

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 59282 A1** (51) Cl. internationale : **C07K 14/00**

(43) Date de publication :
31.07.2024

(21) N° Dépôt :
59282

(22) Date de Dépôt :
19.01.2023

(71) Demandeur(s) :
UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE , Présidence de l'Université Sultan Moulay Slimane, B.P. : 591, Hay Takaddoum, 23000 Beni Mellal (MA)

(72) Inventeur(s) :
Abdelmajid ZYAD ; OUBAOUZ MOHAMED ; Rajaa MAALLAH ; Abderrazak IDIR ; Aziz IHAMMI ; Salah-Eddine ELQOUATLI ; Abdelilah CHTAINI

(74) Mandataire :
TAOUAF Ilham

(54) Titre : **Élaboration des biocapteurs pour le traitement des cellules cancéreuses par un produit naturel (MO), par méthodes électrochimiques et activité biologique**

(57) Abrégé : Les expériences ont été réalisées dans les laboratoires d'électrochimie moléculaire et matériaux inorganiques et équipe d'Oncologie Expérimentale et Substances Naturelles, Immun-pharmacologie Cellulaire et Moléculaire de l'université Sultane Moulay Slimane du Béni Mellal L'objectif de cette étude était d'analyser et mesurer l'effet de d'un extrait d'une plante médicinale (le life) territoire dans l'inhibition et traitement des cellules cancéreuses. L'étude a été menée sous une concentration du produit dans un milieu de RPMI 1640 additionné de 5% de sérum bovin foetal inactivé. Les valeurs d'IC50 (concentration conduisant à 50% d'inhibition cellulaire) ont été calculées par régression non linéaire à l'aide du logiciel Graph-Pad Prism 9.

**ÉLABORATION DES BIOCAPTEURS POUR LE TRAITEMENT DES CELLULES
CANCEREUSES PAR UN PRODUIT NATUREL (MO), PAR METHODES
ELECTROCHIMIQUES ET ACTIVITE BIOLOGIQUE**

ABREGE :

Les expériences ont été réalisées dans les laboratoires d'électrochimie moléculaire et matériaux inorganiques et équipe d'Oncologie Expérimentale et Substances Naturelles, Immun-pharmacologie Cellulaire et Moléculaire de l'université Sultane Moulay Slimane du Béni Mellal

L'objectif de cette étude était d'analyser et mesurer l'effet de d'un extrait d'une plante médicinale (le life) territoire dans l'inhibition et traitement des cellules cancéreuses. L'étude a été menée sous une concentration du produit dans un milieu de RPMI 1640 additionné de 5% de sérum bovin fœtal inactivé. Les valeurs d'IC₅₀ (concentration conduisant à 50% d'inhibition cellulaire) ont été calculées par régression non linéaire à l'aide du logiciel Graph-Pad Prism 9.

**ÉLABORATION DES BIOCAPTEURS POUR LE TRAITEMENT DES CELLULES
CANCEREUSES PAR UN PRODUIT NATUREL (MO), PAR METHODES
ELECTROCHIMIQUES ET ACTIVITE BIOLOGIQUE**

DOMAINE DE L'INVENTION :

La présente invention concerne un nouveau produit naturel extraite d'une plante médicinale, qui peut être appliquée dans le traitement des cancers du sein et des intestins grêles, pour lequel nous avons testé ce produit pur dans le traitement de ces types de cancers par l'application électrochimique (VC), (EIS) et biologique.

ETAT DE L'ART :

-Brevet MA 38025A1 présente "effet anticancéreux des dérivés des 5-arylidene-6-méthylpyridazine-3(2H)-ones".

-Brevet MA 44367A1 montre "une dentifrice bio-anti-corrosif destiné aux patients porteurs d'appareillage orthodontique fixe".

Seuls les anticancéreux d'origine naturelle et hémisynthétiques seront étudiés dans la suite de ce travail.

Les substances naturelles capables d'interagir avec la tubuline sont les vincaalcaloïdes et les taxanes actuellement très utilisés en thérapeutique. Ces molécules ont été découvertes dès la fin des années 1960 dans le cadre d'un criblage systématique de produits naturels entrepris par le NCI (Cragg & Newman 2005).

La tubuline est une protéine de 50 kDa existant sous la forme d'hétérodimères associant une molécule de tubuline α et une molécule de tubuline β . Il existe six isoformes pour la tubuline α et sept isoformes pour le type β , avec un profil d'expression particulier selon le tissu ou la tumeur, et des propriétés d'association différentes. Au cours du processus de polymérisation, les hétérodimères constitués de tubuline $\alpha\beta$, disposés de façon polarisée, sont capables de se lier pour former des protofilaments. Treize protofilaments peuvent s'assembler pour former des microtubules. Les microtubules sont des structures cytoplasmiques filamenteuses creuses,

parfois rayonnant à partir d'un centre organisateur : le centrosome. Ils ont un rôle structural et participent à la constitution du microscaplette cellulaire et du fuseau mitotique intervenant dans les fonctions de sécrétion, de motilité, de transport axonal et la migration des chromosomes au cours de la mitose (Robert 2007).

