

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①① N° de publication :

3 143 977

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

②① N° d'enregistrement national :

22 14160

⑤① Int Cl⁸ : A 61 K 36/54 (2023.01), A 61 P 17/08, A 61 K 8/92,
A 61 Q 19/00, A 23 L 33/115, C 11 B 1/04, 3/12

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 21.12.22.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 28.06.24 Bulletin 24/26.

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 EXPANSCIENCE
Société anonyme — FR.

⑦② Inventeur(s) : LECLERE- BIENFAIT Sophie et LE
BRAS CLEMENT.

⑦③ Titulaire(s) : LABORATOIRES EXPANSCIENCE
Société anonyme.

⑦④ Mandataire(s) : REGIMBEAU.

⑤④ INSAPONIFIABLES D'AVOCAT-MALASSEZIA.

⑤⑦ La présente invention porte sur l'insaponifiable d'avo-
cat ou une composition comprenant de l'insaponifiable
d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le trai-
tement des pathologies et troubles induits par une levure du
genre Malassezia, ledit insaponifiable d'avocat contenant
au moins 50 % en masse de lipides furaniques, par rapport
à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat. La présente
invention porte également sur l'utilisation cosmétique de
l'insaponifiable d'avocat ou d'une composition comprenant
de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention et/ou le trai-
tement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat conte-
nant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, par
rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat. En
outre, l'invention porte sur un procédé de préparation de l'in-
saponifiable d'avocat.

FR 3 143 977 - A1



Description

Titre de l'invention : INSAPONIFIABLES D'AVOCAT-MALASSEZIA

DOMAINE DE L'INVENTION

- [0001] La présente invention porte sur l'insaponifiable d'avocat ou d'une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*. La présente invention porte également sur l'utilisation cosmétique de l'insaponifiable d'avocat ou d'une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention et/ou le traitement des pellicules. En outre, l'invention porte sur un procédé de préparation de l'insaponifiable d'avocat.

CONTEXTE DE L'INVENTION ET ART ANTERIEUR

- [0002] Le microbiome humain comprend de multiples et divers microorganismes tels que des bactéries, virus et champignons. La levure *Malassezia*, qui fait partie des Basidiomycètes, fait partie de la flore commensale humaine, notamment au niveau du cuir chevelu. Cette levure libère des hydrolases, telles que des lipases et phospholipases C, qui permettent la production d'acides gras à partir des lipides de l'hôte de cette levure. Chez les personnes atteintes de dermatose séborrhéique, la levure *Malassezia* envahit le *stratum corneum* et les acides gras libres générés par la libération de lipases sont à l'origine d'un processus inflammatoire. L'inflammation entraîne une hyperprolifération du *stratum corneum* et une différenciation incomplète des cornéocytes, ce qui altère les fonctions du *stratum corneum*, notamment sa fonction de barrière, résultant en un accès facilité pour la levure *Malassezia*. La levure *Malassezia* est impliquée dans de nombreuses affections cutanées, telles que la dermite séborrhéique, la *Malassezia* folliculitis, les pellicules du cuir chevelu, le pityriasis capitis ou encore le pityriasis versicolor.
- [0003] La dermite séborrhéique est une dermatose inflammatoire érythémato-squameuse chronique bénigne assez fréquente qui évolue par poussées et touche le plus souvent le cuir chevelu et le visage notamment les sillons nasogéniens et les sourcils. Une des formes typiques atteint le nourrisson et se manifeste par des croûtes jaunes du cuir chevelu (croûtes de lait) ou du visage.
- [0004] La croûte de lait (en anglais Cradle Cap) est ainsi une forme de dermite séborrhéique infantile (DSI) présentant des plaques érythémateuses avec des squames grasses du cuir chevelu et dont l'incidence est maximale au troisième mois de la vie des patients. Les facteurs d'apparition des croûtes de lait sont divers. L'hyperproduction de sébum est un de ces facteurs : elle entraîne l'adhérence des cornéocytes morts à la surface de

la peau et empêche leur desquamation physiologique. L'envahissement du *stratum corneum* par la levure *Malassezia* tel que décrit ci-dessus est un autre de ces facteurs.

