

Utilisation d'un extrait de *Punica granatum* pour lutter contre la canitie

La présente invention concerne des procédés de traitement cosmétique pour prévenir ou diminuer le blanchissement des phanères, et l'utilisation d'extraits végétaux comme agent
5 pour favoriser la pigmentation des phanères et/ou pour limiter et/ou prévenir la dépigmentation. Elle concerne en particulier des extraits de grenade, ou des compositions les contenant, pour lutter contre la canitie.

La couleur des cheveux et de la peau humaine est fonction de différents facteurs et
10 notamment des saisons de l'année, de la race, du sexe et de l'âge. Elle est principalement déterminée par la concentration de mélanine produite par les mélanocytes. Les mélanocytes sont les cellules spécialisées qui par l'intermédiaire d'organelles particuliers, les mélanosomes, synthétisent la mélanine.

15 La synthèse de la mélanine ou mélanogénèse est complexe et fait intervenir schématiquement les principales étapes suivantes :

Tyrosine ---> Dopa ---> Dopaquinone ---> Dopachrome ---> Mélanine

20 La tyrosinase (monophénol dihydroxyl phénylalanine : oxygen oxydoreductase EC 1.14.18.1) intervient dans cette suite de réactions en catalysant notamment la réaction de transformation de la tyrosine en Dopa (dihydroxyphénylalanine) et la réaction de transformation de la Dopa en Dopaquinone.

25 La partie supérieure du follicule pileux se présente comme une invagination tubulaire de l'épiderme qui s'enfonce jusqu'aux couches profondes du derme. La partie inférieure, ou bulbe pileux, comporte elle-même une invagination dans laquelle se trouve la papille dermique. On trouve, autour de la papille dermique, dans la partie inférieure du bulbe une zone peuplée de cellules à haut taux de prolifération (cellules de la matrice). Ces
30 cellules sont les précurseurs des cellules kératinisées qui constitueront le cheveu. Les cellules qui résultent de la prolifération de ces précurseurs migrent verticalement dans le bulbe et se kératinisent progressivement dans la partie supérieure du bulbe, cet ensemble de cellules kératinisées formera la tige pileuse.

La couleur des cheveux et des poils repose en partie sur la présence en quantités et
35 ratios variables de deux groupes de mélanines : les eumélanines (pigments bruns et noirs) et les phéomélanines (pigments rouges et jaunes). La pigmentation du cheveu et

des poils requiert la présence de mélanocytes au niveau du bulbe du follicule pileux. Ces mélanocytes sont actifs, c'est à dire qu'ils synthétisent les mélanines. Cette mélanine est transmise aux kératinocytes destinés à former la tige pileuse ce qui aboutira à la pousse d'un cheveu, ou d'un poil, pigmenté. Cette structure est appelée « unité folliculaire de pigmentation ». Chez les mammifères la mélanogénèse implique, au moins, trois enzymes : la tyrosinase, la DOPACHROME tautomérase (TRP-2) et la DHICAoxydase (TRP-1). La tyrosinase est l'enzyme qui initie la biosynthèse des mélanines. Elle est également décrite comme étant l'enzyme limitant de la mélanogénèse. La tyrosinase catalyse l'oxydation de la tyrosine en Dopa puis en Dopaquinone. Le composé Dopaquinone se transforme spontanément en Dopachrome, ou en dérivés cystéinyldopa en présence de cystéine. La TRP-2 catalyse la tautomérisation du Dopachrome en acide 5,6-Dihydroxyindole-2carboxylique (DHICA). En absence de TRP-2 le Dopachrome subit une décarboxylation spontanée pour former le 5,6-Dihydroxyindole (DHI). Finalement la TRP-1 oxyde les composés de DHICA pour former des dérivés de quinones. Les trois enzymes tyrosinase, TRP-2 et TRP-1 apparaissent spécifiquement impliquées dans l'eumélanogénèse. De plus l'activité de ces trois enzymes a été décrite comme nécessaire à l'activité maximale de biosynthèse des eumélanines.