1. Les vinca-alcaloïdes :

Les premiers anticancéreux utilisés en études cliniques sont les vincaalcaloïdes comme la vinblastine (VELBE®) et la vincristine (ONCOVIN[®]) (Figure 1), isolées de *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), une plante utilisée traditionnellement pour ses propriétés curatives différentes selon les pays d'utilisation. Dans l'Océan indien, la racine est utilisée pour ses propriétés vermifuges, purgatives et antihémorroïdes ; en Inde, les décoctions de ses feuilles calmeraient les piqûres de guêpe ; au Vietnam, ses infusions étaient considérées comme antipaludiques et diurétiques. En médecine occidentale, elle serait antidiabétique. Les premières études de cette plante se sont orientées vers son activité hypoglycémique. Les études in vivo sur le rat ont démontré que les extraits de la pervenche de Madagascar entraînaient fréquemment le décès des animaux par infection. Ils réduisaient le nombre de globules blancs et provoquaient une dépression médullaire. Ces extraits se sont ensuite montrés actifs sur les leucémies lymphocytiques de la souris. La découverte de ces molécules actives tient donc au hasard et à la simple observation d'effets secondaires in vivo (Bohuon & Monneret 2009).

2. Les taxanes

Le paclitaxel (TAXOL®) (Figure 2) est un diterpène isolé de l'écorce d'un if : *Taxus brevifolia* (Taxaceae). L'utilisation traditionnelle des aiguilles d'ifs (*T. canaclensis*, *T. baccata*, . . .) par les tribus amérindiennes dans le traitement des maladies non cancéreuses a été rapportée. Celles de *T. baccata* sont également intégrées dans la médecine traditionnelle ayurvédique, Hatwell, en 1982, l'a décrit dans le traitement du cancer (Cragg & Newman 2005). Plus de 300 taxoïdes ont pu être isolés à partir des différentes espèces de *Taxus*. Le paclitaxel est la seule molécule à avoir été développée par le NCI (Srivastava et al. 2005).

Le paclitaxel, utilisé en clinique, est présent en très faible quantité dans les espèces de *Taxus* (150 mg pour 1 kg d'écorces sèches). L'utilisation de la chimie organique pour le produire à l'échelle industrielle est rapidement devenue nécessaire. C'est Potier (Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette) qui a eu l'idée de rechercher un précurseur abondant pour pouvoir mettre au point la synthèse du TAXOL[®]. La découverte de la désacétyl-baccatine III, précurseur abondant dans les aiguilles (parties renouvelables) de *Taxus baccata* a permis la production du paclitaxel par hémisynthèse. Par chance, l'un des intermédiaires de l'hémisynthèse, le docétaxel (TAXOTERE[®]) (Figure 9) s'est montré plus soluble et deux fois plus actif que le TAXOL[®] (Bohuon & Monneret 2009).

Le cancer métastatique du sein, le cancer du poumon et le sarcome de Kaposi (Srivastava et al. 2005). Le paclitaxel a également montré un intérêt dans le traitement potentiel des scléroses multiples, le psoriasis et la polyarthrite rhumatoïde (Cragg & Newman 2005).

Les taxanes sont des poisons du fuseau. Ils stimulent l'assemblage des dimères de tubuline en microtubules et stabilisent les microtubules en empêchant leur dépolymérisation (Srivastava et al. 2005).

La posologie du paclitaxel est généralement comprise entre 100 et 175 mg/m² de SC administrée le plus souvent en polychimiothérapie (cisplatine, doxorubicine...). La posologie du docétaxel va de 75 à 100 mg/m² de SC en monothérapie ou en association avec d'autres cytotoxiques comme le cisplatine ou le 5-fluoro uracile (Vidal 2010).

Il est important de noter que 23 taxanes potentiellement anticancéreux sont actuellement en développement préclinique (Cragg & Newman 2005).

3. Les épothilones

Dans les années 1990, les épothilones A et B (Figure 3) sont des macrolides naturels isolés d'une myxobactérie : *Sorangium cellulosum* (Polyangiaceae). Leur mécanisme d'action est semblable à celui des taxanes, bien que leur structure chimique soit plus simple et que leur solubilité dans l'eau soit supérieure. Des études préliminaires, *in vitro*, sur des lignées cellulaires tumorales ont montré une activité anticancéreuse notamment sur des lignées résistantes aux taxanes. Mais, *in vivo*, leur activité

s'est avérée modeste à cause de leur forte métabolisation, d'une pharmacocinétique peu favorable et d'une fenêtre thérapeutique étroite (Conlin et al. 2007).

4. Les combrestatines

L'extraction, l'isolement et l'identification des combrestatines ont été rapportées dans les années 70 à partir de l'écorce d'un arbre d'Afrique du Sud appelé *Combretum caffrum* (Combretaceae). Ces composés ont été découverts grâce au programme entrepris par le NCI en collaboration avec l'Institut de Recherche Botanique d'Afrique du Sud. Les arbres de la famille des Combretaceae comme *Combretum* sp et *Terminalia* sp sont décrits pour être utilisés en médecine traditionnelle africaine et indienne dans le traitement de diverses maladies comme l'hépatite, le paludisme ou les « cancers » (Cragg & Newman 2005).

