

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①① N° de publication : **3 023 166**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **14 56529**

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 31/732 (2013.01), A 61 P 17/00**

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 07.07.14.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 08.01.16 Bulletin 16/01.

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

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : LABORATOIRES RIVADIS SAS
Société par actions simplifiée — FR.

⑦② Inventeur(s) : GARCIA CEDRIC, LARNAUDIE
NATHALIE et OLLIVIER EVELYNE.

⑦③ Titulaire(s) : LABORATOIRES RIVADIS SAS Société
par actions simplifiée.

⑦④ Mandataire(s) : IPSILON - FERAY LENNE CONSEIL
Société à responsabilité limitée.

⑤④ UTILISATION D'UNE COMPOSITION PHARMACEUTIQUE RENFERMANT UNE PECTINE A TITRE DE
PRINCIPE ACTIF, DANS LA PREVENTION ET/OU LE TRAITEMENT DES LESIONS CUTANÉES IMPLIQUANT
UN CARACTÈRE INFLAMMATOIRE.

⑤⑦ La présente invention est relative à l'utilisation d'une
composition pharmaceutique renfermant une pectine à titre
de principe actif, dans la prévention et/ou le traitement des
lésions cutanées impliquant un caractère inflammatoire, et
en particulier dans la prévention et/ou le traitement des es-
carres.

FR 3 023 166 - A1



La présente invention se rapporte au domaine technique général des produits pharmaceutiques à usage topique, utilisables notamment sur la peau.

Plus précisément, la présente invention est relative à l'utilisation d'une composition pharmaceutique renfermant une pectine à titre de principe actif, dans la prévention et/ou le traitement des lésions cutanées impliquant un caractère inflammatoire, et en particulier dans la prévention et/ou le traitement des escarres.

La peau est un organe complexe comprenant plusieurs couches intégrées, allant de la couche superficielle, l'épiderme, jusqu'aux couches plus profondes, le derme et l'hypoderme, et chacune de ces couches possède des propriétés spécifiques permettant à l'ensemble de réagir et de s'adapter aux conditions de son environnement.

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général, et des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation.

L'inflammation est un processus destiné à éliminer un agent pathogène et à réparer les lésions tissulaires. Cependant, l'inflammation peut également être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation.

Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation : infection, contamination par des micro-organismes (bactérie, virus, parasites, champignons), agents physiques (traumatisme, chaleur, froid, radiations), agents chimiques (caustiques, toxines, venins), corps étrangers (exogènes ou endogènes), défaut de vascularisation (réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie, i.e. escarres), agression dysimmunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité...), etc...

Quelle qu'en soit la cause, il est parfois nécessaire d'appliquer sur les tissus cutanés des compositions contenant un principe actif destiné à prévenir ou traiter l'inflammation cutanée.

5 De nombreux principes actifs destinés à être administrés de façon topique, par exemple sous la forme de lotions, crèmes ou pommades ont déjà été proposés dans ce but. De façon non exhaustive, on peut notamment citer les corticoïdes locaux non associés (tels que Dexaméthasone, Prednisolone, Fluorométholone, Rimexolone, etc), l'Acide aminocaproïque, l'acide salicylique, le Gaïazulène et, dans une moindre mesure, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

10 Ces agents anti-inflammatoires sont cependant des produits d'origine dont la synthèse peu s'avérer longue et coûteuse. Ils engendrent par ailleurs pour la plupart un certain nombre d'effets secondaires indésirables en cas d'administration prolongée (comme des troubles hématologique, des éruptions cutanées et autres réactions d'hyposensibilité).

15 Il a déjà également été proposé d'associer des corticoïdes locaux à des agents antibactériens. On connaît par exemple les associations de Dexaméthasone + Oxytétracycline, de Dexaméthasone + Chloramphénicol, de Corticoïde + antibiotique tel que la néomycine, etc ...

20 En effet, la peau humaine est peuplée en permanence d'une multitude de micro-organismes différents (bactéries, levures et champignons). La flore microbienne résidente, indispensable à la bonne santé de la peau est constituée principalement de staphylocoques (epidermidis, hominis), de corynebactéries, de propionibactéries Gram + ainsi que d'une flore fongique. La plupart des bactéries de la peau sont présentes sur l'épiderme squameux superficiel, colonisant les
25 cellules mortes et étroitement associées aux glandes sébacées et sudoripares. Les excréments de ses glandes fournissent l'eau, acides aminés, urée, électrolytes... tous ces éléments permettent une macération favorisant le développement bactérien (notamment des staphylocoques). Les infections cutanées sont le plus souvent dues à la rupture de l'équilibre écologique de la
30 flore résidente suite à la colonisation de la peau par des germes exogènes pathogènes ou à la prolifération anormale d'une souche endogène.