Le cheveu et le poil subissent un cycle. Ce cycle comprend une phase de croissance (phase anagène), une phase de dégénérescence (phase catagène) et une phase de repos (phase télogène) à la suite de laquelle une nouvelle phase anagène se développera. Du fait de ce cycle pileux, l'unité folliculaire de pigmentation doit également être cycliquement renouvelée. Chez l'homme, au cours de la transition télogène-anagène une partie des mélanocytes inactifs contenus dans la capsule télogène prolifère, se positionne autour de la papille dermique du bulbe naissant, et commence à exprimer les enzymes nécessaires à la synthèse de mélanines telles que tyrosinase et TRP-1, mais pas l'enzyme TRP-2 (*Pigment Cell Res* 2004 Oct;17:488-497). En parallèle l'autre partie de mélanocytes quiescents reste, inactive, dans la région supérieure du follicule pileux. Les enzymes tyrosinase et TRP-1 seront exprimées dans les mélanocytes du bulbe pileux pendant toute la durée de la phase anagène mais ne seront plus exprimées dans les mélanocytes pendant la phase catagène et la phase télogène. Ainsi le cycle normal des mélanocytes dans le follicule pileux humain requiert la présence de mélanocytes précurseurs dans la région supérieure du follicule pileux qui seront cycliquement activés pour régénérer l'unité folliculaire de pigmentation.

On sait que dans la plupart des populations la coloration brune de la peau et le maintien d'une coloration constante du cheveu sont des aspirations importantes.

Il est admis que l'apparition de poils et/ou de cheveux gris ou blancs, ou canitie, est associée à une diminution de mélanine dans la tige pileaire. Ce phénomène survient
5 naturellement au cours de la vie d'un individu. Toutefois, l'être humain cherche à avoir un aspect plus jeune et dans un but esthétique, il est souvent tenté de lutter contre ce phénomène, surtout lorsqu'il se produit à un âge relativement précoce.

On a ainsi proposé de nombreuses solutions dans le domaine de la coloration artificielle par apport de colorants exogènes visant à donner aux cheveux une coloration la plus
10 proche possible de ce qu'elle est naturellement. Une autre approche consiste à stimuler la voie naturelle de la pigmentation.

Parmi les solutions proposées, on peut citer des compositions contenant un inhibiteur de phosphodiesterases (WO9517161), des fragments d'ADN (WO9501773), du diacyl glycérol (WO9404122), des prostaglandines (WO9511003) ou des dérivés de pyrimidine
15 3-oxyde (EP829260). La demande WO 04/073594 propose l'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme 15-PGDH. EP1870081 décrit l'utilisation d'acide ellagique ou de ses dérivés pour le traitement de la canitie.

Cependant il existe toujours un besoin de nouvelles solutions efficaces pour favoriser la
20 pigmentation des cheveux et/ou des poils et donc prévenir ou diminuer la canitie.

De manière inattendue, il a maintenant été trouvé que ce but et d'autres pouvait être atteint par l'utilisation de la plante *Punica granatum*, de ses fractions ou de ses extraits.

25 C'est pourquoi la présente invention a pour objet l'utilisation d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* et/ou de l'un de ses extraits ou d'une composition contenant au moins un tel végétal ou l'un de ses extraits, comme agent pour diminuer ou prévenir le blanchissement des cheveux et/ou des poils, ledit extrait étant utilisé par voie orale.

30 Le grenadier (*Punica granatum*) est un petit arbre fruitier au feuillage caduc, originaire d'Asie, en particulier du Moyen Orient appartenant à la famille des Punicaceae. Il peut atteindre environ 5 m, mais souvent il n'atteint pas plus que 1,50 m. Les fleurs sont rouge orangées ou écarlates, simples ou doubles, selon les variétés. Les fruits sont comestibles et consommés depuis l'Antiquité. Des synonymes sont *Punica spinosa*, *Punica florida* ou
35 *Granatum puniceum*.

Son fruit est la grenade, de couleur rouge orangée, au péricarpe (ou écorce) dur et coriace contenant dans 6 à 12 loges membraneuses de nombreuses graines triangulaires à arille translucide et juteuse. La grenade est riche en vitamines (B, C et D) et en polyphénols sous forme de tannins. Les extraits d'écorce ont été proposés pour leurs propriétés astringentes, antibactériennes et anti-hémorragiques. Les extraits riches en tannins, sont utilisés de façon traditionnelle dans la pharmacopée marocaine pour noircir les cheveux, en application topique.

