

(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
9 janvier 2003 (09.01.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/002088 A2

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : A61K 7/48 (74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR02/02277 (81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) Date de dépôt international : 1 juillet 2002 (01.07.2002)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité : 01/08648 29 juin 2001 (29.06.2001) FR (84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : LABORATOIRES PHARMASCIENCE [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). SMADJA, Jacqueline [FR/FR]; 35, allée des Glaïeuls, F-97490 Sainte Clothilde (FR). MSIKA, Philippe [FR/FR]; 226, rue Marcadet, F-75018 Paris (FR). GRONDIN, Isabelle [FR/FR]; 28, chemin Leonel Boyer, F-97490 Sainte Clothilde (FR). PICCARDI, Nathalie [FR/FR]; 47, rue Chapotier, F-38120 Egrève (FR).
- Déclaration en vertu de la règle 4.17 :**
— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement
- Publiée :**
— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: USE OF AT LEAST AN OIL EXTRACTED FROM THE SEEDS OF THE GOURD FAMILY FOR PREPARING A COMPOSITION FOR INHIBITING 5 β G(A)-REDUCTASE ACTIVITY

(54) Titre : UTILISATION D'AU MOINS UNE HUILE EXTRAITE DE GRAINES DE CUCURBITACEES POUR LA PREPARATION D'UNE COMPOSITION DESTINEE A INHIBER L'ACTIVITE DE LA 5 α -REDUCTASE

(57) Abstract: The invention concerns the use of at least an oil derived from the seeds of the gourd family selected from the group consisting of Lagenaria, Luffa and Momordica, for preparing a composition designed to inhibit 5 α -reductase activity, and the use of said oil for preparing a composition for treating prostatic hypertrophy, prostatic adenoma, acne, hyperseborrhea, alopecia, and hirsutism. The invention also concerns cosmetic treatment methods, in particular for greasy skin. The invention further concerns the use of at least an oil derived from seeds of the gourd family in a nutritional food composition for humans and/or animals as additive for inhibiting 5 α reductase activity.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, pour la préparation d'une composition destinée à inhiber l'activité de la 5 α -réductase, ainsi qu'à l'utilisation d'une telle huile pour la préparation d'une composition destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome prostatique, de l'acné, de l'hyperseborrhée, de l'alopécie, et de l'hirsutisme. L'invention se rapporte également à des méthodes de traitement cosmétique, notamment de la peau grasse. L'invention a également pour objet l'utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées dans une composition nutraceutique pour l'être humain et/ou l'animal en tant qu'additif agissant pour inhiber l'activité de la 5-alpha reductase.

WO 03/002088 A2



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.

« Utilisation d'au moins une huile extraite de graines de cucurbitacées pour la préparation d'une composition destinée à inhiber l'activité de la 5 α -réductase »

La présente invention se rapporte à l'utilisation d'au moins une huile de graines
5 de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le *Lagenaria*, le *Luffa* et le
Momordica, pour la préparation d'une composition destinée à inhiber l'activité de la
5 α -réductase, ainsi qu'à l'utilisation d'une telle huile pour la préparation d'une
composition destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome
prostatique, de l'acné, de l'hyperséborrhée, de l'alopecie, et de l'hirsutisme.
10 L'invention se rapporte également à des méthodes de traitement cosmétique,
notamment de la peau grasse. L'invention a également pour objet l'utilisation d'au
moins une huile de graines de cucurbitacées dans un aliment pour l'être humain et/ou
l'animal en tant qu'additif agissant pour inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

Les cucurbitacées tropicales appartenant aux trois genres *Lagenaria*, *Luffa* et
15 *Momordica* sont des végétaux cultivés notamment sur l'île de la Réunion ou en Inde.
Parmi ces cucurbitacées tropicales, on peut citer notamment les Calebasses longue, gale
et bouteille (*Lagenaria leucaritha*), le pipangaille à côtes (*Luffa acutangula*), le
pipangaille lisse (*Luffa cylindrica*) et la margoze (*Momordica charantia*).

Les Calebasses du genre *Lagenaria leucaritha* sont des plantes généralement
20 cultivées en Asie, notamment en Chine et au Japon. On les retrouve également sur le
pourtour de l'Océan Indien. Ces plantes sont des herbacées annuelles de 8 à 10
mètres. La fécondation de leurs fleurs conduit à des fruits cylindriques, enflés à leur
base, appelés Calebasses. On trouve par exemple, sur l'île de la Réunion, trois types de
Calebasses du genre *Lagenaria leucaritha*, les Calebasses longue, gale et bouteille. Ces
25 fruits charnus contiennent en leur centre des graines plates et allongées présentant une
teneur en lipides comprise entre 12 et 25 % en poids.

Les pipangailles appartenant aux genres *Luffa cylindrica* et *Luffa acutangula*,
respectivement du type lisse ou à côtes, sont originaires de l'Inde. Ce sont des
herbacées annuelles, constituées de tiges rampantes pouvant atteindre 5 mètres de long.

Les fruits renferment des graines noires et ovales dont la teneur en lipides est comprise entre 20 et 30% en poids.

La margoze du genre *Momordica charantia* provient de l'Inde mais est aussi cultivée sur l'île de la Réunion. C'est une herbacée annuelle, qui peut donner des
5 lianes de 2 mètres, et dont les fruits oblongs de couleur verte contiennent des graines plates. La teneur en lipides de ces graines est de 30% environ en poids.

Les cucurbitacées tropicales telles que le *Luffa cylindrica* ont déjà été utilisées dans des applications cosmétiques, mais l'huile extraite des graines de ces cucurbitacées, contenant les lipides totaux de ces graines, n'a jamais été utilisée dans
10 des formulations cosmétiques. Ainsi, la demande de brevet EP 359 196 décrit des formulations cosmétiques pour le traitement de la peau, comprenant au moins un adjuvant et de 1 à 90 % en poids d'un extrait de *luffa cylindrica*, l'extrait étant un extrait aqueux ou alcoolique obtenu par exemple par percolation.

La demanderesse a ainsi découvert de manière surprenante que l'huile extraite
15 des graines des cucurbitacées tropicales, avantageusement choisies dans le groupe constitué par le *Lagenaria leucaritha*, le *Luffa acutangula*, le *Luffa cylindrica* et le *Momordica charantia*, pouvait être utilisée dans une composition cosmétique, avantageusement administrée par voie externe topique, destinée à inhiber l'activité de la 5-alpha réductase et à agir notamment sur la peau ou les cheveux gras ou luisants,
20 sur les peaux à tendance acnéique, sur les zones du cuir chevelu affectées d'alopécie d'origine non pathologique ou sur les zones de la peau présentant des excès de pilosité.

En outre, les huiles extraites des graines des cucurbitacées tropicales s'avèrent être des composés cosmétiquement acceptables, non agressifs pour la peau, non toxiques et hypoallergéniques.

