

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 56275 A1** (51) Cl. internationale : **A61K 31/35; A61K 31/35**
- (43) Date de publication : **27.09.2023**
-
- (21) N° Dépôt : **56275**
- (22) Date de Dépôt : **25.03.2022**
- (71) Demandeur(s) : **UNIVERSITE HASSAN II de CASABLANCA, 19, Rue Tarik Bnou Ziad, Mers Sultan, BP 9167 Casablanca (MA)**
- (72) Inventeur(s) : **SOUKRI Abdelaziz ; ELKHALFI Bouchra ; MBAYE MODOU MAMOUNE ; LOUANJLI NOURREDINE ; SAADANI Brahim**
- (74) Mandataire : **Mohammed TALBI**
-
- (54) Titre : **COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELS POUR AMELIORER LA MOTILITE DES SPERMATOZOÏDES**
- (57) Abrégé : Tout comme les femmes, il existe de nombreuses raisons à l'infertilité masculine. Afin d'atténuer leurs problèmes, de nombreux couples se tournent vers la Procréation Médicalement Assistée (PMA). Cependant, cette dernière se heurte au problème de la qualité spermatique du donneur. Pour cela, les échantillons subnormaux de sperme sont traités avec certains agents chimiques avant l'insémination artificielle afin d'améliorer le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Seulement que, ces agents peuvent être toxiques d'où les faibles résultats de la fécondation in vitro (-20%). Par conséquent, il est nécessaire de trouver des biomolécules naturelles capable de maintenir voire améliorer les paramètres caractéristiques de la qualité du sperme (mobilité et vitalité) sans affecter la qualité de l'ADN du sperme. Le but de la présente invention de ce procédé biologique à base d'huiles essentielles est destiné aux patients souffrant d'une qualité spermatique défectueuse (exemple : asthénozoospermie) inscrits dans un cycle de fécondation in vitro. Ce procédé est constitué de composés naturels notamment les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* (Origan), *Eucalyptus globulus* (Eucalyptus) et de la *Salvia officinalis* (Sauge), le miel et l'agar-agar. Ce procédé biologique améliore non seulement le pouvoir fécondant des spermatozoïdes par le biais de la mobilité, la vitalité et les paramètres caractéristiques de la mobilité notamment les vitesses à savoir : la vitesse curviligne (VCL), la vitesse linéaire (VSL) la vitesse de trajectoire (VAP). Ce procédé biologique n'a également aucun effet nocif sur l'intégrité de l'ADN du sperme. De plus, elle peut maintenir

les spermatozoïdes en vie pendant 72 heures à 37°C et 5% de CO₂ contrairement aux spermatozoïdes traités avec les agents chimiques dont la survie excède rarement 24h. Elle aide aussi efficacement à la préservation des paramètres caractéristiques de la qualité spermatique lors de la cryoconservation.

RESUME DE L'INVENTION

Tout comme les femmes, il existe de nombreuses raisons à l'infertilité masculine. Afin d'atténuer leurs problèmes, de nombreux couples se tournent vers la Procréation Médicalement Assistée (PMA). Cependant, cette dernière se heurte au problème de la qualité spermatique du donneur. Pour cela, les échantillons subnormaux de sperme sont traités avec certains agents chimiques avant l'insémination artificielle afin d'améliorer le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Seulement que, ces agents peuvent être toxiques d'où les faibles résultats de la fécondation in vitro (-20%).

Par conséquent, il est nécessaire de trouver des biomolécules naturelles capable de maintenir voire améliorer les paramètres caractéristiques de la qualité du sperme (mobilité et vitalité) sans affecter la qualité de l'ADN du sperme.

Le but de la présente invention de ce procédé biologique à base d'huiles essentielles est destiné aux patients souffrant d'une qualité spermatique déficiente (exemple : asthénozoospermie) inscrits dans un cycle de fécondation in vitro. Ce procédé est constitué de composés naturels notamment les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* (Origan), *Eucalyptus globulus* (Eucalyptus) et de la *Salvia officinalis* (Sauge), le miel et l'agar-agar.

