

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :

2 966 734

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

②1 N° d'enregistrement national :

10 58957

⑤1 Int Cl⁸ : **A 61 K 38/43** (2012.01), A 61 K 38/55, 8/66, A 23 L 1/
29, A 61 Q 19/06, A 61 P 3/04

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 29.10.10.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 04.05.12 Bulletin 12/18.

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

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : ROMBI MAX — IT.

⑦2 Inventeur(s) : ROMBI MAX.

⑦3 Titulaire(s) : ROMBI MAX.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET REGIMBEAU.

⑤4 COMPOSITION COMPRENANT AU MOINS UNE ENZYME PROTEOLYTIQUE POUR SON UTILISATION POUR
EMPECHER LA SYNTHÈSE DES TRIGLYCERIDES.

⑤7 La présente invention concerne une composition com-
prenant au moins une enzyme protéolytique, telle que la
subtilisine, pour son utilisation pour empêcher la synthèse
des triglycérides. L'invention a également pour objet une tel-
le composition pour son utilisation comme médicament,
comme agent cosmétique, comme composition alimentaire,
comme complément alimentaire ou encore comme nutra-
ceutique, notamment pour son utilisation dans la prévention
ou le traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des trou-
bles cardiovasculaires, des attaques cérébrales, ou du dia-
bète, en particulier le diabète de type II, ou encore pour son
utilisation dans la prévention ou la diminution des surchar-
ges pondérales.

FR 2 966 734 - A1



La présente invention concerne une composition comprenant au moins une
5 enzyme protéolytique, telle que la subtilisine, pour son utilisation pour empêcher la
synthèse des triglycérides. Avantagement, la composition selon la présente
invention comprend en outre au moins une lipase. L'invention a également pour objet
une telle composition pour son utilisation comme médicament, comme agent
cosmétique, comme composition alimentaire, comme complément alimentaire ou
10 encore comme nutraceutique, notamment pour son utilisation dans la prévention ou le
traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques
cérébrales, ou du diabète, en particulier le diabète de type II, ou encore pour son
utilisation dans la prévention ou la diminution des surcharges pondérales.

15 De manière générale, on admet aujourd'hui que l'augmentation de la fréquence
de surcharge pondérale et de l'obésité, du diabète de type II, des maladies
cardiovasculaires et le manque d'énergie chez de nombreuses personnes dans les pays
développés est due à une alimentation inadaptée conséquence d'une mauvaise
utilisation des calories contenues dans les produits que nous consommons qui sont la
20 plupart du temps très riches en corps gras. Cette déficience métabolique ou syndrome
métabolique affecte près de 50 millions d'américains (presque un américain adulte sur
4) et environ 30 millions d'européens. Environ 7% des adultes entre 20 et 30 ans et
40% des adultes de plus de 40 ans présentent les critères pour développer ce syndrome.

Le syndrome métabolique représente un ensemble de facteurs qui surviennent
25 en même temps et augmentent le risque de maladies cardio-vasculaires, d'attaques
cérébrales et de diabète de type II. Le fait de présenter uniquement un seul de ces
facteurs – augmentation de la tension artérielle, taux élevé d'insuline, excès de graisse
autour de la taille ou taux anormal de cholestérol – favorise le risque de contracter une
maladie grave et dans le cas de plusieurs facteurs réunis, le risque est encore plus
30 élevé.

Les corps gras, de par leurs propriétés physiques, chimiques et physiologiques, jouent un rôle important dans la nutrition de l'homme. En plus des matières grasses ingérées par l'homme sous forme d'aliment, l'organisme fabrique lui-même des lipides indispensables à la vie.

5 Les corps gras alimentaires, et ceux des tissus adipeux, sont constitués surtout de triglycérides. Un triglycéride est une molécule de glycérol comportant 3 acides gras fixés sur cette molécule. Les triglycérides sont classés dans les lipides (corps gras), mais seuls les 3 acides gras sont des corps gras, le glycérol étant un polyol qui appartient plutôt à la classe des glucides. Par exemple, le glycérol est soluble dans
10 l'eau et pas dans l'huile ; le glycérol n'est donc pas un corps gras.

C'est la différence de structure des acides gras qui sont fixés sur le glycérol qui fait que ces corps gras sont différents et qui influe sur l'état de viscosité de ces corps gras. Il existe ainsi une grande diversité de triglycérides dans les aliments tels que dans les huiles alimentaires d'olive, de tournesol, de soja, le beurre, le suif, le saindoux, les
15 margarines, etc.

Ces acides gras sont assimilés dans l'intestin selon un processus commun à tous les triglycérides qui ne sont pas eux-mêmes assimilables.

Ils doivent être décomposés en diglycérides, monoglycérides, et acides gras libres, grâce à l'action de lipases au niveau du tube digestif, et seuls ces différents
20 produits sont assimilables, les triglycérides ne l'étant pas.

Les lipases sont des enzymes que nous sécrétons au niveau de la bouche, de l'estomac et du pancréas qui découpent les triglycérides (TAG) en molécules plus petites pour être assimilables. L'attaque des triglycérides (TAG) par les lipases se fait seulement en positions 1 et 3 du glycérol, conduisant typiquement à la formation
25 d'acides gras libres et de 2-monoacylglycérol (molécule de glycérol comportant 1 acide gras fixé en position 2 sur cette molécule).

Si l'action des lipases est encore plus importante, on peut même aller jusqu'à obtenir des acides gras libres et du glycérol. Toutes ces molécules sont assimilables par l'organisme.