25 La demanderesse a également découvert de manière surprenante que l'huile extraite des graines des cucurbitacées tropicales selon la présente invention pouvait être utilisée dans une composition pharmaceutique ou alimentaire destinée à inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

La 5 α -réductase est une enzyme microsomiale NADPH dépendante qui existe
30 sous forme de deux isoenzymes synthétisées à partir de deux gènes différents.

L'isoenzyme de type 1 de la 5 α -réductase est retrouvée essentiellement dans le foie et la peau, plus particulièrement dans les glandes sébacées de la peau non génitale et du cuir chevelu, et apparaît à la puberté. L'isoenzyme de type 2 est prédominante dans la prostate et au niveau de la peau des territoires sexuels différenciés : région
5 génitale, barbe, et joue un rôle dans la différenciation sexuelle. La répartition des isoenzymes de type 1 et 2 de la 5 α -réductase au niveau de la peau et des annexes cutanées chez l'homme peut être illustrée par le tableau 1 suivant.

**Tableau 1 : répartition des isoenzymes de type 1 et 2 de la 5 α -réductase au
10 niveau de la peau et des annexes cutanées chez l'homme**

		H5- α 1	H5- α 2
EPIDERME	Couche basale	++	+
	Couche spinieuse	+	++
	Couche granuleuse	+	-
	Couche cornée	-	-
DERME	Fibroblastes	++	-
GLANDES SEBACEES	Cellules basales	++	+
	Cellules glandulaires	++	-
GLANDES SUDORALES ECCRINES	Canal excréteur	-	-
	Cellules sécrétrices	++	-
	Cellules myoépithéliales	++	+
FOLLICULE PILEUX	Papille dermique	+	+ ?
	Cellules de la matrice	++	+
	Gaine épithéliale interne	±	+++
	Gaine épithéliale externe	++	-
	Muscle arrecteur	+	-

Il existe un certain nombre de pathologies pour lesquelles une exagération congénitale ou acquise de l'activité de la 5 α -réductase est responsable en totalité ou en majorité des troubles observés.

15

Par exemple, chez l'homme, cette enzyme 5 α -réductase, principalement localisée dans les tissus génitaux et dans la peau, catalyse l'hydroxylation de la testostérone en 5 α -réductase dihydrotestostérone (DHT). Or, comme la DHT est un androgène bien plus actif que la testostérone (environ 2 fois plus), les effets de cette
20 dernière sont amplifiés dans les tissus où est produite la DHT. Une activité trop élevée de la 5 α -réductase provoque ainsi des teneurs en androgène sous forme de DHT trop

élevées dans la prostate, d'où une surstimulation de cette dernière se traduisant en une croissance indésirable pouvant mener à la pathologie de l'hypertrophie prostatique, voire à l'adénome prostatique, nécessitant le plus souvent une intervention chirurgicale.

5 D'autres pathologies, de type dermatologique, peuvent être observées chez l'homme ou la femme comme résultant d'une suractivité de la 5α -réductase à savoir, en particulier l'acné, l'hirsutisme ou encore l'alopecie.

Dans la peau, l'activité de la 5α -réductase est plus importante dans la glande sébacée que dans les autres structures. Par ailleurs, les glandes séborrhéiques montrent
10 une activité 5α -réductase plus importante que celles des autres territoires cutanés. Par conséquent, le niveau de sécrétion sébacée physiologique semble étroitement lié à l'activité de cette enzyme.

Chez l'acnéique, il existe une hyperactivité de la 5α -réductase. Plus qu'une augmentation des taux sériques des androgènes, c'est une augmentation des
15 précurseurs en DHT, facteur principal de la fonction sébacée, qui participent à l'acné.

La peau grasse (ou séborrhée), outre son aspect disgracieux, constitue un terrain sur lequel peuvent survenir des complications. Elle atteint les zones où les glandes sébacées sont nombreuses et résulte principalement d'une surstimulation androgénique de la production sébacée par ces glandes spécifiques. L'hyperséborrhée participe à la
20 survenue des lésions d'acné vulgaire.

Dans le cuir chevelu, on retrouve l'isoenzyme de type 1 de la 5α -réductase au niveau des glandes sébacées, ainsi qu'au niveau du follicule pileux. L'isoenzyme de type 2 de la 5α -réductase est localisée majoritairement au niveau de la gaine épithéliale interne, ainsi qu'au niveau de la papille dermique du cheveu. Cependant
25 cette dernière localisation reste à préciser.

L'alopecie androgénique, dont la physiopathogénie est très voisine de celle de l'acné, est la plus fréquente des alopecies et sans doute celle où la demande de thérapeutique est la plus forte. La 5α -réductase semble jouer un rôle primordial dans cette pathologie. En effet, les hommes atteints d'un déficit génétique en isoenzyme de
30 type 2 de la 5α -réductase ne développent pas d'alopecie androgénique.

Compte tenu de ce qui précède, la recherche s'est orientée vers la mise au point d'inhibiteurs de la 5 α -réductase. Certains stéroïdes comme la progestérone ont été testés dans ce sens, mais sa métabolisation rapide la rend inefficace *in vivo*. Pour être actif, l'inhibiteur de 5 α -réductase doit être suffisamment stable pour bloquer l'activité de l'enzyme *in vitro*. Le finastéride, inhibiteur compétitif stéroïdien, remplit cette condition, mais il est plus actif sur l'isoenzyme de type 2 que sur l'isoenzyme de type 1 et ces deux isoenzymes n'ont que 50 % d'homologie sur la séquence de leurs acides aminés. C'est donc surtout dans l'hyperplasie bénigne de la prostate que le finastéride a déjà été testé.

Par ailleurs, on connaît également l'extrait de *Serenoa Repens*, comme référence en tant qu'inhibiteur de la 5 α -réductase, l'extrait de *Serenoa Repens* présentant l'avantage, par rapport au finastéride, d'être d'origine naturelle en tant qu'extrait végétal permettant une meilleure comparaison pour des produits testés également d'origine naturelle. *Serenoa Repens*, également connu sous la dénomination *Sabal serrulatum*, est un petit palmier que l'on peut trouver aux Etats-Unis (Floride) en Afrique du Nord et en Espagne.

La demanderesse a maintenant trouvé de manière tout à fait surprenante et inattendue que l'utilisation de l'huile extraite de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica permettait d'obtenir un effet remarquable d'inhibition de l'activité de la 5 α -réductase, procurant ainsi notamment une nouvelle réponse pour le traitement des pathologies et/ou désordres dermatologiques évoqués ci-dessus. L'huile selon la présente invention peut ainsi être incorporée dans une composition pharmaceutique, dans un produit alimentaire ou dans un complément alimentaire, ou encore dans une composition cosmétique.

La présente invention a ainsi pour objet l'utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, pour la préparation d'une composition destinée à inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

L'utilisation de l'huile des graines de cucurbitacées pour préparer une composition selon la présente invention destinée à inhiber l'isoenzyme de type 1 et/ou

l'isoenzyme de type 2 de la 5 α -réductase est particulièrement avantageuse selon la présente invention.

