

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①1 N° de publication : **3 150 714**

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

②1 N° d'enregistrement national : **23 07120**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 61 K 36/31 (2023.01)**, A 61 P 1/16, 3/06, 35/00,
A 23 L 19/10, 19/20, 33/105

⑫

DEMANDE DE CERTIFICAT D'UTILITE

A3

⑫② Date de dépôt : 04.07.23.

③⑩ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 10.01.25 Bulletin 25/02.

⑤⑥ Les certificats d'utilité ne sont pas soumis à la
procédure de rapport de recherche.

⑥⑩ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : SYNGEN BIOTECH CO., LTD.
Société de droit taïwanais — TW.

⑦② Inventeur(s) : Chen Wei-Jen, Chu Hui-Fang, Liu
Cheng-Yen, Huang Pin-Jie, Chang Yu-Cheng et Tseng
Ming-Chung.

⑦③ Titulaire(s) : SYNGEN BIOTECH CO., LTD. Société
de droit taïwanais.

⑦④ Mandataire(s) : Cabinet Chaillot.

⑤④ Poudre de légume de Brassica oleracea ou composition la contenant pour réguler le syndrome
métabolique.

⑤⑦ Poudre de légume de Brassica oleracea ou compo-
sition la contenant pour réguler le syndrome métabolique

La présente invention concerne l'utilisation d'une poudre
de légume de Brassica oleracea pour réguler le syndrome
métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique,
pour réduire la teneur en cholestérol et en triglycérides dans
les cellules et obtenir l'effet d'amélioration ou de prévention
du syndrome métabolique ou d'une maladie liée au syn-
drome métabolique, par l'administration à un individu d'une
quantité efficace de la poudre de légume de Brassica olera-
cea ou d'une composition contenant la poudre de légume de
Brassica oleracea.

FR 3 150 714 - A3



Description

Titre de l'invention : Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour réguler le syndrome métabolique

ARRIERE-PLAN DE L'INVENTION

1. Domaine technique

[0001] La présente invention concerne une seconde utilisation des légumes de *Brassica oleracea*, en particulier une composition contenant des légumes de *Brassica oleracea* pour réguler le syndrome métabolique.

[0002] 2. Description de l'état de la technique apparenté

[0003] Comme les repas occidentaux et raffinés sont populaires auprès des gens d'aujourd'hui, la plupart de ces repas sont des repas pauvres en fibres, riches en sucres et riches en graisses, ce qui entraîne une augmentation de la proportion de patients souffrant du syndrome métabolique. Le syndrome dit métabolique est un terme général désignant les anomalies de la pression artérielle, des lipides sanguins, de la glycémie et du tour de taille, qui indiquent que la santé d'un individu est exposée à des risques élevés. Si les patients atteints du syndrome métabolique ne contrôlent pas activement leur régime alimentaire, ne modifient pas leurs habitudes de vie et n'augmentent pas la fréquence de l'exercice physique, ils seront confrontés à un risque plus élevé d'hypertension artérielle, de diabète, d'hyperlipidémie, de maladies cardiaques et d'accidents vasculaires cérébraux que les personnes ne souffrant pas du syndrome métabolique. Selon les données publiées par l'Organisation Mondiale de la Santé, une consommation adéquate de légumes et de fruits peut prévenir les maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, les cancers, le diabète et l'obésité.

[0004] *Brassica oleracea* appartient au genre *Brassica* dans la famille des crucifères, dans laquelle le brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) et le chou frisé (*Brassica oleracea* var. *sabellica* L.) sont des légumes largement consommés. Les légumes de *Brassica oleracea*, riches en vitamine C et en fibres alimentaires ainsi qu'en divers nutriments et composés phytochimiques, tels que l'indole-3-carbinol, le 3,3'-diindolylméthane, le sulforaphane et similaires, ont une forte capacité antioxydante et l'effet d'inhiber les cellules tumorales. Cependant, personne n'a encore parlé de l'efficacité des légumes de *Brassica oleracea* pour réguler les lipides sanguins, la glycémie ou le poids corporel.

BREF RÉSUMÉ DE L'INVENTION

[0005] Un objectif principal de la présente invention est de proposer une poudre de légume de *Brassica oleracea* ou une composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique. En raison du fait que la poudre de légume de *Brassica oleracea* obtenue par le procédé spécial

divulgué dans la présente invention a pour effet d'inhiber la production et l'accumulation des graisses, la poudre de légume de *Brassica oleracea* peut efficacement réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique.