- [0005] Dans l'art antérieur, la stratégie thérapeutique utilisée dans le traitement des dermites séborrhéiques notamment des croûtes de lait vise à réguler la production de sébum, calmer l'inflammation de la peau et réduire le développement de la levure *Malassezia*. Ce traitement implique l'utilisation d'anti-inflammatoires tels que des dermocorticoïdes et d'antifongiques tels que du kétoconazole, du lithium gluconate ou de la cyclopiroxolamine. Le traitement peut également impliquer des émoullients tels que des huiles minérales ou d'olive ou de la vaseline et des kératolytiques tels que l'acide salicylique.
- [0006] L'utilisation prolongée de corticoïdes peut cependant entraîner des effets secondaires tels qu'une atrophie cutanée, des stries, de la télangiectasie, une folliculite, une hypopigmentation et une accoutumance, et l'utilisation prolongée d'antifongiques peut entraîner des effets secondaires tels qu'une dermatite de contact ; de plus, d'autres traitements présentent des limitations d'utilisation ; par exemple, le lithium gluconate n'est indiqué que dans le traitement de l'adulte immunocompétent.
- [0007] Il existe donc un réel besoin de disposer d'une composition permettant de prévenir et/ou de traiter les affections causées par la levure *Malassezia*, qui soit administrable par voie topique, qui ne présente pas les effets indésirables susmentionnés des corticoïdes et antifongiques et qui soit utilisable chez l'enfant, le nourrisson et le nouveau-né.
- [0008] Dans le cadre de la présente invention, la Demanderesse a découvert de façon surprenante que l'insaponifiable d'avocat est capable d'inhiber la croissance de levures du genre *Malassezia*.
- [0009] Dans sa demande de brevet internationale WO2004/012496, la Demanderesse décrit un procédé d'obtention d'un insaponifiable d'avocat riche en lipides furaniques. De manière générale, les insaponifiables d'avocat sont utilisés pour traiter certains troubles du tissu conjonctif tels que l'arthrose, des pathologies articulaires telles que les rhumatismes, ou encore des maladies parodontales, telles que la gingivite ou la parodontite (voir par exemple la demande brevet internationale WO2013/098293).
- [0010] La Demanderesse a ainsi découvert que l'insaponifiable d'avocat peut être utilisé dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, notamment dans la prévention et/ou le traitement des dermites séborrhéiques, en particulier des dermites séborrhéiques infantiles telles que les croûtes de lait, du pityriasis capitis, du *Malassezia* folliculitis, du pityriasis versicolor et des pellicules.
- [0011] En effet, l'insaponifiable d'avocat permet notamment d'inhiber la croissance des levures du genre *Malassezia* et d'agir comme anti-inflammatoire, agent apaisant et/ou

agent anti-démangeaisons.

Résumé de l'invention

- [0012] Selon un premier aspect, la présente invention porte sur l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [0013] Selon un second aspect, la présente invention porte sur une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [0014] Selon un troisième aspect, la présente invention porte sur une utilisation cosmétique de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention et/ou le traitement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [0015] Selon un quatrième aspect, la présente invention porte sur une utilisation cosmétique d'une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention et/ou le traitement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [0016] Selon un cinquième aspect, la présente invention porte sur un procédé de préparation de l'insaponifiable d'avocat comprenant au moins les étapes suivantes :
- i. une étape de traitement thermique du concentrat d'huile d'avocat, avantageusement réalisée à une température de 60 °C à 90 °C, de préférence 80 °C,
 - ii. une étape de saponification du concentrat d'huile d'avocat en présence d'un alcali éthanolique ou aqueux de type soude ou potasse permettant d'obtenir l'insaponifiable d'avocat,
 - iii. optionnellement une étape de précipitation des savons obtenus à l'étape ii.,
 - iv. au moins une étape d'extraction du produit obtenu à l'étape ii. ou iii. dans laquelle l'insaponifiable d'avocat est purifié par une extraction liquide / liquide ou solide / liquide avec au moins 50 % en volume d'un solvant choisi parmi l'acétate d'éthyle, l'acétate de propyle et l'acétate de butyle, par rapport au volume total de solvants d'extraction, et
 - v. optionnellement une étape de purification supplémentaire de distillation et/ou

désodorisation.