Dans le cadre hospitalier l'infection bactérienne est un sujet très préoccupant et une lutte sans cesse pour les professionnels de santé. Les infections hospitalières, appelées infections nosocomiales, si elles sont absentes
35 lors de l'admission du patient à l'hôpital se développent 48 heures au moins après l'admission. Le staphylocoque aureus un des principaux agents pathogènes dans

les hôpitaux peut provoquer des inflammations, abcès, boutons, folliculites, impétigo, furoncles, aggravant ainsi les lésions.

L'utilisation d'antibiotiques ou d'agents bactériens pour combattre ces affections, en complément ou non d'un traitement anti-inflammatoire, pose
5 cependant le problème de la non spécificité d'action visant indifféremment la flore pathogène et la flore résidente. Il est aussi à noter que dans le cadre hospitalier la résistance du staphylocoque aureus à la méticilline qui apparaît de plus en plus chez les patients hospitalisés pose de sérieux problèmes aux professionnels de santé. De nos jours l'utilisation des antiseptiques sur les plaies
10 chroniques est déconseillée par les professionnels de santé (sauf en cas de surinfection avérée) car il est nécessaire de respecter l'écosystème de la plaie.

Il existe donc un besoin pour une composition pharmaceutique pouvant être utilisée efficacement pour la prévention et ou le traitement des lésions cutanées à caractère inflammatoire, notamment lorsque ces lésions sont associées
15 à une infection due à des microorganismes. Il est en particulier recherché que la composition soit à base d'un ou de principes actifs naturels (non synthétiques), et qu'elle n'engendre pas de déséquilibre de la flore microbienne naturelle de la peau tout en empêchant la colonisation de la peau par des germes exogènes pathogènes ou à la prolifération anormale d'une souche endogène.

Les pectines sont des hétéropolysaccharides qui se présentent sous la forme de polymères linéaires d'acide α -D-galacturonique joints en 1-4 par une liaison glycosidique. Elles sont composées de différents polysaccharides associé : les homogalacturonanes, les xylogalacturonanes, les rhamnogalacturonanes, les arabinanes, les galactanes et les arabinogalactanes (Perrone P *et al.*,
25 *Phytochemistry*, 2002, **60**, 67-77). Par ailleurs, les fonctions carboxyliques présentes en position 6 des acides galacturoniques peuvent être estérifiées à différents degrés par des groupements méthyle. Les pectines sont de plus en plus utilisées dans le domaine de la cosmétique, principalement à titre d'agent épaississant de milieux aqueux. Ses avantages sont de plus en plus appréciés pour
30 ses propriétés stabilisantes, gélifiantes et pour sa biodégradabilité. Elles sont aussi utilisées comme support pour l'administration de médicaments dans le tractus gastro-intestinal, tels que des comprimés matriciels ou des billes de gel ou comme prébiotique.

Le brevet US 5,683,991 décrit une méthode pour empêcher l'adhésion des
35 germes sur les cellules épithéliale consistant à administrer par voie orale à un patient une composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un polymère de type galacturonide ayant un degré de polymérisation supérieur ou

égal 2 et un degré d'estérification très bas (inférieur à 20 %, de préférence inférieur à 5 % ou encore plus préférentiellement inférieur à 2%). De telles compositions, lorsqu'elles sont administrées par voie orale, sont décrites comme ayant la propriété de réduire l'adhésion de germes pathogènes, tels que E. Coli sur les cellules épithéliales des tractus gastro-intestinal et urogénital.

Les études effectuées par la société demanderesse ont maintenant mis en évidence que les pectines possédaient des propriétés anti-inflammatoires lorsqu'elles étaient appliquées de façon topique et que ces propriétés pouvaient avantageusement être mises à profit pour la préparation d'une composition pharmaceutique à application topique destinée à la prévention et/ou au traitement des lésions cutanées à caractère inflammatoire, que ces lésions soient ou non associés à une infection due à des microorganismes. De plus, lorsqu'elles sont appliquées de façon topique, les pectines permettent également de limiter ou d'empêcher l'adhésion des microorganismes à la surface de la peau sans pour autant présenter un effet germicide. Enfin, et toujours lorsqu'elles sont appliquées de façon topique, les pectines ont un effet cicatrisant. Grâce à l'ensemble de ces propriétés, il est ainsi possible d'aboutir à une composition pharmaceutique à application topique dans laquelle il n'est plus nécessaire d'associer plusieurs principes actifs pour conjuguer des propriétés anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-adhésion vis-à-vis des microorganismes.