Selon la présente invention, la composition est avantageusement destinée à un usage externe topique. Elle peut par ailleurs contenir un support cosmétiquement acceptable.

La composition qui est mise en œuvre avantageusement selon la présente invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques usuellement utilisées pour une application externe topique. Avantageusement selon la présente invention, la composition se présente sous forme d'une solution aqueuse, hydroalcoolique ou huileuse, d'une émulsion huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple, d'un gel aqueux ou huileux, d'un produit anhydre liquide, pâteux ou solide, ou d'une dispersion d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules, les sphérules pouvant être des nanoparticules polymériques telles que les nanosphères et les nanocapsules ou mieux des vésicules lipidiques de type ionique et/ou non-ionique. La composition peut être plus ou moins fluide, se présenter sous forme de crème blanche ou colorée, de pommade, de lait, de lotion, d'onguent, de sérum, de pâte, de mousse, d'aérosol ou de stick.

La composition mise en œuvre selon la présente invention peut par ailleurs contenir les adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les actifs hydrophiles ou lipophiles, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les charges, les filtres, les pigments, les agents chélateurs, les absorbeurs d'odeur et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées en cosmétique, et par exemple de 0,01% à 20% en poids, par rapport au poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse, dans les vésicules lipidiques et/ou dans les nanoparticules.

Lorsque la composition selon la présente invention est une émulsion, la proportion de la phase grasse peut aller de 5% à 80% en poids, et de préférence de 5% à 50% en poids, par rapport au poids total de la composition. Les huiles, les émulsionnants et les coémulsionnants utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine considéré.

L'émulsifiant et le coémulsifiant sont présents, dans la composition, en une proportion allant de 0,3 % à 30 % en poids, et de préférence de 0,5 % à 20 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

Parmi les huiles utilisables selon la présente invention, on peut citer notamment
5 les huiles minérales, d'autres huiles d'origine végétale (huile d'abricot, huile de tournesol, de prune), les huiles d'origine animale, les huiles de synthèse, les huiles siliconées et les huiles fluorées (perfluoropolyéthers). Des alcools gras, tels que l'alcool cétylique, des acides gras, ou des cires telles que la cire d'abeilles peuvent également être utilisées en tant que matières grasses selon la présente invention.

10 Parmi les émulsifiants et coémulsifiants utilisables selon la présente invention, on peut citer notamment les esters d'acide gras et de polyéthylène glycol, tels que le stéarate de PEG-40 ou le stéarate de PEG-100, les esters d'acide gras et de polyol, tels que le stéarate de glycéryle et le tristéarate de sorbitane.

Parmi les gélifiants hydrophiles utilisables selon la présente invention, peuvent
15 notamment être cités les polymères carboxyvinyles (carbomère), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylate/alkylacrylate, les polyacrylamides, les polysaccharides, les gommes naturelles et les argiles. Parmi les gélifiants lipophiles, peuvent notamment être cités les argiles modifiées telles que les bentones, les sels métalliques d'acides gras, la silice hydrophobe et les polyéthylènes.

20 Avantageusement selon la présente invention, la composition contient en outre au moins un composé choisi dans le groupe constitué par les actifs hydrophiles, les actifs lipophiles, les agents modulant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation cutanée, les agents antibactériens, les agents modulant l'adhésion bactérienne sur la peau et/ou les muqueuses, les agents antifongiques, les agents
25 apaisants, les agents anti-prurigineux, les agents kératolytiques, les agents anti-radicaux libres, les agents anti-séborrhéiques, les agents anti-pelliculaires, les agents présentant une activité anti-acnéique, les agents anti-irritants, les agents hydratants, les vitamines, les agents anti-inflammatoires, les filtres UVA et UVB, les agents matifiants, les pigments réflecteurs de lumière, les actifs antirides, les agents anti-
30 glycation, les modulateurs de Heat Shock Protein et les inhibiteurs enzymatiques.

Parmi les actifs hydrophiles utilisables selon la présente invention, on peut citer notamment les protéines ou les hydrolysats de protéine, les peptides tels que les

peptides de lupin, les acides aminés, les polyols, l'urée, l'allantoïne, les sucres et leurs dérivés, les vitamines hydrosolubles, les extraits végétaux et les hydroxy-acides.

Parmi les actifs lipophiles utilisables selon la présente invention, on peut citer notamment le rétinol (vitamine A) et ses dérivés, le tocophérol (vitamine E) et ses dérivés, les acides gras essentiels, les céramides, les huiles essentielles, l'acide salicylique et ses dérivés.

La composition mise en œuvre selon la présente invention peut également contenir d'autres agents actifs destinés notamment à la prévention et/ou au traitement des affections cutanées. Parmi ces agents actifs, on peut citer notamment les agents modulant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation cutanée tels que l'acide rétinoïque et ses isomères, le rétinol et ses esters, la vitamine D et ses dérivés, les phyto-oestrogènes et l'acide kojique ; les agents antibactériens tels que l'octanediol et les conservateurs classiques (ammonium quaternaire,...) ; les agents modulant l'adhésion bactérienne sur la peau et/ou les muqueuses tels que certains dérivés de sucres ; les agents antifongiques, en particulier les composés appartenant à la classe des imidazoles ou leurs sels, les composés de la famille des allylamines, les dérivés de glycine (hydroxyméthylglycinate de sodium par exemple), la piroctone olamine ou encore l'octopirox ; les agents apaisants tels que l'acide salicylique, le lupeol, l'allantoïne, l'eau de bleuet, le Silanediol Salicylate, les dérivés de réglisse et l'enexolone.

Parmi les agents actifs destinés notamment à la prévention et/ou au traitement des affections cutanées éventuellement présents dans la composition selon la présente invention, peuvent également être cités : les agents anti-prurigineux comme la glycine ; les agents kératolytiques tels que les acides alpha et bêta-hydroxycarboxyliques ou bêta-cétocarboxyliques, leurs sels, amides ou esters et plus particulièrement les hydroxy-acides tels que l'acide glycolique, l'acide lactique, l'acide salicylique, l'acide citrique et de manière générale les acides de fruits ; les agents anti-radicaux libres, tels que l'alpha-tocophérol ou ses esters, les caroténoïdes, les isoflavones, les OPC, les flavonoïdes, les superoxyde dismutases, certains chélatants de métaux ou l'acide ascorbique et ses esters ; les agents anti-séborrhéiques tels que les rétinoïdes, le sabal, l'extrait de *Pygeum Africanum*, les sels de zinc.

