, irritées, intolérantes, présentant un trouble de la barrière cutanée, présentant des rougeurs cutanées ou présentant un déséquilibre immunologique non pathologique, caractérisée en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau et/ou les muqueuses une composition cosmétique selon l'invention.

La présente invention concerne enfin une composition nutraceutique comprenant un extrait peptidique d'avocat et le cas échéant un excipient approprié acceptable. L'extrait peptidique d'avocat comprend avantageusement 2 à 10% en poids d'azote alpha-aminé, par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique.

La composition nutraceutique selon l'invention comprend avantageusement 0,001 à 30 % en poids d'extrait peptidique d'avocat, par rapport au poids total de ladite composition, encore plus avantageusement 0,01 à 10 % en poids d'extrait peptidique d'avocat. Selon une variante avantageuse de l'invention, l'extrait peptidique d'avocat peut être obtenu selon un procédé tel que décrit précédemment.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition nutraceutique comprend en outre du D-mannoheptulose et/ou du perséitol (effet de synergie), avantageusement en une quantité de 0,001 à 30 % en poids sec, par rapport au poids total de la composition. La source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est avantageusement un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat, dont la teneur en sucres en C7, c'est-à-dire en D-mannoheptulose et en perséitol, dans la matière sèche est avantageusement comprise en 65 à 90% en poids, par rapport au poids total de la matière sèche.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition nutraceutique comprend en outre un extrait peptidique de lupin (effet de synergie) avantageusement en une quantité de 0,001 à 30 % en poids sec, par rapport au poids total de la composition. L'extrait peptidique de lupin, ajouté dans la composition selon l'invention, comprend au moins 70%, avantageusement au moins 80%, en poids de peptides, par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique. Il peut être obtenu selon un procédé tel que décrit précédemment.

Les exemples suivants permettent d'illustrer l'invention, ils ne sont pas limitatifs.

**Exemple 1 : préparation d'un extrait peptidique d'avocat**

5            50 kg d'avocats frais, de la variété Hass, sont coupés en fines lamelles de 2 à 5 mm d'épaisseur, noyau compris, à l'aide d'un trancheur à disque. L'outil de séchage est une étuve thermo-régulée à courant d'air chaud. Les avocats tranchés sont répartis sur une épaisseur de 4 à 5 cm sur des clayettes étagées. La température de séchage est fixée à 80°C, sa durée est quant à elle de 48 heures. Une fois séchés, les fruits sont soumis à  
10 une pression à froid. Cette opération est réalisée sur une petite presse Komet® de laboratoire.

Les 4 kg de fruits délipidés (tourteau) sont alors broyés à froid puis extraits à reflux, en présence de 25 litres d'éthanol. La poudre épuisée en lipides est alors récupérée par filtration sur Büchner et séchée à l'étuve à 50°C, pendant 5 heures.

15            Le tourteau est alors lavé à l'eau déminéralisée (10 litres) puis séparé par centrifugation. La fraction solide est reprise dans une solution aqueuse, acidifiée par HCl (pH fixé à 5), puis mise en présence de 2 % de cellulase par rapport à la matière sèche. La durée d'hydrolyse est fixée à 6 heures.

Le mélange est ensuite centrifugé à 2000 g en présence d'adjuvant (2,5% p/v).  
20 Le culot récupéré subit alors une seconde hydrolyse à pH 8,0, en présence de 0,5 % de protéase, à une température de 55°C, pendant 2 heures. L'hydrolyse est régulée à pH constant par ajout continu de soude 2M. La protéase est enfin dénaturée par chauffage pendant 10 minutes, à 85°C.

Le mélange obtenu est centrifugé et le surnageant filtré par passage à travers une  
25 membrane de 7,5 µm. Il est ensuite ultrafiltré sur des membranes présentant un seuil de coupure de 10 kD.

L'extrait peptidique brut obtenu à 20 % de matière sèche, est décoloré en présence de 1% de charbon actif, puis filtré à nouveau à travers une membrane de 7,5 µm. L'extrait décoloré est alors microfiltré (0,2 µm), ajusté en titre à hauteur de 5 % de  
30 matière sèche, puis complétement en conservateur et enfin conditionné après une filtration stérilisante (0,2 µm).

