

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

3 063 904

②1 N° d'enregistrement national : **17 52236**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 61 K 31/60** (2017.01), A 61 K 31/19, A 61 P 3/00,
A 61 P 19/02, A 61 P 25/16, A 61 P 29/00, A 61 P 39/06,
C 07 C 62/32, C 07 C 63/06

⑫

CERTIFICAT D'UTILITÉ

B3

⑤4 COMPOSITIONS ANTIOXIDANTES, ANTI-INFLAMMATOIRES ET UTILISATIONS DE
CELLES-CI.

②2 Date de dépôt : 17.03.17.

③0 Priorité :

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *MALAYSIAN PALM OIL BOARD —
MY.*

④3 Date de mise à la disposition du public
de la demande : 21.09.18 Bulletin 18/38.

④5 Date de la mise à disposition du public du
certificat d'utilité : 27.12.19 Bulletin 19/52.

⑦2 Inventeur(s) : *SAMBANTHAMURTHI RAVIGADEVI,
AI TAN YEW AI, SAMBANDAN T. G., RHA CHO
KYUN et SINSKEY ANTHONY J.*

⑤6 Les certificats d'utilité ne font pas l'objet d'un
rapport de recherche.

⑦3 Titulaire(s) : *MALAYSIAN PALM OIL BOARD.*

⑦4 Mandataire(s) : *LLR.*

FR 3 063 904 - B3



Domaine de l'invention

La présente invention concerne des composés ayant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires synergiques. Plus particulièrement, la présente invention concerne des composés améliorant les propriétés des agents antioxydants et anti-inflammatoires.

5 Arrière-plan de l'invention

Le fonctionnement normal de la vie exige, entre autres, un bon équilibre entre la formation et l'élimination de substances nocives. Le stress oxydatif, par exemple, représente un déséquilibre entre les niveaux des dérivés oxydants nuisibles, tels que des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) et des dérivés réactifs de l'azote (RNS). L'aptitude insuffisante d'un système biologique à neutraliser ou à éliminer aisément les dérivés oxydants entraîne des modifications délétères des protéines cellulaires, des lipides et de l'ADN.

Le stress oxydatif et l'inflammation sont impliqués dans la pathogenèse des maladies métaboliques, du diabète, de l'obésité, de la dyslipidémie et de leurs complications cardiovasculaires associées. Le stress oxydatif est également associé à un large éventail de maladies et d'autres affections telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la polyarthrite rhumatoïde, la neurodégénérescence, l'inflammation des voies aériennes et l'hyperréactivité (par exemple l'asthme) et certains troubles cutanés comme le vitiligo. En plus des états pathologiques, le stress oxydatif est également connu pour être impliqué dans certains composants indésirables du vieillissement.

En ce qui concerne l'inflammation, les études cliniques suggèrent que l'hyperglycémie aiguë entraîne des niveaux élevés de cytokines inflammatoires circulantes telles que TNF α , IL6 et IL18. Au cours de l'hyperglycémie et / ou de l'hyperlipidémie, les mitochondries génèrent de l'énergie cellulaire par l'activité du cycle TCA et la chaîne associée de transport par électrons de la membrane mitochondriale interne. Cependant, alors que les mitochondries génèrent une production élevée d'ATP, les mitochondries peuvent également générer des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) et des dérivés réactifs de l'azote (RNS).

Les cellules sont équipées de plusieurs enzymes antioxydants pour neutraliser les ROS et RNS. Cependant, bien que les cellules aient un certain nombre de mécanismes antioxydants

disponibles, les dommages se produisent très probablement lorsque les ROS sont excessifs et / ou que les voies antioxydantes sont dépassées.

Dans de nombreux cas, l'abaissement du stress oxydatif entraîne une amélioration dans la manifestation de la maladie. Dans de nombreux autres cas, l'abaissement du stress oxydatif peut
5 prévenir l'apparition de la maladie.

