

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①1 N° de publication : **3 158 017**

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

②1 N° d'enregistrement national : **24 00179**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 23 K 10/30** (2024.01), A 23 K 20/111, 20/163,
A 61 K 36/03, A 61 P 3/00, A 61 K 31/700, 31/07, A 23 K 50/10

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫② Date de dépôt : 09.01.24.

⑫③ Priorité :

⑫④ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 11.07.25 Bulletin 25/28.

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) : JYMSEA Société par actions simpli-
fiée — FR.

⑦② Inventeur(s) : MOIGNE Jean-Yves.

⑦③ Titulaire(s) : JYMSEA Société par actions simplifiée.

⑦④ Mandataire(s) : IPSILON.

⑫④ **Complexe de Fucane et de Polyphénol formé à partir d'une Algue Brune et Utilisation de ce Complexe dans le Contrôle du Métabolisme du Méthane chez un Ruminant.**

⑫⑤ L'invention concerne un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol, caractérisé en ce que ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, et en ce que ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune.

FR 3 158 017 - A1



Description

Titre de l'invention : Complexe de Fucane et de Polyphénol formé à partir d'une Algue Brune et Utilisation de ce Complexe dans le Contrôle du Métabolisme du Méthane chez un Ruminant

- [0001] L'invention concerne un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol formé à partir d'au moins une algue brune. L'invention concerne aussi toute utilisation d'un tel complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol formé à partir d'une algue brune pour contrôler le métabolisme du méthane chez un ruminant. Mais l'invention concerne aussi un tel complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol formé à partir d'au moins une algue brune pour son utilisation dans le contrôle du métabolisme du méthane chez un ruminant.
- [0002] On sait depuis longtemps que la digestion des ruminants est génératrice de méthane qui est rejeté dans l'atmosphère et que ce rejet de méthane dans l'atmosphère pourrait contribuer au réchauffement climatique par accentuation de « l'effet de serre ». Des solutions pour limiter la production de méthane par les ruminants sont donc recherchées.
- [0003] L'invention vise donc une telle solution.
- [0004] Les algues brunes (Phéophycées ou *Phaeophyceae*) constituent une classe d'algues de l'embranchement des *Ochrophyta*. La paroi des algues brunes est constituée pour l'essentiel de fucanes et d'alginates. Elles comprennent en outre de la cellulose en faible quantité.
- [0005] Les fucanes d'algues brunes sont des polymères à base de fucose et de dérivés de fucose. Ces polymères sont des polysaccharides de haute masse moléculaire, c'est-à-dire dont la masse moléculaire peut atteindre plusieurs centaines de milliers de Daltons (Da). A titre de dérivés de fucose, les fucanes complexes constitutifs à l'état naturel des algues brunes peuvent comprendre du fucose sulfate, notamment de l' α -1,2-L-fucose-4-sulfate- mais aussi au moins un monomère saccharidique autre qu'un dérivé de fucose, notamment des acides uroniques, du D-xylose, du D-galactose.
- [0006] Les polyphénols des algues brunes (ou phlorotannins) sont au moins pour l'essentiel des oligomères de phloroglucinol. Les polyphénols des algues brunes ont été identifiés dans des vésicules (physodes) intracellulaires sous forme soluble et dans la paroi cellulaire sous forme insoluble.
- [0007] On connaît de WO2019/193556 au nom du présent déposant, un procédé d'obtention d'oligofucanes de masse moléculaire inférieure à 5 000 Da et enrichis en sulfate, à partir d'une macroalgue brune choisie parmi *Lamaniria dititata* et/ou *Lamaniria hyperborea*. Le procédé de WO2019/193556 comprend :

- une première étape de trempage d’algues brunes fraîches dans une eau acidifiée à pH 2,0 par apport d’acide sulfurique, pendant 2 à 3 heures à température ambiante,
 - une deuxième étape de récupération du jus de trempage, par tamisage,
 - une troisième étape d’ajustement du pH du jus de tamisage à une valeur de 6,5 par apport d’une solution de soude à 33%,
 - une quatrième étape de clarification du jus de tamisage ajusté à pH 6,5 par ultrafiltration avec un seuil de filtration à 100 000 Da,
 - une cinquième étape de fractionnement du perméat par ultrafiltration au seuil de filtration à 2000 Da,
 - une sixième étape de concentration du perméat à 20°Bx sur concentrateur sous vide,
 - une septième étape de déminéralisation du concentrat, par électrodialyse,
 - une huitième étape de précipitation des oligofucanes par addition de 2 volumes d’éthanol par volume de concentrat déminéralisé,
 - une neuvième étape de lavage du précipité par l’éthanol à raison de 1 masse d’éthanol par masse de précipité, puis
 - un séchage et un broyage du précipité.
- [0008] Les oligofucanes de la composition d’oligofucanes de faible masse moléculaire de WO2019/193556 présentent de 85% à 95% de fucose sulfaté. La composition d’oligofucanes de WO2019/193556 comprend de 70% à 80% d’oligomères monofucane ou di-fucanes, de 20% à 30% de tri-fucanes ou tétra-fucanes et est sensiblement exempte d’oligofucane de degré de polymérisation supérieur.
- [0009] WO2019/193556 mentionne
- l’utilisation cosmétique d’une telle composition d’oligofucanes, pour son action anti-âge, antirides et/ou raffermissante sur la peau,
 - l’utilisation d’une telle composition d’oligofucanes en tant que médicament pour le traitement de l’inflammation, de l’arthrose, de l’angiogenèse, du cancer et/ou de l’obésité.
- [0010] WO2019/193556 ne concerne pas des fucanes de haut poids moléculaire.
- [0011] On connaît aussi de WO90/15823, l’activité anticoagulante et antithrombotique de fractions de fucanes d’algues brunes, de poids moléculaires intermédiaires compris entre 5 kDa et 40 kDa. Le procédé de WO90/15823, d’obtention des fractions de fucanes d’algues brunes, de poids moléculaires compris entre 5 kDa et 40 kDa, comprend un broyage des thalles d’une algue brune dans un mélange d’éthanol absolu contenant 5% en poids de formol, suivi d’une première extraction par un mélange d’éthanol absolu contenant 5% en poids de formol et d’une deuxième extraction par un mélange d’acétone et de toluène dans un rapport volumique (2/1). Dans le procédé

de WO90/15823, le formol a pour fonction de rendre les polyphénols insolubles dans l'eau. Les fucanes extraits sont ensuite dégradés et fractionnés.