Les caractéristiques de l'extrait peptidique d'avocat hydrosoluble à 5 % de matière sèche, obtenu par ce procédé sont données dans le tableau 5 suivant :

Aspect	Solution de couleur légèrement orangée
<b>Critères analytiques</b>	
Matière sèche	5 %
pH (dilution ¼)	4,5
Absorbance à 420 nm (dilution ¼)	0,152
Absorbance à 550 nm (dilution ¼)	0,035
<b>Composition de la matière sèche</b>	
Azote alpha-aminé	6,7 %
Protéines	Non détectées
Conservateur	0,4 %

Tableau 5

5 Dans le tableau 6 suivant, on donne la répartition des masses moléculaires dans l'extrait peptidique d'avocat obtenu par ce procédé :

Pic HPLC	Masse molaire (g/mol)	Nombre d'acides aminés moyen	% relatif
1	> 3480 (1)	< 29	1 %
2	3480 à 1180	29 à 9	26 %
3	1180 à 310	9 à 2	45 %
4	310 à 130	2 à 1	15 %
5	< 130	1	13 %

(1) masses < 10 000 g/mol.

Tableau 6

10 On constate que 27 % au moins des peptides de l'extrait sont constitués d'au moins 9 motifs d'acides aminés. Par conséquent, la taille des peptides de l'extrait est donc extrêmement petite par comparaison à celle des protéines natives de l'avocat. Ces peptides présentent donc à ce titre une bien meilleure bio disponibilité, notamment cutanée.

15

### **Exemple 2 : préparation d'un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat**

50 kg d'avocats frais, de la variété Hass, sont coupés en fines lamelles de 2 à 5 mm d'épaisseur, noyau compris, à l'aide d'un trancheur à disque. L'outil de séchage est une étuve thermo-régulée à courant d'air chaud. Les avocats tranchés sont répartis sur une épaisseur de 4 à 5 cm sur des clayettes étagées. La température de séchage est fixée

20

à 80°C, sa durée est quant à elle de 48 heures. Une fois séchés, les fruits sont soumis à une pression à froid. Cette opération est réalisée sur une petite presse Komet® de laboratoire.

Les 4 kg de fruits délipidés (tourteau) sont alors broyés à froid puis extraits à reflux, en présence de 25 litres d'éthanol. La poudre épuisée en lipides est alors récupérée par filtration sur Büchner et séchée à l'étuve à 50°C, pendant 5 heures.

Le tourteau est alors lavé à l'eau déminéralisée (10 litres) puis séparé par centrifugation. La fraction soluble (liquide) est reprise pour être purifiée et concentrée selon le mode opératoire suivant :

- 10 • *Déminéralisation à l'aide de résines échangeuses d'ions* : déminéralisation des heptuloses par passage sur résines OH<sup>-</sup>, puis sur résine H<sup>+</sup>.
- *Ultrafiltration sur 10 000 Da* : l'ultrafiltration est réalisée avec un système équipé de 4 membranes de seuil de coupure 10 kDa.
- *Concentration sous vide* : la concentration de l'extrait purifié est réalisée à l'aide d'un évaporateur sous vide jusqu'à l'obtention d'une matière sèche voisine de 4 %.
- 15 • *Conditionnement* : la concentration de l'extrait est ajustée à 5 % de matière sèche et on ajoute du conservateur, puis on filtre stérilement avec une membrane de 0,2 µm de seuil de coupure et on conditionne.

