

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 octobre 2004 (14.10.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/087119 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/00

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/000682

(22) Date de dépôt international : 19 mars 2004 (19.03.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0303865 28 mars 2003 (28.03.2003) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
ISOCELL [FR/FR]; 53, Boulevard du Général Martial
Valin, F-75015 PARIS (FR).

(71) Déposants (pour US seulement) : DUGAS, Marion
[FR/FR]; 4, Square des Muses, F-91370 VERRIERES LE
BUISSON (FR). DUGAS, Alexandre [FR/FR]; 4, Square
des Muses, F-91370 VERRIERES LE BUISSON (FR).

(72) Inventeur: DUGAS, Bernard (décédé).

(74) Mandataires : GOULARD, Sophie etc.; CABINET
ORES, 36, rue de St Pétersbourg, F-75008 PARIS (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.



WO 2004/087119 A2

(54) Title: COMPOSITIONS CONTAINING SUPEROXIDE DISMUTASE AND A SELECTED ET 5-LIPOXYGENASE INHIBITOR AND USES THEREOF

(54) Titre : COMPOSITIONS RENFERMANT UNE SUPEROXYDE DISMUTASE ET UN INHIBITEUR DE LA 5-LIPOXYGENASE SELECTIONNE ET APPLICATIONS

(57) Abstract: The invention relates to compositions containing at least one superoxide dismutase (SOD) and at least one appropriately selected 5 lipoxygenase (5-LO) inhibitor, and to the uses thereof as medicaments or dietary products for the prevention and/or treatment of allergy-based or non-allergy-based chronic inflammatory diseases.

(57) Abrégé : La présente Invention est relative ô des compositions renfermant au moins une superoxyde dismutase (SOD) et au moins un inhibiteur de la 5 lipoxygénase (5-LO) convenablement sélectionné, ainsi que leurs utilisations, ô titre de médicament ou de produit diététique, pour la prévention et/ou le traitement de maladies inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.

COMPOSITIONS RENFERMANT UNE SUPEROXYDE DISMUTASE ET UN INHIBITEUR DE LA 5-LIPOXYGENASE SELECTIONNE ET APPLICATIONS

La présente Invention est relative à des compositions renfermant au moins une superoxyde dismutase (SOD) et au moins un inhibiteur de la 5-lipoxygénase (5-LO) convenablement sélectionné, ainsi que leurs utilisations, à titre de médicament ou de produit diététique, pour la prévention et/ou le traitement de maladies inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.

Les états inflammatoires se caractérisent, de façon symptomatique, par des douleurs, des rougeurs et des gonflements de l'organe enflammé. Cette pathologie clinique résulte de la libération de médiateurs de l'inflammation, principalement à partir des leucocytes activés qui migrent vers la zone cible. Parmi les médiateurs clé de l'inflammation, on peut en particulier citer les eicosanoïdes polyinsaturés (n-6), la prostaglandine E₂ (PGE₂), les leucotriènes et en particulier le leucotriène B₄ (LTB₄), qui sont des dérivés polyinsaturés (n-6) d'un acide gras particulier qui est l'acide arachidonique (ou éicosanique). D'autres médiateurs importants de l'inflammation sont les cytokines, l'interleukine 1 β (IL-1 β) et le *Tumor Necrosis Factor* α (TNF- α).

Afin de lutter contre le processus inflammatoire, plusieurs voies d'action peuvent être envisagées ; ces différentes voies pouvant de plus être imbriquées entre elles.