La présente invention a donc pour objet une composition pharmaceutique à application topique comprenant, à titre de principe actif, de 0,01 à 10 % en masse d'une pectine, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des lésions cutanées à caractère inflammatoire.

Parmi de telles les lésions cutanées à caractère inflammatoire, on peut en particulier mentionner les ulcérations dont les escarres, les dermatites, et en particulier les dermatites atopiques, l'eczéma, le psoriasis, les macules et en particulier les macules rouges, pigmentaires, achromiques ainsi que les squames, les kératoses, les lésions liquidiennes, les lésions infiltrées, etc...

Selon une forme de réalisation particulièrement préférée de l'invention, la composition pharmaceutique est utilisée dans la prévention et/ou le traitement des escarres. En effet, les propriétés combinées des pectines (anti-inflammatoires, cicatrisantes et inhibition de l'adhésion des microorganismes sur la peau) font que la composition pharmaceutique utilisée selon l'invention est particulièrement bien adaptée à la prévention et/ou au traitement de cette pathologie.

Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, la quantité de pectine présente au sein de la composition pharmaceutique varie de 0,01 à 3 % en masse environ.

5 Le choix de la quantité de pectine dans la composition peut être fait en fonction de l'utilisation envisagée et de l'effet le plus recherché, i.e. soit un effet anti-inflammatoire, soit un effet inhibiteur de l'adhésion des microorganismes ou une combinaison de ces effets. En effet, les essais effectués par la société demanderesse ont montré que les effets anti-inflammatoire par voie topique et inhibiteur de l'adhésion des microorganismes de la pectine étaient les plus élevés
10 à une concentration voisine de 1 % en masse alors que le meilleur effet cicatrisant est obtenu lorsque la pectine est utilisée en une quantité voisine de 0,01 % en masse, cet effet diminuant de façon très importante par exemple lorsqu'une quantité de 0,1 % en masse est utilisée.

15 Ainsi, selon une forme de réalisation particulièrement préférée de l'invention, la composition pharmaceutique comprend entre 0,01 et 1 % en masse environ de pectine et est utilisée dans la prévention et/ou le traitement des escarres.

20 La ou les pectines utilisables selon l'invention peuvent être extraites de différents végétaux parmi lesquels figurent principalement les fruits tels que la pomme (pulpe et peau) et les agrumes, en particulier le citron, ainsi que le tournesol et la betterave.

25 Les pectines utilisables selon la présente invention ont de préférence un degré d'estérification (% en nombre de fonctions carboxyliques des unités acide galacturonique estérifiées par des groupes méthyle) variant de 65 à 80%, et encore plus préférentiellement de 72 à 76% % environ.

30 Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, la pectine est une pectine de pomme telle que par exemple la pectine vendue par la société Herbstreith & Fox sous la dénomination commerciale Pectin Classic AU 201 USP. Cette pectine présente un pH de $2,8 \pm 0,2$ en solution à 2,5 % en masse en solution dans de l'eau distillée à 20°C, ainsi qu'un degré d'estérification en groupement méthyle d'environ 72 à 76 %. Elle est par ailleurs référencée CAS N° 5000-69-5 au Chemical Abstracts.

35 Selon une forme de réalisation préférée, la composition pharmaceutique utilisable selon l'invention comprend en outre au moins une phase grasse, apportant du confort, de la douceur et permettant également de relipider la peau.

Cette phase grasse peut comporter une ou plusieurs huiles choisies de préférence dans le groupe constitué par :

- 5 - les silicones volatiles ou non volatiles, linéaires, ramifiées ou cycliques, organo-modifiées ou non, hydrosolubles ou liposolubles parmi lesquelles on peut notamment citer à titre d'exemple la diméthicone, le cyclopentasiloxane et l'octaméthylcyclotétrasiloxane ;
- les huiles minérales telles que par exemple l'huile de vaseline et la paraffine ;
- les huiles animales telles que par exemple le perhydrosqualène ;
- 10 - les huiles synthétiques telles que par exemple les isoparaffines, le dipélarionate de propylène glycol, le néopentanoate d'isostéaryle et le myristate d'isopropyle ;
- les esters d'acides gras tels que par exemple le caprylate caprate de coprah, le palmitate d'éthylhexyle, le palmitate d'isopropyle ;
- 15 - les huiles fluorées et perfluorées telles que par exemple les perfluoroalcanes ;
- des matières grasses supplémentaires tels que des cires comme par exemple la cire de carnauba, la cire d'abeille, des acides gras tels que l'acide stéarique, l'acide palmitique, ou bien encore des alcools gras tels que l'alcool cétylique, l'alcool stéarique, l'alcool cétéarique, l'alcool laurique et l'alcool myristique.
- 20

Dans ce cas, la phase grasse représente de préférence de 1 à 80 % en masse environ, et encore plus préférentiellement de 20 à 40 % en masse environ par rapport à la masse totale de la composition.