Dans nos travaux antérieurs, nous avons montré que les antioxydants phénoliques, à savoir l'acide caffeoylshikimique, l'acide p-hydroxybenzoïque, dans les compositions, tels que les Composés phénoliques de Palmiers (OPP), sont responsables de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire. Par exemple, les composés phénoliques se sont révélés être des antioxydants
10 puissants, comparables à de nombreuses molécules réductrices connues dans plusieurs essais (Bala Balasundram et al (2005) : "Antioxidant properties of palm fruit extracts" (Propriétés antioxydantes des extraits de fruits de palmier), *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14 (4), 319-324). Les études d'expression génique ont également montré les effets antioxydants et anti-inflammatoires des Composés phénoliques de Palmiers dans les cellules de mammifères
15 (Sarnbanthamurthi R. et al., 2013) : "*OPP attenuate changes caused by an atherogenic diet in mice*" (les OPP atténuent les changements causés par un régime athérogène chez la souris), *European Journal of Nutrition*, 52 (2), 443 à 456).

Cependant, il subsiste un besoin dans la technique pour améliorer le traitement des troubles métaboliques en améliorant les processus inflammatoires et oxydatifs associés à de tels
20 troubles.

Résumé de l'invention

Divers modes de réalisation de la présente invention fournissent une composition comprenant des composés phénoliques de palmier à huile et de l'acide shikimique ou des dérivés de ceux-ci.

25 La présente invention fournit en outre l'utilisation de l'acide shikimique ou de ses dérivés pour améliorer les propriétés antioxydantes d'agents antioxydants.

La présente invention propose en outre un procédé d'amélioration du stress oxydatif ou de l'inflammation comprenant : l'administration à un sujet d'une quantité thérapeutiquement

efficace d'une composition comprenant des composés phénoliques de palmier à huile et de l'acide shikimique ou des dérivés de ceux-ci.

La présente invention propose en outre l'utilisation d'une composition comprenant de l'acide shikimique et de l'acide 3-déhydroshikimique pour améliorer le stress oxydatif, l'inflammation
5 ou des troubles apparentés.

Description brève des dessins

D'autres objectifs, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description qui suit en référence aux dessins annexés.

La figure 1 est une représentation graphique de l'amélioration biologique de la combinaison
10 chimique de composés principaux de phénols de palmier à huile dans l'activité de piégeage de NO₂ cellulaire (essai Griess, macrophages RAW, moyenne ± SE).

Description détaillée des modes de réalisation préférés

La présente invention va maintenant être décrite en détail en référence aux dessins annexés.

Divers modes de réalisation de la présente invention fournissent une composition comprenant
15 des composés phénoliques de palmier à huile et de l'acide shikimique ou des dérivés de ceux-ci.

Selon un mode de réalisation de l'invention, les dérivés de l'acide shikimique comprennent l'acide 3-déhydroshikimique.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, les composés phénoliques de
20 palmier à huile sont choisis parmi l'acide protocatechuique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide 4-cafféoylshikimique, l'acide 3-cafféoylshikimique, l'acide 5-cafféoylshikimique ou des mélanges de celles-ci.

Selon encore un autre mode de réalisation de la présente invention, la composition comprend éventuellement des composés bioactifs choisis dans le groupe constitué par les peptides, les
25 minéraux, les oligosaccharides et des mélanges de ceux-ci.

Selon un mode de réalisation de la présente invention, la composition comprend en outre des véhicules pharmaceutiquement acceptables.

Selon un mode de réalisation, la composition comprend éventuellement un ou plusieurs diluants. Des exemples non limitatifs de diluants comprennent le dextrose, la maltodextrine,
5 une solution saline, une solution saline tamponnée, de l'eau, du glycérol et de l'éthanol.

La composition selon la présente invention comprenant des composés phénoliques de palmier à huile peut également comprendre plus d'un composant d'autres agents antioxydants et / ou anti-inflammatoires tels que des médicaments, des quasi-médicaments, des aliments ou des boissons utilisés à cette fin.

10 La composition selon la présente invention peut être formulée sous n'importe quelle forme. La formulation peut être préparée sous la forme d'une préparation injectable (solution vraie, suspension ou émulsion), d'une forme posologique orale (comprimé, gélule, capsule molle, médicament aqueux, pilule, granule), préparation topique (onguent, patch, spray, solution et similaires).

15 Selon un mode de réalisation, la composition est appliquée par voie topique, sous la forme d'un patch cutané, sous la forme d'un spray cutané ou sous forme de solution nasale ou intraveineuse.

