

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 53187 A1** (51) Cl. internationale : **A61K 36/88; A61K 36/88; A61P 43/00; A61P 35/00**
- (43) Date de publication : **31.10.2022**

(21) N° Dépôt : **53187**

(22) Date de Dépôt : **03.05.2021**

(71) Demandeur(s) :

- **ECOLE SUPERIEURE DES INDUSTRIES DU TEXTILE ET DE L'HABILLEMENT (ESITH), KM 8 ROUTE D'EL JADIDA BP 7731 OULFA CASABLANCA (MA)**
- **UNIVERSITE HASSAN II DE CASABLANCA (UH2C) , 19, RUE TARIK IBNOU ZIAD, MERS SULTAN BP 9167 , CASABLANCA (MA)**
- **Université mohammed 6 polytechnique (UM6P), Lot 660, Hay Moulay Rachid, Ben Guerir, 43150 (MA)**
- **Centre National de l'Energie, des Sciences et Techniques Nucléaires (CNESTEN) , B.P. 1382 R.P., 10001 Rabat (MA)**

(72) Inventeur(s) : **CHERKAOUI Omar ; HANNACHE Hassan ; EL BOUCHTI MEHDI ; GMOUH Said ; Oumam Mina ; EL ACHABY MOUNIR ; BENBACER Leila**

(74) Mandataire : **EL BOUCHTI MEHDI**

(54) Titre : **Composition bioactive à partir d'extraits de plante d'alfa à effet antitumoral et antioxydant**

(57) Abrégé : La présente invention concerne une Composition bioactive, à effet antitumoral et antioxydant, obtenue à partir de la plante de l'alfa « Stipa tenacissima L ». Ladite composition comprend une teneur en lupéol supérieure à 5% en poids, de préférence supérieure à 10% en poids et une teneur en β -Sitostérol supérieure à 3% en poids, de préférence supérieure à 8%. L'invention concerne aussi un procédé d'extraction et de purification de ladite composition bioactive.

**Composition bioactive à partir d'extraits de plante d'alfa à effet antitumoral et
antioxydant**

Abrégé

La présente invention concerne une Composition bioactive, à effet antitumoral et antioxydant, obtenue à partir de la plante de l'alfa « *Stipa tenacissima* L ». Ladite composition comprend une teneur en lupéol supérieure à 5% en poids, de préférence supérieure à 10% en poids et une teneur en β -Sitostérol supérieure à 3% en poids, de préférence supérieure à 8%. L'invention concerne aussi un procédé d'extraction et de purification de ladite composition bioactive.

**Composition bioactive à partir d'extraits de plante d'alfa à effet antitumoral et
antioxydant**

Domaine de l'invention

[0001] La présente invention concerne un extrait à partir de la plante Alfa « *Stipa tenacissima* L » de la famille des Poaceae. Elle concerne particulièrement un procédé d'obtention d'un tel extrait et son application comme agent antitumoral et antioxydant.

Art antérieur

[0002] La plante alfa « *Stipa tenacissima* L », est une graminée très abondante en Afrique du nord, et typiquement méditerranéenne. On la trouve en Algérie, au Maroc, en Tunisie, en Lybie, dans le sud d'Espagne et également au sud du Portugal. Elle occupe près de 8.5 millions hectares sur le pourtour méditerranéen surtout sur les grands plateaux Algéro-Marocains. La répartition territoriale connue à ce jour est estimée à 4.000.000 ha en Algérie, 3.155.700 ha au Maroc ; 600.000 ha en Tunisie, 350.000 ha en Lybie et 300.000 ha Espagne.

[0003] L'Alfa possède des propriétés particulières qui lui confèrent un usage privilégié dans différents domaines d'utilisation que ça soit industriels ou bien artisanales. L'alfa est souvent utilisé pour l'extraction de fibres

cellulosiques et pour son utilisation comme pâte pour la production du papier grâce à son excellente imperméabilité, son caractère bouffant et sa résistance, stabilité, souplesse, porosité, douceur, opacité et son élasticité satisfaisante.