Une des voies permettant de lutter contre le processus inflammatoire est par exemple de diminuer ou d'empêcher la production des leucotriènes et en particulier du LTB₄. La 5-lipoxygénase est une enzyme qui catalyse les deux premières étapes de la synthèse des leucotriènes à partir de l'acide arachidonique (Samuelsson B. *et al.*, *Science*, 1983, **220**, 568-575). L'activité de cette enzyme peut varier en fonction de différents facteurs comme par exemple les quantités d'ions calcium et d'adénosine triphosphate (ATP) dans les cellules (Jackschik BA *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1980, **95**, 103-110 ; Rouzer CA et Samuelsson B, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, **84**, 7393-7397). *In vitro*, la 5-LO est activée dans des conditions qui induisent la peroxydation lipidique (Riendeau *et al.*, *Biochem. J.*, 1989, **263**, 565-572). *In vivo*, on observe une augmentation de la formation des

espèces activées de l'oxygène au niveau des sites inflammatoires, qui parmi d'autres signaux, sont impliquées dans l'activation de la 5-LO et par la même dans la synthèse subséquente des leucotriènes par les leucocytes activés. Le profil biologique des leucotriènes suggère donc que des molécules aptes à inhiber la synthèse de la 5-LO (inhibiteurs de la 5-LO) peuvent avoir un intérêt thérapeutique pour la prévention et/ou le traitement des phénomènes inflammatoires et allergiques.

Il existe au moins deux grandes classes d'inhibiteurs de la 5-LO, à savoir les inhibiteurs d'origine synthétique (ou chimique) et les inhibiteurs d'origine naturelle.

Parmi les inhibiteurs d'origine synthétique, on peut en particulier citer les dérivés de l'acide hydroxamique ou de la N-hydroxyurée, certains dérivés aromatiques hydroxylés comme l'acide caféique (ou acide 3-(-,4-dihydroxyphényl)-2-propénoïque), l'acide nordihydroguairétique (NDGA), la 5,6,7-trihydroxy-2-phényl-4H-1-benzopyran-4-one (ou Baicalein), la 6,7-dihydroxy-2H-1-benzopyran-2-one (ou Esculetin), la 1,1',6,6',7,7'-hexahydroxy-3,3'-diméthyl-5,5'-bis(1-méthyléthyl) [2,2'binaphtalène]-8,8'dicarboxaldéhyde (ou Gossypol), le racémate de l'acide α -méthyl 2-fluoro [1,1'-biphényl]-4-acétique (ou Flurbiprofen), l' α -phényl-3-(2-quinolylméthoxy) benzèneméthanol, etc...

Parmi les inhibiteurs d'origine naturelle, on peut en particulier les acides gras polyinsaturés, notamment les acides gras oméga-3 contenus dans certaines espèces végétales ainsi que dans tous les poissons et crustacés tels que l'acide (3n-3) linoléique, l'acide 5,8,11,14-éicosatétraynoïque, l'acide 5,8,11-éicosatriynoïque, l'acide éicosapentaénoïque (4n-3), l'acide docosapentaénoïque, l'acide docosahexanénoïque et les acides gras oméga-6 contenus dans toutes les huiles végétales et tels que l'acide linoléique (18:2) et ses dérivés. Il existe à cet égard sur le marché un produit anti-inflammatoire issu de la moule verte de Nouvelle-Zélande (*Perna Canaliculus*) qui est un mélange complexe d'acides gras polyinsaturés de type oméga-3 et oméga-6, commercialisé sous la dénomination commerciale LYPRINOL®.

Une autre voie pour lutter contre le processus inflammatoire peut par exemple consister à favoriser la production endogène de molécules anti-inflammatoires. En effet, au cours du processus inflammatoire, les cellules

responsables de la libération des médiateurs de l'inflammation (monocytes, macrophages et lymphocytes T), produisent également des médiateurs anti-inflammatoires tels que les cytokines anti-inflammatoires comme par exemple l'interleukine-10 (IL-10) qui est capable d'inhiber la production des cytokines inflammatoires comme l'IL-1 β ou l'interleukine-6 (IL-6), ainsi que la production du TNF- α par les macrophages.

