

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication : **2 938 439**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **08 57757**

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : **A 61 K 36/899** (2006.01), A 61 K 8/97, A 61 Q 19/08,  
A 61 P 17/06, 17/10

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 14.11.08.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 21.05.10 Bulletin 10/20.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : *PIERRE FABRE DERMO-COSMETI-  
QUE Société par actions simplifiée* — FR.

⑦2 Inventeur(s) : MANDEAU ANNE, FABRE BERNARD  
et ARIES MARIE FRANCOISE.

⑦3 Titulaire(s) : PIERRE FABRE DERMO-COSMETIQUE  
Société par actions simplifiée.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET REGIMBEAU.

⑤4 EXTRAIT DE PARTIES AERIENNES D'AVOINE RECOLTEES AVANT EPIAISON.

⑤7 L'invention concerne un extrait de partie aérienne  
d'avoine à l'exclusion des graines, son procédé de prépara-  
tion et ses utilisations.

FR 2 938 439 - A1



La présente invention concerne un extrait de parties aériennes d'avoine récoltées préférentiellement avant épiaison et son utilisation pour le traitement de dermatoses inflammatoires.

L'avoine ou *Avena sativa* L. est une plante annuelle pouvant atteindre 1 m 50  
5 de haut. A la germination, la jeune plante est gazonnante puis donne plusieurs tiges d'un port particulier. La tige ou chaume est creuse, de quelques millimètres de diamètre, interrompue de place en place, à l'endroit où s'insèrent les feuilles, par des diaphragmes pleins appelés nœuds. Les entre-nœuds, d'abord très courts à la base de la tige, deviennent de plus en plus longs.

10 Les feuilles sont alternes, distiques, de couleur glauque ; elles s'insèrent sur la tige au niveau des nœuds, par une longue gaine fendue en avant qui recouvre presque tout l'entre-nœud supérieur. Le limbe s'en détache à angle droit. Il est large, rubané, parcouru par de nombreuses nervures parallèles (rectinerves) ; il est habituellement pubescent. Au niveau du limbe où se détache la gaine, on observe  
15 entre la tige et le limbe une fine expansion membraneuse de la gaine, courte et tronquée, appelée ligule.

La tige se termine par une grande panicule florale, étalée en tous sens, de forme pyramidale, très lâche, dont toutes les ramifications se terminent par une inflorescence élémentaire, de structure constante dans toute la famille des Poaceae et  
20 appelée épillet. Les épillets sont pendants, relativement grands et ne comprennent que deux fleurs. L'épillet ne naît pas à l'aisselle d'une bractée mère, mais il porte, à une courte distance de son insertion, deux bractées particulières, opposées, appelées glumes.

Les glumes de l'avoine sont de grande taille ; elles atteignent 2 cm de long et  
25 enveloppent complètement l'épillet ; elles sont lancéolées, pourvues de 7-9 nervures et pubescentes. Les glumelles sont petites ; la glumelle externe porte une arête tordue, insérée non au sommet mais sur le dos, qui dépasse l'épillet de plus d'un centimètre.

Aussitôt au-dessus des glumelles, l'axe floral porte deux petites pièces peu  
30 visibles, les glumellules et enfin la fleur proprement dite qui est réduite à trois étamines et à trois carpelles. Les étamines, d'abord sensiblement sessiles, voient

ensuite leur filet s'allonger brusquement à la floraison, si bien que les anthères deviennent exertes et pendantes hors de l'épillet. Les anthères s'insèrent sur le filet par leur région médiane seulement, d'où leur nom d'anthères médifixes et oscillantes. Les trois carpelles forment un ovaire uniloculaire, avec un style qui se  
5 divise en deux lobes stigmatiques très étalés et plumeux. Tous ces caractères correspondent à une pollinisation par le vent. Il n'y a qu'un ovule, qui est anatrope et dressé au fond de la cavité ovarienne.

Le fruit est un akène d'un type particulier, où l'assise externe vient s'appliquer directement contre le péricarpe. Ce fruit est appelé caryopse. C'est un  
10 grain allongé, effilé, pubescent, possédant un volumineux albumen amylacé. L'embryon possède un cotylédon très développé entourant presque complètement la tigelle et la séparant de l'albumen. L'embryon entier est rejeté sur le côté.