Le brevet EP138419 décrit l'application topique d'extrait de grenadier pour prolonger l'intensité de la couleur des cheveux colorés.

- 10 WO 2007/004229 décrit l'utilisation de fractions huileuse des graines de grenade pour favoriser la régénération de la peau.

FR 2730408 se rapporte à des compositions pour dépigmenter la peau par application topique, qui peuvent comprendre des extraits de différents fruits, dont celui de *Punica granatum*.

- 15 EP1523895 concerne des compositions pour la voie orale contenant une association d'un extrait de *Punica granatum*, d'un acide gras, en particulier l'acide linoléique conjugué (CLA) et d'OPC.

US6630163 décrit des compositions pour le traitement de désordres dermatologiques contenant des extraits de fruit, et notamment des extraits de grenade.

- 20 US 2006/0280819 décrit des compléments alimentaires préparés à partir de graines de grenade

Cependant, à la connaissance des demandeurs, il n'a jamais été proposé d'utiliser *Punica granatum* ou ses extraits, par voie orale, pour prévenir, limiter ou arrêter la progression de la canitie, et/ou favoriser la re-pigmentation naturelle des phanères, en particulier des cheveux et/ou des poils.

- 25 L'invention a donc notamment pour objet l'utilisation d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* ou de l'un de ses extraits ou d'une composition contenant au moins un tel végétal ou l'un de ses extraits dans un milieu physiologiquement acceptable, comme agent pour favoriser et/ou induire et/ou stimuler la pigmentation des phanères, et/ou comme agent pour prévenir et/ou limiter la dépigmentation et/ou le blanchissement des phanères, notamment comme agent pour prévenir et/ou limiter la canitie; cet agent est plus particulièrement mis en œuvre chez les mammifères, en particulier chez l'être humain.

- 30 Selon un autre de ses aspects, l'invention se rapporte à l'utilisation cosmétique d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* ou de l'un de ses extraits dans une

composition adaptée à la voie orale pour favoriser et/ou induire et/ou stimuler la pigmentation des phanères, et/ou pour prévenir et/ou limiter la dépigmentation et/ou le blanchissement des phanères et/ou pour prévenir et/ou limiter la canitie.

- 5 L'invention concerne également l'utilisation d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* ou d'au moins l'un de ses extraits pour la préparation d'une composition destinée à favoriser et/ou induire et/ou stimuler la pigmentation des phanères, et/ou destinée à prévenir et/ou limiter la dépigmentation et/ou le blanchissement des phanères et/ou destinée à prévenir et/ou limiter la canitie.
- 10 Les compositions utiles selon l'invention pourront contenir un milieu ou des excipients physiologiquement acceptables

Par peau on entend l'ensemble du revêtement cutané, et notamment le cuir chevelu et les muqueuses. Par phanères, on entend l'ensemble des annexes tégumentaires et
15 notamment les ongles, les poils et les cheveux. Par poils et cheveux on entend l'ensemble des annexes pileuses et notamment également les cils et les sourcils.

Par au moins un on entend un ou deux ou plusieurs, et notamment des mélanges en toutes proportions des différents éléments cités. A moins qu'il ne soit spécifié différemment, le terme "un" dans la présente demande doit s'entendre comme signifiant
20 au moins un.

L'extrait de *Punica granatum* utile selon l'invention peut être choisi parmi les extraits de fleurs, les extraits de fruit, les extraits de graine et les extraits d'écorce de *Punica granatum*, et leurs mélanges en toutes proportions. Avantageusement, on utilise un
25 extrait de fruit – ou extrait de grenade – cet extrait pouvant provenir de toutes les parties de la grenade ou plus spécifiquement de l'écorce et/ou des graines.

On peut utiliser un extrait total, c'est-à-dire un extrait comprenant l'ensemble des parties de la grenade, d'où ont été éliminées les parties ligneuses. Selon un autre mode de mise en œuvre de l'invention, on utilisera au moins un extrait enrichi en certaines fractions,
30 notamment un extrait titré en polyphénols.

L'extrait de grenadier peut-être obtenu à partir de toute partie du grenadier et en particulier à partir du fruit incluant ou non la graine, ou encore en particulier à partir de l'écorce du fruit.

