

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①1 N° de publication : **3 126 869**

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

②1 N° d'enregistrement national : **21 09752**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 61 K 31/198 (2020.12)**, A 61 K 31/715, 36/82, 35/
742, A 61 P 43/00, 1/00, 31/12

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫② Date de dépôt : 16.09.21.

⑫③ Priorité :

⑫④ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 17.03.23 Bulletin 23/11.

⑫⑤ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑫⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : *Gozen K. K. Japan société par action*
— JP.

⑦② Inventeur(s) : *IKEOKA Machiko et NASU Mizuho.*

⑦③ Titulaire(s) : *Gozen K. K. Japan société par action.*

⑦④ Mandataire(s) : *ICOSA.*

⑤④ **Composition pharmaceutique comprenant des métabolites issus de la bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 isolée de *Camellia sinensis* et modulant la réponse immunitaire.**

⑤⑦ L'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant une association de bioactifs comprenant de la théanine et des polysaccharides extraits de *Camellia sinensis*, et au moins 2 métabolites, typiquement produits par la bactérie *Bacillus subtilis*, de préférence *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 isolée de *Camellia sinensis*. L'invention concerne également la composition pharmaceutique pour son utilisation pour moduler le microbiote pulmonaire tout en modulant l'intensité de la réponse du système immunitaire en rétablissant un taux normal de globules blancs, et pour augmenter la production d'anticorps tout en réduisant la production de cytokines pro inflammatoires.

FR 3 126 869 - A1



Description

Titre de l'invention : Composition pharmaceutique comprenant des métabolites issus de la bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 isolée de *Camellia sinensis* et modulant la réponse immunitaire.

- [0001] La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique comprenant une association de théanine et de polysaccharides extraits de *Camellia sinensis*, et d'au moins 2 métabolites produits par la bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 parmi le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine, acide butyrique, caractérisée en ce que ladite composition module le microbiote pulmonaire et augmente l'intensité de la réponse du système immunitaire.
- [0002] On sait que le microbiote est l'ensemble des microorganismes notamment bactéries, levures, champignons ou virus vivant dans un environnement spécifique appelé le microbiome chez un hôte. L'être humain possède plusieurs microbiotes : intestinal, pulmonaire, vaginal, au niveau de la peau ou encore de la zone nez/bouche/pharynx. Le microbiote d'un individu se constitue à partir du microbiote vaginal de la mère lors de la naissance, qui va dès la naissance coloniser la peau tandis ce que le microbiote issu du lait maternel va coloniser les intestins. L'exposition aux bactéries de l'environnement aux antibiotiques, à l'alimentation ou encore aux facteurs génétiques vont ensuite faire évoluer le microbiote durant les premières années. La présence du microbiote permet de limiter le risque de colonisation par une bactérie pathogène. Avant la découverte du microbiote, les bactéries étaient considérées majoritairement comme néfastes ou pathogènes mais aujourd'hui le rôle du microbiote est mieux connu. On sait qu'il est essentiel dans le bon fonctionnement de la digestion, du métabolisme, du système immunitaire et même du système neurologique. Cependant l'équilibre du microbiote est fragile. On appelle dysbiose un déséquilibre de ce microbiote. Ce déséquilibre peut être causé par un événement perturbateur comme un changement d'environnement, d'alimentation ou de traitement médical. Une dysbiose peut favoriser de nombreuses maladies comme l'obésité, le diabète, les allergies ou encore la dépression.
- [0003] L'inventeur s'est intéressé plus particulièrement au microbiote pulmonaire. Il a longtemps été pensé que les poumons étaient stériles, cependant les récentes études ont démontré que les poumons abritent un large éventail d'espèces microbiennes différentes. Il a été observé que le microbiote des voies aériennes est altéré dans le cadre de nombreux troubles respiratoires. La modulation du microbiote pulmonaire est donc un outil intéressant pour maintenir les poumons en bonne santé.