Les combrestatines sont des poisons du fuseau mitotique et représentent les premiers membres d'une série de molécules biologiquement actives. La combrestatine A-4 (Figure 4), isolée en 1989, est la molécule la plus prometteuse. C'est un stilbène qui a montré une activité cytotoxique contre une large gamme de lignées cellulaires cancéreuses humaines incluant les cellules dites MDR (multidrug resistance). La combrestatine A-4 est active sur le cancer du côlon, du poumon et sur les leucémies. En effet, elle possède une DL50 de 7 nM sur la lignée cellulaire LI 210 (cellules leucémiques murines) ; de 1,7 nM sur les cellules HCT15 (colocarcinome humain) et de 3 nM sur les cellules NCI-H460 (carcinome pulmonaire humain) (Cragg & Newman 2005).

Des études *in vitro* ont montré que la combrestatine A-4 entre en compétition avec la colchicine sur son site de liaison à la tubuline. Elle inhibe donc la polymérisation de la tubuline en microtubules et possède le même mécanisme d'action que la colchicine (colchicine-like inhibitor) (Cragg & Newman 2005).

Un grand nombre de combrestatines ont été synthétisées et évaluées biologiquement. Mais le véritable problème de cette classe de composés est leur faible solubilité dans l'eau. Les études menées actuellement sur ces composés s'orientent vers la synthèse de prodrogues hydrosolubles comme la combrestatine A-4 phosphate (ou fosbretabulin) (Figure 4) qui possède non seulement une activité antimittotique mais également des propriétés antiangiogéniques (diminution de la croissance des

vaisseaux sanguins) et anti-vasculaires (effondrement rapide et sélectif des vaisseaux tumoraux déjà établis). En effet, des études par IRM ont permis de montrer un nouveau mécanisme d'action ciblé sur le système vasculaire de la tumeur. La combrestatine A-4 phosphate réduit significativement le flux sanguin des cellules cancéreuses de façon dose-dépendante et agit comme un agent anti-vasculaire en bloquant l'apport sanguin aux cellules cancéreuses. Dans des tumeurs animales, elle peut entraîner l'arrêt du flux sanguin jusqu'à provoquer la nécrose de la tumeur (Srivastava et al.2005).

La combrestatine phosphate est actuellement évaluée dans des essais cliniques de phase II aux Etats-Unis et au Royaume Uni sur des tumeurs solides comme le cancer de la thyroïde et du poumon (clinicaltrials.gov 2010).

5. Les agents interagissant avec les topoisomérases

Au cours des étapes du métabolisme de l'ADN (réplication, transcription, réparation, recombinaison) et lors de la séparation des chromatides, les topoisomérases interviennent pour résoudre les contraintes topologiques de la molécule d'ADN. Les topoisomérases I coupent transitoirement un seul des deux brins d'ADN et transfèrent l'autre brin au travers de la coupure transitoire, avant de les relier. Cela équivaut à « détorsader » la double hélice d'ADN d'un pas d'hélice. Les topoisomérases II coupent transitoirement les deux brins de la double hélice afin de permettre le passage d'un autre segment d'ADN à travers cette coupure transitoire.

Chez les eucaryotes, ces topoisomérases sont formées de deux sous-unités identiques de 170 kDa de masse moléculaire. Chaque sous-unité se comporte comme un petit bras, les deux permettant un effet de pince sur l'ADN. En effet, chaque sous-unité forme une liaison covalente avec une extrémité de l'ADN engendrée par la coupure de la liaison phosphodiester : il s'agit de l'extrémité 5' dans le cas des topoisomérases II et de l'extrémité 3' pour les topoisomérases I.

Les inhibiteurs de topoisomérases I et II ne s'intercalent pas dans l'ADN mais stabilisent le complexe de clivage, empêchant l'étape de religation et provoquent une coupure définitive des brins d'ADN (Goldwasser 2007).

6. Les agents alkylants

Les agents alkylants sont ainsi nommés grâce à leur capacité d'ajouter un groupe alkyle à un grand nombre de groupes électronégatifs dans certaines conditions (présentes dans les cellules cancéreuses). Ils arrêtent la croissance de la tumeur en liant ensemble les nucléotides guanines dans la double hélice d'ADN, attaquant ainsi directement l'ADN. Les deux brins ne peuvent ainsi pas se dérouler ni se séparer, entraînant pour la cellule, une incapacité à répliquer son ADN : la cellule ne peut alors plus se diviser. Ces agents n'agissent généralement pas spécifiquement, certains nécessitent une conversion *in vivo* en substances actives (par exemple le cyclophosphamide).

DESCRIPTION SOMMAIRE DE L'INVENTION :

1. Matériel :

Un potentiostat (PGSTAT 100, Eco Chemie BV, Utrecht) relié à la fois à un ordinateur équipé du logiciel Volta lab master 4 (pour le traitement des données) et à une cellule électrochimique équipée d'une électrode de référence au calomel saturé (SCE), d'une électrode auxiliaire de platine, et une électrode de travail constituée par une plaque de Zinc, ont été déployées dans la mesure. Le contrôle du pH du milieu réactionnel a été possible à l'aide d'un pH-mètre HANNA (HI 2210).