30 Dès que ces produits sont assimilés, l'organisme re-synthétise (reformule) dans les cellules épithéliales de l'intestin – les entérocytes – les triglycérides qui avaient été décomposés notamment en acides gras libres et en 2-monoacylglycérol par les lipases

telles que les lipases pancréatiques (Cf. Figure 1 qui représente la décomposition des triglycérides (triacylglycérol TAG) par les lipases, puis la reformation des triglycérides dans les cellules de l'intestin).

5 Cette re-formation des triglycérides (TAG) se fait en particulier grâce à l'activité de 4 enzymes (l'Acyl-coA synthétase, la Monoglycéride transacylase, la Diglycéride transacylase et la Diglycéride synthétase) qui vont agir à plusieurs étapes de la synthèse.

10 Les acides gras libres vont alors être recollés sur le 2-monoacylglycérol en positions 1 et 3 et reformer des triglycérides. Ces triglycérides vont créer ensuite les chylomicrons qui vont évoluer vers les VLDL, LDL et HDL et transporter dans tout l'organisme les triglycérides (TAG), le cholestérol et les phospholipides.

15 Ces nouveaux triglycérides vont ainsi se fixer dans les lipoprotéines et vont être stockés dans les adipocytes (cellules graisseuses). Si bien que les triglycérides qui ont été assimilés par l'organisme, après avoir été décomposés en corps gras plus petits, sont stockés de nouveau comme triglycérides. Ainsi, l'organisme n'utilise pas leur énergie immédiatement puisqu'ils sont stockés dans les adipocytes. L'organisme ne peut métaboliser les acides gras que lorsqu'ils ne sont pas fixés sur du glycérol, comme dans les triglycérides.

20 Cette déficience métabolique, que certains appellent le gène de l'obésité (James V. NEEL – *Diabetes Mellitus : a « Thrifty » genotype rendered detrimental by « progress »* - American Journal of Human Genetics – Vol. 14 – pages 353-362), que constituent la recomposition et le stockage des triglycérides, a été un avantage aux temps des premiers hommes, il y a des milliers d'années. En effet, cette faculté de stocker les corps gras était essentielle à la survie. Durant les périodes fastes, lorsque la
25 chasse permettait de tuer du gibier, les hommes mangeaient beaucoup et mettaient les graisses en réserve. Les hommes en stockant les graisses de la sorte pouvaient ensuite supporter de longues périodes de famine et consommaient leurs réserves de graisse pendant ces dures périodes.

30 Tout ceci a été bien expliqué par Stephen Cunnane dans son livre « The survival of the fattest », (*The Key to Human Brain Evolution*, World Scientific Publishing Co, New Jersey, États-Unis, 2005, www.worldscibooks.com) qui explique

que ce sont les personnes avec les réserves de graisses les plus importantes qui ont le mieux survécu aux grandes périodes de disettes.

Ce sont ces mêmes personnes qui ont enrichi leur cerveau en oméga-3 et qui sont devenues plus intelligentes et plus évoluées que leurs congénères. A cette époque, la déficience métabolique était donc un avantage évolutif, et était aussi un avantage face à la sélection naturelle. C'est en particulier comme cela qu'a été créé l'homo sapiens à partir d'homos primitifs.

L'exemple des Mélanésiens est flagrant. Ce peuple a quitté Taïwan sur des pirogues à balancier puis a colonisé toutes les îles du Pacifique. Ceux qui ont résisté au voyage sont ceux qui avaient la plus grande réserve de graisses.

Mais, de nos jours, dans les pays développés où l'on mange à notre faim voire même en excès, cette faculté de stockage devient une catastrophe. Les mélanésiens en sont l'exemple type puisque leur population est actuellement diabétique à plus de 60% à 70%.

En effet, la resynthèse des triglycérides dans les entérocytes ou cellules de l'intestin a des conséquences désastreuses pour la santé des êtres humains. En particulier, cette re-formation des triglycérides induit :

- une augmentation de la taille et du nombre de chylomicrons qui sont les transporteurs des triglycérides, du cholestérol et des phospholipides dans le sang,
- une augmentation des risques d'athérosclérose, facilitant la formation de plaques dans les artères et souvent la thrombose des artères, à cause de tous les acides gras piégés dans les triglycérides, non métabolisés par l'organisme,
- une élévation du taux de mauvais cholestérol en circulation, et
- une augmentation en nombre et en taille des cellules graisseuses et donc un développement de la prise de poids ou de l'obésité.

En outre, l'excès de triglycérides dans le sang réduit la quantité d'acides gras libres disponibles pour être métabolisés ; ainsi, nous manquons d'énergie.

Donc dans certains cas graves, où le gène de l'obésité est très marqué, même après un repas, nous avons le sentiment de ne pas avoir de nutriments disponibles dans notre sang. Ce sentiment désagréable fait que nous avons envie de grignoter, que nous avons toujours une sensation de faim qui nous invite à manger et boire pour nous porter mieux.

Cette déficience métabolique, le fait de ne pas pouvoir utiliser les calories contenues par les acides gras que nous assimilons, mais qui sous forme de triglycérides ne sont pas utilisables, car piégés dans les triglycérides, entraîne un ensemble de complications, appelées syndrome X par Reaven ou « deadly quartet » par Kaplan

- 5 (- G.M. Reaven – Stanford University School of Medicine – division of Endocrinology, Gerontology and Metabolism, Department of Veterans Affairs Medical Center. Palo Alto. CA. USA – *Syndrom X : 6 years later* – Journal of Internal Medicine 1994; 236 (Supplement 736): 13-22;
- G.M. Reaven – Simon & Schuster – Rockefeller Center, 1230 Avenue of the
10 Americas – New York , NY 10020 – *Syndrome X – Overcoming the silent killer that can give you a heart attack* – Copyright 2000 G.M. Raven, T. Strom et B. Fox;
- Norman M. Kaplan MD – *The Deadly Quartet* – Arch Inter. Med – vol 149, July 1989: 1514-1520).