Le tableau 7 suivant donne la composition de l'extrait de sucres d'avocat en C7, à 5 % de matière sèche, préparé suivant le procédé décrit ci-dessus :

Aspect	Solution de couleur jaune pâle
<b>Critères analytiques</b>	
Matière sèche	5 %
pH (dilution ¼)	7,0
Absorbance à 420 nm (dilution ¼)	0,013
Absorbance à 550 nm (dilution ¼)	0,003
<b>Composition (%/matière sèche)</b>	
Saccharose	3,0
Glucose	7,5
D-mannoheptulose	40,0
Fructose	10,6
Perséitol	28,8

Tableau 7

**Exemple 3 : Induction de la Bêta Défensine-2 par l'extrait peptidique d'avocat**I. Ensemencement des cellules (J0) :

Des kératinocytes humains normaux sont ensemencés en plaque 96 puits (environ 20 000 cellules/puits), en présence d'un milieu spécifique enrichi en calcium (concentration finale 1,3 mM), tel que précédemment décrit dans la publication « Human  $\beta$ -Defensin-2 production in Keratinocytes is regulated by Interleukin-1, Bacteria, and the State of Differentiation », Alice Y. Liu et al., The Society for Investigative Dermatology, vol. 118, No. 2, Feb. 2002, pages 275 à 281.

10 II. Traitement des cellules (J1) :

Après une incubation de 24h à 37°C, 5% CO<sub>2</sub> :

⇒ 2 rinçages avec 200  $\mu$ l / puits de PBS (tampon phosphate en solution saline)

⇒ stimulation des cellules par 200  $\mu$ l / puits (dans milieu supplémenté en Ca<sup>++</sup>):

- par l'extrait peptidique d'avocat à des concentrations de 3, 1 et 0,3% soit respectivement 0,15, 0,05 et 0,015% de matière sèche
- par Il-1 $\beta$  à une concentration 100 ng/ml (contrôle positif d'induction de hBD-2)

15 III. Fin du traitement (J2) : ELISA

20 Après 24h d'incubation, l'induction de l'hBD-2 est évaluée par une technique ELISA avec un anticorps spécifique (*goat polyclonal to human BD2 ; Abcam ; ab9871*).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 8 suivant :

	Cellules contrôle	Témoin positif (IL-1 $\beta$ )	Extrait peptidique d'avocat (0,3%)	Extrait peptidique d'avocat (1%)	Extrait peptidique d'avocat (3%)
hBD-2 (DO)	0,03	0,103	0,057	0,047	0,05
hBD-2 (DO)	0,036	0,11	0,056	0,056	0,063
hBD-2 (DO)	0,036	0,105	0,062	0,054	0,072
<b>Moyenne</b>	<b>0,034</b>	<b>0,106</b>	<b>0,058</b>	<b>0,052</b>	<b>0,062</b>

Tableau 8

25 On observe que, d'une manière tout à fait inattendue, l'extrait peptidique d'avocat selon l'invention permet d'augmenter la quantité de hBD-2 produite.

**Exemple 4 : induction des ARNm codant pour hBD-2 et pour les peptides anti-microbiens like (elastase specific inhibitor)**

Nous avons utilisé la méthode des « cDNA micro array » pour étudier les effets de l'extrait peptidique d'avocat sur l'expression des gènes codant pour des protéines structurales et régulatrices d'intérêt potentiel dans la physiologie cutanée. Une telle  
5 approche permet de cribler en une seule étape les effets d'un produit ou d'un traitement sur l'expression des gènes dans un système biologique donné et d'avoir une signature des effets de ce traitement.

**Conditions de culture et produits à l'essai**

10 Les extraits peptidiques d'avocat, à des concentrations de 3, 1 et 0,3% soit respectivement 0,15, 0,05 et 0,015% de matière sèche, obtenus par le procédé selon l'invention, ont été incubés directement dans le milieu de culture d'épidermes reconstruits Skinethic®, pendant 24h.

**Analyse de l'expression différentielle des gènes**

15 La méthodologie utilisée, préconisée par Clontech (Palo Alto, USA), comprend :

- une étape d'extraction et de purification des ARN totaux
- une étape de purification des ARN messagers selon le protocole AtlasPure (Clontech)
- le marquage des sondes ADN au P<sup>32</sup> par transcription inverse
- 20 ▪ la purification des sondes marquées par chromatographie sur colonne d'exclusion et vérification de la qualité et de l'équivalence par comptage en scintillation liquide.
- l'hybridation des membranes (Custom ATLAS BIOAlternative) avec les sondes radio-marquées (68°C, une nuit).