- [0012] WO90/15823 ne concerne ni des fucanes de haut poids moléculaire ni des complexes d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol.
- [0013] On connaît aussi de GB890207, un procédé d'extraction de fucanes bruts dans lequel de l'algue brune *Fucus vesiculosus* séchée à l'air est broyée pendant 28 heures dans un broyeur à billes. La poudre obtenue est mise en contact avec de l'eau et chauffée sous agitation dans un bain d'eau bouillante pendant environ 18 heures. Du toluène est ajouté et le mélange est laissé à température ambiante pendant la nuit. Le surnageant est récupéré et débarrassé de toute matière insoluble par filtration puis fractionné pour conduire à un extrait de fucanes bruts.
- [0014] Le procédé de GB890207 et notamment la précipitation par le toluène ne permet pas en pratique d'obtenir un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol selon l'invention, ni un tel complexe qui soit exempt de toluène.
- [0015] Les documents ci-dessus mentionnés visent à proposer des procédés de purification de fucanes bruts en vue de leur fractionnement/dépolymérisation ou de fractionnement/dépolymérisation d'extrait d'algues brunes contenant des fucanes.
- [0016] Aucun des documents ci-dessus mentionnés ne concerne un complexe comprenant au moins un fucane de haut poids moléculaire et au moins un polyphénol d'algue brune.
- [0017] Aucun des documents ci-dessus mentionnés ne concerne le domaine du contrôle du métabolisme du méthane chez un ruminant.
- [0018] L'invention vise à pallier cet inconvénient.
- [0019] L'invention vise donc à proposer un complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol.
- [0020] L'invention vise aussi à proposer un complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol d'algue brune qui soit standardisé et adapté pour pouvoir être produit industriellement et commercialisé.
- [0021] L'invention vise aussi à proposer un tel complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol pour son utilisation dans le contrôle du métabolisme du méthane chez les ruminants.
- [0022] Mais l'invention vise aussi à proposer un tel complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol pour son utilisation à titre de médicaments pour le contrôle du métabolisme excessif du méthane chez des ruminants.
- [0023] Pour ce faire, l'invention concerne un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol, caractérisé en ce que, ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que, ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune, et en ce que,

le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C (à pression atmosphérique) pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures, notamment de l'ordre de 16 heures, et de façon à former le jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel,

le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.

[0024] Dans tout le texte, le terme « naturel » qualifiant le(s) fucane(s) et le(s) polyphénol(s) précise que le(s)dit(s) fucane(s) et le(s)dit(s) polyphénol(s) selon l'invention sont des fucanes et des polyphénols présents dans l'algue brune à l'état naturel. En particulier, le terme « naturel » précise que le(s)dit(s) fucane(s) et le(s)dit(s) polyphénol(s) selon l'invention ne sont pas sensiblement dépolymérisés lors du procédé d'obtention du jus de décoction et présentent une masse moléculaire sensiblement identique à la masse moléculaire du(des)dit(s) fucane(s) et du(des)dit(s) polyphénol(s) dans l'algue brune à l'état naturel.

[0025] Selon certains modes de réalisation avantageux, la composition aqueuse est formée d'une eau potable obtenue à partir d'un réseau de distribution d'eau potable, sans apport volontaire d'additif distinct de l'eau.

[0026] Selon certains modes de réalisation avantageux, le procédé d'obtention du jus de décoction comprend une étape d'acidification du jus de décoction à une valeur de pH comprise entre de l'ordre de pH 1,8 et de l'ordre de pH 2,2, notamment comprise entre de l'ordre de pH 1,9 et de l'ordre de pH 2,1, de préférence de l'ordre de 2,0 de façon à précipiter au moins une partie -notamment la totalité- des alginates et au moins une partie -notamment la totalité- des protéines du jus de décoction et former un jus de décoction acidifié. Dans ces modes de réalisation, le jus de décoction acidifié est séparé rapidement du précipité d'alginates et/ou de protéines par tout moyen adapté de séparation du jus de décoction acidifié liquide et d'un précipité solide, par exemple par filtration, notamment par filtration sous presse. Dans ces modes de réalisation, le complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol présent dans le jus de décoction acidifié est préservé du fait de la séparation rapide du jus de décoction acidifié liquide et du précipité d'alginates et/ou de protéines.

[0027] Selon certains modes de réalisation avantageux, le procédé d'obtention du jus de décoction comprend une étape de neutralisation à pH 6,5, du jus de décoction acidifié.

La neutralisation du jus de décoction acidifié peut être réalisée par apport de soude (NaOH) dans le jus de décoction acidifié de façon à former un jus de décoction neutralisé. Dans ces modes de réalisation, l'étape de neutralisation suit, le plus rapidement possible, l'étape de précipitation et de séparation liquide/solide de façon à limiter au minimum le temps de résidence du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol dans un environnement acide.