Pour retrouver l'énergie dont il a besoin, notre organisme, privé d'acides gras,
15 va utiliser le glucose, omniprésent dans l'organisme. C'est ce qui nous fait dire que nous sommes un véhicule hybride. Mais le glucose, à l'opposé des acides gras, a de nombreux inconvénients :

- En brûlant, il ne dégage que 4 calories au gramme, alors que les acides gras dégagent 9 calories au gramme,
- 20 - Mais surtout, le glucose, pour être utilisé, a besoin de l'hormone insuline. Aussi, pour que le glucose pénètre dans toutes nos cellules, l'organisme doit sécréter encore plus d'insuline, au delà de ses capacités, et dans des conditions extrêmes. Si bien qu'à un moment, notre organisme et en particulier le pancréas ne peut plus sécréter tant d'insuline et nous avons le phénomène de la résistance à l'insuline ; le glucose
25 s'accumule dans le sang et ne peut plus pénétrer dans les cellules. On appelle cela l'intolérance au glucose ; l'organisme devient insulino-résistant.

Cette hyper insulinémie a des effets pervers ; trop d'insuline arrête la sortie des acides gras des cellules graisseuses, ce que l'on appelle la lipolyse. Il y a donc encore davantage de carence en acides gras disponibles pour être utilisés, il n'y a plus de
30 sorties des acides gras des cellules graisseuses, donc pas de possibilité de perdre du poids notamment pour ceux qui sont atteints d'obésité. Ainsi, la carence en acides gras disponibles est encore aggravée, et on constate une utilisation encore plus forte du

glucose dans le métabolisme. D'où, se produisent encore d'autres complications, comme une augmentation de la triglycéridémie et de la cholestérolémie.

Tous ces troubles d'équilibre sanguin entraînent une dyslipidémie, de l'hypertension, de l'hyper uricémie et un taux de glucose au dessus de la normale, car
5 le glucose pénètre mal dans les cellules et s'accumule dans le sang (hyper glycémie).

Toutes ces complications métaboliques peuvent ensuite entraîner le diabète de type 2, qui va s'installer durablement. Une accumulation de corps gras dans les cellules graisseuses, en particulier dans le ventre et autour de la ceinture pour les hommes et dans les fesses pour les femmes, va s'installer également durablement.

10 Tous ces troubles métaboliques vont avoir des retentissements sur le moral de l'individu qui est alors souvent au plus bas pouvant jusqu'à entraîner un déséquilibre moral ou une dépression nerveuse chez ledit individu souffrant de ces troubles métaboliques, avec notamment un grand sentiment d'insatisfaction et une faim constante.

15 En outre, le cerveau est alors mal irrigué. L'excès d'insuline déséquilibre tous les paramètres sanguins qui sont perturbés : les adipocytokines, TNP β , IL-6, PAI 1, adiposine, angiotensinogène, leptine, adiponectine, résistine, MCSF, TGFL, etc... sont en augmentation dans le sang. Tous ces produits inflammatoires accentuent les déséquilibres biologiques et déstabilisent le métabolisme lipidique et glucidique de
20 l'individu.

Des travaux antérieurs ont cherché de nouvelles manières de court-circuiter la synthèse de triglycérides et de pallier cette déficience métabolique.

Ainsi, différentes méthodes ont été trouvées pour déstocker les cellules
25 graisseuses et avoir la biodisponibilité des acides gras stockés dans ces cellules graisseuses.

On a pour cela notamment utilisé des substances lipolytiques, telles que l'extrait de thé riche en flavonoïdes pour bloquer l'enzyme O'-methyl transférase qui détruit l'adrénaline, ou encore l'extrait de pépins de raisin riche en flavanes 3-ol et
30 l'écorce de pin riche en pycnogénol, ces derniers augmentant tous deux la thermogénèse, c'est-à-dire qu'ils libèrent les acides gras des cellules graisseuses ; de même, les polyphénols extraits du cacao qui ont le même effet.

C'est pour faire sortir les corps gras prisonniers des cellules graisseuses que l'on a fait un usage très important des amphétamines et autres isomérides. Mais ces produits étaient très dangereux et sont maintenant tous interdits.

On a encore essayé de court-circuiter les cellules graisseuses avec le CLA, acide linoléique conjugué, qui ne rentre pas dans le cycle de la synthèse des TAG (Triacylglycérol), ainsi qu'avec les huiles à chaînes moyennes qui brûlent sans passer par les cellules graisseuses.

La Demanderesse a cherché à trouver un meilleur moyen de s'opposer au syndrome métabolique, combattre le gène de l'obésité et d'utiliser l'énergie des corps gras tout en ne favorisant pas la formation de dépôts graisseux.

La solution proposée par la présente invention est d'inhiber, réduire et/ou d'empêcher la reformation des triglycérides dans les entérocytes ou cellules de l'intestin de l'organisme par l'utilisation d'enzyme protéolytique ou protéase.