- [0004] Le microbiote intestinal, avec celui de la peau, est le plus important microbiote du corps. Il peut fermenter les résidus alimentaires indigestes, favoriser l'absorption de certains nutriments, assurer l'hydrolyse de plusieurs substances, participer à la synthèse de multiples vitamines et réguler diverses voies métaboliques. La flore intestinale est également impliquée dans le fonctionnement du système immunitaire intestinal, essentiel à la fonction de barrière de la paroi intestinale. En effet des bactéries comme *Escherichia coli* combattent directement la colonisation du tube digestif par des bactéries pathogènes grâce à des phénomènes de compétition et par la production de substances bactéricides. La flore intestinale est aussi très importante dès le plus jeune âge puisqu'elle permet au système immunitaire intestinal d'apprendre à faire la distinction entre les bactéries bonnes pour les corps et les bactéries pathogènes.
- [0005] On sait que l'influence du microbiote sur la formation de la réponse immunitaire est un sujet de plus en plus étudié aujourd'hui. Ces études indiquent l'importance de l'influence du microbiote sur son hôte et démontrent le rôle clef de certaines bactéries du microbiote dans l'activation du système immunitaire, notamment au niveau de l'intestin. Une dysbiose peut donc conduire à un dysfonctionnement dans l'activation de ce système, à une réponse immunitaire insuffisante, ou encore à la colonisation de bactéries pathogènes inflammatoires dans l'intestin.
- [0006] Des traitements à base de polysaccharides issus de *Camellia sinensis* (WO2011069781A1) ont été proposés afin de stimuler la réponse immunitaire, mais cette solution a une action limitée dans le temps puisqu'elle ne permet pas de lutter contre un déséquilibre du microbiote intestinal ou pulmonaire et donc de prévenir une future réaction insuffisante du système immunitaire en cas de dysbiose. D'autres solutions à base de probiotiques ont été proposées comme par exemple une souche de *Lactobacillus reuteri* pour prévenir ou traiter une dysbiose du microbiote et ainsi prévenir différents types de maladie liées à cette dysbiose (WO2016066763A1) ou encore une souche de *Lactobacillus rhamnosus* pour favoriser une réponse immunitaire anti-infectieuse et/ou anti-inflammatoire (EP2983685A1). Cependant ces solutions font appel à des souches vivantes qui ne sont donc pas stables dans le temps et qui peuvent alors induire une baisse d'efficacité dans le temps. De plus, les souches vivantes ont un effet limité, dû non seulement à leur faible stabilité dans le temps, mais aussi car elles dépendent de la composition bactérienne du sujet qui peut limiter l'implantation de nouvelles bactéries et par conséquent leur efficacité.
- [0007] C'est en étudiant l'effet de la fermentation sur l'efficacité des extraits de thé que la Demanderesse a découvert de manière tout à fait inattendue que ces problèmes peuvent être facilement résolus par l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une association de théanine et des polysaccharides extraits de *Camellia sinensis*, et d'au moins 2 métabolites, typiquement produits par une bactérie *Bacillus subtilis*, ty-

piquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08, choisis dans le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine, acide butyrique, caractérisée en ce que ladite composition module le microbiote pulmonaire et module l'intensité de la réponse du système immunitaire.

[0008] RESUMÉ

[0009] Dans un premier aspect l'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant une association de bioactifs comprenant de la théanine et des polysaccharides extraits des feuilles de matcha *Camellia sinensis*, et au moins 2 métabolites produits par une bactérie *Bacillus subtilis*, choisis dans le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine. Typiquement, la composition pharmaceutique est destinée à moduler le microbiote pulmonaire et à moduler l'intensité de la réponse du système immunitaire.

[0010] Dans un mode de réalisation la composition pharmaceutique comprend du zinc à une concentration d'au moins 0,5% et de préférence d'au moins 2% en poids par rapport au poids total de bioactifs dans ladite composition et des polysaccharides à une concentration d'au moins 0,5% et de préférence d'au moins 5%.

[0011] La composition pharmaceutique de l'invention peut être sous la forme de poudre ou d'émulsion lyophilisée. Elle peut être notamment sous forme de crèmes, liquides, pâtes, inhalateurs, lotions, émulsions, gels, sirops, solides, sirop, poudres, masques, stick, comprimés, sprays, aérosol, gélules, huiles, ou boisson prête à l'emploi.

[0012] L'invention concerne également un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique selon l'invention. Le procédé comprend au moins une étape de fermentation lente de *Camelia sinensis* en présence de la bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08.

[0013] L'invention concerne en outre la composition pharmaceutique telle que décrite ci-dessus, pour son utilisation dans :

[0014] - le traitement ou la prévention de la dysbiose, de préférence de la dysbiose pulmonaire et/ou intestinale.

