(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** ***2 860 976***

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

(21) **N° d'enregistrement national :** **03 12211**

(51) Int Cl[7] : **A 61 K 35/60,** A 61 P 25/28, 9/00, A 23 L 1/29, A 61 K 7/00 // (A 61 K 35/60, 31:07, 33:04) (A 61 K 35/60, 31:355, 33:06) (A 61 K 35/60, 31:525, 33:30) (A 61 K 35/60, 31:07, 33:34)

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 20.10.03.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 22.04.05 Bulletin 05/16.

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

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *SHRIVASTAVA RAVI* — FR et *GRANIER BOMPARD CATHERINE* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** SHRIVASTAVA RAVI et GRANIER BOMPARD CATHERINE.

(73) **Titulaire(s) :**

(74) **Mandataire(s) :**

(54) NOUVELLES COMPOSITINS SYNERGIQUES POUR AMELIORER LA BIODISPONIBILITE ET D'EFFICACITE DES ACIDES GRAS POLYINSATURES POUR LE TRAITEMENT DES TROUBLES DU FONCTIONNEMENT CEREBRAL.

(57) Il est maintenant bien établi que les acides gras polyinsaturés omega-3 sont indispensables pour le fonctionnement des cellules nerveuses de notre cerveau. Comme ces acides gras essentiels ne sont pas synthétisés dans notre corps, il est nécessaire de consommer au moins 500 à 1000 mg d'omega-3 par jour. Malheureusement, notre alimentation couvre seulement 5 à 10% de nos besoins. De plus, les omega-3 sont très rapidement oxydés dans notre corps et faiblement assimilés par les cellules neuronales dont les fonctions métaboliques sont ralenties. Nous avons découvert que l'association des omega-3 avec des antioxydants et des éléments vitaux spécifiques qui stimulent les fonctions métaboliques cellulaires des cellules neuronales produit un effet synergique qui améliore fortement la biodisponibilité et l'efficacité des omega-3. Cela permet de diminuer les doses journalières à utiliser pour optimiser le fonctionnement cérébral. Ces compositions synergiques peuvent être utilisées pour le traitement des maladies liées au mauvais fonctionnement cérébral.

FR 2 860 976 - A1

Notre alimentation contient différentes catégories de nutriments : les hydrates de carbone, les protéines, les graisses, les vitamines, les minéraux et les oligo-éléments. Ces nutriments apportent de l'énergie pour entretenir l'ensemble des activités cellulaires de l'organisme. Les cellules ont besoin d'énergie pour fonctionner mais elles ont également besoin de ces nutriments pour synthétiser les composants cellulaires, maintenir l'activité des membranes cellulaires, synthétiser des substances spécifiques comme les hormones et les neurotransmetteurs, pour permettre la croissance et la multiplication cellulaire.

Lorsque notre alimentation apporte tous les éléments nécessaires dans les bonnes proportions, les cellules fonctionnent normalement et nous sommes en bonne santé. Un fonctionnement cellulaire inapproprié ou diminué se traduit par un trouble ou une maladie.

Par exemple, lorsque les cellules nerveuses ne reçoivent pas les quantités adéquates de nutriments essentiels, l'activité des membranes cellulaires, la synthèse des neurotransmetteurs sont perturbées et cela se manifeste sous forme de troubles mineurs comme une diminution de la mémoire, de la dépression, ou par des troubles psychologiques dans les cas les plus sévères.

Comme tous les organes de notre corps, le cerveau humain est composé de cellules spécialisées appelées neurones. Du point de vue morphologique, le cerveau peut être divisé en deux parties distinctes : la partie la plus profonde, de petite taille et la plus ancestrale, est appelée région limbique. La partie la plus externe, volumineuse et très structurée est appelée néocortex. La région limbique du cerveau humain qui contrôle les activités émotionnelles se retrouve chez de nombreux Mammifères tandis que le néocortex s'est développée au cours des différentes phases de l'évolution des Mammifères. Le néocortex constitue le siège de la pensée, du raisonnement et de la prise de décision qui sont particulièrement développés chez l'être humain. Il est désormais clairement établi que la plupart des troubles émotionnels, psychiatriques ou psychologiques comme la

dépression sont liés à des perturbations du fonctionnement de la région limbique.

Environ 70% des tissus de notre cerveau sont composés d'acides gras. Ces acides gras sont issus des graisses de notre alimentation. Du point de vue chimique, les molécules de graisse, insolubles dans l'eau, résultent de l'association d'un alcool, le glycérol, avec des acides gras constitués de chaînes de 4 à 22 atomes de carbones liés à des atomes d'hydrogènes. Lorsque tous les atomes de carbone sont reliés par une liaison simple C-C, cela signifie que toutes les autres liaisons sont occupées par des atomes d'hydrogène. Comme ces atomes de carbones ne peuvent accepter de nouveaux atomes d'hydrogène, les acides gras correspondants sont dits saturés. Les acides gras saturés sont généralement d'origine animale (beurre, lait, viande). Lorsque les atomes de carbones des acides gras sont reliés par des doubles liaisons C=C qui peuvent accepter de nouveaux atomes d'hydrogène, ceux-ci sont appelés acides gras insaturés. Si l'acide gras ne comporte qu'une seule double liaison, il est dit monoinsaturé (exemple : acide oléique) et lorsqu'il présente plus d'une double liaison, il est dit polyinsaturé. Les acides gras polyinsaturés s'oxydent très facilement dans l'organisme car ils sont fortement instables et nécessitent la présence d'antioxydants pour empêcher leur rapide dégradation par oxydation dans le corps. La position de la première double liaison (appelé omega) permet de distinguer les acides gras polyinsaturés omega-3 (exemple : acide alpha linolénique) et les acides gras polyinsaturés omega-6 (exemple : acide linoléique). Ces types d'acides gras sont dits essentiels car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Les omega-6 sont présents dans l'huile de maïs, de tournesol et de sésame qui sont très largement utilisés. Les omega-3 sont présents dans l'huile de lin, les noix, l'huile de moutarde, le soja, le blé et dans la chair des poissons d'eau froide et sont peu ou pas du tout consommés dans nos sociétés modernes.