25 La composition pharmaceutique utilisée selon la présente invention est compatible avec la peau et éventuellement avec les lèvres, le cuir chevelu, les cils, les yeux et/ou les cheveux. Ces compositions sont donc physiologiquement acceptables. De plus, la composition pharmaceutique de la présente invention possède une excellente tolérance cutanée, notamment en raison du film lipidique résultant de la présence préférentielle d'une phase grasse, elles ne présentent
30 aucune phototoxicité et leur application sur la peau, pour des périodes de temps prolongées, n'implique aucun effet systémique.

Les compositions pharmaceutiques utilisées selon l'invention peuvent comprendre tout mélange de solvants et d'excipients habituellement utilisés pour la préparation de compositions pharmaceutique, ces solvants et excipients étant
35 bien entendu compatible avec une application sur la peau ou les muqueuses.

Ainsi les compositions utilisables selon l'invention peuvent comprendre de l'eau ou un mélange d'eau et d'au moins un solvant organique physiologiquement acceptable tel que l'éthanol, l'isopropanol, le propanol, le butanol, les polyéthylèneglycols ayant par exemple de 6 à 80 motifs d'oxyde d'éthylène comme le propylène glycol, l'isoprène glycol, le butylène glycol, le glycérol et le sorbitol.

Les compositions pharmaceutiques utilisées selon l'invention peuvent se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées pour une application par voie topique, en particulier sous forme de produits liquides, pâteux, semi-solides, anhydres ou solides comme les patches, les lotions, les eaux micellaires, les gels aqueux, les gel huileux, les émulsions huile-dans-eau, eau-dans-huile, ou multiples (eau-huile-eau ou huile-eau-huile) ou les dispersions d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules, de nanoparticules polymériques, les nano-émulsions, et les microémulsions.

Les gels huileux peuvent en particuliers se présenter sous la forme de gels huileux de type D-phase qui sont des émulsions huile-dans-eau (H/E) contenant une large proportion de phase grasse (de 40 à 95% en masse), offrant l'aspect d'une microémulsion gélifiée transparente. L'ajout d'eau dans un gel huileux de type D-Phase entraîne une dilution et une sortie de la zone de transparence. Les émulsions H/E obtenues sont alors très fines, très stables et présentent une viscosité modulable à volonté pour créer des produits allant de la crème au spray.

Ces formes galéniques sont préparées par les techniques usuelles, et par exemple, dans le cas d'une crème, par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse pour obtenir une émulsion huile-dans-eau, ou inversement pour préparer une émulsion eau-dans-huile.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, la composition pharmaceutique est sous forme d'une émulsion huile-dans-eau.

La composition pharmaceutique utilisée selon la présente invention présente un pH compatible avec la peau, variant de préférence de 3 à 8.

En plus de la ou des pectines, la composition pharmaceutique utilisée conformément à l'invention peut comprendre un ou plusieurs principes actifs secondaires complétant avantageusement leur activité, et compatibles, c'est-à-dire non susceptibles de réagir les uns sur les autres ou de masquer ou limiter leurs effets respectifs.

Parmi de tels principes actifs secondaires, on peut notamment mentionner les agents empêchant l'adhésion des microorganismes à la surface de la peau tels

que des extraits végétaux ayant de telles propriétés comme par exemple un extrait de *Centella asiatica*, les agents desquamants, les agents hydratants, les agents anti-séborrhéiques, les agents dépigmentants ou propigmentants, les agents anti-glycation, les inhibiteurs de la NO-synthase, les inhibiteurs de la 5 α -réductase, les agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou épidermiques et/ou empêchant leur dégradation tels que par exemple la superoxyde dismutase, la carnosine, et l'aminoguanidine, les agents stimulant la prolifération des fibroblastes ou des kératinocytes et/ou la différenciation des kératinocytes, les agents myorelaxants, les agents tenseurs, les agents anti-pollution ou anti-radicalaires, les agents apaisants, les actifs lipolytiques, ainsi que les agents agissant sur la microcirculation ou sur le métabolisme des cellules.