DEFINITIONS

- [0017] Au sens de la présente invention, par « levure du genre *Malassezia* », on entend toute espèce et variété de levure appartenant au genre *Malassezia*, aussi appelé genre *Pityrosporum*. On peut citer par exemple et de manière non limitative les espèces de levures suivantes : *Malassezia furfur*, notamment de souche CIP 1634.86, *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, *Malassezia sympodialis*, *Malassezia obtuse*, *Malassezia slooffiae*, *Malassezia pachydermatis* et *Malassezia folliculitis*.
- [0018] Au sens de la présente invention, par « pellicule », on entend des amas inesthétiques de cellules mortes présents sur le cuir chevelu.
- [0019] Au sens de la présente invention, par « *pityriasis versicolor* », on entend une infection de la peau due à *Malassezia furfur* qui se manifeste par de multiples plaques squameuses dont la couleur va de blanche à brun à rose.
- [0020] Au sens de la présente invention, par « concentration minimale inhibitrice (CMI) », on entend la plus petite concentration d'un composé qui inhibe la croissance d'un micro-organisme donné.
- [0021] Par « concentrat d'huile d'avocat » ou « concentrat d'avocat », on entend une huile d'avocat concentrée en sa fraction insaponifiable, avantageusement par distillation moléculaire ou par cristallisation à froid.
- [0022] Au sens de la présente invention, par « *Malassezia folliculitis* », aussi appelé folliculite à *Malassezia*, on entend un trouble inflammatoire de la peau qui se manifeste typiquement par une éruption papulopustuleuse prurigineuse et folliculaire répartie sur le tronc supérieur des jeunes adultes ; cette maladie d'étiologie fongique peut imiter l'acné vulgaire et est aussi appelée *Pityrosporum folliculitis*.
- [0023] D'une manière générale, l'insaponifiable est la fraction d'un corps gras qui, après action prolongée d'une base alcaline, reste insoluble dans l'eau et peut être extraite par un solvant organique. Cinq grands groupes de substances sont présents dans la plupart des insaponifiables d'huiles végétales : hydrocarbures saturés ou insaturés, alcools aliphatiques ou terpéniques, stérols (ou "phytostérols"), tocophérols et tocotriénols, les pigments caroténoïdes et xanthophiles.
- [0024] Par lipides furaniques d'avocat, on entend selon l'invention les furanes mono-substitués en position 2 par une chaîne linéaire hydrocarbonée en C₁₁-C₁₉, de préférence C₁₃-C₁₇ saturée ou comprenant une ou plusieurs insaturations éthyléniques ou acétyléniques.
- [0025] L'insaponifiable d'avocat selon l'invention comprend au moins une fraction enrichie en lipides furaniques (fraction H) et une fraction enrichie en alcools gras polyhydroxylés (fraction I). La fraction H apparaît en premier lieu sur un chromatographe en phase gazeuse de l'insaponifiable d'huile d'avocat.

[0026] La fraction H est celle qui :

- en chromatographie sur couche mince migre en tête avec un RF de 0,9,
- en chromatographie liquide haute pression sur silice est éluée en premier,
- apparaît majoritairement en chromatographie phase gazeuse.

[0027] Le terme "riche" fait référence à des teneurs en ces différents composants cités respectivement au-dessus des teneurs moyennes respectives obtenues en considérant l'ensemble des huiles végétales connues de l'homme du métier.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

[0028] Un premier objet de l'invention concerne de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0029] Un second objet de l'invention concerne une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0030] Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, les pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia* sont choisis parmi les dermatites séborrhéiques, en particulier des dermatites séborrhéiques infantiles telles que les croûtes de lait, du pityriasis capitis, du *Malassezia* folliculitis et du pityriasis versicolor. Préférentiellement, les pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia* sont choisis parmi les dermatites séborrhéiques, en particulier des dermatites séborrhéiques infantiles telles que les croûtes de lait.

[0031] Dans un autre mode de réalisation préféré, l'insaponifiable d'avocat contient au moins 5 % en masse d'alcools gras polyhydroxylés, de préférence au moins 7 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0032] De manière avantageuse, l'insaponifiable d'avocat selon l'invention contient au moins 0,8 % en masse de stérols, de préférence au moins 1 %, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0033] La voie d'administration préférée de l'insaponifiable d'avocat ou de la composition selon l'invention est la voie topique.

[0034] Avantageusement, la composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat contient au moins 0,25 %, de préférence 0,50 % en masse d'insaponifiable d'avocat, par rapport à la masse totale de la composition.

[0035] Selon un mode de réalisation préféré, l'insaponifiable d'avocat est susceptible d'être

obtenu par un procédé comprenant au moins les étapes suivantes :

- i. une étape de traitement thermique du concentrat d'huile d'avocat, avantageusement réalisée à une température de 60 °C à 90 °C, de préférence 80 °C,
- ii. une étape de saponification du concentrat d'huile d'avocat en présence d'un alcali éthanolique ou aqueux de type soude ou potasse, permettant d'obtenir l'insaponifiable d'avocat,
- iii. optionnellement une étape de précipitation des savons obtenus à l'étape ii.,
- iv. au moins une étape d'extraction du produit obtenu à l'étape ii. ou iii. dans laquelle l'insaponifiable d'avocat est purifié par une extraction liquide / liquide ou solide / liquide avec au moins 50 % en volume d'un solvant choisi parmi l'acétate d'éthyle, l'acétate de propyle et l'acétate de butyle, par rapport au volume total de solvants d'extraction, et
- v. optionnellement une étape de purification supplémentaire de distillation et/ou désodorisation.

[0036] Un troisième objet de l'invention concerne l'utilisation cosmétique de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention, la diminution et/ou le traitement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0037] Un quatrième objet de l'invention concerne l'utilisation cosmétique d'une composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour la prévention, la diminution et/ou le traitement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0038] Un mode de réalisation particulier de l'invention concerne l'insaponifiable d'avocat ou une composition comprenant l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention, la diminution et/ou le traitement des pellicules, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat. Les pellicules étant avantageusement traitées sur un corps sain et un cuir chevelu sain.

[0039] Dans un autre mode de réalisation préféré, l'insaponifiable d'avocat contient au moins 5 % en masse d'alcools gras polyhydroxylés, de préférence au moins 7 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0040] De manière avantageuse, l'insaponifiable d'avocat selon l'invention contient au moins 0,8 % en masse de stérols, de préférence au moins 1 %, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.