[0006] Un autre objectif de la présente invention est de proposer une poudre de légume de *Brassica oleracea* ou une composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, dans laquelle la poudre de légume de *Brassica oleracea* présentant une sécurité élevée pour les personnes et une activité de régulation du syndrome métabolique ou d'une maladie liée au syndrome métabolique peut être fournie de telle sorte que les individus n'aient pas de problèmes de santé après avoir pris la poudre de légume de *Brassica oleracea* pendant une longue période de temps.

[0007] Par conséquent, afin d'atteindre les objectifs susmentionnés, la présente invention divulgue une poudre de légume de *Brassica oleracea* ou une composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, et la poudre de légume de *Brassica oleracea* contient au moins un composé polyphénol. Par l'administration à un individu de la composition pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, il est possible d'obtenir efficacement l'effet de prévention ou d'amélioration du syndrome métabolique ou d'une maladie liée au syndrome métabolique.

[0008] La composition peut être un aliment, un complément alimentaire, un aliment fonctionnel ou un médicament, et la composition peut être préparée sous différentes formes de dosage ou sous différentes formes, telles que des poudres, des pastilles, des gélules, des boissons, des biscuits, des bonbons, des sachets à infuser et similaires.

[0009] Une maladie liée au syndrome métabolique est une maladie liée à un métabolisme anormal des graisses dans le foie, telle que la stéatose hépatique, le cancer du foie, l'hyperlipidémie, le diabète et similaires.

[0010] Dans un mode de réalisation de la présente invention, la poudre de légume de *Brassica oleracea* est préparée à partir d'une matière première de légume de *Brassica oleracea* par des procédés d'extraction et de séchage, la matière première de légume de *Brassica oleracea* étant le brocoli ou le chou frisé.

[0011] **BRÈVE DESCRIPTION DES DIFFÉRENTES VUES DES DESSINS**

[0012] [Fig.1] présente les résultats de détection et d'analyse de la teneur en triglycérides dans des groupes de cellules HepG2 dans un modèle à haute teneur en huile et à haute teneur en glucose après différents traitements d'échantillon.

[0013] [Fig.2] présente les résultats de test et d'analyse de la teneur en cholestérol total dans des groupes de cellules HepG2 dans un modèle à haute teneur en huile et à haute teneur en glucose après différents traitements d'échantillon.

[0014] [Fig.3] présente les résultats de détection et d'analyse de la teneur en lipides dans des groupes de cellules HepG2 dans un modèle riche en graisses après différents traitements d'échantillon.

[0015] [Fig.4] présente les résultats de test et d'analyse de la teneur en lipides dans des groupes de cellules 3T3-L1 après différents traitements d'échantillon.

DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INVENTION

[0016] La présente invention concerne une poudre de légume de *Brassica oleracea* ou une composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique. Spécifiquement, la poudre de légume de *Brassica oleracea* a une activité d'inhibition de la production et de l'accumulation des graisses. Par conséquent, l'administration d'une quantité efficace de poudre de légume de *Brassica oleracea* à un individu permet de réduire les teneurs en cholestérol et en triglycérides des cellules et d'améliorer ou de prévenir le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique.

[0017] Dans des modes de réalisation, la poudre de légume de *Brassica oleracea* peut être préparée en une composition destinée à réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique. La composition est un aliment, un complément alimentaire ou un médicament ; et la composition peut être préparée sous différentes formes de dosage en fonction des besoins d'utilisation, telles que les pastilles, les gélules, les poudres, les liquides et similaires.

[0018] L'individu désigne ici une personne ayant une alimentation habituelle riche en huile, riche en glucose et/ou riche en graisses.

[0019] Dans les modes de réalisation de la présente invention, la poudre de légume de *Brassica oleracea* contient au moins un composé polyphénol. La poudre de légume de *Brassica oleracea* est une poudre d'extraction préparée à partir d'une matière première de légume de *Brassica oleracea* par des procédés d'extraction, de séchage et similaires. De façon courante, le procédé de séchage comprend le séchage à air chaud à basse température, le séchage à air chaud à haute température et la lyophilisation.

[0020] La matière première de légume de *Brassica oleracea* est le brocoli ou le chou frisé.

[0021] Dans les modes de réalisation de la présente invention, une maladie liée au syndrome métabolique est une maladie liée à un métabolisme anormal des graisses dans le foie. Spécifiquement, la maladie liée au syndrome métabolique est la stéatose hépatique, le cancer du foie ou autres maladies du foie.