En administrant de telles enzymes protéolytiques, on évite de manière élégante la re-synthèse dans l'organisme des triglycérides qui sont responsables notamment de la formation des dépôts graisseux. Ainsi, la Demanderesse a découvert que l'utilisation d'au moins une enzyme protéolytique telle que la subtilisine permettait de réduire, prévenir et/ou traiter des pathologies ou troubles divers, tels que l'excès de TAG dans le sang. Ainsi, l'utilisation de ces enzymes, telles que la subtilisine, permet d'induire notamment un meilleur métabolisme lipidique, avec plus d'énergie disponible pour les individus, du fait des acides gras libres qui vont circuler dans le sang ; une diminution de la taille des adipocytes et une perte de poids progressive et durable puisque l'organisme ne sait stocker dans les cellules graisseuses que des corps gras sous forme de triglycérides ; ou encore une amélioration du diabète de type 2, avec suppression de la résistance à l'insuline.

La présente invention a ainsi pour objet une composition comprenant au moins une enzyme protéolytique ou protéase pour son utilisation pour empêcher la synthèse ou la reformation des triglycérides, notamment dans les entérocytes ou cellules de l'intestin.

Avantageusement selon la présente invention, l'enzyme protéolytique est choisie dans le groupe constitué par la subtilisine, la nagarse, la nattokinase, la chymotrypsine, la trypsine, l'élastase, la thermolysine, la serrapeptase, et leurs mélanges.

5 Dans un mode de réalisation particulier selon la présente invention, la composition comprend plusieurs enzymes protéolytiques ou protéases.

De manière particulièrement avantageuse selon la présente invention, l'enzyme protéolytique est la subtilisine ou un mélange de subtilisine avec une ou plusieurs autre(s) enzyme(s) protéolytique(s).

10 Il a été découvert que l'utilisation de ces enzymes protéolytiques permettait notamment d'inhiber, réduire ou neutraliser l'activité d'enzymes qui assurent notamment la resynthèse ou reformation des TAG, telles que l'acyl-coA synthétase, la monoglycérade transacylase, la diglycérade transacylase et la diglycérade synthétase, qui sont présentes dans les entérocytes, et permettait ainsi de stopper ou de diminuer la
15 synthèse des triglycérides dans les entérocytes.

Selon une caractéristique particulière de la présente invention, l'enzyme protéolytique est présente à une teneur d'au moins 70%, avantageusement d'au moins 75% ou d'au moins 80%, typiquement d'au moins 90%, par rapport au poids total de la composition.

20 Avantageusement selon la présente invention, la composition permet l'administration d'une dose journalière d'enzyme protéolytique comprise entre 100 mg et 1 g, encore plus avantageusement entre 200 mg et 1 g, encore plus avantageusement entre 300 mg et 1 g, encore plus avantageusement entre 400 mg et 1 g.

25 Typiquement, l'enzyme protéolytique est administrée à une dose comprise entre 50 mg et 500 mg par repas, avantageusement au cours des deux principaux repas le midi et le soir (déjeuner et dîner).

Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, la composition est formulée pour être administrée par voie orale.

30 De manière avantageuse selon la présente invention, la composition se présente sous forme de gélule, capsule, comprimé, granule, poudre ou solution buvable.

Selon une caractéristique particulière de la présente invention, la composition se présente sous forme de gélule ou de comprimé gastro-résistant.

Avantageusement, la composition est gastro-résistante afin que la composition libère l'enzyme protéolytique au niveau de l'intestin.

De manière avantageuse selon la présente invention, la composition est une composition pharmaceutique, cosmétique, nutraceutique ou alimentaire, ou encore un
5 complément alimentaire, et peut comprendre tout véhicule ou excipient approprié, acceptable du point de vue pharmaceutique, cosmétique, alimentaire ou nutraceutique, ainsi que des additifs conventionnels, connus de l'homme du métier.

Afin d'améliorer encore l'action de l'enzyme protéolytique sur la prévention de
10 la reformation des triglycérides, d'activer l'activité des PPARs – ces organites présents dans nos cellules qui brûlent les corps gras – et de pouvoir notamment améliorer la perte de poids, ou prévenir ou traiter certains troubles ou pathologies tels que le diabète de type 2, la composition selon la présente invention comprend en outre au moins une huile riche en acides gras oméga-3, au moins une lipase, ou leurs mélanges.

De manière avantageuse selon la présente invention, la composition comprend
15 au moins une lipase telle qu'une lipase extraite de thermomyces lanuginosus, rhizopus niveus, penicillium roqueforti, penicillium camemberti, geotrichum candidum, candida rugosa, candida lipolytica, candida parapsilosis, aspergillus niger, rhizopus oryzae, mucor javanicus, ou encore une lipase de candida anthartica, de geotrichum candidum
20 ou une lipase extraite de l'avoine.

La présente invention a également pour objet une composition ou un produit contenant:

- au moins une enzyme protéolytique, telle que la subtilisine, et
- 25 - au moins une huile riche en acides gras oméga-3, au moins une lipase, ou leurs mélanges,

comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour empêcher la synthèse des triglycérides.

Avantageusement selon la présente invention, l'enzyme protéolytique est
30 choisie dans le groupe constitué par la subtilisine, la nagarse, la nattokinase, la chymotrypsine, la trypsine, l'élastase, la thermolysine, la serrapeptase, et leurs mélanges.

Le produit ou composition selon la présente invention peut ainsi comprendre au moins une huile, telle qu'une huile de poisson et/ou une huile de krill, afin de faciliter l'absorption des acides gras oméga-3. Avantageusement, le produit comprend une huile sous forme d'ester d'acide gras libre insaturé.

5 L'huile est typiquement administrée sous forme de gélule. Avantageusement, on administre des gélules d'huile sous forme d'ester éthylique, par exemple des gélules Arkoléol d'huile de poisson sous forme d'ester éthylique.