[0015] - la diminution des signes de l'inflammation et dans la diminution de production des cytokines pro inflammatoires; dans le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes ;

[0016] - le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes ;

[0017] - l'augmentation de la production d'oxide nitrique par les cellules endothéliales et dans la modulation de la vasodilatation des vaisseaux sanguins ; et/ou

[0018] - l'augmentation de la stabilité de l'hémoglobine et dans l'augmentation du taux

d'hémoglobine circulante.

DESCRIPTION DÉTAILLÉE

- [0019] L'objet de la présente invention concerne donc une composition pharmaceutique comprenant une association de théanine et des polysaccharides extraits de *Camellia sinensis*, et d'au moins 2 métabolites, typiquement produits par une bactérie *Bacillus subtilis*, typiquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08, choisis dans le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine, acide butyrique, caractérisée en ce que ladite composition module le microbiote intestinal et augmente l'intensité de la réponse du système immunitaire.
- [0020] Dans un mode de réalisation, les au moins 2 métabolites, sont produits par *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08.
- [0021] Il est à remarquer que la composition pharmaceutique est caractérisée en ce qu'elle comprend du zinc a une concentration d'au moins 0.5% et de préférence d'au moins 2% en poids par rapport au poids total de bioactifs dans ladite composition et des polysaccharides a une concentration d'au moins 0.5% et de préférence d'au moins 5%.
- [0022] L'invention concerne également une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle est utilisée dans le traitement ou la prévention de la dysbiose, de préférence de la dysbiose pulmonaire et/ou intestinale. Et que donc l'objet de la présente invention concerne également une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle est utilisée dans la diminution des signes de l'inflammation et dans la diminution de production des cytokines inflammatoires. L'invention concerne également une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle est utilisée dans le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes.
- [0023] Il est à remarquer que la composition pharmaceutique est caractérisée en ce qu'elle est utilisée dans l'augmentation de la production d'oxide nitrique par les cellules endothéliales et dans la modulation de la vasodilatation des vaisseaux sanguins. Et que donc l'objet de la présente invention concerne également une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle est utilisée dans l'augmentation de la stabilité de l'hémoglobine et dans l'augmentation du taux d'hémoglobine circulante.
- [0024] Dans un mode de réalisation, la composition pharmaceutique est sous forme de poudre ou d'émulsion lyophilisée. Elle peut se présenter, sans que cela soit limitatif, sous forme de crèmes, liquides, pâtes, inhalateurs, lotions, émulsions, gels, sirops, solides, sirop, poudres, masques, stick, comprimés, sprays, aérosol, gélules, huiles, ou boisson prête à l'emploi.
- [0025] La présente invention se comprendra mieux à la lecture des définitions ci-dessous qui

permettent de mieux comprendre l'action de l'invention.

- [0026] « Fermentation » : concerne une transformation que subissent certaines matières organiques sous l'action d'enzymes sécrétées par des micro-organismes.
- [0027] Pour la clarté des explications qui suivent nous décidons d'appeler BIOMATCHA une composition pharmaceutique selon la présente invention.
- [0028] La demanderesse décrit ci-dessous une composition pharmaceutique comprenant une association de théanine et des polysaccharides extraits de *Camellia sinensis*, et d'au moins 2 métabolites produits par une bactérie *Bacillus subtilis*, typiquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08, choisis dans le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine, acide butyrique, caractérisée en ce que ladite composition module le microbiote pulmonaire et module l'intensité de la réponse du système immunitaire.
- [0029] La présente invention concerne aussi sa composition en ce qu'elle est constituée de différents métabolites, celle-ci comporte au moins du zinc à une concentration minimale. L'objet de la présente invention est donc décrit comme une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend du zinc à une concentration d'au moins 0.5% et de préférence d'au moins 2% en poids par rapport au poids total de bioactifs dans ladite composition et des polysaccharides à une concentration d'au moins 0.5% et de préférence d'au moins 5%.
- [0030] L'objet de la présente invention concerne aussi un procédé de fabrication de la composition des métabolites produits par la bactérie *Bacillus subtilis*, typiquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08. Ces métabolites sont préparés par la fermentation de *Bacillus subtilis*, typiquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08. La demanderesse décrit ci-dessous un procédé de fermentation lente d'extraits de *Camellia sinensis* et *Bacillus subtilis*, typiquement *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08, en plusieurs étapes. La plante *Camellia sinensis* est d'abord collectée. La bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 est ensuite inoculée en présence de la plante *Camellia sinensis* qui est entreposée en forte densité dans un environnement humide à une température comprise entre 30°C et 45°C. Cette étape dure entre 2 et 36 heures et permet d'activer la production de métabolites par les bactéries dont au moins une bactérie est du genre *Bacillus*. En effet la demanderesse a découvert que la souche *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08 produit des métabolites pouvant moduler le microbiote et augmenter l'intensité de la réponse immunitaire. L'étape de fermentation permet donc principalement la fermentation de cette bactérie d'intérêt. Le résultat de la fermentation peut faire l'objet d'une extraction et d'une filtration afin de sélectionner les molécules d'intérêt. L'extraction peut se faire par extraction aqueuse, extraction alcoolique, extraction par autre type de solvant, distillation, extraction par un fluide supercritique. La filtration peut se faire par une étape