[0004] De ce fait, seuls les travaux sur l'extraction de cellulose nano et microcristalline à partir de l'Alfa ont été décrites dans la littérature. Cependant, sur les propriétés thérapeutiques de la plante, aucun travail n'a été décrit, en particulier en ce qui concerne l'extraction de molécules actives de la plante de l'Alfa.

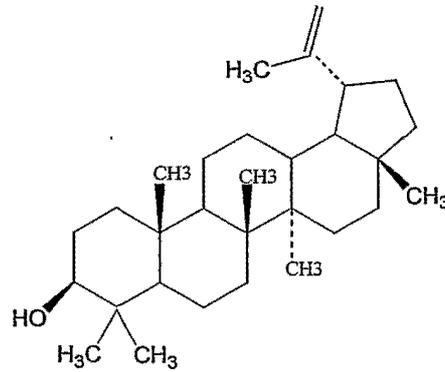
[0005] A titre d'exemple, les demandes de brevets FR-643384_AetTN2012000241_A1se rapportent à des procédés d'extraction de la cellulose à partir des fibres d'Alfa (*stipa tenacissima*).

[0006] D'où l'intérêt de la présente invention qui vise une nouvelle forme de valorisation de la plante de l'Alfa à travers l'extraction d'éléments bioactif à usage dans le domaine médical et du bien-être.

Description sommaire de l'invention

[0007] La présente invention a pour objet un extrait à partir de la plante de l'Alfa riche en lupéol et β -Sitostérol et son procédé d'extraction.

[0008] Le lupéol (formule I) appartient à la famille des triterpènes et en particulier à celle des alcools triterpéniques.

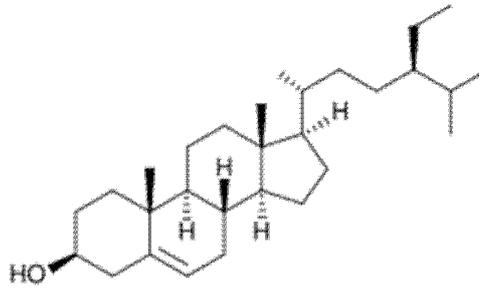


(I)

[0009] Le lupéol présente un intérêt en raison de ses nombreuses activités biologiques. En particulier ses propriétés anti-inflammatoires (Singh S. et al., *Filoterapia*, 1997, 68, N ° 1, 9) et analgésique (De Miranda G et al., *Planta Med* 2000, 66 (3) 284), son action néphroprotectrice vis-à-vis des métaux lourds (Nagaraj M. et al., *J. Appl. Toxicol*, 2000, 20 (5), 413), son action antihistaminique (De MedranoNillar M. j. et al., *MethodsFindExp. Clin. Pharmacol*, 1997, 19, Ø 8, 515), ses activités antimitotiques (Zachariah R. et autres, *Indian J. Pharm. Sci.* 1994, 56, No 4, 129. Prasad S, Kalra N, Singh M, Shukla Y, *Asian J Androl*, vol. 10, no 2, 2008, p. 313–8) et antiviral (Kahlos K., *Filoterapia*, 1996, 61, No. 4, 344).

[0010] Le lupéol peut également être utilisé comme intermédiaire de synthèse, notamment pour la préparation de phyto-hormones et d'analogues de stéroïdes.

[0011] Le β -Sitostérol se présente sous la forme :



(II)

C'est un stérol présent dans presque toutes les plantes. C'est l'un des principaux composants d'un groupe de stérols végétaux appelés phytostérols, dont la composition est très proche de celle du cholestérol. Ces stérols végétaux sont les ingrédients actifs des pâtes à tartiner à la margarine (Take Control, Benecol) utilisées pour réduire le cholestérol (Lees AM et al, Atherosclerosis, 1977;28:325-38).

[0012] Le β -sitostérol se trouve dans le son de riz, le germe de blé, les arachides, les huiles de maïs et le soja. On trouve également des concentrations élevées dans des plantes telles que le chou palmiste nain, le pollen de seigle, le pygeum et les orties, qui se sont révélées bénéfiques pour l'HBP. Contrairement au cholestérol, le bêta-sitostérol ne peut être converti en testostérone. Il inhibe également l'aromatase et la 5-alpha-réductase. Bêta-sitostérol est probablement l'une des nombreuses raisons pour lesquelles manger des légumes est bon pour la santé. Encourager une consommation adéquate de ces plantes dans le régime alimentaire.