[0022] Afin d'illustrer les caractéristiques techniques et les effets de la présente invention, des exemples expérimentaux seront donnés ci-après, et ils seront décrits comme suit en référence aux dessins.

[0023] Les cellules utilisées dans les exemples expérimentaux suivants sont toutes dis-

ponibles dans le commerce, de telle sorte qu'aucun dépôt de brevet supplémentaire n'est nécessaire.

[0024] Exemple expérimental 1 : Préparation d'une poudre de légume de *Brassica oleracea*

[0025] Des brocolis et des choux frisés biologiques ont été pris et soumis séparément aux procédés de prérefroidissement, de lavage, de coupe, de blanchissement, de séchage, de concassage et de broyage pour obtenir de la poudre de brocoli et de la poudre de chou frisé.

[0026] Exemple expérimental 2 : Préparation d'une solution de légume

[0027] La poudre de brocoli et la poudre de chou frisé obtenues dans l'Exemple expérimental 1 ont été ajoutées à de l'eau désionisée pour préparer des solutions de suspension à 1 % en poids et 5 % en poids respectivement. Les solutions de suspension ont été extraites par vibration ultrasonique pendant 30 min, puis centrifugées. Le surnageant a été filtré avec une membrane filtrante de 0,22 µm pour obtenir un extrait de brocoli et un extrait de chou frisé.

[0028] Exemple expérimental 3 : Test sur la capacité de piégeage des radicaux libres

[0029] On a pris 0,2 mL de solution dans le méthanol à 5 % en poids (concentration de 100-1000 µg/mL) qu'on a ajouté à 0,8 mL de solution dans le méthanol de DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) 0,25 mM fraîchement préparée. L'extrait de brocoli et l'extrait de chou frisé ont été ajoutés séparément à la solution résultante, puis bien mélangés et mis à réagir pendant 30 min. Les valeurs d'absorbance des solutions réactionnelles ont été déterminées à la longueur d'onde de 517 nm pour calculer la capacité de piégeage des radicaux libres de chaque solution de légume comme suit :

[0030] Capacité de piégeage des radicaux libres déterminée par DPPH (%) = (valeur d'absorbance du groupe témoin - valeur d'absorbance de l'échantillon)/valeur d'absorbance du groupe témoin × 100%.

[0031] Les résultats de détection et d'analyse ci-dessus montrent que la capacité de piégeage des radicaux libres déterminée par DPPH du brocoli est de 50,3 % et que la capacité de piégeage des radicaux libres déterminée par DPPH du chou frisé est de 67,4 %.

[0032] Exemple expérimental 4 : Test sur la teneur en polyphénols totaux

[0033] Dans cet exemple expérimental, la teneur en polyphénols totaux dans la poudre de brocoli et la poudre de chou frisé a été déterminée par la méthode Folin-Ciocaltea.

Dans le test, la longueur d'onde était de 750 nm ; la solution d'acide gallique a été utilisée pour réaliser la courbe d'étalonnage standard ; la teneur en polyphénols totaux de chaque échantillon a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique pour 100 grammes de poids de matière sèche.

[0034] D'après les résultats de test et d'analyse, la teneur en polyphénols totaux de la poudre de brocoli est de 2,62 mg/g et la teneur en polyphénols totaux de la poudre de chou frisé est de 4,5 mg/g. On peut constater que le brocoli et le chou frisé contiennent tous

deux une teneur extrêmement élevée en polyphénols totaux. En outre, sur la base de la corrélation positive entre la teneur en polyphénols et la capacité de piégeage des radicaux libres et en combinaison avec les résultats de l'Exemple expérimental 3, on peut conclure que le brocoli et le chou frisé sont des légumes à forte activité de piégeage des radicaux libres.

[0035] Exemple expérimental 5 : Test cellulaire (I)

[0036] Des cellules HepG2 (BCRC RM60025) ont été inoculées dans un plateau de culture avec une quantité de 4×10^5 cellules/puits, et incubées dans du DMEM (Milieu d'Eagle modifié par Dulbecco) avec 10% en poids de sérum bovin fœtal et 1% en poids de P/S (pénicilline et streptomycine) dans un incubateur à 37 °C en présence de 5% en poids de CO₂ pendant 24 h. Lorsque les cellules se sont développées à environ 7-80% de la croissance complète, les cellules ont été traitées avec 300 µM d'acide palmitique et 100 mM de fructose. Les groupes expérimentaux ont été traités ensemble avec 10 µM de curcumine, 1 % en poids d'extrait de brocoli et 1 % en poids d'extrait de chou frisé pendant 24 h. Ensuite, des kits de détection des triglycérides et de cholestérol total ont été utilisés pour analyser la teneur en triglycérides et la teneur en cholestérol total dans les cellules, et les résultats sont présentés dans les Figures 1 et 2.