Selon un mode de réalisation, la présente invention concerne l'utilisation d'acide shikimique ou de dérivés de celui-ci pour améliorer les propriétés antioxydantes d'agents antioxydants.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, les agents antioxydants sont des
20 composés phénoliques de palmier à huile choisis dans le groupe comprenant l'acide protocatéchique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide 4-caffeoylshikimique, l'acide 3-eaffecylshikimique, l'acide 5-caffeoylshikimique et les mélanges de celles-ci.

Selon encore un autre mode de réalisation, la présente invention concerne l'utilisation d'acide shikimique ou de ses dérivés pour améliorer les propriétés anti-inflammatoires d'agents
25 anti-inflammatoires.

Selon un autre mode de réalisation de la présente invention, les agents anti-inflammatoires sont des composés phénoliques de palmier à huile choisis dans le groupe comprenant l'acide protocatéchique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide 4-caffeoylshikimique, l'acide 3-eaffecylshikimique, l'acide 5-caffeoylshikimique et les mélanges de celles-ci.

Selon encore un autre mode de réalisation, la présente invention propose un procédé d'amélioration du stress oxydatif ou de l'inflammation comprenant : l'administration à un sujet d'une quantité thérapeutiquement efficace de la composition selon la revendication 1.

5 Selon un mode de réalisation de la présente invention, la composition inhibe le nitrite dans des systèmes biologiques.

Selon un mode de réalisation de la présente invention, la composition inhibe les ROS (Reactive Oxygen Species) dans les systèmes biologiques.

10 Selon un mode de réalisation de la présente invention, la composition est appliquée par voie topique, sous la forme d'un patch dermique cutané, sous la forme d'un spray cutané ou sous forme d'une solution nasale ou intraveineuse.

Selon un mode de réalisation, la présente invention concerne en outre l'utilisation d'une composition comprenant de l'acide shikimique et de l'acide 3-déhydroshikimique pour améliorer le stress oxydatif, l'inflammation ou des troubles apparentés.

15 Les exemples suivants sont fournis pour illustrer certaines particularités et / ou modes de réalisation particuliers. Ces exemples ne doivent pas être interprétés comme limitant la divulgation aux caractéristiques particulières ou formes de réalisation qui y sont décrites.

Exemples

Par souci de commodité, les abréviations suivantes seront utilisées dans les exemples suivants :

Abréviations-

20 Acide protocatechuique (P) ;

Acide p-hydroxybenzoïque (H) ;

Acide 3-déhydroshikinique (D) ;

Acide caffeoylshikimique (C) ;

Acide 4-caffeoylshikimique (4) ;

25 Acide 3-caffeoylshikimique (3) ;

Acide 5-caffeoylshikimique (5) ;

Acide shikimique (S)

Combinaison chimique de PH435 et S (PH435S) ;

Combinaison chimique de PH435 et D (PH435D) ;

5 Somme mathématique de %-age d'inhibition de NO_2^- (PH435 + S) ;

Somme mathématique du %-age d'inhibition de NO_2^- (PH435 + D)

Exemple 1

Mesure des nitrites (nitroprussiate de sodium - essai du SNP)

10 Le SNP en solution aqueuse à pH physiologique génère spontanément de l'oxyde nitrique, qui interagit avec l'oxygène pour produire un ion nitrite qui peut être estimé en utilisant un réactif griess.

Dans cet essai, l'acide shikimique et l'acide 3-déhydrochikimique présentent une faible inhibition de l'ion nitrite.

15 Cependant, il ne présente aucune amélioration lorsque de l'acide p-hydroxybenzoïque lui est ajoutée, le composé qui est présent en grande quantité dans l'OPP. L'acide 3-déhydroshikimique a présenté un effet similaire à l'acide shikimique dans ce système chimique. Ce résultat peut être dû au fait que l'essai ne mesure que l'activité chimique.

20 Les 4 combinaisons de OPP, PH435, PH435S, PH435D se sont avérées présenter des pourcentages très similaires d'inhibition de nitrite, sans aucune amélioration par l'acide shikimique et l'acide 3-déhydroshikimique.