2. Méthode :

Dans des proportions équitables, une pâte de carbone graphite a été préparé. De l'huile de paraffine a été ajoutée à la poudre de façon à obtenir une pâte homogène. Finalement, de l'éthanol a été ajouté à la pâte comme solvant inerte et volatil. /e pâte obtenue a été utilisée pour remplir la cavité cylindrique d'un tube (servant d'électrode de travail) dont l'orifice a une surface de $0,1256 \text{ cm}^2$. L'alimentation électrique de la pâte est assurée par une tige de carbone.

Le milieu électrolytique contenant le milieu vivant des cellules et l'extrait. La caractérisation d'électrode était effectuée par les méthodes électrochimiques telles que : la voltamétrie cyclique et la spectroscopie d'impédance.

3. Brève lecture des résultats :

La figure 5 présente l'analyse du produit par résonance magnétique nucléaire (RMN) pour identifier les molécules organiques existant dans l'extrait.

La figure 6 présente les voltammogrammes cycliques d'électrode de carbone graphite modifiés par le produit (courbe rouge) et de CPE (courbe noire) émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses dont le but de déterminer interval d'oxydation des cellules cancéreuses.

La figure 7 présente les diagrammes de spectroscopies d'impédance (EIS) d'électrode de carbone graphite modifiés par le produit (courbe rouge) et de CPE (courbe noire) émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses pour identifier tous phénomènes de diffusion et d'adsorption de la réaction.

La figure 8 présente les voltammogrammes cycliques d'électrode de carbone graphite émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses sous effet de cycles de voltamétrie cyclique pour le suivi de la cinétique de la réaction d'oxydo-réduction de ces cellules.

La figure 9 présente la viabilité des cellules tumorales P815, MDA-MB-468 et MCF7, et des PBMC après traitement pendant 48h avec différentes concentrations de l'extrait et du paclitaxel. Évalué par le test MTT. Les données sont la moyenne des expériences indépendantes des arbres \pm Std. Déviation.

REVENDICATIONS :

Revendication 1 : utilisation d'extrait des racine d'une plante (le life) comme anti-cancer.

Revendication 2 : Procède d'extraction de l'extraction de produit selon la revendication 1 caractérisé en ce qui comporte les étapes suivantes :

Etape 1 : lavage et séchage des racines de la plante (le life).

Etape 2 : liaison deux bac l'un poreux l'autre en contact de chauffage sous une température de 150 C°

Etape 3 : refroidissement lente à température ambiante

Revendication 3 : caractérisation par méthode électrochimiques d'électrode de carbone graphite (CPE) dans un milieu de RPMI 1640.

Revendication 4 : caractérisation d'électrode d'électrode de carbone graphite (CPE) dans un milieu contenant l'extrait et les cellules cancéreuses.

Revendication 5 : utilisation des méthodes électrochimiques talque : la voltamétrie cyclique (VC), la spectroscopie d'impédance (EIS)

Revendication 6 : tester les lignées cellulaires tumorales P815 et MDA-MB-468 dans une Concentration inhibitrice 50 (IC50) en µg/ml de l'extrait et du paclitaxel.

ANNEXE :