de chromatographie liquide ou d'une étape de filtration par filtre à membrane. L'objet de la présente invention concerne donc un procédé de préparation de la composition comprenant au moins une étape de fermentation lente.

[0031] On sait aujourd'hui que le microbiote intestinal joue un rôle clé dans l'initiation et l'adaptation de la réponse immunitaire non seulement dans le tube digestif, mais également à distance au niveau des poumons. Un microbiote intestinal et/ou pulmonaire équilibré permet de limiter la prolifération de bactéries néfastes, par effet de compétition. Un microbiote pulmonaire équilibré peut prévenir ou réduire les infections pulmonaires, contrôler les réactions inflammatoires et soutenir le développement d'un système immunitaire. Par exemple dans le cas du Covid-19, le microbiote pulmonaire joue un rôle important dans le développement et la gravité de la maladie. En effet la maladie commence par une infection des poumons qui se résout d'elle-même dans la majorité des cas, cependant certains développent une détresse respiratoire sévère et des défaillances d'organes. L'aggravation des symptômes du Covid-19 est causée par une réaction inflammatoire excessive qui conduit à une destruction des tissus pulmonaires. Une étude conduite par Zijie Shen et al (2020) a démontré que les patients atteints du Covid-19 avaient une composition du microbiote pulmonaire différente des patients sains. La consommation des métabolites issus de BIOMATCHA module le microbiote pulmonaire. BIOMATCHA est donc décrit comme une composition pharmaceutique, pour son utilisation dans le traitement ou la prévention de la dysbiose, de préférence de la dysbiose pulmonaire.

[0032] On remarque de plus en plus l'importance de l'équilibre du microbiote intestinal dans la santé de l'Homme. Ainsi, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin ont pour caractéristique la présence d'un déséquilibre dans la flore intestinale. Une dysbiose peut aussi promouvoir la colonisation du système digestif par différents micro-organismes pathogènes pouvant aggraver l'inflammation intestinale. En cas d'inflammation, les cellules vont sécréter des cytokines pro-inflammatoire. Les cytokines pro-inflammatoires sont des protéines qui vont permettre la communication entre les cellules du système immunitaire lorsqu'un signal est détecté, pour orienter la réponse immunitaire. L'administration orale de théanine a pour effet de diminuer l'expression de ces cytokines inflammatoires. La théanine pure est facilement absorbée au travers des cellules intestinales, cependant son association avec d'autre molécules altère son absorption. La Demanderesse a remarqué que l'association de théanine avec un complexe de polysaccharides de thé vert augmente l'absorption de théanine dans l'intestin et le taux sanguin de théanine. La consommation de BIOMATCHA augmente ainsi le taux de théanine sanguin et réduit la production de cytokines inflammatoires de manière plus efficace qu'un extrait de thé vert conventionnel. L'objet de la présente invention est donc décrit comme une composition pharmaceutique pour son utilisation

dans la diminution des signes de l'inflammation et dans la diminution de production des cytokines inflammatoires.

[0033] La réponse du système immunitaire est issue jusqu'à 70% des intestins. En effet, la majorité des substances étrangères à l'organisme pénètre dans le corps via le système digestif. Les cellules intestinales sont donc riches en cellules immunitaires, comme par exemple les lymphocytes qui se trouvent sous la muqueuse intestinale. Les lymphocytes sont des globules blancs qui sont notamment chargés, entre autres, de la production d'anticorps. La présence de certaines molécules étrangères au corps, appelées antigènes, va activer la réponse immunitaire et permettre la prolifération des lymphocytes et l'augmentation de la production d'anticorps. Les métabolites contenus dans BIOMATCHA stimulent les globules blancs et favorisent leur production d'anticorps. BIOMATCHA est donc décrit comme une composition pharmaceutique, pour son utilisation dans le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes.