Le fruit de l'avoine est reconnu comme une matière première médicinale par voie orale comme laxatif pour son effet de lest mais également dans le cas de  
15 cholestérol ou de diabète de type 2 pour sa teneur en  $\beta$ -glucanes. Par voie topique, le fruit d'avoine est utilisé principalement sous forme de farine dont une qualité, appelée extrait colloïdal d'avoine, a une monographie à la Pharmacopée Américaine USP 22, 1990. Cet extrait colloïdal présente des propriétés émoullientes et adoucissantes, et est défini comme étant la poudre résultant du broyage et autres  
20 traitements du grain entier, cette qualité correspond donc à une farine d'Avoine. La monographie fixe des normes de viscosité, de limites microbiennes, de perte à la dessiccation, de taille de particule et de teneurs en cendre, en lipides et azote.

A partir de cette même partie de l'avoine, on peut extraire également de l'huile utilisée en cosmétologie et des protéines. Ces dernières, insolubles, ne sont  
25 pas utilisées directement mais après hydrolyse enzymatique ou chimique. On réalise un hydrolysât plus ou moins poussé qui permet d'obtenir, soit des peptides d'avoine de poids moléculaires variables, soit des acides aminés selon la force de l'hydrolyse. Les protéines d'avoine hydrolysées ont été examinées pour leurs propriétés dans les domaines cosmétique et dermatologique. Ainsi, il a été démontré des propriétés sur  
30 le cheveu comme la faculté qu'ont ces peptides à former un film sur la tige capillaire,

de pénétrer dans la cuticule et ainsi par l'effet gainant résultant d'apporter un effet conditionneur.

Des travaux réalisés *in vitro* sur cultures cellulaires ont permis d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait colloïdal d'avoine. Ainsi, cet extrait a  
5 montré une activité inhibitrice sur le métabolisme cutané de l'acide arachidonique et des eïcosanoïdes, sur l'expression de la phospholipase A<sub>2</sub> cytosolique et la cyclo-oxygénase au niveau d'une lignée humaine de kératinocytes, ainsi qu'une activité inductrice de la cytokine anti-inflammatoire TGFβ1. Les cytokines Th1 et Th2 des  
10 cellules de l'immunité telles que IL<sub>2</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>5</sub>, IL<sub>13</sub>, sont également régulées par le même extrait colloïdal. Enfin, une étude clinique montre l'intérêt d'un extrait colloïdal d'avoine dans un modèle irritant cutané en double aveugle et sur 12 volontaires sains.

La partie externe de la graine fournit des glucanes utilisés en diététique dans les fibres d'avoine afin de réduire le taux de cholestérol et les risques  
15 cardiovasculaires.

Les glucanes d'avoine ont été également étudiés pour leur propriété viscosante et gélifiante comme complément alimentaire.

Les glucanes extraits de l'avoine présentent également une activité immunostimulante. D'autres activités valorisées dans le domaine cosmétique ont été  
20 démontrées : protection contre les effets délétères des UV, stimulation du métabolisme cellulaire, stimulation de la synthèse du collagène et amélioration de la résistance aux tensions des cheveux.

En dehors des grains, l'avoine est utilisé comme plante fourragère. Coupée jeune, elle donne un fourrage vert très estimé. La paille est quant à elle donnée aux  
25 chevaux, vaches et moutons, mais n'est pas utilisée en alimentation humaine. En médecine traditionnelle, la paille d'avoine sert à la préparation de bains apaisants des douleurs rhumatismales, de la sciatique et des affections hépatiques.

En Inde, des décoctions d'avoine ordinaire servaient au sevrage de toxicomanes sous l'emprise de l'opium. Un extrait alcoolique préparé à partir de  
30 plantes fraîches a été utilisé dans le sevrage tabagique avec des résultats statistiquement significatifs.

Des bains à base de paille d'avoine ou d'extraits commerciaux auraient comme indications : rhumatismes, névralgie, eczéma chronique, neurodermatite, désordres vasculaires périphériques...

L'avoine « herbe » fait l'objet d'une monographie EMEA (Ref. EMEA/HMPC/202966/2007) dans laquelle est mentionnée l'utilisation soit des parties aériennes récoltée avant floraison et séchées, soit d'un extrait liquide (1 :5, éthanol 45% v/v) préparé à partir des parties aériennes fraîches de la plante récoltée pendant la période de floraison.

L'utilisation traditionnelle de ces parties aériennes est décrite en cas de léger stress mental et pour favoriser l'endormissement.

D'après la bibliographie, les parties aériennes d'avoine sont composées de :

- Flavonoïdes:
  - ⇒ C-glycosyl-flavones de type apigénine (vitexine, isovitexine...) ou luteoline (orientine, isoorientine, isoscoparine...),
  - ⇒ Flavones de type tricéine, O-glycosylés
  - ⇒ Flavonolignanes (salcolines A et B)
- Saponines stéroïdiques bidesmosidiques: Avenacosides A et B (aglycone : nuatigénine)
- Protéines
- Autres: Composés phénoliques (Avénanthramides, acides hydroxycinnamiques...), stérols, cérébrosides...