35 Par extrait on entend aussi bien un mélange brut de parties du végétal grossièrement réduites en morceaux et du solvant d'extraction que des fractions ou préparations plus ou

moins élaborées des principes actifs solubilisés lors de l'extraction. On peut utiliser un extrait total, c'est-à-dire un extrait comprenant l'ensemble des fractions présentes dans les parties de *Punica granatum*, éventuellement dépourvue des parties cellulodiques. Selon un autre mode de mise en œuvre de l'invention, on utilisera au moins un extrait

5 enrichi en certaines fractions.

L'extrait peut être obtenu par toute méthode de préparation d'un extrait végétal connue de l'homme du métier.

En particulier, l'extrait peut être obtenu par la macération de la partie du végétal dans

10 l'eau, ou dans un solvant composé d'un mélange d'eau et d'un solvant organique par exemple eau-alcool, ou encore eau-acétone, ou encore eau-propylène glycol, ou encore eau-butylène glycol. Le rapport eau-solvant organique peut varier. L'extraction sera par exemple réalisée dans un mélange eau-éthanol 50%, ou encore une solution 20% eau-80% éthanol. Le rapport plante/solvant peut varier par exemple et sans limitation de 1/4 à

15 1/20. Avantageusement, la préparation de l'extrait débute par le broyage des parties du végétal suivi d'une macération dans le solvant d'extraction pendant plusieurs heures. L'extraction peut être réalisée sous agitation pour en améliorer la performance. L'extraction peut être réalisée à température ambiante ou en augmentant la température par exemple à 50°C ou encore à 60°C. Une fois l'extraction réalisée, la solution est filtrée.

20 La solution ainsi obtenue peut être concentrée par tout procédé connu de l'homme de l'art. De même la solution obtenue peut être lyophilisée par toute méthode classique de lyophilisation, on obtient ainsi une poudre.

L'extrait utile pour la mise en œuvre de l'invention peut également correspondre à du jus de grenade, obtenu par pression des parties charnues du fruit. Ce jus pourra subir des

25 étapes de fermentation, de concentration et/ou de lyophilisation et/ou toute opération permettant de faciliter sa conservation telles que des traitements de stérilisation, connues de l'homme du métier.

L'extraction à partir du fruit de grenadier incluant la graine peut aboutir, selon un procédé particulier de réalisation, à la préparation d'une huile essentielle. L'extrait sous forme de

30 solution concentrée, de même que l'extrait sous forme de poudre, de même que l'extrait sous forme d'huile essentielle peut être repris dans un milieu approprié pour la consommation par voie orale pour l'homme.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'extrait est choisi parmi les

35 extraits aqueux et les extraits alcooliques ou hydro-alcooliques de *Punica granatum*.

De tels extraits sont enregistrés par exemple avec le numéro CAS 84961-57-9 et par exemple commercialisés par la société *MMP Inc.* sous le nom commercial « Pomegrante Juice extract E40 » ; d'autres extraits sont par exemple commercialisés par la société *Blue California* sous le nom commercial « Pomegrante Extract 70% », ou par la société

5 *Naturex* sous le nom commercial « Pomegranate extract 40% », ou encore par la société *Guillin Layn Natural Ingredients* sous le nom commercial « Pomegranate Seed P.E » .

Avantageusement, l'extrait de *Punica granatum* est présent dans une composition

10 adaptée à la voie orale, contenant des excipients physiologiquement acceptables.

Les compositions selon l'invention sont destinées à être absorbées par toute voie permettant un passage systémique, en particulier par voie orale, en vue de protéger ou maintenir en bon état les parties superficielles du corps, ou d'améliorer l'apparence des individus, en particulier au niveau de la peau et ses annexes. Les compositions selon

15 l'invention sont en particulier des compléments alimentaires.