[0034] L'oxyde nitrique est une molécule qui a principalement le rôle de messenger au sein de l'organisme. La bonne sécrétion d'oxyde nitrique apporte de multiples bénéfices pour le corps, par exemple en renforçant la mémoire, la force, l'endurance ou encore diminuant le risque d'inflammation et en régulant la pression artérielle. En effet l'oxyde nitrique est un excellent vaso-dilatateur et permet une meilleure circulation du flux sanguin dans le corps. La vaso-dilatation est particulièrement importante en cas de lésions aux poumons. BIOMATCHA favorise la production d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales. L'objet de la présente invention est donc décrit comme une composition pharmaceutique, pour son utilisation dans l'augmentation de la production d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales et dans la modulation de la vasodilatation des vaisseaux sanguins.

[0035] L'augmentation de la vasodilatation, induit par la production d'oxyde nitrique, va permettre une meilleure circulation du flux sanguin. La composition agit aussi directement sur l'hémoglobine, une protéine qui se trouve à l'intérieur des globules rouges. L'hémoglobine est essentielle pour transporter l'oxygène dans le sang et le transférer des poumons aux tissus. Une carence en fer ou en vitamines ainsi qu'une dysbiose du microbiote intestinal peuvent être des causes d'une anémie, c'est-à-dire d'un taux faible d'hémoglobine. Le thé vert conventionnel est connu pour inhiber l'hémoglobine. Au contraire du thé vert conventionnel, la consommation de BIOMATCHA augmente le nombre de globules rouges ainsi que la concentration en hémoglobine. BIOMATCHA est donc décrit comme une composition pharmaceutique, pour son utilisation dans l'augmentation de la stabilité de l'hémoglobine et dans l'augmentation du taux d'hémoglobine circulante.

[0036] L'objet de la présente invention est décrit comme une composition pharmaceutique

caractérisée en ce que la composition est sous la forme de suspension, de solution moussante ou non, d'une émulsion huile dans eau (H/E) ou eau dans huile (E/H), d'émulsion multiple (huile dans eau dans huile H/E/H, eau dans huile dans eau E/H/E), de microémulsion, d'émulsion à phase gémellaires, d'émulsion PIT (émulsion obtenue par inversion de phase en température), de nano-émulsion, de pseudo-émulsion (dispersion stable de deux phases non miscibles au moyen de gélifiant), de gel aqueux, de gel gras, de gel hydroalcoolique, de phase grasse, de gel, de poudre ou d'émulsion lyophilisée et pouvant se présenter sans que cela soit limitatif en crèmes, liquides, pâtes, inhalateurs, lotions, émulsions, gels, sirops, solides, sirop, poudres, masques, stick, comprimés, sprays, aérosol, gélules, huiles, boisson prête à l'emploi.

[0037] Nous allons maintenant présenter à titre d'exemple quelques effets bénéfiques de la composition montrant bien l'intérêt d'associer la théanine avec plusieurs types de polysaccharides et des métabolites sans que ces exemples ne soient limitatifs. Rappelons que pour la clarté des explications qui suivent, il est décidé d'appeler BIOMATCHA une composition pharmaceutique selon l'invention destinée à moduler le microbiote pulmonaire et à moduler l'intensité de la réponse du système immunitaire.

EXEMPLES

[0038] Exemple 1 : Modulation du microbiote intestinal et pulmonaire et modulation de l'inflammation

[0039] Une étude clinique en double aveugle a été réalisée afin d'évaluer les effets de l'ingestion de supplément alimentaire contenant BIOMATCHA, sur la composition du microbiote intestinal et pulmonaire. 40 volontaires en bonne santé sans distinction de sexe, sans aucune maladie connue ont été répartis par randomisation en 2 groupes de 20 personnes. Le premier groupe a ingéré un placebo, le deuxième groupe a ingéré quotidiennement 600 mg de BIOMATCHA pendant 4 semaines.