25 **Résultats**

Les effets sur la synthèse des ARNm codant pour les peptides anti-microbiens (hBD-2) et peptides anti-microbien like (Elastase specific inhibitor/SKALP/elafin) sont données dans le tableau 9 suivant :

GENES	Extrait peptidique d'avocat, actif pur (0,015%)	Extrait peptidique d'avocat, actif pur (0,05%)	Extrait peptidique d'avocat, actif pur (0,15%)
Beta défensine 2	16,1	69,7	103,9
inhibiteur spécifique de l'Elastase	5,5	14,7	13,5

Tableau 9

**Exemple 5 : formulations cosmétiques à base d'extrait peptidique d'avocat**

		Crème anti acné n°1
	Eau	QSP 100%
5	Isononyl Isononanoate	7,000
	Di-C <sub>12-13</sub> Alkyl Malate	7,000
	Stéarate isocétyle	5,000
	Butylène Glycol	3,000
	Oriza Sativa	2,500
10	<b>Extrait peptidique d'avocat</b>	<b>2,000</b>
	Dicaprylyl Ether	2,000
	Salicylate de silanediol	2,000
	Alcool arachique	1,650
	Trométhamine	1,180
15	Alcool cétylique	1,000
	Acide salicylique	1,000
	Glucoside Ascorbyl	1,000
	Glycine	1,000
	Acétate de Tocopheryl	1,000
20	Alcool béhénylique	0,900
	Squalane	0,790
	Citrate de sodium	0,660
	Copolymère PPG-12/SMDI	0,500
	Glucoside Arachidyl	0,450
25	Parfum	0,400
	Gomme Sclerotium	0,160
	Alcool cétéarylique	0,130
	Acide citrique	0,110
	Sepigel 305*	0,100
30	Système conservateur	QS

*\*produit commercialisé par la société Seppic*

**Crème anti acné n°2**

	Eau	QSP 100%
35	Isononyl Isononanoate	7,000
	Di-C <sub>12-13</sub> Alkyl Malate	7,000

	Stéarate isocétyle	5,000
	Butylène Glycol	3,000
	Oriza Sativa	2,500
	<b>Extrait peptidique d'avocat</b>	<b>2,000</b>
5	<b>Sucres en C7 (heptitol)</b>	<b>1,000</b>
	Dicaprylyl Ether	2,000
	Salicylate de silanediol	2,000
	Alcool arachique	1,650
	Tromethamine	1,180
10	Alcool cétylique	1,000
	Acide salicylique	1,000
	Glucoside Ascorbyl	1,000
	Glycine	1,000
	Acétate de Tocopheryl	1,000
15	Alcool béhénylique	0,900
	Squalane	0,790
	Citrate de sodium	0,660
	Copolymère PPG-12/SMDI	0,500
	Glucoside Arachidyl	0,450
20	Parfum	0,400
	Gomme Sclerotium	0,160
	Alcool cétéarylique	0,130
	Acide citrique	0,110
	Sepigel 305*	0,100
25	Système conservateur	QS

*\*produit commercialisé par la société Seppic*

Emulsion moussante lavante pour peaux atopiques

	Eau	QSP 100
30	Arlatone duo*	20,00000
	Glucoside de Coco	12,00000
	Guar Hydroxypropyl	2,00000
	<b>Extrait peptidique d'avocat</b>	<b>2,000</b>
	Palmate de PEG-200 Glyceryl hydrogéné	1,10000
35	Cocoate de PEG-7 Glyceryl	1,10000

	Salicylate de Silanediol	1,00000
	Cocamide DEA	1,00000
	Glycine de Caprylyol	0,50000
	Sorbate de Potassium	0,50000
5	Polyquaternium 10	0,40000
	Parfum	0,40000
	Acide citrique	0,30000
	Zinc PCA	0,20000
	<i>*produit commercialisé par la société Quimasso</i>	