Peuvent également être ajoutés en tant qu'agents actifs destinés notamment à la prévention et/ou au traitement des affections cutanées dans la composition selon la présente invention, les agents anti-pelliculaires tels que l'octopirox, la pyrithione de zinc ou la piroctone olamine ; les agents présentant une activité anti-acnéique tels que les rétinoïdes, le rétinol, le rétinaldéhyde, les vitamines PP, les peroxydes de benzoyle, l'erythromycine ; les agents anti-irritants tels que les eaux thermales, les polysaccharides, en particulier vis-à-vis de composés irritants éventuellement présents dans les compositions de la présente invention ; les agents hydratants tels que les polyols (par exemple la glycérine) ; les vitamines (par exemple le D-panthénol ou les vitamines C, D, B6) ; les agents anti-inflammatoires tels que les eaux thermales, les polysaccharides ; les filtres UVA et UVB de type écrans organiques et minéraux ; les agents matifiants et les pigments réflecteurs de lumière tels que des mélanges de titane et de mica ; les actifs antirides tels que le rétinol et ses dérivés (rétinaldéhyde) ; les agents anti-glycation ; les modulateurs de Heat Shock Protein ; et les inhibiteurs enzymatiques.

Dans un mode de réalisation particulier selon la présente invention, l'huile des graines de cucurbitacées est susceptible d'être obtenue selon le procédé consistant à extraire les lipides totaux des graines de cucurbitacées préalablement séchées et broyées, à l'aide d'un solvant des huiles, puis à évaporer le solvant.

Les graines de cucurbitacées selon la présente invention sont broyées par exemple à l'aide d'un broyeur à cylindre ou à marteaux. Le solvant des huiles, utilisé pour extraire les lipides totaux des graines formant l'huile, est un solvant organique classique d'extraction de lipides. Le solvant est avantageusement choisi dans le groupe constitué par les alcanes aliphatiques, les alcanes aromatiques, les alcools aliphatiques et leurs dérivés halogénés. De manière encore plus avantageuse selon la présente invention, le solvant organique est l'hexane. L'extraction des lipides totaux des graines de cucurbitacées est avantageusement réalisée par une extraction au soxhlet qui est une technologie bien connue de l'homme de métier. Après extraction des lipides contenus dans les graines de cucurbitacées selon la présente invention, le solvant organique est évaporé, de préférence par évaporation sous vide.

Dans un autre mode de réalisation particulier selon la présente invention, l'huile des graines de cucurbitacées est susceptible d'être obtenue selon le procédé consistant à extraire les lipides des graines de cucurbitacées par pression mécanique des graines à froid, avantageusement à l'aide d'une presse à vis continue, pour
5 conduire, après filtration, à des huiles vierges de première pression.

Les huiles de cucurbitacées selon la présente invention peuvent être utilisées brutes ou raffinées. Par raffinage, on entend au sens de la présente invention, les opérations unitaires de purification des lipides d'origine végétale bien connues de
10 l'homme de métier, parmi lesquelles on peut citer notamment la neutralisation chimique, la démulcination, la décoloration, la désodorisation et la frigélisation.

Avantageusement selon la présente invention, l'huile extraite des graines de cucurbitacées est présente à une concentration comprise entre 0,01 et 95 %, de préférence entre 0,1 et 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.
15

Avantageusement selon la présente invention, la composition préparée en utilisant l'huile des graines de cucurbitacées est destinée au traitement des pathologies et/ou des désordres cutanés liés à une exagération congénitale ou acquise de l'activité de la 5 α -réductase.
20

De manière encore plus avantageuse selon la présente invention, la composition est destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome prostatique, de l'acné, de l'hyperséborrhée, de l'alopécie ou de l'hirsutisme.

La composition mise en œuvre selon la présente invention peut être une composition cosmétique, pharmaceutique, dermatologique ou nutraceutique.
25

Dans un mode de réalisation particulier selon la présente invention, la composition est une composition pharmaceutique ou dermatologique. Contrairement aux méthodes de traitement cosmétique selon la présente invention selon lesquelles l'hyperséborrhée, l'alopécie ou encore l'hirsutisme ne sont pas d'origine pathologique et se manifestent par des phénomènes esthétiquement gênants sur la peau et/ou les
30 cheveux, l'utilisation thérapeutique de l'huile selon la présente invention permet de traiter des formes d'acné, d'hyperséborrhée, d'alopécie ou d'hirsutisme présentant un caractère pathologique.

La présente invention a également pour objet l'utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, pour la préparation d'une composition, avantageusement pharmaceutique ou dermatologique, destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome prostatique, de l'acné, de l'hyperséborrhée, de l'alopecie ou de l'hirsutisme.

La présente invention a également pour objet une méthode de traitement cosmétique, caractérisée en ce qu'on applique sur la peau, les muqueuses, les ongles ou les cheveux au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, afin d'inhiber l'activité de la 5 α -réductase.

Avantageusement selon la méthode de traitement cosmétique de la présente invention, on applique la composition cosmétique sur la peau grasse et/ou sur les cheveux gras, sur la peau luisante et/ou sur les cheveux luisants, sur la peau présentant des boutons, des points noirs, ou des comédons, sur la peau grasse à tendance acnéique, sur la peau grasse à imperfections, sur les zones du cuir chevelu affectées d'alopecie ou sur les zones de la peau présentant des excès de pilosité.

En effet, selon la présente invention, à l'opposé des traitements médicaux hormonaux, les méthodes de traitement cosmétique de la peau ou des cheveux gras et/ou luisants, de la peau présentant des boutons, des points noirs, ou des comédons, de la peau grasse à tendance acnéique ou à imperfections, des zones du cuir chevelu affectées d'alopecie ou des zones de la peau présentant des excès de pilosité permettent d'améliorer l'apparence de l'être humain en réduisant de manière visible les phénomènes disgracieux et esthétiquement gênants liés à l'hyperséborrhée, qui donne notamment un aspect gras et/ou luisant à la peau et/ou aux cheveux et qui peut provoquer l'apparition de boutons, comédons ou points noirs, à l'alopecie qui se manifeste par une chute des cheveux ou des poils et à l'hirsutisme qui se manifeste par des excès de pilosités. Il s'agit ici des cas où l'hyperséborrhée, l'alopecie ou encore

l'hirsutisme ne sont pas d'origine pathologique, mais proviennent par exemple, dans le cas de l'alopécie, des agressions extérieures (décoloration, teinture) ou encore de la vieillesse.

Enfin, la présente invention a pour objet l'utilisation d'au moins une huile de
5 graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le *Lagenaria*, le *Luffa* et le *Momordica*, avantageusement le *Lagenaria leucaritha*, le *Luffa acutangula*, le *Luffa cylindrica* et le *Momordica charantia*, dans une composition nutraceutique ou un aliment pour l'être humain et/ou l'animal en tant qu'additif agissant pour inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

10 Selon un mode de réalisation avantageux de l'utilisation selon la présente invention, l'huile des graines de cucurbitacées est extraite selon le procédé consistant à extraire les lipides totaux des graines de cucurbitacées préalablement séchées et broyées, à l'aide d'un solvant des huiles, avantageusement par une extraction au soxhlet, puis à évaporer ledit solvant ou selon le procédé consistant à extraire les
15 lipides des graines de cucurbitacées par pression mécanique des graines à froid, avantageusement à l'aide d'une presse à vis continue, pour conduire, après filtration, à des huiles vierges de première pression.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'utilisation selon la présente invention, l'huile extraite des graines de cucurbitacées est utilisée selon une proportion
20 comprise entre 0,01 et 95 %, de préférence entre 0,1 et 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

Les exemples suivants sont donnés à titre non limitatif et illustrent la présente invention.