[0041] La voie d'administration préférée de l'insaponifiable d'avocat ou de la composition selon l'invention est la voie topique.

[0042] Avantageusement, la composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat contient au moins 0,25 %, de préférence 0,50 % en masse d'insaponifiable d'avocat par rapport à la masse totale de la composition.

[0043] Selon un mode de réalisation préféré, l'insaponifiable d'avocat est susceptible d'être obtenu par un procédé comprenant au moins les étapes suivantes :

- i. une étape de traitement thermique du concentrat d'huile d'avocat, typiquement réalisée à une température de 60 °C à 90 °C, de préférence 80 °C,
- ii. une étape de saponification du concentrat d'huile d'avocat en présence d'un alcali éthanolique ou aqueux de type soude ou potasse permettant d'obtenir l'insaponifiable d'avocat,
- iii. optionnellement une étape de précipitation des savons obtenus à l'étape ii.,
- iv. au moins une étape d'extraction du produit obtenu à l'étape ii. ou iii. dans laquelle l'insaponifiable d'avocat est purifié par une extraction liquide / liquide ou solide / liquide avec au moins 50 % en volume d'un solvant choisi parmi l'acétate d'éthyle, l'acétate de propyle et l'acétate de butyle, par rapport au volume total de solvants d'extraction, et
- v. optionnellement une étape de purification supplémentaire de distillation et/ou désodorisation.

[0044] La composition qui permet la mise en œuvre de l'invention comprend un support pharmaceutiquement ou dermatologiquement ou cosmétiquement acceptable, c'est à dire un support compatible avec la peau et peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées pour une application topique, notamment 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, d'une dispersion d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules, ces 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, d'un dispositif transdermique ou sous toute autre forme pour application topique.

[0045] Cette composition peut être plus ou moins fluide et avoir l'aspect d'une crème blanche ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion, d'un sérum, d'une pâte, d'une mousse, d'un gel, d'un shampoing, d'un après-shampoing.

[0046] Avantageusement, le milieu pharmaceutiquement ou dermatologiquement ou cosmétiquement acceptable est une crème.

[0047] La composition selon l'invention peut contenir également les adjuvants habituels dans les domaines pharmaceutique ou dermatologique ou cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les actifs hydrophiles ou lipophiles, les épaississants, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les agents chélateurs, les absorbeurs d'odeurs, les filtres chimiques ou minéraux, les pigments minéraux, les ten-

sioactifs, les polymères, les huiles de silicone et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés, par exemple de 0,01 % à 20 % du 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.

- [0048] Comme huiles utilisables dans les compositions permettant de mettre en œuvre l'invention, on peut citer les huiles minérales, les huiles d'origine végétale (huile d'abricot, huile de tournesol, huile de prune), les huiles d'origine animale, les huiles de synthèse, les huiles siliconées et les huiles fluorées (perfluoropolyéthers). On peut aussi utiliser comme matières grasses des alcools gras (alcool cétylique), des acides gras, des cires (cire d'abeilles).
- [0049] Comme émulsionnants et coémulsionnants utilisables dans l'invention, on peut citer par exemple les esters d'acide gras et de polyéthylène glycol tels que le stéarate de PEG-40, le stéarate de PEG-100, les esters d'acide gras et de polyol tels que le stéarate de glycéryle et le tristéarate de sorbitane.
- [0050] Comme gélifiants hydrophiles, on peut citer en particulier les polymères carboxyvinyliques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides, les gommes naturelles et les argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras, la silice hydrophobe et les polyéthylènes.
- [0051] Les modes d'administration, les posologies et les formes galéniques optimales des composés et compositions selon l'invention peuvent être déterminés selon les critères généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement pharmaceutique ou dermatologique ou cosmétique adapté à un patient comme par exemple l'étendue de la zone de peau à traiter, la tolérance au traitement, le type de peau.
- [0052] Avantageusement, l'insaponifiable d'avocat selon l'invention peut être obtenu selon les procédés décrits dans la demande de brevet internationale WO2004/012496, le brevet FR2678632 et dans la demande de brevet internationale WO2013/014344.
- [0053] L'insaponifiable d'avocat peut par exemple être obtenu depuis un concentrat d'avocat traité selon le procédé suivant :
- saponification du concentrat d'avocat en présence d'un alcali éthanolique de type soude ou potasse ;
 - lavage à l'eau ;
 - purification par extraction liquide/liquide en présence de solvant tel que le dichloroéthane (DCE) ou la méthylisobutylcétone (MIBK) (procédé décrit dans le brevet FR2678632 pour le DCE et dans la demande de brevet WO2013/014344 pour la MIBK) ;