[0013] Le lupéol et β -Sitostérol sont présent séparément dans de nombreuses plantes telles que l'aloevera et l'écorce de Crataevanurvala (cas du lupéol) ou en mélange cas de Bergiasuffruticosa, Le lupéol a été isolé à plusieurs reprises à partir de diverses plantes telles que Bresk. Cependant, les deux molécules n'ont jamais été extraites de la plante alfa.

Cependant, la plante d'alfa constitue une source potentielle riche en lupéol et β -Sitostérol, peu onéreuse et très disponible.

Exposé de l'invention

[0014] L'objet de l'invention concerne une composition bioactive à partir d'extrait de la plante de l'alfa « *Stipa tenacissima* L » qui contient une teneur en lupéol supérieure à 5% en poids, de préférence supérieure à 10% en poids et une teneur en β -Sitostérol 3% en poids, de préférence supérieure à 8%.

[0015] Le procédé de préparation de la composition d'extrait riche en lupéol et β -Sitostérol à partir de la plante de de l'Alfa comprend les étapes suivantes :

- l'extraction est faite à partir des tiges, lavées, séchées et broyées à l'aide d'un solvant organique.
- la purification des extraits obtenus pour obtenir une composition riche en lupéol et β -Sitostérol.

[0016] Selon un aspect particulier de l'invention, le solvant organique est choisi dans le groupe constitué des alcools aliphatiques, des alcanes aromatiques, et leurs dérivés halogénés, de préférence le méthanol.

- [0017] Avant leur utilisation, les tiges d'alfa sont nettoyées avec de l'eau tiède, coupées en petit morceau de 5cm de longueur puis broyées à l'aide d'un broyeur à cylindres ou à marteaux.
- [0018] Le Procédé d'obtention d'un extrait riche en lupéol et β -Sitostérol selon la présente invention est basé sur l'extraction des tiges d'alfa broyées avec un solvant organique. Avantageusement, le solvant organique est le méthanol. Les tiges traitées ont généralement une teneur en extrait méthanoïque totale comprise entre 4 et 10% en poids par rapport au poids total des tiges.
- [0019] Selon un autre aspect de l'invention la purification des extraits de tiges d'alfa comprend au moins la succession d'étapes suivantes :
- concentration du milieu réactionnel contenant les principes actifs par évaporation du solvant organique sous vide et,
 - purification par chromatographie sur gel de silice utilisant un mélange de solvant constitué à titre d'exemple de l'acétate d'éthyle/ Hexane (70/30).
- [0020] La présente invention fournit ainsi un extrait de la plante alfa contenant du lupéol et du β -Sitostérol. Avantageusement, l'extrait selon la présente invention a une teneur en lupéol supérieure à 5% en poids, de préférence supérieure à 10% en poids et 3% en poids, de préférence supérieure à 8% de β -Sitostérol.
- [0021] L'extrait selon la présente invention est préparé à partir de tige de la plante alfa après récolte et séchage à l'air.

[0022] Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, l'alfa est choisi dans le groupe stipatenecessima L. La présente invention concerne également un procédé d'obtention d'un extrait de l'alfa selon la présente invention.

[0023] L'exemple suivant est donné à titre d'exemple non limitatif et illustrent la présente invention.

Description sommaire des figures

[0024] D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux dans la description détaillée qui suit et se réfère aux figures annexées, données uniquement à titre d'exemple, et dans lesquelles :

- **figure 1** illustre les étapes du procédé d'extraction du Lupeol et β -sitostérol à partir de la plante de l'alfa .

- **figure 2** présente les résultats de cytotoxicité réalisée sur lignée cancéreuse humaine de colon HT-29 (human colorectal adenocarcinoma cell) et de sein MDA-MB231 (human breast adenocarcinoma), utilisant une gamme de concentrations allant de 500 à 15.62 $\mu\text{g/ml}$.