Systèmes cellulaires :

Exemple 2

Mesure de H_2O_2 (protection antioxydante cellulaire dans des érythrocytes essai CAP-e)

25 Les globules rouges peuvent être utilisés comme modèle cellulaire pour quantifier les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Du fait que ces cellules perdent leurs noyaux à l'étape

érythroblaste, elles ne peuvent pas effectuer la transcription et la traduction pour provoquer des changements de niveau génétique et de protéine. Par conséquent, la mesure des ROS signifie la capacité du composé antioxydant à pénétrer dans le cytosol et à arrêter les radicaux libres.

Dans cette méthode, l'acide shikimique ne montre aucun effet sur la réduction des ROS.

- 5 Cependant, tous les autres composés sont capables d'inhiber l'oxydation de H_2O_2 . Les combinaisons des HCS et HCD sont tant l'une que l'autre synergiques car elles sont plus grandes que H+C+S et H+C+D, respectivement. Une observation intéressante est que la combinaison chimique des HCS, les composés prédominants des OPP, est capable d'expliquer seulement 78% de l'inhibition des ROS par les ON). Cependant, lorsque l'acide 3-déhydrochikimique est
- 10 ajouté avec H et C, elle conduit à 93% d'inhibition des ROS par rapport à aux OPP. Les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous :

TABEAU 1

Activité de piégeage des ROS cellulaire (essai CAP-e)

TABEAU 1

| Description | Quantité ajoutée (mM) # | %-age d'inhibition réelle des ROS | %-age d'inhibition des ROS par rapport aux composés phénoliques de palmier à huile (\pm S.E.) |
|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|--|
| Acide p-hydroxybenzoïque (H) | 0,51 | 22,5 | 30,6 ($\pm 0,2$) |
| Acide Caffeoyleshikimique (C) | 0,3 | 25,9 | 35,2 ($\pm 0,1$) |
| Acide shikimique (S) | 0,57 | Non détecté | Non détecté |

| | | | |
|--|---------|------|---------------------|
| Acide 3dehydroshikimique (D) | 0,58 | 9,9 | 13,4 ($\pm 0,05$) |
| Somme mathématique (H + C + S) de %age d'inhibition des ROS | | 48,4 | 65,7($\pm 0,2$) |
| Somme mathématique (H + C + D) de% d'inhibition des ROS | | 58,3 | 79,2 ($\pm 0,2$) |
| Combinaison chimique (HCS) en ajoutant les 3 composants ensemble dans les quantités susmentionnées | | 57,4 | 77,9 ($\pm 0,6$) |
| Combinaison chimique (HCD) en ajoutant les 3 composants ensemble dans les quantités susmentionnées | | 68,5 | 93 ($\pm 0,8$) |
| Composés phénoliques de palmier à huile | 10mg/mL | 73,7 | 100 ($\pm 0,8$) |

Les composants ont été ajoutés en fonction de la concentration présente dans 10 mg / ml des OPP.

* Toutes les valeurs montrent une signification statistique par rapport aux OPP ($P < 0,01$, test de différences honnêtement significatives de Tukey-Kramer)

5 **Exemple 3**

Mesure H_2O_2 (Protection antioxydante cellulaire dans des granulocytes polymorphonucléaires - test de cellules PMN)

L'acide shikimique apparaît avoir une action inhibitrice dans les deux tests qui mesurent l'activité anti-inflammatoire et antioxydante : 1) Test de griess cellulaire 2) Test de PMN cellulaire et test de piégeage de nitrite : 3) Test chimique du SNP. Cependant, elle est apte à
10 augmenter l'activité anti-inflammatoire et antioxydante d'autres composants seulement dans les

deux essais cellulaires (Griess et PMN). Dans les cellules RBC, elle ne montre aucune activité car elle manque d'activité antioxydante directe.

L'acide 3-déhydroshikimique apparaît avoir une action inhibitrice dans les trois essais qui mesurent l'activité anti-inflammatoire et antioxydant : 1) Test de griess cellulaire 2) Test de PMN cellulaire 3) Test de CAP-e cellulaire et test de piégeage de nitrite 4) Test chimique du SNP. Cependant, son effet d'amélioration a pu être observé dans 1) le test griess cellulaire 2) le test PMN cellulaire 3) le test CAP-e cellulaire et 4) le test chimique ORAC.