La dermatite atopique (ou eczéma atopique) est une maladie dermatologique fréquente, touchant 10 à 15% des nourrissons en France, en augmentation au cours des dernières décennies.

La dermatite atopique est la manifestation cutanée de l'atopie, c'est une dermatose inflammatoire chronique ou eczéma, survenant sur un terrain génétiquement déterminé, touchant 15 à 30 % des enfants et 2 à 10 % des adultes ; sa prévalence est en augmentation constante dans les pays industrialisés, elle a doublé voire triplé au cours des trois dernières décennies et elle est maintenant considérée comme une préoccupation majeure de la santé publique. La dermatite atopique est souvent associée à d'autres désordres atopiques tels que la rhinite allergique et

l'asthme. Cette affection apparaît le plus souvent au cours de la petite enfance et se caractérise par des éruptions répétées pendant plusieurs années. Elle évolue par poussées entrecoupées de rémissions spontanées .

La qualité de vie des patients atteints de dermatite atopique est profondément perturbée ; les traitements adoptés incluent les corticostéroïdes et immunomodulateurs topiques, les agents systémiques dont les fréquents effets secondaires limitent l'utilisation à long terme, les émoullients. La thérapeutique actuelle est réactive – traitement des poussées – mais on estime maintenant qu'une intervention précoce focalisée sur le contrôle des éruptions et de l'inflammation cutanée peut être bénéfique aussi bien en termes de contrôle de la maladie que de l'éventuelle apparition d'asthme et/ou de rhinite (BIEBER, T. 2008, *Atopic dermatitis, The New England Journal of Medicine, vol 358 (14) 1483-1494*), la dermatite atopique étant considérée comme la phase initiale de l'évolution dite atopique. Dans la majorité des cas, les soins locaux associés apportent un complément aux traitements utilisés et permettent de soulager les patients. Il existe un besoin significatif pour des traitements alternatifs aux traitements par les corticostéroïdes.

La dermatite atopique serait la résultante d'interactions complexes entre les prédispositions génétiques, les facteurs environnementaux tels que les allergènes et les microorganismes, le dysfonctionnement de la barrière cutanée, la dysrégulation du système immunitaire (SPERGEL, JM. 2008, *Immunology and treatment of atopic dermatitis, Am J Clin Dermatol, vol 9(4) 233-244*).

Le psoriasis est également une maladie inflammatoire cutanée d'évolution chronique ; il affecte 2% de la population. Avec la dermatite atopique, ce sont les maladies inflammatoires chroniques cutanées les plus fréquentes. Il est caractérisé par une croissance anormale des cellules épidermiques associée à une réaction inflammatoire. Le mécanisme central du phénomène de l'inflammation est lié à l'action des cellules T du système immunitaire, cellules de type Th1 en prédominance (WILSMANN-THEIS, D. ; HAGEMANN, T. ; JORDAN, J. ; BIEBER, T. ; NOVAK, N. 2008, *Facing psoriasis and atopic dermatitis : are there more similarities or more differences ?*, *Eur J Dermatol, vol 18 (2) 172-180*) qui initient et entretiennent le

processus inflammatoire et stimulent la prolifération excessive des kératinocytes qui traversent alors une phase de différenciation accélérée et incomplète. Les kératinocytes expriment des récepteurs qui les rendent sensibles aux signaux inflammatoires et libèrent des médiateurs pro-inflammatoires. L'inflammation psoriasique se trouve ainsi entretenue par une stimulation mutuelle des cellules T et des kératinocytes.

La maladie doit donc être traitée au long cours.

Il existe ainsi un besoin et une forte demande pour des alternatives thérapeutiques à ces dermatoses inflammatoires.

De manière inattendue et surprenante, les inventeurs ont mis en évidence de nouvelles valorisations d'un extrait de parties aériennes d'avoine en thérapeutique et cosmétique/dermatologie. Avantagusement, ledit extrait présente des propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires utiles dans le traitement de la dermatite atopique. L'extrait selon la présente invention a également montré de bonnes capacités à traiter l'acné et le vieillissement cutané.

La présente invention a ainsi pour objet un extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine, à l'exclusion des graines, caractérisé par 2 à 15% de flavonoïdes et 0,2 à 2% d'avenacosides A et B.

Par parties aériennes d'avoine, on entend au sens de la présente invention toute partie de la plante d'avoine située au-dessus du sol, à l'exclusion des graines.

De préférence, les parties aériennes d'avoine comprennent les feuilles et/ou tiges et/ou épillets et/ou fleurs.