L'huile est avantageusement administrée en première partie de journée (le matin).

10 Dans un autre mode de réalisation particulier selon la présente invention, le produit ou composition selon la présente invention peut comprendre une lipase ou un mélange de lipases.

De manière avantageuse selon la présente invention, la lipase est extraite de thermomyces lanuginosus, rhizopus niveus, penicillium roqueforti, penicillium
15 camemberti, geotrichum candidum, candida rugosa, candida lipolytica, candida parapsilosis, aspergillus niger, rhizopus oryzae, mucor javanicus, ou est extraite de candida anthartica, de geotrichum candidum ou de l'avoine.

Typiquement, le produit comprend au moins une lipase de candida anthartica, de geotrichum candidum et/ou une lipase extraite de l'avoine. Ceci est particulièrement
20 avantageux car ces trois lipases agissent en position 2 sur les triglycérides et viennent ainsi dégrader le 2-monoacylglycérol et aider les protéases à empêcher la reformation des triglycérides dans l'organisme. Sans 2-monoacylglycérol, la resynthèse des TAG est bien plus difficile.

Les lipases sont typiquement administrées sous forme de gélule. Les lipases
25 sont avantageusement administrées en première partie de journée (le matin).

Selon une caractéristique particulière de la présente invention, le produit selon la présente invention comprend :

- au moins une enzyme protéolytique, telle que la subtilisine, et
- 30 - au moins une lipase, avantageusement une lipase de candida anthartica, de geotrichum candidum ou une lipase extraite de l'avoine,

comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour empêcher la synthèse des triglycérides.

De manière avantageuse selon la présente invention, la lipase est administrée en première partie de journée, de préférence le matin, et l'enzyme protéolytique est
5 administrée en seconde partie de journée, de préférence le midi et/ou le soir, en général le midi et le soir.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition ou le produit selon la présente invention est destinée à être utilisée comme médicament, comme agent
10 cosmétique, comme composition alimentaire, comme nutraceutique ou complément alimentaire.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition ou le produit selon la présente invention est destinée à être utilisée dans la prévention ou la diminution des surcharges pondérales, de l'adipogénèse ou de l'excès de cholestérol, ou encore
15 comme agent anticellulite.

Dans un autre mode de réalisation particulier, la composition ou le produit selon la présente invention est destinée à être utilisée dans la prévention ou le traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques
20 cérébrales, ou du diabète, en particulier le diabète de type II, et en général de ce que l'on appelle le syndrome métabolique ou le gène de l'obésité.

L'exemple suivant est destiné à illustrer l'invention sans aucunement en limiter la portée.

25 Etude de l'activité induite par l'administration des enzymes protéolytiques, telles que la subtilisine, pour empêcher la synthèse des triglycérides :

Une étude d'activité et de dose test a été réalisée sur des rats. Ces rats étaient répartis par 10, en 4 groupes (bras).

Le premier bras, groupe témoin, n'a reçu aucun produit actif.

30 Les 3 autres bras, groupes de 10 rats chacun, ont reçu pendant 8 jours une dose de subtilisine, deux fois par jour, équivalant chez l'homme à 50 mg pour le groupe 1, 200 mg pour le groupe 2, et 500 mg pour le groupe 3.

Au bout de 8 jours, tous les rats, y compris le groupe témoin, ont reçu une dose d'huile d'olive, équivalant chez l'homme à une cuillère à soupe (15 ml).

Après cette administration d'huile d'olive à tous les rats, des prises de sang ont été pratiquées sur tous les rats, 1 h après l'administration de l'huile d'olive, 2 h et demi
5 après et 5 h après. La dose de triglycérides a alors été calculée dans le sang prélevé.

On a trouvé chez les rats témoins une dose élevée de TAG dans le sang, pour les 3 prélèvements (1h, 2h et demi et 5h).

Le groupe 1 avait une dose faible de TAG.

10 Les groupes 2 et 3 n'avaient pas de TAG dans le sang.

L'huile d'olive a ensuite été administrée à nouveau deux fois de plus à une semaine d'intervalle – les bras 1, 2 et 3 continuant tout le temps à recevoir de la subtilisine.

15 Les résultats ont été les mêmes ces deux autres fois. Le groupe 1 a reformé une dose faible de TAG et les groupes 2 et 3 n'ont pas reformé de TAG, tandis que le groupe témoin avait une dose élevée de TAG dans le sang, pour les 3 prélèvements.

20 On peut donc en conclure que la subtilisine a empêché la formation des triglycérides (TAG), avec une action plus faible à une dose de 100 mg de protéase par jour, et avec une forte action à 400 mg et 1 g par jour.

REVENDICATIONS

- 5 1. Composition comprenant au moins une enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse des triglycérides.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'enzyme protéolytique est choisie dans le groupe constitué par la subtilisine, la nagarse, la nattokinase, la chymotrypsine, la trypsine, l'élastase, la thermolysine, la serrapeptase, et leurs mélanges.
- 10 3. Composition selon la revendication 1 ou 2, pour son utilisation comme médicament, comme agent cosmétique, comme composition alimentaire, comme nutraceutique ou complément alimentaire.
4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans la prévention ou la diminution des surcharges pondérales, de l'adipogénèse ou de l'excès de cholestérol, ou encore comme agent anticellulite.
- 15 5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans la prévention ou le traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques cérébrales, ou du diabète, en particulier le diabète de type II.
- 20 6. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est formulée pour être administrée par voie orale.
7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de gélule, capsule, comprimé, granule, poudre ou solution buvable.
- 25 8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de gélule ou de comprimé gastro-résistant.
9. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 100 mg et 1 g d'enzyme protéolytique.
- 30 10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre au moins une lipase telle qu'une lipase extraite de thermomyces lanuginosus, rhizopus niveus, penicillium roqueforti,

penicillium camemberti, geotrichum candidum, candida rugosa, candida lipolytica, candida parapsilosis, aspergillus niger, rhizopus oryzae, mucor javanicus, ou encore une lipase de candida anthartica, de geotrichum candidum ou une lipase extraite de l'avoine.