10

Emulsion moussante lavante pour hygiène intime

	Eau	QSP 100
	Arlatone duo*	20,00000
	Glucoside de Coco	12,00000
15	Guar Hydroxypropyl	2,00000
	<b>Extrait peptidique d'avocat</b>	<b>3,00000</b>
	<b>Sucres d'avocat</b>	<b>1,00</b>
	<b>Peptides de lupin</b>	<b>2,00</b>
	Palmate de PEG-200 Glyceryl hydrogéné	1,10000
20	Cocoate de PEG-7 Glyceryl	1,10000
	Salicylate de Silanediol	1,00000
	Cocamide DEA	1,00000
	Glycine de Caprylyol	0,50000
	Sorbate de Potassium	0,50000
25	Polyquaternium 10	0,40000
	Parfum	0,40000
	Acide citrique	0,30000
	Zinc PCA	0,20000
	<i>*produit commercialisé par la société Quimasso</i>	

## REVENDICATIONS

1. Médicament comprenant un extrait peptidique d'avocat, qui comprend 2 à 10% en poids d'azote alpha-aminé par rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique, et un excipient approprié.
- 5
2. Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'extrait peptidique d'avocat est susceptible d'être obtenu par un procédé comprenant les étapes suivantes :
- obtention d'un tourteau d'avocat, avantageusement du fruit de l'avocat, par séchage puis extraction de l'huile ; ensuite
  - 10 - cryobroyage et délipidation complète dudit tourteau puis décantation, centrifugation et récupération du gâteau ; puis
  - première hydrolyse en présence de glucanases, suivie d'une centrifugation et de l'élimination de la fraction soluble ;
  - 15 - seconde hydrolyse en présence d'une ou plusieurs protéases, suivie d'une centrifugation et de l'élimination du culot ; ensuite
  - concentration de la phase peptidique par nanofiltration et le cas échéant, décoloration en présence de charbon actif ; suivie
  - d'une filtration simple (10  $\mu\text{m}$ ) puis d'une ultrafiltration (seuil de coupure de 20 10 kD) ; enfin
  - le cas échéant, ajout de conservateur, microfiltration stérilisante finale (0,2  $\mu\text{m}$ ) et conditionnement.
3. Médicament selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'extrait peptidique d'avocat présente la composition suivante en acides aminés, en pourcentage en poids par rapport au poids total d'acides aminés :
- 25
- |                     |             |
|---------------------|-------------|
| Alanine             | 6,4 - 7,8   |
| Arginine            | 4,7 - 5,7   |
| Acide aspartique    | 10,3 - 12,7 |
| 30 Cystine-cystéine | 2,9 - 3,5   |
| Acide glutamique    | 13,0 - 15,8 |
| Glycine             | 5,3 - 6,5   |
| Histidine           | 2,2 - 2,6   |

	Isoleucine	4,8 - 5,8
	Leucine	7,6 - 9,4
	Lysine	3,0 - 3,8
	Méthionine	1,2 - 1,6
5	Phénylalanine	4,7 - 5,7
	Proline	4,1 - 5,2
	Sérine	5,5 - 6,7
	Thréonine	4,6 - 5,6
	Tyrosine	3,6 - 4,4
10	Valine	5,8 - 7,2

4. Médicament selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que 50% des peptides de l'extrait sont constitués de 10 à 30 acides aminés.
- 15 5. Médicament selon l'une quelconque des revendications précédentes, destiné au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une modification de l'immunité innée et/ou acquise, par augmentation de la production de peptides antimicrobiens, de la famille des cathélicidines et/ou des bêta-défensine, avantageusement de la hBD-2.
- 20 6. Médicament selon l'une quelconque des revendications précédentes, destiné au traitement et/ou à la prévention de maladies liées à une modification de l'immunité innée et/ou acquise par stimulation des peptides anti-microbiens like, tels qu'un inhibiteur spécifique de l'élastase, particulièrement l'élafin (SKALP).
- 25 7. Médicament selon la revendication 5 ou 6, caractérisé en ce que lesdites maladies sont liées à la présence de micro-organismes tels que les bactéries Gram+ et/ou Gram-, les champignons ou les virus.
- 30 8. Médicament selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisé en ce que lesdites maladies sont choisies dans le groupe constitué par :
- des infections de la peau et des phanères, notamment choisies dans le groupe constitué par que la folliculite, le furoncle, l'abcès, l'impétigo ou le panaris ;

- des dermatoses inflammatoires, telles que la dermatite atopique, l'eczéma de contact et/ou atopique, le psoriasis, l'acné, les dermites irritatives ;
- les maladies associées avec une modification de la balance Th1/Th2 ;
- les maladies associées avec une modification de la synthèse des cytokines, telles que l'IL-4 et/ou l'IL-13 ; ou
- les brûlures.