- [0028] Selon certains modes de réalisation avantageux, le procédé d'obtention du jus de décoction comprend une étape d'ultrafiltration du jus de décoction neutralisé, sur membrane d'ultrafiltration présentant un seuil de coupure inférieur ou égal à 100 kDa et dans des conditions aptes à éliminer les minéraux solubles et les composés organiques de bas poids moléculaire et former un rétentat comprenant les complexes d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol et sensiblement exempt de minéraux solubles et de composés organiques de bas poids moléculaire.
- [0029] Selon certains modes de réalisation, la coprécipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol du complexe selon l'invention s'accompagne d'une formation d'un précipité de couleur plus sombre (que la couleur d'un précipité dudit au moins un fucane seul), indicateur de la coprécipitation dudit au moins un fucane de couleur claire et dudit au moins un polyphénol de couleur plus sombre du complexe selon l'invention.
- [0030] L'inventeur a, à cet égard, observé que le trempage d'algues brunes à température ambiante dans une eau acidifiée à pH 2,0 tel que mis en œuvre dans le procédé de WO2019/193556 ne permet pas en réalité de former le complexe selon l'invention, tel que révélé par une coprécipitation dans l'éthanol. Il a également observé que la composition de fucanes décrite dans WO2019/193556 n'a en réalité aucun effet sur le contrôle du métabolisme du méthane chez des ruminants.
- [0031] L'inventeur a en outre observé que des essais de fractionnement/extraction des fucanes en oligofucanes par dépolymérisation, sans passer par une étape de maintien d'au moins une algue brune dans une composition aqueuse (à pression atmosphérique) à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures, ladite composition aqueuse n'étant ni une composition aqueuse volontairement acidifiée, ni une composition aqueuse comprenant du formol, ne permettant pas en réalité de former le complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol selon l'invention.
- [0032] Selon certains modes de réalisation, au moins un polyphénol du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol est choisi dans le groupe formé des polyphénols de la famille des phlorotanins. Selon certains modes de réalisation, au moins un polyphénol est un polymère de phloroglucinol.

- [0033] Selon certains modes de réalisation, au moins un fucane du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol est un polysaccharide sulfaté de haut poids moléculaire, notamment de poids moléculaire supérieur à 100 000 Da. Selon certains modes de réalisation, une majorité (en masse) des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol est de poids moléculaire supérieur à 100 000 Da. Selon certains modes de réalisation, au moins de l'ordre de 90% en masse des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol sont de poids moléculaire supérieur à 100 000 Da. Selon certains modes de réalisation, au moins de l'ordre de 95% ou au moins de l'ordre de 96%, ou au moins de l'ordre de 97%, ou au moins de l'ordre de 98%, ou au moins de l'ordre de 99%, en masse des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol sont de poids moléculaire supérieur à 100 000 Da. Selon certains modes de réalisation, 100% (en masse) des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol sont de poids moléculaire supérieur à 100 000 Da. Le poids moléculaire des fucanes est déterminé par tout moyen connu, notamment par chromatographie d'exclusion stérique multi-détection.
- [0034] Selon certains modes de réalisation préférés, le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est sensiblement exempt -notamment totalement exempt- d'alginate. Le procédé d'obtention du jus de décoction comprenant le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol selon l'invention comprend une étape d'acidification du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, ladite étape d'acidification étant une étape d'acidification précipitante d'alginate.
- [0035] Selon certains modes de réalisation préférés, le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est sensiblement exempt -notamment totalement exempt- de protéine. Le procédé d'obtention du jus de décoction et du complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol selon l'invention comprend une étape d'acidification du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, ladite étape d'acidification étant une étape d'acidification coagulante/précipitante de protéines.
- [0036] Selon certains modes de réalisation avantageux, la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C est de l'eau.
- [0037] Selon ces modes de réalisation, le procédé d'obtention du jus de décoction ne nécessite aucun solvant organique, notamment aucun solvant organique toxique pour l'environnement. En particulier, le procédé d'obtention du jus de décoction ne nécessite pas l'usage de toluène. Le complexe comprenant au moins un fucane et au

moins un polyphénol selon l'invention est exempt de toute trace de solvant organique, notamment de toluène.

[0038] Avantagement et selon l'invention, la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures est exempt de tout composé acide d'acidification volontaire de la composition aqueuse, notamment exempt de tout composé acide fort d'acidification volontaire, en particulier de tout composé acide fort d'acidification volontaire choisi parmi l'acide sulfurique (H₂SO₄) et l'acide chlorhydrique (HCl).

[0039] Avantagement et selon l'invention, la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures est exempt de formaldéhyde en solution aqueuse (formol).

[0040] L'inventeur a aussi observé que les fractions de fucanes d'algues brunes obtenue dans WO90/15823 par broyage initial de thalles d'une algue brune dans un mélange d'éthanol absolu contenant 5% en poids de formol, ne permet pas en réalité de former le complexe selon l'invention, tel que révélé par une coprécipitation dans l'éthanol. Il a également observé que la composition de fucanes décrite dans WO90/15823 n'a en réalité aucun effet sur le contrôle du métabolisme du méthane chez des ruminants.

[0041] L'inventeur pense que, sans que cette analyse soit soutenue par une autre démonstration scientifique que celle de la coprécipitation dans l'éthanol, le maintien d'au moins une algue brune dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C et à pression atmosphérique, pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures permet en réalité de former le complexe selon l'invention, soluble dans ladite composition aqueuse et présentant l'effet sur le contrôle du métabolisme du méthane chez des ruminants.

[0042] Par « algue brune », dans le cadre de la présente invention, il est compris des algues de couleur brune. Avantagement et selon l'invention, l'algue brune est une algue de la classe des Phéophycées (*Phaeophyceae*).

[0043] Selon certains modes de réalisation, au moins une -notamment chaque- algue brune est sous une forme fraîche ou sous une forme sèche ou sous une forme déshydratée.