La figure 1 et le Tableau 2 montrent l'effet synergique de la composition dans l'activité cellulaire de piégeage de nitrite.

- 10 Pour l'étude, une composition de PH435 a été préparée en fonction de la concentration présente dans 800µg / ml de Composés phénoliques de Palmier à Huile. À partir de la figure 1 et du tableau 5 ci-dessous, on peut voir que l'activité de piégeage de nitrite des combinaisons d'acide protocatéchique, d'acide p-hydroxybenzoïque, d'acide 4-cafféoylshikimique, d'acide 3-cafféoylshikimique avec l'acide 3-déhydroshikimique et d'acide shikimique est 15 significativement plus élevée que la composition de phénoliques de palmiers à huile.

Tableau 2

| Description | Quantité ajoutée (µM) ‡ | %-age d'inhibition réelle des ROS | %-age d'inhibition des ROS par rapport aux composés phénoliques de palmier à huile (± S.E.) |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---|
| Acide protocatechique (P) | 3,3 | 8,6 | 13 (±0,7) |
| Acide p-hydroxybenzoïque (H) | 40,5 | 11,4 | 17,3(±2,8) |

| | | | |
|---|----------|------|--------------|
| Acide 4-Caffeoylshikimique (4) | 7,1 | 8,4 | 12,7(±2,5) |
| Acide 3-Caffeoylshikimique (4) | 8,1 | 12,3 | 18,6(±2,3) |
| Acide 5-Caffeoylshikimic (4) | 10,2 | 8,8 | 13,4(±3,7) |
| Acide shikimique (S) | 45,9 | 3,4 | 5,2 (±0,7) |
| Somme mathématique (P+H+4+3+5) de %-age d'inhibition de NO ₂ ⁻ | | 49,4 | 75(±5,8) |
| Somme mathématique (P+H+4+3+5+S) de %-age d'inhibition NO ₂ ⁻ | | 52,9 | 80,2 (±5,8) |
| Combinaison chimique (PH435) en ajoutant ensemble les 5 composants selon les quantités mentionnées ci-dessus | | 56,3 | 85,4 (± 1,7) |
| Combinaison chimique (PH435S) en ajoutant ensemble les 6 composants selon les quantités mentionnées ci-dessus | | 62 | 94,1 (±0,8)* |
| Composés phénoliques de palmier à l'huile | 800µg/mL | 65,9 | 100 (±3,2) |

‡ Les composants ont été ajoutés en fonction de la concentration présente dans 800 µg / mL de OPP

* Tous les composants à l'exception du PH435S présentent une signification statistique ($p < 0,05$) par rapport aux OPP en utilisant la différence honnêtement significative de Tukey-

5 Kramer (HSD)

On peut en déduire que la présence d'AMP (nucléotide Adenosine Monophosphate) en tant que partie de sa structure peut être requise par l'acide shikimique afin de présenter son effet d'amélioration. L'obtention d'une telle structure n'est possible que dans un système cellulaire. Il peut également être possible que l'acide shikimique ne puisse pas être convertie dans sa forme

5 acide 3-déhydroshikimique dans les cellules RBC en raison du manque de GDH, mais la conversion peut être possible dans les granulocytes. Il se peut également que cela soit le résultat des actions de signalisation anti-inflammatoires et antioxydantes par l'acide shikimique en combinaison avec d'autres composants.

Il doit être entendu que diverses modifications et modifications peuvent être apportées ou

10 différentes procédures standard / conventionnelles peuvent être employées sans s'écarter de l'esprit et de la portée de la présente invention et que celles-ci doivent être considérées comme étant dans la portée de la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Composition comprenant des composés phénoliques de palmier à huile et de l'acide shikimique ou des dérivés de ceux-ci.
2. Composition selon la revendication 1, dans laquelle les dérivés d'acide shikimique
5 comprennent de l'acide 3-déhydroshikimique.
3. Composition selon la revendication 1, comprenant des composés bioactifs choisis dans le groupe constitué par les peptides, les minéraux, les oligosaccharides et leurs mélanges.
4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant en outre des supports pharmaceutiquement acceptables.
- 10 5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, destinée à être utilisée dans le traitement du stress oxydatif ou de l'inflammation.