Par ailleurs, les superoxyde dismutases (SODs) forment une classe particulière de métalloprotéines contenant du fer, du cuivre, du zinc ou du manganèse, et sont des enzymes capables d'induire la dismutation des anions superoxydes qui sont des radicaux libres également impliqués dans le processus inflammatoire. Du fait de cette propriété, les SODs sont largement utilisées en thérapeutique pour le traitement et/ou la prévention des pathologies induites par les radicaux libres telles que les états inflammatoires.

De nombreux auteurs ont démontré que l'utilisation de ces produits permet de contrôler les différents processus inflammatoires en agissant notamment au niveau des différentes voies métaboliques du processus inflammatoire.

Il est donc important de pouvoir disposer d'un produit anti-inflammatoire apte à prévenir et/ou à traiter les maladies inflammatoires d'origine allergique ou non. Un tel produit doit de façon idéale être capable non seulement de diminuer la production des médiateurs de l'inflammation (LTB₄, TNF- α) et les espèces activées de l'oxygène (EAO), mais également d'induire la production de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10.

Or, dans le cadre de leur travaux, les Inventeurs ont démontré que l'association d'au moins une SOD et d'au moins un inhibiteur de 5-LO convenablement sélectionné permet non seulement d'obtenir un effet anti-inflammatoire important mais que cet effet est supérieur à la somme des effets induits individuellement par les SODs et les inhibiteurs de 5-LO ; on observe donc un effet de synergie qui n'est par ailleurs pas obtenu avec tous les inhibiteurs de la 5-LO. C'est cette découverte qui est à la base de la présente Invention.

La présente Invention a donc pour objet une composition pharmaceutique ou diététique, caractérisée par le fait qu'elle renferme, dans un support pharmaceutiquement ou diététiquement acceptable :

- au moins un inhibiteur de la 5-lipoxygénase sélectionné dans le groupe constitué par l'acide nordihydroguairétique (NDGA), le racémate de l'acide α -méthyl 2-fluoro [1,1'-biphényl]-4-acétique (Flurbiprofen) et les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 comportant 18 ou 20 atomes de carbone et au moins
5 3 liaisons insaturées, et

- au moins une superoxyde dismutase ;
ladite composition étant exempte de dérivés de la pyrimidine 3-oxyde.

La demande internationale WO 92/01437 décrit des compositions
10 destinées à freiner la chute de cheveux à base de dérivés de pyrimidine 3-oxyde à titre de principe actif et pouvant en outre renfermer de la superoxyde dismutase et des acide gras tels que l'acide linoléique et l'acide linoléique. De telles compositions ne font pas partie de l'Invention.

Les Inventeurs ont démontré que, de manière surprenante, lorsqu'on
15 utilise une composition conforme à la présente Invention et telle que définie précédemment, l'effet anti-inflammatoire qui est observé est supérieur à la somme des effets anti-inflammatoires observé avec chacun des composés testés individuellement dans les mêmes conditions.

Selon l'Invention, les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3
20 sont de préférence choisis parmi l'acide linoléique (C18 ; 3n-3), l'acide 5,8,11,14-éicosatetraénoïque, l'acide éicosapentaénoïque (C20, 4n-3), l'acide éicosatriénoïque et leurs mélanges.

Selon une forme de réalisation avantageuse, la composition
conforme à l'Invention renferme un mélange d'acide linoléique, d'acide 5,8,11,14-
25 éicosatetraénoïque et d'acide éicosapentaénoïque. Un tel mélange est en particulier contenu dans le produit commercial vendu sous la dénomination LYPRINOL®.

Parmi les SODs pouvant être présentes au sein de la composition
conforme à l'Invention, on peut en particulier citer les SODs d'origine animale,
végétale ou bactérienne telles que par exemple la SOD cuivre/zinc (SOD Cu/Zn)
30 d'origine bovine, la SOD manganèse (SOD-Mn) extraite des mitochondries, la SOD fer (SOD-Fe), les SOD extraites des plantes comme par exemple du melon ou des brocolis, ainsi que les SODs recombinantes d'origine humaine, animale ou végétale.