Les acides gras permettent la formation des phospholipides des membranes biologiques. La fluidité

membranaire qui est cruciale pour son fonctionnement dépend de sa composition lipidique. Les acides gras omega-3 augmentent la fluidité membranaire parce que les doubles liaisons empêchent le compactage des membranes.

Les membranes des cellules de la région limbique du cerveau présentent une teneur très élevée en acides gras polyinsaturés omega-3. Comme ces acides gras sont apportés par l'alimentation, toute déficience alimentaire a des conséquences immédiates sur le développement des membranes neuronales, les activités enzymatiques cellulaires, les activités synthétiques des cellules et la neurotransmission. Comme la région limbique contrôle les émotions, elle a une grande influence sur les fonctions cardiaques (les émotions peuvent accélérer le rythme cardiaque). Ainsi, la déficience en acides gras omega-3 qui touche le fonctionnement du cerveau peut également affecter les fonctions cardiaques.

La raison qui explique pourquoi la région limbique du cerveau est riche en acides gras polyinsaturés n'est pas clairement établie. Il est généralement admis que le cerveau limbique s'est développé au tout début de l'évolution, lorsque les premiers êtres vivants évoluaient en milieu aquatique et avaient un régime d'origine marine riche en acides gras polyinsaturés omega-3. Malheureusement, la plupart des produits alimentaires consommés par les hommes dans les pays développés sont pauvres en acides gras polyinsaturés, particulièrement en omega-3. Dans des conditions idéales, notre nourriture devrait contenir des acides gras omega-3 et omega-6 dans un rapport de 1:1. Ce ratio est généralement de 1:10 dans les aliments courants.

La fréquence de la dépression, de l'anxiété, du stress et des problèmes psychiatriques semble augmenter continuellement depuis le début du 20ème siècle. Bien que différents facteurs aient pu contribuer à cette évolution, de nombreuses études scientifiques et épidémiologiques montrent que ces troubles sont liés aux habitudes alimentaires du monde occidental, alimentation dans laquelle les acides gras polyinsaturés omega-3 contenus dans les produits de la mer, les huiles de poisson (obtenues à partir de la graisse de

peau de poisson) ou l'huile de lin ont été largement remplacé par les huiles oléagineuses riches en acides gras saturés ou en acides gras polyinsaturés omega-6. De nombreuses études cliniques récentes (Kalminj et al. Annals of Neurology, vol 42, 1997 ; Peet M. et al. Arch. Gen. Psychiatry, vol 59, 2002 ; Stoll A.L. et al. Arch. Gen. Psychiatry, vol 56, 1999 ; Tanskanene A et al. Arch. Gen. Psychiatr, vol 29 2003 ; Colin A. et al. Encephale, vol 29, 2003 ; Maes et al. Psychyatry Res., vol 85, 1999) montrent clairement le lien direct entre la déficience des omega-3 dans l'alimentation et de nombreux troubles psychiques.

Malgré l'existence de ce lien direct entre la déficience en omega-3 et l'augmentation de la fréquence des troubles psychiques et des maladies cardio-vasculaires, l'utilisation des omega-3 pour restaurer les fonctions cellulaires normales ne s'est pas généralisée. Ce manque d'intérêt pour les omega-3 est dû à trois causes principales :

1. Il est nécessaire de consommer de grandes quantités d'aliments riches en omega-3 comme les poissons gras (saumon . . .) ou l'huile de lin, ce qui n'est pas pratique,
2. Même si les meilleures sources d'omega-3 comme les capsules d'huile de poisson sont concentrées en omega-3, il est nécessaire de prendre au moins 4 à 6 capsules de grande taille par jour, ce qui n'est pas facile,
3. Les résultats obtenus avec des qualités variables d'huiles riches en omega-3 sont souvent peu encourageants.

C'est pour cette raison qu'une grande partie de la population des pays développés occidentaux souffre de problèmes psychiques mineurs et renonce à utiliser régulièrement des omega-3.