- **figure 3** présente les résultats de cytotoxicité réalisée sur lignée cancéreuse du sein MDA-MB231 (human breast adenocarcinoma), utilisant une gamme de concentrations allant de 500 à 15.62 $\mu\text{g/ml}$.

Manière(s) de réaliser l'invention

[0025] L'expérimentation suivante illustre un mode de réalisation du procédé de l'invention pour aboutir à la composition bioactive à effet antitumoral et anti-oxydant. Elle comprend les étapes suivantes :

- **Etape d'extraction :**

[0026] On introduit une quantité de 50 g de tiges de la plante d'alfa dans un volume de 1L de méthanol à 90%, le chauffage est maintenu à une température de 60°C pendant 2 à 3 heures. A la fin de l'extraction et le refroidissement de l'extrait on procède à une filtration sous vide. Le filtrat est évaporé puis séché à l'étude à 40°C pendant une nuit. Après séchage, le filtrat est pesé pour déterminer son poids

- **Etape de purification :**

[0027] 1g de filtrat préalablement séché, pesé et conservés au réfrigérateur a subit un fractionnement au moyennement d'une colonne chromatographique rempli en silice. L'éluant utilisé est un mélange de deux solvants à savoir l'Acétate d'éthyle et l'hexane avec une proportion de 70/30 (v/v).

[0028] Les activités de cytotoxicité et anti-oxydante des extraits ont été réalisées selon les protocoles connus par l'homme du métier :

Evaluation de l'activité cytotoxique

[0029] Le travail décrit ci-dessous a été effectué dans le but de mettre en évidence les propriétés cytotoxiques des fractions F1, F2, F3 et F4.

Les quatre (4) fractions sont issues d'une chromatographie sur silice de l'extrait d'alfa. La fraction 1 (F1) contient majoritairement du Lupéol. En revanche les fractions (F2), (F3) et (F4) contiennent entre 20 à 35% en polyphénol.

[0030] La cytotoxicité a été réalisée sur deux lignées cancéreuses humaines, de colon HT-29 (human colorectal adenocarcinoma cell) et de sein MDA-MB231 (human breast adenocarcinoma), utilisant une gamme de concentrations allant de 500 à 15.62 µg/ml.

Les résultats sont présentés dans les figures A (HT-29) et B (human breast adenocarcinoma)

[0031] Vis-à-vis de la lignée HT-29, les 4 produits inhibent de façon remarquable, et de manière dose-dépendante la prolifération des cellules. Parmi les 4 produits testés, la fraction F2 est plus cytotoxique, suivie de la fraction F1, puis la fraction F3 et en fin la fraction F4. Les IC50 correspondant aux concentrations induisant 50% de la mort cellulaires des fractions F2, F1, F3 et F4, sont respectivement de l'ordre de 63,57 ; 72,42 ; 93,33 ; 99,95. (tableau 1).

Tableau 1 :

| Fractions | MDA MB 231 | HT 29 |
|-----------|-------------|--------------|
| F1 | 72,41±0.015 | 71,50±4,97 |
| F2 | 63,58±3.14 | 77,70± 1,62 |
| F3 | 93,32±0.041 | 87,35± 0,031 |
| F4 | 99,88±0.061 | 87,50±1,799 |

[0032] En comparant la cytotoxicité des fractions sur les deux lignées cellulaires, nous pouvons conclure que les 4 fractions inhibent de manière dose-dépendante la prolifération cellulaire vis-à-vis des deux lignées cellulaires. Les IC50 relatives aux deux lignées sont à peu près similaires et que les fractions F1 et F2 sont plus cytotoxiques que les fractions F3 et F4.

Evaluation de l'activité anti-oxydante :

[0033] Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons utilisé le test DPPH basé sur l'utilisation du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le test consiste en la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• ayant une couleur violette en présence d'un

antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H de couleur jaune pâle.

[0034] La réduction se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH• en présence d'antioxydant, ensuite quantifiée par spectrophotométrie à 517 nm par rapport à un témoin d'antioxydant (La vitamine C) dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les extraits testés.