Ce procédé biologique améliore non seulement le pouvoir fécondant des spermatozoïdes par le biais de la mobilité, la vitalité et les paramètres caractéristiques de la mobilité notamment les vitesses à savoir : la vitesse curviligne (VCL), la vitesse linéaire (VSL) la vitesse de trajectoire (VAP). Ce procédé biologique n'a également aucun effet nocif sur l'intégrité de l'ADN du sperme. De plus, elle peut maintenir les spermatozoïdes en vie pendant 72 heures à 37°C et 5% de CO₂ contrairement aux spermatozoïdes traités avec les agents chimiques dont la survie excède rarement 24h. Elle aide aussi efficacement à la préservation des paramètres caractéristiques de la qualité spermatique lors de la cryoconservation.

DESCRIPTION

I- Domaine de l'invention :

Science de la reproduction humaine notamment la procréation médicalement assistée (PMA) et/ou la Technologie de la Reproduction Assistée (ART). La présente invention est une mixture pour les patients asthénozoospermiques, pathologie la plus courante, caractérisée par la mobilité des spermatozoïdes en dessous de la valeur standard, ce qui les empêche d'atteindre l'ovule, afin qu'ils puissent être fécondé par fécondation in vitro.

II- Exposé de l'invention :

Notre procédé biologique est conçu pour améliorer le traitement in vitro des d'échantillons de sperme anormaux avant l'utilisation de certaines procédures de technologie de procréation assistée (ART) ou de procréation médicalement assistée (PMA) telles que l'insémination artificielle, la fécondation in vitro (FIV), la cryoconservation, etc.

IL a été démontré que notre procédé biologique à base d'huiles essentielles de sauge, eucalyptus, origan (*Origanum vulgare*), miel et agar-agar améliore la capacité de fécondation du sperme en améliorant les paramètres conventionnels de la qualité du sperme, notamment la mobilité, la vitalité et les paramètres avancés de mobilité, à savoir la vitesse curviligne (VCL), la vitesse linéaire (VSL) et la vitesse de trajectoire (VAP) pendant 72 heures et plus in vitro. Améliorer ces paramètres signifie augmenter les chances de fécondation et de grossesse, car ils jouent un rôle très décisif dans la fécondation.

La fécondation ou même la grossesse est très importante mais son devenir l'est encore plus. C'est pourquoi un ADN de sperme de haute qualité est important pour les futures grossesses, et notre processus biologique testé sur l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes via l'indice de fragmentation de l'ADN du sperme (DFI) et l'indice de chromatine (SDI) n'a montré aucun effet délétère.

Il a également été démontré que notre procédé biologique améliore la cryoconservation du sperme, une technique qui permet de préserver la fertilité masculine dans certaines circonstances, notamment en oncologie/traitement médical ou procréation assistée.

III- Exposé détaillé du mode de réalisation du notre mixture :

- L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (Eucalyptus).
- L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* (Origan)
- L'huile essentielle de la *Salvia officinalis* (Sauge)
- Miel d'Euphorbe 'Daghmous'
- Une solution d'Agar-agar à 0,2%.

2- Méthode de réalisation :

- Pour la réalisation de notre procédé biologique, il faudra tout d'abord préparer une solution de 0.2% d'agar-agar.
- Mélanger les huiles essentielles (Eucalyptus, Origan et la Sauge) avec la solution d'agar-agar 0.2%
- Ajouter 10% du Miel d'Euphorbe
- Mélanger l'ensemble et préparer une solution de concentration $[10^{-4}]$
- Garder la solution finale dans un tube fermé hermétiquement à l'abri de la chaleur.

NB : l'ensemble des manipulations doivent être réalisés dans les conditions les plus aseptiques possibles (sous la hotte).

CONNAISSANCE SUR LE MARCHE, LA CONCURRENCE ET AVANTAGE ECONOMIQUE DE L'INVENTION

I- Etat de la technique antérieure :

- ❖ Les composés chimiques utilisés pour améliorer la mobilité et la vitalité
 - Extrêmement chers.
 - Cytotoxiques
 - Effet amélioratif à courte durée (-24h).
 - Ne sont pas utilisés pour la cryoconservation des spermatozoïdes (D'ailleurs, ceux utiliser pour la cryoconservation sont moins efficaces).