25 A moins qu'il n'en soit précisé autrement, les pourcentages indiqués dans les exemples suivants sont des pourcentages en poids. Dans les exemples suivants, toutes les huiles de graines de cucurbitacées ont été extraites par l'hexane, en partant d'une quantité d'environ 500 g de graines de cucurbitacées.

30

Exemple 1 : Composition de l'huile extraite de graines de cucurbitacées

Exemple 1.1 : composition de l'huile extraite des graines de Calebasses bouteille, gale et longue (Lagenaria leucaritha)

Données analytiques	Calebasse bouteille	Calebasse gale	Calebasse longue
Caractères	Huile fluide de couleur jaune clair	Huile fluide de couleur jaune clair	Huile fluide de couleur jaune clair
Indice d'acide (mg KOH/g)	<10	<10	<10
Répartition en acides gras (%)			
Acide palmitique	12-18	10-18	12-20
Acide stéarique	3-8	4-8	4-9
Acide oléique	4-9	4-8	12-30
Acide linoléique	65-75	65-75	35-60
Insaponifiable (%)	<1.5	<1.5	<1.5

5

Exemple 1.2 : composition de l'huile extraite des graines de pipangailles lisse (Luffa cylindrica) et à côtes (Luffa acutangula) et de margoze (Momordica charantia)

Données analytiques	Pipangaille à côtes	Pipangaille lisse	Margoze
Caractères	Huile fluide de couleur vert foncé	Huile fluide de couleur vert foncé	Huile solide (beurre) de couleur beige
Indice d'acide (mg KOH/g)	<10	<10	<10
Répartition en acides gras (%)			
Acide palmitique	20-25	15-25	0.5-5
Acide stéarique	3-7	6-12	25-35
Acide oléique	6-11	11-20	1-5
Acide linoléique	52-63	50-60	9-16
Acides tri insaturés conjugués	-	-	45-65 (1)
Insaponifiable (%)	< 2	< 2	< 2

(1) mélange d'acides punicique (< 3%), α -éléstéarique (<65%) et β -élostéarique (<3%)

10

Exemple 2 : Compositions cosmétiques

Exemple 2.1 : Crème pour peaux à tendance acnéique n°1

	% en poids
Eau	QSP 100
Isononanoate d'Isononyle	7
5 Malate de di-C12-13 Alkyle	7
Stéarate d'Isocétyle	5
Butylène Glycol	3
Oriza Sativa	2,5
Huile de margoze	0,1 à 30
10 Ether de Dicaprylyle	2
Salicylate de Silanediol	2
Alcool arachidylique	1,6
Trométhamine	1,2
Alcool cétylique	1
15 Acide Salicylique	1
Glucoside d'ascorbyle	1
Glycine	1
Acétate deTocophéryle	1
Alcool Béhénylique	0,9
20 Squalane	0,8
Citrate de Sodium	0,7
Copolymère PPG-12/SMDI	0,5
Glucoside d'Arachidyle	0,4
Parfum	0,4
25 Gomme de sclérote	0,2
Alcool cétéarylique	0,1
Acide citrique	0,1
Sepigel 305*	0,1
Système conservateur	QS
30 *produit commercialisé par la société Seppic	

Exemple 2.2 : Crème pour peaux à tendance acnéique n°2

	% en poids
Eau	QSP 100
Isononanoate d'Isononyle	7
5 Malate de di-C12-13 Alkyle	7
Stéarate d'Isocétyle	5
Butylène Glycol	3
Oriza Sativa	2,5
Huile de pipangaille lisse	0,1 à 30
10 Ether de Dicaprylyle	2
Salicylate de Silanediol	2
Alcool arachidylique	1,6
Trométhamine	1,2
Alcool cétylique	1
15 Acide Salicylique	1
Glucoside d'ascorbyle	1
Glycine	1
Acétate deTocophéryle	1
Alcool Béhénylique	0,9
20 Squalane	0,8
Citrate de Sodium	0,7
Copolymère PPG-12/SMDI	0,5
Glucoside d'Arachidyle	0,4
Parfum	0,4
25 Gomme de sclérote	0,2
Alcool cétéarylique	0,1
Acide citrique	0,1
Sepigel 305*	0,1
Système conservateur	QS
30 *produit commercialisé par la société Seppic	

Exemple 2.3 : Crème pour peaux à tendance acnéique n°3

	% en poids
Eau	QSP 100
Isononanoate d'Isononyle	7
5 Malate de di-C12-13 Alkyle	7
Stéarate d'Isocétyle	5
Butylène Glycol	3
Oriza Sativa	2,5
Huile de calebasse bouteille	0,1 à 30
10 Ether de Dicaprylyle	2
Salicylate de Silanediol	2
Alcool arachidylique	1,6
Trométhamine	1,2
Alcool cétylique	1
15 Acide Salicylique	1
Glucoside d'ascorbyle	1
Glycine	1
Acétate deTocophéryle	1
Alcool Béhénylique	0,9
20 Squalane	0,8
Citrate de Sodium	0,7
Copolymère PPG-12/SMDI	0,5
Glucoside d'Arachidyle	0,4
Parfum	0,4
25 Gomme de sclérote	0,2
Alcool cétéarylique	0,1
Acide citrique	0,1
Sepigel 305*	0,1
Système conservateur	QS
30	*produit commercialisé par la société Seppic

Exemple 2.4 : Emulsion moussante lavante pour peaux à tendance acnéique n°1

	% en poids
Eau	QSP 100
Arlatone duo*	20
5 Glucoside de noix de coco	12
Guar Hydroxypropylé	2
Huile de margoze	0,1 à 30
Palmate de PEG-200 Glycéryle hydrogéné	1,1
Cocoate de PEG-7 Glycéryle	1,1
10 Salicylate de Silanediol	1
Cocamide DEA	1
Glycine de Caprylyole	0,5
Sorbate de Potassium	0,5
Polyquaternium 10	0,4
15 Parfum	0,4
Acide citrique	0,3
Zinc PCA	0,2

*produit commercialisé par la société Quimasso

20 Exemple 2.5 : Emulsion moussante lavante pour peaux à tendance acnéique n°2

	% en poids
Eau	QSP 100
Arlatone duo*	20
Glucoside de noix de coco	12
25 Guar Hydroxypropylé	2
Huile de Calebasse longue	0,1 à 30
Palmate de PEG-200 Glycéryle hydrogéné	1,1
Cocoate de PEG-7 Glycéryle	1,1
Salicylate de Silanediol	1
30 Cocamide DEA	1
Glycine de Caprylyole	0,5
Sorbate de Potassium	0,5

18

	Polyquaternium 10	0,4
	Parfum	0,4
	Acide citrique	0,3
	Zinc PCA	0,2
5	*produit commercialisé par la société Quimasso	