Il maintenant clairement établi qu'un minimum de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments sont indispensables pour assurer des fonctions métaboliques cellulaires optimales. De nombreuses vitamines, minéraux et oligo-éléments agissent comme co-enzymes ou catalyseur dans

de nombreuses réactions biochimiques intracellulaires. Comme ces éléments sont indispensables à un métabolisme cellulaire optimal, ils sont appelés « éléments vitaux ». Comme ils ne sont ni synthétisés, ni stockés de façon adéquate dans l'organisme, nous avons besoin de prendre chaque jour un minimum d'Apports Journaliers Recommandés (AJR) de ces éléments. Une cellule fonctionnant normalement transforme les différentes substances d'origine alimentaire en énergie, en hormones, en enzymes ou en neurotransmetteurs grâce à l'action des éléments vitaux qui agissent comme catalyseurs ou co-enzymes dans les chaînes des réactions biochimiques intracellulaires. Le manque de seulement l'un d'entre eux vitaux perturbe l'ensemble des chaînes de réaction et diminue le métabolisme cellulaire. Cette diminution des fonctions cellulaires est responsable de l'apparition de différents problèmes de santé comme la dépression, lorsque ce sont les cellules nerveuses qui sont affectées, le manque de vitalité, lorsqu'il s'agit des cellules musculaires, de problèmes sexuels lorsqu'il s'agit des cellules hormonales . . . etc.

De nombreuses études épidémiologiques montrent que les problèmes psychiques et les maladies psychiatriques augmentent continuellement depuis le début du 20ème siècle et que la richesse en éléments vitaux de notre alimentation ne cesse de diminuer. Il a également été montré que 7 personnes sur 10 dans les pays développés ne reçoivent pas les AJR (Apports Journaliers Recommandés) minimum d'un ou plusieurs éléments vitaux. La corrélation entre cette déficience en éléments vitaux chez 7 personnes sur 10 et la fréquence des troubles psychiques mineurs ou majeurs dans environ 70% de la population des pays développés n'a jamais été clairement établie.

L'objet de notre travail de recherche était de trouver les éléments qui stimulent l'activité métabolique cellulaire des cellules nerveuses pour améliorer la biodisponibilité et l'activité des acides gras polyinsaturés omega-3 (ou omega-3)

Nous avons développé des modèles cellulaires *in vitro* dans lesquels les activités métaboliques cellulaires sont

artificiellement réduites en diminuant les quantités d'éléments vitaux dans les milieux de culture. Différents éléments vitaux ont ensuite été ajoutés aux milieux de culture, seuls ou en association les uns avec les autres, afin d'étudier l'effet sur les fonctions métaboliques cellulaires. De façon surprenante, nous avons ainsi observé que les vitamines, les minéraux et les oligo-éléments ne stimulent pas le métabolisme cellulaire lorsqu'ils sont apportés dans des proportions identiques (équivalentes à 50% des AJR) dans le milieu de culture mais que seulement certains d'entre eux, dans des proportions particulières, stimulent les fonctions métaboliques cellulaires. Cette association spécifique contient au moins deux vitamines choisies parmi les vitamines A, B2, B9 et E avec au moins deux minéraux ou oligo-élément choisis parmi le magnésium, le zinc, le cuivre et le sélénium. Les meilleurs résultats ont été obtenus lorsque les 8 éléments ont été apportés ensemble (voir tableau n°1). L'addition supplémentaire d'autres éléments vitaux peut ralentir le métabolisme cellulaire.

Nous avons observé que l'apport d'omega-3 seuls augmentent la croissance des cellules nerveuses in vitro de +7,8% par rapport aux cultures témoins. L'association des omega-3 avec les éléments vitaux qui stimulent le métabolisme cellulaire augmente le taux de croissance des cellules nerveuses de +38.7% (voir tableau n°2).

Les études pharmacologiques *in vitro* sur les cellules neuronales montrent également que les omega-3 seuls augmentent la durée de vie des cellules de 15 à 20% et que l'association des omega-3 avec éléments vitaux stimulateurs du métabolisme cellulaire augmente fortement la durée de vie des cellules neuronales (+62%).

Les résultats pharmacologiques in vivo confirment également une diminution significative de l'anxiété, une augmentation de la mémoire et des paramètres de condition physique.

Ces résultats montrent clairement que l'association en justes proportions de vitamines, minéraux et oligo-éléments, activateurs spécifiques du métabolisme cellulaire,

avec des acides gras polyinsaturés omega-3, augmente de façon marquée la biodisponibilité des acides gras, restaurant ainsi les fonctions des membranes et l'activité synthétique des cellules nerveuses. Les symptômes des troubles liés au fonctionnement neuronal diminuent.

Bien que le mode d'action de cette association synergique ne soit pas clairement défini, on peut raisonnablement imaginer que la vitamine E et le sélénium agissent comme antioxydants spécifiques pour protéger les acides gras polyinsaturés et diminuent leur oxydation et leur dégradation dans l'organisme. De même, les vitamines A, B2, B9, le magnésium et le cuivre agissent comme catalyseurs ou coenzymes spécifiques dans le métabolisme cellulaire neuronal, contribuant à la régénération des membranes cellulaires neuronales et à la synthèse correcte des neurotransmetteurs en rétablissant des fonctions cellulaires normales. La juste association des éléments vitaux cités ci-dessus est très spécifique, parce que l'excès d'un des éléments peut saturer certains sites des récepteurs cellulaires par des liaisons non spécifiques, ce qui peut conduire à la sous utilisation d'un autre élément. Cela ralentit alors les fonctions du métabolisme cellulaire. Il est donc indispensable d'apporter non seulement une quantité suffisante d'omega-3 mais également de stopper leur oxydation et leur dégradation dans l'organisme tout en stimulant les fonctions du métabolisme cellulaire qui va permettre d'optimiser l'activité des omega-3.