Test d'activité antioxydant

[0035] Le pouvoir antioxydant des quatre fractions a été évalué en utilisant la méthode DPPH, les valeurs IC₅₀ des activités de piégeage de DPPH de chaque fraction ont été comparées à IC₅₀ de l'acide ascorbique comme contrôle positif. Le tableau 2 rapporte les résultats de l'activité de piégeage des radicaux DPPH des fractions évaluées d'extrait de *S. tenacissima*.

[0036] Les fractions présentes ont montré un pouvoir antioxydant intéressant avec des valeurs de CI₅₀ comprises entre 1,26 et 1,85 mg / ml. En ce qui concerne l'activité antioxydante étudiée, l'analyse de la variance n'a montré aucune différence significative entre les fractions F1, F2, F3 et F4 ($p > 0,05$). Cependant, une différence significative a été observée entre toutes les fractions testées F1, F2, F3 et F4 et l'acide ascorbique ($P^{***} < 0,05$). Le pouvoir antioxydant est souvent dû à la quantité élevée de polyphénols

déterminée dans différentes fractions. Les capacités de piégeage du radical

DPPH sont classées dans l'ordre suivant : **3 > 2 > 4**

Tableau 2 : les valeurs de IC_{50} des différentes fractions

| Fraction and antioxidant Standard | IC_{50} (mg/mL) |
|--|-------------------------------------|
| F₁ | N.D |
| F₂ | 1.85 |
| F₃ | 1.26 |
| F₄ | 1.65 |
| Acide Ascorbique | 0.036 |

[0037] Les résultats révèlent que toutes les fractions présentent une activité antiradicalaire sauf la fraction 1. La fraction 3 présente l'activité antioxydante la plus élevée car la concentration qui permet d'inhiber l'effet de 50% des radicaux libre est la plus faible égale 1,26 mg/ml.

Revendications :

1. Composition bioactive **caractérisée en ce qu'**elle est obtenue à partir d'extrait de la plante de l'alfa « *Stipa tenacissima* L » contenant du lupéol et du β -Sitostérol .
2. Composition selon la revendication 1, **caractérisée en ce que** la teneur en lupéol est supérieure à 5% en poids, de préférence supérieure à 10% en poids et la teneur en β -Sitostérol est supérieure à 3% en poids, de préférence supérieure à 8%.
3. Procédé de préparation de composition d'extrait riche en lupéol et β -Sitostérol à partir de la plante de de l'Alfa, **caractérisé en ce qu'il** comprend les étapes suivantes :
 - extraction à partir des tiges, lavées, séchées et broyées à l'aide d'un solvant organique.
 - purification des extraits obtenus pour obtenir un extrait riche en lupéol et β -Sitostérol.
4. Procédé selon la revendication 3, **caractérisé en ce que** le solvant organique choisi dans le groupe constitué des alcools aliphatiques, des alcanes aromatiques, et leurs dérivés halogénés.
5. Procédé selon la revendication 4, **caractérisé en ce que** le solvant organique est le méthanol.

6. Procédé selon la revendication 5, **caractérisé en ce que** la teneur en extrait méthanoïque totale est comprise entre 4 et 10% en poids par rapport au poids total des tiges.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 3 à 6, **caractérisé en ce que** la purification des extraits des tiges d'alfa comprend au moins la succession d'étapes suivantes :
 - concentration du milieu réactionnel contenant les principes actifs par évaporation du solvant organique sous vide,
 - purification par chromatographie sur gel de silice utilisant un mélange de solvant constitué à titre d'exemple de l'acétate d'éthyle/ Hexane (70/30).
8. Utilisation d'une composition bioactive à partir d'extraits de la plante d'alfa, obtenue selon le procédé des revendications précédentes, comme agent anti-oxydant et antitumoral pour le traitement.
9. Utilisation selon la revendication 8, pour le traitement des cancers du colon et du sein.