De façon connue, la composition pharmaceutique utilisée selon la présente l'invention peut en outre renfermer un ou plusieurs excipients habituels dans le domaine pharmaceutique tels que des solvants, des gélifiants et/ou épaississants classiques hydrophiles ou lipophiles ; des conservateurs ; des antioxydants ; des parfums ; des émulsionnants, des agents hydratants, des agents pigmentants ; des dépigmentants ; des agents de pénétration ; des agents hydratants, des agents kératolytiques ; des vitamines ; des émoullients ; des séquestrants ; des tensio-actifs ; des polymères ; des ajusteurs de pH, des agents anti-radicaux libres ; des céramides ; des filtres solaires (chimiques ou physiques) ; des répulsifs pour insectes ; des agents amincissants ; des matières colorantes ; des antipelliculaires, etc...

Parmi les tensio-actifs, on peut en particulier citer les tensio-actifs siliconés, les esters d'acides gras et de polyols.

Les exemples suivants illustrent l'invention plus en détail sans en limiter la portée. Dans tous les exemples de compositions qui suivent, les parties sont exprimées en masse, sauf indication contraire.

EXEMPLES

EXEMPLE 1 : Mise en évidence des propriétés anti-inflammatoire de la pectine

Dans cet exemple, on a testé les propriétés anti-inflammatoires de la pectine (E440) vendue sous la dénomination commerciale Pectin Classic AU 201 USP par la société Herbstreith & Fox.

1.1 Principe du test et protocole

Dans cet exemple, on a testé les propriétés anti-inflammatoires de la pectine (E440) vendue sous la dénomination commerciale Pectin Classic AU 201 USP par la société Herbstreith & Fox.

5 **2.1 Principe du test et protocole**

La réponse inflammatoire globale se traduit généralement au niveau des macrophages par la production d'oxyde nitrique (NO), qui précède celle des agents pro-inflammatoires. Le test d'activité anti-inflammatoire consiste à mesurer l'inhibition de la production de NO par l'actif à tester (ici la pectine) dans des macrophages de souris préalablement activés par le lipopolysaccharide (LPS, Sigma Aldrich) d'*E. Coli*.

A titre de témoin positif, on a utilisé de la Dexaméthasone, qui est un anti-inflammatoire connu.

La concentration préparée pour la solution mère (filtrée à 22 µM et conservée à 4°C dans l'obscurité pendant 24 heures) est la suivante :

- Pectine de pomme: 1% dans le PBS (Sigma Aldrich).

Des macrophages RAW 264.7 (Sigma Aldrich) ont été transférés, à une concentration de $1,5 \cdot 10^5$ cellules/ml, dans une plaque de 48 puits (1 ml/puits) et incubés à 37°C. Lorsque les cellules ont été à confluence, le milieu de culture a été changé (200 µl/puits). La pectine en solution dans le PBS a été ajoutée dans les puits, et les cellules ont été incubées pendant une heure à 37°C. Le LPS a ensuite été ajouté à la concentration de 1 µg/ml. Après addition de LPS, les cellules ont été maintenues en culture pendant 18 heures. A la fin de la période d'incubation, 50 µl de surnageant cellulaire ont été prélevés et mélangés à 50 µl de sulfanilamide (Sigma Aldrich). Après 10 minutes à 20°C à l'obscurité, 50 µl de NED (Promega) (réactif de Griess) ont été ajoutés.

L'absorbance a été mesurée à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre/fluorimètre vendu sous la dénomination commerciale Infinite® M200 PRO par la société TECAN.

30 Concentrations massiques testées de pectine : 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, et 1%.

Contrôle solvant : DMSO (1%, v:v)

Contrôle positif : Dexaméthasone (50 µM) : pourcentage d'inhibition du pouvoir anti-inflammatoire 72%.

2.2. Résultats

Les résultats, exprimés en pourcentage d'inhibition de production de NO par rapport au témoin LPS, sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

TABLEAU 1

| Concentration en pectine (% massique) | % d'inhibition de la production de NO |
|--|--|
| 0,01 | 12 |
| 0,05 | 31 |
| 0,1 | 41 |
| 0,5 | 48 |
| 1 | 59 |

5 Ces résultats montrent que la pectine présente une activité anti-inflammatoire avec une diminution de 59% de la production de NO à la concentration de 1%.

EXEMPLE 2 : Mise en évidence des propriétés cicatrisantes de la pectine

10 Dans cet exemple, on a testé les propriétés cicatrisantes de la pectine (E440) (Pectin Classic AU 201 USP par la société Herbstreith et Fox).

3.1 Principe du test et protocole

15 Le test de cicatrisation et d'invasion cellulaire (ou selon l'anglicisme : « *wound healing assay* ») consiste à créer une cicatrice ou brèche au niveau d'un tapis cellulaire de fibroblastes et à évaluer le temps nécessaire aux cellules disposées de part et d'autre de la cicatrice pour migrer et combler la brèche.