Les acides gras polyinsaturés selon l'invention peuvent êtres obtenus à partir de n'importe quelle source naturelle ou synthétique comme l'huile de poisson, l'huile de lin, des micro-organismes, des plantes ou des animaux génétiquement modifiés ou non, les œufs, le beurre, le lait concentré, particulièrement les huiles de poisson des eaux froides.

Les sources d'acides gras polyinsaturés peuvent être concentrées en omega-3 par chromatographie de partage centrifuge ou par tout autre technique pour diminuer la proportion d'omega-6.

Dans des conditions préférentielles selon l'invention, le rapport entre les omega-3 et les omega-6 est de 1:1 à 1:7.

Dans des conditions préférentielles d'utilisation selon l'invention, la source d'omega-3 est une huile de poissons concentrée en omega-3 administrée par voie orale sous forme de capsules molles à base de gélatine.

Les doses journalières d'omega-3 dépendent de leur destination et peuvent varier entre 100 mg et 1.5 g d'omega-3 par jour, les quantités apportées étant préférentiellement entre 500 et 1000 mg d'omega-3 par jour, en une ou plusieurs prises.

Les éléments vitaux spécifiques selon l'invention peuvent être obtenus à partir de n'importe quelle source naturelle ou synthétique de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments, sous forme liquide ou sous forme de poudre.

Les éléments vitaux spécifiques peuvent être associés avec les sources d'acides gras polyinsaturés omega-3 soit en mélangeant les différentes sources ensemble, soit en apportant séparément des vitamines et/ou des minéraux et/ou des oligo-éléments avec des gélules, des capsules, des comprimés, des poudres ou des sirops avec une source enrichie en omega-3.

Le complexe spécifique d'éléments vitaux activateurs du métabolisme cellulaire peut être apporté en même temps que les omega-3 ou peut être apporté à tout autre moment de la journée. Il est également possible d'administrer les omega-3 et le complexe d'éléments vitaux en alternant les jours.

Selon l'invention, l'association synergique des omega-3 avec le complexe d'éléments vitaux activateurs du métabolisme cellulaire peut être utilisée en tant que traitement préventif ou curatif pour les troubles du fonctionnement cérébral comme la dépression, l'anxiété, les pertes de mémoire, la démence, la maladie d'Alzheimer, l'insomnie, la fatigue, pour lutter contre le vieillissement et les troubles du fonctionnement cérébral liés à l'âge, pour traiter l'obésité ou pour stimuler la vitalité chez l'homme et chez la femme.

D'autres vitamines (comme la vitamine C, la vitamine D), des minéraux (comme le calcium) ou des oligo-éléments (comme l'iode, le fer) peuvent être intégrés dans le complexe d'éléments vitaux spécifiques stimulant les fonctions cellulaires car ils n'interfèrent pas avec l'activité du complexe.

Cette association peut être présentée sous forme de produit diététique, de complément alimentaire, de produit de phytothérapie, de médicament ou de produit cosmétique.

La dose usuelle de vitamines, minéraux et oligo-éléments, variable selon la composition choisie peut être par exemple administrée quotidiennement pendant une période au moins égale à 14 jours, 30 jours de préférence, à des doses comprises entre 15 et 200 pour cent des Apports Journaliers Recommandés (AJR) de chacun des éléments, plus particulièrement 50% des AJR. Par AJR, on entend la quantité de micronutriments effectivement disponible pour une utilisation par l'organisme et non pas le poids brut de la forme d'apport utilisée. Il est conseillé d'utiliser l'association d'omega-3 avec le complexe spécifique de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments tous les jours et pendant toute la vie sauf dans le cas où l'alimentation apporte 100% des AJR de chacun de ces éléments.

Dans des conditions préférentielles selon l'invention, les quantités de chacun de ces éléments mises en œuvre sont, par exemple, de 62,5% des AJR en vitamine A, de 35,6% des AJR en vitamine B2, de 82,5% des AJR en vitamine B9, de 67,5% des AJR en vitamine E, de 50.3% des AJR en magnésium, de 56.3% des AJR en zinc, de 49.9% des AJR en cuivre, de 40% des AJR en sélénium.

Les exemples qui suivent illustrent la présente demande. Ces exemples de compositions pour améliorer la biodisponibilité des omega-3 ont été développés sur la base des résultats obtenus au cours des études pharmacologiques. Certaines compositions ont ensuite été soumises à des expérimentations cliniques.

EXEMPLE 1 :

On a préparé des capsules molles à base d'une huile enrichie en omega-3, de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments répondant à la formule pondérale suivante :

Huile de poissons concentrée à 60% en omega-3 (rapport omega-3/omega-6 = 2.5)	500 mg
Vitamine A (bêta carotène)	3.330 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	0.574 mg
Vitamine B9 (acide folique)	0.166 mg
Vitamine E (d-alpha-tocophérol)	10.058 mg
Magnésium (oxyde de magnésium)	143.500 mg
Zinc (sulfate de zinc)	12.800 mg
Cuivre (gluconate de cuivre)	6.470 mg
Sélénium (levures enrichies 2000 µg/g)	16.750 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp 1000 mg

Posologie: 1 capsule chaque jour avec un verre d'eau, le matin de préférence.