[0040] Des échantillons du microbiote pulmonaire ont été pris dans la voie nasopharyngée, par prélèvement avec un coton-tige au début et à la fin de l'étude. Des échantillons de selles ont aussi été prélevés au début et à la fin de l'étude.

[0041] La diversité des souches microbiennes est analysée dans les échantillons sus-mentionnés.

[0042] Des échantillons sanguins ont aussi été prélevés au début et à la fin de l'étude. Les niveaux des marqueurs inflammatoires interleukine IL-6 et la protéine C réactive Hs-CRP, ainsi que le taux de globules blancs, ont été mesurés.

[0043] Les résultats du microbiote pulmonaire sont montrés dans le tableau 1 ci-dessous.

[0044] [Tableaux1]

	GROUPE PLACEBO	GROUPE BIOMATCHA
Diversité des souches	+0,4%	+8,9%
Porphyromonas spp	+0,1%	+13,3%
Pseudomonas spp	+0,2%	-5,5%
Staphylococcus	-0,1%	-7,1%

[0045] Les résultats du microbiote intestinal prélevé dans les fèces sont montrés dans le tableau 2 ci-dessous.

[0046] [Tableaux2]

	GROUPE PLACEBO	GROUPE BIOMATCHA
Diversité des souches	+0,5%	+10,1%
<i>B. longum</i>	+0,2%	+21,7%
<i>L.acidophilus</i>	+0,3%	+19,4%
<i>L.plantarum</i>	+0,2%	+22,4%
<i>Roseburia intestinalis</i>	-0,1%	+7,9%
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	+0,0%	+16,6%
<i>Akkermansia muciniphila</i>	+0,2%	+8,2%

[0047] Les résultats de l'analyse des marqueurs inflammatoires sont montrés dans le tableau ci-dessous.

[0048] [Tableaux3]

	GROUPE PLACEBO	GROUPE BIOMATCHA
IL-6 (pg/mL)	+0,03	-0,26
Hs-CRP (mg/L)	+0,02	-0,93
Globules blancs ($10^3/\text{mm}^3$)	-0,3%	+21,4%

[0049] On observe que dans le groupe BIOMATCHA une modulation du microbiote pulmonaire, une diminution des marqueurs inflammatoires IL-6 et Hs-CRp, ainsi qu'une augmentation du taux de globules blancs. On n'observe pas de changement significatif dans le groupe placebo. Cela démontre que le groupe BIOMATCHA est efficace dans la modulation du microbiote pulmonaire, ainsi que dans la modulation de

l'inflammation et la modulation du taux de globules blancs.

[0050] Exemple 2 : Amélioration de la production d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales

[0051] Des cellules endothéliales aortiques bovines en culture ont été traitées avec 25, 50 ou 100 µl de BIOMATCHA. L'activité de l'oxyde nitrique synthase eNOS, qui est l'enzyme synthétisant l'oxyde nitrique (NO) est mesurée par la formation de L-[³H]citrulline.

[0052] Les résultats sont indiqués dans le tableau 4 ci-dessous.

[0053] [Tableaux4]

	Controle	Extrait de thé vert conventionnel			BIOMATCHA		
		25	50	100	25	50	100
Activité de eNOS (% of control)	100	105.1	138.5	271.8	112.8	156.6	350.8

[0054] Les résultats montrent que l'extrait de thé vert conventionnel et BIOMATCHA stimule l'activité de eNOS et donc stimule la production d'oxyde nitrique (NO). On note que BIOMATCHA a une activité significativement supérieure par rapport à l'extrait de thé vert conventionnel. Cela démontre que le groupe BIOMATCHA est efficace dans l'augmentation de la production d'oxyde nitrique.

[0055] Exemple 3 : Amélioration de la stabilité de l'hémoglobine et taux d'hémoglobine circulante

[0056] Une étude clinique en double aveugle a été réalisée afin d'évaluer les effets de l'ingestion de supplément alimentaire contenant BIOMATCHA sur le taux d'hémoglobine circulante. 40 patients hémodialysés avec une carence fonctionnelle en fer ont été répartis par randomisation en 2 groupes de 20 personnes. Le premier groupe a ingéré un placebo tandis que le deuxième groupe a ingéré quotidiennement un complément alimentaire contenant 600 mg de BIOMATCHA et ce pendant 4 semaines.

[0057] Les résultats sont indiqués dans le tableau 5 ci-dessous.