Par voie orale, la composition selon l'invention peut contenir le ou les extraits de *Punica granatum* en solution dans un liquide alimentaire tel qu'une solution aqueuse ou hydroalcoolique, éventuellement aromatisée. Ils peuvent également être incorporés dans

20 un excipient solide ingérable et se présenter par exemple sous forme de granulés, de pilules, de comprimés ou de dragées. Ils peuvent également être placés en solution dans un liquide alimentaire conditionné lui-même éventuellement dans des capsules ingérables. Pour l'ingestion, de nombreuses formes de réalisation de compositions orales et notamment de compléments alimentaires sont possibles. Leur formulation est réalisée

25 par les procédés usuels pour produire des dragées, gélules, gels, émulsions, comprimés, capsules ou solutions. En particulier, le(s) actif(s) selon l'invention peuvent être incorporés dans toutes autres formes de compléments alimentaires ou d'aliments enrichis, par exemple des barres alimentaires, ou des poudres compactées ou non. Les poudres peuvent être diluées à l'eau, dans du soda, des produits laitiers ou dérivés du

30 soja, ou être incorporées dans des barres alimentaires.

Les actifs selon l'invention peuvent être formulés avec les excipients et composants usuels pour de telles compositions orales ou compléments alimentaires, à savoir notamment composants gras et/ou aqueux, agents humectants, épaississants, conservateurs, agents de texture, de saveur et/ou d'enrobage, antioxydants,

35 conservateurs et colorants usuels dans le domaine de l'alimentaire.

La quantité de végétal ou d'extrait de *Punica granatum* sera adaptée par l'homme du métier selon la nature de l'actif et l'effet recherché. Dans certains modes de mise en œuvre de l'invention, l'extrait de *Punica granatum* pourra constituer jusqu'à 100% de la composition. A titre indicatif, l'extrait de *Punica granatum* sera présent dans une composition adaptée à la voie orale à une concentration comprise entre 0.01 et 99% en poids, par rapport au poids total de la composition, généralement inférieure ou égale à 90% et notamment de 0.1 à 50% en poids. Des concentrations de 5% à 50% par rapport au poids total de la composition, et notamment de 40 à 50% pourront ainsi être utilisées conformément à l'invention.

La teneur en *Punica granatum* ou en extrait de *Punica granatum* dans les compositions sera adaptée de façon à aboutir à une prise journalière comprise entre 10 mg et 1000mg d'extrait de *Punica granatum*, notamment comprise entre 200 mg et 500 mg.

Les compositions ou les extraits de végétal de l'espèce *Punica granatum* selon l'invention sont utiles pour diminuer et/ou prévenir et/ou retarder le blanchissement naturel des fibres kératiniques survenant de façon physiologique au cours du vieillissement, plus particulièrement chez l'être humain. Les fibres kératiniques humaines auxquelles s'applique l'invention sont notamment les cheveux, les sourcils, les cils, les poils de barbe, de moustache et les poils pubiens. Plus spécialement, l'invention s'applique aux cheveux et/ou aux cils humains.

L'invention a également pour objet un végétal de l'espèce *Punica granatum* ou l'un de ses extraits pour son utilisation pour prévenir et/ou traiter la canitie.

En particulier, l'invention vise à limiter, prévenir ou arrêter la disparition des précurseurs des mélanocytes des cheveux.

L'invention a également pour objet un procédé de traitement cosmétique pour diminuer et/ou retarder le blanchissement des fibres kératiniques, en particulier des cheveux et/ou des poils et/ou favoriser leur repigmentation naturelle, caractérisé en ce qu'on administre oralement à un sujet au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum*, ou un extrait de *Punica granatum* ou une composition le contenant.

Le procédé selon l'invention peut ainsi être destiné à diminuer et/ou retarder et/ou prévenir le blanchissement des cheveux et/ou des poils et/ou favoriser leur repigmentation naturelle. Le procédé permet ainsi le maintien d'une coloration et d'une

pigmentation naturelle de la chevelure humaine, notamment chez des sujets de plus de 35 ans, voire de plus de 45 ans.

La prise orale de l'extrait de *Punica granatum* peut être associée à une application topique sur la peau ou les phanères d'un extrait de *Punica granatum*, identique ou
5 différent de celui ingéré.

Selon une variante du procédé selon l'invention, on applique en outre au sujet au moins un agent additionnel bénéfique pour les cheveux et/ou des poils, en particulier un agent favorisant la pigmentation ou le re-pigmentation naturelle des cheveux et/ou des poils ou diminuant leur blanchissement, ou un agent favorisant la croissance des cheveux ou
10 diminuant leur chute, un agent améliorant la qualité de la fibre capillaire tel qu'un agent diminuant la casse des cheveux ou renforçant le diamètre capillaire, ou encore un agent anti-pelliculaire ou de lutte contre les états desquamatifs du cheveu. Cette application peut être réalisée par toute voie, et notamment topique ou orale.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, les compositions contenant l'extrait
15 de *Punica granatum* contiennent en outre au moins un autre agent favorisant la pigmentation des cheveux ou des poils, et/ou au moins un agent favorisant la repousse des cheveux ou diminuant leur chute.