EXEMPLE 2 :

On a préparé des capsules molles à base d'une huile enrichie en omega-3, de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments répondant à la formule pondérale suivante :

Huile de poissons concentrée à 60% en omega-3 (rapport omega-3/omega-6 = 2.5)	500 mg
Vitamine A (bêta carotène)	3.330 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	0.574 mg
Vitamine B9 (acide folique)	0.166 mg
Vitamine C (acide ascorbique)	45.000 mg
Vitamine E (d-alpha-tocophérol)	10.058 mg
Magnésium (oxyde de magnésium)	143.500 mg
Zinc (sulfate de zinc)	12.800 mg
Cuivre (gluconate de cuivre)	6.470 mg
Sélénium (levures enrichies 2000 µg/g)	16.750 mg
Iode (iodure de potassium)	0.090 mg

Fer (sulfate de fer)	19.810 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp 1000 mg

Posologie: 1 capsule chaque jour avec un verre d'eau, le matin de préférence.

EXEMPLE 3 :

On a préparé des capsules molles à base d'une huile enrichie en omega-3, de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments répondant à la formule pondérale suivante :

Huile de lin concentrée en omega-3	500.000 mg
Vitamine A (bêta carotène)	3.330 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	0.574 mg
Vitamine B9 (acide folique)	0.166 mg
Vitamine E (d-alpha-tocophérol)	10.058 mg
Magnésium (oxyde de magnésium)	143.500 mg
Zinc (sulfate de zinc)	12.800 mg
Cuivre (gluconate de cuivre)	6.470 mg
Sélénium (levures enrichies 2000 µg/g)	16.750 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp 1000 mg

Posologie: 1 capsule chaque jour avec un verre d'eau, le matin de préférence.

EXEMPLE 4 :

On a préparé des capsules molles à base d'une huile enrichie en omega-3 utilisées en combinaison avec un sirop enrichi en vitamines, minéraux et oligo-éléments et répondants à la formule pondérale suivante :

Capsules molles enrichies en omega-3 :

Huile de poissons concentrée à 60% en omega-3 (rapport omega-3/omega-6 = 2.5)	500 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp 669 mg

Sirop enrichi en vitamines, minéraux et oligo-éléments :

	Quantité d'élément par dose journalière
Vitamine A (bêta carotène)	3.3300 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	0.8000 mg
Vitamine B9 (acide folique)	0.1000 mg
Vitamine E (source à 50% de vitamine E)	10.0000 mg
Magnésium (oxyde de magnésium)	248.7000 mg
Zinc (oxyde de zinc)	9.3350 mg
Cuivre (oxyde de cuivre)	1.2520 mg
Sélénium (sélénate de sodium)	0.0822 mg
Excipient	qsp une dose (environ 7g)

Posologie: 1 capsule molle par jour avec un verre d'eau, le matin de préférence utilisé avec une dose par jour du sirop enrichi en vitamines, minéraux et oligo-éléments.

EXEMPLE 5 :

On a préparé des capsules molles à base d'une huile enrichie en omega-3, utilisées en combinaison avec des capsules molles enrichies en vitamines et des capsules molles enrichies en minéraux et répondant aux formules pondérales suivantes :

Capsules molles enrichies en omega-3 :

Huile de poissons concentrée à 60% en omega-3 (rapport omega-3/omega-6 = 2.5)	500 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp 669 mg

Capsules molles de vitamines :

Vitamine A (bêta carotène)	3.3300 mg
Vitamine B1 (chlorhydrate de Thiamine)	0.7060 mg
Vitamine B2 (riboflavine)	0.5740 mg
Vitamine B3 (nicotinamide)	9.0330 mg
Vitamine B5 (D-pantothénate de calcium)	2.7100 mg
Vitamine B6 (chlorhydrate de pyridoxine)	1.0060 mg
Vitamine B9 (acide folique)	0.1660 mg

Vitamine E (d-alpha-tocophérol)		10.0580 mg
Vitamine C (acide L-ascorbique)		45.0000 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp	399 mg

Capsules molles de minéraux :

Magnésium (oxyde de magnésium)		143.500 mg
Fer (sulfate de fer)		19.810 mg
Zinc (sulfate de zinc)		12.800 mg
Cuivre (gluconate de cuivre)		1.252 mg
Sélénium (levures enrichies 2000 µg/g)		16.750 mg
Iode (iodure de potassium)		0.090 mg
Excipient pour les capsules molles	qsp	631 mg

Posologie: 2 capsules molles enrichies en omega-3, 1 capsule molle de vitamines et 1 capsule molle de minéraux, avec un verre d'eau, le matin de préférence.

ETUDES PHARMACOLOGIQUES :

Etude *in vitro* du rôle des omega-3 seuls ou en association avec des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments sur les fonctions des cellules neuronales.

La lignée de cellules neuronales PC2 a été utilisée comme modèle du fonctionnement neuronal. Les cellules ont été cultivées selon la méthode décrite par Greene L. et al. (Adv. Cell Neurobiol., vol 3, 373, 1982). Les cellules ont été ensemencées dans des microplaques de culture tissulaire à 6 puits contenant du milieu RPMI 164 enrichi avec 10% de sérum de cheval inactivé à chaud, du sérum fœtal de veau (5%), de la pénicilline (50 UI/ml), de la streptomycine (50µg/ml) et de la L-glutamine (2 µl/ml). Les cultures témoins et les cultures testées ont été incubées à 95% d'air et 5% de CO_2. Les sous cultures ont été préparées en recouvrant les puits avec des mini-inserts de culture de 30 mm de diamètre en cellulose (de type milicell) avec de la poly-D-lysine et un matrigel en disposant ces inserts dans des boites de Petri de 100 mm de diamètre contenant le milieu de culture. Les cellules ont été ensemencées avec une densité de 3000