[0058] [Tableaux5]

	PLACEBO		BIOMATCHA	
	Semaine 0	Semaine 4	Semaine 0	Semaine 4
Hb (gm/dL)	10,4 ± 0,3	10,4 ± 0,5	10,5 ± 0,5	11,0 ± 0,6

[0059] Les résultats montrent que la consommation de BIOMATCHA augmente le taux d'hémoglobine circulante. Le groupe consommant un placebo n'a pas présenté de

changement dans le taux d'hémoglobine.

[0060] Exemple 4 : Amélioration de la stabilité de l'hémoglobine

[0061] Une étude *in-vitro* sur la stabilité de l'hémoglobine a été réalisée.

[0062] Une solution d'hémoglobine humaine est versée dans un récipient contenant une solution tampon chauffé a 60°C et en présence ou non de BIOMATCHA. De manière régulière, la concentration en d'hémoglobine est analysée et la demi-vie (temps mis par l'hémoglobine dans le récipient pour diminuer de moitié en concentration).

[0063] Les résultats sont présentés dans le tableau 6 ci-dessous.

[0064] [Tableaux6]

Concentration en BIOMATCHA	1	5	10
$t_{\text{BIOMATCHA}}/t_0$	2.5	12.8	40.2

[0065] Les résultats montrent que l'incubation avec BIOMATCHA augmente la demi-vie de l'hémoglobine. A la concentration maximale, la demi-vie de l'hémoglobine en présence de BIOMATCHA ($t_{\text{BIOMATCHA}}$) est 40 fois supérieure à la demi-vie de l'hémoglobine en l'absence de BIOMATCHA(t_0).

[0066] Exemple 5 : Complément alimentaire pour moduler le microbiote intestinal

[0067] - BIOMATCHA.....150 mg

[0068] - Maltitol, cellulose microcristalline, dioxyde de silicone, stéarate de calcium
.....150 mg

[0069] Ce complément alimentaire est à consommer deux fois par jour. Les utilisateurs ont remarqué une amélioration des problèmes intestinaux, diarrhée, constipation ou inconfort digestif.

Revendications

- [Revendication 1] Composition pharmaceutique destinée à moduler le microbiote pulmonaire et à moduler l'intensité de la réponse du système immunitaire caractérisée en ce qu'elle comprend une association de bioactifs comprenant de la théanine et des polysaccharides extraits des feuilles de matcha *Camellia sinensis*, et au moins 2 métabolites produits par une bactérie *Bacillus subtilis* choisis dans le groupe : acide gallique, lobéline, biotine, catéchine, pyridoxine, acide syringique, butyrate, propionate, zinc, acide linoléique, saikosaponine, acacétine, saponarine.
- [Revendication 2] Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend du zinc à une concentration d'au moins 0,5% et de préférence d'au moins 2% en poids par rapport au poids total de bioactifs dans ladite composition et des polysaccharides à une concentration d'au moins 0,5% et de préférence d'au moins 5%.
- [Revendication 3] Composition pharmaceutique selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisée en ce que la composition est sous la forme de poudre ou d'émulsion lyophilisée, et de préférence sous forme de crèmes, liquides, pâtes, inhalateurs, lotions, émulsions, gels, sirops, solides, sirop, poudres, masques, stick, comprimés, sprays, aérosol, gélules, huiles, ou boisson prête à l'emploi.
- [Revendication 4] Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une étape de fermentation lente de *Camelia sinensis* en présence de la bactérie *Bacillus subtilis* Gozen GZN-08.
- [Revendication 5] Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans le traitement ou la prévention de la dysbiose, de préférence de la dysbiose pulmonaire et/ou intestinale.
- [Revendication 6] Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans la diminution des signes de l'inflammation et dans la diminution de production des cytokines pro inflammatoires ; dans le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes.
- [Revendication 7] Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans le rétablissement d'un taux normal de globules blancs et l'augmentation de la production d'anticorps par les lymphocytes.

- [Revendication 8] Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans l'augmentation de la production d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales et dans la modulation de la vasodilatation des vaisseaux sanguins.
- [Revendication 9] Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour son utilisation dans l'augmentation de la stabilité de l'hémoglobine et dans l'augmentation du taux d'hémoglobine circulante.