[0037] Les résultats des Figures 1 et 2 montrent que, par comparaison avec le groupe témoin, les groupes expérimentaux présentent une diminution d'environ 46 % de la teneur en cholestérol dans les cellules co-incubées avec le brocoli ou le chou frisé, une diminution d'environ 42 % de la teneur en triglycérides dans les cellules co-incubées avec l'extrait de brocoli et une diminution d'environ 44 % de la teneur en triglycérides dans les cellules co-incubées avec l'extrait de chou frisé.

[0038] Ces résultats montrent que les légumes de *Brassica oleracea* peuvent effectivement inhiber l'activité de synthèse des lipides dans le foie. Par conséquent, l'administration d'une quantité efficace de la poudre de légume de *Brassica oleracea* ou d'une composition contenant la poudre de légume de *Brassica oleracea* à un individu ayant un régime alimentaire habituel riche en huile et/ou riche en graisses peut inhiber la synthèse et le métabolisme des acides gras et fructose en excès en triglycérides dans le foie, ce qui permet de prévenir ou d'améliorer la stéatose hépatique ou autres maladies causées par un métabolisme anormal des graisses.

[0039] Exemple expérimental 6 : Test cellulaire (II)

[0040] Des cellules HepG2 (BCRC RM60025) ont été inoculées dans un plateau de culture avec une quantité de 6×10^4 cellules/puits, et incubées dans du DMEM (Milieu d'Eagle modifié par Dulbecco) avec 10% en poids de sérum bovin fœtal et 1% en poids de P/S dans un incubateur à 37 °C en présence de 5% en poids de CO₂ pendant 24 h. Lorsque les cellules se sont développées à environ 7-80% de la croissance complète, les cellules ont été traitées avec 16 µM d'acide gras libre. Les groupes expérimentaux ont été

traités ensemble avec 25 μM de curcumine, 1 % en poids d'extrait de brocoli et 1 % en poids d'extrait de chou frisé pendant 24 h. Ensuite, les groupes de cellules ont été respectivement soumis à la coloration Oil Red O et l'accumulation de gouttelettes d'huile dans chaque groupe de cellules a été analysée. Les résultats sont présentés dans la [Fig.3].

- [0041] Les résultats de la [Fig.3] montrent que, dans le modèle de cellules de stéatose hépatique induite par une haute teneur en graisses, les cellules HepG2 du groupe témoin ont produit une accumulation importante de graisses dans le foie ; le traitement par l'extrait de *Brassica oleracea* permet de ralentir efficacement l'accumulation de graisses dans les cellules hépatiques. Si les cellules sont traitées avec de l'extrait de chou frisé ou avec de l'extrait de brocoli en même temps qu'un traitement à haute teneur en graisses, l'accumulation de graisses dans les cellules hépatiques peut être ralentie de manière efficace.
- [0042] L'analyse complète des résultats des Exemples expérimentaux 5 et 6 montre que les légumes de *Brassica oleracea* et leurs poudres divulgués dans la présente invention ont une activité d'inhibition de l'accumulation de graisses dans le foie. Cela signifie que, par l'administration d'une quantité efficace des légumes de *Brassica oleracea* et de leurs poudres à un individu ayant un régime alimentaire habituel riche en graisses, il est possible de traiter ou d'améliorer efficacement la stéatose hépatique ou autres maladies causées par un métabolisme anormal des graisses.
- [0043] Exemple expérimental 7 : Test cellulaire (III)
- [0044] Des cellules 3T3-L1 (BCRC 60159) ont été inoculées et incubées dans un plateau de culture à 12 puits avec une quantité de $1,5-2 \times 10^5$ cellules/puits ou dans un plateau de culture à 24 puits avec une quantité de $5-7 \times 10^4$ cellules/puits. Le plateau de culture cellulaire doit être prétraité avec 0,1 % en poids de gélatine O/N avant l'incubation. Les cellules ont été incubées pendant environ 2 à 3 jours jusqu'à ce que les cellules aient atteint leur croissance maximale, puis un réactif de différenciation (0,5 mM méthylisobutylxanthine + 1 μM dexaméthasone + 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ insuline + 2 μM Rosiglitazone, préparé dans un milieu de culture) a été ajouté pour induire la différenciation pendant 48 h. 48 h plus tard, le milieu de culture a été retiré, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d'insuline (préparée dans un milieu de culture) ont été ajoutés, et les groupes expérimentaux ont été traités ensemble avec 25 μM de resvératrol, 25 μM de curcumine, 1 % en poids d'extrait de brocoli et 1 % en poids d'extrait de chou frisé et incubés pendant 6 jours, et le milieu de culture contenant 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d'insuline a été remplacé tous les 2 jours. Une fois la culture cellulaire terminée, les cellules ont été soumises à une coloration Oil Red O, et les résultats d'analyse statistique sont présentés à la [Fig.4].
- [0045] Les résultats de la [Fig.4] montrent que, par comparaison avec le groupe témoin, les groupes expérimentaux présentent une diminution de la teneur en lipides des cellules