cellules par cm² et ont été finalement différenciées par addition de S-NGF (50 µg/ml) dans un milieu sans sérum pendant 7 jours. Les cellules nerveuses avec des axones et des dendrites se développent à 95% de confluence en 7 jours. Les cellules ont été trypsinées et multipliées dans des conditions de culture identique pour les différents traitements. Pour les différentes expériences, une huile riche en omega-3 dérivée de peaux de poisson (rapport omega-3 / omega-6 = 2,5:1) a été utilisée. L'huile a été répartie de façon uniforme sur une face des inserts en cellulose tandis que les cellules PC2 étaient cultivées sur l'autre face. Les concentrations maximum non cytotoxiques en omega-3 ont été déterminées préalablement aux différentes expériences.

Les vitamines et les minéraux ont été préalablement dissous dans des solutions mères de milieu de culture et les dilutions appropriées ont ensuite été introduites dans les cultures des cellules neuronales. Les cellules ont ainsi été incubées pendant 3 à 10 jours selon le type d'expérience. A la fin de la période expérimentale, les mini-inserts des plaques de culture ont été retirés pour l'étude des paramètres cellulaires. Les résultats ont été comparés aux témoins correspondants. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicata (n=6) avec le même nombre de cultures témoin.

a) effet des omega-3 sur la croissance cellulaire.

Dans les cultures de départ, une culture monocouche à 80-90% est obtenue en 7 jours. Les cellules témoin ont été cultivées dans les mini-inserts sans omega-3 tandis que les autres mini-inserts ont été traités avec les omega-3. Les vitamines et les minéraux ont été ajoutés dans les milieux de culture (à hauteur d'1/10 des concentrations maximums non cytotoxiques). Le nombre de cellules a été déterminé après trypsination au jour 7. Seuls les résultats les plus pertinents avec les vitamines (A, B2, B9, E), les minéraux (magnésium) et les oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium) choisis sont présentés. Les résultats suivants ont été obtenus :

Tableau n°1 :

Expérience	Nombre moyen de cellules/cm² au jour 7 (n=18)	Pourcentage
Cellules neuronales témoins	7800	100
Cellules avec 50% des AJR en vitamine A, B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, C, E, magnésium, zinc, cuivre, sélénium, iode, fer, cobalt, manganèse	7914	101.46
Cellules avec 50% des AJR en vitamines A, B2, B9, E + magnésium, zinc, cuivre et sélénium seuls	8642	110.80
Cellules avec omega-3 seuls	8420	107.81
Cellules avec omega-3 + vitamines A, B2, B9, E	8918	114.19
Cellules avec omega-3 + magnésium, zinc, cuivre et sélénium	8778	112.39
Cellules avec vitamines A, B2, B9, E + magnésium, zinc, cuivre et sélénium seuls	9438	121.00
Cellules avec omega-3 + vitamines A, B2, B9, E + magnésium, zinc, cuivre et sélénium	10832	138.69

Ces résultats montrent que les omega-3 augmentent la croissance des cellules neuronales (+7.81% par rapport aux témoins). L'addition des vitamines, minéraux et oligo-éléments à hauteur de 50% des AJR n'a aucune influence sur la croissance cellulaire tandis que les éléments vitaux sélectionnés stimule encore plus la croissance cellulaire. L'association d'omega-3 avec des éléments vitaux spécifiques stimule très fortement la croissance des cellules neuronales (+38.7%).

b) Effet anti-vieillissement

La procédure expérimentale était identique à l'expérience précédente sur la croissance cellulaire mis à part qu'après la confluence cellulaire (monocouche à 10% de confluence), le milieu de culture n'a pas été renouvelé et la mortalité cellulaire a été déterminée à intervalles réguliers jusqu'au 24ème jour en utilisant une coloration au rouge neutre, colorant vital des cellules vivantes (incolores), et des cellules mortes (rouge). Les résultats suivants ont été obtenus.

Tableau n°2 :

	Nombre moyen de cellules/cm²			Pourcentage de survie	
	Jour 7	Jour 14	Jour 21	Jour 14	Jour 21
Cellules neuronales témoins	*7618*	*4310*	*0*	*56,57*	*0,00*
Cellules avec omega-3 seuls	*7420*	*5108*	*1152*	*68,84*	*15,52*
Cellules avec omega-3 + vitamines A, B2, B9, E	*7318*	*5292*	*1610*	*72,31*	*22,00*
Cellules avec omega-3 + magnésium, zinc, cuivre et sélénium	*7822*	*4936*	*1286*	*63,10*	*16,44*
Cellules avec vitamines A, B2, B9, E + magnésium, zinc, cuivre et sélénium seuls	*7740*	*5652*	*1986*	*73,02*	*25,66*
Cellules avec omega-3 + vitamines A, B2, B9, E + magnésium, zinc, cuivre et sélénium	*7598*	*6142*	*4736*	*80,84*	*62,33*

Ces résultats montrent que la durée de vie maximum des cellules en conditions standard est inférieure à 21 jours mais que cette durée de vie peut être augmentée de 15 à 20% en apportant des omega-3 avec des éléments vitaux spécifiques. L'apport d'omega-3 avec les vitamines, minéraux et oligo-éléments sélectionnés réduit fortement la mort des cellules neuronales et augmente significativement le taux de survie cellulaire (+62%).