9. Médicament selon la revendication 5 ou 6, caractérisé en ce que lesdites maladies sont des pathologies liées à un déficit de la barrière cutanée, telles que les peaux hyper-réactives, atopiques, sèches ou âgées, ou des pathologies liées à des peaux fragilisées par une agression environnementale.

10. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, approprié pour la protection des peaux :

- saines immatures des nourrissons ou des enfants ;
- pathologiques immatures des nourrissons ou des enfants ; ou
- saines ou pathologiques des individus adultes ou âgés.

11. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, destiné à favoriser la cicatrisation, dans les processus de cicatrisation normaux ou pathologiques, tels que les ulcères et les escarres.

12. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, destiné à traiter et/ou prévenir les maladies parodontales.

13. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, destiné à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires inflammatoires telle que l'arthrose.

14. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, destiné à traiter et/ou prévenir les infections des muqueuses, notamment des muqueuses vaginale, intestinale, respiratoire, nasale ou auriculaire.

15. Médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, destiné à traiter et/ou prévenir les infections du système oculaire.

16. Médicament selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant  
5 en outre du D-mannoheptulose et/ou du perséitol, avantageusement la source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est un extrait hydrosoluble de sucres d'avocat.

17. Médicament selon l'une quelconque des revendications précédentes, destiné au  
10 traitement et/ou à la prévention des maladies pouvant affecter l'être humain et/ou les animaux, notamment les mammifères.

18. Composition cosmétique ou nutraceutique comprenant un extrait peptidique  
d'avocat, qui comprend avantageusement 2 à 10% en poids d'azote alpha-aminé, par  
rapport au poids de la matière sèche de l'extrait peptidique, et un excipient approprié  
15 réciproquement cosmétiquement acceptable ou alimentaire.

19. Composition cosmétique ou nutraceutique selon la revendication 18, caractérisée  
en ce qu'elle comprend en outre du D-mannoheptulose et/ou du perséitol,  
avantageusement la source de D-mannoheptulose et/ou de perséitol est un extrait  
20 hydrosoluble de sucres d'avocat.

20. Méthode de traitement cosmétique des peaux et/ou des muqueuses sensibles,  
irritées, allergiques, sèches, âgées, intolérantes, présentant un trouble de la barrière  
cutanée, fragilisées par une agression environnementale présentant des rougeurs  
25 cutanées ou présentant un déséquilibre immunologique non pathologique, caractérisée  
en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau et/ou les muqueuses une composition  
cosmétique selon l'une quelconque des revendications 18 à 19.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR2005/001076

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

IPC 7 A61K35/78 A61K7/48 A61K31/198 A61P37/00 A61P17/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/68040 A (OREAL ; CANNELL DAVID W (US); MATHUR HITENDRA (US); NGUYEN NGHI VAN (U) 20 September 2001 (2001-09-20) the whole document	1-20
A	WO 99/43298 A (MOY LAWRENCE S) 2 September 1999 (1999-09-02) the whole document	1-20
A	DE 198 52 508 A (HUEBNER GEORG) 18 May 2000 (2000-05-18) the whole document	1-20
A	FR 2 787 714 A (PHARMASCIENCE LAB) 30 June 2000 (2000-06-30) the whole document	1-20
	----- -/--	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 August 2005

Date of mailing of the international search report

13/09/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bochelen, D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR2005/001076

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KASHMAN Y ET AL: "New compounds from avocado pear" 1969, TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, PAGE(S) 4617-4631 , XP002090295 ISSN: 0040-4020 the whole document</p> <p>-----</p>	1-20

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**International application No.  
PCT/FR2005/001076**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 20 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the composition.