traitées avec l'extrait de brocoli ou l'extrait de chou frisé, ce qui indique que l'extrait de brocoli ou l'extrait de chou frisé peut inhiber la formation de gouttelettes d'huile. En outre, l'effet de l'extrait de brocoli sur l'inhibition de la formation de gouttelettes d'huile est meilleur que celui du resvératrol ou de la curcumine.

[0046] Exemple expérimental 8 : Test cellulaire (III)

[0047] Des cellules normales (cellules HS68), des cellules de cancer du foie (cellules HepG2), des cellules de cancer du col de l'utérus (cellules HeLa) et des cellules d'adénocarcinome pulmonaire (cellules A549) ont été mises en co-culture avec différentes concentrations (1 % en poids, 3 % en poids, 5 % en poids, 10 % en poids) d'extrait de brocoli ou d'extrait de chou frisé, et les taux de survie des cellules ont été détectés. Les résultats sont présentés dans le Tableau 1 ci-après.

[0048] Les résultats du Tableau 1 montrent que l'extrait de brocoli ou l'extrait de chou frisé ne produit pas de cytotoxicité pour les cellules normales, même à une dose élevée (10 % en poids), mais qu'ils ont un effet toxique sur les cellules de cancer du foie. On constate que l'extrait de brocoli ou l'extrait de chou frisé divulgué dans la présente invention est non seulement non toxique pour les cellules normales, mais encore qu'il a un effet anticancéreux.

[0049] [Tableau 1] Résultats d'analyse du taux de survie des cellules

		Chou frisé				Brocoli			
		1%	3%	5%	10%	1%	3%	5%	10%
Taux de survie des cellules	Cellules normales (HS68)	112%	112%	117%	125%	109%	99%	91%	83%
	Cellules de cancer du foie (HepG2)	88%	73%	69%	66%	78%	69%	67%	65%
	Cellules de cancer du col de l'utérus (HeLa)	92%	78%	73%	57%	91%	76%	66%	43%
	Cellules d'adénocarcinome pulmonaire (A549)	82%	67%	64%	60%	90%	73%	64%	54%

Revendications

- [Revendication 1] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, la poudre de légume de *Brassica oleracea* contenant au moins un composé polyphénol.
- [Revendication 2] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 1, caractérisée par le fait que la poudre de légume de *Brassica oleracea* est préparée à partir d'une matière première de légume de *Brassica oleracea*.
- [Revendication 3] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 2, caractérisée par le fait que la matière première de légume de *Brassica oleracea* est le brocoli ou le chou frisé.
- [Revendication 4] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 1, caractérisée par le fait que la composition est un aliment.
- [Revendication 5] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 1, caractérisée par le fait que la composition est un complément alimentaire.
- [Revendication 6] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 1, caractérisée par le fait que la maladie liée au syndrome métabolique est une maladie liée à un métabolisme anormal des graisses dans le foie.
- [Revendication 7] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 6, caractérisée par le fait que la maladie liée au syndrome métabolique est la stéatose hépatique.
- [Revendication 8] Poudre de légume de *Brassica oleracea* ou composition la contenant pour une utilisation pour réguler le syndrome métabolique ou une maladie liée au syndrome métabolique, selon la revendication 6, ca-

ractérisée par le fait que la maladie liée au syndrome métabolique est le cancer du foie.