20 Il est basé sur l'étude de la cinétique de comblement de la brèche afin de suivre les processus de prolifération et de migration cellulaires participant au phénomène de la cicatrisation. L'analyse des images et la quantification des aires durant la fermeture de la cicatrice ont réalisées avec l'aide du logiciel de traitement et d'analyse d'images UTHSCSA Image Tool (version 3.0, Reindeer Graphics Inc., Asheville NC, USA).

Les fibroblastes humains proviennent de primocultures fournies par la société Biopredic sous la référence NHF (« *Normal Human Fibroblast* », soit fibroblastes humains normaux).

25 Les fibroblastes ont été transférés, à une concentration de 1.10^6 cellules/ml, dans une plaque de 24 puits (500 ml/puits) contenant les inserts (pièce en plastique positionnée dans les puits de culture cellulaire et servant de support de culture) et incubés à 37°C pendant une nuit. A la fin de la période

d'incubation, les inserts ont été retirés des puits de culture cellulaire pour former des cicatrices et l'actif à tester y a été ajouté. Les cultures cellulaires ont ensuite été incubées à 37°C pendant 48H et le comblement des cicatrices a été suivi au microscope inversé muni d'un appareil photographique numérique.

5 Les images des fibroblastes (non représentées) ont été acquises au grossissement x100 après 48 heures d'incubation. Les résultats sont exprimés en pourcentages de comblement observé dans chaque brèche. Le taux d'induction est calculé à partir de la différence entre le taux de comblement observé dans l'échantillon et le taux de comblement obtenu dans le témoin négatif.

10 Les tests ont été effectués en utilisant une solution de pectine de pomme solubilisée dans le PBS et chauffée à 80°C pendant 30 minutes. Et celle-ci a été testées à différentes concentrations massiques : 0,01 % ; 0,05 % et 0,1 %.

Contrôle solvant : PBS

15 Contrôle positif : FGF (« *Fibroblast Growth Factor* », soit facteur de croissance des fibroblastes) utilisé classiquement pour compléter le milieu DMEM (10 ng/ml) : % du taux d'induction 24,13%

3.2. Résultats

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 2 ci-après :

TABLEAU 2

| Concentration de Pectine (% massique) | Taux d'induction (%) |
|--|-----------------------------|
| 0,01 | 13,81 |
| 0,05 | 8,69 |
| 0,1 | 0,75 |

20 Ces résultats mettent en évidence que la pectine possède des propriétés cicatrisantes et que le meilleur taux d'induction est obtenue avec une concentration massique de 0,01 %, ce taux ayant ensuite tendance à diminuer au fur et à mesure que la concentration massique en pectine augmente.

EXEMPLE 3 : Mise en évidence des propriétés anti-adhésion de la pectine vis-à-vis des microorganismes

25

Dans cet exemple, les propriétés anti-adhésion de la pectine de pomme (Pectin Classic AU 201 USP vendue par la société Herbstreith et Fox) ont été testées.

3.2. Résultats

Les résultats obtenus avec les différentes concentrations massiques de pectine sont reportés dans le tableau 3 ci-après :

TABLEAU 3

| Concentration de Pectine (% massique) | % d'inhibition de l'adhésion bactérienne | % d'inhibition de la croissance bactérienne |
|--|---|--|
| 0,01 | 15 | 0 |
| 0,05 | 40 | 0 |
| 0,1 | 64 | 0 |
| 0,5 | 85 | 0 |
| 1 | 94 | 0 |

5 Ces résultats mettent en évidence l'activité anti-adhésion de la pectine, l'effet le plus marqué (94%) étant observé à la concentration de 1% massique. Par ailleurs, il est intéressant d'observer que la pectine n'a pas montré une activité inhibitrice sur la croissance bactérienne (0%). Cet actif n'est donc pas bactéricide mais anti adhérent, avec effet dose dépendant jusqu'à un effet optimal
10 à 1%.

EXEMPLE 4 : Préparation d'une composition pharmaceutique comprenant de la pectine

Une composition pharmaceutique à base de pectine de pomme sous la forme d'une émulsion huile-dans-eau a été préparée comme indiqué ci-après.