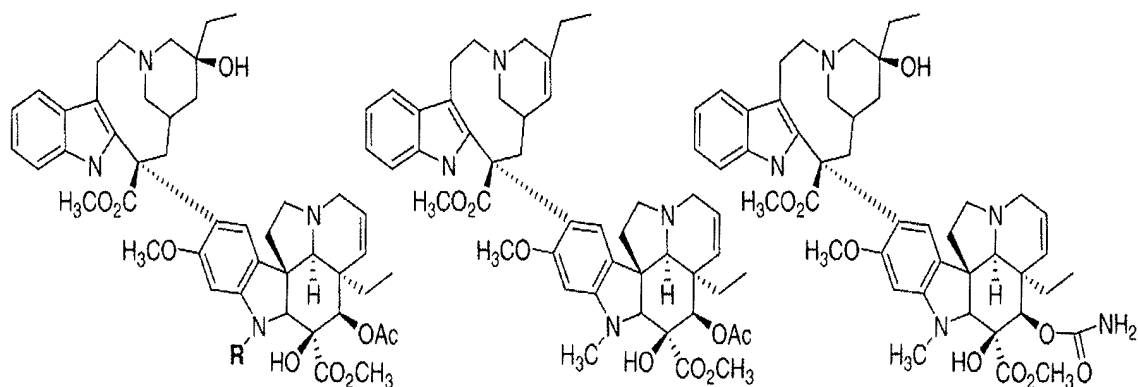


Figure 1 : Structure des Vinca-alcaloïdes

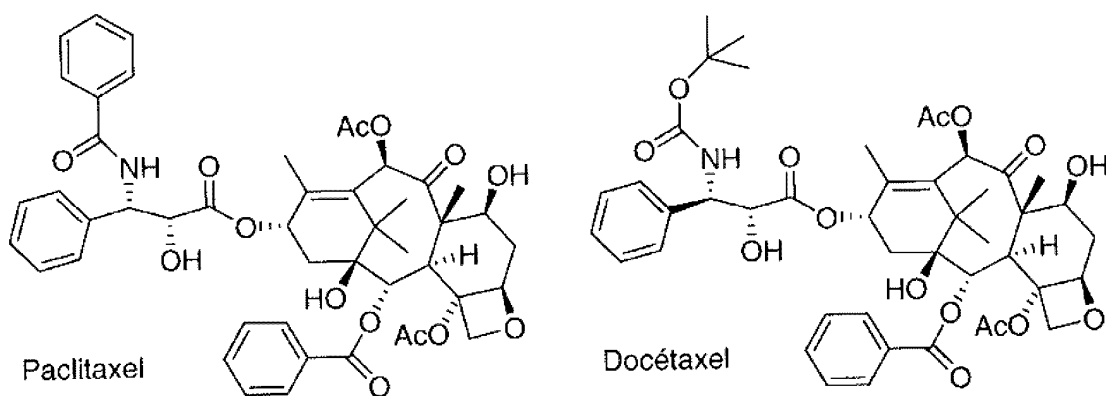
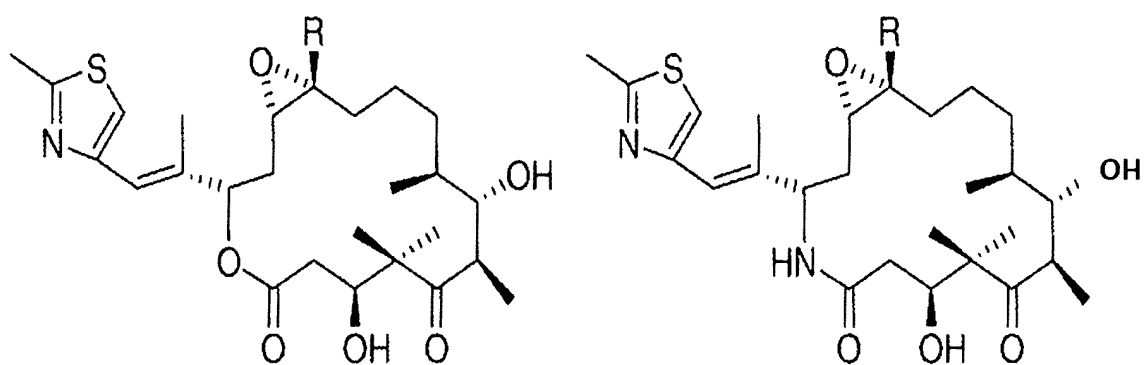