[0044] Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est choisie dans la classe des *Phaeophyceae*. Selon certains de ces modes de réalisation, au moins une algue brune est choisie dans le groupe constitué de *Ascophyllum* sp., -notamment d'*Ascophyllum nodosum* -, de *Fucus* sp., de *Lamaniria* sp., de *Euchema* sp., de *Macrocystis* sp., de *Alaria* sp. et de *Undaria* sp..

[0045] Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est une macro-algue ou algue macroscopique.

- [0046] Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est une algue brune fraîche. Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est utilisée telle que récoltée et rincée à l'eau après récolte. Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est un thalle de ladite au moins une algue brune.
- [0047] Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est une algue brune séchée. On entend par algue brune séchée, une algue brune débarrassée d'une partie seulement de son eau libre ou non constitutive. Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est utilisée après séchage, notamment après séchage à l'air, d'au moins une algue brune telle que récoltée et rincée à l'eau après récolte.
- [0048] Selon certains modes de réalisation, au moins une algue brune est une algue brune déshydratée. On entend par algue brune déshydratée, une algue brune débarrassée sensiblement de toute son eau libre ou non constitutive.
- [0049] L'invention concerne aussi toute utilisation d'un complexe selon l'invention comprenant au moins un fucane naturel d'une algue brune et au moins un polyphénol naturel d'une algue brune.
- [0050] Selon certains modes de réalisation, l'utilisation d'un complexe selon l'invention est une utilisation non thérapeutique.
- [0051] Selon certains de ces modes de réalisation, une telle utilisation non thérapeutique d'un complexe selon l'invention vise une régulation, notamment une régulation limitative, du métabolisme productif de méthane chez un ruminant.
- [0052] L'utilisation non thérapeutique selon l'invention vise donc à proposer un complexe selon l'invention comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol pour limiter une production de méthane par un ruminant.
- [0053] L'utilisation non thérapeutique selon l'invention vise donc à proposer un complexe selon l'invention pour la préservation de l'environnement.
- [0054] Selon certains de ces modes de réalisation, l'invention concerne une utilisation d'un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol pour limiter le métabolisme productif de méthane chez un ruminant, caractérisé en ce que, ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que, ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune, et en ce que, le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C (à pression atmosphérique) pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures, notamment de l'ordre de 16

heures, de façon à former un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.

- [0055] Selon certains de ces modes de réalisation, le complexe selon l'invention est un complexe inhibiteur de l'activité méthyltransférase de la N'-nicotinamide méthyl transférase (NNMT) équivalente à la coM-méthyltransférase d'archaebactéries méthanogènes présentes dans le système digestif de ruminants.
- [0056] Selon certains modes de réalisation, le complexe selon l'invention est un complexe inhibiteur de l'activité méthyltransférase de la N'-nicotinamide méthyl transférase (NNMT) équivalente à la coenzyme M-méthyltransférase d'archaebactéries méthanogènes présentes dans le système digestif de ruminants.
- [0057] Selon certains autres modes de réalisation, l'utilisation d'un complexe selon l'invention est une utilisation thérapeutique.
- [0058] Selon certains de ces modes de réalisation, une telle utilisation thérapeutique d'un complexe selon l'invention vise une régulation, notamment une régulation limitative, d'un métabolisme productif d'un excès de méthane chez un ruminant.
- [0059] Selon certains de ces modes de réalisation, l'invention concerne une utilisation d'un complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol pour limiter le métabolisme productif d'un excès de méthane chez un ruminant, caractérisé en ce que, ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que, ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune, et en ce que, le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C (à pression atmosphérique) pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures, notamment de l'ordre de 16 heures, de façon à former un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.

- [0060] Selon certains de ces modes de réalisation, l'invention concerne donc un complexe comprenant au moins un fucane naturel d'une algue brune et au moins un polyphénol naturel d'une algue brune pour son utilisation dans un traitement limitatif d'une production excessive de méthane chez un ruminant, le complexe étant caractérisé en ce que, ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune, et en ce que, le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C (à pression atmosphérique) pendant une durée comprise entre de l'ordre de 15 heures et de l'ordre de 20 heures, notamment de l'ordre de 16 heures, de façon à former le jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.
- [0061] D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description suivante, des dessins et des exemples illustratifs de certains modes de réalisation possibles mais non limitatifs de l'invention, dans laquelle :
- [0062] [Fig.1] la [Fig.1] est un schéma illustratif de la voie métabolique de production de méthane d'une archée ou archéobactérie méthanogène présente dans le tube digestif d'un ruminant,
- [0063] [Fig.2] la [Fig.2] est un détail d'un schéma illustratif de la voie métabolique de production de méthane d'une archée ou archéobactérie méthanogène présente dans le tube digestif d'un ruminant,
- [0064] [Fig.3] la [Fig.3] est un détail d'un schéma illustratif de la voie métabolique de production de méthane d'une archée ou archéobactérie méthanogène présente dans le tube digestif d'un ruminant.
- [0065] EXEMPLE
- [0066] Complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol selon l'invention
- [0067] Préparation
Des algues *Ascophyllum* sont séchées puis réduites en paillettes de plus grande dimension de l'ordre de 10 mm.

Dans un réacteur double enveloppe muni d'un agitateur, une quantité d'eau prélevée à partir du réseau de distribution d'eau potable et correspondant à 7 fois la masse d'algue *Ascophyllum* sèche à traiter est préchauffée à la température de +92°C. La masse de paillettes d'algue *Ascophyllum* sèche est ajoutée dans l'eau préalablement chauffée à +92°C. A compter du moment où la température de la suspension d'algue *Ascophyllum* sèche dans l'eau atteint la température de +92°C, la suspension est maintenue à la température de +92°C pendant 16 heures. La suspension est maintenue à cette température de +92°C pendant 16 heures sous une agitation suffisamment rapide pour permettre une répartition sensiblement homogène des paillettes d'algue dans l'eau mais suffisamment lente pour ne pas broyer les paillettes d'algue. Un jus de décoction est formé.