L'extrait d'avoine obtenu se caractérise par sa teneur en flavonoïdes et en saponines d'intérêt. Ces dernières sont analysées par chromatographie liquide à haute pression, par deux méthodes différentes, appropriées à chaque type de composés.

Les teneurs en ces différentes molécules varient en fonction des conditions d'extraction. Les flavonoïdes principaux sont l'isovitexin-2''-O-arabinopyranoside et l'isoorientin-2''-O-arabinopyranoside. Les avenacosides A et B sont les principales saponines. Ce sont des saponines stéroïdiques bisdesmosidiques.

Avantageusement, l'extrait selon l'invention comprend une proportion de 5 à 10% des flavonoïdes principaux isovitexin-2''-O-arabinopyranoside et isoorientin-2''-O-arabinopyranoside.

Avantageusement, l'extrait selon l'invention est un extrait obtenu en solvant  
5 organique.

Avantageusement, l'extrait selon l'invention comprend moins de 1 ppm de protéines, préférentiellement moins de 0,5 ppm et encore plus préférentiellement moins de 0,3 ppm de protéines.

Avantageusement, l'extrait selon l'invention est un extrait de partie(s)  
10 aérienne(s) d'avoine récoltées avant épiaison.

Au sens de la présente invention, on appelle «parties aériennes d'avoine récoltées avant épiaison» les parties aériennes de l'avoine récoltées après germination (environ 2 semaines à 2 mois après germination) durant le stade de la montaison jusqu'à l'épiaison non comprise.

15 Au sens de la présente invention, on appelle « montaison » la phase de croissance qui correspond à l'élongation de la tige et à la montée de l'épi en formation, avant floraison.

Un autre objet de la présente invention est un procédé de préparation d'un extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine, ladite partie aérienne ne comprenant pas de  
20 graine, comprenant les étapes suivantes :

- séchage et broyage de la ou des partie(s) aérienne(s) d'avoine,
- extraction en solvant organique choisi dans le groupe constitué des cétones, des esters, des alcools en C1 à C4 et des mélanges en toute proportion miscibles de ces solvants, et
- 25 - centrifugation ou filtration.

Avantageusement, le solvant organique du procédé selon l'invention est choisi dans le groupe constitué de l'acétone, la méthyl éthyl cétone, la méthyl isobutyl cétone, l'acétate d'éthyle, un alcool en C1 à C4 et un mélange en toute proportion miscible de ces solvants.

30 Avantageusement, la partie aérienne est récoltée après 2 mois, en fin de montaison mais avant épiaison, puis séchée puis broyée.

L'extraction est réalisée sous agitation ou de façon statique.

L'extraction est réalisée à reflux ou à température ambiante.

Avantageusement, l'extraction est réalisée dans un ratio plante/solvant pouvant varier de 1/7 à 1/20, de préférence de 1/8 à 1/12.

5 Préférentiellement, l'extraction est réalisée pendant une durée de 30 minutes à 48 heures, de manière particulièrement préférée de 60 à 120 minutes.

L'extraction peut être renouvelée 2 ou 3 fois.

Le marc obtenu par l'étape d'extraction est ensuite séparé de l'extrait par centrifugation ou filtration et la solution peut être plus ou moins concentrée jusqu'à  
10 l'obtention d'un extrait sec.

Un traitement de décoloration peut être réalisé soit par délipidation par concentration, précipitation et filtration, soit en rajoutant à la solution extraite concentrée ou non un support absorbant comme le charbon actif ou une résine adsorbante.

15 Un support peut être rajouté lors de l'étape de séchage dans des proportions massiques par rapport à la matière sèche extraite pouvant varier de 1 à 75%. Le support peut être un sucre comme la maltodextrine, le lactose, de la silice ou tout autre support cosmétologiquement acceptable.

Un autre objet de la présente invention est un extrait de partie aérienne  
20 d'avoine, à l'exclusion des graines, susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention.

Avantageusement, cet extrait est obtenu par extraction acétonique ou acétone/eau jusqu'à 20% d'eau.

Un extrait de type acétone ou acétone / eau jusqu'à 20% d'eau comporte les  
25 molécules d'intérêt, flavonoïdes et saponines, et est très largement appauvri en protéines. En effet, les méthodes de dosage de protéines décrites dans la Pharmacopée Européenne ne donnent aucun résultat, et une migration sur gel SDS-Page par électrophorèse après précipitation à l'acétone et révélation au bleu de Coomassie ou au nitrate d'argent montre l'absence de bande signalant la présence de  
30 protéine. Le dépôt d'un témoin sur cette même électrophorèse permet de quantifier la limite de détection de protéine à 1 ng, cet extrait possède donc une teneur en protéine

inférieure à 1 ppm (ramenée à la quantité d'extrait déposée sur le gel).  
Préférentiellement, ladite teneur en protéines est inférieure à 0,5 ppm et encore plus  
préférentiellement inférieure à 0,3 ppm de protéines.