Figure 2 : Structure du paclitaxel et son analogue hémisynthétique



Epothilone A, R = H

Epothilone B, R CH₃

Ixabepilone 00H

Figure 3 : Structure de l'épothilone B et son analogue semi-synthétique

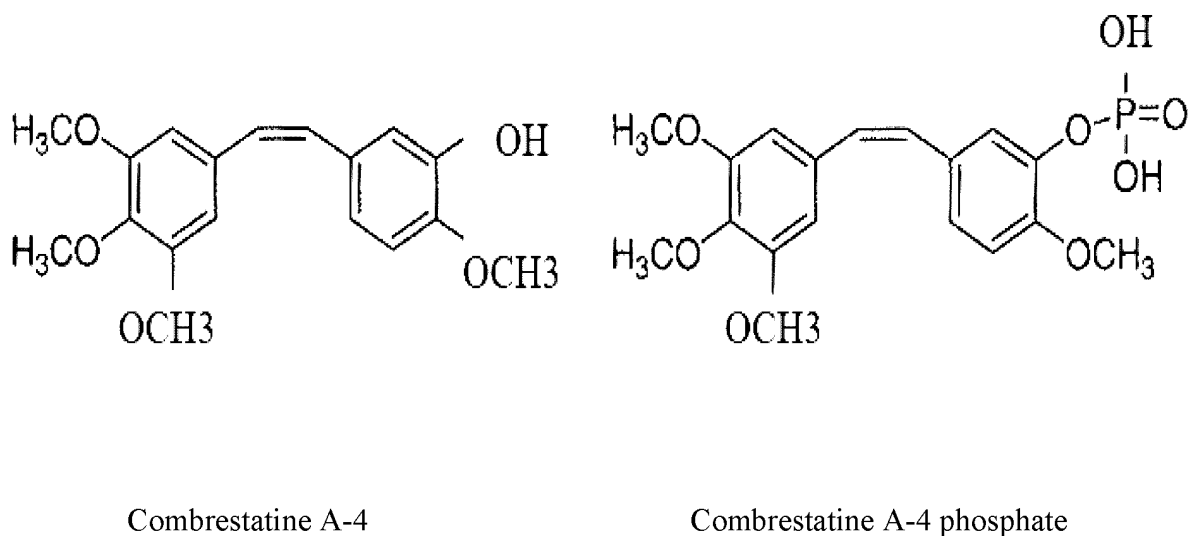


Figure 4 : Structure des combrestatines et un analogue hémissynthétique

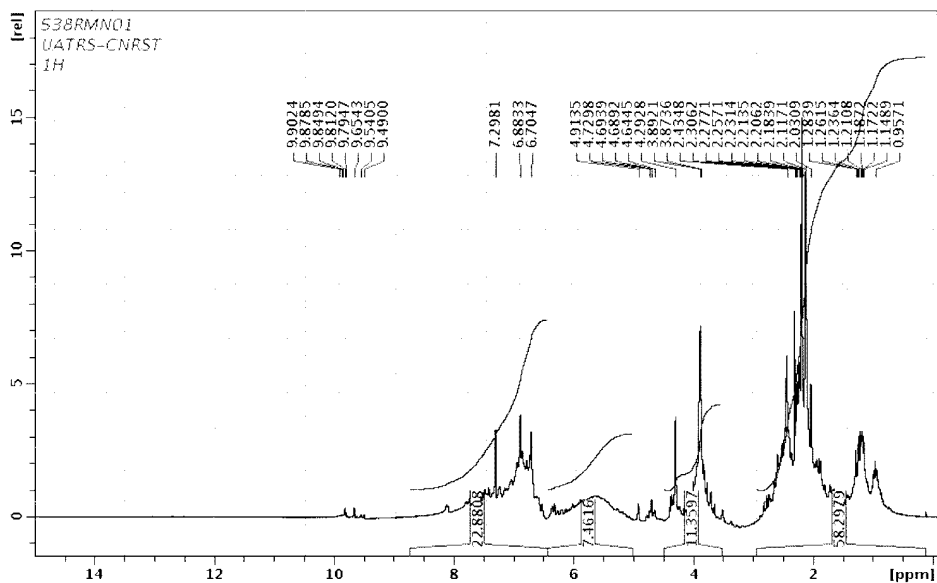


Figure 5: l'analyse du produit par résonance magnétique nucléaire (RMN)

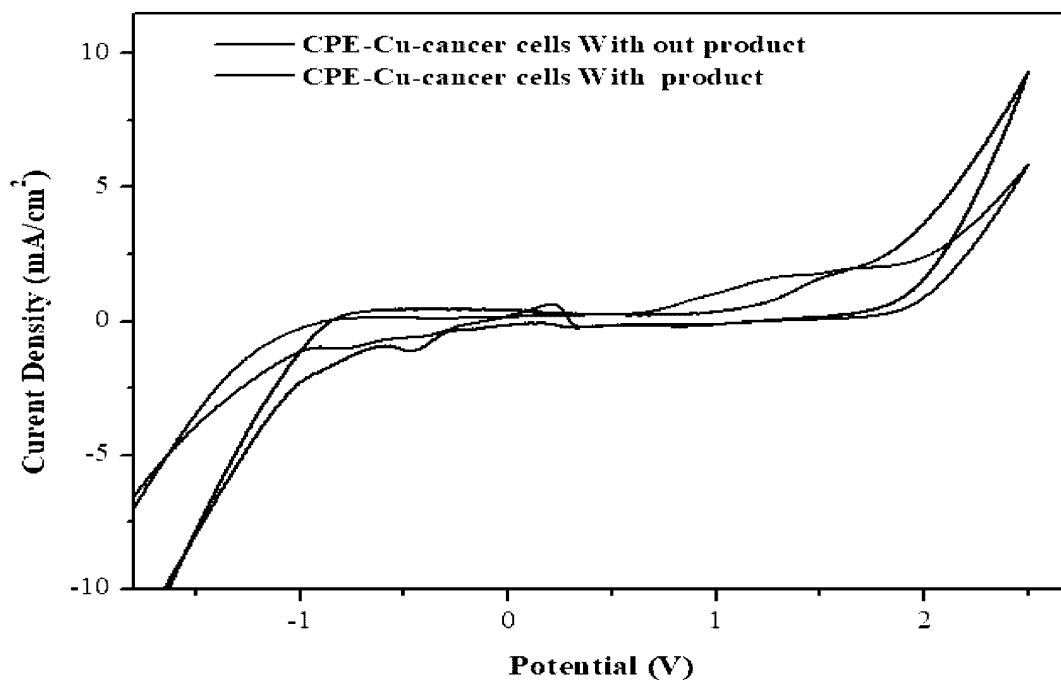


Figure 6: voltammogramme cyclique d'électrode de carbone graphite modifiées par le produit (courbe rouge) et de CPE (courbe noire) émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses.