- le solvant et les impuretés résiduelles peuvent être éliminés par distillation/désodorisation afin d'obtenir une fraction insaponifiable purifiée.
- [0054] Les avocats servant de base à la préparation de l'huile d'avocat peuvent subir préférentiellement une étape préalable de déshydratation ou séchage, avantageusement réalisée à une température comprise entre -50 °C et 75 °C. Les méthodes d'extraction de l'huile d'avocat sont connues de l'homme du métier. L'huile d'avocat peut notamment être extraite par pression à froid ou grâce à un solvant à basse température.
- [0055] Le concentrat d'huile d'avocat peut être lui-même obtenu grâce à la distillation moléculaire sous vide (typiquement entre 10^{-3} et 10^{-1} mbar) et à une température de distillation avantageusement comprise entre 150 °C et 350 °C, typiquement entre 180°C et 260°C, ou par cristallisation à froid. Le concentrat obtenu est ensuite avantageusement soumis à un traitement thermique à une température comprise entre 40 et 150 °C, par exemple entre 80 et 130°C.
- [0056] Un autre objet de l'invention concerne un procédé de préparation de l'insaponifiable d'avocat comprenant au moins les étapes suivantes :
- i. une étape de traitement thermique du concentrat d'huile d'avocat avantageusement réalisée à une température de 60 °C à 90 °C, de préférence 80 °C,
 - ii. une étape de saponification du concentrat d'huile d'avocat en présence d'un alcali éthanolique ou aqueux de type soude ou potasse permettant d'obtenir l'insaponifiable d'avocat,
 - iii. optionnellement une étape de précipitation des savons obtenus à l'étape ii.,
 - iv. au moins une étape d'extraction du produit obtenu à l'étape ii. ou iii. dans laquelle l'insaponifiable d'avocat est purifié par une extraction liquide / liquide ou solide / liquide avec au moins 50 % en volume d'un solvant choisi parmi l'acétate d'éthyle, l'acétate de propyle et l'acétate de butyle, par rapport au volume total de solvants d'extraction, et
 - v. optionnellement une étape de purification supplémentaire de distillation et/ou désodorisation.
- [0057] De manière préférée, le système de solvant de l'étape iv. est l'acétate d'éthyle.
- [0058] Alternativement, le traitement thermique de l'étape i. peut être réalisé sur l'huile d'avocat avant l'étape de concentration et/ou sur les avocats servant de base à la préparation de l'huile.
- [0059] Les exemples qui suivent visent à illustrer la présente invention de manière non limitative.

EXEMPLES

- [0060] **Exemple 1 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice de *Malassezia furfur* en milieu liquide d'insaponifiables d'avocat et d'autres produits**

[0061] Cet exemple vise à étudier l'effet d'un insaponifiable d'avocat selon l'invention sur *Malassezia furfur* comparativement à un autre produit de l'avocat, le concentrat d'huile d'avocat et deux autres produits de soja, le concentrat d'huile de soja et l'insaponifiable de soja.

[0062] Procédé de préparation du concentrat d'huile de soja

[0063] Une huile de soja brute ou raffinée est traitée par distillation moléculaire sous vide poussé (entre 10^{-3} et 10^{-2} mbar) et à une température de distillation comprise entre 200 °C et 300 °C.

[0064] On obtient un composé tel que décrit dans le tableau ci-dessous.

[Tableaux1]

Concentrat de soja	
Composition (% (m/m))	
Teneur en squalène	0,19
Teneurs en stérols totaux	2,49
<i>dont (teneurs relatives)</i>	23,1
<i>campesterol</i>	20,5
<i>stigmasterol</i>	41,6
<i>beta-sitosterol</i>	
Teneurs en tocophérols totaux	1,07
<i>dont (teneurs relatives)</i>	8,2
<i>alpha-tocophérol</i>	66,6
<i>gamma-tocophérol</i>	23,6
<i>delta-tocophérol</i>	
Teneur en insaponifiable total	4,39
Caractérisation	
Indice d'acide (mg KOH/g)	2,6

Procédé de préparation d'insaponifiable de soja

[0065] Un concentrat de soja tel qu'obtenu grâce au procédé décrit ci-dessus ou un co-produit issu du raffinage de l'huile de soja (voir la demande de brevet WO2012/104319) est traité selon le procédé suivant :

- saponification du concentrat de soja en présence d'un alcali éthanolique de type soude ou potasse afin d'éliminer les acides gras résiduels ;
- lavage à l'eau ;
- purification par extraction liquide/liquide en présence de solvant tel que le dichloroéthane (DCE) ou la méthylisobutylcétone (MIBK) (procédé décrit dans

- la demande de brevet WO2012/104319 pour la MIBK) ;
- le solvant et les impuretés résiduelles sont éliminés par distillation/désodorisation afin d'obtenir une fraction insaponifiable purifiée telle que décrite dans le tableau ci-dessous.