Parmi les agents additionnels adaptés à la mise en œuvre de l'invention on peut citer à titre d'exemple

- 20 - les agents modulant la différenciation et/ou la prolifération et/ou la pigmentation des cellules de la peau tels que le rétinol et ses esters, la vitamine D et ses dérivés, les modulateurs de l'AMPc tels que les dérivés de POMC, l'adénosine, ou la forskoline et ses dérivés, les prostaglandines et leurs dérivés;
- des extraits de micro-organismes ;
- 25 - les agents anti-radicaux libres tels que l' α -tocophérol ou ses esters, les superoxyde dismutases ou ses mimétiques, certains chélatants de métaux ou l'acide ascorbique et ses esters ;
- les anti-séborrhéiques tels que certains acides aminés soufrés, l'acide 13-cis rétinolique, l'acétate de cyprotérone ;
- 30 - les autres agents de lutte contre les états desquamatifs du cuir chevelu comme le disulfure de sélénium, le climbazole, l'acide undécylénique, le Kétoconazole, la piroctone olamine (octopirox) ou la ciclopiroctone (ciclopirox)
- des extraits végétaux à activité pro-pigmentante comme les extraits de chrysanthème tels que décrits dans FR 2768343 et les extraits de Sanguisorba décrits dans
35 FR 2782920.

En particulier, il pourra s'agir d'actifs stimulant la repousse et/ou favorisant le

ralentissement de la chute des cheveux, on peut plus particulièrement citer à titre non limitatif :

- les esters d'acide nicotinique, dont notamment le nicotinate de tocophérol, le nicotinate de benzyle et les nicotinates d'alkyles en C₁-C₆ comme les nicotinates de méthyle ou d'hexyle ;
- les dérivés de pyrimidine, comme le 2,4-diamino 6-piperidinopyrimidine 3-oxyde ou "Minoxidil" décrit dans les brevets US 4,139,619 et US 4,596,812 ; l'Aminexil ou 2,4 diamino pyrimidine 3 oxyde décrit dans WO96/09048 ;
- les agents inhibiteur de la lipoxxygenase ou inducteur de la cyclooxydase favorisant la repousse des cheveux comme ceux décrits par la Demanderesse dans la demande de brevet européen EP 0 648 488 ;
- les agents antagonistes de calcium, comme la Cinnarizine, la Nimodipine et la Nifedipine ;
- des agonistes des canaux potassiques dépendant de l'ATP tels que la cromakalim et le nicorandil..

L'agent additionnel peut notamment être choisi dans le groupe comprenant au moins un extrait d'un végétal choisi parmi *Fragaria* (fraise), mûre, Framboise, Raisin, Noix, *Terminalia* (en particulier *Belericia*, *Chebula* et *Arjuna*), *Caesalpinia spinosa*, cyprès, Burnet, *Sanguisorba officinalis* ou de chrysanthème (*Chrysanthemum morifolium*) ou un agent choisi parmi la tyrosine, la L-DOPA, des dérivés de pro-opiomélanocortines, l'adénosine, ou la forskoline ou ses dérivés.

Selon un mode de réalisation du procédé selon l'invention, au moins un agent additionnel est appliqué par voie topique sur la peau et/ou ses annexes.

25

Selon un autre mode de réalisation du procédé selon l'invention, au moins un agent additionnel, en particulier au moins un agent additionnel bénéfique pour les cheveux tel que défini plus haut, notamment favorisant la repigmentation naturelle des cheveux ou diminuant leur blanchissement, est administré par voie orale.

30 De tels actifs additionnels peuvent notamment être choisis parmi la taurine ; des extraits de pépins de raisin ; des extraits de thé vert ; des oligo éléments tel que le Zinc et le sélénium ; des vitamines tel que la vitamine A, la vitamine E et la vitamine C ; .des cathéchines tel que l'épicatéchine, le gallocatechine, l'épigallocatechine ou encore l'épigallocatechine gallate ; des phytostérols de pin.