II- Avantages par rapport à l'état de la technique antérieure :

Par rapport à l'art antérieur, la présente invention présente les avantages suivants :

- Capable d'améliorer le pouvoir fécondant des spermatozoïdes par le biais des paramètres caractéristiques de la qualité spermatique à savoir :
 - ✓ La mobilité des spermatozoïdes
 - ✓ La vitalité des spermatozoïdes
 - ✓ Les paramètres avancés de la mobilité :
 - Vitesse curviligne (VCL)
 - Vitesse linéaire (VSL)
 - Vitesse de la trajectoire (VAP)
- Capable de maintenir le pouvoir fécondant des spermatozoïdes lors de la cryoconservation (conservation à longue durée)
- Pas d'effet délétère sur la qualité de l'ADN spermatique
- Pas de composés chimiques

BIBLIOGRAPHIE ET REFERENCES

- [1] J. Liu, M. A. Carmell, F. V. Rivas et al., “Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi,” *Science*, vol. 305, no. 5689, pp. 1437–1441, 2004.
- [2] M. Jodar, A. Soler-Ventura, R. Oliva, and Molecular Biology of Reproduction and Development Research Group, “Semen proteomics and male infertility,” *Journal of proteomics*, vol. 162, pp. 125–134, 2017.
- [3] M. M. Mbaye, B. El Khalfi, B. Addoum et al., “The effect of supplementation with some essential oils on the mobility and the vitality of human sperm,” *The Scientific World Journal*, vol. 2019, Article ID 4878912, 6 pages, 2019.
- [4] M. A. Jawad, A. A. W. Mohammed, H. B. Sahib, M. S. Abbood, and W. Shakir, “Effect of alcohol extract of *Prunus avium* on in vitro sperm activation of human semen samples,” *Int J Pharm Science*, vol. 25, no. 1, pp. 65–68, 2014.
- [5] A. Sabir, B. El Khalfi, F. Errachidi, I. Chemsy, A. Serrano, and A. Soukri, “Evaluation of the potential of some essential oils in biological control against phytopathogenic agent *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 responsible for the tomatoes speck,” *J Plant Pathol Microbiol*, vol. 8, no. 9, 2017.
- [6] P. D. Mar, B. El Khalfi, and A. Soukri, “Protective effect of oregano and sage essentials oils against the effect of extracellular H₂O₂ and SNP in *Tetrahymena thermophila* and *Tetrahymena pyriformis*,” *Journal of King Saud University-Science*, vol. 32, no. 1, pp. 279–287, 2020.
- [7] I. Kaarouch, N. Bouamoud, A. Madkour et al., “Paternal age: negative impact on sperm genome decays and IVF outcomes after 40 years,” *Molecular Reproduction and Development*, vol. 85, no. 3, pp. 271–280, 2018.
- [8] T. Bączkowski, R. Kurzawa, and W. Głąbowski, “Methods of embryo scoring in in vitro fertilization,” *Reproduction biology*, vol. 4, no. 1, pp. 5–22, 2004.

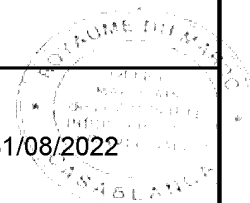
- [9] Y.-S. Yang, S. Melinda, H.-N. Ho et al., “Effect of the number and depth of embryos transferred and unilateral or bilateral transfer in tubal embryo transfer (TET),” *Journal of assisted reproduction and genetics*, vol. 9, no. 6, pp. 534–538, 1992.
- [10] P. Barlow, A. Delvigne, J. Van Dromme, J. Van Hoeck, K. Vandebosch, and F. Leroy, “Predictive value of classical and automated sperm analysis for in-vitro fertilization,” *Human Reproduction*, vol. 6, no. 8, pp. 1119–1124, 1991.
- [11] J. Aitken and J. S. Clarkson, “Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa,” *Reproduction*, vol. 81, no. 2, pp. 459–469, 1987.
- [12] A. Bongso, S.-C. Ng, H. Mok et al., “Improved sperm concentration, motility, and fertilization rates following Ficoll treatment of sperm in a human in vitro fertilization program,” *Fertility and Sterility*, vol. 51, no. 5, pp. 850–854, 1989.
- [13] H. Kikuzaki and N. Nakatani, “Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.),” *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 53, no. 2, pp. 519–524, 1989.
- [14] C. B. Hollenbach, R. S. Bing, R. Stedile et al., “Reproductive toxicity assessment of *Origanum vulgare* essential oil on male Wistar rats,” *Acta Scientiae Veterinariae*, vol. 43, p. 1295, 2015.
- [15] H. Daghigh Kia, R. Farhadi, I. Ashrafi, and M. Mehdipour, “Antioxidative effects of ethanol extract of *Origanum vulgare* on kinetics, microscopic and oxidative parameters of cryopreserved Holstein bull spermatozoa,” *Iranian Journal of Applied Animal Science*, vol. 6, no. 4, pp. 783–789, 2016.