15 Les pourcentages donnés ci-après sont des pourcentages massiques.

Phase aqueuse (Phase A) :

| | |
|--|-------|
| - Eau (QSP) | 100 % |
| - Glycérine | 13 % |
| - Stéarate de sucrose vendu sous la dénomination commerciale Surfhope® C-1816 par la société Gattefossé | 3 % |
| - Pectine de pomme vendue sous la dénomination commerciale Pectin Classic AU 201 USP par la société Herbstreith et Fox | 1 % |

Phase huileuse (Phase B)

| | |
|---|------|
| - Triglycéride d'acides caprique et caprylique vendu sous la Dénomination commerciale DUB MCT par la société Verfilco | 20 % |
|---|------|

25

- Dipélargonate de Propylène Glycol vendu sous la dénomination commerciale DPPG CG par la société Gattefossé 3 %
- 5 - Squalane vendu sous la dénomination commerciale Phytosqualan par la société Sophim 2 %

Phase C

- 10 - Copolymère Hydroxyéthyle Acrylate / Sodium Acryloyldiméthyle Taurate vendu sous la dénomination Sepinov EMT10 par la société Seppic 2 %
- Conservateurs q.s.
- Ajusteur de pH q.s. pH 6,00

Le protocole de préparation de cette émulsion est donné ci-après :

15 Phase A. Dans une première étape, et à température ambiante, incorporer la glycérine, la pectine, la *Centella asiatica* et le stéarate de sucrose. Mélanger le tout sous une agitation de 800-1000 Tr/min. Lorsqu'un mélange homogène est obtenu, incorporer l'eau QSP et chauffer cette phase A aux alentours de 80°C.

20 Phase B. Dans une deuxième étape, incorporer les huiles : soit le triglycéride d'acides caprique et caprylique, le dipélargonate de propylène glycol et le Squalane dans un autre contenant. Faire chauffer cette phase B aux alentours de 80°C.

Mettre la phase A sous agitation à 1500-2000 Tr/min.

Incorporer la phase B dans la phase A sous agitation. Laisser agiter 10 min à 80°C.

25 Phase C. Dans une troisième étape, incorporer la phase C sous agitation (1500 Tr/min) : le copolymère Hydroxyéthyle Acrylate / Sodium Acryloyldiméthyle Taurate, agiter 10 min pour laisser le temps à la formule de se gélifier. Refroidir le mélange toujours sous agitation jusqu'à température ambiante. Incorporer par la suite les conservateurs. Laisser agiter 15 min à température ambiante. Ajuster le pH.

30 On a ainsi obtenu une crème homogène dont pH était voisin de 6.

REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique à application topique comprenant, à titre de principe actif, de 0,01 à 10 % en masse d'une pectine, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des lésions cutanées à caractère inflammatoire.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que les lésions cutanées à caractère inflammatoire comprennent les escarres, les dermatites, et en particulier les dermatites atopiques, l'eczéma, le psoriasis, les macules, les squames, les kératoses, les lésions liquidiennes et les lésions infiltrées.
3. Composition selon la revendication 1 ou 2, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des escarres.
4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la quantité de pectine présente au sein de la composition pharmaceutique varie de 0,01 à 1 % en masse.
5. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend 1 % en masse de pectine, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des escarres.
6. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la pectine est une pectine de pomme.
7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre au moins une phase grasse.
8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que la phase grasse comprend une ou plusieurs huiles choisies parmi les silicones volatiles ou non volatiles, linéaires, ramifiées ou cycliques, organo-modifiées ou non, hydrosolubles ou liposolubles ; les huiles minérales ; les huiles animales ; les huiles synthétiques ; les esters d'acides gras ; les huiles fluorées et perfluorées ; les cires ; les acides gras et les alcools gras.
9. Composition selon la revendication 7 ou 8, caractérisée en ce que la phase grasse représente de 1 à 80 % en masse par rapport à la masse totale de la composition.

10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'une émulsion huile-dans-eau.

5 11. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs principes actifs secondaires choisis parmi les agents empêchant l'adhésion des microorganismes à la surface de la peau, les agents desquamants, les agents hydratants, les agents anti-séborrhéiques, les agents dépigmentants ou propigmentants, les agents anti-glycation, les inhibiteurs de la NO-synthase, les inhibiteurs de la 5 α -réductase,
10 les agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou épidermiques et/ou empêchant leur dégradation, les agents stimulant la prolifération des fibroblastes ou des kératinocytes et/ou la différenciation des kératinocytes, les agents myorelaxants, les agents tenseurs, les agents anti-pollution ou anti-radicalaires, les agents apaisants, les actifs lipolytiques, ainsi que les agents
15 agissant sur la microcirculation ou sur le métabolisme des cellules.