35

Avantageusement, la composition adaptée à la mise en œuvre de l'invention contient en outre au moins un extrait d'un végétal choisi parmi Framboise, mûre (raspberry, blackberry), Fraise, Raisin, Noix, Terminalia (en particulier Belerica, Chebula et Arjuna), Caesalpinia Spinosa.

5

Le végétal *Punica granatum*, ses extraits ou la composition les contenant seront ingérés de façon régulière, quotidienne notamment de 1 à 3 fois par jour. La prise de *Punica granatum* pourra être poursuivie dans le temps, par exemple pendant 2 à 4 semaines, mais pourra être poursuivie de 2 à 6 mois sans inconvénient.

10

Le procédé selon l'invention est un procédé cosmétique qui permet d'améliorer l'apparence de la chevelure, notamment en retardant ou diminuant le blanchissement physiologique.

L'utilisation d'extrait de grenade selon l'invention permet d'obtenir une bonne tolérance et une bonne efficacité du traitement cosmétique. On obtient en outre des formulations améliorées.

L'invention concerne également un extrait d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* pour son utilisation pour prévenir et/ou traiter la canitie.

20

L'invention concerne aussi un produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou séquencée dans le temps caractérisé en ce qu'il comprend au moins

- (i) un composant comprenant un végétal de l'espèce *Punica granatum* et/ou un extrait d'un végétal de l'espèce *Punica granatum*
- 25 (ii) un second composant comprenant un actif additionnel favorisant la pigmentation naturelle des cheveux ou diminuant leur blanchissement, choisi parmi les extraits d'un végétal choisi parmi *Fragaria* (fraise), mûre, Framboise, Raisin, Noix, Terminalia (en particulier Belerica, Chebula et Arjuna) et *Caesalpinia spinosa*.

30

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent

Exemple I : Mesure de l'activité des mélanocytes des follicules pileux humains:

35 L'activité des mélanocytes dans les follicules pileux humains est mesurée par le procédé décrit dans la publication de Michelet et al. (*Exp Dermatol* 2008 Oct 22).

Brièvement les étapes de de réalisation du test ont été les suivantes :

les follicules pileux humains sont micordisséqués et placés en culture in vitro dans le milieu de culture William's E (Gibco-BRL) supplémenté notamment en glutamine, insuline, hydrocortisone et antibiotiques.

- 5 Le milieu de culture contient la 2-Thiouracile [^{14}C] à une concentration de 3 $\mu\text{Ci/ml}$.

- 10 Pour le groupe de follicules pileux « essai » (25 follicules), le milieu de culture est complété avec l'extrait de grenadier. Pour le groupe « contrôle » (25 follicules), le milieu de culture est complété avec le véhicule (en même quantité que pour le groupe « essai »).

- 15 Après 5 jours, les follicules pileux sont lavés avec du milieu sans 2-Thiouracile [^{14}C] ; puis lysés par immersion dans une solution de Soluène 350 porté à 50°C. Un liquide scintillant est ensuite ajouté. La quantité de 2-Thiouracile [^{14}C] présente dans les lysats est mesurée à l'aide de l'appareil TRILUX 1450 Micro-Beta.

- L'extrait de grenadier augmente l'incorporation de 2-thiouracile [^{14}C] dans les follicules pileux.

20

Exemple II : Correction des bio marqueurs de canitie des follicules pileux humains:

- 25 Dans le follicule pileux de cheveu blanc, certains ARNm sont sur-représentés (gènes sur-exprimés) et d'autres sont sous-représentés (gènes sous-exprimés). Ces gènes sont des bio marqueurs de la canitie et leurs changements d'expression sont associés au développement de la canitie.

Le niveau d'expression de ces bio marqueurs de canitie est analysé par la technique classique de RT-PCR quantitative (Q-RT-PCR) dans des follicules pileux humains.