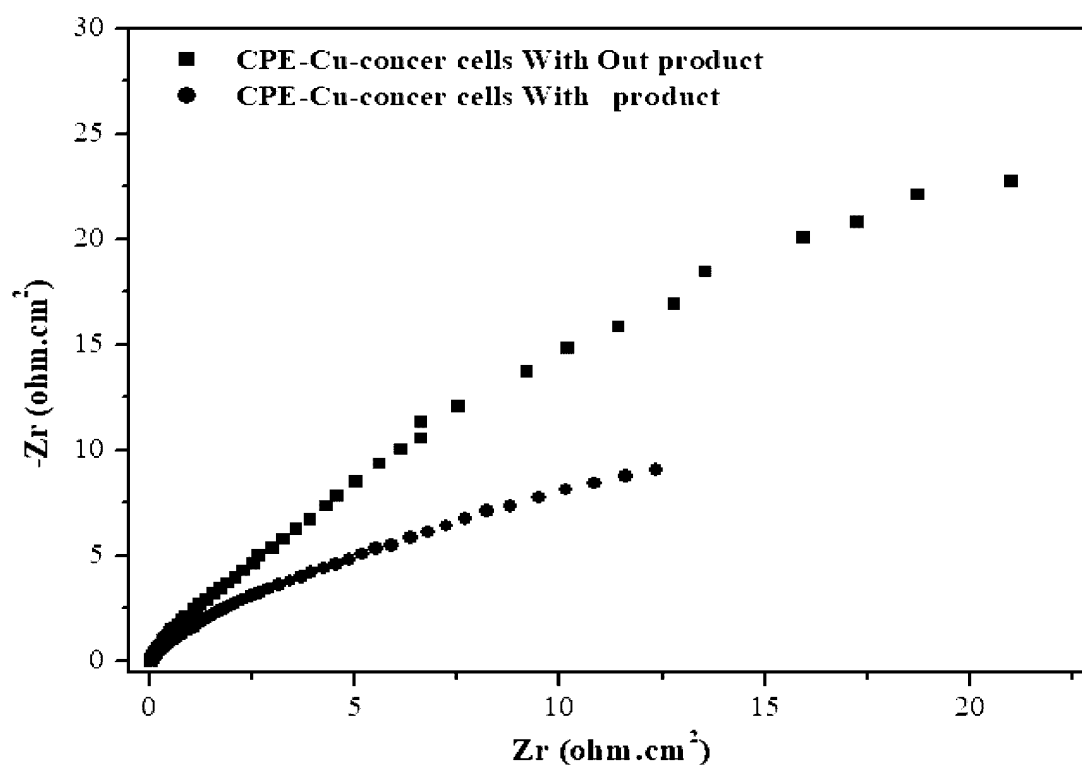


Figure 7: diagrammes de spectroscopies d'impédance (EIS) d'électrode de carbone graphite modifiées par le produit (courbe rouge) et de CPE (courbe noire) émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses

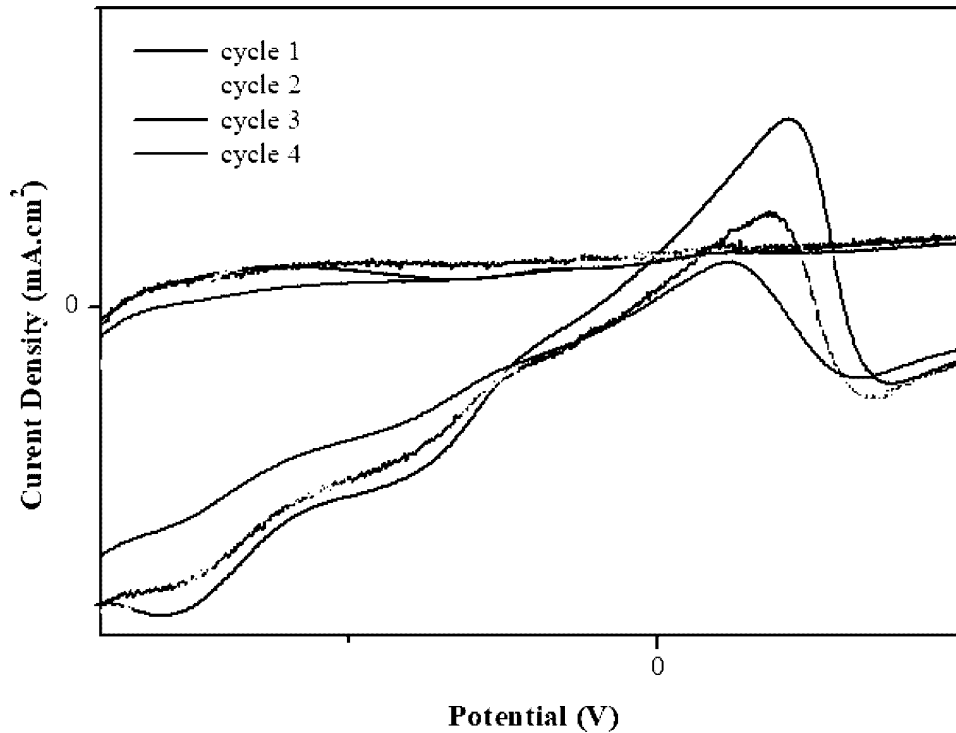


Figure 8: voltammogramme cyclique electrode de carbone graphite émergée dans un milieu contenant les cellules cancéreuses sous effet de cycles de voltamétrie cyclique.