Selon une forme de réalisation préférée de l'Invention, la ou les SODs utilisées sont combinées à au moins un vecteur apte à faciliter le passage transmembranaire des SODs. Un tel vecteur peut en particulier être choisi parmi les prolamines d'origine végétale telles que par exemple les prolamines de blé (gliadine),
5 de maïs (zéine) ou de riz, les céramides et les polypeptides riches en arginine et/ou en lysine.

Selon l'Invention, on entend par polypeptides riches en arginine ou en lysine, des polypeptides dans lesquels l'arginine et/ou la lysine représente au moins 60 à 70 % environ de la teneur total en acides aminés. Parmi ces polypeptides, on peut
10 en particulier citer la polylysine, ainsi que les polypeptides issus par exemple de la protéine Tat du VIH-1.

Des SODs combinées à des prolamines ou à des céramides sont plus particulièrement décrites dans le brevet EP 804 225 au nom de la Demanderesse ; cette combinaison permettant notamment d'augmenter la biodisponibilité de la SOD
15 lorsqu'elle administrée par voie orale.

L'utilisation de polypeptides riches en arginine ou en lysine pour faciliter l'internalisation des protéines dans les cellules est notamment décrite dans l'article de Fawell S. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91, 664-668.

Au sein de la composition conforme à l'Invention, le rapport
20 pondéral SOD(s)/inhibiteur(s) de la 5-LO est de préférence compris entre 5/1 et 1/1 lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-LO sont choisis parmi le NDGA et le Flurbiprofen et entre 7/1 et 1/1 lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-LO sont choisis parmi les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 tels que ceux définis précédemment.

Selon une forme de réalisation particulièrement préférée de
25 l'Invention, le rapport pondéral SOD(s)/inhibiteur(s) de la 5-LO est de 2/1 environ lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-LO sont choisis parmi le NDGA et le Flurbiprofen et de 3/1 environ lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-LO sont choisis parmi les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 tels que ceux définis précédemment.

La composition conforme à l'Invention peut également renfermer un
30 ou plusieurs principes actifs additionnels tels que ceux utilisés dans les compositions pharmaceutiques ou diététiques destinées à prévenir et/ou à traiter les états inflammatoires, et parmi lesquels on peut notamment citer les autres principes actifs

anti-inflammatoires, les oligo-éléments, les vitamines, la D-glucosamine, les méthylsulfones, etc...

Le véhicule pharmaceutiquement ou diététiquement acceptable selon l'Invention est de préférence constitué par un ou plusieurs excipients classiquement
5 utilisés pour la préparation de compositions pharmaceutiques ou diététiques, tels que des anti-agglomérants, des anti-oxydants, des colorants, des agents modifiants du goût, des édulcorants, des agents de lissage, de montage, d'isolation et de manière générale, tout excipient classiquement utilisé dans l'industrie pharmaceutique ou diététique.

10 Bien entendu, l'homme de l'art veillera à cette occasion à ce que le ou les excipients éventuellement utilisés soient compatibles avec les propriétés intrinsèques attachées à la composition objet de la présente Invention.

Selon une forme de réalisation particulière de l'Invention, la composition pharmaceutique ou diététique peut se présenter sous la forme d'un kit
15 comprenant au moins une composition (A) renfermant au moins un inhibiteur de la 5-LO tel que défini précédemment et au moins une composition (B) renfermant au moins une superoxyde dismutase, lesdites compositions (A) et (B) étant destinées à être mélangées ensemble au moment de l'emploi.

La composition pharmaceutique ou diététique conforme à
20 l'Invention est destinée à être administrée par voie orale, et peut être formulée sous diverses formes, telles que sous forme sèche, pâteuse, semi-pâteuse, huileuse, liquide ou semi-liquide. Elle peut donc se présenter sous la forme de comprimés, de gélules, de solutions ou suspensions buvables, de tablettes, ou sous toute autre forme appropriée au mode d'administration.