Exemple 2.6 : Emulsion moussante lavante pour peaux à tendance acnéique n°3

		% en poids
	Eau	QSP 100
10	Arlatone duo*	20
	Glucoside de noix de coco	12
	Guar Hydroxypropylé	2
	Huile de pipangaille à côtes	0,1 à 30
	Palmate de PEG-200 Glycéryle hydrogéné	1,1
15	Cocoate de PEG-7 Glycéryle	1,1
	Salicylate de Silanediol	1
	Cocamide DEA	1
	Glycine de Caprylyole	0,5
	Sorbate de Potassium	0,5
20	Polyquaternium 10	0,4
	Parfum	0,4
	Acide citrique	0,3
	Zinc PCA	0,2
	*produit commercialisé par la société Quimasso	

25

Exemple 2.7 : Emulsion matifiante n°1

		% en poids
	Eau	QSP 100
	Malate de di-C12-13 Alkyle	10
30	Glycérol	5
	Oryza Sativa	4

19

	Huile de margoze	0,1 à 30
	Stéarate de PEG -5 Glycéryle	3,5
	Sepigel*	2,5
	Butylène Glycol	2,4
5	Salicylate de Silanediol	2
	Stéarate de Glycéryle	1,5
	Cérésine	1,5
	Stéarate de PEG-40	1,5
	Stéarate de Sorbitane	1
10	Nylon-6	1
	Zinc PCA	1
	Alcool cétylique	1
	Glycol caprylique	0,6
	Parfum	0,5
15	Piroctone Olamine	0,3
	Pyridoxine HCl	0,2
	Tocophérol	0,2
	*produit commercialisé par la société Seppic	

20

Exemple 2.8 : Emulsion matifiante n°2

		% en poids
	Eau	QSP 100
	Malate de di-C12-13 Alkyle	10
25	Glycérol	5
	Oryza Sativa	4
	Huile de pipangaille lisse	0,1 à 30
	Stéarate de PEG -5 Glycéryle	3,5
	Sepigel*	2,5
30	Butylène Glycol	2,4
	Salicylate de Silanediol	2
	Stéarate de Glycéryle	1,5

		20
	Cérésine	1,5
	Stéarate de PEG-40	1,5
	Stéarate de Sorbitane	1
	Nylon-6	1
5	Zinc PCA	1
	Alcool cétylique	1
	Glycol caprylique	0,6
	Parfum	0,5
	Piroctone Olamine	0,3
10	Pyridoxine HCl	0,2
	Tocophérol	0,2
	*produit commercialisé par la société Seppic	

Exemple 2.9 : Emulsion matifiante n°3

15		% en poids
	Eau	QSP 100
	Malate de di-C12-13 Alkyle	10
	Glycérol	5
	Oryza Sativa	4
20	Huile de Calebasse bouteille	0,1 à 30
	Stéarate de PEG -5 Glycéryle	3,5
	Sepigel*	2,5
	Butylène Glycol	2,4
	Salicylate de Silanediol	2
25	Stéarate de Glycéryle	1,5
	Cérésine	1,5
	Stéarate de PEG-40	1,5
	Stéarate de Sorbitane	1
	Nylon-6	1
30	Zinc PCA	1
	Alcool cétylique	1
	Glycol caprylique	0,6

21

	Parfum	0,5
	Piroctone Olamine	0,3
	Pyridoxine HCl	0,2
	Tocophérol	0,2
5	*produit commercialisé par la société Seppic	

Exemple 2.10 : Emulsion matifiante teintée n°1

		% en poids
	Eau	QSP 100
10	Malate de di-C12-13 Alkyle	10
	Glycérol	5
	Oryza Sativa	4
	Huile de margoze	0,1 à 30
	Stéarate de PEG -5 Glycéryle	3,5
15	Sepigel*	2,5
	Butylène Glycol	2,4
	Salicylate de Silanediol	2
	Stéarate de Glycéryle	1,5
	Cérésine	1,5
20	Stéarate de PEG-40	1,5
	Stéarate de Sorbitane	1
	Nylon-6	1
	Zinc PCA	1
	Alcool cétylique	1
25	Glycol caprylique	0,6
	Parfum	0,5
	Oxyde de fer brun	0,3
	Piroctone Olamine	0,3
	Pyridoxine HCl	0,2
30	Oxyde de fer	0,1
	Tocophérol	0,2
	Oxyde de fer noir	0,1

*produit commercialisé par la société Seppic

Exemple 2.11 : Emulsion matifiante teintée n°2

		% en poids
5	Eau	QSP 100
	Malate de di-C12-13 Alkyle	10
	Glycérol	5
	Oryza Sativa	4
	Huile de calabasse bouteille	0,1 à 30
10	Stéarate de PEG -5 Glycéryle	3,5
	Sepigel*	2,5
	Butylène Glycol	2,4
	Salicylate de Silanediol	2
	Stéarate de Glycéryle	1,5
15	Cérésine	1,5
	Stéarate de PEG-40	1,5
	Stéarate de Sorbitane	1
	Nylon-6	1
	Zinc PCA	1
20	Alcool cétylique	1
	Glycol caprylique	0,6
	Parfum	0,5
	Oxyde de fer brun	0,3
	Piroctone Olamine	0,3
25	Pyridoxine HCl	0,2
	Oxyde de fer	0,1
	Tocophérol	0,2
	Oxyde de fer noir	0,1
	*produit commercialisé par la société Seppic	

30

Exemple 2.12 : Shampoing n°1

% en poids

23

	Eau	QSP 100
	Lauroamphoacétate de Sodium	11
	Glucoside de noix de coco	11
	Sulfate de Magnesium Laureth	6
5	Huile de margoze	0,1 à 30
	Cocoate de PEG-40 Glycéryle	2,4
	Distéarate de PEG-150	1,2
	Sulfate de Sodium Coceth	1,1
	Acide salicylique	1
10	Disodium EDTA	0,3
	Parfum	0,2
	Hydroxyde de Sodium	QS pH=6,5
	Système conservateur	QS

15 *Exemple 2.13 : Shampooing n°2*

% en poids

	Eau	QSP 100
	Lauroamphoacétate de Sodium	11
	Glucoside de noix de coco	11
20	Sulfate de Magnesium Laureth	6
	Huile de calebasse longue	0,1 à 30
	Cocoate de PEG-40 Glycéryle	2,4
	Distéarate de PEG-150	1,2
	Sulfate de Sodium Coceth	1,1
25	Acide salicylique	1
	Disodium EDTA	0,3
	Parfum	0,2
	Hydroxyde de Sodium	QS pH=6,5
	Système conservateur	QS

30

Exemple 2.14 : Shampooing n°3

% en poids

	Eau	QSP 100
	Lauroamphoacétate de Sodium	11
	Glucoside de noix de coco	11
	Sulfate de Magnesium Laureth	6
5	Huile de pipangaille à côtes	0,1 à 30
	Cocoate de PEG-40 Glycéryle	2,4
	Distéarate de PEG-150	1,2
	Sulfate de Sodium Coceth	1,1
	Acide salicylique	1
10	Disodium EDTA	0,3
	Parfum	0,2
	Hydroxyde de Sodium	QS pH=6,5
	Système conservateur	QS