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

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

FA 798892
FR 1456529

| 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 | JP 2013 155120 A (MIKASA SEIYAKU CO LTD) 15 août 2013 (2013-08-15) * revendications; exemples * ----- | 1-7,10, 11 | A61K31/732 A61P17/00 |
| X | EP 1 550 448 A1 (INC ADMIN AGENCY NARO [JP]) 6 juillet 2005 (2005-07-06) * alinéas [0019] - [0020], [0037], [0040], [0044]; revendications; figure 1; exemple 3 * ----- | 1-11 | |
| X | WO 03/092645 A2 (SOC EXTRACTION PRINCIPES ACTIF [FR]; DAL FARRA CLAUDE [FR]; DOMLOGE NO) 13 novembre 2003 (2003-11-13) * page 3, ligne 11 - ligne 12; revendications; exemples * ----- | 1-11 | |
| X | US 3 393 678 A (PACINI AUGUST J) 23 juillet 1968 (1968-07-23) * colonne 1, ligne 30 - ligne 40 * ----- | 1-11 | |
| X | DATABASE WPI Week 200419 Thomson Scientific, London, GB; AN 2004-203496 XP002732621, & WO 2004/011032 A1 (MIKASA SEIYAKU CO LTD) 5 février 2004 (2004-02-05) * abrégé * ----- | 1-11 | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K |
| X | EP 0 567 311 A2 (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US] SQUIBB & SONS INC [US]) 27 octobre 1993 (1993-10-27) * page 3, ligne 39; revendications * ----- | 1-11 | |
| X | JP 2002 226378 A (MIKASA SEIYAKU CO LTD) 14 août 2002 (2002-08-14) * le document en entier * ----- | 1-11 | |
| ----- -/-- | | | |
| Date d'achèvement de la recherche | | Examineur | |
| 18 novembre 2014 | | Blott, Catherine | |
| 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 | |

2
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 798892
FR 1456529

| 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 | EP 1 625 851 A1 (BBK BIO CORP [JP]) 15 février 2006 (2006-02-15) * alinéa [0204]; revendication 30; exemple 13 * ----- | 1-11 | |
| | | | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) |
| | | Date d'achèvement de la recherche | Examineur |
| | | 18 novembre 2014 | Blott, Catherine |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS | | T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant | |
| X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire | | | |

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1456529 FA 798892**

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

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **18-11-2014**

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

| Document brevet cité au rapport de recherche | | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|----|------------------------|---|------------------------|
| JP 2013155120 | A | 15-08-2013 | AUCUN | |
| EP 1550448 | A1 | 06-07-2005 | EP 1550448 A1 | 06-07-2005 |
| | | | JP 2004107295 A | 08-04-2004 |
| | | | US 2006094688 A1 | 04-05-2006 |
| | | | WO 2004026317 A1 | 01-04-2004 |
| WO 03092645 | A2 | 13-11-2003 | AT 444058 T | 15-10-2009 |
| | | | AU 2003246877 A1 | 17-11-2003 |
| | | | EP 1530480 A2 | 18-05-2005 |
| | | | US 2005176677 A1 | 11-08-2005 |
| | | | WO 03092645 A2 | 13-11-2003 |
| US 3393678 | A | 23-07-1968 | AUCUN | |
| WO 2004011032 | A1 | 05-02-2004 | AU 2003252694 A1 | 16-02-2004 |
| | | | JP 4712380 B2 | 29-06-2011 |
| | | | WO 2004011032 A1 | 05-02-2004 |
| EP 0567311 | A2 | 27-10-1993 | AT 171866 T | 15-10-1998 |
| | | | AU 3703593 A | 28-10-1993 |
| | | | CA 2094533 A1 | 23-10-1993 |
| | | | DE 69321389 D1 | 12-11-1998 |
| | | | DE 69321389 T2 | 04-03-1999 |
| | | | DK 0567311 T3 | 21-06-1999 |
| | | | EP 0567311 A2 | 27-10-1993 |
| | | | ES 2123619 T3 | 16-01-1999 |
| | | | JP H069373 A | 18-01-1994 |
| | | | JP 3485593 B2 | 13-01-2004 |
| | | | NO 931468 A | 25-10-1993 |
| | | | NZ 247431 A | 27-11-1995 |
| | | | NZ 272995 A | 29-01-1997 |
| | | | US 5503847 A | 02-04-1996 |
| JP 2002226378 | A | 14-08-2002 | AUCUN | |
| EP 1625851 | A1 | 15-02-2006 | EP 1625851 A1 | 15-02-2006 |
| | | | JP 4851185 B2 | 11-01-2012 |
| | | | US 2006293263 A1 | 28-12-2006 |
| | | | US 2009202601 A1 | 13-08-2009 |
| | | | WO 2004100966 A1 | 25-11-2004 |