Pharmacologie in vivo :

Les rats ont été divisés en deux groupes. Le groupe 1 composé de rats adultes Wistar mâles pesant environ 200 g ont reçu une alimentation supplémentée avec une huile riche en omega-3 (10 mg/jour) avec des vitamines A, B2, B9 et E, du magnésium, du zinc, du cuivre et du sélénium (40-50% des apports journaliers recommandés) pendant 30 jours. Les animaux du groupe 2 recevant seulement une alimentation riche en omega-3 (10 mg/j) constituaient les témoins. Les tests comportementaux usuels et les tests classiques de la mémoire ont été conduits aux jours 28-30.

Dans le test d'exploration à deux compartiments, le groupe 1 a montré une anxiété moindre. Dans le test de la nage forcée, le temps d'immobilité était raccourci indiquant une meilleure condition physique dans le groupe 1. Dans le test de Maze, le temps d'alimentation était raccourci démontrant une amélioration de la mémoire dans le groupe 1. Enfin, dans le test à la scopolamine, la durée de perte de mémoire induite par la scopolamine a été diminuée dans le groupe recevant des omega-3 et des éléments vitaux spécifiques. Ces résultats prouvent que l'association des omega-3 avec des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments testés présente une activité d'amélioration de la mémoire mais également un effet restaurateur de la mémoire.

L'administration par voie orale d'omega-3 aide à améliorer les fonctions neurologiques du cerveau. L'association des omega-3 avec les vitamines A, B2, B9, E, du magnésium, du sélénium, du zinc et du cuivre présente un

effet synergique sur les fonction neuronales et augmente significativement l'effet des ingrédients pris séparément.

Le complexe d'éléments vitaux, les huiles de poisson enrichies en omega-3 et les combinaisons de ces deux produits ont été testées pendant un mois chez des volontaires sains et n'ont pas montré d'effets secondaires.

Ces associations peuvent être utilisées pour le traitement des troubles psychiques mineurs comme la dépression, l'anxiété, les pertes de mémoire, pour améliorer la forme physique et dans des produits anti-vieillissement ou pour allonger la durée de la vie. Les propriétés antioxydantes du complexe de vitamines, de minéraux et d'oligo-éléments stimulateur du métabolisme cellulaire et les propriétés constitutives des omega-3 sur les membranes neuronales sont certainement à l'origine de cette activité synergique.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'une composition synergique par voie orale pour améliorer la biodisponibilité et l'efficacité des acides gras polyinsaturés omega-3 caractérisée en ce qu'elle associe des omega-3 avec un complexe activateur du métabolisme cellulaire contenant au moins deux vitamines choisies parmi la vitamine A, la vitamine B2, la vitamine B9, la vitamine E avec au moins deux minéraux ou oligo-éléments choisis parmi le magnésium, le zinc, le cuivre et le sélénium pour stimuler les fonctions neuronales.

2. Utilisation d'une composition synergique par voie orale pour améliorer l'efficacité des acides gras polyinsaturés omega-3 caractérisée en ce qu'elle comprend un complexe activateur des fonctions métaboliques cellulaires pour améliorer la biodisponibilité des omega-3.

3. Utilisation d'une composition synergique par voie orale pour améliorer l'efficacité des acides gras polyinsaturés omega-3 caractérisée en ce qu'elle comprend une source d'origine naturelle riche en omega-3 comme l'huile de poissons des mers froides enrichie en omega-3 avec au moins deux vitamines choisies parmi la vitamine A, la vitamine B2, la vitamine B9, la vitamine E avec au moins deux minéraux ou oligo-éléments choisis parmi le magnésium, le zinc, le cuivre et le sélénium par voie orale pour le traitement des maladies ayant pour origine des dysfonctionnements d'origine cérébrale ou cardiaque.

4. Utilisation par voie orale d'acides gras polyinsaturés avec des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments antioxydants pour le traitement des troubles psychiatriques et des troubles cardio-vasculaires.

5. Utilisation par voie orale ou par voie locale d'acides gras polyinsaturés avec au moins deux vitamines choisies

parmi la vitamine A, la vitamine B2, la vitamine B9, la vitamine E avec au moins deux minéraux ou oligo-éléments choisis parmi le magnésium, le zinc, le cuivre et le sélénium à titre de produit diététique, nutritionnel, pharmaceutique ou cosmétique.

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

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

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement national

FA 641936
FR 0312211

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	EP 1 214 893 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 19 juin 2002 (2002-06-19) * alinéas [0134], [0137], [0144] *	1-5	A61K35/60 A61P25/28 A61P9/00 A23L1/29
X	US 2003/050341 A1 (BYDLON ROLAND J ET AL) 13 mars 2003 (2003-03-13) * revendications 19-61 * * tableaux 1-3 *	1-5	A61K7/00
X	US 2003/004472 A1 (TANGRI KULDIP CHAND) 2 janvier 2003 (2003-01-02) * alinéas [0012] - [0019] * * revendication 1 *	1-5	
X	WO 91/11117 A (UNIV TEXAS) 8 août 1991 (1991-08-08) * revendications 1-73 *	2,5	
X	US 6 140 304 A (SEARS BARRY D) 31 octobre 2000 (2000-10-31) * exemple 3 *	2,5	
Y	SINGH MEHARBAN: "Nutrition, brain and environment: how to have smarter babies?" INDIAN PEDIATRICS. MAR 2003, vol. 40, no. 3, mars 2003 (2003-03), pages 213-220, XP000903041 ISSN: 0019-6061 * le document en entier *	1-5	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) A61K A61P
Y	US 2003/012827 A1 (STOLL ANDREW) 16 janvier 2003 (2003-01-16) * le document en entier *	1-5	
Y	WO 99/29316 A (MISHRA AWADHESH K ; MOUSSA ISKANDAR (CA); CLARKE NUALA M (IE); CYCLOSP) 17 juin 1999 (1999-06-17) * page 1, ligne 14 - page 2, ligne 7 *	1-5	

-/--

4

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
26 mai 2004	Fayos, C

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

.....