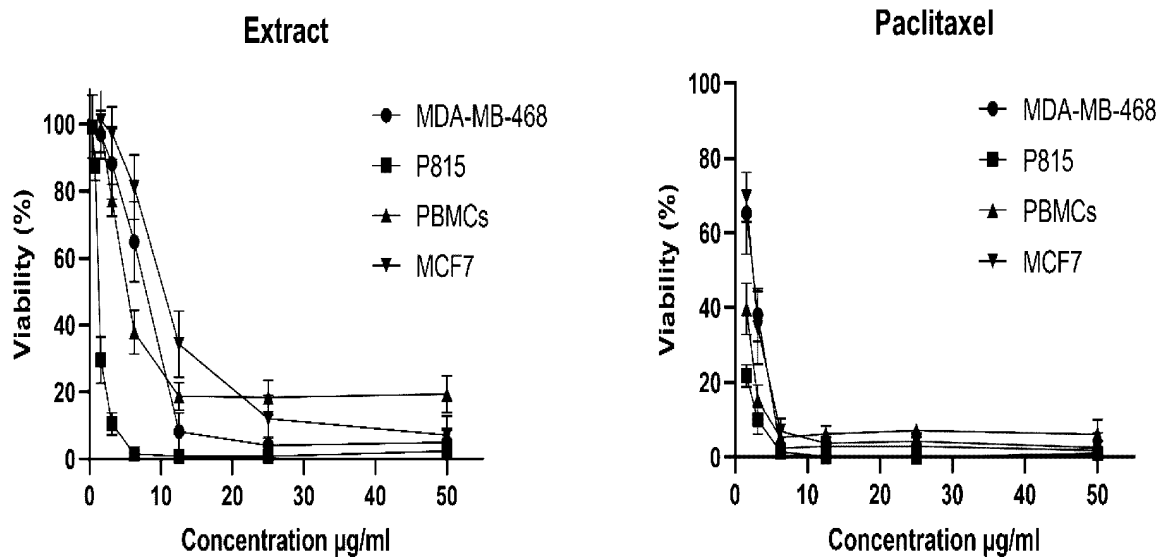



Figure 9: Viabilité des cellules tumorales P815, MDA-MB-468 et MCF7, et des PBMC après traitement pendant 48h avec différentes concentrations de l'extrait et du paclitaxel. Évalué par le test MTT. Les données sont la moyenne des expériences indépendantes des arbres \pm Std. Déviation.

**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 : 59282	Date de dépôt : 19/01/2023
Déposant : UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE	
Intitulé de l'invention : Extrait de plante naturelle utilisé comme agent anti cancéreux	
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: LAHCHIMI Fatima Zahra	Date d'établissement du rapport : 31/05/2023
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
8 Pages
- Revendications
6
- Planches de dessin
4 Pages

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

- L'intitulé tel qu'il a été déposé « Élaboration des biocapteurs pour le traitement des cellules cancéreuses par un produit naturel (MO), par méthodes électrochimiques et activité biologique » 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 : C07K14/00 ; A61K36/00 ; A61P35/00

CPC : C07K14/00 ; A61K36/00 ; A61P35/00

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, ORBIT

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
X	FR2430234A1; ARICHI SHIGRU [JP]; 01/02/1980	1
X	CA2709319A1 (C) ; BAYER CROPS SCIENCE AG [DE] ; 25/06/2009	2-6

***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

- Le terme (life) utilisé dans la revendication 1 n'est pas pris en considération lors de l'examen de la demande étant donné qu'il n'est pas clair et considéré comme non significatif.
- Pour les revendications 3-6, il est souhaitable qu'elles soient rédigées en deux parties, la première consistant en un préambule indiquant la désignation de l'objet de l'invention et les caractéristiques techniques qui sont nécessaires à la définition des éléments revendiqués mais qui, combinées entre elles, font partie de l'état de la technique, et la seconde (la partie caractérisante), précédée des expressions «caractérisé en» ou «caractérisé par», ou « l'amélioration comprend» ou d'une formule analogue, consistant en une indication des caractéristiques techniques qui, combinées aux caractéristiques énoncées dans la première partie, sont celles pour lesquelles la protection est demandée.

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

Nouveauté	Revendications 2-6 Revendications 1	Oui Non
Activité inventive	Revendications aucune Revendications 1-6	Oui Non
Application Industrielle	Revendications 1-6 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 : FR2430234A1
D2 : CA2709319A1

1. Nouveauté

Le document D1 divulgue l'utilisation d'un principe actif extrait des racines de plantes du genre panax en tant qu'agent anti tumoral.

Ce document anticipe les caractéristiques techniques de la revendication 1, ainsi, elle ne répond pas au critère de nouveauté au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

Aucun des documents de l'art antérieur ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques des revendications 2-6 de la présente invention. Par conséquent, l'objet desdites revendications 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 D2 est considéré comme l'art antérieur le plus proche de l'objet de la revendication 2. Il divulgue un procédé d'extraction d'ingrédients végétaux, qui comprend a) le broyage de

matière végétale b) l'ajout d'un solvant à la matière végétale broyée c) la soumission du mélange de matière végétale broyée et de solvant à un traitement à ultra haute température à 95 - 150°C sur une période de 5 à 300 secondes.

L'objet de la revendication diffère du document D2 par les simples étapes de procédé qui ne présente aucun effet technique supplémentaire.

Le problème est considéré comme le fourniture d'un procédé d'extraction d'agents actifs à partir des plantes.

La solution n'est pas inventive pour les raisons suivantes :

Le procédé revendiqué comporte des étapes simple et standard et qui ne présentent aucune caractéristique technique supplémentaire qui peut donner un avantage technique à ce dernier, ainsi cela est considéré comme faisant partie des connaissances de l'homme de métier.

Pour les revendications 3-6 est comme mentionné dans le cadre de clarté, elles sont imprécises et rédiger d'une telle façon qu'aucune recherche significative n'a pu être réalisée.

A la lumière de ce qui précédé, l'objet de la revendication 2 ainsi que les revendications 3-6 n'est pas considéré comme inventif 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.