25 Lorsqu'elle est destinée à être utilisée en diététique, la composition conforme à l'Invention peut en outre être incorporée à titre d'ingrédient, dans des produits alimentaires comme par exemple des biscuits, des barres énergétiques, des poudres pour boissons, des boissons, etc... L'Invention a donc également pour objet un produit alimentaire renfermant, à titre d'ingrédient, au moins une composition
30 conforme à l'Invention et telle que définie précédemment.

La composition pharmaceutique ou diététique conforme à l'Invention présente les propriétés de pouvoir être notamment utilisée pour la

prévention et/ou le traitement des états inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.

La présente Invention a donc également pour objet l'utilisation d'au moins une composition telle que définie précédemment à titre de médicament, et en particulier à titre de médicament destiné à la prévention et/ou au traitement des états inflammatoires chroniques, d'origine allergique ou non.

Dans ce cas, la composition pharmaceutique conforme à l'Invention est de préférence administrée à des doses permettant de délivrer de 10 à 20 mg/jour/kg de SOD environ et de 30 à 60 mg/jour/kg d'inhibiteur de la 5-LO.

La présente Invention a également pour objet l'utilisation d'au moins une composition telle que définie précédemment à titre de produit diététique, et en particulier à titre de produit diététique (ou nutraceutique) destiné à la prévention des états inflammatoires chroniques, d'origine allergique ou non.

Dans ce cas, la composition conforme à l'Invention est de préférence administrée à des doses permettant de délivrer de 5 à 10 mg/jour/kg de SOD environ et de 15 à 30 mg/jour/kg d'inhibiteur de la 5-LO (supplémentation).

Enfin, l'Invention a pour objet l'utilisation d'au moins une composition telle que définie précédemment pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou traitement des états inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non ou pour la préparation d'un produit diététique (ou nutraceutique) destiné à la prévention des états inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.

Outre les dispositions qui précèdent, l'Invention comprend encore d'autres dispositions qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à un exemple décrivant l'étude de l'effet anti-inflammatoire (par la quantification de la production d'IL-10 endogène) d'une association de SOD-Cu/Zn bovine combinée à un polypeptide issu de la protéine Tat du VIH-1 et de NDGA ou de LYPRINOL® comparativement à chacun de ces composés testés individuellement, et à un exemple décrivant l'étude de l'effet anti-inflammatoire (par la quantification de la production d'IL-10 endogène) d'une association de SOD-Cu/Zn combinée à un polypeptide issu de la protéine Tat du VIH-1 et de différents acides gras polyinsaturés ou d'inhibiteurs

chimiques de la 5-LO comparativement à chacun de ces composés testés individuellement.

Il doit être bien entendu toutefois que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'Invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1 : ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE (PAR LA PRODUCTION D'IL-10 ENDOGENE) D'UNE ASSOCIATION DE SOD Cu/Zn BOVINE COMBINEE A UN POLYPEPTIDE ET DE NDGA OU DE LYPRINOL®

1) Principe de l'étude

Des monocytes humains sont d'abord préactivés par des composés capables d'induire un état inflammatoire :

- soit par l'intermédiaire de l'interféron- γ pour induire une inflammation de type Th1 (production d'IFN- γ par les lymphocytes T),

- soit par l'intermédiaire de l'interleukine-4 (IL-4) pour induire une inflammation de type Th2 (production d'IL-4 par les lymphocytes T).

Les cellules ainsi préactivées sont ensuite stimulées respectivement par des lipopolysaccharides (LPS) bactériens ou par un anticorps monoclonal anti-CD23 (clone 135 fourni par l'Hôpital Notre Dame, Montréal, Canada ; immunoglobulines G1 (IgG1) de souris) qui reconnaît spécifiquement le récepteur de basse affinité pour les IgE ; afin de déclencher le processus inflammatoire.