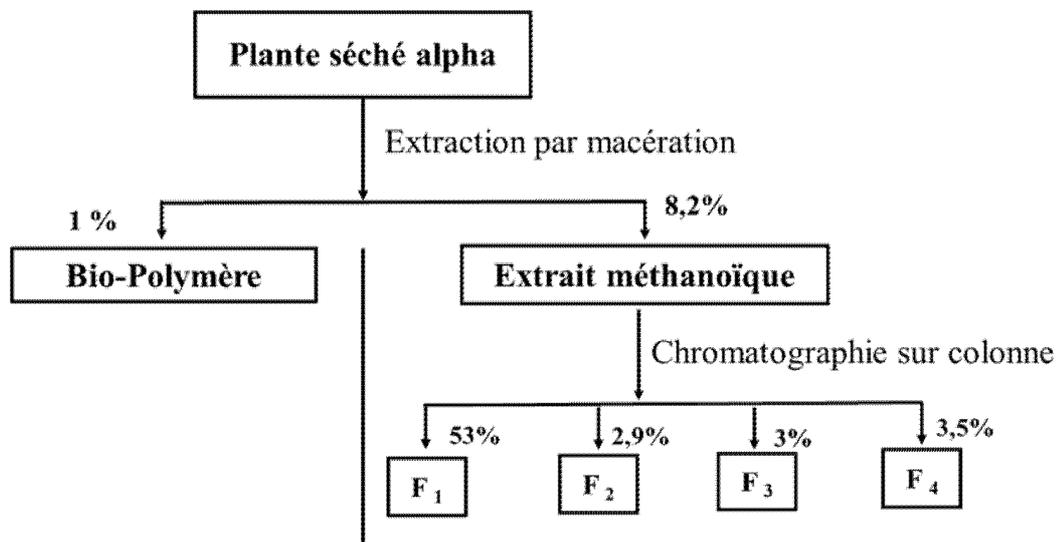


Fig. 1

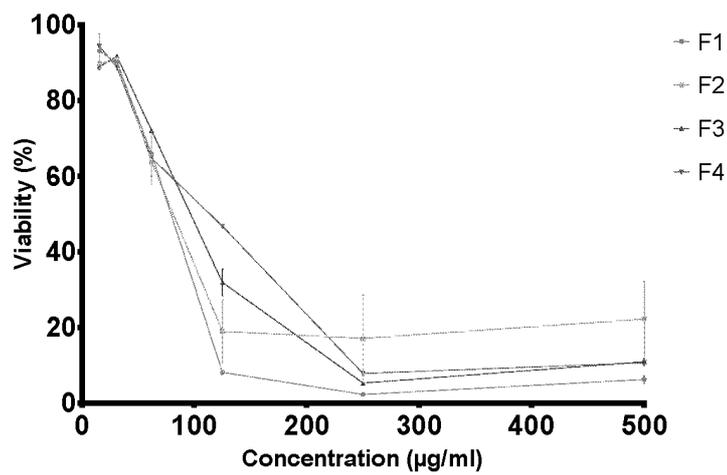


Fig. 2

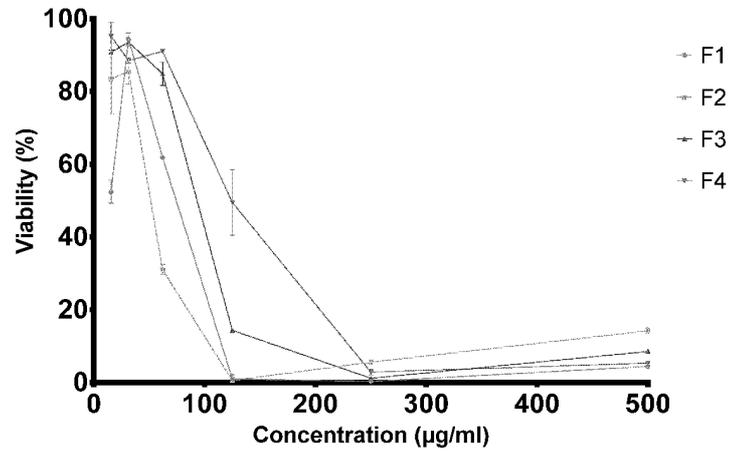


Fig. 3

**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée
par la loi 23-13)

| | |
|---|--|
| Renseignements relatifs à la demande | |
| N° de la demande : 53187 | Date de dépôt : 03/05/2021 |
| Déposant : ECOLE SUPERIEURE DES INDUSTRIES DU TEXTILE ET DE L'HABILLEMENT (ESITH); UNIVERSITE HASSAN II DE CASABLANCA (UH2C) ; UNIVERSITE MOHAMMED 6 POLYTECHNIQUE (UM6P) et CENTRE NATIONAL DE L'ENERGIE, DES SCIENCES ET TECHNIQUES NUCLEAIRES (CNESTEN) | |
| Intitulé de l'invention: COMPOSITION BIOACTIVE A PARTIR D'EXTRAITS DE PLANTE D'ALFA A EFFET ANTI-TUMORAL ET ANTIOXYDANT | |
| Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13. | |
| Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu. | |
| Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants : | |
| Partie 1 : Considérations générales | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés | |
| Partie 2 : Rapport de recherche | |
| Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention | |
| <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle | |
| Examineur: REDOUANE TELLAA | Date d'établissement du rapport : 04/11/2021 |
| Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00 | |



Partie 1 : Considérations générales**Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
12
- Revendications
9
- Planches de dessin
2

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A61K36/88; A61P35/00; A61P43/00

CPC : A61K36/88

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, SCIEDIRECT, IEEE, ORBIT

| Catégorie* | Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | N° des revendications visées |
|------------|--|------------------------------|
| A | AMELBOUDJELAL et al; HERBALISTS AND WILD MEDICINAL PLANTS IN M'SILA (NORTH ALGERIA): AN ETHNOPHARMACOLOGY SURVEY; 09/07/2013 | 1 - 9 |

***Catégories spéciales de documents cités :**

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs

-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité**Cadre 6: Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité**

- Les revendications 8 et 9 telles que rédigées concernent une méthode de traitement thérapeutique, et ont été interprétées durant cette recherche comme des revendications de produit pour une utilisation médicale. Toutefois, le déposant est invité à modifier lesdites revendications dans une forme correcte "composé pour une utilisation médicale", selon l'article 26 (alinéas 4 et 5) de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, sous peine de rejet au sens de l'article 24 de ladite loi.

Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle

| | | |
|--------------------------|---|------------|
| Nouveauté | Revendications 1 - 9 Revendications aucune | Oui Non |
| Activité inventive | Revendications 1 - 9 Revendications aucune | Oui Non |
| Application Industrielle | Revendications 1 - 9 Revendications aucune | Oui Non |

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1: HERBALISTS AND WILD MEDICINAL PLANTS IN M'SILA (NORTH ALGERIA): AN ETHNOPHARMACOLOGY SURVEY;

1. Nouveauté

Aucun document de l'état de la technique ne décrit une composition bioactive telle que décrite dans la revendication 1 de la présente demande.

Par conséquent, l'objet des revendications 1-9 est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive

Le document D1 est considéré comme l'état de la technique le plus proche de l'objet de la revendication 1 de la présente demande, il a pour objet une étude pour cataloguer un grand nombre de plantes médicinales sauvages utilisées dans le nord de l'Algérie pour le traitement de plusieurs pathologies humaines. Parmi les plantes citées on trouve *Stipa tenacissima* L. (tableau 1 p399) pour son utilisation comme antibiotique et dans l'amincissement.

L'objet de la revendication 1 de la présente demande diffère de D1 en ce qu'il a pour objet l'extrait de *Stipa tenacissima* contenant du lupéol et du β -sitostérol pour son utilisation comme anti-tumoral et antioxydant.

Le problème que la présente demande se propose de résoudre peut être considéré comme la fourniture d'une composition bioactive à base d'extrait de *Stipa tenacissima* pour son utilisation comme anti-tumorale et antioxydant.

La solution proposée dans la présente demande implique une activité inventive pour les raisons suivantes :

Aucune divulgation dans l'art antérieur ne divulgue l'utilisation d'une composition bioactive à base d'extrait *Stipa tenacissima* pour son activité anti-tumorale et antioxydant, l'homme de métier n'arrivera pas à la solution proposée dans la présente demande d'une manière

évidente. Les tests expérimentaux (évaluation de l'activité cytotoxique des pages 8-10 et l'activité antioxydante 10-12) démontent l'activité revendiquée.

Par conséquent, l'objet des revendications 1-9 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

3. Application industrielle

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.