Un autre objet de la présente invention concerne une composition  
5 dermatologique ou cosmétique comprenant un extrait selon l'invention et un ou  
plusieurs excipients, respectivement dermatologiquement ou cosmétologiquement  
acceptables.

La composition selon l'invention peut en particulier contenir des additifs et  
aides à la formulation, tels que des émulsionnants, des épaississants, des gélifiants,  
10 des fixateurs d'eau, des agents d'étalement, des stabilisants, des colorants, des  
parfums et des conservateurs.

La composition cosmétique ou dermatologique selon l'invention comprend,  
en outre, des excipients usuels dermatologiquement compatibles.

Préférentiellement, la composition selon l'invention comprend une quantité  
15 d'extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine, à titre de principe actif, comprise entre 0,1  
à 5% en poids par rapport au poids total de ladite composition.

Avantageusement, ladite quantité d'extrait est comprise entre 0,1% et 0,5%  
en poids par rapport au poids total de la composition.

La composition dermatologique ou cosmétique selon la présente invention  
20 peut être préparée sous la forme d'une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans  
eau (H/E), d'une émulsion multiple comme par exemple, une émulsion eau dans  
huile dans eau (E/H/E) ou une émulsion huile dans eau dans huile (H/E/H), d'une  
micro-émulsion ou encore sous la forme d'une hydrodispersion ou une  
lipodispersion, un gel ou un aérosol.

25 Les excipients dermatologiquement ou cosmétiquement compatibles peuvent  
être tout excipient parmi ceux connus de l'homme de l'art en vue d'obtenir une  
composition pour l'application topique sous forme d'un lait, d'une crème, d'un  
baume, d'une huile, d'une lotion, d'un gel, d'un gel moussant, d'une pommade, d'un  
spray, etc.

30 Un autre objet de la présente invention concerne un extrait selon l'invention  
pour utilisation en tant que médicament.

Un autre objet de la présente invention concerne un extrait selon l'invention pour utilisation pour le traitement de dermatoses inflammatoires.

Un autre objet de la présente invention concerne un extrait selon l'invention pour utilisation pour le traitement de la dermatite atopique, du psoriasis ou de l'eczéma qui sont des dermatoses inflammatoires.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'un extrait selon l'invention pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de dermatoses inflammatoires.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'un extrait selon l'invention pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de la dermatite atopique, du psoriasis ou de l'eczéma qui sont des dermatoses inflammatoires.

Un autre objet de la présente invention concerne un extrait selon l'invention pour utilisation pour le traitement de l'acné ou du vieillissement cutané.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'un extrait selon l'invention dans une composition cosmétique et/ou dermatologique destinée au traitement de l'acné ou du vieillissement cutané.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans en limiter la portée.

**Exemple 1 : préparation d'un extrait de parties aériennes d'avoine récoltées avant épiaison selon l'invention**

**a. par extraction acétonique**

400 kg de parties aériennes d'avoine récoltées avant épiaison séchés sont broyés puis placés dans un réacteur avec 10 volumes du mélange acétone /eau, sous agitation pendant une heure à température ambiante.

Une séparation solide / liquide permet d'obtenir un premier jus d'extraction. Le marc est extrait une seconde fois avec 10 volumes du mélange acétone / eau pendant une heure à température ambiante, sous agitation. Une séparation solide / liquide permet d'obtenir un second jus d'extraction qui est rassemblé avec le premier. La solution obtenue est concentrée sur eau à 1,33 volumes / kg puis filtrée.

L'extrait ainsi obtenu est séché par micro-onde après ajout d'un support maltodextrine (qsp 25% / extrait natif).

On obtient ainsi 36 kg d'une poudre marron clair titrant à 6% de flavonoïdes (isovitexine-2"-O-arabinopyranoside et isoorientine-2"-O-arabinopyranoside) et  
5 0.6% d'avenacoside B. Et la teneur en protéine de l'extrait ainsi obtenu est inférieure à 0.3 ppm.

**b. par extraction éthanolique**

Extraction de 100 g de plantes séchées et broyées par un mélange éthanol /  
10 eau 50:50 pendant une heure à reflux, séparation solide : liquide et évaporation sous vide à 50°C. 26g d'extrait sont ainsi obtenus sous forme de poudre marron, titrant entre 1,5 et 3 % en flavonoïdes (isovitexine-2"-O-arabinopyranoside et isoorientine-2"-O-arabinopyranoside).