[Fig. 1]

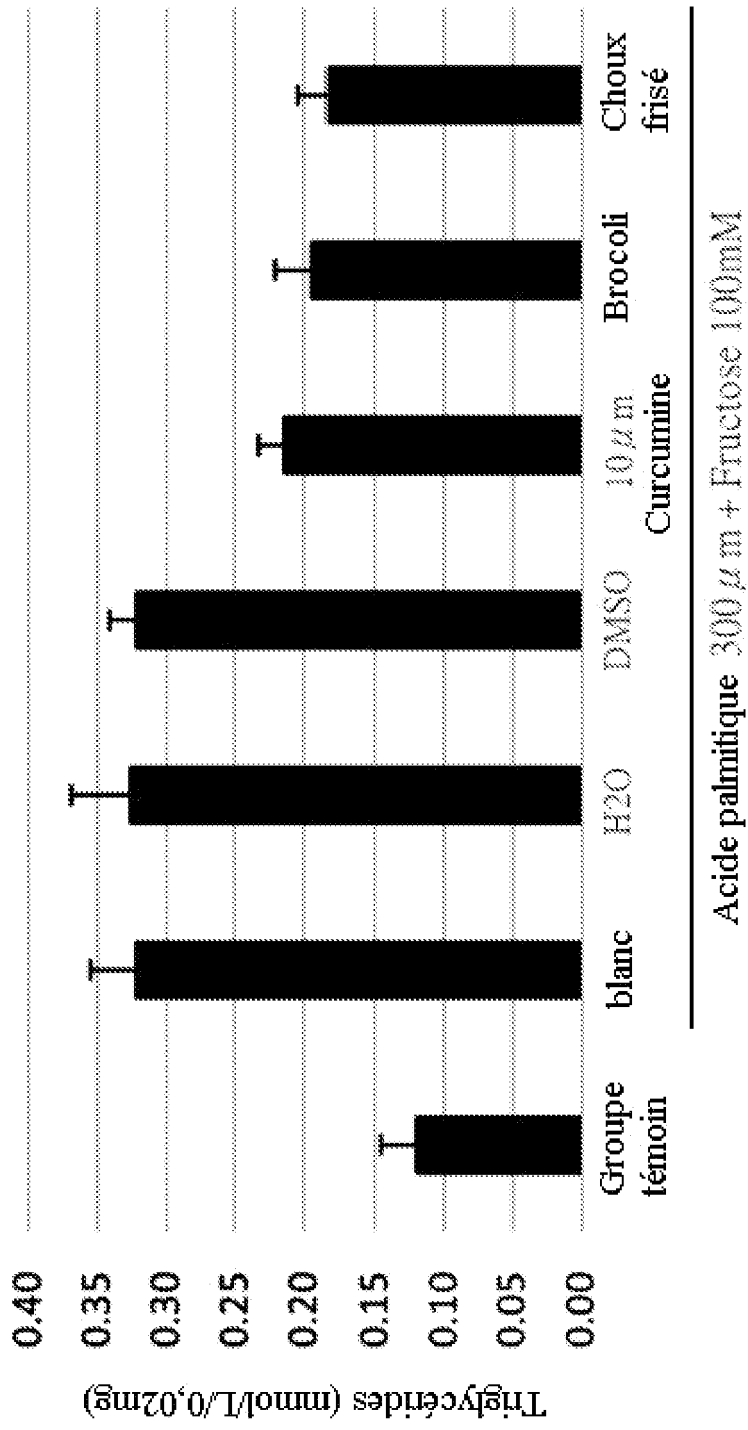


Fig. 1

[Fig. 2]