15 **Exemple 3 : Evaluation in vitro de l'activité de la 5 α -réductase de l'huile de margoze sur la conversion de la testostérone en 5 α -dihydrotestostérone dans des cultures de fibroblastes dermiques humains normaux.**

20 **Abréviations utilisées dans les exemples suivants :**

	EtOH	: éthanol
	DMSO	: diméthyl sulfoxyde
	M199	: appellation donnée à un milieu de culture standard
25	MCF	: milieu de culture des fibroblastes
	MEM	: appellation donnée au milieu de culture, <i>Minimum Essential medium</i>
	MIF	: milieu d'incubation des fibroblastes
	Rf	: facteur de rétention relatif
30	SVF	: sérum de veau foetal
	5 α -DHT	: 5 α -DiHydroTestostérone

On se propose d'évaluer l'effet de l'huile solide (beurre) extraite de graines de margoze (*Momordica charantia*) extraite par solvant (hexane) sur l'activité de la 5 α -réductase. Un modèle *in vitro* de cultures de fibroblastes dermiques humains normaux a été retenu.

5 1. Matériels et méthodes

1.1 Produit à l'essai, produit de référence, et réactifs

L'huile de margoze a été fournie par les Laboratoires Pharmascience et a été conservée à +4°C jusqu'au moment de son utilisation. Les effets du produit à l'essai ont été comparés à ceux obtenus en présence du Finastéride, utilisé comme produit de
10 référence (Finastéride, principe actif des comprimés CHIBRO-PROSCAR : MERCK SHARP & DOHME CHIBRET).

La testostérone radioactive (marquée au tritium en position 1, 2, 6 et 7, activité spécifique 95 Ci/mmol) était fournie par AMERSHAM, la testostérone non-radiomarquée était fournie par SIGMA.

15 Les réactifs de qualité analytique provenaient de chez SIGMA, MERCK, BDH, ALDRICH ou CARLO ERBA sauf indication contraire.

1.2 Système d'essai

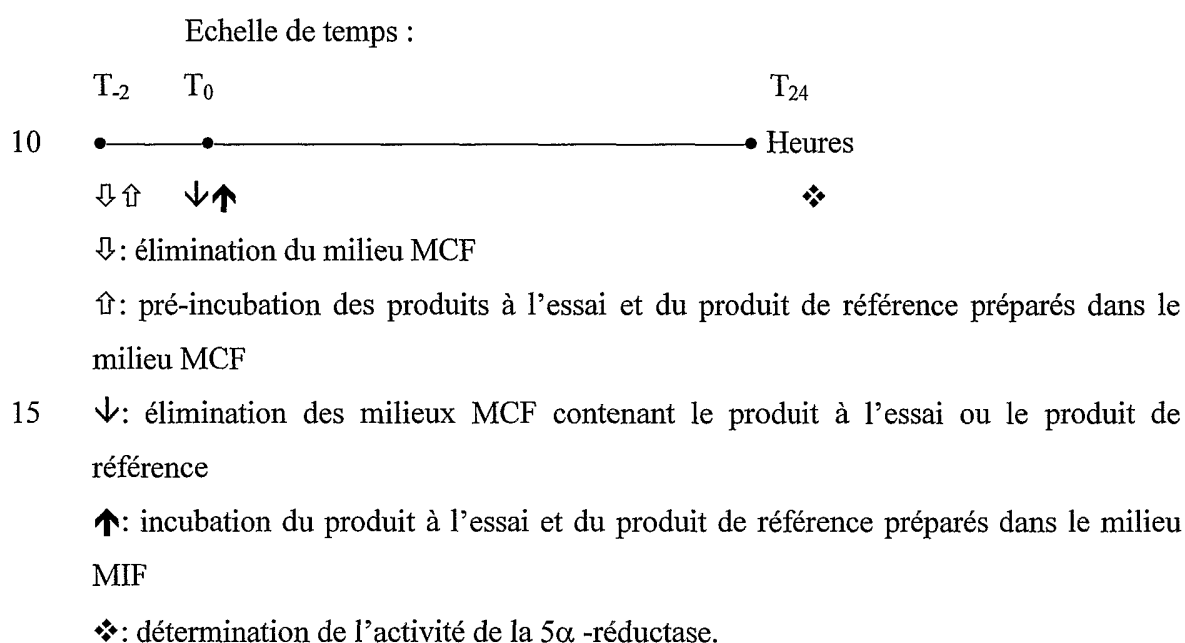
Le milieu de culture des fibroblastes (MCF) était constitué par du MEM/M199
20 (3:1, v/v) additionné de pénicilline (50 UI/ml), de streptomycine (50 μ g/ml), de bicarbonate de sodium (0,2 %, p/v) et de SVF (10 %, v/v).

Le système d'essai était constitué de fibroblastes dermiques humains normaux cultivés en monocouche. Les fibroblastes ont été isolés à partir d'un résidu de plastie abdominale réalisée chez une femme de 30 ans (sujet n°i0006). Les cellules ont été
25 utilisées au troisième passage, elles ont été cultivées jusqu'à confluence des monocouches dans le milieu MCF à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO₂.

1.3 Préparation des produits et incubation avec le système d'essai

30 Le milieu d'incubation des fibroblastes (MIF) était constitué de MCF additionné de testostérone tritiée (1,6 x 10⁻⁷ M, soit 6,32 μ Ci/ml) et de testostérone non radiomarquée (3,84 x 10⁻⁶ M).

Le Finastéride a été extrait des comprimés par broyage, agitation en DMSO, centrifugation puis recueil du surnageant (concentration théorique de cette solution : 1 mg/ml de finastéride), testé à 30 ng/ml. L'huile de margoze a été solubilisée à 2 mg/ml dans le milieu MCF contenant 2,5% d'éthanol, puis dilution dans le milieu MCF en contact avec les cellules de manière à obtenir des concentrations finales en huile de margoze de 5 et 10 µg/ml.



20 Les cultures de fibroblastes ont été pré-incubées en présence du produit à l'essai ou du produit de référence pendant 2 heures avant l'ajout du substrat, la testostérone. Pour cette étape, le produit à l'essai et le produit de référence ont été préparés dans le milieu MCF.

25 Après la pré-incubation, les cultures de fibroblastes ont été incubées en présence du produit à l'essai ou du produit de référence préparés dans le milieu MIF pendant 24 heures à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5 % de CO₂. Des cultures témoins ont été incubées dans le milieu MIF en absence de produit à l'essai et de produit de référence.

Chaque condition expérimentale a été testée en triplicate.

30

1.4 Evaluation des effets

Après la période d'incubation, les cellules ont été soumises à l'action des ultrasons dans le milieu MIF. Les lysats cellulaires ainsi obtenus ont été extraits par du dichlorométhane. Après évaporation, les résidus secs ont été repris dans du méthanol et ont été déposés sur des plaques de silice 60F₂₅₄ (MERCK, référence 5554).