15 **Exemple 2 : Etude biologique de l'extrait de parties aériennes d'avoine récoltées avant épiaison de l'Exemple 1.a**

L'étude pharmacologique de l'extrait de parties aériennes d'avoine porte sur la composante immuno-inflammatoire de la dermatite atopique. L'altération de la barrière épidermique (mutation du gène de la filaggrine notamment) facilite la  
20 pénétration des allergènes de haut poids moléculaire (acariens, pollens, ...), leur capture par les cellules dendritiques et leur présentation aux cellules T ; cette interaction conduit à une réponse cellulaire T au niveau de la peau – initialement Th2 avec production d'un panel de cytokines et chemokines proinflammatoires capables de maintenir l'inflammation : IL-4, IL-5, IL-13 associées à la dermatite atopique,  
25 avec une émergence importante de l'IL-17 et l'IL-31 – mais plus tardivement Th1 (INCORVAIA, C. ; FRATI, F. ; VERNA N. ; D'ALO, S. ; MOTOLESE, A. ; PUCCI, S. 2008, *Allergy and the skin, Clin Exp Immunol*, vol 153 (1) 27-29) ; (BIEBER, T. 2008, *Atopic dermatitis, The New England Journal of Medecine*, vol 358 (14) 1483-1494). L'activation des lymphocytes T est suivie de l'activation d'autres types  
30 cellulaires, kératinocytes et cellules endothéliales principalement, ce qui aboutit à la

production de médiateurs inflammatoires (cytokines, prostaglandines) et à la production de chimiokines permettant le recrutement des cellules inflammatoires.

**a. Préparation des fractions :**

5 L'extrait de parties aériennes d'avoine peut être fractionné afin d'identifier la classe de molécules ou les molécules responsables de l'activité.

Pour cela, l'extrait peut être déposé sur une colonne de silice moyenne pression et élué successivement par des solvants de polarité croissante, par exemple une concentration croissante de méthanol dans l'eau. En effet, le fractionnement  
10 obtenu après dépôt de l'extrait réalisé selon l'exemple 1.a sur une colonne de silice et élution d'abord par un mélange méthanol / eau 25 :75 puis 50 :50 puis 100 % méthanol a permis de séparer une fraction riche en flavonoïdes (fraction méthanol / eau 50 :50, 19% des flavonoïdes isovitexine-2-O-arabinopyranoside et isoorientine-2-O-arabinopyranoside exprimés en vitexine-2-arabinose) et une fraction riche en  
15 saponines (fraction 100% méthanol, 15% d'avenacoside B). De la première fraction ont été isolés par HPLC semi-préparative utilisant une colonne de silice inverse C-18 les flavonoïdes isovitexine-2-O-arabinopyranoside et isoorientine-2-O-arabinopyranoside, dont les structures ont été confirmées par spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire.

20 De la fraction riche en saponines ont été isolés par HPLC semi-préparative l'avenacoside A et l'avenacoside B, dont les structures ont été identifiées par spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire.

**b. Activité immunomodulatrice**

25 Les cytokines, qui représentent un vaste ensemble de protéines régulatrices du système immunitaire, sont produites par les cellules cutanées, résidentes ou infiltrées, activées au cours des processus inflammatoires ou immunitaires.

Les interleukines dont les Il<sub>2</sub>, Il<sub>4</sub>, Il<sub>5</sub> et Il<sub>13</sub>, produites par les lymphocytes se divisent en deux groupes : les cytokines de type Th1 dont l'Il<sub>2</sub> et les cytokines de  
30 type Th2 dont l'Il<sub>4</sub>, Il<sub>5</sub> et Il<sub>13</sub>. Toutes ces interleukines sont surproduites lors de pathologies inflammatoires comme l'atopie, l'eczéma de contact ou le psoriasis.

Parmi elles, l'interleukine 2 (IL-2) humaine, dérivée des cellules T, est capable de soutenir la prolifération des lymphocytes T activés et induit les processus de différenciation et d'activation des cellules B et NK (Natural Killer).

*In vitro*, les cellules mononucléées humaines peuvent être stimulées et  
5 produire des cytokines. Le principe de ce test est d'étudier l'influence des extraits sur les productions d'IL<sub>2</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>5</sub>, IL<sub>13</sub> induite par la double stimulation Phorbol Myristate Acetate /Ionomycine.

**Résultats** : Un extrait acétonique de parties aériennes d'avoine récoltées  
10 avant épiaison selon l'exemple 1.a inhibe de 52% le nombre de lymphocytes CD4 exprimant l'interleukine 2 et de 21% le taux d'IL<sub>2</sub> intracellulaire à la concentration de 30µg/ml. Ce même extrait à la concentration de 30µg/ml inhibe les productions lymphocytaires d'interleukine 4 de 51%, d'interleukine 5 de 31% et d'interleukine 13 de 78%.