5 11. Produit contenant:

- au moins une enzyme protéolytique, telle que la subtilisine, et
- au moins une lipase, telle qu'une lipase de candida anthartica, de geotrichum candidum ou une lipase extraite de l'avoine

10 comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour empêcher la synthèse des triglycérides.

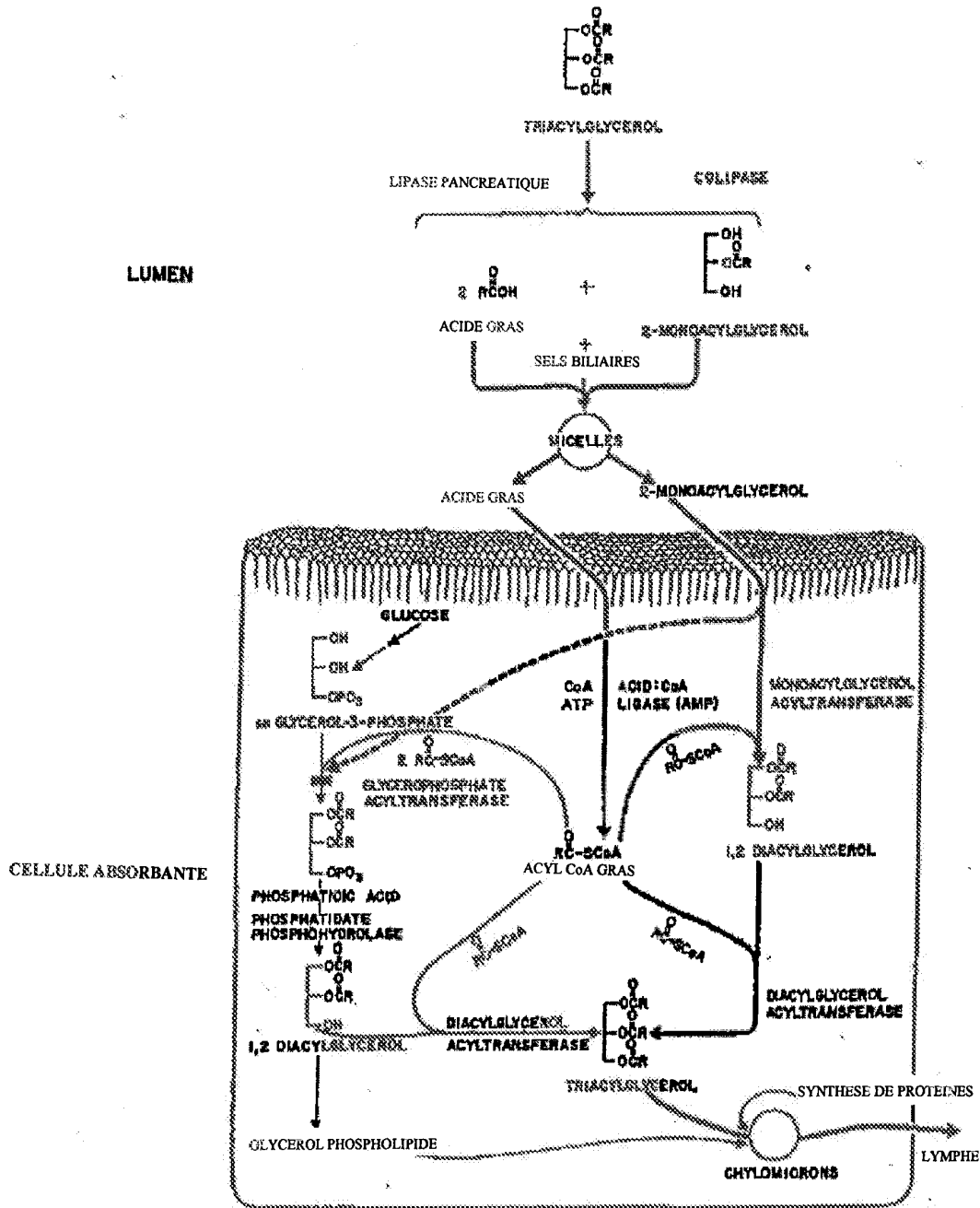


Figure 1



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE PARTIEL**

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

N° d'enregistrement
national

FA 745366

FR 1058957

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 2006/136160 A2 (NOVOZYMES AS [DK]; SOLVAY PHARM GMBH [DE]; SVENDSEN ALLAN [DK]; FUGLSA) 28 décembre 2006 (2006-12-28) * le document en entier * * page 2, ligne 25-31 * * page 3, ligne 11-13 * * page 4, ligne 15-27 * * page 9, ligne 3-4 * * page 30, ligne 30-34 * * page 18, ligne 36 - page 26, ligne 17 * -----	1-11	A61K38/43 A61K38/55 A61K8/66 A23L1/29 A61Q19/06 A61P3/04
X	WO 2008/019417 A2 (MARLYN NUTRACEUTICALS INC [US]; AFTAB AHMED [US]; DESSER LUCIA [AT]; L) 21 février 2008 (2008-02-21) * le document en entier * * page 7, dernier alinéa - page 16, alinéa 1; revendication 3 * -----	1-11	
X	EP 1 459 738 A1 (ZAKRYTOE AKTSIONERNOE OBSHEST [RU] SCIENT FUTURE MAN SFM [RU]) 22 septembre 2004 (2004-09-22) * le document en entier * * page 2, alinéa [1]-[2] * * exemples 1-9 * * revendications 1-23 * * page 4, alinéa [20]-[21] * -----	1-11	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61P
X	WO 03/066088 A2 (TROMMSDORFF ARZNEIMITTEL [DE]; SUSILO RUDY [DE]; KORTING HANS CHRISTIA) 14 août 2003 (2003-08-14) * le document en entier * * page 3, alinéa 3 * * page 5, alinéa 2 * * revendications 1-32 * -----	1-11	
		-/--	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 avril 2011		Fayos, Cécile	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		D : cité dans la demande	
A : arrière-plan technologique		L : cité pour d'autres raisons	
O : divulgation non-écrite		
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE PARTIEL**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 745366
FR 1058957

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	WO 2007/047205 A2 (AMANO ENZYME USA CO LTD [US]; AMANO ENZYME INC [JP]; JOLLY JAEMS F [US]) 26 avril 2007 (2007-04-26) * le document en entier * * revendications 1-20 * * page 4, alinéa [28] - page 5 *	1-11	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	US 2005/059567 A1 (SHOWELL MICHAEL STANFORD [US] ET AL) 17 mars 2005 (2005-03-17) * le document en entier * * revendications 2, 10, 11 * * page 8, alinéa [55]-[56] * * page 9, alinéas [59], [60] *	1-11	
Y	WO 2008/045148 A2 (CATALYST BIOSCIENCES INC [US]; TORREY PINES INST [US]; MADISON EDWIN L) 17 avril 2008 (2008-04-17) * le document en entier * * pages 159-184, alinéa J. *	1-11	
Y	WO 2009/120760 A1 (CLEVELAND CLINIC FOUNDATION [US]; WU QINGYU [US]; JIANG JINGJING [US];) 1 octobre 2009 (2009-10-01) * le document en entier * * page 5, ligne 25 - page 6, ligne 12 * * page 14, ligne 18-24 * * page 15, ligne 16-24 * * page 16, ligne 3-7 * * revendications 1, 3, 31, 34 *	1-11	
Y	US 2003/095961 A1 (HOUSTON DEVIN [US] ET AL) 22 mai 2003 (2003-05-22) * le document en entier * * revendications 1-7 * * page 3, colonne de gauche, alinéa [15] * * page 4, colonne de gauche, alinéa [31] *	1-11	
----- -/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 avril 2011		Fayos, Cécile	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		D : cité dans la demande	
A : arrière-plan technologique		L : cité pour d'autres raisons	
O : divulgation non-écrite		