Après 16 heures d'agitation, le jus de décoction est soumis à un tamisage ou une séparation liquide/solide par tout moyen connu disponible. La température du filtrat liquide de décoction obtenu est ensuite amenée à +65°C.

Le pH du filtrat liquide de décoction refroidi à +65°C est ajusté à pH 2,0 par ajout d'un acide fort tel que de l'acide chlorhydrique ou de l'acide sulfurique. L'acidification du filtrat liquide de décoction refroidi s'accompagne d'une coagulation/précipitation des alginates et/ou de protéines. Le précipité formé est séparé du filtrat liquide de décoction acidifié, par tout moyen. Par exemple, le précipité est séparé du filtrat liquide de décoction acidifié sur filtre presse ou par centrifugation. Le précipité séparé du filtrat liquide de décoction acidifié est éliminé.

Le pH du filtrat liquide de décoction acidifié et séparé du précipité, est neutralisé à une valeur de pH de 6,5 par addition d'une solution de soude (NaOH). Un extrait de décoction comprenant le complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol selon l'invention est formé.

L'extrait de décoction comprenant le complexe selon l'invention est soumis à une étape d'ultrafiltration de l'extrait de décoction sur membrane d'ultrafiltration avec un seuil de coupure de l'ordre de 100 kDa de façon à éliminer les minéraux solubles et les composés organiques de bas poids moléculaire et former un rétentat comprenant les complexes d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol selon l'invention et sensiblement exempt de minéraux solubles et de composés organiques de bas poids moléculaire. Le rétentat est soumis à une étape de rinçage et d'ajustement du perméat à une valeur °Brix inférieure à 0,5, par diafiltration. Le rétentat rincé est concentré à une valeur d'au moins 10°Bx sur une boucle de recirculation d'ultrafiltration ou dans un concentrateur sous vide et ramené à température ambiante.

[0068] Caractérisation du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol

Un volume aliquote du rétentat est mélangé à 2 volumes d'éthanol. Un précipité de couleur sombre est formé attestant d'une coprécipitation de fucanes et de polyphénols.

[0069] Caractérisation du poids moléculaire des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol - Chromatographie d'exclusion stérique multi-détection

Les poids moléculaires des fucanes du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol sont déterminés au moyen d'un ensemble DIONEX (Ultimate 3000) comprenant :

- un dégazeur, une pompe et un passeur d'échantillons ;
- une précolonne et quatre colonnes Shodex OHpak 30 cm, modèles 802.5HQ, 804HQ, 806HQ et 807HQ avec un domaine de séparation de 500 à 100 000 kDa ;
- un réfractomètre différentiel OPTILAB rEX (Wyatt Technologies), et ;
- un détecteur diffusion de lumière multi-angles DAWN HELEOS II (Wyatt Technologies).

Le débit est de 0,5 mL/mn et la phase mobile est formée d'eau de qualité Millipore additivée de nitrate de sodium (NaNO₃) à la concentration de 0,1M et d'azoture de sodium (NaN₃) à la concentration de 200 ppm.

[0070] Conditionnement

Le concentrat obtenu est séché par atomisation et produit conditionné en sacs de 10 et/ou de 20 kg.

[0071] Solution s mère et filles de complexe fucanes/polyphénols selon l'invention

Une solution mère est préparée par dissolution de la poudre hydrosoluble à raison de 100 mg de poudre hydrosoluble par mL d'eau distillée. La solubilisation de la poudre hydrosoluble dans l'eau distillée est obtenue par agitation sous vortex et traitement par des ultrasons. La solution mère est diluée au 1/3 pour obtenir une concentration de 30 mg/mL. Une solution fille diluée 10 fois (10 mg/mL) à partir de la solution mère est réalisée dans de l'eau distillée. La solution fille fait l'objet de 7 dilutions sériées au 1/3 dans de l'eau distillée. Les concentrations sont données au tableau 1 ci-dessous.

[Tableaux1]

mg/mL								
30	10	3,3	1,1	0,37	0,12	0,041	0,014	0,005

Tableau 1

[0072] Test d'inhibition d'une méthyltransférase

L'inhibition de l'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) par le complexe selon l'invention, est mesurée au moyen du kit de mesure (« *NNMT Inhibitor Screening Assay Kit* », MAK299, Merck, Darmstadt, Allemagne) d'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT). Ce kit de mesure repose sur la mesure d'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) catalysant la réaction de méthylation de la nicotinamide par transfert d'un groupement méthyl de

la S-adénosyl méthionine (SAM) sur la nicotinamide. Du fait de ce transfert, la S-adénosyl méthionine est déméthylée en S-adénosyl homocystéine coopérant avec un fluorophore du kit. La fluorescence est détectée à 485 nm, l'excitation étant effectuée à 395 nm.