15 Cette activité intéressante pour le traitement de la dermatite atopique est portée par les saponines de l'extrait, dont les avenacosides A et B.

### c. **Activité anti-inflammatoire**

**Principe** : Le kératinocyte, cellule la plus représentée au niveau de  
20 l'épiderme, joue un rôle important dans l'initiation et la modulation des réactions inflammatoires cutanées. Ce modèle permet de déterminer *in vitro* les capacités de diverses molécules à moduler la production de médiateurs issus du métabolisme de l'acide arachidonique. La prostaglandine PG6KF1α est un métabolite stable de la prostacycline PGI<sub>2</sub>, métabolite majeur produit par le kératinocyte humain stimulé.  
25 Un extrait acétonique de parties aériennes d'avoine récoltées avant épiaison et ses fractions ont été évalués sur la production de cette prostaglandine induite au niveau du kératinocyte par le ionophore calcique A23187 (stimulant de la cascade de l'acide arachidonique).

**Résultats** : L'extrait acétonique selon l'exemple 1.a possède une activité significative (40% d'inhibition à 0,1 µg/ml), et la fraction riche en flavonoïdes possède une activité significative avec un maximum d'inhibition de 49% à 10µg/ml.

Cette activité anti-inflammatoire est portée par les flavonoïdes présents dans l'extrait, et en particulier par l'isoorientine-2''-O-arabinosyl (55% d'inhibition à 10 µg/ml).

Le mécanisme d'action de cette inhibition de la libération de la prostacycline a été en partie élucidé : on observe une inhibition directe, *in vitro*, de la cyclooxygénase 2 par l'extrait acétonique (68% d'inhibition à 100 µg/ml), et aucune inhibition de la phospholipase A2.

#### **d. Activité anti-oxydante**

L'activité antiradicalaire d'un extrait de parties aériennes d'avoine préparé selon l'exemple 1.a est évaluée à l'aide du test au DPPH• (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). Ce test rapide et facile à mettre en œuvre, est basé sur la mesure des capacités de piégeage du radical libre stable DPPH•. Le radical libre DPPH• absorbant à 517 nm, est réduit en hydrazine correspondante quand il réagit avec des donneurs de proton :



20

La CI<sub>50</sub> correspond à la concentration de l'extrait entraînant 50% de réduction de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH• (C = 25 µg/ml).

Dans ces conditions, la vitamine E possède une IC<sub>50</sub> de 6-10 µg/ml et l'extrait acétonique de parties aériennes d'avoine avant épiaison une IC<sub>50</sub> de 70 µg/ml.

25

Cet extrait possède donc une activité anti-oxydante, et peut par conséquent être utilisé dans une formulation dermo-cosmétique comme anti-âge.

**e. Activité antimicrobienne**

L'extrait acétonique préparé selon l'exemple 1.a a une action sélective sur le germe impliqué dans l'acné, *Propionibacterium acnes* (voir tableau 1).

Germes	CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	≥ 3.07%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	≥ 3.07%
<i>P. acnes</i>	0.096%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≥ 3.07%
<i>Escherichia coli</i>	≥ 3.07%
<i>Candida albicans</i>	≥ 3.07%
<i>Aspergillus niger</i>	≥ 3.07%
<i>M. furfur</i>	≥ 3.07%

5

Tableau 1 : Concentrations minimales inhibitrices exprimées en pourcentage (p/p) d'un extrait acétonique de parties aériennes d'avoine selon l'exemple 1.a sur différents germes, bactéries gram +, gram -, levures et fungi.

10

**Exemple 3 : compositions selon la présente invention**

CREME EMOLLIENTE POUR PEAUX ATOPIQUES

Extrait de parties aériennes d'avoine (ex. 1.a)	0,1 à 0,5%
Huile minérale	10 à 20%
Huile d'onagre	2,5%
15 Cyclométhicone	5 à 8%
Glycéryl stéarate / PEG-100 stéarate	5%
Glycérine	5%

	Polyacrylamide & C13-14 isoparaffin & laureth-7	3%
	PEG-12	4%
	EDTA	0,2%
	Triéthanolamine	0,1%
5	Conservateurs	qs
	Eau	qsp 100%
 <u>LAIT HYDRATANT POUR PEAUX ATOPIQUES</u>		
	Extrait de parties aériennes d'avoine (ex. 1.a)	0,1 à 0,5%
10	Huile minérale	3%
	Vaseline	6 à 12%
	Diméthicone	2%
	Huile d'onagre	2,5%
	Sorbitan stéarate / sucrose cocoate	5%
15	Gomme xanthane	0,4%
	Carbomer	0,2%
	Triéthanolamine	0,1%
	Glycérine	3%
	EDTA	0,2%
20	Alcool béhénique	1 %
	Conservateurs	qs
	Eau	qsp 100%