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35) 1



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE PARTIEL**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 745366
FR 1058957

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	US 5 223 425 A (FLIER JEFFREY S [US] ET AL) 29 juin 1993 (1993-06-29) * le document en entier * * colonne 1, ligne 18-44 * * colonne 7, ligne 43 - colonne 8, ligne 68 *	1-11	
Y	WO 2007/100675 A2 (UNIV NEW YORK STATE RES FOUND [US]; BADALEMENTE MARIE A [US]; DAGUM AL) 7 septembre 2007 (2007-09-07) * le document en entier * * revendication 1 *	1-11	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		1 avril 2011	Fayos, Cécile
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 745366
FR 1058957

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la subtilisine ou nagarse en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

2. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la nattokinase en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

3. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la chymotrypsine en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

4. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la trypsine en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

5. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins l'élastase en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

6. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la thermolysine en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

7. revendications: 1-11(en partie)

Composition comprenant au moins la serrapeptase en tant qu'enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse de triglycérides.

La première invention a été recherchée.

**ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B**

Numéro de la demande

FA 745366
FR 1058957

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

La présente demande porte sur une composition comprenant au moins une enzyme protéolytique pour son utilisation pour empêcher la synthèse des triglycérides, en tant que médicament, agent cosmétique, composition alimentaire, nutraceutique ou complément alimentaire, et plus particulièrement, pour son utilisation dans la prévention ou la diminution des surcharges pondérales, de l' adipogénèse ou de l' excès de cholestérol, comme agent anticellulite, dans la prévention ou le traitement de l' obésité, de l' athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques cérébrales, ou du diabète, en particulier du diabète de type II.

Le problème technique posé dans la présente demande est donc de fournir un médicament, agent cosmétique, composition alimentaire, nutraceutique ou complément alimentaire, pour son utilisation dans la prévention ou la diminution des surcharges pondérales, de l' adipogénèse ou de l' excès de cholestérol, comme agent anticellulite, dans la prévention ou le traitement de l' obésité, de l' athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques cérébrales, ou du diabète, en particulier du diabète de type II.

La solution proposée dans la présente demande est de fournir une composition comprenant au moins une enzyme protéolytique , en particulier, une enzyme protéolytique choisie parmi:

- (1) la subtilisine ou nagarse
 - (2) la nattokinase
 - (3) la chymotrypsine
 - (4) la trypsine
 - (5) l' élastase
 - (6) la thermolysine
 - (7) la serrapeptase,
- et leurs mélanges

L' utilisation d'enzymes protéolytiques et en particulier de la subtilisine comme médicament, agent cosmétique, composition alimentaire, nutraceutique ou complément alimentaire est bien connue.