[Tableaux2]

% (m/m)	Insaponifiable de soja
Teneurs en stérols totaux	44,4
<i>dont (teneurs relatives)</i>	20,6
<i>campesterol</i>	22,5
<i>stigmasterol</i>	45,5
<i>beta-sitosterol</i>	
Teneurs en tocophérols totaux	31,0
<i>dont (teneurs relatives)</i>	19,1
<i>alpha-tocophérol</i>	61,4
<i>gamma-tocophérol</i>	19,6
<i>delta-tocophérol</i>	
Teneur en squalène	4,6

Procédé de préparation du concentrat d'avocat

- [0066] L'huile d'avocat brute obtenue selon le procédé décrit dans la demande WO2004/012496 est traitée par distillation moléculaire sous vide poussé (environ 5.10⁻³ mbar) et à une température de distillation d'environ 250 °C. Le concentrat obtenu est soumis à une température de 80°C.
- [0067] On obtient un composé tel que décrit dans le tableau ci-dessous.

[Tableaux3]

% (m/m)	Concentrat d'avocat
Teneur en stérols totaux	1,5
Teneur en fraction H	35,3
Teneur en fraction I	9,5
Teneur en insaponifiables	46,3
Acides gras	64
<i>dont (teneurs relatives)</i>	25,8
<i>C16:0 methyl palmitate</i>	14,3
<i>C16:1 methyl palmitoleate</i>	0,5
<i>C18:0 methyl stearate</i>	38,2
<i>C18:1 trans-methyl elaidate ou cis-methyl oleate</i>	15,9
<i>C18:2 methyl linoleate</i>	0,6
<i>C18:3 methyl linolenate</i>	3,1
<i>C20:1 methyl 11-eicosanoate = acide</i>	

Procédé de préparation d'insaponifiable d'avocat

[0068] La première étape consiste en la saponification d'un concentrat d'avocat obtenu grâce au procédé décrit ci-dessus. À cet effet, dans un réacteur, sont successivement introduits le concentrat d'huile d'avocat puis de l'eau et de la potasse à 50 %. Le système est ensuite porté à reflux sous agitation, puis, après refroidissement, on procède à l'addition de chlorure de sodium. Une étape de séparation par filtration ou décantation est ensuite réalisée afin de récupérer la fraction comprenant l'insaponifiable. Ce précipité est alors extrait avec de l'acétate d'éthyle. L'insaponifiable est ensuite récupéré par évaporation du solvant. Le produit est ensuite soumis à une étape de désodorisation par injection de vapeur à 100 °C sous un vide compris entre 30 et 50 mbar.

[Tableaux4]

Insaponifiable d'avocat	
Composition (% (m/m))	
Teneur en fraction H	60,8
Teneur en fraction I	7,6
Teneur en squalène	1,0
Teneurs en stérols totaux	1,3
dont (<i>teneurs relatives</i>)	5,1
<i>campesterol</i>	1,3
<i>stigmasterol</i>	76,1
<i>beta-sitosterol</i>	
Caractérisation	
Indice d'acide (mg KOH/g)	2,4

Protocole

- [0069] La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des différents produits testés est effectuée selon un procédé adapté aux milieux liquides dans des plaques 96 puits. L'étude de mesure des CMI est menée selon la technologie de GLYcoDiag, en utilisant comme organisme la souche microbienne *Malassezia furfur* (Référence *American Type Culture Collection* (ATCC) : 14521). Les cultures sont reconstituées conformément aux indications du centre de collection fournisseur de la souche de référence. Les produits suivants ont été testés : Concentrat de soja, Insaponifiables de soja, Insaponifiable d'avocat, Concentrat d'avocat.
- [0070] Préparation des échantillons et des micro-organismes tests
- [0071] Les différents produits listés ci-dessus sont préalablement dissous en huile d'olive aux concentrations suivantes : concentrations finales en milieu de culture (exprimées en pourcentages massiques) : 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,1 %, 0,05 % et 0,01 %.
- [0072] Des témoins d'analyse sont préparés puis utilisés de façon identique aux échantillons testés :
- un témoin correspondant au milieu microbiologique seul ;
 - un témoin constitué d'huile d'olive préparée à 5% (m/m) directement dans le milieu microbiologique associé à chaque souche microbienne ;
 - un témoin constitué de Phenoxyethanol® préparé à 5% (m/m) directement dans le milieu microbiologique associé à chaque souche microbienne. Le phénoxyéthanol est un composé connu pour inhiber la croissance de *M. furfur*.
- [0073] Afin de déterminer la CMI du produit testé, celui-ci est testé en dilutions sériées sur 6

dilutions directement dans le milieu de culture destiné à favoriser la croissance de la souche *M. furfur* (microplaques 96 puits). Puis, chaque point de dilution est contaminé par la souche testée à raison d'environ 1.10^5 ufc/mL par puits. Enfin, les essais sont incubés 48 heures à $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$, en prenant soin de respecter le type respiratoire de la souche qui est aéro-anaérobie facultatif.