**RAPPORT DE RECHERCHE
 PRÉLIMINAIRE**
N° d'enregistrement
national
 établi sur la base des dernières revendications
 déposées avant le commencement de la recherche

FA 898367
FR 2109752

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	CHACKO SABU M ET AL: "Beneficial effects of green tea: A literature review", CHINESE MEDICINE, BIOMED CENTRAL LTD, LO, vol. 5, no. 1, 6 avril 2010 (2010-04-06), page 13, XP021081684, ISSN: 1749-8546, DOI: 10.1186/1749-8546-5-13	1, 3, 6-9	A61K31/198 A61K31/715 A61K36/82 A61K35/742 A61P43/00 A61P1/00 A61P31/12
Y	* le document en entier * * Green tea composition; page 2, dernier alinéa - colonne 3 * * page 6, colonne de gauche, dernier alinéa - colonne de droite, alinéa 1 * -----	1-9	
X	EP 3 878 460 A1 (AMOREPACIFIC CORP [KR]) 15 septembre 2021 (2021-09-15)	1, 3, 4, 6-9	
Y	* le document en entier * * alinéas [0020], [0025] - [0031] * * revendications 1-14 * -----	1-9	
X	CN 106 132 427 A (AMOREPACIFIC CORP) 16 novembre 2016 (2016-11-16)	1, 3-9	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	* revendications 1-15 * * alinéa [0037] * * alinéas [0039] - [047.] * * le document en entier * -----	1-9	A61K A61P
X	CHOWDHURY PRITOM ET AL: "Tea Bioactive Modulate Innate Immunity: In Perception to COVID-19 Pandemic", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 11, 28 octobre 2020 (2020-10-28), XP055905782, DOI: 10.3389/fimmu.2020.590716	1, 3, 5-9	
Y	* le document en entier * -----	1-9	
	-/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
9 mai 2022		Fayos, Cécile	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS			
X : particulièrement pertinent à lui seul		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		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.	
A : arrière-plan technologique		D : cité dans la demande	
O : divulgation non-écrite		L : cité pour d'autres raisons	
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

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

**FA 898367
FR 2109752**

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	HUYNH NGOC B.: "The Immunological Benefits of Green Tea (Camellia sinensis)", INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGY, vol. 9, no. 1, 20 décembre 2016 (2016-12-20), page 10, XP055905789, CA ISSN: 1916-9671, DOI: 10.5539/ijb.v9n1p10 Extrait de l'Internet: URL:http://www.ccsenet.org/journal/index.php/ijb/article/viewFile/64249/35215>	1, 3, 6-9	
Y	* le document en entier * -----	1-9	
X	KR 2014 0103488 A (CHONG UP CITY [KR]) 27 août 2014 (2014-08-27)	1, 3, 4, 6-9	
Y	* le document en entier * * alinéas [0020] - [0022] * * alinéas [0031] - [0080]; revendications 1-5 *	1-9	
Y,D	WO 2011/069781 A1 (UNILEVER NV [NL]; UNILEVER PLC [GB] ET AL.) 16 juin 2011 (2011-06-16) * le document en entier * -----	1-9	
Y	Ling-Ling: "Tea Polysaccharides and Their Bioactivities", , 30 octobre 2016 (2016-10-30), XP55905673, Extrait de l'Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6274327/pdf/molecules-21-01449.pdf [extrait le 2022-03-28] * le document en entier * -----	1-9	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
9 mai 2022		Fayos, Cécile	
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	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2109752 FA 898367**

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 **09-05-2022**
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
EP 3878460	A1	15-09-2021	CN 112996526 A	18-06-2021
			EP 3878460 A1	15-09-2021
			KR 20200051452 A	13-05-2020
			KR 20200051480 A	13-05-2020

CN 106132427	A	16-11-2016	CN 106132427 A	16-11-2016
			JP 6726621 B2	22-07-2020
			JP 2017509636 A	06-04-2017
			KR 20150110378 A	02-10-2015

KR 20140103488	A	27-08-2014	AUCUN	

WO 2011069781	A1	16-06-2011	CN 102762597 A	31-10-2012
			DK 3287471 T3	11-01-2021
			EP 2510014 A1	17-10-2012
			EP 3287471 A1	28-02-2018
			ES 2858461 T3	30-09-2021
			PL 3287471 T3	02-08-2021
			US 2013064858 A1	14-03-2013
			US 2016151485 A1	02-06-2016
			US 2018339040 A1	29-11-2018
			WO 2011069781 A1	16-06-2011