REVENDEICATIONS

1. Procédé biologique pour le traitement des échantillons de sperme subnormaux pour améliorer le pouvoir fécondant des spermatozoïdes avant certaines procédures de la Technologie de la Reproduction Assistée (ART) tels que la fécondation in vitro et l'insémination artificielle. Le procédé biologique comprend les composants suivants : l'huile essentielle de la sauge, d'eucalyptus et d'origan, du miel et d'agar-agar.
2. Procédé biologique selon la revendication 1 caractérisée par la présence des huiles essentielles de la sauge, eucalyptus, origan qui constituent d'importants capteur de radicaux libres tels que l'anion peroxyde et l'hydroxyle qui sont délétères pour les spermatozoïdes.
3. Procédé biologique selon la revendication 1 caractérisée en ce qui contient le miel connu pour son activité prébiotique, antioxydant et antibactérien.
4. Procédé biologique selon la revendication 1 caractérisée en ce qui contient l'agar-agar.

**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 : 56275 | Date de dépôt : 25/03/2022 |
| Déposant : UNIVERSITE HASSAN II de CASABLANCA | |
| Intitulé de l'invention : COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELS POUR AMELIORER LA MOTILITE DES SPERMATOZOÏDES | |
| 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 checked="" 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 checked="" 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: BASMA SADIKI | Date d'établissement du rapport : 31/08/2022 |
| 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
6 Pages
- Revendications
4

Cadre 3 : Titre et Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés

- L'intitulé tel qu'il a été déposé «Bio-Boost des spermatozoïdes» a été modifié et arrêté par l'examinateur (voir intitulé de l'invention).

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A 61K 31/35

CPC : A 61K 31/35

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

| Catégorie* | Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | N° des revendications visées |
|------------|--|------------------------------|
| X | JP5069280B2 ; BIO ORIGYN LLC ; 2012-11-07 | 1-4 |
| X | AU2020250290A1 ; UNIV MASSACHUSETTS [US] ; 2020-11-05 | 1-4 |

***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 4 : Remarques de forme et de clarté**

L'objet des revendications 1-4 se porte sur un procédé biologique caractérisé par le produit utilisé et non les étapes du procédé. Durant la recherche, l'objet revendiqué par celles-ci est considéré comme une composition.

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

| | | |
|--------------------------|-----------------------|-----|
| Nouveauté | Revendications 1-4 | Oui |
| | Revendications aucune | Non |
| Activité inventive | Revendications aucune | Oui |
| | Revendications 1-4 | Non |
| Application Industrielle | Revendications 1-4 | Oui |
| | Revendications aucune | Non |

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

D1 : JP5069280B2

1. Nouveauté

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques faisant l'objet des revendications 1-4. Par conséquent, l'objet de celles-ci 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 étant l'état de la technique le plus proche à l'objet de la présente demande. Il divulgue une composition à base des huiles essentielles (d'Origan et Eucalyptus) pour son utilisation dans l'amélioration de l'activité des spermatozoïdes afin de traiter l'infertilité.

L'objet de la première revendication diffère de D1 en ce que les biocomposants sont des huiles essentielles.

Le problème lié à cette différence est considéré comme étant la fourniture d'une composition naturelle alternative pour l'amélioration de la motilité des spermatozoïdes.

Cependant, la solution proposée pour résoudre le présent problème n'est pas considérée inventive. En effet, le déposant n'a fourni aucun essai ou test qui prouve l'activité

thérapeutique ou pharmacologique du composé revendiqué dans la présente demande (activation de la motricité des spermatozoïdes). Alors, la recherche des composés ultérieures sans effet technique ne peut pas être considérée inventive

Par conséquent, l'objet des revendications 1-4 n'implique pas d'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.