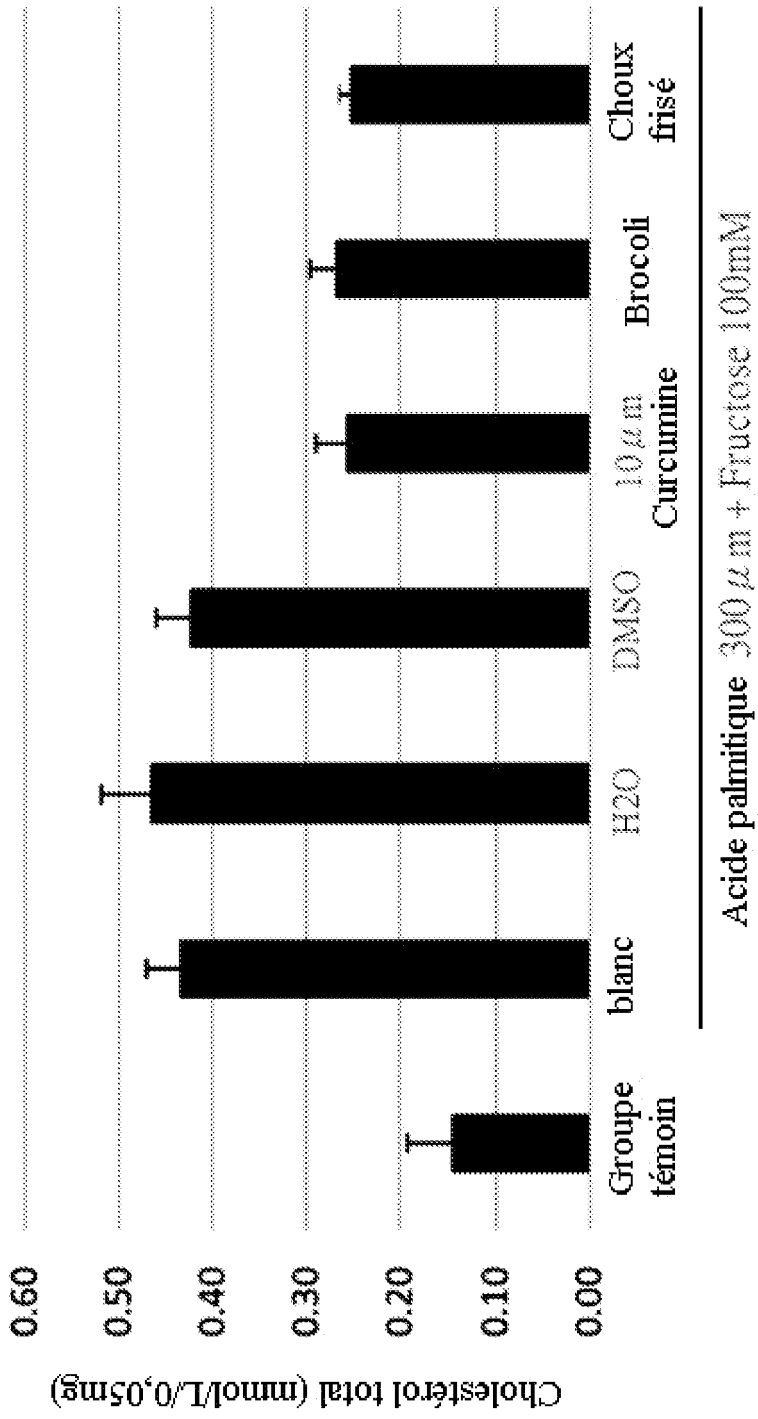


Fig. 2

[Fig. 3]