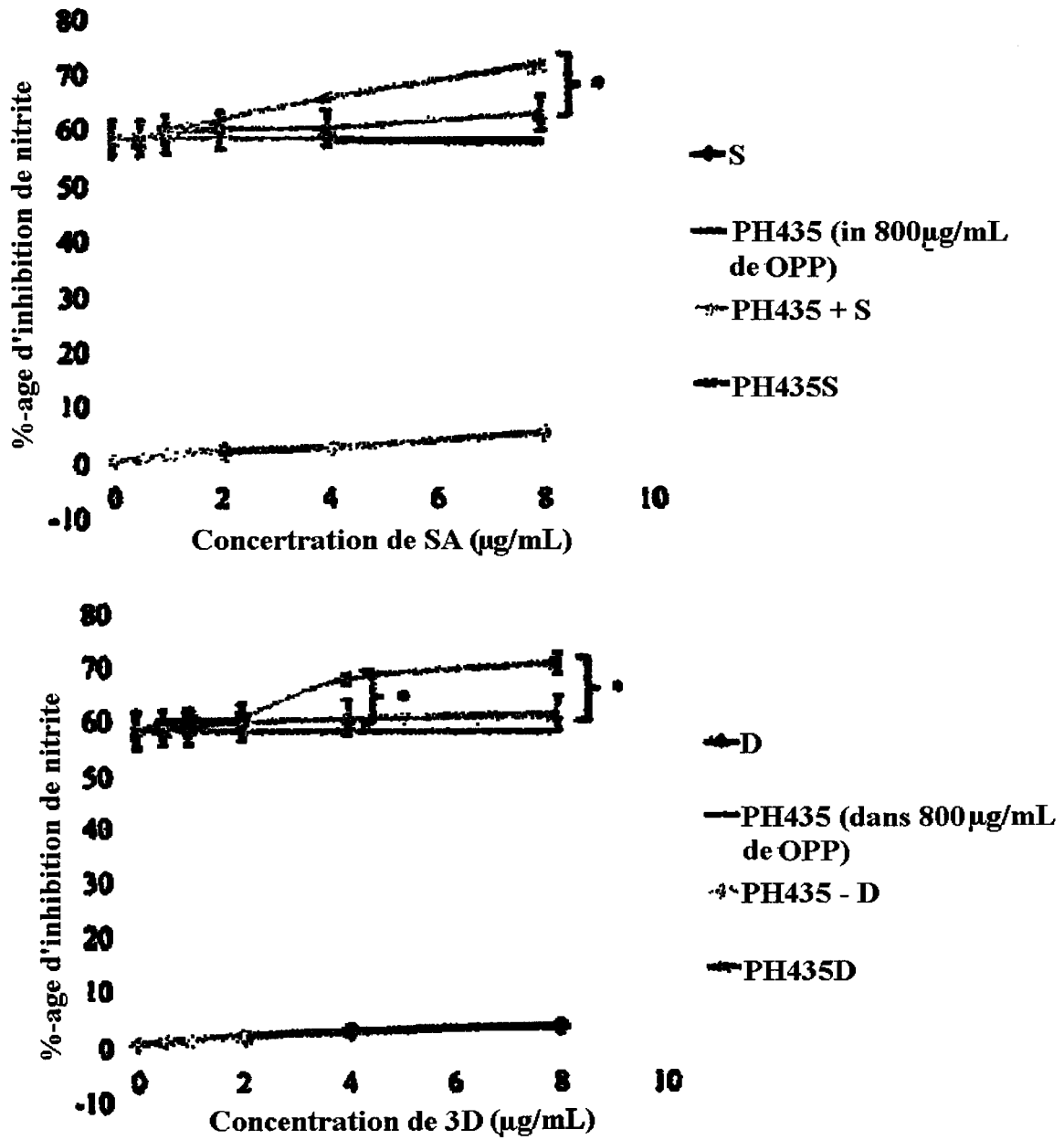


FIGURE 1