2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/FR2005/001076

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 0168040	A	20-09-2001	AU 3947301 A	24-09-2001
			BR 0109289 A	17-12-2002
			CA 2402120 A1	20-09-2001
			CN 1418083 A	14-05-2003
			EP 1263394 A2	11-12-2002
			WO 0168040 A2	20-09-2001
			JP 2003526646 T	09-09-2003
			US 6861077 B1	01-03-2005
			ZA 200207412 A	04-04-2003
			WO 9943298	A
AU 741524 B2	06-12-2001			
AU 2791899 A	15-09-1999			
BR 9908309 A	15-01-2002			
CA 2321577 A1	02-09-1999			
EP 1063962 A1	03-01-2001			
WO 9943298 A1	02-09-1999			
DE 19852508	A	18-05-2000		
FR 2787714	A	30-06-2000	FR 2787714 A1	30-06-2000
			AT 295175 T	15-05-2005
			AU 1786400 A	31-07-2000
			BR 9916535 A	11-12-2001
			CA 2356098 A1	06-07-2000
			DE 69925307 D1	16-06-2005
			EP 1140124 A1	10-10-2001
			WO 0038701 A1	06-07-2000
			MX PA01006616 A	27-03-2003
			US 2004018257 A1	29-01-2004
			US 2004013753 A1	22-01-2004
ZA 200105208 A	08-05-2002			

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR2005/001076

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 7 A61K35/78 A61K7/48 A61K31/198 A61P37/00 A61P17/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**  
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)  
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 01/68040 A (OREAL ; CANNELL DAVID W (US); MATHUR HITENDRA (US); NGUYEN NGHI VAN (U) 20 septembre 2001 (2001-09-20) le document en entier	1-20
A	WO 99/43298 A (MOY LAWRENCE S) 2 septembre 1999 (1999-09-02) le document en entier	1-20
A	DE 198 52 508 A (HUEBNER GEORG) 18 mai 2000 (2000-05-18) le document en entier	1-20
A	FR 2 787 714 A (PHARMASCIENCE LAB) 30 juin 2000 (2000-06-30) le document en entier	1-20
	-/--	

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents  Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée
- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <b>31 août 2005</b>	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <b>13/09/2005</b>
--	---

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé  <b>Bochelen, D</b>
---	--

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No  
PCT/FR2005/001076

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>KASHMAN Y ET AL: "New compounds from avocado pear"                      1969, TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, PAGE(S) 4617-4631 , XP002090295                      ISSN: 0040-4020                      le document en entier                      -----</p>	1-20

**Cadre II Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 2 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1.  Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
Bien que la revendications 20 concerne une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés à la composition.
2.  Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3.  Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre III Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 3 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1.  Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2.  Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3.  Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4.  Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>

Remarque quant à la réserve

- Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant
- Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PCT/FR2005/001076

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0168040	A	20-09-2001	AU 3947301 A	24-09-2001
			BR 0109289 A	17-12-2002
			CA 2402120 A1	20-09-2001
			CN 1418083 A	14-05-2003
			EP 1263394 A2	11-12-2002
			WO 0168040 A2	20-09-2001
			JP 2003526646 T	09-09-2003
			US 6861077 B1	01-03-2005
			ZA 200207412 A	04-04-2003
			WO 9943298	A
AU 741524 B2	06-12-2001			
AU 2791899 A	15-09-1999			
BR 9908309 A	15-01-2002			
CA 2321577 A1	02-09-1999			
EP 1063962 A1	03-01-2001			
WO 9943298 A1	02-09-1999			
DE 19852508	A	18-05-2000		
FR 2787714	A	30-06-2000	FR 2787714 A1	30-06-2000
			AT 295175 T	15-05-2005
			AU 1786400 A	31-07-2000
			BR 9916535 A	11-12-2001
			CA 2356098 A1	06-07-2000
			DE 69925307 D1	16-06-2005
			EP 1140124 A1	10-10-2001
			WO 0038701 A1	06-07-2000
			MX PA01006616 A	27-03-2003
			US 2004018257 A1	29-01-2004
			US 2004013753 A1	22-01-2004
ZA 200105208 A	08-05-2002			