D1 décrit l'utilisation de protéases, et plus particulièrement de la subtilisine, éventuellement en combinaison avec une lipase, en tant que médicament pour le traitement de différentes maladies, dont le diabète de type II.

D2 porte sur le traitement de maladies oculaires, au moyen de protéases, dont la subtilisine.

D3 décrit l' utilisation de la subtilisine pour le traitement de l'infarctus du myocarde (qui est un trouble cardiovasculaire) et des attaques cérébrales ischémiques.

D4 porte sur l' utilisation de protéases, dont la subtilisine, pour le traitement de différentes maladies, dont l'infarctus du myocarde.

D5 porte sur l' utilisation de proteases ou peptidases pour le traitement de maladies cardiovasculaires dont l' athérosclérose chez des patients présentant un facteur de risque. Les facteurs de risque sont définis p 5 [30] et incluent l' obésité et le diabète.

D6 porte sur un cocktail enzymatique (protéases, éventuellement en combinaison avec des lipases) pour la fabrication de produits cosmétiques. D6 ne mentionne pas explicitement la subtilisine.

D7 porte sur l'utilisation thérapeutique de protéases. Le traitement de

**ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B**

Numéro de la demande

FA 745366
FR 1058957

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

maladies cardiovasculaires, d'attaques cérébrales, et du diabète sont mentionnés. L'utilisation de la subtilisine n' est pas explicitement mentionnée.

D8 décrit l' utilisation de la sérine protéase Corin pour le traitement du diabète de type II et de l' obésité.

D9 décrit l' utilisation de protéases pour le traitement de l' obésité, de troubles cardiovasculaires et du diabète. L'utilisation de la subtilisine n' est pas explicitement mentionnée.

D10 décrit l' utilisation de la sérine protéase Adipsin pour le traitement de l' obésité.

D11 décrit l' utilisation de la collagénase pour le traitement de la cellulite.

L'utilisation d'enzymes protéolytiques dans la diminution des surcharges pondérales, de l' adipogénèse ou de l'excès de cholestérol, ou comme agent anti-cellulite, ainsi que l'utilisation d'enzymes protéolytiques pour le traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des troubles cardiovasculaires, des attaques cérébrales ou du diabète est bien connue, et n' est donc pas nouvelle.

Il n' y a donc pas de concept inventif général, nouveau, liant les inventions 1-8 telles que définies ci-dessus.

De plus, les enzymes protéolytiques 1-7 n'ont ni structure générale, ni activité commune, outre le fait d' être des enzymes protéolytiques.

En conclusion, les groupes d'inventions ne sont pas liés entre eux par des caractéristiques techniques particulières communes ou correspondantes et ils définissent 7 inventions différentes qui ne sont pas liées par un seul concept inventif général.

La présente demande ne satisfait donc pas aux exigences d'unité de l'invention. Seule l' invention 1 a été recherchée.

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1058957 FA 745366**

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 **01-04-2011**

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 2006136160	A2	28-12-2006	AU 2006261443	A1 28-12-2006
			BR PI0611936	A2 22-02-2011
			CA 2612806	A1 28-12-2006
			EP 1896058	A2 12-03-2008
			JP 2008546395	T 25-12-2008
			KR 20080017039	A 25-02-2008
			NZ 563777	A 27-08-2010
			US 2010135978	A1 03-06-2010
			US 2008317726	A1 25-12-2008
WO 2008019417	A2	21-02-2008	AT 504159	A1 15-03-2008
			CA 2658564	A1 21-02-2008
			CN 101505790	A 12-08-2009
			EP 2056863	A2 13-05-2009
			JP 2010500382	T 07-01-2010
			RU 2009109358	A 27-09-2010
EP 1459738	A1	22-09-2004	AT 497759	T 15-02-2011
			CN 1517126	A 04-08-2004
			WO 03059326	A1 24-07-2003
			RU 2213557	C2 10-10-2003
			US 2005220780	A1 06-10-2005
WO 03066088	A2	14-08-2003	AU 2003212195	A1 02-09-2003
			DE 10390318	D2 05-01-2005
WO 2007047205	A2	26-04-2007	EP 1942930	A2 16-07-2008
			JP 2009511584	T 19-03-2009
US 2005059567	A1	17-03-2005	BR PI0414258	A 24-07-2007
			CA 2537221	A1 24-03-2005
			CN 1849384	A 18-10-2006
			EP 1664258	A1 07-06-2006
			JP 2007504834	T 08-03-2007
			MX PA06002792	A 14-06-2006
			US 2006172913	A1 03-08-2006
			WO 2005026306	A1 24-03-2005
WO 2008045148	A2	17-04-2008	AU 2007307260	A1 17-04-2008
			CA 2656531	A1 17-04-2008
			EP 2046951	A2 15-04-2009
			JP 2010075209	A 08-04-2010
			JP 4546578	B2 15-09-2010
			JP 2009542218	T 03-12-2009
			KR 20090031936	A 30-03-2009
			US 2009123452	A1 14-05-2009

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 1058957 FA 745366**

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 **01-04-2011**

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 2009120760	A1	01-10-2009	AUCUN

US 2003095961	A1	22-05-2003	AUCUN

US 5223425	A	29-06-1993	AUCUN

WO 2007100675	A2	07-09-2007	AU 2007221225 A1 07-09-2007
		CA 2643171 A1	07-09-2007
		EP 1991258 A2	19-11-2008
		JP 2009527570 T	30-07-2009
		KR 20080108996 A	16-12-2008
		US 2007224184 A1	27-09-2007