[0074] Résultats

[0075] À l'issue du temps d'incubation, la présence ou l'absence d'un trouble révèle l'état de la croissance microbienne. La dernière dilution correspondant à l'absence de croissance de *M. furfur* est retenue comme concentration minimale inhibitrice (CMI).

[0076] L'étude a été réalisée en $n = 3$. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau suivant.

[Tableaux5]

Échantillon	Concentrations testées en % (m/m)	CMI
Insaponifiable de soja	1	X
	0,5	
	0,25	
	0,1	
	0,05	
	0,01	
Concentrat de soja	1	X
	0,5	
	0,25	
	0,1	
	0,05	
	0,01	
Insaponifiable d’avocat	1	0.25
	0,5	
	0,25	
	0,1	
	0,05	
	0,01	
Concentrat d’avocat étuvé	1	X
	0,5	
	0,25	
	0,1	
	0,05	
	0,01	
Témoins		
Huile d’olive	5	X
Milieu microbiologique	Pur	X

Phenoxyethanol® en milieu de culture	5	0,63
	2,5	
	1,25	
	0,625	
	0,3125	
	0,15625	

X : Pas d'inhibition détectée

[0077] Une CMI de 0,25 % a pu être mise en évidence avec l'insaponifiable d'avocat sur la souche *M. furfur* ; cette CMI est inférieure à celle obtenue avec le phenoxyethanol, antifongique connu. En revanche, aucun des deux échantillons de concentrat testés, soit le concentrat de soja et le concentrat d'avocat, n'ont montré une activité inhibitrice de la souche *M. furfur*. Il est intéressant de relever que l'insaponifiable de soja n'a également aucune activité inhibitrice de *M. furfur*, démontrant ainsi la spécificité de l'activité de l'insaponifiable d'avocat selon l'invention.

Revendications

- [Revendication 1] Insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [Revendication 2] Composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia*, ledit insaponifiable d'avocat contenant au moins 50 % en masse de lipides furaniques, de préférence au moins 60 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [Revendication 3] Composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que la composition contient au moins 0,25 %, de préférence 0,50 % en masse d'insaponifiable d'avocat, par rapport à la masse totale de la composition.
- [Revendication 4] Insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon la revendication 1 ou composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon la revendication 2 ou 3, caractérisé en ce que les pathologies et troubles induits par une levure du genre *Malassezia* sont choisis dans le groupe constitué des dermites séborrhéiques, en particulier des dermites séborrhéiques infantiles telles que les croûtes de lait, du pityriasis capitis, du *Malassezia* folliculitis, du pityriasis versicolor et des pellicules.
- [Revendication 5] Insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon la revendication 1 ou 4 ou composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce que l'insaponifiable d'avocat contient au moins 5 % en masse d'alcools gras polyhydroxylés, de préférence au moins 7 % en masse, par rapport à la masse totale de l'insaponifiable d'avocat.
- [Revendication 6] Insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 4 à 5 ou composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 à 5, caractérisé en ce que l'insaponifiable d'avocat ou la composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat est administré(e) par voie topique.

- [Revendication 7] Insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 4 à 6 ou composition comprenant de l'insaponifiable d'avocat pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que l'insaponifiable d'avocat est susceptible d'être obtenu par un procédé comprenant au moins les étapes suivantes :
- i. une étape de traitement thermique du concentrat d'huile d'avocat, avantageusement réalisée à une température de 60 °C à 90 °C, de préférence 80 °C,
 - ii. une étape de saponification du concentrat d'huile d'avocat en présence d'un alcali éthanolique ou aqueux de type soude ou potasse, permettant d'obtenir l'insaponifiable d'avocat,
 - iii. optionnellement une étape de précipitation des savons obtenus à l'étape ii.,
 - iv. au moins une étape d'extraction du produit obtenu à l'étape ii. ou iii. dans laquelle l'insaponifiable d'avocat est purifié par une extraction liquide / liquide ou solide / liquide avec au moins 50 % en volume d'un solvant choisi parmi l'acétate d'éthyle, l'acétate de propyle et l'acétate de butyle, par rapport au volume total de solvants d'extraction, et
 - v. optionnellement une étape de purification supplémentaire de distillation et/ou désodorisation.