- 30 Pour la réalisation de l'essai, les follicules pileux humains de cheveux blancs sont microdisséqués et placés en culture in vitro dans le milieu de culture William's E (Gibco-BRL) supplémenté notamment en glutamine, insuline, hydrocortisone et antibiotiques. Pour le groupe de follicules pileux « essai » (30 follicules), le milieu de culture est complété avec l'extrait de *Punica granatum*. Pour le groupe « contrôle » (30 follicules), le milieu de culture est complété avec le véhicule (en même quantité que pour le groupe « essai »).
- 35

Après le temps nécessaire à la révélation de l'activité de l'extrait, en général de 24h à 5 jours, les ARNm des follicules pileux sont extraits. Les ARNm de la même condition expérimentale sont regroupés.

Le niveau d'expression des ARNm d'intérêts est déterminé par une méthode classique

- 5 de Q-RT-PCR, par exemple à l'aide du kit QuantiTect SYBR[®] Green RT-PCR référence 204243 de Qiagen, la mesure pouvant être réalisée sur l'appareil MyIQ de BIORAD.

L'extrait de *Punica granatum* corrige les changements d'expression de certains bio marqueurs de la canitie dans les follicules pileux des cheveux blancs.

10

Exemples III: compositions orales

Exemple 1 : Formule type dragée

15

actif	mg/dragée
Extrait de grenadier	300
Excipient	
Cellulose microcristaline	70
Encompress TM	60
stéarate de magnesium	3
Silice colloïdale anhydre	1
Agent d'enrobage	
Gomme laque	5
Talc	60
Saccharose	50
Polyvidone	6
Dioxyde de titane	0,3
Agent de coloration	5

Exemple 2 : Formule type Gellule Gelatine

actif	mg/dragée
Extrait de grenadier	300
Excipient	
Amidon	200
stéarate de magnesium	3

20

Exemple 3 : Formule type gel unidose

actif	%
Extrait de grenadier	8
Excipient	
Sirop de sucre	50
Maltodextrine	15
Gomme Xanthane	1
Benzoate de sodium	0,2
Eau	Qsp 100

5 Exemple 4 : Formule type capsule

actif	mg/capsule
Extrait de grenadier	300
Excipient	
Glycerine	150
Stéarate de magnésium	3
eau	Qsp 500

Revendications

- 1- Utilisation d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* ou de l'un de ses extraits comme agent pour diminuer ou prévenir le blanchissement des cheveux et/ou des poils, ledit extrait étant utilisé par voie orale.
- 2- Utilisation d'au moins un extrait selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit extrait de *Punica granatum* est choisi dans le groupe comprenant les extraits de fleurs, les extraits de fruit, les extraits de graine et les extraits d'écorce de *Punica granatum*.
- 3- Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que l'extrait est choisi parmi les extraits aqueux, les extraits alcooliques et les extraits hydro-alcooliques de *Punica granatum*.
- 4- Utilisation selon l'une au moins des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que l'extrait de *Punica granatum* est présent dans une composition adaptée à la voie orale à une concentration comprise entre 0.01 et 99% en poids, par rapport au poids total de la composition.
- 5- Extrait d'au moins un végétal de l'espèce *Punica granatum* pour son utilisation pour prévenir et/ou traiter la canitie.
- 6- Procédé de traitement cosmétique pour diminuer et/ou retarder le blanchissement des cheveux et/ou des poils et/ou favoriser leur repigmentation naturelle, caractérisé en ce qu'on administre oralement au moins un extrait de *Punica granatum* ou une composition le contenant.
- 7- Procédé de traitement cosmétique selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'on applique en outre au sujet au moins un agent additionnel bénéfique pour les cheveux choisi parmi les actifs favorisant la pigmentation des cheveux et/ou des poils, et les actifs diminuant la chute des cheveux ou stimulant leur croissance ou de lutte contre les états desquamatif, ou d'amélioration la qualité de la fibre capillaire, ou renforçant le diamètre des cheveux.
- 8- Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce que la composition contient en outre au moins un agent pour favoriser la pigmentation des cheveux ou pour favoriser la repousse des cheveux.
- 9- Procédé selon l'une au moins des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que la composition contient au moins un extrait d'un végétal choisi parmi Framboise, mûre, Fraise, Raisin, Noix, Terminalia (en particulier Belerica, Chebula et Arjuna), *Caesalpinia spinosa*.

- 10- Procédé de traitement cosmétique selon l'une au moins des revendications 6 à 9, caractérisé en ce qu'au moins un agent additionnel bénéfique pour les cheveux est appliqué par voie topique sur la peau ou ses annexes.