[0073] Métabolisme du méthane (CH₄) chez les archées ou archéobactéries méthanogènes

Un schéma récapitulatif d'une voie de biosynthèse de méthane chez les archées ou archéobactéries méthanogènes est représenté en [Fig.1]. Des archées ou archéobactéries méthanogènes sont présentes en grande quantité dans le système digestif des ruminants et participent à la fermentation méthanogène anaérobie de dioxyde de carbone (CO₂) produit par ces ruminants. Du méthanofurane (MF) est formylé en formylméthanofurane (Formyl-MF) lors d'une première étape de la méthanogenèse. Une formylméthanofurane déshydrogénase catalyse cette réaction à partir d'une molécule de dioxyde de carbone (CO₂) qui est la source première du carbone de cette voie métabolique. Le formylméthanofurane est transformé en N5-méthyl tétrahydréméthanoptérine (N5-formyl-THM) par l'action d'une formylméthanofurane déshydrogénase et du coenzyme tétrahydréméthanoptérine (THM) converti en méthanofurane (MF). La N5-méthyl tétrahydréméthanoptérine (N5-formyl-THM) est convertie en N5-méthyl tétrahydréméthanoptérine (N5-Methyl-THM) impliquant une méthylène-THMPT réductase dépendante du coenzyme F420. Un transfert du groupe méthyle de la N5-Methyl-THM sur la Coenzyme M (HS-CoM), impliquant la coenzyme M méthyltransférase, conduit à la Méthyl Coenzyme M (CoM-S-CH₃). La dernière étape de cette voie métabolique du méthane consiste en une action de la méthyl-CoM réductase, utilisant la CoM-S-CH₃ comme donneur du méthyl et la Coenzyme B (CoB-SH) comme donneur d'hydrogène, aboutissant à la libération de méthane (CH₄) en formant le couple Coenzyme B-Coenzyme M (CoB-S-S-CoM), ou le couple CoM-S-S-HTP dans le cas d'un autre accepteur d'électron tel que le 7-mercaptoheptonylthreonine phosphate (HS-HTP), tel que décrit en [Fig.2]. Les références bibliographiques citées ci-après complètent la description ci-dessus : Tobias Gräwert, J. Agric. Food Chem., 2014, 62(52), 12487-90. "*Inhibition of Methyl-CoM Reductase from Methanobrevibacter ruminantium by 2 - Bromoethanesulfonate*"; Hao Chen, Front. Microbiol., 2020, Volume 11 – 2020, "*Methyl-Coenzyme M Reductase and Its Post-translational Modifications*"; Prakash Divya, Dissertation, 2014, "*Methyl-coenzyme M reductase: Elucidating the process of activation and study of the effect of the methanogenesis inhibitor 3-nitrooxypropanol*" and Todd D. Pihl, Journal of Bacteriology, 1994, 6384-6391, "*Growth Phase-Dependent Transcription of the Genes That Encode the Two Methyl Coenzyme M Reductase Isoenzymes and N5-*

Methyltetrahydromethanopterin:Coenzyme M Methyltransferase in Methanobacterium thermoautotrophicum AH⁺.

En résumé, du méthane est produit du fait de l'activité de plusieurs enzymes dont la méthyltransférase et méthylréductase (méthyl-CoM réductase) et l'inhibition de cet enzyme conduit à une diminution de la synthèse de méthane. L'inhibition de l'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) par le complexe selon l'invention préfigure de l'inhibition de la coenzyme M méthyltransférase ci-dessus et d'un effet inhibiteur de la synthèse de méthane (CH₄) produit par ces archées ou archéobactéries par le complexe selon l'invention.

[0074] Inhibition de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT).

[0075] Le test est réalisé dans des plaques 96-puits, conformément à la notice d'utilisation du fabricant, chaque puits contenant :

- 58.5µl Tampon NNMT
- 2.5µl Enzyme NNMT
- 10µl d'une solution Enzyme I
- 2µl S-Adenosylmethionine (SAM)
- 2µl solution Enzyme II
- 50µl de l'échantillon de complexe dilué correspondant
- 25µl Nicotinamide.

La plaque 96-puits est placée à la température de 37°C pendant 15 min. Puis, 50 µl d'isopropanol sont ajoutés à chaque puits aux fins d'arrêt de la réaction. La plaque 96-puits est placée à la température de +4°C pendant 5 min, puis 50 µl de sonde fluorescente révélatrice de thiols sont ajoutés à chaque puits. Le temps de développement de la fluorescence est de 5 min. La lecture est réalisée dans un fluorimètre par excitation à la longueur d'onde de 395 nm et analyse à la longueur d'onde de 485 nm.

[0076] Le pourcentage d'inhibition de l'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) par le complexe selon l'invention est donné en comparaison de l'inhibition procurée par une solution contrôle dans laquelle 50 µL d'échantillon sont remplacés par 50 µL de tampon NNMT. Le pourcentage d'inhibition procuré par chaque échantillon est calculé selon la formule 1, ci-dessous :

[0077] [Math.1]

$$\% \text{ inhibition échantillon} = \frac{\text{Fluorescence contrôle} - \text{Fluorescence échantillon}}{\text{Fluorescence contrôle}} \times 100$$

Formule 1

[0078] Les résultats sont donnés au tableau 2 ci-dessous et représentés en [Fig.3].

[Tableaux2]

Complexe, µg	Inhibition, %	Ecart-type	CV, %
--------------	---------------	------------	-------

0,23	-14,2	1,8	-12,4
0,69	-1,9	0,2	-9,3
2,06	5,0	4,9	98,5
6,17	26,6	4,9	18,2
18,5	41,1	3,1	7,6
55,6	55,5	8,6	15,5
166,7	72,	8,2	11,4
5000	82,1	7,5	9,2
1500	94,0	1,1	1,2

Tableau 2

[0079] Le complexe selon l'invention est apte à inhiber l'activité de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) selon la courbe dose réponse représentée en [Fig.3]. Une valeur d'IC₅₀ obtenue est de 36,56 µg. Cette quantité en µg correspond à la quantité de complexe par puits, soit pour un volume de 250 µL/puits.

[0080] Evaluation de l'activité enzymatique de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT)

L'activité enzymatique est définie à l'échelle internationale (UI) de façon telle que 1 unité d'enzyme correspond à la quantité d'enzyme nécessaire pour transformer 1 µmole (10⁻⁶ moles) de substrat de l'enzyme par minute, dans les conditions optimales de réaction enzymatique. La nicotinamide formée du fait de la réaction est dosée et quantifiée par chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS). Pour ce faire, dans un tube à centrifuger de 1,5 mL, sont ajoutés :

- 70,5 µl de tampon NNMT
- 2,5 µl d'enzyme NNMT
- 2 µl de S-Adenosylmethionine (SAM)
- 25 µl de 1-méthylnicotinamide.