Les monocytes sont ensuite mis en contact avec les composés anti-inflammatoires à tester (SODs et inhibiteurs de la 5-LO) de façon à en évaluer les propriétés anti-inflammatoires par le biais de la mesure de la quantité d'anti-inflammatoire produit de façon endogène par les cellules (quantité d'IL-10).

2) Matériel et méthode

En pratique, des monocytes humains normaux (10^6 cellules/ml), obtenus après adhérence des cellules mononucléées circulantes de patients normaux, c'est-à-dire non allergiques et ne présentant aucun signe clinique traduisant un état inflammatoire, sont cultivées pendant 24 heures dans un milieu de culture Dubelco Eagle Modified (DEM) additionné de 1 % en poids de sérum de veau foetal (SVF)

sans endotoxine (Gibco, France), de 10 µg/ml d'une solution de streptomycine à 5 %, et de 10 mM de pyruvate de sodium, en présence de 30 ng/ml d'IFN-γ ou d'IL-4.

Après culture, les cellules activées sont ensuite reprises dans du milieu frais à raison de 5.10^5 cellules par ml.

5 Les cellules qui ont été activées par l'IFN-γ sont ensuite stimulées par 1 ng/ml de lipopolysaccharide d'*E. Coli* vendu sous la dénomination commerciale LPS par la société SIGMA.

Les cellules qui ont été activées par l'IL-4 sont ensuite stimulées par 10 µg/ml d'anticorps anti-CD23 clone 135.

10 Les cultures de cellules sont alors mises en contact avec les composés anti-inflammatoires :

- SOD-Cu/Zn d'origine bovine (vendue par la société SIGMA), combinée au peptide issu de la protéine Tat du VIH-1 (vendu sous la dénomination commerciale Chariot® par la société Active Motif, Belgique) (SOD-vectorisée), en solution dans du milieu de culture, à raison de µg/ml. La SOD vectorisée est préparée en faisant incuber 1 µg de SOD-Cu/Zn bovine en suspension dans du milieu de culture avec 30 µg de polypeptide, pendant 30 minutes à température ambiante.

- NDGA, vendu par la société Calbiochem, à raison de 10 µg/ml,
- Lyprinol®, à raison de 10 µg/ml.
20 - mélange de SOD-vectorisée et de NDGA en proportions 1/3, à raison de 1 µg/ml pour la SOD-vectorisée et de 3 µg/ml pour le NDGA ou
- mélange de SOD-vectorisée et de Lyprinol® en proportions 1/3, à raison de 1 µg/ml pour la SOD-vectorisée et de 3 µg/ml pour le Lyprinol®.

Par ailleurs, une culture de cellules dans laquelle aucun composé anti-inflammatoire n'a été ajouté a également été réalisée afin de servir de contrôle. Ce contrôle permet de connaître le taux de base de la production endogène d'IL-10 après activation et stimulation.

La quantité de cytokine endogène IL-10 produite par les cellules est évaluée par dosage dans les surnageants de culture 24 heures après la stimulation et la mise en contact avec les anti-inflammatoires à tester, à l'aide d'un kit de dosage commercialisé sous la dénomination Quantikine® Human IL-10 EIA Kit par la société R&D system, (GB) et selon la méthode spécifiée par le fabricant.

3) Résultats

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau I ci-après :

TABLEAU I

Produits testés	Quantité de IL-10 (en pg/ml)	
	Activation/Stimulation : IFN- γ /LPS	Activation/Stimulation : IL-4/anti-CD23
Contrôle	200	180
SOD-vectorisée *	290	250
NDGA *	210	195
Lyprinol® *	305	300
SOD-vectorisée + NDGA	690	600
SOD-vectorisée + Lyprinol®	910	890

* résultats comparatifs ne faisant pas partie de l'invention

5 Ces résultats montrent que de façon surprenante l'association d'une SOD et de NDGA ou de Lyprinol® a un effet synergique très important sur la production de cytokine IL-10 par les cellules. Cette association permet donc d'induire la production de ce promoteur anti-inflammatoire endogène de façon beaucoup plus importante que lorsque la SOD ou le NDGA ou le Lyprinol® sont utilisés
10 individuellement. Ces résultats sont d'autant plus remarquables que les valeurs obtenues pour le NDGA seul montrent que celui-ci n'a pratiquement pas d'effet sur la production endogène d'IL-10.