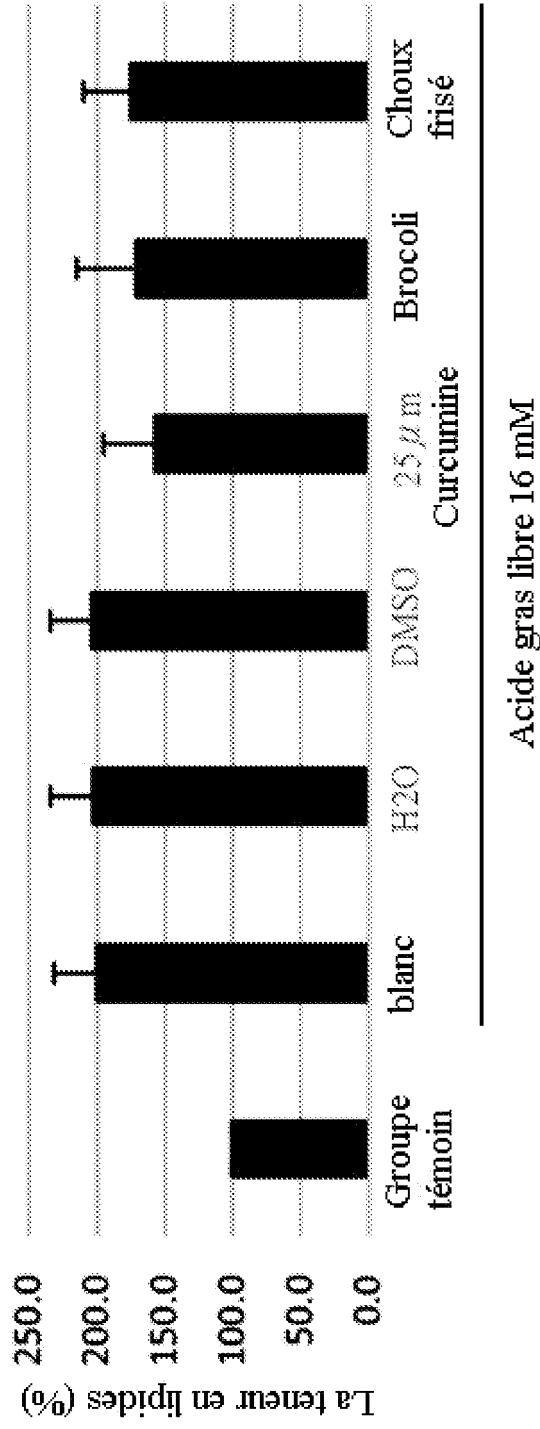


Fig. 3

[Fig. 4]

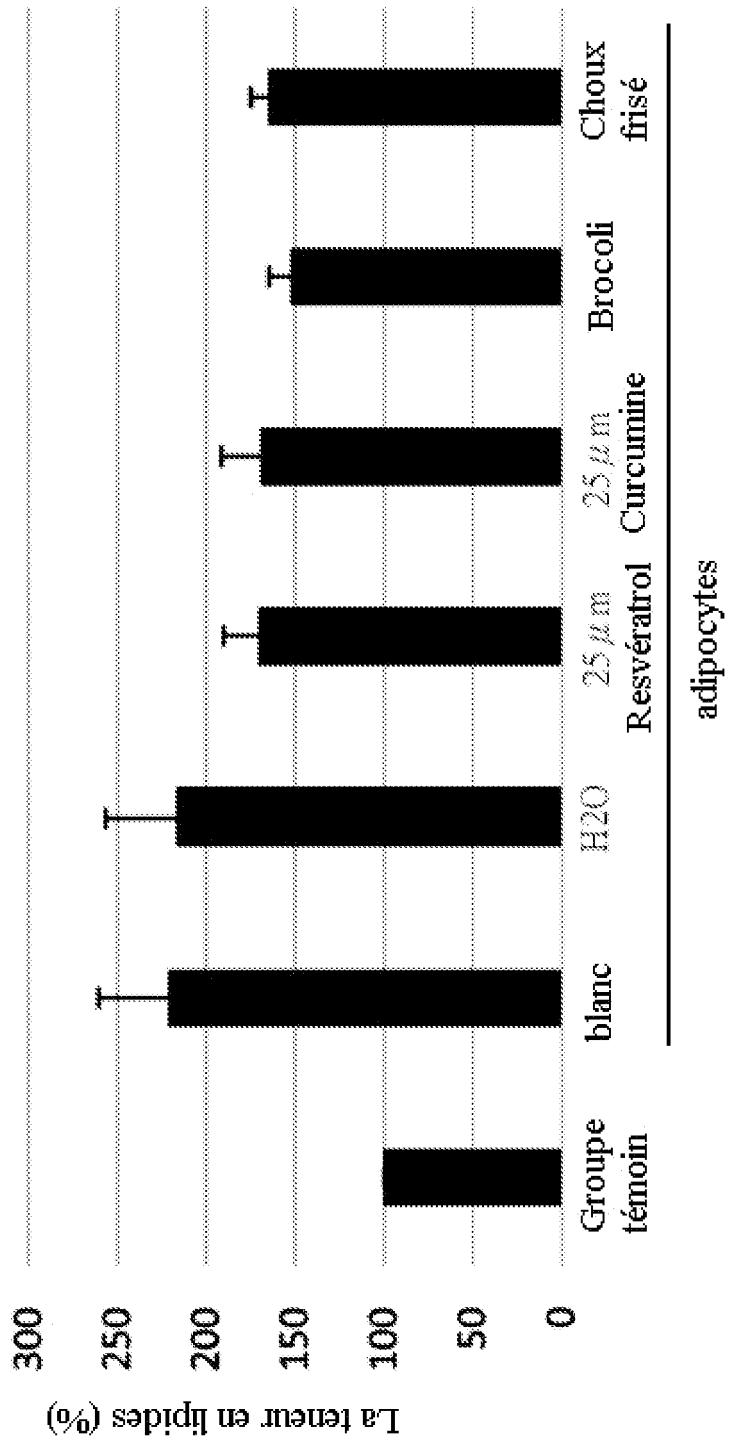


Fig. 4