Le tube de 1,5 mL est placé à la température de 37°C pendant 15 min. Puis, la réaction est arrêtée par apport de 50 µl d'isopropanol. 10 µL du milieu réactionnel est injecté en LC/MS/MS. Une droite de calibration est réalisée avec des solutions de nicotinamide à des concentrations de 10 µg/mL ; 5 µg/mL ; 1 µg/mL ; 0,5 µg/mL et 0,1 µg/mL.

L'activité enzymatique de la N'-nicotinamide méthyltransférase (NNMT) est estimée à 0,0408 U/mL. L'activité inhibitrice du complexe décrit ci-dessus est de 2.789 UI/g, correspondant à la quantité de complexe nécessaire pour inhiber 50% de l'enzyme NNMT.

- [0081] Le complexe d'au moins un fucane naturel d'une algue brune et d'au moins un polyphénol naturel d'une algue brune présente une activité inhibitrice d'enzyme impliquée dans le métabolisme du méthane d'archées du système digestif de ruminants.
- [0082] L'invention peut faire l'objet de nombreuses variantes et applications autres que celles décrites ci-dessus. En particulier, il va de soi que sauf indication contraire les différentes caractéristiques structurelles et fonctionnelles de chacun des modes de réalisation décrits ci-dessus ne doivent pas être considérées comme combinées et/ou étroitement et/ou inextricablement liées les unes aux autres, mais au contraire comme de simples juxtapositions. En outre, les caractéristiques structurelles et/ou fonctionnelles des différents modes de réalisation décrits ci-dessus peuvent faire l'objet en tout ou partie de toute juxtaposition différente ou de toute combinaison différente.

Revendications

- [Revendication 1] Complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol, caractérisé en ce que ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que ledit au moins un polyphénol est un oligomère de phloroglucinol naturel d'une algue brune, et en ce que le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre 15 heures et 20 heures, de façon à former le jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel, le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.
- [Revendication 2] Complexe selon la revendication 1, caractérisé en ce que la coprécipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol s'accompagne d'une formation d'un précipité de couleur plus sombre que la couleur d'un précipité dudit au moins un fucane seul, indicateur de la coprécipitation dudit au moins un fucane de couleur claire et dudit au moins un polyphénol.
- [Revendication 3] Complexe selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C est de l'eau.
- [Revendication 4] Complexe selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le procédé d'obtention du complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol ne nécessite aucun solvant organique, notamment aucun solvant organique toxique pour l'environnement, le complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol étant exempt de toute trace de solvant organique.

- [Revendication 5] Complexe selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre 15 heures et 20 heures est exempte de tout composé acide d'acidification volontaire de la composition aqueuse.
- [Revendication 6] Complexe selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la composition aqueuse de maintien d'au moins une algue brune à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre 15 heures et 20 heures est exempte de formaldéhyde en solution aqueuse.
- [Revendication 7] Complexe selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'au moins une algue brune est choisie dans le groupe constitué de *Ascophyllum sp.*, de *Fucus sp.*, de *Laminaria sp.*, de *Euchema sp.*, de *Macrocystis sp.*, de *Undaria sp.* et de *Alaria sp.*.
- [Revendication 8] Complexe selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'au moins une algue brune est sous une forme fraîche ou sous une forme sèche ou sous une forme déshydratée.
- [Revendication 9] Utilisation à visée non thérapeutique d'une composition comprenant un complexe selon l'une des revendications 1 à 8.
- [Revendication 10] Utilisation selon la revendication 9, pour une régulation, notamment une régulation limitative, du métabolisme productif de méthane chez un ruminant.
- [Revendication 11] Complexe comprenant au moins un fucane naturel d'une algue brune et au moins un polyphénol naturel d'une algue brune pour son utilisation dans un traitement limitatif d'une production excessive de méthane chez un ruminant,
le complexe étant caractérisé en ce que
ledit au moins un fucane est un fucane naturel d'une algue brune, en ce que
ledit au moins un polyphénol est un polyphénol naturel d'une algue brune, et en ce que
le complexe comprenant au moins un fucane et au moins un polyphénol est formé du fait d'une mise en œuvre d'un procédé d'obtention d'un jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane et d'au moins un polyphénol, procédé dans lequel au moins une algue brune est maintenue dans une composition aqueuse à une température comprise entre 90°C et 100°C pendant une durée comprise entre 15 heures et 20 heures, de façon à former le jus de

décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel,
le complexe étant caractérisé en ce qu'une précipitation par l'éthanol dudit au moins un fucane du jus de décoction enrichi en complexe d'au moins un fucane naturel et d'au moins un polyphénol naturel entraîne une coprécipitation dudit au moins un fucane et dudit au moins un polyphénol.