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

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

N° d'enregistrement
national

FA 917345
FR 2214160

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	WO 01/52873 A1 (PHARMASCIENCE LAB [FR]; PICCIRILLI ANTOINE [FR] ET AL.) 26 juillet 2001 (2001-07-26) * page 6, ligne 18 – page 11, ligne 24 * * page 14, alinéa 1.4 – page 17, alinéa 13 * * * revendications * -----	1-7	A23L 33/115 A61K 36/54 A61K 8/92 A61P 17/08 A61Q 19/00 C11B 1/04 C11B 3/12
X	WO 2008/025847 A2 (EXPANSCIENCE LAB [FR]; MSIKA PHILIPPE [FR]) 6 mars 2008 (2008-03-06) * page 15, ligne 25 – page 17, ligne 10 * * revendications * -----	2-7	
X	WO 2005/115421 A1 (EXPANSCIENCE LAB [FR]; PICCIRILLI ANTOINE [FR] ET AL.) 8 décembre 2005 (2005-12-08) * page 15, ligne 22 – page 17, ligne 3 * * revendications * -----	2-7	
X	WO 2014/122326 A1 (EXPANSCIENCE LAB [FR]) 14 août 2014 (2014-08-14) * page 28, ligne 17 – page 31, ligne 11 * * page 33, ligne 18 – page 35, ligne 2 * * revendications * -----	2-7	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61P
X	WO 2012/085224 A1 (EXPANSCIENCE LAB [FR]; SAUNOIS ALEX [FR] ET AL.) 28 juin 2012 (2012-06-28) * page 12, ligne 16 – page 13, ligne 11 * * page 16, ligne 24 – page 17, ligne 18 * * revendications * ----- -/--	2-7	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
13 novembre 2023		Fey-Lamprecht, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS 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 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			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE **RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2214160 FA 917345**

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 **13-11-2023**
 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
WO 0152873	A1	26-07-2001	AR	029433 A1		25-06-2003
			AT	E284700 T1		15-01-2005
			AU	3555001 A		31-07-2001
			DE	60107809 T2		22-12-2005
			EP	1250144 A1		23-10-2002
			ES	2233605 T3		16-06-2005
			FR	2803752 A1		20-07-2001
			PE	20011052 A1		14-11-2001
			TN	SN01007 A1		03-04-2003
			WO	0152873 A1		26-07-2001

WO 2008025847	A2	06-03-2008	AU	2007291216 A1		06-03-2008
			BR	PI0716137 A2		08-10-2013
			CA	2661494 A1		06-03-2008
			CN	101534838 A		16-09-2009
			EP	2056843 A2		13-05-2009
			ES	2436619 T3		03-01-2014
			FR	2905270 A1		07-03-2008
			US	2009239812 A1		24-09-2009
			WO	2008025847 A2		06-03-2008

WO 2005115421	A1	08-12-2005	CN	1968707 A		23-05-2007
			EP	1763355 A1		21-03-2007
			ES	2769246 T3		25-06-2020
			FR	2869541 A1		04-11-2005
			JP	4903131 B2		28-03-2012
			JP	2007535523 A		06-12-2007
			US	2008113921 A1		15-05-2008
			US	2011274778 A1		10-11-2011
			WO	2005115421 A1		08-12-2005

WO 2014122326	A1	14-08-2014	CA	2899701 A1		14-08-2014
			EP	2953611 A1		16-12-2015
			FR	3001889 A1		15-08-2014
			US	2015374605 A1		31-12-2015
			WO	2014122326 A1		14-08-2014

WO 2012085224	A1	28-06-2012	BR	112013015593 A2		15-05-2018
			CA	2821876 A1		28-06-2012
			CN	103347528 A		09-10-2013
			EP	2654766 A1		30-10-2013
			ES	2704665 T3		19-03-2019
			FR	2969496 A1		29-06-2012
			KR	20130132548 A		04-12-2013
			KR	20180125612 A		23-11-2018
			KR	20190099356 A		26-08-2019

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE **RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2214160 FA 917345**

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 **13-11-2023**
 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
		KR 20210095741 A	02-08-2021
		KR 20230117253 A	07-08-2023
		US 2013183255 A1	18-07-2013
		US 2018369193 A1	27-12-2018
		WO 2012085224 A1	28-06-2012

WO 0121150	A1	29-03-2001	
		AT E334653 T1	15-08-2006
		DE 60029801 T2	18-10-2007
		EP 1214051 A1	19-06-2002
		EP 1707189 A2	04-10-2006
		ES 2269180 T3	01-04-2007
		ES 2460965 T3	16-05-2014
		FR 2798591 A1	23-03-2001
		HK 1095283 A1	04-05-2007
		KR 20020047180 A	21-06-2002
		TW I238724 B	01-09-2005
		US 8147883 B1	03-04-2012
		US 2009286871 A1	19-11-2009
		WO 0121150 A1	29-03-2001

WO 0121605	A2	29-03-2001	
		AT E415828 T1	15-12-2008
		AU 774361 B2	24-06-2004
		EP 1213975 A2	19-06-2002
		ES 2316384 T3	16-04-2009
		FR 2798667 A1	23-03-2001
		IL 148687 A	19-06-2005
		JP 5021879 B2	12-09-2012
		JP 2003509506 A	11-03-2003
		KR 20020039351 A	25-05-2002
		MX PA02003076 A	30-09-2002
		TW I242438 B	01-11-2005
		US 6582688 B1	24-06-2003
		WO 0121605 A2	29-03-2001
		ZA 200202200 B	27-11-2002