**EXEMPLE 2 : ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE (PAR LA PRODUCTION D'IL-10 ENDOGENE) D'UNE
15 ASSOCIATION DE SOD Cu/Zn BOVINE COMBINEE A UN POLYPEPTIDE ET DE DIFFERENTS INHIBITEURS DE LA 5-LO**

Cette étude a été réalisée selon le même protocole que celui décrit ci-dessus à l'exemple 1 sauf que l'activation et la stimulation des cellules ont seulement été effectuées par le couple IL-4/anti-CD23.

20 Dans cet exemple, trois acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 conformes à l'invention (l'acide linoléique, l'acide 5,8,11,14-éicosatétraynoïque, l'acide éicosapentaénoïque et l'acide éicosatriynoïque) ainsi que le Flurbiprofen ont été

testés, en association ou non avec de la SOD-Cu/Zn vectorisée telle que décrite ci-dessus à l'exemple 1.

A titre comparatif, d'autres inhibiteurs de la 5-LO connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires ont également été testés, individuellement et en association avec la SOD-vectorisée (Baicalein, acide caféique, l'acide linoléique, l'acide docosapentaénoïque et l'acide docosahexaénoïque).

La SOD-vectorisée a été utilisée à raison de 4 µg/ml de culture cellulaire, et les inhibiteurs de la 5-LO ont été utilisés à raison de 10 µg/ml de culture cellulaire.

Les résultats obtenus sur la quantité de IL-10 produite par les cellules sont reportés dans le tableau II ci-après :

A titre de référence, lorsque la SOD-vectorisée est utilisée seule, un taux d'IL-10 de 220 pg/ml de surnageant est obtenu, le taux de référence de la quantité d'IL-10 produite par les cellules dans le surnageant (contrôle) étant de 120 pg/ml.

TABLEAU II

Produits testés	Quantité d'IL-10 (en pg/ml)	
	Composé utilisé seul	Composé utilisé avec la SOD-vectorisée
Acide linoléique	180	420 **
Acide 5,8,11,14-éicosatetraénoïque	190	450 **
Acide éicosapentaénoïque	200	510 **
Acide éicosatriénoïque	190	420 **
Flurbiprofen	80	320 **
Baicalein *	120	230
Acide caféique *	120	190
Acide linoléique *	150	300
Acide docosapentaénoïque *	120	210
Acide docosahexaénoïque *	130	210

* Inhibiteur de la 5-LO ne faisant pas partie de l'invention

** Résultats significatifs de l'effet de synergie entre la SOD-vectorisée et l'inhibiteur de la 5-LO testé (c'est-à-dire que l'effet obtenu avec

l'association est supérieur à la somme des effets obtenus avec chacun des composés testé individuellement).

Ces résultats montrent que seules les associations conformes à la présente Invention, c'est-à-dire renfermant de la SOD et un inhibiteur de la 5-LO
5 convenablement sélectionné, permettent d'obtenir un effet de synergie sur la production endogène d'IL-10.

REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique ou diététique, caractérisée par le fait qu'elle renferme, dans un support pharmaceutiquement ou diététiquement acceptable :

5 - au moins un inhibiteur de la 5-lipoxygénase sélectionné dans le groupe constitué par l'acide nordihydroguairétique (NDGA), le racémate de l'acide α -méthyl 2-fluoro [1,1'-biphényl]-4-acétique (Flurbiprofen) et les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 comportant 18 ou 20 atomes de carbone et au moins 3 liaisons insaturées, et

10 - au moins une superoxyde dismutase ;

ladite composition étant exempte de dérivés de la pyrimidine 3-oxyde.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée par le fait que les acide gras polyinsaturés de la série oméga-3 sont choisis parmi l'acide linoléique (C18 ; n-3), l'acide 5,8,11,14-éicosatétraynoïque, l'acide éicosapentaénoïque, l'acide éicosatriynoïque et leurs mélanges.

3. Composition selon la revendication 2, caractérisée par le fait qu'elle renferme un mélange d'acide linoléique, d'acide 5,8,11,14-éicosatétraynoïque et d'acide éicosapentaénoïque.

20 4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les SODs sont choisies parmi les SODs d'origines animale, végétale, bactérienne, et les SODs recombinantes d'origine humaine, animale ou végétale.

25 5. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que la ou les SODs sont combinées à au moins un vecteur apte à faciliter le passage transmembranaire des SODs.

6. Composition selon la revendication 5, caractérisée par le fait que ledit vecteur est choisi parmi les prolamines d'origine végétale, les céramides et les polypeptides riches en arginine et/ou en lysine.

30 7. Composition selon la revendication 6, caractérisée par le fait que les prolamines végétales sont choisies parmi les prolamines de blé (gliadine), de maïs (zéïne) et de riz.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que le rapport pondéral SOD(s)/inhibiteur(s) de la 5-lipoxygénase est compris entre 5/1 et 1/1 lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-lipoxygénase sont choisis parmi le NDGA et le Flurbiprofen et entre 7/1 et 1/1
5 lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-lipoxygénase sont choisis parmi les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 3.

9. Composition selon la revendication 8, caractérisée par le fait que le rapport pondéral SOD(s)/inhibiteur(s) de la 5-lipoxygénase est de 2/1 lorsque le ou
10 les inhibiteurs de la 5-lipoxygénase sont choisis parmi le NDGA et le Flurbiprofen et de 3/1 lorsque le ou les inhibiteurs de la 5-lipoxygénase sont choisis parmi les acides gras polyinsaturés de la série oméga-3 tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 3.

10. Composition selon l'une quelconque des revendications
15 précédentes, caractérisée par le fait qu'elle renferme en outre un ou plusieurs principes actifs additionnels.

11. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme d'un kit comprenant au moins une composition (A) renfermant au moins un inhibiteur de la
20 5-LO tel que défini précédemment et au moins une composition (B) renfermant au moins une superoxyde dismutase, lesdites compositions (A) et (B) étant destinées à être mélangées ensemble au moment de l'emploi.

12. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait qu'elle est destinée à être administrée par voie
25 orale et se présente sous la forme de comprimés, de gélules, de solutions ou suspensions buvables, de tablettes, ou sous toute autre forme appropriée à ce mode d'administration.

13. Produit alimentaire caractérisé par le fait qu'il renferme, à titre d'ingrédient, au moins une composition telle que définie à l'une quelconque des
30 revendications 1 à 10.

14. Utilisation d'au moins une composition telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 12, à titre de médicament.

15. Utilisation selon la revendication 14, caractérisée par le fait que le médicament est destiné à la prévention et/ou au traitement des états inflammatoires chroniques, d'origine allergique ou non.

5 16. Utilisation d'au moins une composition telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 12, à titre de produit diététique.

17. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée par le fait que ledit produit diététique est destiné à la prévention des états inflammatoires chroniques, d'origine allergique ou non.

10 18. Utilisation d'au moins une composition telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 12, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement des états inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.

15 19. Utilisation d'au moins une composition telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 12, pour la préparation d'un produit diététique ou nutraceutique destiné à la prévention des états inflammatoires chroniques d'origine allergique ou non.