[Fig. 1]

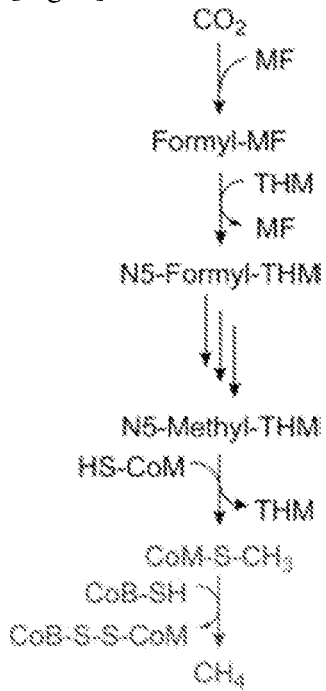


Fig 1

[Fig. 2]

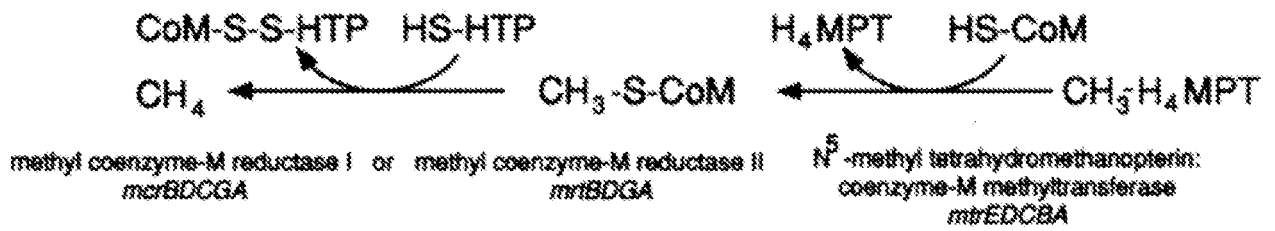


Fig 2

[Fig. 3]

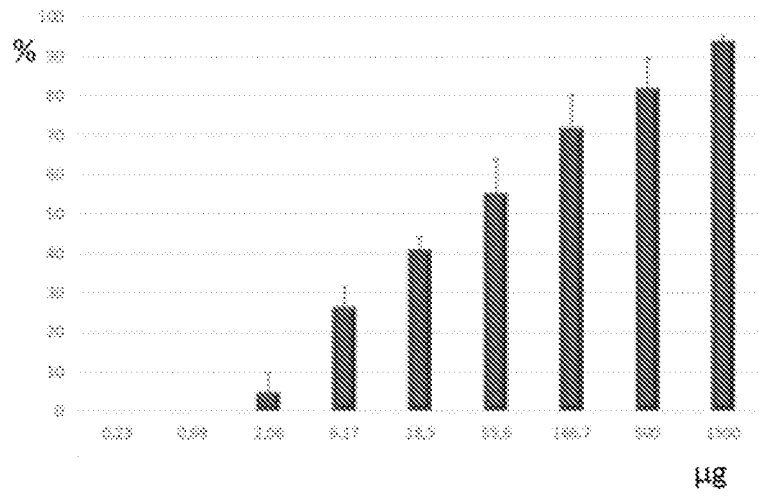


Fig 3

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

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

FA 928411
FR 2400179

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, des parties pertinentes		
X	<p>SOFYAN AHMAD ET AL: "Effects of various macroalgae species on methane production, rumen fermentation, and ruminant production: A meta-analysis from in vitro and in vivo experiments", ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 294, 1 décembre 2022 (2022-12-01), page 115503, XP093190156, AMSTERDAM, NL ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2022.115503 Extrait de l'Internet: URL:https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840122003017/pdfft?md5=b85c320ea00b0e388084c5a1d71c64a1&pid=1-s2.0-S0377840122003017-main.pdf> * le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-11	<p>A23K 10/30 A23K 20/111 A23K 20/163 A23K 50/10 A61K 31/07 A61K 31/7004 A61K 36/03 A61P 3/00</p>
X	<p>MOLINA-ALCAIDE E ET AL: "In vitroruminal fermentation and methane production of different seaweed species", ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 228, 28 mars 2017 (2017-03-28), pages 1-12, XP085029101, ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.03.012 * le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-11	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)</p> <p>A61K A61P</p>
Y	<p>FR 3 079 831 A1 (JYMSEA [FR]) 11 octobre 2019 (2019-10-11) * le document en entier *</p> <p>-----</p>	1-11	
Y	<p>WO 2015/071477 A1 (AGRIMER [FR]) 21 mai 2015 (2015-05-21) * revendication 8 *</p> <p>-----</p>	1-11	
		- / - -	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
2 août 2024		Greif, Gabriela	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>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</p> <p>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</p>			

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

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

FA 928411
FR 2400179

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		
Y	WO 03/062412 A1 (TAKARA BIO INC [JP]; SAKAI TAKESHI [JP] ET AL.) 31 juillet 2003 (2003-07-31) * le document en entier * -----	1-11	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	NOVOA-GARRIDO MARGARITA ET AL: "Preserving Porphyra umbilicalis and Saccharina latissima as Silages for Ruminant Feeding", ANIMALS, vol. 10, no. 11, 23 octobre 2020 (2020-10-23), page 1957, XP93180748, ISSN: 2076-2615, DOI: 10.3390/ani10111957 * abrégé * -----	1-11	
X	BITTKAU KAYA SASKIA ET AL: "Initial evaluation of six different brown algae species as source for crude bioactive fucoidans", ALGAL RESEARCH, vol. 45, 1 janvier 2020 (2020-01-01), page 101759, XP093190171, NL ISSN: 2211-9264, DOI: 10.1016/j.algal.2019.101759 Extrait de l'Internet: URL:https://dx.doi.org/10.1016/j.algal.201 9.101759> * le document en entier * -----	1-8	
Y		9-11	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
2 août 2024		Greif, Gabriela	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie		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	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 2400179 FA 928411**

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 **02 - 08 - 2024**
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
FR 3079831 A1	11-10-2019	EP 3774827 A1	17-02-2021
		FR 3079831 A1	11-10-2019
		WO 2019193556 A1	10-10-2019

WO 2015071477 A1	21-05-2015	FR 3013219 A1	22-05-2015
		WO 2015071477 A1	21-05-2015

WO 03062412 A1	31-07-2003	EP 1466969 A1	13-10-2004
		JP 4262601 B2	13-05-2009
		JP WO2003062412 A1	19-05-2005
		US 2005255564 A1	17-11-2005
		WO 03062412 A1	31-07-2003