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

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

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement national

FA 641936
FR 0312211

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 199730 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B05, AN 1997-320225 XP002282140 & CN 1 105 205 A (HUANG S) 19 juillet 1995 (1995-07-19) * abrégé * -----	1-5	
Y	US 2002/193439 A1 (VADDADI KRISHNA S ET AL) 19 décembre 2002 (2002-12-19) * le document en entier * -----	1-5	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
26 mai 2004	Fayos, C

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

4

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0312211 FA 641936

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 26-05-2004
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
EP 1214893	A	19-06-2002	EP	1214893 A1	19-06-2002
			AU	2193402 A	24-06-2002
			WO	0247493 A2	20-06-2002
			EP	1355539 A2	29-10-2003
			US	2002146463 A1	10-10-2002
US 2003050341	A1	13-03-2003	AUCUN		
US 2003004472	A1	02-01-2003	US	6458108 B1	01-10-2002
			AU	7681201 A	08-10-2001
			CA	2397704 A1	04-10-2001
			WO	0172261 A2	04-10-2001
WO 9111117	A	08-08-1991	AT	147592 T	15-02-1997
			AU	646840 B2	10-03-1994
			AU	7241491 A	21-08-1991
			BR	9105986 A	10-11-1992
			CA	2074527 A1	06-08-1991
			DE	69124223 D1	27-02-1997
			DE	69124223 T2	30-04-1997
			EP	0514451 A1	25-11-1992
			JP	5505935 T	02-09-1993
			WO	9111117 A2	08-08-1991
			US	6451341 B1	17-09-2002
US 6140304	A	31-10-2000	US	5059622 A	22-10-1991
			CA	1334002 C	17-01-1995
US 2003012827	A1	16-01-2003	US	6344482 B1	05-02-2002
			WO	03072111 A2	04-09-2003
			US	2002091103 A1	11-07-2002
WO 9929316	A	17-06-1999	AU	1809499 A	28-06-1999
			AU	743098 B2	17-01-2002
			AU	1817499 A	28-06-1999
			CA	2313024 A1	17-06-1999
			EP	1039893 A1	04-10-2000
			JP	2001525363 T	11-12-2001
			NO	20002991 A	09-08-2000
			WO	9929300 A1	17-06-1999
			WO	9929316 A1	17-06-1999
			US	6284268 B1	04-09-2001
CN 1105205	A	19-07-1995	AUCUN		
US 2002193439	A1	19-12-2002	US	2002077361 A1	20-06-2002

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0312211 FA 641936

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 26-05-2004
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
US 2002193439 A1		AU 3065700 A	18-08-2000
		BR 0007743 A	27-11-2001
		CA 2360776 A1	03-08-2000
		CN 1338929 T	06-03-2002
		CZ 20012695 A3	13-02-2002
		EE 200100387 A	17-02-2003
		EP 1148873 A2	31-10-2001
		EP 1417963 A1	12-05-2004
		WO 0044361 A2	03-08-2000
		HR 20010558 A1	31-08-2002
		HU 0105215 A2	29-05-2002
		JP 2002535355 T	22-10-2002
		NO 20013546 A	25-09-2001
		NZ 513172 A	31-10-2003
		SK 10392001 A3	05-02-2002
		TR 200102170 T2	21-12-2001
		US 2002183389 A1	05-12-2002
		US 6384077 B1	07-05-2002
		ZA 200106105 A	03-03-2003

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C

Numéro de la demande
FA 641936
FR 0312211

Certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

Revendications ayant fait l'objet de recherches complètes:
1, 3, 5

Revendications ayant fait l'objet de recherches incomplètes:
2, 4

Raison pour la limitation de la recherche:

La revendication 2 présente a trait à un produit défini en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir "complexe activateur des fonctions métaboliques cellulaires pour améliorer la biodisponibilité des omega-3".

La revendication 2 couvre tous les produits/composés présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article L.612-6 CPI et/ou un exposé au sens de l'Article L.612-5 CPI que pour un nombre très limité de tels produits. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible.

Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, la revendication 2 manque aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir le produit au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible.

En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant le complexe activateur du métabolisme cellulaire tel que défini dans les revendications 1, 3 ou 5.

De plus, la revendication 4 a trait à une très grande variété de composés possibles (vitamines, minéraux et oligo-éléments antioxydants). Un fondement au sens de L'Article L.612-6 CPI et/ou un exposé au sens de l'Article L.612-5 CPI ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés revendiqués. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité q'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible.
En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant le complexe activateur du métabolisme cellulaire tel que défini dans les revendications 1, 3 ou 5.