### **Revendications**

1. Extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine à l'exclusion des graines, caractérisé par 2 à 15% de flavonoïdes et 0,2 à 2% d'avenacosides A et B.  
5
2. Extrait selon la revendication 1, caractérisé en une proportion de 5 à 10% des flavonoïdes isovitexin-2''-O-arabinopyranoside et isoorientin-2''-O-arabinopyranoside.
- 10 3. Extrait selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un extrait obtenu en solvant organique.
4. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, comprenant moins de 1 ppm de protéines.
- 15 5. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ladite ou lesdites partie(s) aérienne(s) étant récoltée(s) avant épiaison.
- 20 6. Procédé de préparation d'un extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine, ladite ou lesdites partie(s) aérienne(s) ne comprenant pas de graine, caractérisé par les étapes suivantes :
  - extraction en solvant organique choisi dans le groupe constitué de l'acétone, la méthyl éthyl cétone, la méthyl isobutyl cétone, l'acétate d'éthyle, un alcool en C1 à C4 et un mélange en toute proportion miscible de ces solvants, et
  - 25 - centrifugation ou filtration.
7. Procédé selon la revendication 6, ladite ou lesdites partie(s) aérienne(s) étant récoltée(s) avant épiaison.
- 30 8. Extrait de partie(s) aérienne(s) d'avoine, susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 7.

9. Composition dermatologique comprenant à titre de principe actif un extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 et un ou plusieurs excipients dermatologiquement acceptables.
- 5
10. Composition dermatologique selon la revendication 9, comprenant 0,1 à 5% en poids d'extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 par rapport au poids total de la composition.
- 10
11. Composition cosmétique comprenant un extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 et un ou plusieurs excipients cosmétiquement acceptables.
12. Composition cosmétique selon la revendication 11, comprenant 0,1 à 5% en poids d'extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 par rapport au poids total de la composition.
- 15
13. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 pour utilisation en tant que médicament.
- 20
14. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 pour utilisation pour le traitement des dermatoses inflammatoires.
15. Extrait selon la revendication 14, la dermatose inflammatoire étant la dermatite atopique, le psoriasis ou l'eczéma.
- 25
16. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 pour utilisation pour le traitement de l'acné.
17. Extrait selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 et 8 pour utilisation pour le traitement du vieillissement cutané.
- 30



**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

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

FA 714508  
FR 0857757

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	LEFRANCOIS PIERRE, RUBY FRANCOISE: "Avoine" INTERNET ARTICLE, [Online] 30 janvier 2007 (2007-01-30), XP002532358 internet Extrait de l'Internet: URL:http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=avoine_ps> [extrait le 2009-06-15] * le document en entier *	1-17	A61K36/899 A61K8/97 A61Q19/08 A61P17/06 A61P17/10
X	HÄNSEL R., KELLER K., RIMPLER H., SCHNEIDER G.: "Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis 4 Drogen A-D" 1992, SPRINGER-VERLAG, GERMANY, XP002532360 * page 441, colonne de gauche, ligne 50 - page 445, colonne de gauche, ligne 13 *	1-17	
X	BAHRAMINEJAD S ET AL: "Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots of oats (Avena sativa L.)" JOURNAL OF PHYTOPATHOLOGY (BERLIN), vol. 156, no. 1, janvier 2008 (2008-01), pages 1-7, XP002532359 ISSN: 0931-1785 * page 1, colonne de droite, ligne 6 - page 2, colonne de droite, ligne 46 * * figures 1,3 *	1-17	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61Q A61P
----- -/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juin 2009		Fey-Lamprecht, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		D : cité dans la demande	
A : arrière-plan technologique		L : cité pour d'autres raisons	
O : divulgation non-écrite		.....	
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



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

N° d'enregistrement  
national

FA 714508  
FR 0857757

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	<p>FOWLER J ET AL: "Active Naturals Have a Key Role in Atopic Dermatitis" SEMINARS IN CUTANEOUS MEDICINE AND SURGERY, W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA, US, vol. 27, no. 3, 1 septembre 2008 (2008-09-01), pages 8-10, XP025760163 ISSN: 1085-5629 [extrait le 2008-09-01] * page 8, colonne de droite, ligne 17 - page 9, colonne de gauche, ligne 2 *</p> <p align="center">-----</p>	1-17	<p align="center">DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)</p>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juin 2009		Fey-Lamprecht, F	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>	

1  
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)