5 Des standards non radiomarqués, la testostérone, la 5 α -dihydrotestostérone et l'androstènedione, ont été déposés sur chacune des plaques.

Le solvant de migration était un mélange de dichlorométhane et d'éther (7:3, v/v) A la fin de la migration, les plaques de silices ont été lues à l'aide d'un scanner de radioactivité BERTHOLD.

10 Les standards non radiomarqués ont été mis en évidence par pulvérisation d'acide sulfurique à 5 % (v/v) sur les plaques de chromatographie chauffées ensuite à 100°C pendant 10 minutes.

La comparaison des Rf (facteur de rétention relatif) déterminés pour les standards avec ceux obtenus pour les différents métabolites radioactifs a permis
15 l'identification de ces derniers.

La métabolisation de la testostérone en 5 α -dihydrotestostérone dans les différentes conditions expérimentales a été calculée : les résultats (aires des pics de 5 α -dihydrotestostérone comptés par le scanner BERTHOLD) sont exprimés en pmol de 5 α -DHT formées par μ g d'ADN. Ils ont aussi été exprimés en pourcentage de
20 l'activité 5 α -réductase présente dans le groupe 'cellules témoin'. Le dosage du contenu total en ADN a été effectué à l'aide d'un colorant nucléaire fluorescent (Hoechst 33258) par fluorométrie (excitation 356 nm, émission 458 nm).

1.5 - Traitement des données

25 Les groupes de données (groupe témoin et groupes traités) ont été traités par une analyse de la variance à un facteur (ANOVA 1, p<0,05), suivie par un test de DUNNETT (p<0,05). L'effet du produit à l'essai et du produit de référence a été comparé au groupe 'cellules témoin'.

30

2. Résultats et discussion

Le finastéride utilisé comme produit de référence et testé à 30 ng/ml inhibe l'activité de la 5 α -réductase de 70% (p<0,05). Ce résultat était attendu et valide notre test (tableau 2).

L'huile de margoze testée à 5 et 10 μ g/ml inhibe respectivement l'activité de la 5 α -réductase de 39 et 50% (P<0,1 et p<0,05 respectivement) (tableau 3).

3. Tableaux

3.1 - Effet du Finastéride sur l'activité de la 5 α -réductase dans des cultures de fibroblastes dermiques humains normaux après 24 heures d'incubation

10

Tableau 2

	Cellules témoin	Finastéride (30 ng/ml)
pmol de 5 α -DHT/ μ g d'ADN	2,68	0,76
	1,91	0,48
	1,56	0,62
Moyenne	2,05	0,62**
Ecart-type	0,57	0,14
% Témoin	100	30

** moyenne statistiquement différente de celle du groupe témoin (p<0,05)

15

3.2 - Effet de l'huile de margoze sur l'activité de la 5 α -réductase dans des cultures de fibroblastes dermiques humains normaux après 24 heures d'incubation.

20

Tableau 3

	Cellules témoin	Huile de margoze (5 μ g/ml)	Huile de margoze (10 μ g/ml)
pmol de 5 α -DHT/ μ g d'ADN	2,68	1,65	1,09
	1,91	1,03	1,06
	1,56	1,09	0,96

Moyenne	2,05	1,26*	1,03**
Ecart-type	0,57	0,34	0,07
% Témoin	100	61	50

** moyenne statistiquement différente de celle du groupe témoin ($p < 0,05$)

*moyenne statistiquement différente de celle du groupe témoin ($p < 0,1$)

REVENDICATIONS

- 5 1. Utilisation d'au moins une huile extraite de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, pour la préparation d'une composition destinée à inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la composition est destinée à inhiber l'isoenzyme de type 1 et/ou l'isoenzyme de type 2 de la 5 α -réductase.
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que la composition est adaptée pour une administration par voie topique externe.
- 15 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que la composition se présente sous forme d'une solution aqueuse, hydroalcoolique ou huileuse, d'une émulsion huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple, d'un gel aqueux ou huileux, d'un produit anhydre liquide, pâteux ou solide, ou d'une dispersion d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules.
- 20 5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'huile des graines de cucurbitacées est susceptible d'être obtenue selon le procédé consistant à extraire les lipides totaux des graines de cucurbitacées préalablement séchées et broyées, à l'aide d'un solvant des huiles, puis à évaporer ledit solvant ou selon le procédé consistant à extraire les lipides des graines
- 25 de cucurbitacées par pression mécanique des graines à froid.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'huile extraite des graines de cucurbitacées est présente à une concentration comprise entre 0,01 et 95 %, de préférence entre 0,1 et 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.
- 30 7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition est destinée au traitement des pathologies et/ou des désordres cutanés liés à une exagération congénitale ou acquise de l'activité de la 5 α -réductase.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition est destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome prostatique, de l'acné, de l'hyperséborrhée, de l'alopecie ou de l'hirsutisme.

5 9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition est une composition pharmaceutique ou dermatologique.

10 10. Utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, pour la préparation d'une composition destinée au traitement de l'hypertrophie prostatique, de l'adénome prostatique, de l'acné, de l'hyperséborrhée, de l'alopecie ou de l'hirsutisme.

15 11. Méthode de traitement cosmétique, caractérisée en ce qu'on applique sur la peau, les muqueuses, les ongles ou les cheveux au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, afin d'inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

20 12. Méthode de traitement cosmétique selon la revendication 11, caractérisée en ce qu'on applique l'huile de graines de cucurbitacées sur la peau grasse et/ou sur les cheveux gras, sur la peau luisante et/ou sur les cheveux luisants, sur la peau présentant des boutons, des points noirs, ou des comédons, sur la peau grasse à tendance acnéique, sur la peau grasse à imperfections, sur les zones du cuir chevelu affectées d'alopecie ou sur les zones de la peau présentant des excès de pilosité.

25 13. Utilisation d'au moins une huile de graines de cucurbitacées choisies dans le groupe constitué par le Lagenaria, le Luffa et le Momordica, avantageusement le Lagenaria leucaritha, le Luffa acutangula, le Luffa cylindrica et le Momordica charantia, dans une composition nutraceutique pour l'être humain et/ou l'animal en tant qu'additif agissant pour inhiber l'activité de la 5-alpha réductase.

30 14. Utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce que l'huile des graines de cucurbitacées est extraite selon le procédé consistant à extraire les lipides totaux des graines de cucurbitacées préalablement séchées et broyées, à l'aide d'un

solvant des huiles, puis à évaporer ledit solvant ou selon le procédé consistant à extraire les lipides des graines de cucurbitacées par pression mécanique des graines à froid.

- 5 15. Utilisation selon la revendication 13 ou 14, caractérisée en ce que l'huile des graines de cucurbitacées est présente selon une proportion comprise entre 0,01 et 95 %, de préférence entre 0,1 et 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.